

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Science Alimentaire
Filière : Science Biologique
Spécialité : Science Alimentaire
Option : Bioprocédé et Technologie Alimentaire



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Etude des propriétés physico-chimiques et antioxydantes du miel soumis au vieillissement accéléré.

Présenté par :

SANA Hanane

Soutenu le : **20 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mr KATI Djamel Edine
Mr BACHIR BEY Mostapha
Mr BOUDRIES Hafid

Président
Encadreur
Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

*Avant tout, je tiens à remercier le **Dieu** tout puissant qui m'a accordé santé et courage pour mener ce travail jusqu'à son bout.*

Je tiens à remercier également mon promoteur Mr Bachir bey Mostapha qui a accepté de m'encadrer et qui m'a toujours guidé dans la réalisation de ce travail.

Je remercie Mr Kati Djemel Edine et Mr Boudries Hafid d'avoir accepté de faire part de jury de ce mémoire.

Mes vifs remerciements s'adressent également à toute l'équipe de laboratoire de biochimie alimentaire qui m'ont beaucoup aidé durant mon travail et même après.

Merci.



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents que je remercie infiniment pour leur aide et d'être toujours à mes cotés.

Mes chers frères, Abdallah, Lyes, Toufik, qui sont toujours à mes cotés.

Mes sœurs, Nacira et Samira, leurs maris et leurs enfants.

A ma jumelle Siham, qui m'encourage à chaque fois, et qui m'aide toujours.

Mes ami(e)s : Lamia, Sabrina, Yamina, Lynda, Sonia, Tina, Hakim, Fawzi, Faysal.

A tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Hanane



Sommaire

Liste des abréviations

Liste de figures

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Partie théorique

Généralité sur le miel

1. Définition du miel	3
2. Classification du miel	3
2. 1. Miel de nectar de fleurs	3
2. 2. Miel de miellat.....	4
3. Production du miel par les abeilles.....	4
4. Récolte du miel par l'apiculteur	4
5. Composition du miel	5
5.1.Eau.....	5
5.2.Glucides.....	5
5.3.Sels minéraux et oligo-éléments.....	5
5.4.Protéines	6
5.5.Enzymes	6
5.6.Vitamines.....	6
5.7.Acides organiques	6
5.8.Composés aromatiques	6
5.9.Composés phénoliques et caroténoïdes	7
5.10.Hydroxyméthylfurfural (HMF)	7
6. Propriétés du miel.....	9
6.1. Propriétés physico-chimiques.....	9
6.1. 1. Activité de l'eau	9
6.1.2. pH et acidité.....	9
6.1.3. Densité et viscosité	9
6.1.4. Conductivité électrique.....	9
6.1.5. Conductivité thermique	9

6.1.6. Couleur	10
6.1.7. Indice de réfraction.....	10
6.1.8. Pouvoir rotatoire.....	10
6.2. Propriétés biologiques	10
6.2.1. Propriétés nutritionnelles.....	10
6.2.2. Propriétés antioxydantes.....	11
6.2.3. Propriétés antimicrobiennes	11
6.2.4. Propriétés thérapeutiques.....	11
7. Vieillessement du miel.....	11
7.1. Cristallisation.....	12
7. 2. Conservation.....	12
7.3. Fermentation.....	12
7. 4. Connaître la stabilité du miel.....	13
8. Qualité du miel	13
8.1. Origine botanique	13
8.2. Maturité et Fraicheur	13
9. Effet de traitement thermique sur la qualité du miel	14
9.1. Effet sur la propriétés physico-chimiques	18
9.1.1. Glucides.....	18
9.1.2. Protéines	18
9.1.3. HydroxyMéthylFurfural (HMF).....	18
9.1.4. Couleur	19
9. 2. Effet sur les propriétés biologiques	19

Partie expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

1. Echantillon de miel.....	21
2. Homogénéisation et préparation des échantillons	21
3. Traitement thermique d'échantillon du miel	22
4. Analyses physico-chimiques des échantillons du miel.....	21
4.1. Humidité.....	21
4.2. pH et acidité.....	21
4.3. Couleur	22
4.4. Hydroxyméthylfurfural (HMF)	23

5. Paramètres antioxydants	23
5.1. Extraction des antioxydants.....	23
5.2.Composé phénoliques.....	23
5. 3. Flavonoïdes	24
5.4. Activité antiradicalaire	24
5.5.Pouvoir réducteur	24
6. Analyse statistique.....	25

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Analyse physico-chimiques.....	26
1.1. Teneur en eau	26
1.2. pH.....	27
1.3. Acidité libre.....	28
1.4. Hydroxyméthylfurfural	29
1.5. La couleur.....	30
2. Antioxydants	32
2.1. Composés phénoliques	32
2.2. Les flavonoïdes.....	33
3. Activité antioxydante	34
3.1. Activité antiradicalaire	34
3.2. Pouvoir réducteur	35
4. Corrélation.....	35
4.1. Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire	35
4.2. Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et le pouvoir réducteur	36
4.3. Corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire.....	36
4.4. Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire.....	37
4.5. Corrélation entre les flavonoïdes et le pouvoir réducteur.....	37
Conclusion.....	39

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

CE : Conductivité Electrique

DPPH : 2,2-diphényl -1- picrylhydrazyl

EAG : Equivalents d'Acide Gallique

EQ : Equivalents Quercétine

Flav : Flavonoïdes

HMF: HydroxyMéthylFurfural

PR : Pouvoir réducteur

mS/ cm : Millisiemens par centimètre

pH : Potentiel d'hydrogène

ml : Millilitre

Meq : Milliéquivalents

C° : Degré Celsius

S : seconde

Cal : calorie

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Structure de quelques acides phénoliques présents dans le miel.	8
2	Structure de quelques flavonoïdes présents dans le miel.	8
3	Miel fermenté.	12
4	Les compositions du miel, et le processus qui influence sur la stabilité du miel, dégradation de produit et la seconde réaction (Maillard).	15
5	Les étapes et les composés de la réaction de Maillard.	17
6	Formation d'hydroxyméthylfurfural(HMF).	19
7	Photographie de l'échantillon du miel analysé.	21
8	Homogénéisation du miel.	21
9	Aliquotage des 10 échantillons du miel.	21
10	Evolution de la teneur en eau en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.	27
11	Evolution du pH en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.	28
12	Evolution de l'acidité libre en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.	29
13	Evolution de la teneur en HMF en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.	30
14	Evolution de la couleur en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.	31
15	Photographie montrant la couleur initial du miel utilisé et l'évolution de cette couleur après chauffage à 45, 70, 95°C.	31
16	Evolution de la teneur en composés phénoliques en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C.	32
17	Evolution de la teneur en flavonoïdes en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.	33
18	Evolution de l'activité antiradicalaire en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.	34
19	Corrélation entre la teneur composés phénoliques et l'activité antiradicalaire.	35

Figure	Titre	Page
20	Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et le pouvoir réducteur.	36
21	Corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire.	36
22	Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire.	37
23	Corrélation entre les flavonoïdes et le pouvoir réducteur.	37

Introduction

Introduction

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

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

Les critères de la qualité du miel selon le projet CL 1998/12-S du Codex Alimentarius et selon le projet de l'UE 96/0114 (CNS) sont la teneur en eau, le taux de l'HMF, l'indice de diastase, la teneur en sucre réducteur, la teneur en matière insoluble dans l'eau et l'acidité.

Comme tout produit biologique, le miel subit au cours du temps des modifications qui induisent des changements dans sa qualité. Il est donc nécessaire de connaître les principaux facteurs qui peuvent altérer sa qualité dont la température est le principal facteur qui dégrade les sucres conduisant ainsi à la formation d'hydroxyméthylfurfural. Le vieillissement du miel provoque plusieurs modifications dans la composition du miel, ce qui est expliqué par l'altération de sa qualité, qui est marqué principalement par l'augmentation de taux d'hydroxyméthylfurfural (HMF) et la diminution de l'activité enzymatique, ainsi que la perte de l'activité antibactérienne (**Bruneau, 2002**).

Dans le but d'étudier les effets du vieillissement accéléré sur le miel, en utilisant différentes températures, nous avons effectué cette étude qui montre l'effet de la température sur les propriétés physico-chimiques et antioxydantes du miel.

Pour réaliser cela la présente étude est divisée en deux parties :

La première est une partie théorique qui vise à présenter le miel dans ses généralités (définition, origine, récolte, composition chimique), ainsi que ces propriétés biologiques,

propriétés physico-chimiques et l'effet du traitement thermique sur la qualité du miel (vieillissement accéléré).

La deuxième est une partie pratique qui porte sur l'évaluation des effets du traitement thermique sur les propriétés physico-chimiques et l'activité antioxydante.

Partie théorique

Généralité sur le miel

Généralité sur le miel

1. Définition du miel

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

2. Classification du miel

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

2. 1. Miel de nectar de fleurs

Le nectar est recueilli dans les fleurs au niveau des petites glandes végétales nommées nectarifère. Sa production dépend de l'âge, de la taille, de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'aire, de la durée de la floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce et du milieu environnant (**Sanz et al., 2005**). Il est composé de trois sucres principaux (le saccharose, glucose et le fructose), d'acides organiques, de protéines dont des enzymes, des acides aminés, des substances aromatiques et des composés inorganiques. Tous ces éléments vont donner au miel sa couleur et ses arômes (**Hoyet, 2005**).

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

✓ Miels mono floraux

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

✓ **Miels multi floraux**

Miels donnés par plusieurs espèces végétales ou sans origine florale précise, il peut y avoir la dominance d'un pollen accompagné par d'autres, en petites quantités ou bien il peut présenter une mosaïque de pollens.

2.2. Miel de miellat

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

3. Production du miel par les abeilles

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

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

Le nectar ainsi que le miellat qui peu à peu deviennent miel, subissent dans les alvéoles de nombreux transferts, phénomène appelé trophallaxie (**Hoyet, 2005**). C'est ainsi que s'effectue la concentration du miel non mûre qui sera ensuite déposé dans les alvéoles des cadres de cire. Sous l'influence de la température de la ruche et de la ventilation assurée par les ouvrières, le miel mûr évapore son eau. Quand la teneur en eau du miel est inférieure à 19%, le miel est mur et il sera operculé par une couche de cire (**Huchet, 1996**).

4. Récolte du miel par l'apiculteur

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

(Langstroth et Voirnot., 1999). (Annexe 1, figure 1), Les différentes étapes de la récolte du miel sont présentées dans l'annexe 1, figure 2.

5. Composition du miel

La composition du miel dépend de très nombreux facteurs comprenant l'espèce végétale butinée, la nature du sol, la race de l'abeille, l'état physiologique de la colonie, les conditions environnementales et la compétence de l'apiculture (Azeredo et al., 2003 ; Jean-prost et Médori, 2005).

Le miel est un produit doux et savoureux, ayant une haute valeur nutritive. Il se compose essentiellement d'un mélange complexe d'hydrate de carbone et d'autres substances mineurs, telles que les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les minéraux, les vitamines et les lipides (Zamora et Chirife, 2006 ; Gomes et al., 2010). D'autres substances sont également présentes comme les enzymes, les caroténoïdes, les polyphénols et les produits de la réaction de Maillard (Al et al., 2009). Les différents composants du miel sont représentés sur un tableau récapitulatif (Annexe 2, tableau 1).

5.1. Eau

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

5.2. Glucides

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

5.3. Sels minéraux et oligo-éléments

Les miels de fleurs contiennent 0.1 à 0.35 g de sels minéraux et d'oligo-éléments par

100 g de miel, le miel de châtaignier et les miels de miellat avec plus de 1g/100g. La teneur en Sel minéraux et en oligo-éléments du miel est présenté dans **l'annexe 3, tableau 2**.

5.4. Protéines

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

5.5. Enzymes

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

5. 6. Vitamines

Le miel contient plusieurs vitamines telles que la thiamine, la riboflavine, la pyridoxine, l'acide ascorbique, l'acide pantothénique, l'acide folique et l'acide nicotinique (**Berhate et al., 2003 ; Jean-prost et Médori, 2005**). Néanmoins, elles ne se trouvent qu'en quantité infime (**Bogdanov et al., 1995**).

5. 7. Acides organiques

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

5.8. Composés aromatiques

L'arôme est un facteur de qualité important dans les produits alimentaires. L'arôme de miel d'abeille dépend de la composition de fraction volatile, qui est sous l'influence de la

composition de nectar et d'origine florale. Le miel mono floral est de haute valeur nutritionnelle (Cuevas *et al.*, 2007).

5.9. Composés phénoliques et caroténoïdes

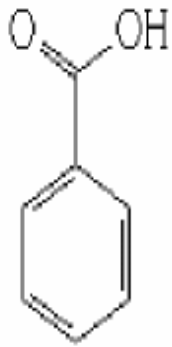
Ce sont des métabolites secondaires des plantes, présents dans le miel en faibles quantités mais en grand nombre. Leur principale origine est le nectar et les sécrétions végétales (Al-Mamary *et al.*, 2002 ; Bogdanov *et al.*, 2004). Certains phénols participent à l'arôme au même titre que les substances terpéniques. En plus des composées phénoliques, le miel contient aussi des caroténoïdes qui sont responsables en partie de la couleur et de l'activité antioxydante (küçük *et al.*, 2007). Les structures des principaux polyphénols, flavonoïdes contenus dans le miel sont présentés dans les (figure 1 et 2).

5.10. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

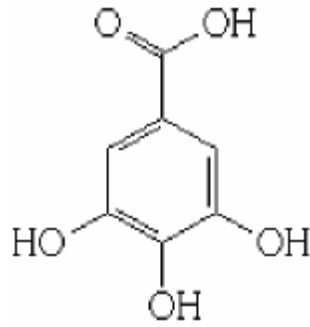
Cet important facteur relatif à la qualité du miel est un indicateur de fraîcheur et de surchauffage. Le miel brut ne contient pratiquement pas d'HMF ; cependant sa teneur augmente au cours du stockage en fonction du pH du miel et de la température de stockage, il provient d'une dégradation lente du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

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

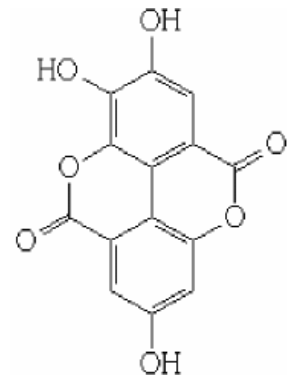
L'indice du HMF n'augmente pratiquement pas la première année, mais s'accroît fortement aux cours des deux années suivantes (Philippe, 1999) (Annexe 3, tableau 3).



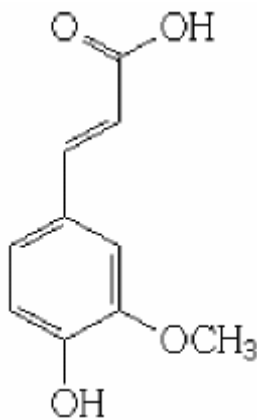
Acide benzoïque



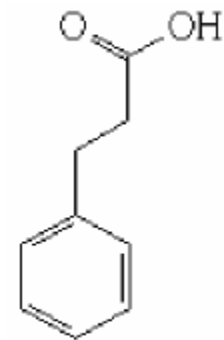
Acide gallique



Acide éllagique

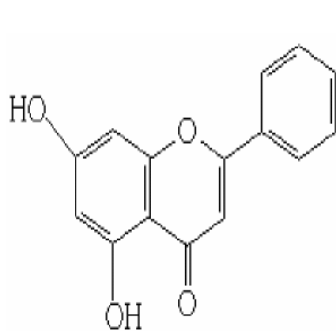


Acide férulique

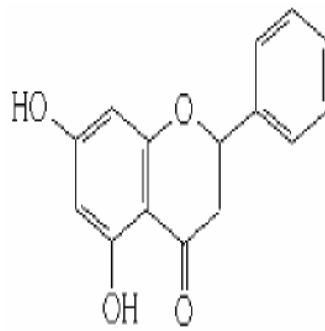


Acide hyro-cinnamique

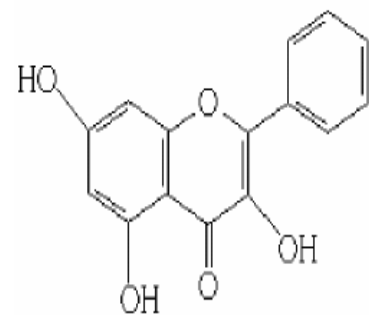
Figure 1 : Structure de quelques acides phénoliques présents dans le miel (Meda, 2005).



Chrysine



Pinobanksine



Galangine

Figure 2 : Structure de quelques flavonoides présents dans le miel (Meda, 2005).

6. propriétés du miel

6.1. Propriétés physico-chimiques

6.1. 1. Activité de l'eau

L'activité de l'eau est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau de l'aliment (p) sur la pression de vapeur d'eau de l'eau pure (p₀) à la même température. Ce paramètre dépend de la teneur en eau libre et varie de 0,5 à 0,65 dans le miel. Au cours de la cristallisation, le miel montre une activité de l'eau plus élevée (**Gleiter et al., 2006**).

6.1. 2. pH et acidité

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

6.1.3. Densité et viscosité

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

6.1.4. Conductivité électrique

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

6.1.5. Conductivité thermique

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

6.1.6. Couleur

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

6.1.7. Indice de réfraction

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

La table de chataway revues et corrigées par White donne la correspondance entre l'indice de réfraction et la teneur en eau (**Bogdanov., 2002**). (**Annexe 4, Tableau 4**).

6.1.8. Pouvoir rotatoire

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

6.2. Propriétés biologiques

Le miel est non seulement un aliment mais on peut le considérer comme un médicament car il possède maintes propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, antioxydantes et thérapeutiques). Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales (**Lobreau-Callen et al., 1999**).

6.2.1. Propriétés nutritionnelles

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

6.2.2. Propriétés antioxydantes

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

6.2.3. Propriétés antimicrobiennes

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

6.2.4. Propriétés thérapeutiques

Depuis des millénaires le miel à été utilisé dans la médecine populaire dans de nombreux domaines d'ailleurs Aristote, le recommandait pour soulager divers maux (**Paulus et al., 2012**).

Le miel est non seulement considéré comme une substance sucrée, savoureuse mais également comme une partie de médecine traditionnelle. Il a été rapporté qu'il est efficace contre les désordres gastro-intestinaux, la guérison des blessures et des brûlures, et pour produire une protection gastrique contre les lésions gastriques aiguës et chroniques (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

7. Vieillessement du miel

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

7.1. Cristallisation

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

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

7. 2. Conservation

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

7.3. Fermentation

Tous les miels naturels contiennent des levures, responsables des fermentations alcooliques. Une teneur en eau trop importante (à partir de 18%) et une température excessive leur permettent de se développer, ce qui provoque la fermentation du miel. Un miel fermenté présente généralement des bulles d'air dans sa masse et devient impropre à la consommation (**Pham-Délégue M, 1999**) figure 3.

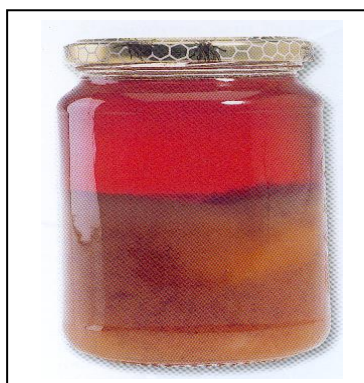


Figure 3: Miel fermenté (**Bruneau, 2002**).

7. 4. Connaître la stabilité du miel

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

8. Qualité du miel

L'évaluation de la qualité du miel passe essentiellement, par la vérification de son authenticité, l'estimation de sa maturité et fraîcheur, et l'identification de son origine botanique. Afin d'offrir au consommateur un produit de qualité, le Codex Alimentarius(2001) et le Journal Officiel des Communautés Européennes, (2002) ont établi des limites pour certains paramètres physico-chimiques du miel (**Annexe 5, tableau 5**), il s'agit de la teneur en eau, la conductivité électrique, la teneur en cendre, les sucres réducteurs et non-réducteurs, l'acidité, l'activité de diastase et la quantité d'HMF (**Muli et al., 2007 ; Gomes et al., 2010**).

8.1. Origine botanique

La source florale d'un miel est identifiée par l'analyse pollinique. Cependant, les approches chimiques pourraient être plus précises et facilement entreprises dans la caractérisation du miel (**Yao et al., 2003**).

La conductivité électrique, la teneur en cendre et le pH sont employés couramment pour la discrimination entre les miels de miellat et de fleur (**Ouchemoukh et al., 2007**).

8.2. Maturité et Fraicheur

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

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

9. Effet de traitement thermique sur la qualité du miel

Le traitement thermique du miel induit une série de changement physicochimique qui pourrait affecter l'acceptabilité globale par le consommateur, aussi bien que la qualité alimentaire des produits.

La réaction de Maillard est l'une des principales réactions qui se produisent dans le miel au cours du traitement thermique. Elle est également appelée brunissement non-enzymatique et représente une condensation entre les groupements carbonylés et les groupements amines (**Rufian-Henares et Morales, 2007**). Ces réactions aboutissent à une large gamme de produits comprenant les composés volatils de faible poids moléculaire, les composés colorés non-volatiles de poids moléculaire élevé (**Claude et Ubbink, 2006 ; Lan et al., 2010**). Elle est fortement influencée par certains facteurs comme le pH initial, l'activité de l'eau, les concentrations des composants participants à cette réaction et la température (**Jing et kits, 2002 ; Oh et al., 2006**).

Les processus qui influencent la stabilité du miel, des produits de dégradation et des réactions secondaires qui peut se produire (**Silva et al., 2015**) (Figure 4).

Les composés chimiques présentés dans le miel peuvent changer durant le stockage. Cette figure montre les composés du miel et les processus qui influencent sa stabilité, ainsi que la dégradation de ces produits et la réaction secondaire qui peuvent se produire (Maillard) (**Silva et al., 2015**).

Le miel contient différents composés chimiques, inclus les sucres, protéines, acides aminés, vitamines, acides organiques, composés phénoliques et volatils. Ces composés chimiques peuvent être dégradés par des enzymes spécifiques et à une température élevée et le temps d'entreposage prolongé, qui va donner des nouveau produits tels que des furfurannes, des acides aminés, des alcools et nouveau composés phénoliques et nouveaux composés volatils. Ceux-ci peuvent également être affectés par la production des réactions secondaires, telles que la réaction Maillard (**Silva et al., 2015**).

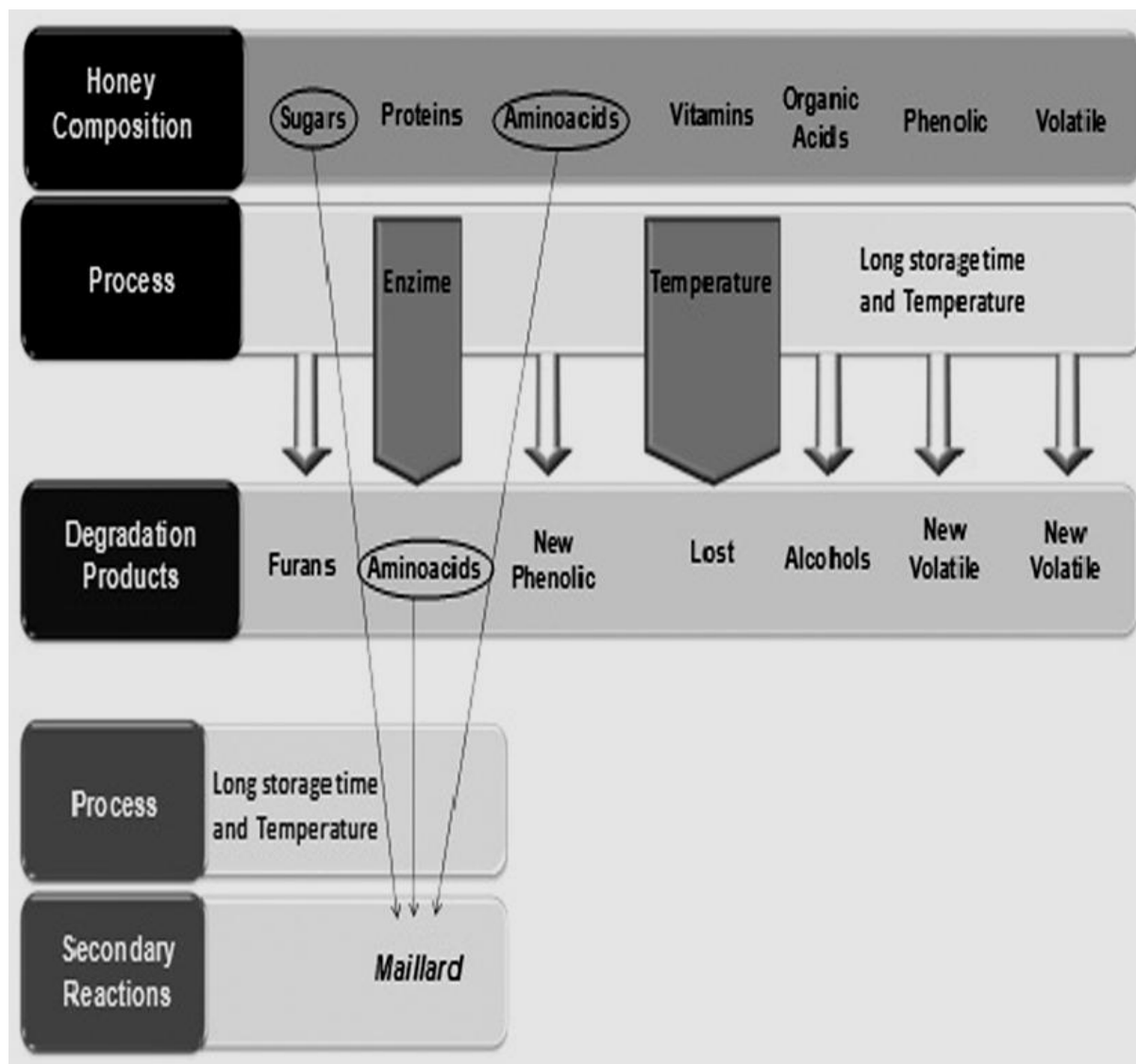


Figure 4 : Processus qui influencent la stabilité du miel, des produits de dégradation et des réactions secondaires qui peuvent se produire (Silva et al., 2015).

Les principales étapes de la réaction de Maillard (Adrian et al., 2003) sont résumées dans la figure 5.

La figure 5 montre les étapes et les composés de la réaction de Maillard, cette réaction fréquente au cours d'un chauffage ou d'une conservation, provoquée par une réaction initiale entre l'amine d'un acide aminé et l'aldéhyde ou l'acétone d'un sucre ou d'un produit d'oxydation d'un acide. La réaction est très fortement accélérée par la température mais elle ce produit déjà a une température ordinaire. Les premier produits sont incolores et fluorescents ; ils ce polymérisent rapidement et deviennent bruns (Adrian et al., 2003). L'intensité de la réaction est liée étroitement au contexte physicochimique :

- Elle est proportionnelle à la chaleur appliquée c'est-à-dire au couple température- durée.
- La nature et le taux des sucres réducteurs sont les paramètres majeurs responsables de la réaction (sucre-acide aminé).
- Si les acides aminés sont libres, leur réactivité est comparable.

La réaction de Maillard se développe en plusieurs étapes qui sont schématisées dans la Figure 5:

- 1^{er} blocage, Des acides aminés par les sucres, c'est à dire que la liaison ne peut être rompue par voie enzymatique mais peut être par hydrolyse chimique : l'acide aminé est présent mais inefficace biologiquement.
- Dans un 2^{ème} temps, l'acide aminé est détruit c'est-à-dire qu'il ne peut être récupéré même après une hydrolyse chimique.
- L'étape la plus spécifique de cette réaction est la dégradation de Strecker à partir de laquelle la réaction devient auto-catalytique, c'est-à-dire que les produits formés provoquent eux-mêmes directement la destruction d'acides aminés encore intacts.
- La dégradation de strecker entraîne la formation des molécules aromatiques spécifiques (aldéhyde dérivé d'acide aminé) qui valorisent grandement la valeur organoleptiques **(Adrian et al., 2003) (Annexe 6, Figure 3).**

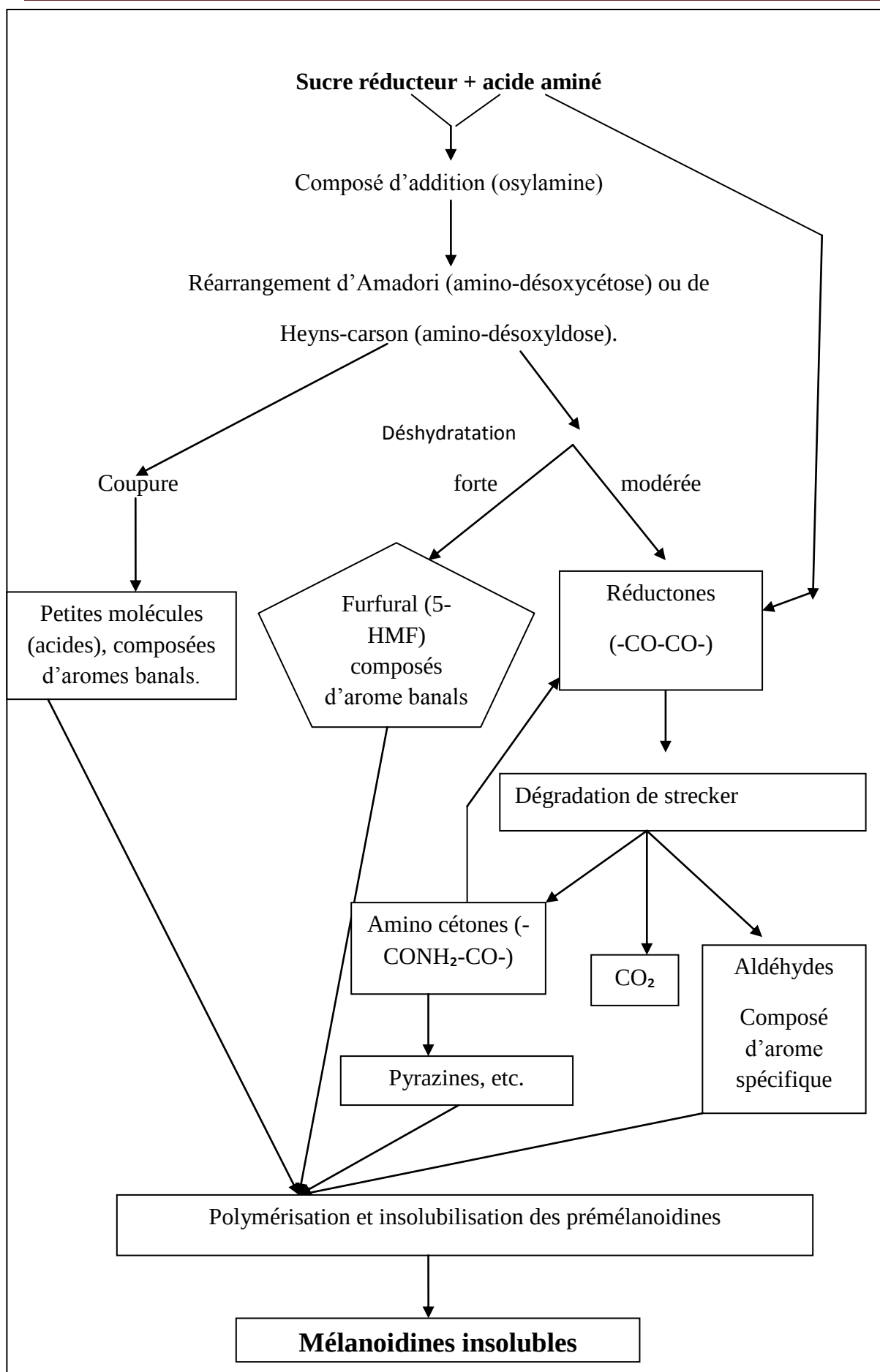


Figure 5: Les étapes et les composés de la réaction de Maillard (Adrian *et al.*, 2003).

9.1. Effet sur les paramètres physico-chimiques

9.1.1. Glucides

Selon l'étude réalisée par **Boumedjel et al., (2002)**, la teneur en sucre a marqué une diminution significative comme conséquence de leur implication en réaction pendant le traitement thermique. D'autre part, **Gonnet et al., (1964)**, ont rapporté que la pasteurisation a causé une légère modification de la teneur en glucose de certains miels. D'après **cheftel et cheftel, (1976)**, les sucres réducteurs qui peuvent participer dans la réaction de Maillard sont les aldoses, les cétooses, les acides uroniques, les disaccharides réducteurs, etc. les pentoses sont plus réactifs que les hexoses, les aldoses plus que les cétooses.

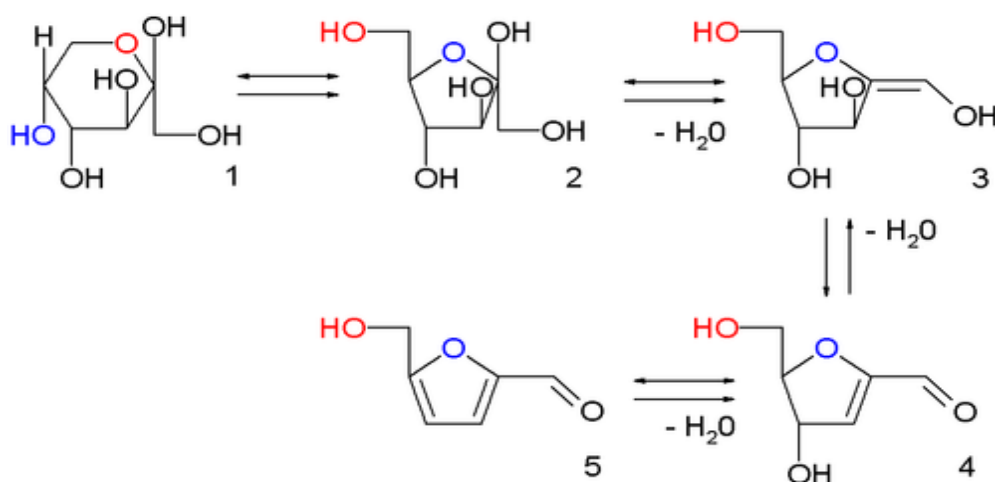
9.1.2. Protéines

Lan et al. (2010), ont déclaré qu'au cours de la réaction de Maillard, les acides aminés libres subissent une diminution, ce qui provoque la rupture de l'équilibre, notamment entre les peptides et les acides aminés.

9.1. 3. HydroxyMéthylFurfural (HMF)

L'HMF est un dérivé de déshydratation des sucres ; qui apparaît par réaction chimique naturelle lors du vieillissement ou du chauffage des miels (**Perdrix, 2003**).

Schweitzer (2005), affirme que plus la température augmente plus un miel contient d'HMF et les voies de ces enzymes disparaissent. D'ailleurs, les températures élevées ont sur le miel un effet assez semblable à celui du vieillissement. Les basses températures ont, au contraire, un effet de protection contre le vieillissement par blocage des réactions enzymatiques et chimiques. La formation de ce composé est le résultat de la déshydratation d'hexose particulièrement dans des milieux acides, ou par réaction de Maillard (**Tosi et al., 2002 ; Turhan et al., 2008**). La figure ci-dessus montre en série de réactions chimiques permettant la conversion du fructose en HMF (**Kesić, 2017**).



Fructopyranose (1), fructofuranose (2), et deux intermédiaires de l'étape de la déshydratation (non isolé) (3,4) et finalement HMF (5).

Figure 6 : Formation d'hydroxyméthylfurfural (Kesić, 2017).

9. 1.4. Couleur

Le développement de la couleur au cours du traitement thermique est le résultat de nombreuses réactions complexes de type de réaction de Maillard (Ait Ameer, 2006).

Oh et al. (2006) ont rapporté que le pH influe de manière significative sur la couleur, étant donné que l'intensité de cette dernière se développe quand le pH augmente.

9.2. Effet sur les propriétés biologiques

Bogdanov et Bulmer, (2001) ont testé l'effet de la température sur les agents de l'activité antibiotique (peroxyde d'hydrogène et inhibines non peroxydes) de quelques miels. Ils ont constaté que les miels perdaient considérablement leur capacité à produire du peroxyde d'hydrogène alors que les inhibines non peroxydes étaient peu affectées. D'une manière générale, le miel de miellat est moins altéré que le miel de nectar. Ces auteurs ont attribué la perte de la production du peroxyde d'hydrogène à l'altération de la glucose-oxydase.

Par ailleurs, une étude réalisée par Wang et al., (2004) sur des miels de sarrasin et de trèfle a révélé un effet plus ou moins significatif, du stockage sur leur pouvoir antioxydant.

En effet, d'une part, les miels traités avaient un pouvoir antioxydant moins élevé que les miels frais et d'autre part, un stockage à température ambiante pendant 6 mois a provoqué la diminution du pouvoir antioxydant des miels frais et traités. Cependant, certains auteurs rapportent qu'une conservation à température élevée du miel pourrait conduire à

l'augmentation de son pouvoir antioxydant. Ils attribuent cet effet aux produits issus de la réaction de Maillard, doués d'une activité antioxydante qui pourrait compenser la perte des antioxydants naturels du miel (**Antony et al., 2000 ; Turkmen et al., 2006**).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Echantillon de miel

L'échantillon du miel utilisé dans cette étude est procuré chez un apiculteur de la région d'Akfadou. Ce miel est un miel de type multi floraux (produire par les abeilles à partir du nectar).



Figure 6 : Photographie de l'échantillon du miel analysé.

2. Homogénéisation et préparation des échantillons

Avant de réaliser l'aliquotage, le miel est bien mélangé dans un récipient pour assurer une bonne homogénéisation (figure 7), pour cette étude 10 flacons on verre sont remplis chacun avec 30 g du miel (figure 8).



Figure 7 : Homogénéisation du miel.



Figure 8 : Aliquotage des 10 échantillons du miel.

3. Traitement thermique d'échantillons de miel

Les échantillons du miel sont traités par un chauffage au bain marie à des températures différentes (45, 70, 95°C) et à des temps variables 1, 2 et 3 heures. Les paramètres analysés avant et après traitement thermique sont le pH, l'acidité, la couleur, l'hydroxyméthylfurfural (HMF), les polyphénols, les flavonoïdes, l'activité antiradicalaire et le pouvoir réducteur.

4. Analyses physicochimiques des échantillons du miel

4.1. Humidité

La détermination de la teneur en eau du miel est basée sur la mesure optique de l'indice de réfraction, selon la méthode rapportée par **Bogdanov et al., (1999)**. Après homogénéisation, une goutte du miel est déposée sur le prisme du réfractomètre d'Abbé. L'indice de réfraction de chaque échantillon est lu directement sur le réfractomètre, le pourcentage de l'eau qui correspond à l'indice de réfraction est donné par la table de CHATAWAY) à 20°C (**Bogdanov, 2002**). (**Annexe 4, Tableau 4**).

4.2. pH et acidité

Le pH est mesuré à 20°C sur une solution du miel à 10% (p/v) dans l'eau distillée à l'aide d'un pH mètre à 20°C **Bogdanov, (1997)**.

L'acidité libre est obtenue en traçant la courbe de neutralisation du miel par une solution de soude et détermination du pH du point équivalent en utilisant le logiciel Latis-pro. Une quantité de 2,5 g du miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. Après lecture du pH, 100 µl de soude (0,05 N) sont ajoutés graduellement et le pH est noté à chaque addition jusqu'à atteindre un pH de 9,2. Les résultats sont exprimés comme suit :

$$\text{Acidité libre (milliéquivalents/kg de miel)} = (\text{cb} \cdot \text{N} / \text{PE}) \cdot 1000$$

Cb (ml) : Le volume de NaOH ajouté.

N : Normalité de NaOH (0,05N.)

PE (g) : Prise d'essai.

4.3. Couleur

La méthode utilisée est celle décrite par **Bath et Singh (1999)**. 1g de miel est dissout dans 4 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, la lecture est faite à 430 nm.

4.4. Hydroxymethylfurfural (HMF)

Les teneurs en HMF sont déterminées par la méthode **Bogdanov et al. (1997)**. Une masse de 5 g de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. 0,5 ml de solutions de Carrez 1 (solution d'hexacyanoferrate II de potassium à 15 %) et de Carrez 2 (solution d'acétate de zinc à 30 %) sont additionnées. Le mélange est transféré dans une fiole de 50 ml puis le volume est ajusté avec de l'eau distillée.

Après filtration, 2ml sont introduits dans deux tubes à essais, l'un avec 2ml d'eau distillée (aliquote d'analyse) et l'autre avec 2ml de sodium bisulfite à 0,2 % (aliquote de référence).

L'absorbance est lue à 284 nm et 336 nm et la teneur en HMF est donnée par l'équation suivante :

$$\text{HMF (mg /kg de miel)} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5 \times D}{P}$$

A₂₈₄ et A₃₃₆: absorbance respective à 284 et à 336nm.

P : poids de l'échantillon de miel en g.

149,7 : Constante.

D : Facteur de dilution.

5. Paramètres antioxydants

5.1. Extraction des antioxydants

Une quantité de 1g de miel est dissout dans 10ml d'éthanol 80%, ce mélange est centrifugé à 4500 tours / min pendant 10 min.

5.2. Composé phénoliques

La teneur en composés phénoliques est évaluée selon la méthode décrite par **Naithani et al., (2006)**. 100 µl de la solution du miel (0,1 g/ml) sont additionnés, 100 µl du réactif du Folin-Ciocalteu (1/10) et de 2,2 ml de carbonate de sodium (2 %). Après incubation 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 720 nm. Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage (**Annexe 7, figure 4**) réalisée avec l'acide gallique, les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG / 100 g).

5.3. Flavonoïdes

Le principe de la méthode de dosage des flavonoïdes se traduit par la formation d'un complexe flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium qui est utilisé sous sa forme de chlorure d'aluminium (AlCl_3) qui forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygènes présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Arvouet-Grand et al., 1994**).

0,8 ml de la solution du miel est mélangé avec 0,8 ml d'aluminium méthanolique de chlorure d'aluminium (2%). Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante, avant de lire les absorbance à 415 nm. Les concentrations en flavonoïdes sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage (**Annexe 7, figure 5**) ; les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par 100 g de miel (mg EQ /100 g).

5.4. Activité antiradicalaire

La détermination du pouvoir antiradicalaire est basée sur la diminution de l'absorbance à 517 nm quand le radical libre 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), réagit avec un antioxydant (**Meda et al., 2005**).

0,1ml de solution du miel est mélangé avec 1ml de la solution DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min avant de lire les absorbance à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimé en ce référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique comme standard (**Annexe 8, figure 6**).

5.5. Pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur repose sur la réduction du fer ferrique (FeCl_3) en fer ferreux (FeCl_2) en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] et en milieu acidifié par l'acide trichloroacétique. La forme réduite donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (**Gülçin et al., 2005**).

5ml de solution du miel est additionné avec 1,25ml de tampon phosphate et 1,25ml ferricyanure de potassium (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20min. 1,25ml d'acide trichloroacétiques (10%) sont ajouté au mélange. Agitation avec le vortex. Dans un tube à essai 1ml de ce mélange, 1ml d'eau distillé et 0,2 ml de chlorure ferrique (0,1%) sont mélangé. L'absorbance et lu à 700 nm après 10 min (**Berreta et al., 2005**). Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par 100g de miel (mg / EAG /100g) (**Annexe 8, figure7**).

6. Analyse statistique

Les paramètres de la statistique descriptive (moyenne et écart types) ont été calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007. Toutes les données obtenues sont la moyenne des trois essais. Les courbes de l'acidité ont été réalisées à l'aide d'un logiciel origine Latis – pro.

Une analyse de la variance, le test LSD (La plus petites différence significative) à était appliqué à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 afin de mettre en évidence les différences significatives au seuil $p < 0$, entre les échantillons pour chaque paramètre.

Les corrélations entre les paramètres étudiés sont calculées avec statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation de statistica 5.5. Les courbes de corrélation est réalisé avec Excel 2007.

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Analyse physico-chimiques

1.1. Teneur en eau

La teneur en eau est un critère de qualité utilisé essentiellement pour estimer le degré de maturité du miel, et renseigne sur la stabilité du produit contre la fermentation durant la conservation.

Les teneurs en eau des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C sont illustrés dans la figure 9. Le miel utilisé dans cette étude présente une teneur en eau de 17,47%. Cette humidité indique que ce miel présente un bon degré de maturité et est inclus dans la gamme approuvée par le *Codex Alimentaire* qui est de moins 20% (**Codex Alimentarius, 2001**).

La teneur en eau du miel peut être affectée par de nombreux paramètres dont la saison de récolte (printemps et été), l'humidité initiale du nectar et du miellat, le degré de maturité atteint, ainsi que l'origine géographique (**Nanda et al., 2003**).

Les teneurs en eau des miels traités diminuent légèrement après une heure d'incubation à 45, 70 et 95°C, pour gagner un pourcentage moyen de 17,10%. L'analyse statistique révèle que la teneur en eau reste stable entre une et trois heures d'incubation pour les trois températures.

L'étude de **Mouhoubi. (2007)** sur la conservation du miel dans trois différentes températures (4, 25 et 35°C) durant neuf mois de stockage n'a montré aucun effet sur la teneur en eau du miel. **Cavia et al. (2002)** n'ont pas également constaté de changement de la teneur en eau du miel conservé à température ambiante pendant une année.

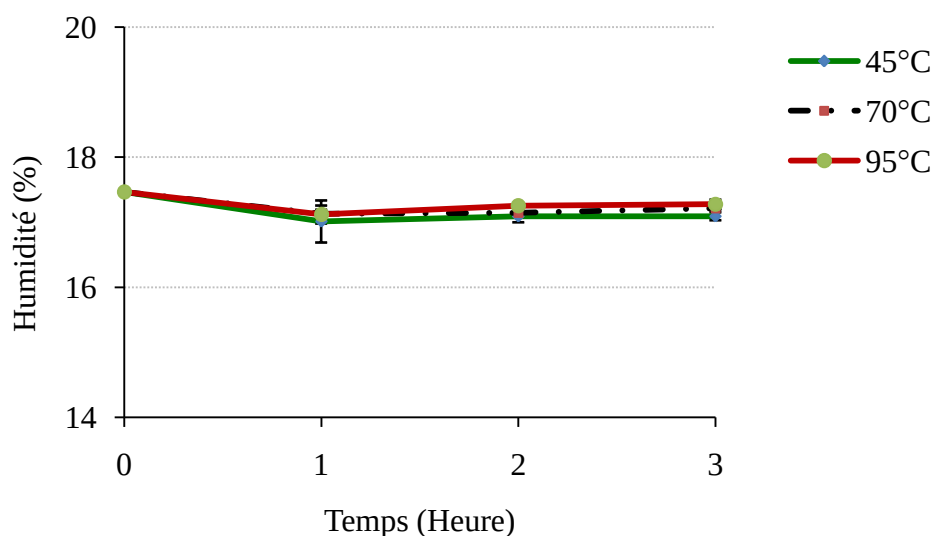


Figure 9 : Evolution de teneur en eau en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.

1.2. pH

La figure 10 regroupe les résultats du pH des échantillons du miel avant et après traitement. L'échantillon du miel témoin présente un pH de 4,07. Ce résultat montre que le miel analysé est un miel du nectar, étant donné que les miels de miellat ont généralement un pH plus élevé (**Bogdanov et al., 1995 ; Downey et al., 2005**).

L'incubation du miel aux températures de 45 et 70°C n'affecte pas le pH. Cependant la température 95°C induit une augmentation de pH après une heure d'incubation pour atteindre 4,15 puis reste stable durant 2 et 3 heures d'incubation à cette température.

Tous les miels présentent un pH acide mais, qui peut considérablement varier d'un miel à l'autre. Une plage de fluctuation du pH allant de 2,25 à 5,5 est obtenue par **Terrab et al. (2002) et Achouri et al. (2015)** et selon **Soria et al. (2004)**, peut dépasser 6. L'analyse de 66 miel Algériens montre que le pH oscille entre 3,40 et 6,23 (**Makhloufi et al., 2007**). Le pH dépend de la richesse du miel en acides organiques, tels que les acides gluconiques, pyruviques, maliques et citriques, et en éléments minéraux (**Cavia et al., 2007**).

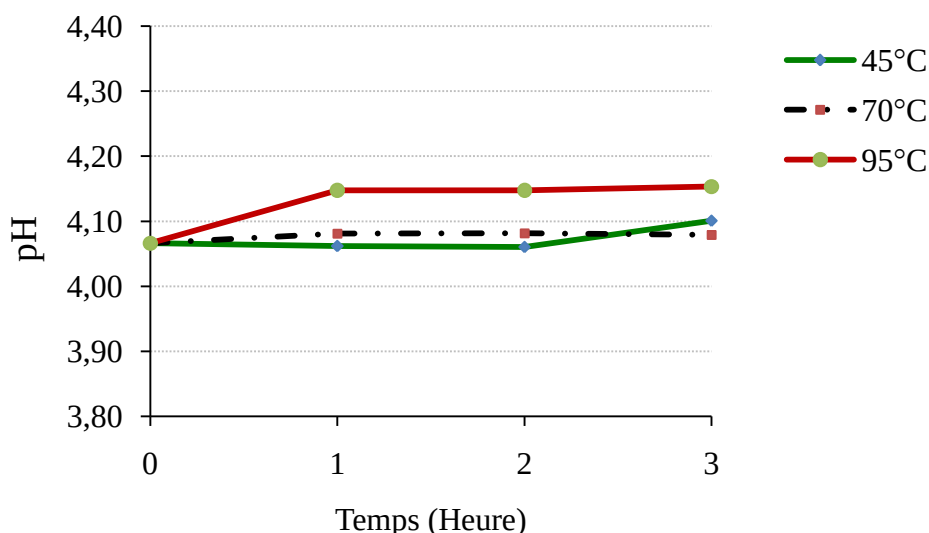


Figure 10 : Evolution de pH en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.

1.3. Acidité

L'acidité est un critère de qualité très important durant l'extraction et le stockage du miel, en raison de son influence sur la texture et la stabilité. Cette acidité provient d'acide organique dont certaine sont libre et d'autre sont combinés ce forme de lactones. Certains de ces acides proviennent de nectar ou de miellat, mais leur origine principale provient de sécrétions salivaires de l'abeille. L'acide gluconique est un dérivé de glucose, est le principal composé responsable de l'acidité du miel. Les acide non organique, acides phosphorique, sulfurique et chlorhydrique, contribuent dans l'acidité du miel (**Bogdanov et al., 2004 ; Gomes et al., 2010 ; Silva et al., 2009**).

L'acidité libre de l'échantillon du miel non traité est de 8,45meq / kg. Les températures de 45 et 70°C n'ont pas induits le changement de l'acidité au cours des trois heures d'incubation. Le traitement avec la température de 95°C provoque une augmentation significative de l'acidité de miel traité. L'analyse statistique montre que le temps d'incubation influence significativement sur la formation d'acides au cours des trois heures d'incubation avec 10,55, 11,60 et 12,63 meq / kg pour une, deux et trois heures, respectivement (Figure 11).

Les résultats obtenus dans cette étude pour les températures de 45 et de 70°C concordent avec ceux de **Mouhoubi (2007)**. Ce dernier auteur a montré que le stockage à 4, 25 ou à 35°C n'affecte pas l'acidité du miel. Cependant, **Fallico et al. (2004)** ont constaté que le traitement par chauffage à 50, 70 et 100°C induit une augmentation très significative de l'acidité libre du miel. L'augmentation de l'acidité au cours de l'incubation à 95°C constatée dans cette étude pourrait être expliquée par l'intervention de l'acidité lactonique. En effet, l'acidité lactonique est considérée comme la réserve d'acidité lorsque le miel devient alcalin, alors que l'acidité totale est la somme des acidités libre et lactonique (**Silva et al., 2009**).

Il est noté que l'acidité libre de miel avant et après traitement reste dans les limites autorisées par le Codex Alimentaire (<50 meq/kg).

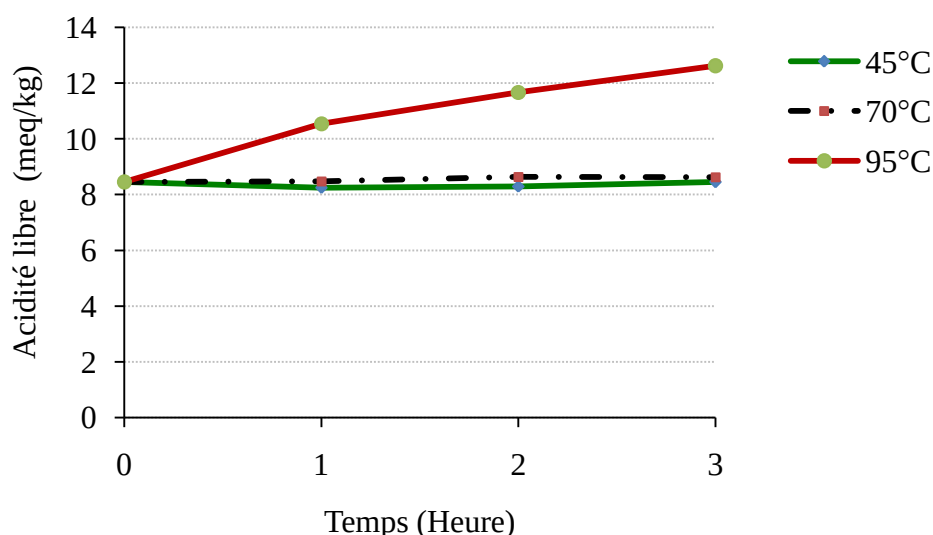


Figure 11 : Evolution de l'acidité libre en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.

1.4. Hydroxymethylfurfural (HMF)

L'évolution de la teneur en HMF des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C sont illustrés dans la figure 12. Le miel utilisé dans cette étude présente une concentration en HMF de 22,46 mg/kg qui est une teneur inférieure à la norme recommandée (40mg/kg), donc ce miel n'a pas subi un chauffage et il n'a pas été stocké dans des mauvaises conditions. Le chauffage à 45 et 70°C pendant les trois heures provoque une petite augmentation de la teneur en HMF (24,80 et 25,67 mg/kg, respectivement). Au cours des trois

heures d'incubation à 95°C, l'HMF augmente très considérablement 40,52 (1h), 80,54 (2h), 127,41 mg/kg (3h).

D'après **Al-Diab D. et Jarkas B, (2015)**, le traitement de chauffage à 50, 80 et 100°C induit une augmentation significative durant les trois heures d'incubation. (**Kesić et al., 2017**) montre qu'à 40°C, la teneur en HMF après 15, 30, 60 min évolue.

Selon **Fallico et al., (2004)**, cette augmentation est due à deux procédés ; la déshydratation des hexoses et la réaction de Maillard.

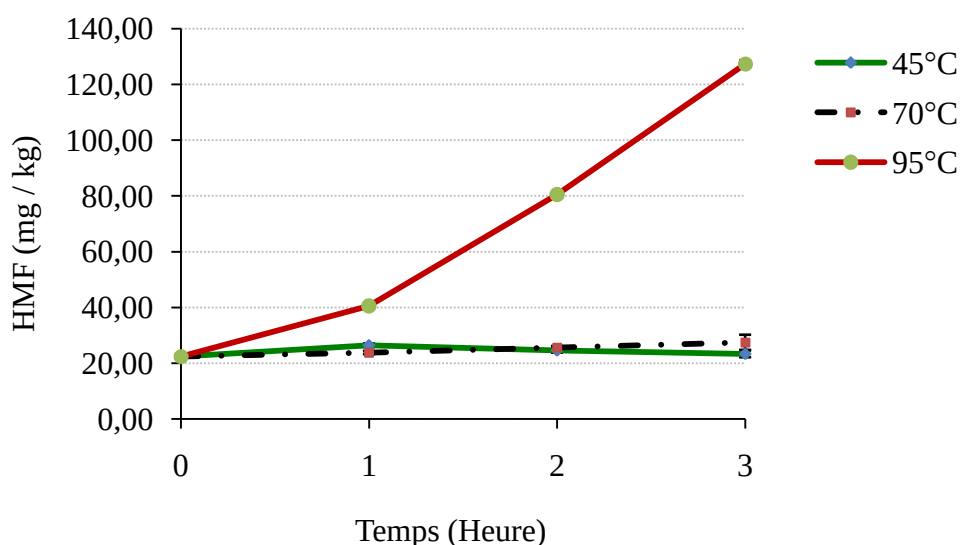


Figure 12 : Evolution de la teneur en HMF en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.

1.5. Couleur

L'évolution de la couleur des échantillons du miel (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C est présentée dans la figure 13. Les résultats présentent une stabilité de couleur. L'analyse statistique révèle que la couleur du miel chauffé à 95°C durant les trois heures l'incubation augmente de 25% (1h), 38% (2h) et 49% (3h).

Le chauffage à 95°C entraîne une intensification très prononcée de la couleur de l'échantillon, après 3 heures. L'assombrissement de la couleur est essentiellement dû à la caramélisation des sucres et à l'apparition de pigments bruns, issus du brunissement non enzymatique. Ce phénomène dépend de la quantité, du type et de la stabilité thermique des

acides aminés et des sucres du miel, ainsi que de son pH (Toor et Savage, 2006 ; Turkmen *et al.* , 2006).

Le chauffage du miel à 95°C est accompagné par une évolution significative de la couleur (figure 13).

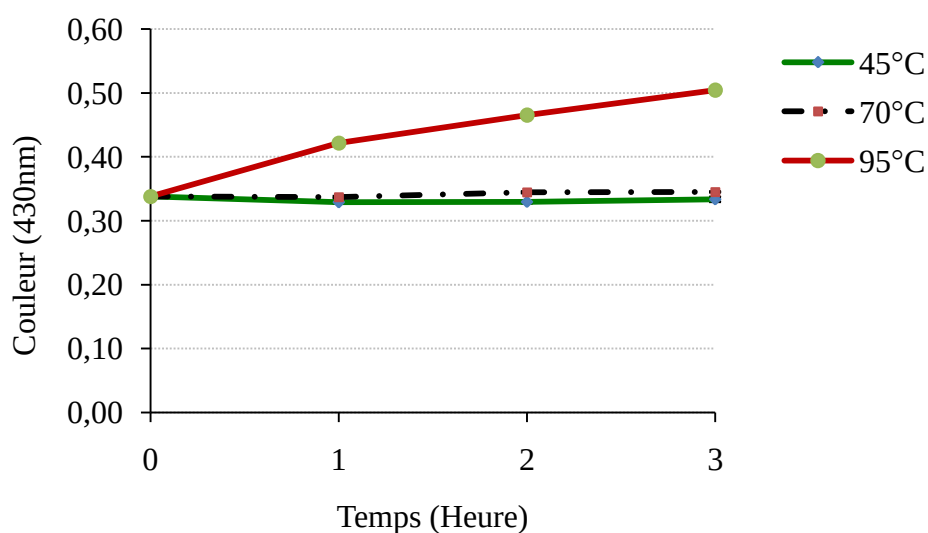


Figure 13: Évolution de couleur en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.

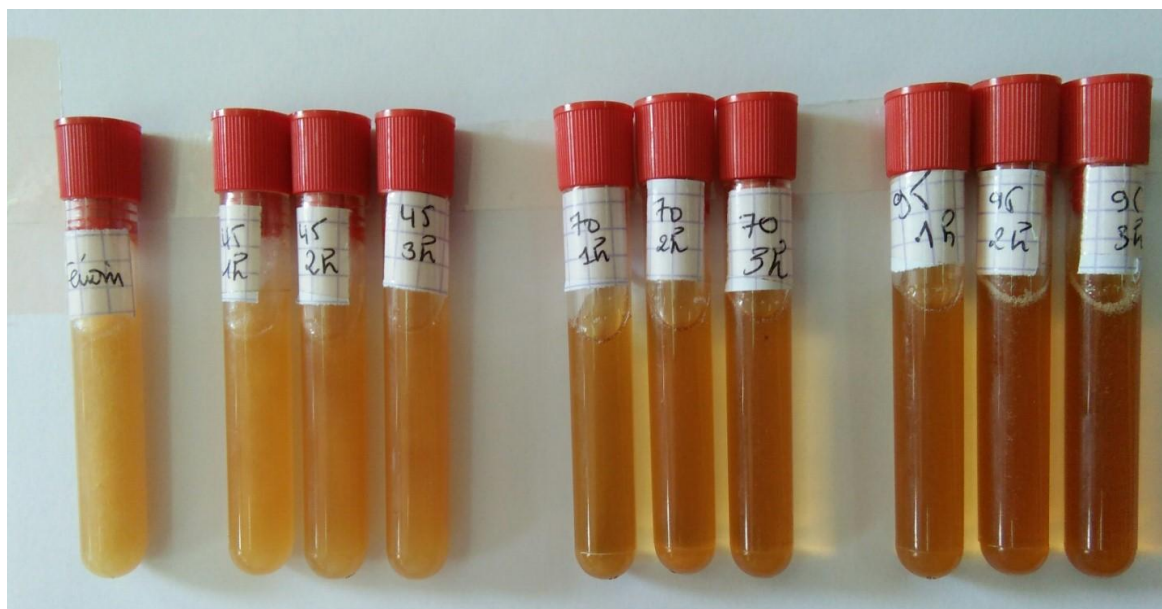


Figure14 : Photographie montrant la couleur initial du miel utilisé et l'évolution de cette couleur après chauffage à 45, 70, 95°C.

2. Paramètres antioxydants

2.1. Composés phénoliques

L'évolution de la teneur en composés phénoliques des échantillons du miel non traité et incubés à 45, 70 et 95°C sont illustrés dans la figure 15. La teneur du miel en composés phénoliques est de 66,86 mg EAG / 100 g.

Le chauffage du miel à 45 et 70°C montre une stabilité de la teneur en composés phénoliques. D'autre part, une augmentation de ces composés à 95°C est constatée après les trois heures d'incubation avec 77, 92 et 99 mg EAG /100 g.

L'étude de **Mouhoubi (2007)**, indique que la conservation à 4 et 20°C n'a pas d'impact sur la quantité des composés phénoliques. Ces résultats concordent aux résultats obtenus dans cette étude pour les températures 45 et 70°C. Cependant, la conservation à 35°C provoque une augmentation significative de la quantité des ces composés phénoliques **Mouhoubi (2007)**. Ces résultats concordent aux résultats obtenus dans cette étude pour la température de 95°C.

Selon **Toor et Savage (2006)**, cette teneur élevée en composés phénoliques au cours d'un traitement thermique résulte de glycosylés. Selon ces auteurs, un traitement thermique sévère est à l'origine de l'inactivation des enzymes qui pourrait oxyder les polyphénols. L'augmentation du nombre de groupement hydroxyles libre, provenant de l'hydrolyse des flavonoïdes.

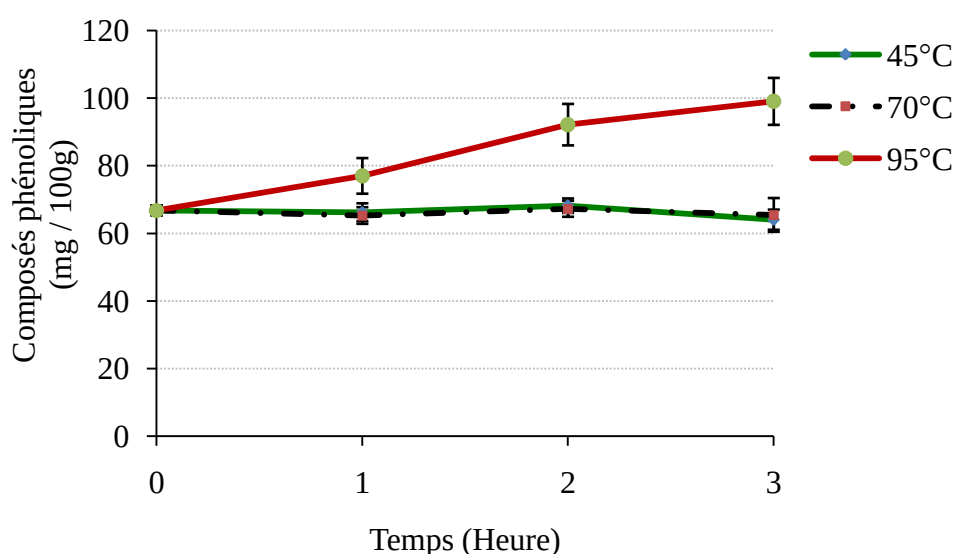


Figure 15 : Evolution de la teneur en composés phénoliques en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C.

2.2. Flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C sont illustrés dans la figure 16. Le miel utilisé dans cette étude présente une teneur en flavonoïdes de 18,65 mg / 100g.

Les résultats obtenus dans cette étude après une heure de chauffage à 45°C, montre que la teneur en flavonoïdes est légèrement élevée suivi par une diminution au cours de 2 et 3 heures. A 70°C cette teneur augmente au cours des trois heures de chauffage. Une légère augmentation (1^{er} et 2^{ème} heure) de la teneur en flavonoïdes est marquée à 95°C. La troisième heure marque une stabilité de la teneur en flavonoïdes.

Kenjeric *et al.*, (2007), ont rapporté que les flavonoïdes sont des composés relativement stable, résistant à la chaleur, à l'oxygène et au degré modéré d'acidité.

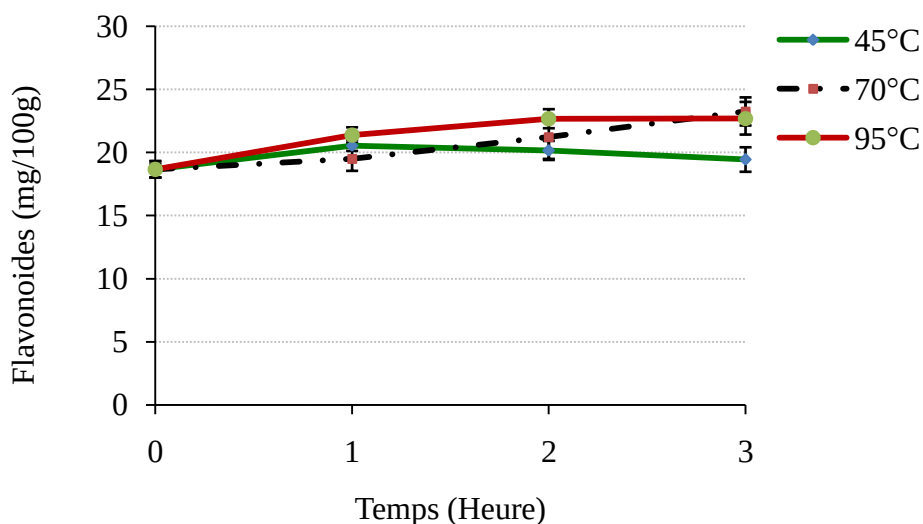


Figure 16 : L'évolution de la teneur en flavonoïdes en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.

3. Activité antioxydante

3.1. Activité antiradicalaire

L'évolution de l'activité antiradicalaire des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C sont illustrés dans la figure 17. L'activité antiradicalaire de l'échantillon non traité (témoin) est de 22,54 mg / 100 g.

Le chauffage à 45, 70°C marque plus ou moins une stabilité de l'activité antiradicalaire au cours des trois heures d'incubation. Cependant, à 95°C l'activité antiradicalaire est évoluée au cours des trois heures de chauffage.

L'étude de **Mouhoubi (2007)**, après un stockage à 4, 20, 35°C a montré que l'activité antiradicalaire varie de 14,34 à 64,23 %.

Turkmen et al., (2006), ont noté qu'une conservation de 12 jours à 50, 60, 70°C a provoqué une élévation de l'activité antiradicalaire du miel, qui est expliqué par l'apparition de produits de brunissement non enzymatique. Ceci est également noté dans la présente étude, laissant supposer que l'élévation de l'activité antiradicalaire de l'échantillon est due aux produits de la réaction de Maillard.

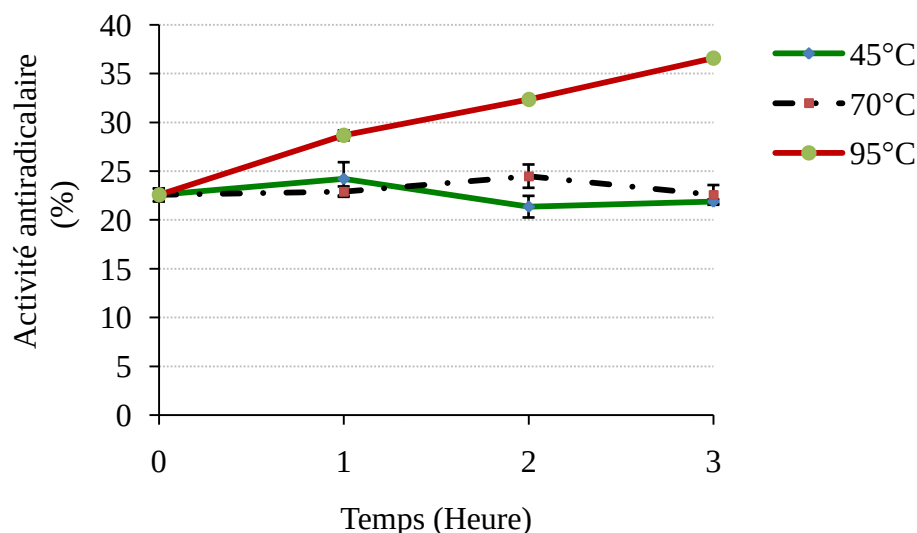


Figure 17 : L'évolution de l'activité antiradicalaire en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et chauffés à 45, 70 et 95°C.

3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C sont illustrés dans la figure 18. Le pouvoir réducteur du miel analysé est de 34,76 mg EAG / 100g.

D'autre part, il y a eu une augmentation graduelle de pouvoir réducteur des échantillons testés au cours de chauffage à 45, 95°C, excepté les échantillons chauffés à 70°C, qui marquent une légère diminution entre 2 et 3 heures.

Cette augmentation est expliquée par la libération des groupements hydroxylés des flavonoïdes **Mouhoubi (2007)**.

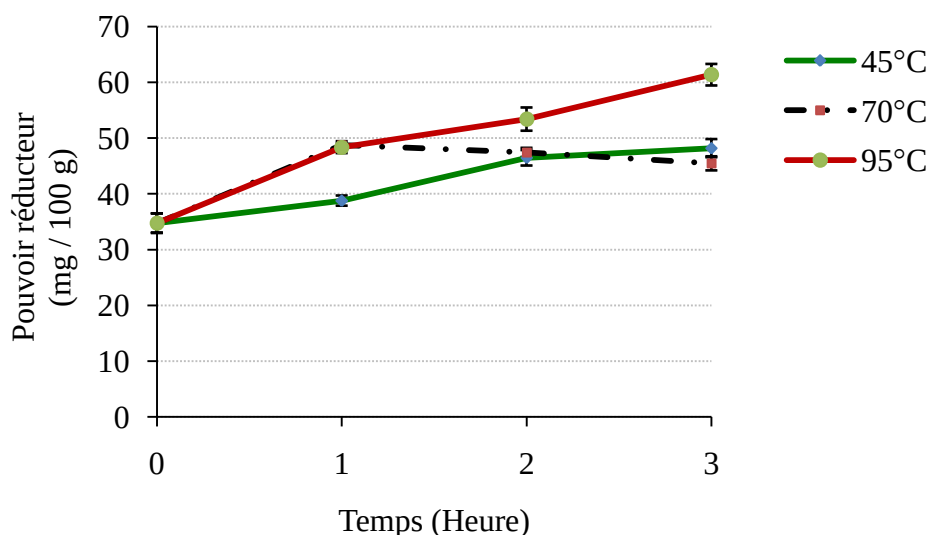


Figure18: L'évolution de pouvoir réducteur en fonction du temps des échantillons du miel non traité (témoin) et incubés à 45, 70 et 95°C.

4. Corrélation

4.1. Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire

Une corrélation très hautement significative est obtenue entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire ($r=0,91$) (Figure 19).

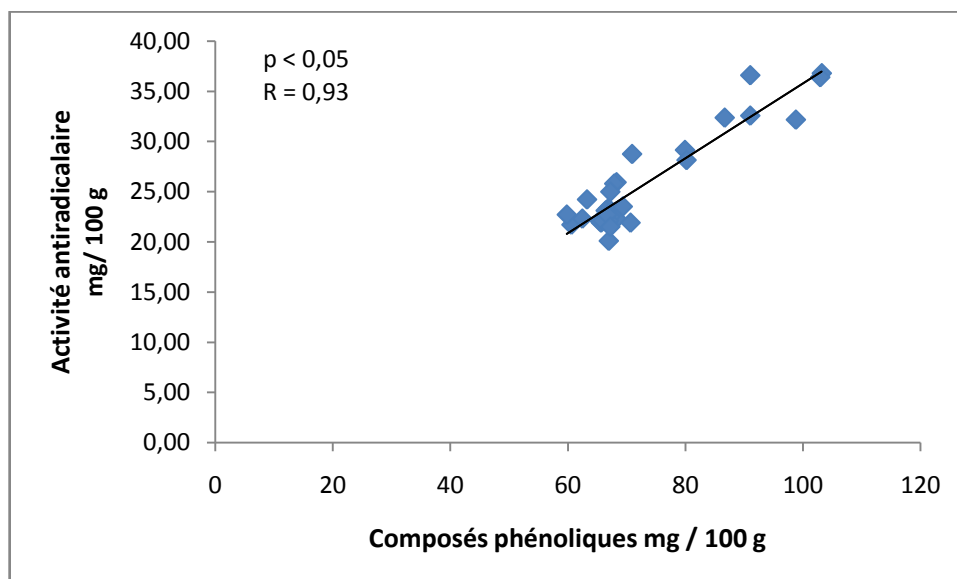


Figure 19: Corrélation entre les polyphénols et l'activité antiradicalaire.

4.2. Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et le pouvoir réducteur

Une corrélation très significative est obtenue entre la teneur en polyphénols et le pouvoir réducteur ($r = 0,70$) (figure 20).

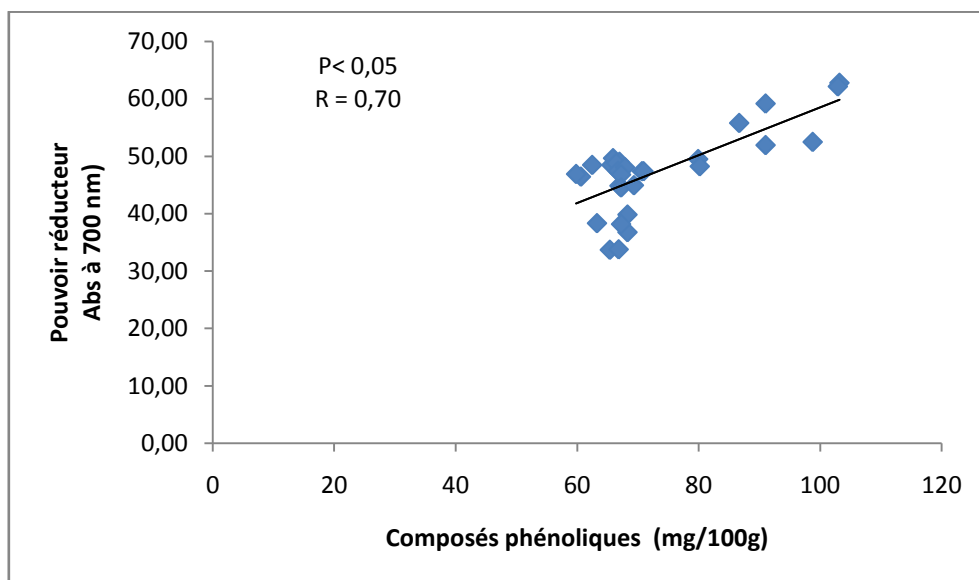


Figure 20 : Corrélation entre la teneur en polyphénols et le pouvoir réducteur.

4.3. Corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire

Une corrélation très significative est obtenue entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire ($r=0,72$) (Figure 21).

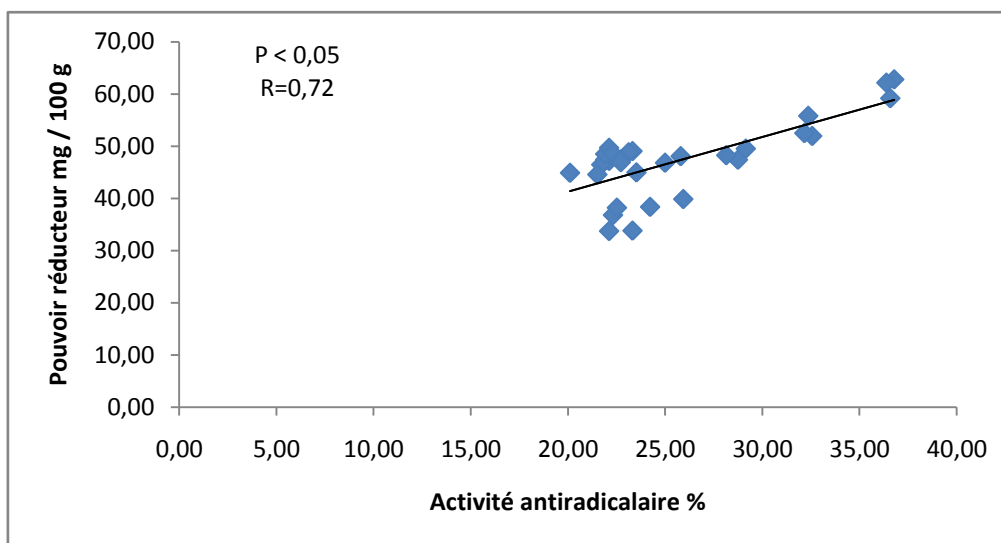


Figure 21 : Corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire.

4.4. Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire

Une corrélation significative est obtenue entre La teneur en flavonoïde et l'activité antiradicalaire ($r=0,59$) (Figure 22).

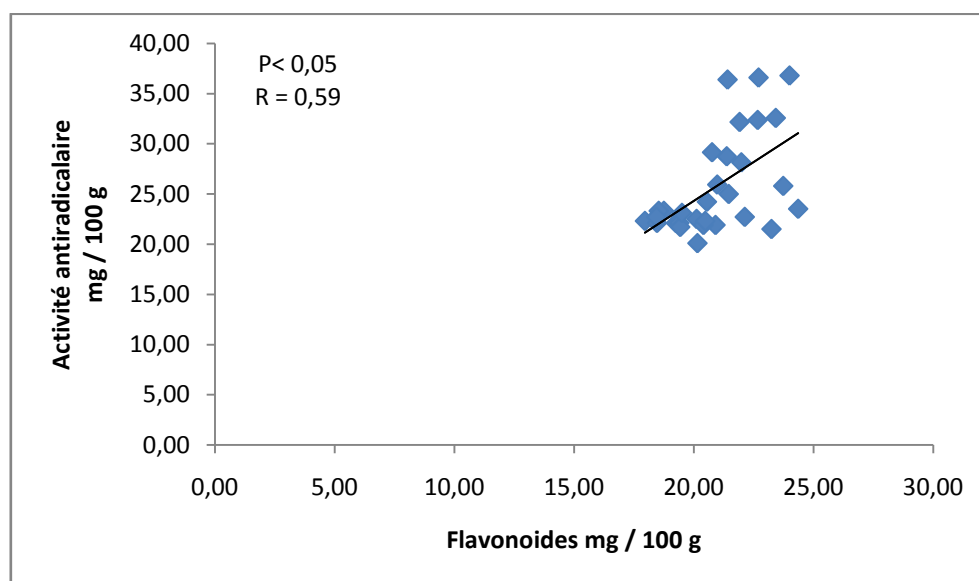


Figure 22 : Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire.

4.5. Corrélation entre les flavonoïdes et le pouvoir réducteur

Une corrélation significative est obtenue entre La teneur en flavonoïde et le pouvoir réducteur ($r = 0,61$) (figure 23).

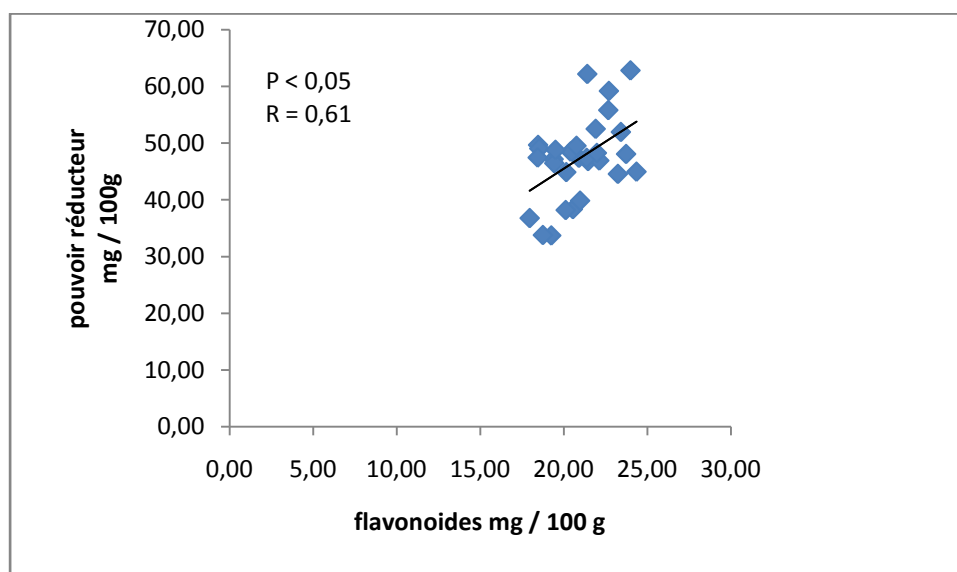


Figure 23 : Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et le pouvoir réducteur.

Conclusion

Conclusion

Notre études consiste à évaluer la qualité de l'échantillon du miel soumis au vieillissement accéléré. Les principaux paramètres étudiés sont ceux physico chimiques (pH, l'acidité libre, couleur, la teneur en HMF, teneur en eau), les antioxydants (polyphénols, flavonoïdes), l'estimation de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur, l'activité antiradicalaire).

Les résultats physicochimiques obtenus nous permettent de constater que notre miel s'accorde avec les normes établies par le codex Alimentarius. La valeur obtenue de la teneur en eau de l'échantillon du miel est de 17,5 %, et un pH de 4, ce qui signifie que notre échantillon est d'origine Nectar. Les valeurs établies par Codex Alimentarius confirment bien nos résultats. L'acidité libre est de 8,45 méq / kg. Cette valeur est dans la norme établie par Codex Alimentarius (< 50 mg/kg). La teneur en HMF est de 22,46 mg/kg. Cette valeur est inférieurs à la valeur établie par Codex Alimentarius (< 40 mg/kg). L'étude de l'activité antioxydante a révélé que les échantillons possèdent une activité antioxydante intéressante qui est en relation avec la teneur en composés phénoliques.

Par ailleurs, l'effet de traitement thermique sur l'échantillon du miel est également suivi par l'évaluation de quelques paramètres physico-chimiques (couleur, HMF, pH, acidité), des composés phénoliques et de pouvoir réducteur.

Le traitement thermique des échantillons à 45, 70 et 95°C pendant 1, 2 et 3 heures a présenté des effets significativement considérables sur la qualité du miel. Le traitement à 95°C a un effet plus prononcé pour la majorité des paramètres :

- La couleur des échantillons a marqué une augmentation significative, ceci est attribué aux produits formés au cours de la réaction de Maillard et de caramélisation.
- Le taux d'HMF a signé une élévation très remarquable, due à la déshydratation excessive des hexoses et à la réaction de Maillard.
- La teneur en polyphénols à marqué une augmentation, tandis que la teneur en flavonoïdes est stable due à sa résistance à la chaleur à l'oxygène et au degré modéré d'acidité.
- Une augmentation de l'activité antiradicalaire et de pouvoir réducteur qui était marqué durant ce traitement thermique.

Enfin, les traitements thermiques utilisés dans la présente étude, provoquent des changements dans la composition et les propriétés du miel, qui est noté par l'altération de sa qualité. L'effet de traitement thermique à 95°C est plus prononcé qu'à 45 et 70°C, qui est observé dans tous les paramètres d'analyses effectués.

Référence
Bibliographique

A

- **Achouri, I., Aboussaleh, Y., Sbaibi, R., Chemissi, H., & Bengueddour, R. (2015).** Comparaison de la qualité physicochimique du miel de Ziziphus sp (Sider) et d'Acacia sp (Samar) consommés aux Émirats Arabes Unis (UAE)[Comparison of the physico-chemical quality of honey Ziziphus sp (Sider) and Acacia sp (Samar) consumed in the United Arab Emirates (UAE)]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 10(1), 184.
- **Adrian J. et Frangne R. 2003.** La science alimentaire de A à Z. Ed. 3^{ème} édition TEC et DOC. Lavoisier, paris. ISBN : 2-7430-0568-8. PP : 320-323.
- **Ait Ameur L. 2006.** Evolution de la qualité nutritionnelle des protéines de biscuits modèles au cours de la cuisson a travers d'indicateurs de la réaction de Maillard : Intérêt de la fluorescence frontale. Thèse. DOCTORAT. Chimie analytique. Paris-Grignon Institut National Agronomique. 198.
- **Al M.L. ,Dezmirean D. , Moise A. Bobis O. ,Laslo L. et Bogdanov S. 2009.** Physicochemical and bioactive properties of different floral origine honeus from Romania. Food chemistry. 112: 863-867.Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie, Faculté des Sciences de la nature et de la terre. Université d'Oran, p. 28-43.
- **Al-Diab, D., & Bushra, J. (2015).** Effect of storage and thermal treatment on the quality of some local brands of honey from Latakia markets. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2015, 3(3), 328-334.
- **Aldina Kesić, Inela Zaimović, Nadira Ibrišimović-Mehmedinović, Almir Šestan 2017.** The Influence of Thermal Treatment on the Concentration of HMF in Honey. *International Journal of Environmental Chemistry*. Vol. 2, No. 1, pp. 1-5.
- **Al-Mamary M. Al-Meerri A., Al-Habori M. (2002).** Antioxidant activités and total phénolics of different types of honey. *Nutrition Research* 22. 1041-1047.

- **Alqarni AS, Owayss AA et Mohamed AA. (2012).** Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. Arab. J. Chem. (Inpress).
- **Ames N. B., Shigenaga M. K. and Hagen T.M. (1993).** Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proceeding of the National Academy of Science; 90 :7915-7922.
- **Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A et Legret P. (1994).** Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. J. Pharm. Belg. 49(6), 462-468.
- **Azeredo L. C., Azeredo M. A. A. , Souza S.R. de et Dutra V.M.L. 2003.** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. Food chemistry. 80 : 249-254.

B

- **Bath P K et Singh N. (1999).** A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. Food Chem. 67, 389-397.
- **Bogdanov S, Bieri K, Kilchenmann V, Gallmann P, Pollenanalyse I F et Kehrsatz. (2005).** Miels monofloraux suisses. Centre Suisse de recherches apicoles. 1-55.
- **BOGDANOV S, RUOFF K, ODDO PL, (2004):** physicochemical methods for the characterisation of unifloral honeys .apidologie 35. 17p.
- **Bogdanov S. 2002.** Harmonised methods of the international honey commission : 1-62. Bogdanov S, Martin P, Lü lman C, Borneck R, Morlot M, Heritier J, Vorwohl G, Russmann H, Persano-Oddo L, Sabatini A G, Marcazzan G L, Marioleas P, Tsigouri A, Kerkvliet J, Ortiz A et Ivanov T. (1997). Harmonised Methods of The European Honey Commission. Apidologie .1– 59.

- **Bogdanov S., Beiri K., Figar M., Figueiredo V., Iff D., Kanzing A., Stochli H. et Zurcher K. 1995.** Miel : définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. In << Livre Suisse des denrées alimentaires >>. Ed. OCFIM : 1-26.
- **Bogdanov S., et Blumer P. 2001.** Propriétés antibiotiques naturelles du miel. Revue Suisse d'Apiculture, 98 : 107-114.
- **Bogdanov S., Lüllam C., Martin P., Von Der Ohe w., Russman H., Vorwohl G., Oddo P. L., Sabatini A.G., Marcazzan G. L., Flamiini C., Morlot M., Lheriter J., Bornech R., Marioleas P., Tsiggouri A., Kerkevliet J., Ortiz A., Ivanov T., D'Arcy B., Mossel B. et Vit P. 1999.** Honey quality and international regulatory standard : review by the international honey commission. Revue Suisse d'apiculture. 80 : 61-69.
- **Bogdanov S., Ruoff k. et Oddo L. P. 2004.** Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honey : a review .Apidologie. 35 : 4-17.
- **Bogdanov, S. & Blumer, P. (2001).** Propriétés antibiotiques et naturelles du miel. Revue suisse d'Apiculture, 98(3): 107-114.
- **Boumendjel M., Boutebba A. et Houhamdi M. 2002.** Effets de traitement thermique sur les antioxydants de la Tomate. Th. Ingéniorat. Département de biochimie. Faculté des sciences. Université Baji-Makhtar d'annaba. 85.
- **Bouseta, A., Collin, S., & Dufour, J.-P. (1992).** Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dynamic headspace GC-MS system. Journal of Apicultural Research, 31(2), 96-109. BRUNEAU E. Les produits de la ruche. In *Le traité rustica de l'apiculture*. Paris,
- **BRUNEAU E 2002.** Les produits de la ruche. In *Le traité rustica de l'apiculture*. Paris, Rustica, p. 354-384.

C

- **Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2007).** Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food chemistry*, 100(4), 1728-1733.
- **Cheftel J. C. et Cheftel H. 1976.** Introduction a la thecnologie des aliments. Ed. *TEC et DOC. Lavoisier, Paris. I.S.B.N : 333-336. Pp : 333-351.*
- **Chouia, A. (2014).** *Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- **Claud J. et Ubbink J 2006.** Thrmal degradation of carbohydrate polymers in amorphous states : A physical study including colorimrtry. *Food Chemistry*. 96 : 402-410.
- **Codex Alimentarius (2001).** Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981, Revue, 1(1987) . 2, 1-7.
- **Codex norme pour le miel Codex Stan 1981.** Norme adoptée en 1981. Révisions en 1987 et 2001.
- **Cuevas-Glory, Pino Jorg A., Santiago Louis S., Sauri-Duch E. (2007).** Areview of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry* 103 (2007) 1032-1043.
- **Cuevas-Glory, Pino Jorge A., Santiago Louis S., Sauri-Duch E. (2007).** A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry* 103 (2007) 1032-1043.cutanées, p.6.

D

- **Delphine I. (2010).** Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies
Doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université Limoges, pp. 56-57.
Faculté de pharmacie. Université Poincaré de Nancy 1, pp.17-37.
- **Downey G., Hussey K., Kelly J. D., Walshe T. F. and Martin P.G. (2005).**
Preliminary contribution to the characterization of artisanal honey produced on the
island of Ireland by palynological and physico-chemical data. *Food Chemistry*, 91 :
347-354.
- **Downey, G. (2005).** *Learning Capoeira: Lessons in cunning from an Afro-Brazilian
art.* Oxford: Oxford University Press.

F

- **Fallico, B., Zappala, M., Arena, E., & Verzera, A. (2004).** Effects of conditioning
on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85(2), 305-313.

G

- **Gleiter R. A., Horn H. and Isengard H. D. (2006).** Influence of type and state of
crystallization on the water activity of honey. *Food Chemistry*. 96 : 441-445.
- **Gomes S, Dias L G, Moreira L L, Rodrigues P et Estevinho L. (2010).**
Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys
from Portugal. *Food Chem. Toxicol.* 48, 544-548.

- **Gomes S., Dias L. G. ,Moreira L. L., Rodrigues P. et Estevinho L. 2010.** Pysicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. Food and ChemicalToxicology. 48 : 544-548.
- **Gomes-caravaca A.-M., Gomes-Romero M., Arraez-Roman, Segura-Carretero A. and Fernandez-Gutierrez A. (2006).** Advance in anaysis of phenolics compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceeutical and Biomedical Analysis, 41 : 1220-1234.
- **Gonnet M. (1982).** Le miel : composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture, 1982 : 1-18.
- **Gonnet M., Lavier P. Louveaux J. 1964.** La pasteurisation des miels. *Annels de l'abeille*. 7 : 81-102.
- **Gonnet Michel., 1982.** Le miel (composition, propriétés, conservation). Ed Echauffour. Argentan, Ornes, 9-12 p.
- **Gülcin İ, Alici H A et Cesur M. (2005).** Determination of *in Vitro* Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Propofol. Chem. Pharma. Bull. 53 (3), 281-285.
- **Guler, A., Bakan, A., Nisbet, C. & Yavuz, O. (2007).** Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulated honey with sucrose (*Saccharum offiunarum* L.) Syrup. Food chemistry, 105 : 1119-1125.

H

- **Hoyet C. (2005).** Le miel: De la source à la thérapeutique. Thèse de pharmacie en pharmacie. Facultéde pharmacie. Universitépoincare de Nancy 1, pp.17-37.

- **Huchet E, Coustel J et Guinot L. (1996).** Les constituants chimiques du Miel. Méthodes d' analyses chimiques - Département Science de l'Aliment. 2ème Edition. OPIDA, pp.168-172.

J

- **Jean-prost et Médori P. 2005.** Apiculture (Connaitre L'abeille – Conduire le rucher). Ed. 7^e édition. TEC et DOC. Lavoisier, Paris. ISBN : 2-7430-0787-7. Pp : 379-419.
- **Jean-prost et Médori P. 2005.** Apiculture (Connaitre l'abeille- Conduire le rucher). Ed. 7^e édition. TEC et DOC. Lavoisier, paris. ISBN : 2-7430-0787-7. PP : 309-341.
- **Jean-prost P. 1987.** Apiculture (Connaitre L'abeille- Conduire le rucher). Ed. 6^e édition TEC et DOC. Lavoisier, paris. ISBN : 2-85206-375-1. Pp : 309-341.
- **Jing H. et kitts D.D. 2002.** Chemical and biochemical propertis of casein- sugar Maillard reaction products. *Food and Chemical Toxicology*. 40 : 1007-1015. *Journal Officiel de la république Algérienne*. 1998.

K

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

L

- **Lan X., Liu P., Xia S., Jia c., Mukunzi D., Zhang X., Xia W., Tina H. et Xiao Z. 2010.** Temperature effect on the non- volatile compounds of Maillard reactio products derived from xylose-soybean peptide system : Further insights into thermal degradation and cross-linking. *Food chemistry*. 120 : 967-972.

- **Lazarido A., Biliaderis C G. et Bacandritsos N. 2004.** Composition, thermal and rheological behavior of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering*, 64 : 9-21.
- **Lequet L. (2010).** Du Nectar au Miel de Qualité: Contrôle Analytique du Miel et Conseils Pratiques à l'Intention de l'Apiculteur Amateur. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Claude-Bernard Lyon I, France, pp.46-121.
- **Lobreau-Callen D, Clément M-C et Marmion V. (1999).** Les miels. In «Techniques de l'ingénieur », 1-20.

M

- **Makhloufi, C., Schweitzer, P., Azouzi, B., Oddo, L. P., Choukri, A., Hocine, L., & Dalbore, G. R. (2007).** Some properties of Algerian honey. *Apiacta*, 42, 73-80.
- **MARCEAU J, NOREAU J et HOULE E, (1994):** Les HMF et la qualité du miel. Volume 15 numéros 2. Fédération des Apiculteurs du Québec .service de zootechnie, MAPAQ.04p. Miels monofloraux suisses. Centre Suisse de recherches apicoles. 1-55. Mores R. , Lisk DJ. (1980). Elemental analysis of honeys from several nations. *Am. Bee. J.* 522-523.
- **Marceau J., Norea J. and Houle E. (1994).** Les HMF et la qualité du miel. *L'abeille*, 15 (2) : 1-5.
- **Meda A, Lamien C E, Romito M, Millogo J et Nacoulma O G. (2005).** Determination of total, phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91, 571– 577.
- **Meda A. (2005).** Utilisations thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activités biologiques des miels du Burkina Faso. Thèse de Doctorat de Sciences Biologiques Appliquées. Faculté des Sciences de la vie et de la terre. Université d'Ouagadougou, pp.15-22.

- **Melliou Eleni, Chinou Ioanna (2011).** Chemical constituents of selected unifloral Greek bee-honyes with antimicrobial activity. Food Chemistry 129 :284-290.
- **Molan P C et Russel K. (1988).** Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. J. Api. Res. 27(1), 62-67.
- **Morira L., R.F.A., De Maria C.A.B., Pietroluongo M. et Trugo L.C.2007.** Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during stroge under tropical conditions. Food chemistry.104 : 1236-1241.
- **Mouhoubi Z. 2007.** Influence de la temperature de conservation sur la qualité du miel : effet sur le pouvoir antioxydant. Thèse. Magistrat. Science Alimentaire. Département des Sciences Alimentaires. Université Abderhmane Mira de Béjaia. pp : 62.
- **Muli E., Munguti A. et Raina S. K. 2007.** Quality of Honeys Harvested and Processed Using Traditional Methods in Rural Areas of Kenya. ACTA VET. BRNO. 76 : 315-320.

N

- **Nair S. (2014).** Identification des plantes mellifères et analyses physico-chimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie, Faculté des Sciences de la nature et de la terre. Université d'Oran, p. 28-43.
- **Naithani V, Nair S et Kakkar P. (2006).** Decline in antioxidant capacity if Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. Food Res. Int. 39, 176-181.
- **Nanda v., Sarkar B. C., Sharma H. K. and Bawa A. S. (2003).** Physico-chemical properties and estimation of miniral content in honey produced from diffent plants in N orthern India. Journal of Food Composition and Analysis, 16 : 613-619.

O

- **Oh S-H., Lee Y-S., Kim J-H., Lee J-H. Lee J-W., Kim M. R., Yook H-S. et Byum M-W. 2006.** Effect of pH on non-enzymatic browning reaction during irradiation processing using sugar and sugar-glycin solutions. *Food Chemistry*. 94 : 420-427.
- **Ouchemoukh S. 2003.** Caractérisation physico-chimique d'échantillons de miel d'origine locale. Th. Magistrat. Département de Biologie Physico-Chimique. Biochimie. Université Abderhmane Mira de Béjaia. pp : 52.
- **Ouchemoukh S., Louileche H., et Schmeitzer P. 2007.** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Alegeian honeys. *Food Contol*. 18 : 52-58.

P

- **Paulus H., Kwakman S. and Sebastian A. j. Zaat (2012).** Antibacterial Components of honey. *IUBMB Life*. 64 (1) : 48-55.
- **PHAM-DELEGUE M, 1999.-H.** *Les abeilles*. Genève, Minerva, p 206.
- **Phillippe Jean Marie., 1991.** La pollinisation des abeilles. Ed edisud la calade. 13090 Aix en .Provence. Pratiques à l' Intention de l' Apiculteur Amateur. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université.
- **PREDRIX J.L, (2003):** critères de qualités du miel. Bulletin de liaison N°41.

R

- **Rossant A. (2011).** Le miel : un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de Rustica, 2002, p. 354-384.
- **Rufian-Henares J.A et Morales F.J. 2007.** Functional properties of melanoidins : In vitro antioxidant, antimicrobial and antihypertensive activities. *Food Research International*. 40 : 995-1002.

S

- **Sanz M L, Gonzalez M, Lorenzo C, Sanz J et Martinez-Castro I. (2005).** A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chem*. 91, 313- 317.
- **Saxane S., Gautam S. et Sharma A. 2010.** Physical, biochemical and antioxydant proprieties of some Indian honeys. *Food Chemistry*. 118 : 391-397.
- **SCHWEITZER P, (2005):** encore des miels hors normes. *Revue l'abeille de France* N°917 .laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. 03p.
- **Soria, A. C., González, M., de Lorenzo, C., Martínez-Castro, I., & Sanz, J. (2005).** Estimation of the honeydew ratio in honey samples from their physicochemical data and from their volatile composition obtained by SPME and GC-MS. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(5), 817-824.

T

- **Terrab A. Diez M. J. et Herdia D. et Heredia F. J. 2004.** Characterisation of spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral and contents. *Food Chemistry*. 88 :537-542.

- **Terrab, A., Díez, M. J., & Heredia, F. J. (2002).** Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79(3), 373-379.
- **Toor, R. K. & Savage, G. P. (2006).** Effect of semi-drying on the antioxidant components of tomatoes. *Food chemistry*, 19:1–10.
- **Tojonirina R R. (2008).** Caractéristiques nutritives et organoleptiques de quelques variétés de miel de Madagascar. Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme d' Etudes Approfondies en Biochimie appliquée aux sciences de l' alimentation et de la nutrition. Faculté des Sciences. Université d'Antananarivo, p.3.Vie, Biskra, pp.6-7.
- **Tosi E. A. Ré E. Lucero H. and Bulacio L. (2004).** Effect of honey high temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena fungal inhibition. *Lebensm-Wiss. U.-Technol.*, 37 : 669-678.
- **Tosi E., Ciappini M., Ré E. et Lucero H. 2002.** Honey thermal treatment effects of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food chemistry*. 88 : 537-542.
- **Tosi, E., Ciappini, M., Re, E., & Lucero, H. (2002).** Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77(1), 71-74.
- **Turhan I., Tetik N., Karhana M., Gurelb F. et Tavukcuoglu H. R. 2008.** Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT*. 41 : 1396-1399.
- **Turkmen N., Sari F., Poyrazoglu E.S. et Velioglu Y.S. 2006.** Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry* 95 : 653-657.
- **Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S. & Velioglu, Y. S. (2006).** Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. 95:653–657.

W

- **Wang, X.H., Gheldof, N. & Engeseth, N.J. (2004).** Effect of processing and storage on antioxidant capacity of honey. *Journal of Food science*, 69 : 96 –101.
- **Weston R J. (2000).** The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey. *Food Chem.* 71, 235-239.

Y

- **Yao L. Dattaa N., Tomas-Barberan F. A., Ferreres F., Martos I. et Singanusongc R. 2003.** Flavonoides, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chemistry*. 81 : 159-168.

Z

- **Zamora M. C. et chirifi j. 2006.** Determination of water activity change due to crystallization in honey from Argentina. *Food Control*. 17 :59-64.

Annexes



Figure 1 : Un rucher (Photo prise au domaine apicole de Mr Kerner, novembre 2010).

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

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

Tableau 1 : Composition moyenne du miel (Huchet, 1996).

Constituants		Pourcentage %	Remarques
Eau		17	Exception : le colza
Glucides	Fructose	38,2	
	Glucose	31,3	
	Saccharose	1,3	
	Disaccharide réducteur	7,3	
	Sucre supérieur	1,5	
	Autres dérivés glucidiques (acide lactone)	0,6	
Acidité totale en acide gluconique		0,57	acide gluconique formé à partir du glucose par une glucoseoxydase
Cendres		0,17	Miels de miellat
Protides		Négligeables	
Présence d'enzymes			B et α amylase, saccharase
Vitamines		peu	Essentiellement les vitamines B
Minéraux, Lipides		Peu	

Tableau 2 : Sels minéraux et oligo-éléments du miel (Mores et al, 1980).

Les constituants minéraux	Quantité en mg/kg	Les constituants minéraux	Quantité en mg/kg
Potassium	200-1500	Manganèse	0.2-10
Sodium	16-170	Chrome	0.1-0.3
Calcium	40-300	Cobalt	0.01-0.5
Magnésium	7-130	Nickel	0.3-1.3
Fer	0.3-40	Aluminium	60
Zinc	0.5-20	Cuivre	0.2-6.0
Plomb	0.5-20	Cadmium	< 0.005-0.15

Tableau 3 : Le temps nécessaire à la formation de 40mg HMF/ kg à différentes température de stockage (PHILIPPE, 1999).

Température de stockage	Temps nécessaire à la formation de 40mg HMF/kg
10°C	10-20 années
20°C	2-4 ans
30°C	0,5-1 an
40°C	1-2 mois
50°C	5-10 jours
60°C	1-2 jours
70°C	6-20 heures

Tableau 4: Table de CHATAWAY (Bogdanov, 2002).

Indice de réfraction à (20°C)	Teneur en eau (g/ 100 g)	Indice de réfraction à (20°C)	Teneur en eau (g/ 100 g)
1,5044	13,0	1,4890	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	1,4785	23,0
1,4935	17,2	1,4780	23,2
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4995	18,8	1,4740	25,0

Tableau 5 : Normes de certains paramètres physico-chimiques du miel selon le Codex Alimentarius, 2001 et le Journal Officiel des Communautés Européenne, 2002.

Paramètres physicochimiques	Valeur limites
Teneur en eau	Miels en générale < 20 %
Teneur en sucre	Miels de fleurs < 60%
Glucose et fructose	Miels miellat ou mélange avec des miels de fleur > 45%
Saccharose	Miels de général < 5%
Sucre réducteur	Miels de fleurs > 65
Acidité libre	Miels de miellat ou mélangés avec des miels de fleur > 6
Teneur en HMF	Miels en général < 50 mg / kg Miels en général < 40 mg / kg
Teneur en cendres	Miels de nectar < 0,6% Miels de miellat ou mélanges avec miels de fleur < 1%
Conductivité électrique	Miels de nectar < 0,8 ms/ cm Miels de miellat > ms/ cm
Indice de diastasique	Miels en général > 8 Unité de Schade

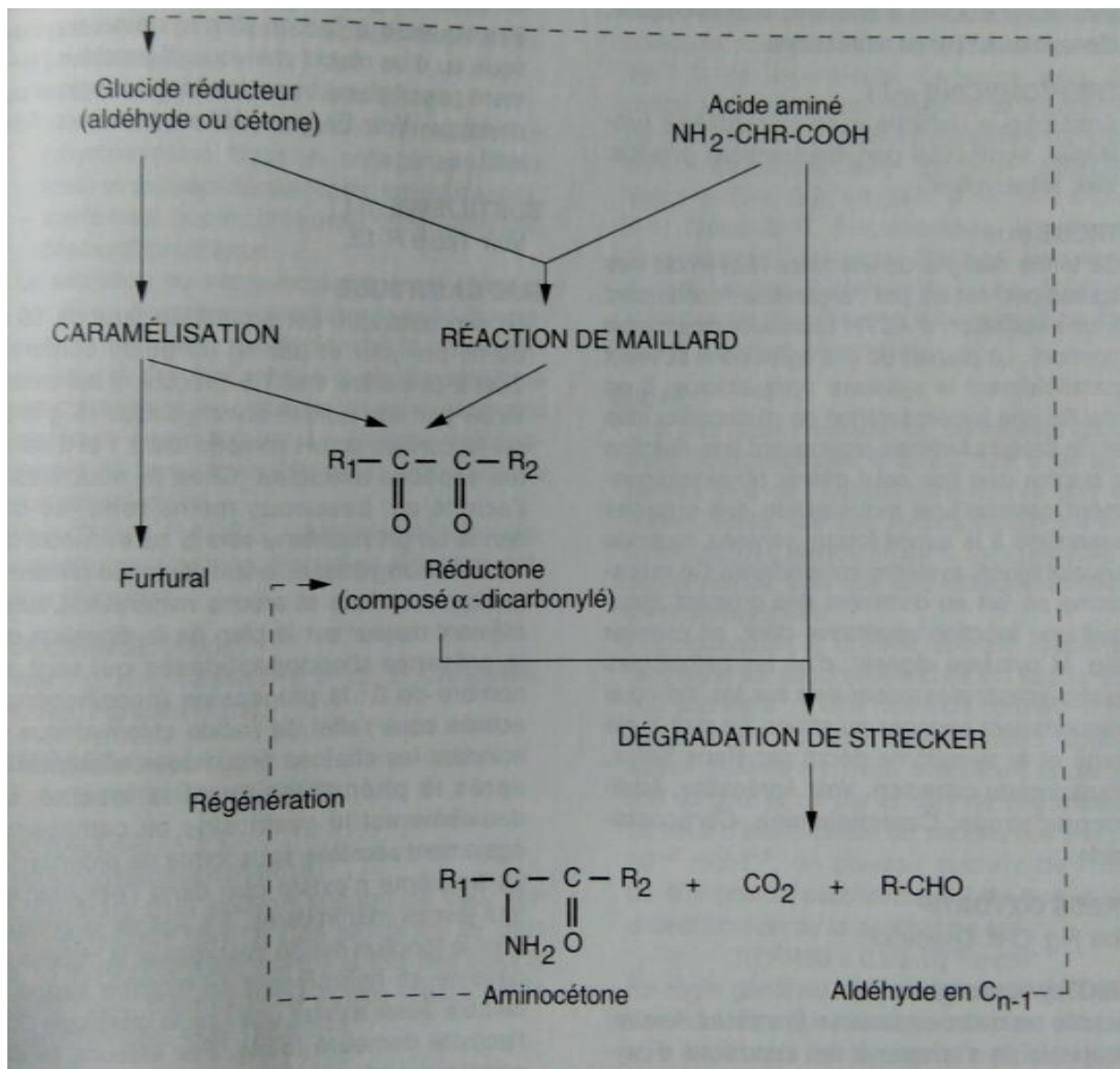


Figure 3 : Dégradation de strecker et caractère autocatalytique de la réaction de Maillard (Adrian *et al.*, 2003).

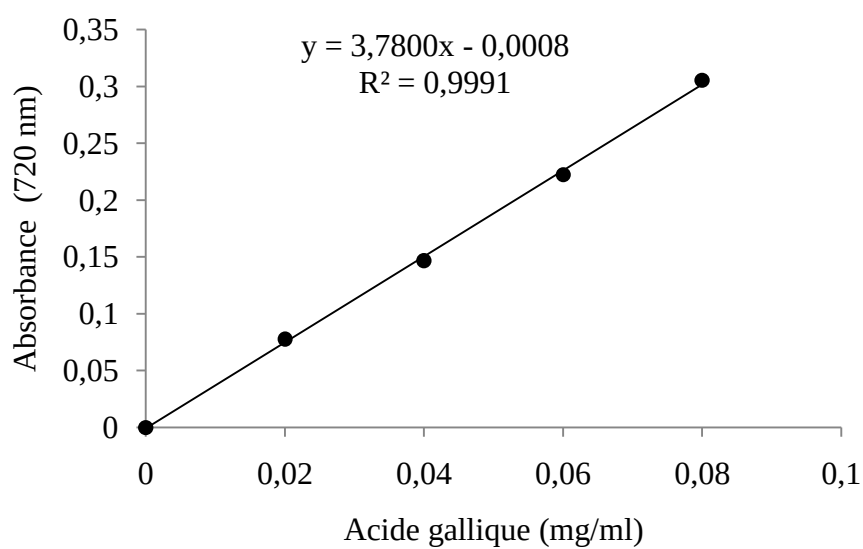


Figure 4 : Courbe d'étalonnage des polyphénols.

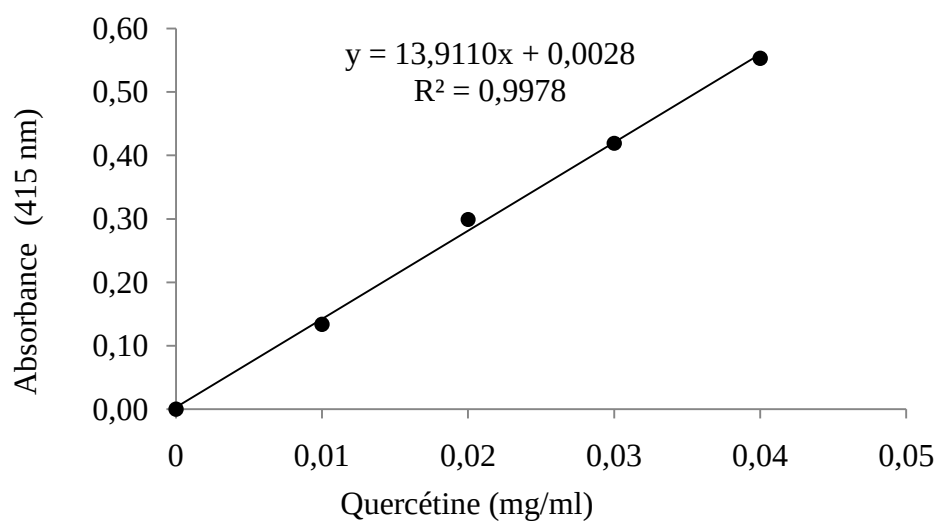


Figure 5 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

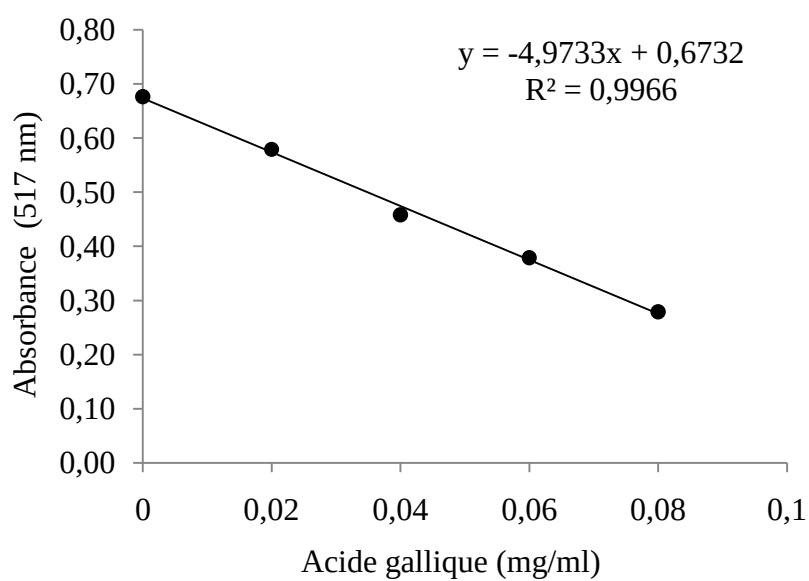


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'activité antiradicalaire.

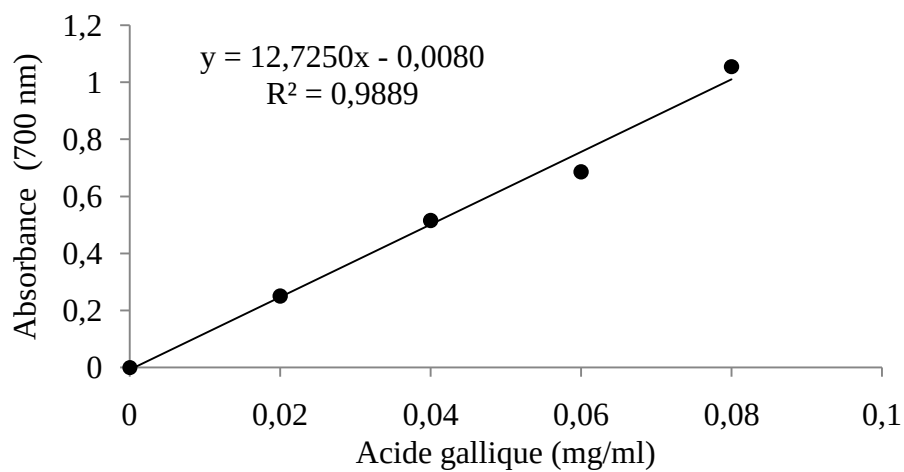


Figure7 : Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur.

Résumé

Le but de ce travail est d'étudier l'effet de la température à 45, 70 et 95°C pendant 1, 2 et 3 heures sur les propriétés physico-chimiques et l'activité antioxydantes du miel. L'analyse des paramètres physico-chimiques du miel avant le chauffage répondent aux normes exigées par le codex Alimentarius. Les résultats obtenus indiquent que l'effet de chauffage à 95°C est plus prononcé que celui de 45 et 70°C. En effet, la teneur en flavonoïdes n'a pas marqué de modifications en restant stable au cours de chauffage. D'autre part, des modifications sont notées telles que l'augmentation de l'acidité libre, de la teneur en composés phénoliques, du pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire. Ainsi que l'augmentation de l'HMF et de la couleur. Cette augmentation est reliée au vieillissement de ce dernier.

Mots clés : miel, qualité, chauffage, antioxydants, propriétés physico-chimiques.

Abstract

The objective of this work is to study the effect of the temperature (45,70 and 95°C) during 1,2 and 3 hours on the physicochemical properties and the activity antioxydante of honey. The analysis of the physicochemical parameters of honey before the heating meets the standards required by the Alimentarius codex. The results obtained indicate that the effect of heating with 95°C is more marked than that of 45 and 70°C. Indeed, the content of flavonoïdes did not mark modifications while remaining stable during heating. In addition, of the modifications are noted such as the increase in free acidity, of the content of phenolic compounds, the reduction and the antiradicalaire activity. As well as the increase in the HMF and color. This increase is connected to the ageing of this last.

Key words: physicochemical properties, honey, quality, heating, antioxydante activity.