

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence Sciences & Techniques

«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

**Caractérisation physico-chimique et Microbiologique
du Miel de la région Fès-Meknès**

Présenté par :

-Mr. TAMEHMACHTE Amine

Encadré par :

-Pr. Mohammed Ali TAHRI JOUTI (FSTF)

- Mme GUIRRO Ibtissame (INRA)

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

- **Mme. GUIRRO Ibtissame (INRA_Meknès)**
- **Pr. Mohammed Ali TAHRI JOUTI (FSTF)**
- **Pr. El Houssaine HARKI (FSTF)**

_Le 12/06/2019 à 10h

Année universitaire

2018/2019

Dédicaces



A mes chers parents

A mes chers frères

A ma chère sœur

A mes chers amis

A tous ceux qui me sont chers

Remerciements

Tous mes remerciements vont à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail en particulier, je tiens à remercier en premier lieu Dieu le Tout Puissant de m'avoir donné courage et santé pour achever ce travail.

Je tiens à remercier aussi tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à élaborer ce modeste travail.

Je tiens à remercier particulièrement :

- *Madame Ibtissam Guirro pour avoir accepté d'encadrer ce travail au niveau de l'INRA et pour son support inconditionnel*
- *Pr AARAB Lotfi chef de la filière BHSA, pour son aide précieuse.*
- *Pr HARKI El houssain membre de jury de la soutenance*
- *Pr Mohammed Ali TAHRI JOUTI pour avoir encadré patiemment ce travail, pour ses précieuses remarques constructives et son suivi pour mener à terme ce travail.*
- *Mr charaf eddine et Amrtib Tijani équipe de travail de qualipôle.*

Résumé :

En vue de caractériser le miel, on a essentiellement mesurés les paramètres physico-chimiques (teneur en eau, couleur, acidité, conductivité électrique...), Egalement l'activité antioxydante et le profil hygiénique. Cette étude a été menée sur 10 échantillons de miel prélevés au hasard dans la région Fès-Meknès . Ces caractéristiques sont plus fréquemment utilisées comme meilleurs indicateurs de la qualité et stabilité du miel, et ayant une grande influence sur ses propriétés organoleptiques. Ces mesures ont été effectuées au niveau de l'INRA dans le laboratoire de la technologie alimentaire au qualipôle alimentation de Meknès.

Les résultats montrent que pour les échantillons de miel, dotés d'une importante activité antioxydante, tous les résultats des paramètres physico-chimiques montrent que les échantillons se situent dans les normes de contrôle de qualité(**conformes**). En plus, les analyses microbiologiques confirment que nos échantillons de miel présentent un profil microbiologique parfaitement acceptable, aucun des échantillons analysés ne contenait des microorganismes ayant un impact ni sur la qualité organoleptique, ni sur la santé des consommateurs.

Mot clés : Miel ; antioxydants ; paramètres physico-chimiques ; analyses microbiologiques

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	
CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	1
1. LE MIEL.....	2
1.1 Définition.....	2
1.2 Origine botanique :	2
1.2.1 Miel de nectar.....	2
1.2.1.1 Miels monofloraux:	2
1.2.1.2 Miels polyfloraux	2
1.2.2 Miel de miellat:.....	2
2. La composition du miel :.....	2
2.1 Eau.....	3
2.2 Sucres	3
2.3 Sels minéraux et oligo-éléments :.....	3
2.4 Les protéines.....	3
2.5 Composés phénoliques :	4
2.6 Les vitamines:	4
2.7 Les acides :	4
2.9 Lipides :.....	4
3. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU MIEL.....	5
3.1 Densité:.....	5
3.2 Viscosité:	5
3.3 Solubilité:	4
3.4 pH:	4
3.5 Activité de l'eau.....	4
3.6 Conductivité électrique.....	5
3.7 Indice de réfraction	5
CHAPITRE2:PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE	9
I. ETUDE DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DU MIEL.....	10
1. Matériel et méthodes	10
1.1 Caractérisation physico-chimique du miel :.....	11
1.1.1 Humidité.....	11
1.1.2 Aw	11
1.1.2 Cendres.....	12
1.1.3 Conductivité.....	12
1.1.4 Couleur.....	13
1.1.5 pH et acidité.....	13
2. ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DU MIEL.....	14
Résultats et discussion	15
CHAPITRE 3: EVALUATION DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE.....	22
I. EVALUATION DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DU MIEL.....	23
1. Matériels et méthodes :.....	23
1.2 Les milieux de culture utilisés et leur préparation :.....	23
1.2.1 PCA :	23
1.2.3 VRBL :	23
1.3 Recherche et dénombrement :	24

1.3.1 Recherche et dénombrement des FMAT :.....	24
1.3.2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :	24
2. Résultats de l'analyse de la Qualité microbiologique du miel :.....	25
2.1 La flore aérobic mésophile Totale(FAMT) :	26
2.2 Les coliformes fécaux et totaux :	26
Conclusion et perspective :	27
Références bibliographiques:	28

INTRODUCTION GENERALE :

Il a été rapporté que le miel contient jusqu'à 200 substances, il est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle. Le miel est l'un de ces produits possédant de nombreux effets thérapeutiques, tels que l'effet Cardio-protecteur, anticancéreux, antimicrobien et anti-inflammatoire. En plus de ses propriétés thérapeutiques, le miel possède des qualités nutritionnelles importantes. Ces apports complexes ont été rapportés à sa composition diversifiée en molécules biologiques (200 composants), dont, le fructose et le glucose sont les principaux composants qui en font une bonne source d'énergie pour les humains. D'autres constituants tels que les protéines, les acides aminés libres, les acides organiques, les composés phénoliques, les vitamines et les traces de minéraux sont également présents dans le miel, et sont responsables de plusieurs propriétés thérapeutiques.

Au Maroc, le miel est largement utilisé en médecine traditionnelle. Malheureusement, il n'y a pas assez d'enquêtes sur sa qualité et sa caractérisation, et 80% de la productivité est due à l'apiculture traditionnelle.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le miel :

1.1 Définition :

La définition donnée en 1969 par la commission du codex alimentaire FAO-OMS est la suivante « Le miel est la substance sucrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions de partie vivante de plantes, ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques et emmagasinent dans les rayons de la ruche.

1.2 Origine botanique:

Selon leur origine botanique, les miels sont séparés en deux catégories distincts

(Livia Persano ODDO, Stefan BOGDANOV 2004 (1)) :

1.2.1 Miel de Nectar :

✚ Le dictionnaire Larousse définit le nectar comme suit : « C'est un liquide sucré plus ou moins visqueux riche en glucide, sécrété par les nectaire des plantes ».

✚ Le miel de nectar est celui obtenu essentiellement à partir des nectars des fleurs, ils contiennent environ 90% de sucre, des acides organiques, des protéines, des acides aminés libres et des composés inorganiques.

→ Les miels de nectar sont classés en miel **monofloraux** et **polyfloraux**:

1.2.1.1 Miels monofloraux(Unifloraux) :

Un miel monofloral est provient principalement d'une seule origine botanique (Une fleur)

(Bogdanov et al, 2004). Il n'existe pas de miel monofloral pur à 100%

1.2.1.2 Miels polyfloraux(Multifloraux) :

Les miels multifloraux sont les plus communs et provient de plusieurs sources botaniques, quand deux floraisons arrivent en même temps, les abeilles préfèrent le nectar qui possède la plus grande concentration de sucre.

1.2.2 Miel de miellats:

C'est le miel qui provient principalement d'excrétion d'insectes butineurs (Hemiptera) laissés sur les parties vivantes de plantes ou de sécrétion de parties vivantes de plantes (Codex Stan, 12-1981 (2)), il est plus visqueux que le miel de nectar, plus sombre, moins humide, plus riche en azote, en acide organique, en minéraux, en sucre complexe (Barbara, 2009).

2. Composition du miel :

Le miel contient en moyenne environ 75 % de sucre, principalement du **glucose** et du **fructose** dont le pouvoir sucrant est plus important que celui du **saccharose**. Le miel s'utilise donc en plus petites quantités que le sucre. Le saccharose et le maltose sont aussi présents mais en beaucoup plus petites proportions. Il contient aussi 18 % **d'eau** environ, 1% de **pollen** et 2 à 3 % **d'acides aminés**, **vitamines** (essentiellement des vitamines du groupe B) et **oligoéléments**. Cette richesse varie selon la spécificité de chaque miel <http://chefsimon.com/articles/produits-composition-et-proprietes-du-miel>

2.1 Eau :

La teneur en eau est l'une des caractéristiques les plus importantes des miels. Elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique, et dans certaine mesure sa cristallisation (Terrab et al. 2002)

En général, la teneur en eau se situe dans la plupart des cas entre **15-20 g/100 g** de miel, sauf quelques cas exceptionnelles (miel de callune dont la teneur en eau est normalement supérieur à 23%). Un excès d'eau augmente le risque de fermentation (BOGDANOV et al. 2004 (3)).

2.2 Les sucres :

Les sucres représentent de 95 à 99% de la matière sèche des miels. Chaque miel susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres ce sont des mono, di,tri,ou polysaccharides représentaient les 80% du poids total de miel. Deux d'entre eux ; **le glucose** et **le fructose**, dominant nettement et représentent près de 80 % (Gleiter et al. 2006(4)). Les proportions en glucose et fructose ne sont jamais équilibrées, ceci est dû à la composition des nectars en sucre réducteurs avec des quantités variables (Miriam et al. 2005(5)). D'autres sucres tels que le maltose 7,2%, le saccharose 1,5% et quelque oligosaccharide 4,2% sont présents dans le miel (Shin et Ustinol, 2005(6)).

2.3 Sels minéraux et oligo-éléments :

0,1 à 0,2% de sels minéraux mais dans le cas des miellats cela peut s'élever jusqu'à 0,5%. On trouve une trentaine d'espèces : **aluminium, argent, arsenic, baryum, béryllium, brome, calcium, césium, chlore, chrome, cobalt, cuivre, fer, lithium, magnésium, manganèse**, Tous représentent des oligo-éléments, c'est-à-dire que ce sont des éléments purs et indispensables à notre organisme mais en très faible quantité. La présence de minéraux varie selon les miels mais le potassium sera toujours présent et en quantité dominante par rapport aux autres sels minéraux. De plus, on sait que plus la couleur du miel sera foncée plus celui-ci contiendra de minéraux.

<http://lpvtpemielle-monsite.com/pages/ii-la-composition-du-miel/les-elements-composant-le-miel.html>

2.4 Les protéines :

-Moins de 1% de protides (aussi appelés protéines) néanmoins le miel contient de très nombreux acides aminés. En effet, il y a des traces de cinq acides aminés qui sont essentiels à notre métabolisme comme la **leucine**, la **lysine**, la **phénylalanine**, la **valine** et l'**isoleucine** ainsi que d'autres acides aminés que sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'alanine, l'arginine, l'asparagine, la cystine, la glycine, l'histidine, la méthionine, la proline, la sérine, la tryptophane et la tyrosine.

Remarque : la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,04 <http://lpvtpemielle-monsite.com/pages/ii-la-composition-du-miel/les-elements-composant-le-miel.html>

2.5 Les composés phénolique :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales. Parmi les structures identifiées dans le miel on trouve : les acides phénoliques (acides benzoïques et cinnamiques), les flavonoïdes, (flavones et les flavanones) en proportion variable (AL-Mamary et al. 2002(7)). Les phénols interviennent sur la couleur par l'intermédiaire des flavonoïdes susceptibles de contribuer à la coloration jaune . D'autre part, les flavonoïdes les mieux représentés dans le miel sont la chryisine, l'apigénine; l'hespétine, la pinocembrine, la pinobnksine et la galangine.

2.6 Les vitamines :

Il contient de rappeler tout d'abord que le miel est un aliment pauvre en vitamine (Bogdanov et Matzke ,2003(8)). les vitamines proviennent surtout des grains de pollen en suspension suite à une filtration poussée on les élimine en grande partie et par conséquent il représentent une quantité pratiquement négligeable dans les miels filtrés.

2.7 Les acides :

Les miels contiennent des acides organiques (dont certains sont volatils), ainsi que des lactones. Les **acides organiques** sont soient libres ou combinés sous forme de lactones : 0,3 %, le principal d'entre eux étant l'[acide gluconique](#).

L'acidité totale est la somme des acides libres et des lactones. Légalement, elle ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents par kg. Pour les miels destinés à l'industrie, la limite tolérée est de 80 milliéquivalents.

2.8 Les lipides :

Le miel est pauvre en lipides : ceux qu'on y trouve sont probablement des microparticules de cire qui échappaient à la filtration, identifie cependant, des glycérides et des acides gras tels que l'acide palmitique les acide oléiques et linoléique.

3. Propriétés physico-chimiques du miel :

3.1 La densité :

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm³ (BOGDANOV *et al.*, 2003(9)). C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels. On peut admettre une moyenne de 1.4225 à 20°C (EMMANUELLE *et al.*, 1996(10)).

3.2 La viscosité :

La viscosité du miel, dépend de sa teneur en eau, de sa composition chimique et de sa température. La plupart des miels se comportent comme des liquides newtoniens ils ne présentent pas de résistance à l'écoulement. Toutefois, il existe des exceptions notamment pour certains miels qui ont une composition particulière. Par exemple, le miel de callune est thixotrope : au repos, il est sous une forme gélatineuse suffisamment mais si on le remue, il devient aussi fluide que n'importe quel miel. Au contraire, le miel d'eucalyptus qui est un miel dilatant qui coule sans difficulté.

3.3 La solubilité :

Le miel est soluble dans l'eau et l'alcool dilué, mais insoluble dans l'alcool fort, l'éther, le chloroforme et le benzène.

3.4 Le pH :

Le pH du miel varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux de miellat (sapin = max 5,3). Les miels à pH bas (type lavande = 3,3 min) se dégradent plus facilement : il faudra alors prendre un soin particulier à leur conservation.

3.5 L'activité d'eau :

L'activité de l'eau dans un produit est le rapport entre la pression de vapeur d'eau à la surface du produit et la pression de vapeur de l'eau pure (vapeur saturée) à la même température T du produit. La valeur de l'activité de l'eau varie entre 0 (produit sec au point que toute l'eau est liée à l'aliment, et donc sans qualité réactive) et 1 (eau pure et sans soluté, difficile à atteindre et surtout à maintenir) (AMROUCHE, 2010(11)). L'activité de l'eau (et non la teneur en eau) est le facteur le plus déterminant pour la conservabilité d'une denrée alimentaire. L'influence de la composition du miel sur la valeur a_w a été étudiée dans les travaux de (RUEGG *et al* 1981(12)). Les valeurs a_w du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l' a_w est $< 0,60$ peuvent être, du point de vue microbiologique, qualifiés de stables. Bien que l'activité de l'eau soit un facteur de qualité important, on ne la détermine que rarement (BOGDANOV *et al.*, 2003(13)). Auparavant, la mesure de l'activité de l'eau était longue et frustrante. Les nouvelles technologies de mesure ont grandement amélioré la rapidité, la précision et la fiabilité des mesures.

3.6 Conductivité électrique :

La conductivité électrique est intéressante, car elle permet de distinguer aisément des miels de miellat des fleurs, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds (EMMANUELLE *et al.*, 1996(14)). Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel; plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée. Récemment, des données complètes relatives à la conductivité de milliers de miels commercialisés ont été publiées, les miels de nectar) à l'exception des *Banksia*, *Erika*, *Eucalyptus*, *Eucryphia*, *Leptospermum*, *Melaleuca*, *Tilia* et les mélanges du miel de nectar et miel de miellat ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm et que le miel de miellat et le miel de châtaignier sont supérieurs à 0,8 mS/cm (BOGDANOV *et al.*, 2001(15)).

3.7 Indice de réfraction :

L'indice de réfraction permet de calculer une variable très importante, la teneur en eau, bien plus rapidement que pour les autres méthodes (EMMANUELLE *et al.*, 1996(16)).

PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCEUIL

Le présent travail est réalisé au niveau du laboratoire de technologies alimentaires de l'Unité de Recherche Gestion des Ressources naturelles, Socio économie et Qualité (URGRSQ) relevant du Centre Régional de la Recherche Agronomique de Meknès (CRRAM) situé au Qualipôle Alimentation de Meknès.

I. Présentation de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)

C'est un établissement public dont les origines remontent à 1914, ayant pour mission d'entreprendre les recherches pour le développement agricole. C'est un institut de recherche producteur de connaissances scientifiques et technologiques au service du bien-public, accompagnant l'innovation économique et sociale dans les domaines de l'alimentation, de l'agriculture et de l'environnement. L'INRA opère à travers dix centres régionaux et 23 domaines expérimentaux répartis sur le territoire national et couvrant les divers agrosystèmes du pays lui permettant d'être à l'écoute de son environnement.

1. Organigramme de l'INRA

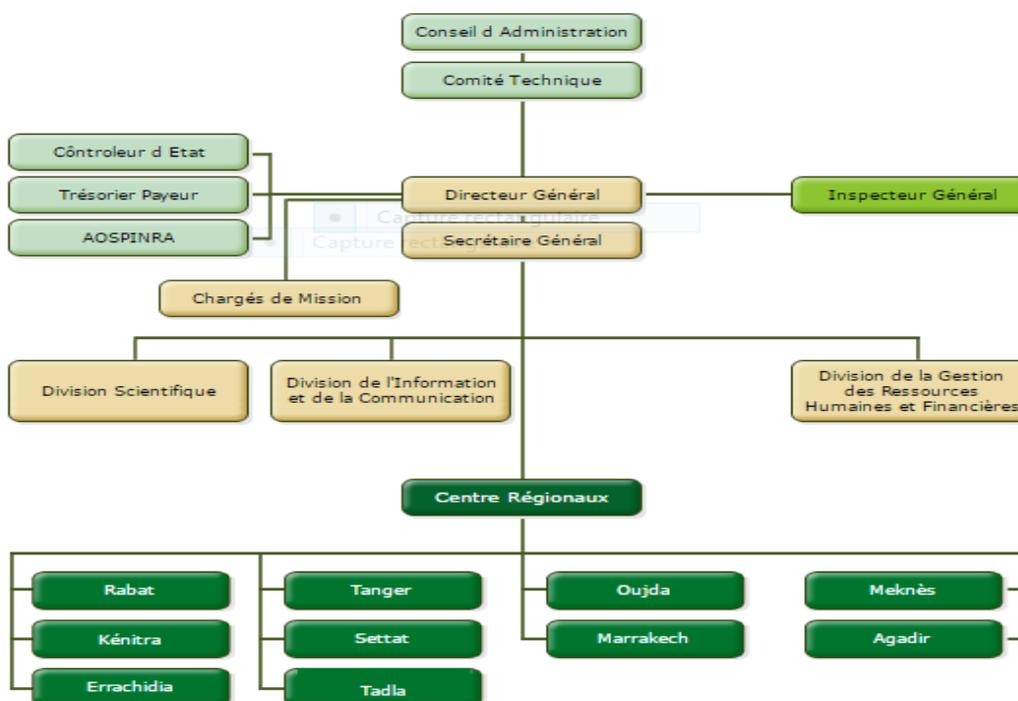


Figure 1: Organigramme de l'INRA

II. Qualipôle Alimentation de Meknès

Le Qualipôle Alimentation de Meknès est un pôle multi-institutionnel initié par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime dans le but de renforcer l'innovation et la compétitivité du secteur de l'agro-industrie.

1. Structure de l'INRA au Qualipôle alimentation de Meknès

Le Centre Régional de la Recherche Agronomique représente l'INRA au sein du Qualipôle Alimentation de Meknès à travers les structures opérationnelles suivantes :

Trois laboratoires spécialisés :

- Laboratoire Analyses sol-plante-eau.
- Laboratoire Protection des plantes.
- Laboratoire Technologie Alimentaire.

Une plateforme d'innovation : essai de démonstration des créations variétales INRA en matière notamment d'arboriculture fruitière et d'olivier. La plateforme héberge une station météorologique.

Des espaces communs :

- Une bibliothèque proposant les différentes publications de l'INRA dont les fiches techniques et les ouvrages scientifiques.
- Une salle de réunions.

2. Laboratoire Technologie Alimentaire

Le laboratoire technologie alimentaire est organisé comme suit :

1. Missions

- Promotion de la valorisation des produits agricoles par la transformation agroalimentaire, le conditionnement et la démarche qualité ;
- Suivi et accompagnement des organisations professionnelles et des agro-industries dans les domaines de la transformation et de la conservation des produits alimentaires ;
- Formation et encadrement des stagiaires et étudiants.

2. Principales activités

- Conception et développement de produits agro-alimentaires innovants ;
- Détermination de la qualité physico-chimique des produits alimentaires.

3. Analyses et services offerts

Les laboratoires technologies alimentaires des qualipôles Alimentations sont équipés d'une façon à pouvoir réaliser:

① **Transformation**

② **Conditionnement**

③ **Analyses des aliments**

En ce qui concerne la transformation, les laboratoires technologies alimentaires sont équipés afin de pouvoir réaliser les principales transformations rencontrées lors de la conception des nouveaux produits alimentaires à savoir :

CHAPITRE II : LES PARAMETRES PHYSICO- CHIMIQUES

1. Etude des paramètres physico-chimiques de miel :

1. Matériel et méthodes :

Au niveau de cette structure nous avons analysés ces échantillons de miel :

code	Coopérative	Type de miel	Année de récolte	Lieu de récolte
H1	COOPERATIVE TISSOUFI	caroubier	2018	Khenifra
H2	COOPERATIVE TISOUFI	thym	2018	Timhdite
H3	COOPERATIVE ATLAS PRODUCTS	jujubier	2018	Oued ifrane
H4	COOPERATIVE ATLAS PRODUCTS	Thym	2018	Baqrit
H5	COOPERATIVE IGHRM AMRKAN	El fijel	07-2018	Guigou
H6	COOPERATIVE ALMO AZIZA	Jujubier	06-2018	Outat et haj
H7	COOPERATIVE ECHIFAE	Jujubier	06-2018	Adarouch
H8	COOPERATIVE RAHIQ EL ATLAS	Jujubier	06-2018	Ifran
H9	COOPERATIVE ATLAS PRODUCTS	Thym	5-2018	El mers
H10	COOPERATIVE ALSIDQ	Jujubier	6-2018	Ain chegag

1.1.1 Caractérisation physico-chimique du

1. Humidité :

L'humidité des échantillons a été déterminée en mesurant l'indice de réfraction à 20°C suivant la technique développée par le comité international du miel. Les résultats ont été exprimés par pourcentage d'humidité. **miel** (Stefan BOGDANOV, Kaspar RUOFF , Livia Persano ODDO, 2004(17)):



Figure 1: Abbe réfractomètre

2. aw (activité de l'eau)

Les échantillons se mesurent directement avec l'appareil



Figure 2 : Appareil mesure l'Aw directement

1.1.1 Cendres :

Les capsules en porcelaine ont été mises dans l'étuve à 500°C, puis dans un dessiccateur jusqu'à poids constant et enfin pesées. 5 g de miel ont été ajoutés. Les capsules ont été mises, d'abord à 105°C pendant une nuit, puis déplacées à 500°C pendant 4 heures. Après refroidissement dans le dessiccateur, elles ont été pesées. La proportion des cendres (g/100g) a été calculée suivant la formule :

$$W_a = ((m_1 - m_2) / m_0) * 100$$

m_0 = le poids du miel,

m_1 = le poids de la capsule plus les cendres,

m_2 = le poids de la capsule.



Figure 3 : miel avant incinération



Figure 4 : miel après incinération

1.1.2 Conductivité :

La conductivité électrique a été mesurée dans une solution 20% de miel dans de l'eau distillée, à 20°C, en utilisant un conductivimètre, selon la technique développée par le comité international du miel. Les résultats ont été exprimés en milliSiemens par centimètre (mS/cm).



Figure 5 : conductivimètre

1.1.3 Couleur :

Méthode1 :

La couleur a été déterminée dans une solution aqueuse du miel (10g dans 20ml d'eau distillée), par lecture de l'absorbance au spectrophotomètre à 635nm. Les résultats ont été calculés suivant la formule : **mm Pfund = -38.7 + 371.39 x Absorbance**

Méthode2 : on mesure la couleur des échantillons directement avec le Chromamètre NH300.



Figure 6 : Le chromamètre

1.1.4 pH et Acidité :

Le pH a été mesuré dans une solution 10% de miel dans de l'eau distillée. L'acidité libre a été obtenue par titration d'une solution de miel (1g dans 25ml d'eau distillé) avec une solution d'hydroxyde de sodium 0.05M jusqu'au point d'équivalence $pH_e=8,3$. Quant à l'acidité lactonique, 1ml de la solution de soude 0.05M a été ajouté, suivi d'une titration avec une solution d'acide sulfurique pour revenir au point d'équivalence. L'acidité est exprimée en milliéquivalents d'hydroxyde de sodium nécessaires pour neutraliser 1 kg de miel.

$$\text{Acidité libre} = V \times N \times (1000/M)$$

$$\text{Acidité lactique} = [(1-V) - (0.05 \times V')] \times N \times (1000/M)$$

$$\text{Acidité totale} = \text{Acidité libre} + \text{Acidité lactique.}$$

V : Volume de titration par NaOH

V' : Volume de titration par H₂SO₄

M : Masse du miel,

N : Molarité de la solution de titration.

<http://www.bee-hexagon.n>

2. Évaluation de l'activité antioxydante du miel

1. Matériel et méthodes

1.1. Réactifs chimiques

A. Polyphénols

- ✓ Acide Gallique (0,02 g/10 ml d'éthanol 96%).
- ✓ Folin cicalteu 0,2 N (2 ml dans 20 ml d'eau).
- ✓ Carbonate de sodium (NO_2CO_3) (1,5 g dans 20 ml d'eau).

1.2. Dosage des composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques des différents échantillons de miel a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon (Li *et al.*, 2007) qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé *et al.*, 2005). Brièvement, 500 μl de réactif de Folin est ajouté à 100 μl d'échantillon avec des dilutions convenables, Après 4 min, 400 μl d'une solution de carbonate de sodium sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 760nm. L'acide gallique est utilisé comme standard pour la réalisation de la courbe étalon.



Figure 7 : Test de l'activité antioxydante totale.

2. Résultat et discussion :

1. Humidité :

- Résultats :

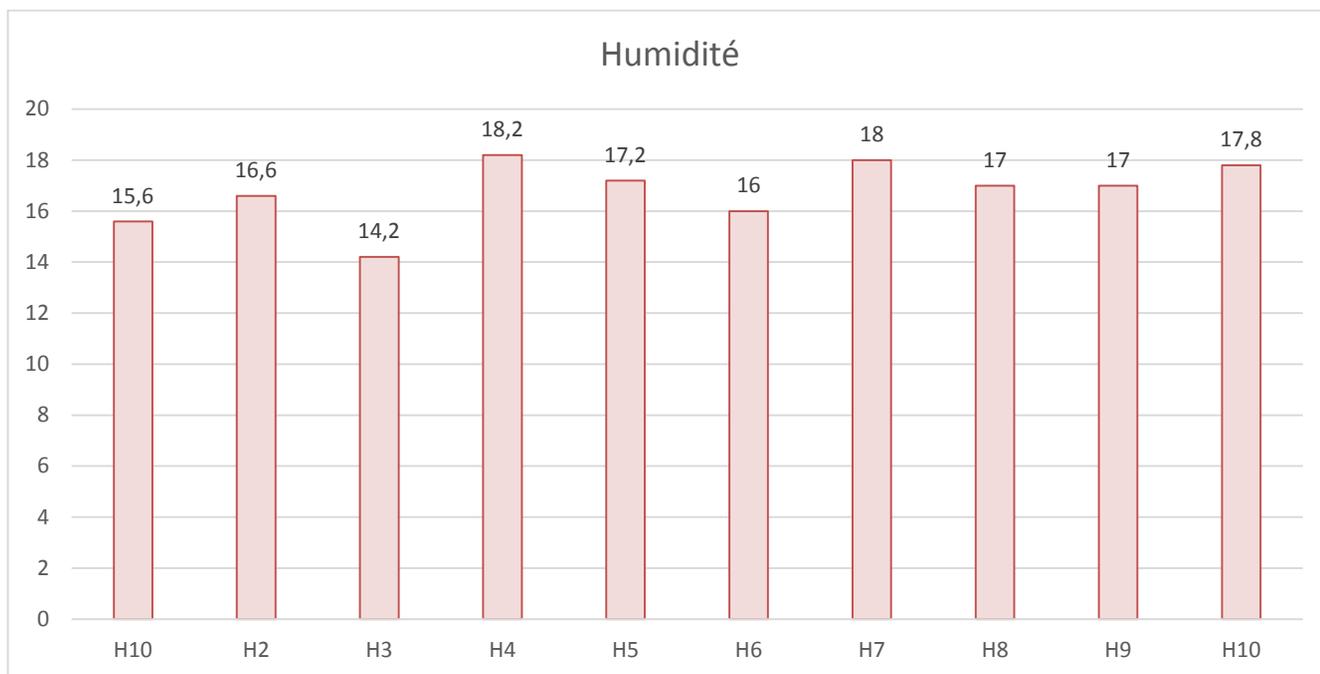


Figure 8 : Histogramme d'humidité

- Discussion :

Une humidité élevée permet la fermentation indésirable du miel par les levures osmotolérantes et ainsi la formation de dioxyde de carbone et d'alcool éthylique qui en s'oxydant donne un goût amer au miel et influence donc la composition chimique et ainsi la qualité de miel. Pour nos différents échantillons, l'humidité était comprise entre 14,2% et 18,2%, en effet aucune valeur ne dépasse la norme permise par les réglementations internationales de qualité imposant un pourcentage d'humidité $\leq 20\%$. (EU, 2001 ; Codex Alimentarius, 2001).

Nos résultats étaient similaires à celles rapportées par d'autres études, dont les valeurs étaient comprises entre 17,27% et 20,18% (Elamine, 2016). Avec l'échantillon de jujubier de la coopérative Atlas Products provenant d'Outat el haj à une valeur de 14,2%, et la valeur la plus maximale (18,2%) de la même coopérative est référée au miel d'origine de Thym endroit de récolte Baqrit.

2. Activité de l'eau

- **Résultats :**



Figure 9 :Histogramme de l'Aw

- **Discussio :**

L'activité de l'eau est un facteur déterminant pour la conservabilité d'une denrée alimentaire. Les valeurs de l'activité de l'eau de nos échantillons de miel varient entre 0.598 et 0.480. Avec le miel thym de station de baqrit présente aw la plus élevée 0.598, ceci peut être dû à sa teneur en eau indirectement, cependant le miel de jububier récolté de station de Ain Chegag a la plus basse des valeurs 0.480 qui est incluse aussi dans la fourchette des valeurs trouver par autres études (BOGDANOV *et al.*, 2003(18)).

3. Conductivité :

- **Résultats**

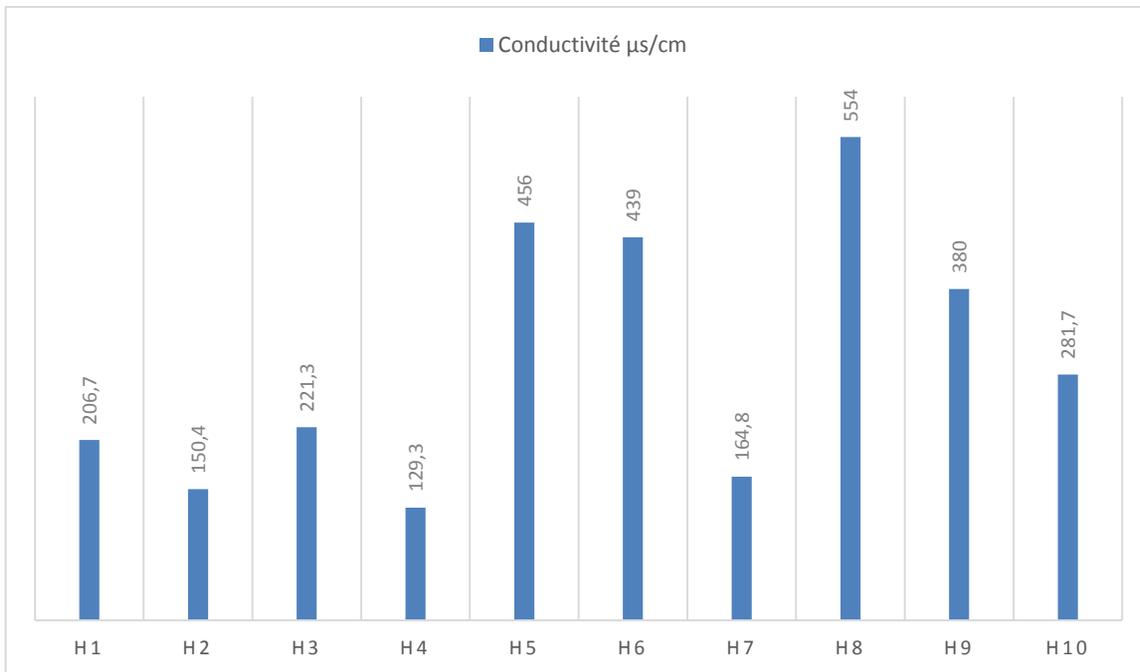


Figure 10 :Histogramme de la conductivité

- **Discussion**

Les valeurs de la conductivité électrique de nos échantillons de miel varient entre 129,3 et 554 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectant la norme permise ($\leq 800 \mu\text{S}/\text{cm}$). Le miel de la station d'Ifran présente la conductivité la plus élevée (554 $\mu\text{S}/\text{cm}$), ceci peut être dû à la richesse de la plante en sels minéraux, cependant le miel récolté de station El Mers a la plus basse des valeurs (129,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$) qui est incluse aussi dans la fourchette des normes.

4. La couleur

- **Résultats :**

Echantillon	L^*	a^*	b^*
H1	34,32±0,6595	3,41±0,14	9,79± 0,59
H2	35,96±2,05	3,80±0,76	13,35±1,24
H3	31,31±2,24	0,73±0,2	10,28±2,43
H4	30,59±2,43	-1,51 ± 1,56	1,99±2,23
H5	37,28±3,43	0,51±0,80	11,64±0,91
H6	38,43±2,93	3,69±0,90	17,94±2,74
H7	22,56±1,56	0,02±0,24	-0,43±0,73
H8	33,34±0,97	0,06±0,19	3±0,56
H9	32,62±1,45	2,55±0,22	4,8±0,48
H10	38,70±2,95	1,82±0,27	12,35±0,27

Tableau : les résultats de la couleur des échantillons

- **Discussion :**

Comme on peut le voir dans le tableau 1, les paramètres de couleur tels que L (légèreté), a (rouge) et b (jaune) variaient considérablement en raison des emplacements. On sait que la couleur est un indicateur de l'origine du miel, qui est liée à la composition chimique, au temps de stockage, aux matières minérales, à la chlorophylle, au caroténoïde, au tanin et aux composés polyphénoliques. La valeur L est l'indicateur de légèreté des spécimens de miel

On sait que les valeurs (+) ou (-) indiquent les couleurs rouge et verte dans les échantillons de miel, respectivement. Cela signifie que les abeilles recueillent le nectar de différentes origines florales.

5.pH :

- **Résultat**

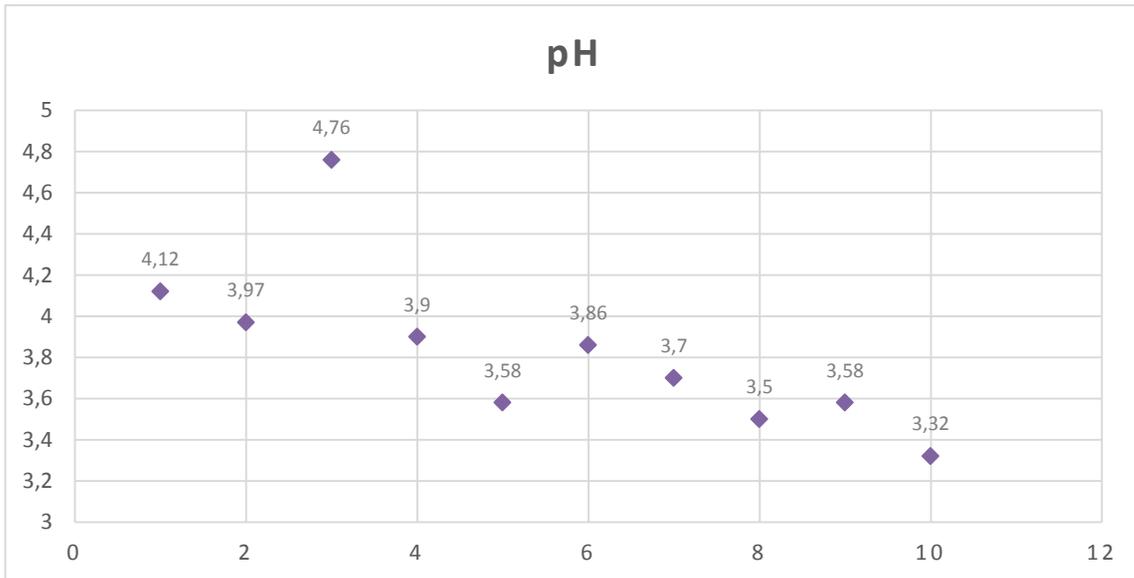


Figure 11 :Histogramme du pH

- **Discussion:**

D'après les résultats illustrés dans ce graphe on remarque que tous les miels analysés avaient un caractère acide. En effet leurs pH étaient compris entre 3,32 et 4,76. Qui est une valeur incluse dans la fourchette acceptable pour les pH des miels Marocains (D'ez et al, 2004; Terrab et al, 2000(19)). Avec l'échantillon de miel provenant de Ain Chegag présente la valeur la plus bas d'ordre de 3,32 cependant l'échantillon de miel d'origine d'El Mers a un pH légèrement acide avec une valeur de 4.76.

Ces valeurs étaient similaires à celle trouvés dans des miels dans plusieurs endroits du globe terrestre donc c'est un caractère partagé avec la totalité des miels .En effet Le pH acide du miel inhibe la croissance des microorganismes et active différentes voies de signalisation de la cicatrisation. D'où l'importance de la bonne pratique et le meilleur conditionnement et le savoir-faire de l'apiculteur (Terrab et al., 2002(20))

6. Acidité libre/Combiné :

- **Résultats**

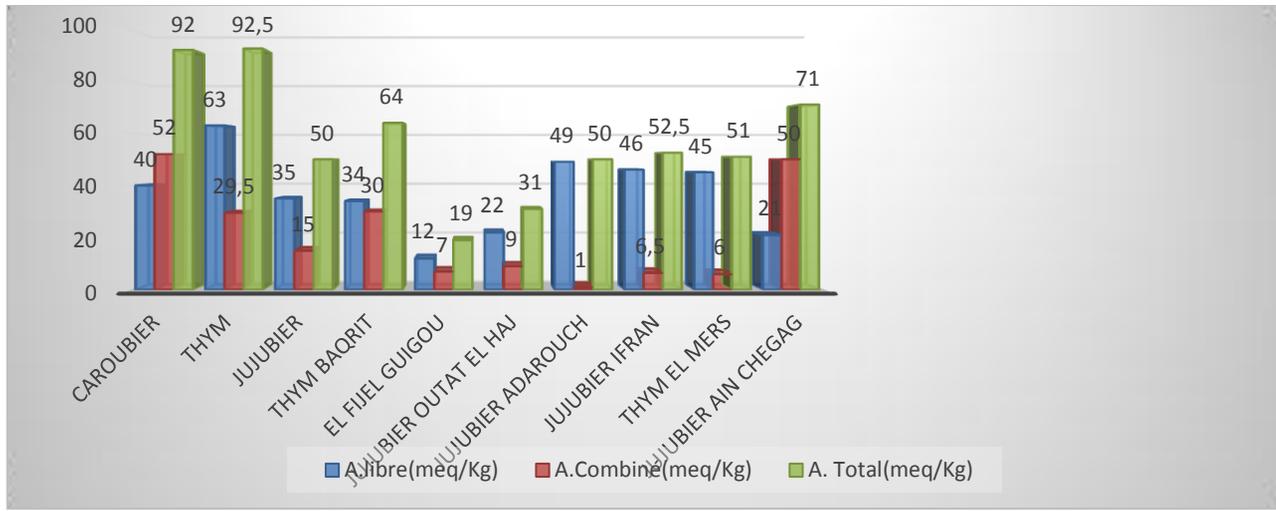


Figure 12 :Histogramme de l'acidité

- **Discussion :**

Les valeurs de l'acidité totale des miels analysés varient de 19 à 92,5 méq/kg. On constate que la majorité des valeurs d'acidité libre ont été dans la fourchette normale fixée par le *Codex Alimentarius* (2001) qui est de 50 meq/kg.

La variation de l'acidité dans ces différents échantillons de miels peut être attribuée aux conditionnements climatique et /ou à des variations en raison de la saison de récolte.

L'acidité libre du miel renferme a la quantité de forme non-cyclique. Elle est calculée à partir de la quantité de soude qu'il faut y rajouter pour la neutraliser. Elle est la seule à devoir obéir à une valeur légale qui est d'au maximum 50 mEq/Kg. On peut l'expliquer par la présence d'acides organiques en équilibre avec les lactones, les esters et quelques ions inorganiques tel le phosphate. Une valeur d'acidité élevée témoigne de la fermentation des sucres en acides organiques. Aucun des échantillons ne dépasse la limite d'acidité permise sauf celui de Thym (Tissoufi) (63meq/kg), les valeurs sont comprises entre 12 et 63 mEq/kg.

Acidité combinée (ou lactones) est la quantité de la forme cyclique. Elle est exprimée en milliéquivalents d'hydroxyde de sodium pour 1000 grammes de miel Le contenu des miels en lactones est compris entre 1 mEq/Kg et 52mEq/Kg.

4. Phénols :

- **Résultats :**

Echantillon	Polyphénols mg GAE/100 g
H1	46,02573
H2	55,92983
H3	77,76526
H4	39,43893
H5	65,08993
H6	73,977
H7	105,4094
H8	147,797
H9	79,71059
H10	143,9064

Tableau 2 : La cocentration de polyphénol par mg d’GAE/100g

- **Discussion :**

Le tableau 2 montre le contenu total des phénols du miel de différentes stations. La méthode de Folin Ciocalteu est largement utilisée pour évaluer les composés phénoliques totaux.

Le réactif de Folin peut réagisse avec d'autres composés réducteurs non phénoliques et conduise à une surévaluation du contenu phénolique. Autres substances réductrices telles que certains sucres et acide aminés pourraient aussi interférer avec le test.

En outre, les résultats doivent être exprimés en équivalents d'un composé de type particulier comme la catéchine, l'acide gallique ou de l'acide tannique.

Les Miels étudiées ont *un* contenu de phénols varie entre 39.43 et 143.90 (mg GAE/100g) de miel de thym de baqrit et miel de jujubier de ain chegag respectivement. C'est également des valeurs similaires à d'autres miels de la région de Fés-Meknès (le miel de Carob $69,150 \pm 13.60$ mg GAE/100g ou un miel multi floral $91,033 \pm 13$ mg GAE/100g) ([Aazza. 2014 \(22\)](#)).

CHAPITRE3 :
EVALUATION DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE

1. Matériel et Méthode

1.2 Les milieux de cultures utilisés et leurs préparation :

1.2.1 PCA :

La gélose glucosée à l'extrait de levure appelée par les Anglo-Saxons "Plate Count Agar" est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières. (Marshall, R.T., 1992 (23))

Préparation de PCA :

- Mettre en suspension 23 grammes dans 1 litre d'eau pure.
- Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
- Répartir en tubes ou flacons.
- Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.



1.2.2 VRBL :

Le milieu VRBL possède un pH de 7,4.

Le milieu VRBL est du type sélectif c'est-à-dire qu'il sélectionne des micro-organismes pouvant ainsi bénéficier des facteurs de croissance. La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est utilisée pour la recherche et le dénombrement des bactéries coliformes (*Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*) dans l'eau, les produits laitiers, et autres denrées alimentaires. Elle est également utilisée pour les opérations de purification et d'isolement des colonies présumées de *Salmonella* dans les produits carnés et assimilés.

S'il y a culture cela veut dire que le micro-organisme est résistant aux agents sélectifs, le cristal violet et les sels biliaires, on peut donc supposer que la souche est un bacille gram négatif. Si le micro-organisme a dégradé le lactose présent dans le milieu, cela s'observera par un virage de l'indicateur pH vers une couleur rouge. Dans le cas d'une forte acidification liée à l'utilisation du lactose il se forme des précipités de sels biliaires. Deux souches sont testées couramment pour le contrôle qualité. *Escherichia coli* (lactose (+)) qui donnera de une coloration rouge du milieu et de ses colonies ainsi qu'un précipité de sels biliaires. *Salmonella enterica* (Lactose (-)) donnera des colonies de couleur beige.

Preparation de VRBL :

- Mettre en suspension 35 grammes dans 1 litre d'eau pure.
- Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
- Répartir en tubes ou flacons.
- Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.



1.3 Recherche et Dénombrement :

1.3.1 Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) :

Il s'agit de l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobie à des températures optimales de croissance comprise entre +20°C et +45°C.

Mode opératoire :

Le dénombrement des F.A.M.T est réalisé sur gélose standard pour numération P.C.A (Plate Count Agar) par ensemencement en profondeur de 1 ml des dilutions dans la masse du milieu gélose de numération, incubation à 30°C, pendant 72 heures, avec la réalisation d'un témoin pour le milieu PCA



Lecture :

Les colonies de F.A.M.T se présentent sous forme lenticulaire, seules les boîtes ayant un nombre de colonies comprise entre 10 et 300 seront prises en compte (**Marshall, et R.T, 1992 (24)**).

1.3.2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

Intérêt :

La famille des entérobactéries regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Les entérobactéries sont très répandues dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par l'intermédiaire des matières fécales. Ce sont des contaminants très fréquents dans les produits alimentaires (**Guiraud , 2003 (25)**), qui sont des indicateurs d'une contamination fécale.

Les coliformes totaux sont des bâtonnets, à Gram négatif, aéro-anaérobis facultatifs, non sporulés. (**J.GUIRAUD, P.GALZY, 1980 (26)**).

Les coliformes fécaux se distinguent des coliformes totaux par leur température de prolifération qui est de 44° C.

Mode opératoire :

- Transférer 1 mL du miel et ses dilutions décimales dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler 12 mL du milieu.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Couler à nouveau 4 mL du milieu, de façon à former une deuxième couche.
- Après solidification, la boîte est incubée pendant 24 h à 37°C pour les coliformes totaux et à 44 °C pour les coliformes fécaux.

-Lecture :

La différenciation des entérobactéries est fondée sur la capacité des germes à fermenter le lactose. Les microorganismes lactose-positifs produisent une acidification qui, en présence de rouge neutre, se manifeste par l'apparition de colonies rouges, de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm en 24 heures d'incubation. Les germes lactose-négatifs donnent des colonies incolore

2 Résultats de l'analyse de la Qualité microbiologique du miel :

- **Résultats**

Echantillons	Coopératives	FMAT	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
H1	Tissoufi(Carroubie)	+	-	-
H2	Tissoufi(Thym)	-	-	-
H3	A .products(jubier)	-	-	-
H4	A.products(Thym baqrit)	-	-	-
H5	Ighrm amekran(el fijel guigou)	+	-	-
H6	Almo aziza(jubier outat el haj)	-	-	-
H7	Echifae(jubier Adarouch)	+	+	+
H8	Rahiq el atlas(jubier lfran)	-	-	-
H9	A.products(Thym el Mers)	+	-	-
H10	Essidq(jubier Ain chegag)	+	-	-

Tableau 3 :Les résultats microbiologiques(FMAT, CT et CF)

- **Discussion :**

2.1 La flore aérobie mésophile Totale(FAMT) :

Une denrée alimentaire contenant plus de 3.10^5 germes /g doit être considérée comme impropre à la consommation (**Guiraud, 2003 (27)**).



La FAMT a été présente dans la moitié de nos échantillons de miel. Leur nombre variait entre 0 et 10 CFU.g⁻¹ avec une valeur moyenne égale à $7 \pm 3,0$ CFU.g⁻¹, Ce qui est en conformité aux normes préconisées.

Ce résultat était inférieur à celui obtenu pour (**Malika et al, en 2005 (28)**) (**Elamine, 2016**), pour le miel marocain. Par rapport à d'autres miels étrangers, nos résultats sont inférieurs aux miels argentins et français qui avaient les principales valeurs FAMT de 244 CFU.g⁻¹ et 227 CFU.g⁻¹ respectivement (**Iurlina et Fritz, 2005; Tysset et al, 1981 (29)**), tandis que le miel commercial portugais avait de meilleurs niveaux de FAMT [2.101 CFU.g⁻¹]. Cette variation des valeurs FAMT pourrait être liée au type d'échantillon, à l'âge et au temps de récolte du miel.

2.2 Les coliformes fécaux et totaux :

Les coliformes (TC et FC) sont des indicateurs de contamination fécale et de mauvaises conditions de traitement hygiénique.

Dans notre étude, TC et FC ont été détectés dans le miel de coopérative Achifae, ce qui suggère majoritairement le respect des bonnes pratiques de récolte et de traitement du miel. Donc nos résultats corroborent les données trouvées par (**Rall et al, 2003 ; Gomes et al. 2010, Iglesias et al, 2012 ; Rios et al, 2014 ; et Kunová et al, 2015 (30)**). L'absence de ces microorganismes dans le miel analysé était attendue puisque la croissance des bactéries nécessitait une activité de l'eau supérieure à 0,91 ont déjà indiqué que la population de FC dans le miel variait de 10 à 102 CFU.g⁻¹.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans la présente étude et afin de valoriser le miel de la région Fés-Meknès, les miels collectés de différentes localités, nous avons basé sur l'analyse des propriétés physico-chimiques, l'Activité anti-oxydante et la qualité microbiologique.

L'étude de l'activité antioxydante de nos échantillons de miel, par la quantification de leurs composées phénoliques (Polyphénols), a confirmé son fort potentiel antioxydant.

Les résultats d'analyses physicochimiques (pH, acidité libre, acidité lactonique, acidité totale, couleur, humidité...), obtenus nous a permis de constater que tous nos échantillons de miel s'accordent avec les normes établies par le codex Alimentaire.

Tout foie aussi pour la validation de la qualité hygiénique de nos échantillons de Miel, nous avons basé en plus des propriétés physico-chimiques sur l'analyse microbiologique en se basant sur le dénombrement de (FAMT, Coliformes fécaux et totaux.). Ce qui a confirmé l'absence de contamination microbienne et ainsi un profil microbiologique parfaitement acceptable.

Les résultats de cette étude indiquent que nos échantillons étaient de bonne qualité chimique et microbiologique, répondant aux normes imposées.

Tous ces analyses restent préliminaires et incomplètes pour la validation et la standardisation de cette aliment, d'autres analyses plus approfondies sont recommandé (dosage d'HMF, teneur en sucres et en protéines...).

Chercheurs, état et apiculteurs doivent travailler en synergie afin de promouvoir le savoir-faire, le bon pratique et ainsi la qualité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys , a review (Stefan BOGDANOV, Kaspar RUOFF , Livia Persano ODDO, 2004)
- (2) Codex Stan 12-1981 : **Honey/THAI AGRICULTURAL STANDARD TAS 8003-2013**
- (3 ,8 ,13 ,15 ,17 ,18 ,21) BOGDANOV et al, 1997 Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*, Extra issue, 1-59.
- (4) Gleiter et al. 2006 : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000200047
- (5) Miriam et al. 2005 : https://www.researchgate.net/publication/241399546_Floral_characters_and_species_diversification
- (6) Shin et Ustinol, 2005 : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000400027
- (7) AL-Mamary et al. 2002 : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3005388/>
- (10 ,14 ,16) EMMANUELLE et al. 1996 : https://www.memoireonline.com/03/10/3229/m_Etude-comparative-entre-quelques-miels-locaux-et-autres-importes2.html
- (11) AMROUCHE Y., 2010 – Les brèves du réseau Alimentation et Technologies.
- (12) RUEGG M. and Blanc B., 1981 - The water activity of honey and related solutions, *Lebensmitt. Wiss. Technol.* 14, 1-6.
- SCHWEITZER P., 2009 - Laboratoire d'Analyses et d'Écologie Apicole.
- (19, 20) Gonza ´lez-Miret ML, Terrab A, Hernanz D, Ferna ´ndez-Recamales MA Heredia FJ. « Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin.» *J AgricFood chem*, 2005: 2574–2580.
- (22) Aazza., 2, Badiaa Lyoussi2, Dulce Antunes1, and Maria Grac ¸a Migue. «Physicochemical characterization and antioxidant activity of 17 commercial Moroccan honeys.» *Food Sciences and nutrition*, 2014: 1-9.
- (23 ,24) Marshall, R.T. (ed.). 1992. Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C
- (26) J. Guiraud, P. Galzi, 1980 : *les analyses microbiologiques dans les industries alimentaires*. ED. Usine nouvelle, Paris.
- (28) MALIKA, N., MOHAMMED, F., CHAKIB, E.A. (2005). Microbiological and physico-chemical properties of Moroccan honey. *Int. J. Agr. Biol.*, 07 (5), 773-776.

- (29) IURLINA, M.O., FRITZ, R. (2005). Characterization of microorganisms in Argentinean honey from different sources. *Int. J. Food Microbiol.*, 105 (3), 297-304.
- (30) IGLESIAS, A.; FEÁS, X.; RODRIGUES, S.; SEIJAS, J. A.; PILAR VÁZQUEZ-TATO, M.; DIAS, L.G., ESTEVINHO, L.M. (2012). Comprehensive Study of Honey with Protected Denomination of Origin and Contribution to the Enhancement of Legal Specifications, *Molecules*, 17, 8561-8577. <http://doi.org/10.3390/molecules17078561>
- Harmonised methods of the international honey commission: <http://www.bee-hexagon.net>