

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Alimentaires  
Option : Biotechnologies, agro ressources, aliment et nutrition



Réf :.....

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

**MASTER**

*Thème*

**Effet du couple temps et amplitude d'ultrasons  
sur les propriétés physicochimiques et  
antioxydantes d'un miel cristallisé.**

Présenté par :

**Chenni Lyes**

Soutenu le : **11 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M. Cherifi C.

**MAB**

Président

M. Bachir Bey M.

**MAA**

Encadreur

M. Ladjouzi R.

**MCB**

Examineur

**Année universitaire : 2014 / 2015**

## *Remerciements*

*Je remercie Dieu, le tout puissant pour m'avoir donné le courage et la patience pour la réalisation et l'aboutissement de ce projet.*

*Je tiens à remercier le Dr. Bachir bey Mustapha pour avoir accepté de m'encadrer et pour ses conseils précieux,*

*Ce travail a été réalisé au niveau laboratoire de physicochimie science alimentaire de l'université Abderrahmane Mira (Bejaia).*

*Je tiens à remercier MR Cherifi. C, qui a accepter de présider se jury de soutenance, ainsi que MR Ladjouzi. R, pour nous avoir fait l'honneur de juger ce travail en tant qu'examineur.*

*Un remerciement tout particulier a MR Benchikh Yacine pour sont soutient et sont aide.*

*Enfin, que tous ceux et toutes celles qui ont participé, de près au de loin a la réalisation de ce mémoire, trouvent l'expression de mes sincère reconnaissance.*

*A vous qui vous intéressez à cette étude.*

*Chenni Lyes*

# Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à :*

*La prunelle de mes yeux, l'espoir de ma vie Celle qui m'a entourée de son amour et de sa tendresse, a ma chère mère.*

*A celui qui m'a toujours appris comment Réfléchir avant d'agir, à celui qui m'a soutenu tout au long de ma vie, à celui qui N'a jamais épargner un effort pour mon bien, **mon cher père** et j'espère que se travail sera au minimum a la hauteur de vos sacrifices et que Dieu vous bénisse pour moi.*

*Mes sœurs : Yasmina, Lila.*

*Mon frère : Abdenour.*

*Mon grand père Saâd*

*Toute ma famille : Oncles, Tantes, Cousins et Cousines*

*Mes adorables amis,*

*A tout la promotion 2015*

*Mes enseignants du primaire à l'université.*



*LYES*

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Glossaire

**Introduction**.....1

---

## *Partie bibliographique*

---

### Chapitre I : Généralités sur le miel

<b>I. Définition du miel</b> .....	2
<b>1. Origine et variétés de miel</b> .....	2
1.1. Miel de fleurs.....	2
1.2. Miel de miellat.....	2
<b>II. Composition chimique du miel</b> .....	2
<b>1. La composition moyenne du miel</b> .....	2
1.1. Eau.....	3
1.2. Sucres.....	3
1.3. Matières minérales et vitamines.....	3
1.4. Acides aminés et protéines.....	4
1.5. Enzymes.....	4
1.6. Composés phénoliques.....	4
1.7. Hydroxyméthylfurfural.....	4
<b>III. Propriétés du miel</b> .....	5
<b>1. Propriétés physiques</b> .....	5

1.1. Densité.....	5
1.2. Viscosité.....	5
1.3. Indice de réfraction.....	5
1.4. Pouvoir rotatoire.....	5
<b>2. Propriétés biologiques.....</b>	<b>6</b>
2.1. Propriétés antioxydantes.....	6
2.2. Propriétés antibactériennes.....	6
<b>VI. Critères qualitatifs des miels.....</b>	<b>7</b>
1. Teneur en eau.....	7
2. Teneur en Hydroxyméthylfurfural.....	7
4. Activité des enzymes.....	7

**Chapitre II : Cristallisation du miel**

<b>I. Cristallisation du miel.....</b>	<b>8</b>
1. Nucléation et croissances des cristaux .....	8
<b>II. Principaux facteurs de la cristallisation .....</b>	<b>8</b>
1. Température.....	8
2. Activité de l'eau.....	9
3. Viscosité .....	9
4. Teneur en sucre .....	9
4.1. Teneur en glucose et le rapport glucose/eau .....	9
4.2. Teneur en fructose et le rapport fructose /glucose .....	10
5. La présence d'amorce .....	10
<b>III. Contrôle de la cristallisation .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Cristallisation dirigée .....</b>	<b>11</b>
1.1. Le brassage .....	11
1.2. Le dépeçage à froid .....	11
1.3. L'ensemencement .....	11

***Chapitre III : Traitements de liquéfaction du miel***

<b>I. Techniques de liquéfaction du miel</b> .....	12
1. Microondes .....	12
2. Ultrasons .....	12
3. Appareil Jakel .....	13
4. Melitherm .....	13

---

***Partie expérimentale***

---

***Matériels et Méthodes***

<b>I. Echantillon du miel</b> .....	15
1. Homogénéisation et préparation des échantillons .....	15
2. Traitement .....	16
<b>II. Analyses physicochimiques des échantillons de miel</b> .....	17
1. Humidité et degré de Brix .....	17
3. Couleur .....	17
4. Hydroxyméthylfurfural .....	17
5. Composés phénoliques .....	18
6. Activité antioxydante .....	18
6.1. Activité antiradicalaire .....	18
7. Diffraction des rayons X .....	19
8. Analyse microscopique .....	20
9. Analyse statistique.....	20

**Résultats et discussions**

<b>I. Vérification des modèles quadratiques et linéaires des facteurs</b> .....	21
1. Analyse des modèles de l'humidité et du Brix.....	22
1.1. Effets des facteurs .....	23
2. Composés phénoliques .....	25
2.1. Analyse du modèle des composés phénoliques .....	25
2.2. Effets des facteurs.....	26
3. Pourcentages et tailles des cristaux .....	28
3.1. Diffraction des rayons X .....	28
- Pourcentage des cristaux .....	29
3.2. Effets des facteurs .....	30
- Taille des cristaux.....	31
3.3. Effets des facteurs .....	32
4. Hydroxyméthylfurfural .....	34
5. Couleur .....	34
6. Activité antioxydante.....	35
7. Analyse microscopique .....	35
<b>Conclusion</b> .....	38

**Références bibliographiques****Annexes**

## *Liste des abréviations*

- ▶ **DPPH** : 1,1-Diphenyl-2 picrylhydrazyl.
- ▶ **HMF** : Hydroxymethylfurfural.
- ▶ **P** : Probabilité.
- ▶ **RMSE** : Erreur de moyenne carrée de racine.
- ▶ **R<sup>2</sup>** : Le coefficient de détermination.
- ▶ **EAG** : Equivalent acide gallique.
- ▶ **min** : Minute.
- ▶ **|t|** : Test t de student.
- ▶ **F** : Rapport de fisher.
- ▶ **PET** : Polytéraphthalate d'éthylène.
- ▶ **A** : Ampère.
- ▶ **AW** : Activité de l'eau.
- ▶ **D/W** : Rapport Glucose/Eau.

# *Liste des figures*

Numéro de la figure	Nom de la figure	Numéro de la page
1	Processus de la formation des HMF.	5
2	Vitesse de cristallisation des miels en fonction de rapport glucose/eau.	10
3	Vitesse de cristallisation des miels en fonction de rapport fructose/glucose.	10
4	Appareil Jakel.	13
5	Melitherm.	14
6	Homogénéisation du miel.	15
7	Flacons de conservation du miel.	15
8	Aliquotage des 11 échantillons du miel.	15
9	Dispositif pour le traitement de liquéfaction du miel.	16
10	Photo du goniomètre X'Pert Pro Panalytical.	19
11	Microscope optique couplé à un logiciel Optika micro image Analysis.	20
12	Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour la teneur en humidité.	23
13	Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour le Brix.	23
14	Effet du temps et de l'amplitude sur l'humidité du miel.	25
15	Effet du temps et de l'amplitude sur le brix du miel.	25
16	Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour les composés phénoliques.	26
17	Effet du temps et de l'amplitude sur les composés phénoliques du miel.	28
18	Spectres DRX des échantillons avant et après le traitement de sonication.	29
19	Valeurs observées en fonction des valeurs prévues des pourcentages des cristaux.	30
20	Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur le pourcentage des cristaux du miel.	31
21	Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour la taille des cristaux.	32

22	Effet du temps et de l'amplitude sur la taille des cristaux du miel.	33
23	Profileur d'isoréponses montrant l'effet du temps et de l'amplitude sur le pourcentage et la taille des cristaux.	34
24	Photographie microscopique de l'échantillon du miel avant traitement.	35
25	Photographies microscopiques des échantillons du miel traités avec l'amplitude de 20% pendant 10 (E1), 15 (E2) et 20 min (E3).	36
26	Photographies microscopiques des échantillons du miel traités avec l'amplitude de 60% pendant 10 (E4), 15 (E5) et 20 min (E6).	36
27	Photographies microscopiques des échantillons du miel traités avec l'amplitude de 100% pendant 10 (E7), 15 (E8) et 20 min (E9).	37

## *Liste des figures insérés en annexe I*

<b>Numéro de la figure</b>	<b>Nom de la figure</b>
28	Evolution au fil du temps de la teneur en HMF dans le miel
29	Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.
30	Activité antiradicalaire de l'acide gallique.

## Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre du tableau	Numéro de la page
I	Principaux composants du miel en pourcentage.	3
II	Evolution de l'HMF et l'activité de la saccharase pendant la liquéfaction au melitherm et à l'appareil jakel.	14
III	Essai du plan factoriel complet pour le traitement de liquéfaction du miel.	16
IV	Plan d'expérimentation et les résultats des analyses physico-chimiques.	
IV	Valeurs de probabilités des modèles linéaires et quadratiques ainsi que les défauts d'ajustement des paramètres analysés.	21
V	Plan d'expérimentation et résultats mesurés et prédites de l'humidité et du brix.	22
VI	Estimation des coefficients des modèles linéaires de l'humidité et du brix.	24
VII	Plan d'expérimentation et les résultats mesurés et prédites des composés phénoliques.	26
VIII	Estimation des coefficients du quadratique des composés phénoliques.	27
IX	Plan d'expérimentation et les résultats mesurés et prévues du pourcentage des cristaux.	29
X	Estimation des coefficients pour le suivi de l'évolution pourcentage des cristaux.	30
XI	Plan d'expérimentation et les résultats mesurés et prévues de la taille des cristaux.	31
XII	Estimation des coefficients pour le suivi de l'évolution de la taille des cristaux.	32

## Liste des tableaux insérés en annexe II

Numéro de tableau	Titre du tableau
XIII	Normes pour certaines paramètres physico-chimiques du miel selon le codex Alimentarius et le Journal Officiel des Communautés Européennes.
XIV	Effet de la teneur en eau sur le risque de fermentation de miel.
XV	Table de CHATAWAY.
XVI	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour l'humidité.
XVII	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires quadratiques pour le Brix.
XVIII	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour la couleur.
XIX	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour HMF.
XX	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour les composés phénoliques.
XXI	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour DPPH.
XXII	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour le pourcentage des cristaux.
XXIII	Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour la taille des cristaux.



# *Introduction*

## *Introduction*

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'homme depuis la plus haute antiquité. Cet élixir précieux est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs aussi bien que du miellat. Le miel est une solution hautement concentrée en sucres, dont les principaux sont le fructose et le glucose. Il renferme aussi une large gamme de composés mineurs tels que les minéraux, les protéines, les vitamines, les acides organiques, les flavonoïdes,... (Azeredo *et al.*, 2003).

Le miel possède également des propriétés thérapeutiques, attribuées essentiellement à son pouvoir cicatrisant, antibactérien et antioxydant (Aljadi et kamaruddin, 2003). Afin de préserver et d'optimiser les propriétés nutritionnelles et thérapeutiques, la commission internationale du miel a établi des normes concernant certains paramètres (humidité, glucide, pH et acidité, proline, activité diastasique,...) reconnus comme critères d'évaluation de la qualité du miel. Al- Mamary *et al.* (2002) considèrent aussi la teneur en composés phénoliques et l'activité anti-oxydante du miel comme paramètre de qualité.

Le traitement thermique, utilisé le plus souvent pour réduire la viscosité et prévenir la cristallisation et la fermentation, peut également être à l'origine de l'altération de la qualité du miel. Les principales modifications sont la perte de l'activité enzymatique (invertase et diastase) et la production de l'hydroxyméthylfurfural (HMF), formé après l'hydrolyse acide des hexoses (Nanda *et al.*, 2006).

Au cours de stockage, le miel se cristallise, mais cette cristallisation est un phénomène physique naturel qui n'affecte pas la qualité du miel (Helene, 2008). L'élimination des cristaux dans un miel cristallisé peut se faire par plusieurs procédés, L'utilisation des ultrasons pour la liquéfaction d'un miel cristallisé peut éliminer les constituants indésirables, tels que les cristaux et les cellules de levure, sans pour autant affecter la qualité du miel en particulier la formation de l'HMF et l'inhibition de l'activité diastasique (Tosi *et al.*, 2002).

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence l'efficacité de traitement mis en œuvre pour la liquéfaction d'un miel cristallisé tout en tenant compte de l'effet couple temps et amplitude sur quelques paramètres physico-chimiques (Humidité, Brix, Couleur, HMF, les composés phénoliques, pourcentage et taille des cristaux) et antioxydantes.

# *Partie bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Généralités sur le miel*

## **I. Définition du miel**

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou d'excrétions laissées sur celles-ci par les insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment et combinant avec des matières spécifiques, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche (Terrab *et al.*, 2004 ; Downey *et al.*, 2005; Luis *et al.*, 2007).

### **1. Origine et variétés de miel**

Il existe de nombreuses variétés de miel qui peuvent être classées de façon diverses : selon l'origine florale, il existe donc deux grandes variétés de miel en fonction de l'origine sécrétoire : miel de nectar et le miel de miellat. Selon l'origine géographique du miel qui se repose sur l'analyse pollinique (Chauvin, 1968).

#### **1.1. Miel de fleurs**

Il est élaboré à partir du nectar qui est une substance sucrée, constituée principalement de glucose, de fructose et de saccharose. Il est sécrété par des glandes florales appelées nectaires (Aupy *et al.*, 1994). En plus des glucides, le nectar contient des protéines, des acides aminés, des enzymes et d'autres constituants sous forme de traces tels que les polyphénols, les vitamines et les pigments (Lobreau-Callen *et al.*, 1999).

#### **1.2. Miel de miellat**

Il est obtenu principalement à partir d'excrétion d'insectes suceurs de sève tels que les pucerons ou à partir des sécrétions de plantes (Downey *et al.*, 2005). Ce miellat qui se trouve en amas visqueux et foncé, diffère du nectar par sa composition. En effet, alors que le nectar est constitué essentiellement de sucres, le miellat renferme près de 70% de substances azotées et de dextrine (Aupy *et al.*, 1994). Les miels de miellat sont caractérisés par une forte saveur, et une couleur très foncée, et une cristallisation lente (Terrab *et al.*, 2002).

## **II. Composition chimique du miel**

### **1. La composition moyenne du miel**

Le miel est un produit liquide naturel, hautement sucré, avec d'autres composés en petites quantités tels que les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les minéraux, les vitamines (B1, B2, C), les enzymes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les pigments (Nanda *et al.*, 2003 ; Ozcan *et al.*, 2006 ).

**Tableau I** : Principaux composants du miel en pourcentage (%) (Ouchmoukh *et al.*, 2007).

<b>Eau</b>		17,2
<b>Sucres</b>	Lévulose (D-Fructose)	38,19
	Dextrose (D-Glucose)	31,28
	Saccharose (D- Saccharose)	1,31
	Maltose et autres disaccharides réducteurs	7,31
	Sucres supérieurs	1,5
	Sucres totaux	79,59
<b>Acides</b>	Gluconique, Citrique, Malique, Succinique, formique, etc	0,57
<b>Protéines</b>	Acides aminés: acide glutamique, alanine, arginine, glycine, leucine, isoleucine, acide aspartique, valine, histidine, et lysine.	0,26
<b>Cendres</b>	Minéraux: potassium, sodium, magnésium, calcium, phosphore, fer, manganèse, cuivre, etc	0,17
<b>Composants Mineurs</b>	Comprenant principalement des pigments, des substances aromatiques, des alcools de sucre, des tannins, des enzymes et des diastases dont l'amylase, la peroxydase, l'hydrogenase, la phosphatase, et les invertases. Des vitamines dont la thiamine, la riboflavine, l'acide nicotinique, etc	2,21

### 1.1. Eau

Teneur en eau est l'une des caractéristiques la plus importante des miels. Elle conditionne la conservation du produit, son poids spécifique, et dans certaines mesures sa cristallisation (Terrab *et al.*, 2002). Le miel est operculé par les abeilles lorsque sa teneur en eau atteint en moyenne 17 à 18% (Bogdanov *et al.*, 2005).

### 1.2. Sucres

Les sucres représentent de 95 à 99 % de la matière sèche des miels. Chaque miel est susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres, ce sont des monosaccharides, disaccharides, trisaccharides, ou polysaccharides représentaient les 80% du poids total du miel. Deux d'entre eux ; le glucose et le fructose, dominent nettement et représentent près de 80% (Gleiter *et al.*, 2006).

### 1.3. Matière minérale et vitamines

Le taux de matières minérales dans le miel est faibles (0,05 à 1,5%), plusieurs études (Adebiyi *et al.*, 2004 ; Gonzalez-Miret *et al.*, 2005 ; Tuzen *et al.*, 2007), ont révélé la présence de différents éléments minéraux dans le miel (Na, Ca, Mg, P, S....), le potassium étant l'élément le plus abondant. Les vitamines du miel proviennent du nectar et du pollen. Elles sont représentées essentiellement par la vitamine C et les vitamines du groupe B (thiamine, biotine, acide folique.....) et très rarement, par les vitamines A, D et K (Gonnet, 1982).

#### **1.4. Acides aminés et protéines**

Les quantités d'acides aminés et de protéines sont relativement petites, tout au plus 0.7 %, de ce fait ayant les effets nutritifs relativement légers (Bogdanov, 2002). Cependant ces composants peuvent être importants pour juger la qualité de miel. Le miel contient une large variété des acides aminés essentiels (Cotte et *al.*, 2004).

#### **1.5. Enzymes**

L'activité des enzymes du miel est un facteur de qualité, qui est influencé par le stockage et le chauffage du miel et qui est par conséquent un indicateur de fraîcheur et de surchauffage du miel. La majorité des enzymes trouvées dans le miel sont : Invertase, Glucose-oxydase et Amylases. Les enzymes d'origine florale sont les catalases, les phosphatases et les amylases en faible proportion (Jeffrey et Echazaretta, 1996).

#### **1.6. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales. Parmi les structures identifiées dans le miel : les acides phénoliques (acides benzoïques et cinnamiques), les flavonoïdes (flavones et flavanones) en proportions très variables (Al-Mamary et *al.*, 2002).

#### **1.7. Hydroxyméthylfurfural**

Cet important facteur relatif à la qualité du miel est un indicateur pour la fraîcheur et le 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), et que c'est probablement un processus auto catalytique (Figure 1). (Ghoshdastidar et Chakrabarti, 1992). 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).

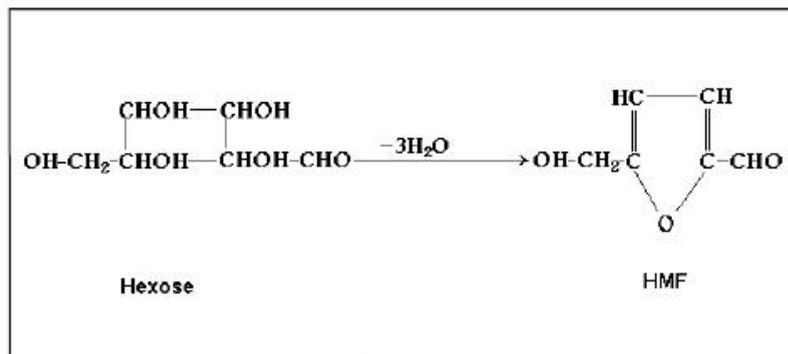


Figure 1 : processus de la formation des HMF (Marceau *et al.*, 1994).

### III. Propriétés du miel

#### 1. Propriétés physiques

##### 1.1. Densité

La valeur de la densité varie entre 1,39 et 1,44 à 20°C. Elle est fonction de la teneur en eau et à moindre degré, de la composition chimique du miel (Gonnet, 1982 ; Lobreau-Callen *et al.*, 1999 ; Al-Khalifa et Al-Arif, 1999).

##### 1.2. Viscosité

La viscosité des miels est une notion très importante. Car elle affecte la qualité du produit et la conception des équipements de traitement. Les trois facteurs principaux qui déterminent la viscosité d'un miel sont la teneur en eau, la température et la composition chimique. (Recondo *et al.*, 2006).

##### 1.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction du miel est d'autant plus élevé que sa teneur en eau est plus basse ; il oscille entre 1,5041 et 1,4915 à 20 °C pour une teneur en eau allant de 13 à 18% pour la majorité des miels (Lobreau-Callen *et al.*, 1999).

##### 1.4. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est 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). La majorité des miels de miellat ont des valeurs positives «dextrogyres» tandis que les miels de nectar ont des valeurs négatives «lévogyres » (Nanda *et al.*, 2003).

#### 2. Propriétés biologiques

Le miel est non seulement un aliment mais on peut le considérer comme un médicament car il possède diverses propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, antioxydants 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 ).

### **2.1. Propriétés antioxydantes**

Le miel est utilisé comme source naturelle d'antioxydants qui sont efficaces pour la réduction des risques de certaines maladies (Meda *et al.*, 2005). D'après Bertoncej *et al.* (2007), les composés responsables de l'activité antioxydant dans le miel sont : les flavonoïdes (Chrysine, pinocembrine, pinobanksine etc.), les acides phénoliques l'acide ascorbique, la catalase, la peroxydase et les caroténoïdes, Cependant, cette activité est variable d'un miel à un autre selon la source botanique et la présence de différents composés antioxydants (Al-Mamary *et al.*, 2002). En général, l'activité antioxydant d'un miel pourrait être la combinaison d'une large gamme d'activité des composés suivants :

### **2.2. Propriétés antibactériennes**

Le miel présente une action antibactérienne (bactériostatique et bactéricide) contre un large spectre de bactéries ; cette activité varie considérablement selon l'origine botanique du miel (Cooper *et al.*, 1999). La viscosité, l'acidité et l'osmolarité élevées du miel contribuent partiellement à l'inhibition de la croissance bactérienne (Aljadi et Kamaruddin, 2003 ; Subrahmanyam *et al.*, 2003). Cependant, le principal agent responsable de l'activité antibactérienne est le peroxyde d'hydrogène, formé après oxydation du glucose par glucose-oxydase, durant la maturation du miel (Weston *et al.*, 1999).

## **VI. Critères de qualité des miels**

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 et Journal Officiel des Communautés Européennes ont établi des limites pour certains paramètres physicochimiques du miel (Annexe II, tableau XIII).

### **1. Teneur en eau**

C'est un paramètre de qualité car la teneur en eau conditionne la cristallisation et la fermentation du miel. En effet, le risque de fermentation est d'autant plus élevé quand la teneur en eau est grande (Annexe II, tableau XIV). D'un coté, un miel trop liquide (humidité > 18 %) risque de

poser des problèmes de fermentation et de l'autre côté, un miel trop sec (humidité 15 %) sera trop visqueux et ralentira l'étape de diffusion des molécules de sucres et la cristallisation. (Assie, 2004).

## **2. Teneur en Hydroxyméthylfurfural**

Les monosaccharides, et tout particulièrement le fructose, sont dégradés en milieu acide par déshydratation moléculaire avec formation d'hydroxyméthylfurfural (HMF). Le taux d'HMF est le critère le plus fiable pour déterminer l'âge d'un miel. Ainsi que pour étudier son éventuelle dégradation. ni les nectars, ni les miellats, ni les miels frais ne contiennent de l'HMF. Ce produit se forme très lentement au fil du temps et son évolution est exponentielle (Annexe I, figure 28).

La production de HMF est favorisée par la forte teneur en fructose et par l'acidité du milieu (Clémence, 2005). La concentration en HMF est augmentée par des chauffages excessifs. Le volume 11 du "Codex alimentarius", qui est consacré aux produits sucrés, précise que le miel ne doit pas posséder une teneur en HMF supérieure à 80 mg/kg. Mais pour les miels produits dans l'Union Européenne, le taux maximum d'HMF a été fixé à 40 mg/kg (Clémence, 2005).

## **4. Activité des enzymes**

Les enzymes du miel ont fait l'objet d'un très grand nombre d'études et d'observations, cela tient essentiellement au fait qu'on utilise pratiquement ces substances comme des indicateurs de chauffage du miel, un miel ayant subi un chauffage en excès ne contient plus d'enzymes; la destruction est sensiblement proportionnelle au temps de chauffage et à la température (Persano Oddo *et al.*, 1999).

# *Chapitre II*

## *Cristallisation du miel*

## I. Cristallisation du miel

La cristallisation du miel est un processus naturel, cette modification ne constitue pas une altération mais une simple transformation de l'état physique du produit (Huchet *et al.*, 1996).

Le miel est une solution sucrée sursaturée et, lorsqu'il est stocké dans les rayons de la ruche, il est généralement à l'état liquide, mais cet état instable. Sous l'effet de la température et de la présence de germes de cristallisation (poussière, cristaux de glucose, grains de pollen), la cristallisation du miel s'amorce. Le processus de cristallisation des sucres est dépendant des rapports glucose/fructose et glucose/eau. La connaissance de ces rapports peut prédire l'aptitude des miels à cristalliser : elle sera faible pour un rapport glucose/eau inférieur à 1,7 mais très importante si cette valeur atteint 2,1 (Sablé, 1997). Pour que les cristaux se forment, il faut que les molécules de glucose rencontrent des germes de cristallisation, appelés aussi particules d'ensemencement, et s'y agglutinent. (Alexandra, 2011).

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).

### 1. Nucléation et croissances des cristaux

La nucléation, encore appelée germination est la première étape de la cristallisation. Elle correspond à la formation d'un minuscule cristal, appelé germe, sans lequel aucun cristal ne peut être formé. Ce germe constitue l'amorce de la cristallisation. Les agrégats formés suite à un résultat de collision entre les molécules de sucre et qui sont cependant très instables peuvent se stabiliser et conduisent alors à la formation de petits cristaux appelés aussi « nucléis » (Helene, 2008).

La croissance cristalline correspond au développement du cristal initial (germe), la croissance du germe est la répétition du motif de base contenu dans le germe initial. Une fois stabilisés, les agrégats vont grossir progressivement en attirant les molécules de sucre toujours libres dans le sirop (Helene, 2008).

## II. Principaux facteurs de la cristallisation

### 1. Température

La température optimale pour la cristallisation du miel se situe entre 10 et 18°C. Une température constante de 14°C est idéale pour un miel à teneur en eau moyenne. Les basses températures

retardent la croissance des cristaux. Les hautes températures entraînent la dissolution des cristaux qui disparaissent totalement à 78°C (Huchet *et al.*, 1996, Bogdanov, 1999).

D'après J. Louveaux (1958), le miel ne tarde pas à la température ordinaire (18°C) à se transformer en une masse solide plus au moins consistante qui est un feutrage de cristaux constitué surtout de glucose mais aussi d'une faible proportion fructose ou complexe glucose – fructose. Ce feutrage reste entre ces mailles une phase liquide qui est constituée surtout par un sirop de fructose. Toute élévation provoque le retour en solution de la partie cristallisée, ce changement d'état est progressif et l'on peut trouver tous les intermédiaires entre le miel parfaitement solide tel qu'il se présente à 18°C et le miel entièrement liquéfié, limpide et dépourvu de germe de cristallisation tel que l'obtient entre 55°C et 60°C (Annexe I, figure 29).

## **2. Activité de l'eau**

Elle est comprise en moyenne entre 0,50 et 0,60 cette activité diminue régulièrement en rapport directe avec la concentration naturelle du miel et lorsque celle-ci est supérieure ou inférieure à un certain seuil, le produit ne cristallise plus. (Tabouret, 1979). Ce facteur explique notamment que des miels très secs avec 16% d'humidité ou moins, cristallisent très difficilement ou ne cristallisent pas, bien que leurs teneurs en glucose et leurs rapport glucose/eau soient très élevés.

L'activité d'eau (**aw**) peut être mesurée expérimentalement mais la valeur approximative peut aussi être calculée à partir de la composition du miel. Son influence est d'autant plus grande que la teneur en eau du miel est plus basse. Lorsque la teneur du miel est ramenée à 13% environ ; la cristallisation est fortement inhibée même si le miel estensemencé (Tabouret, 1979).

## **3. Viscosité**

La viscosité est très élevée à basse température. Elle décroît rapidement lorsque la température augmente (Gonnet, 1982). Pour 30 à 35°C, la viscosité est minimale, c'est d'ailleurs la température de la ruche. C'est pourquoi les apiculteurs sont contraints, au cours des opérations de centrifugation, d'extraction et de mise en pots, d'opérer à température suffisamment élevée (Huchet *et al.*, 1996).

D'après Hooper (1980), cette viscosité est également accentuée par la quantité de la matière colloïdale contenue dans le miel : les miels foncés ont une viscosité plus élevée que les miels clairs.

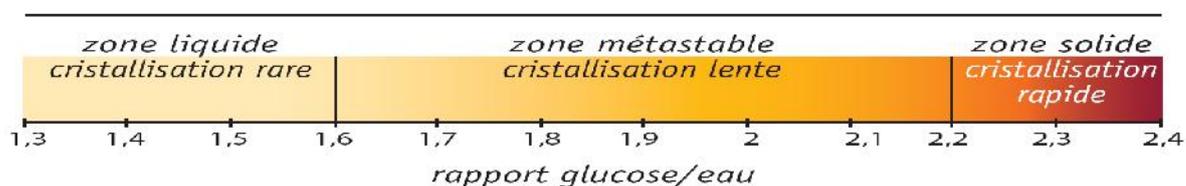
## **4. Teneur en sucre**

### **4.1. Teneur en glucose et le rapport glucose/eau**

White *et al* (1962), ont démontré statistiquement que la tendance du miel de se cristalliser est liée à la proportion entre la concentration en glucose et la quantité de l'eau (glucose/eau). Pour des

subordonnés de valeurs à 1.60 la cristallisation est pratiquement nulle ou très lente, toutefois les valeurs supérieures à 2 sont plus rapides et complets (Figure 2).

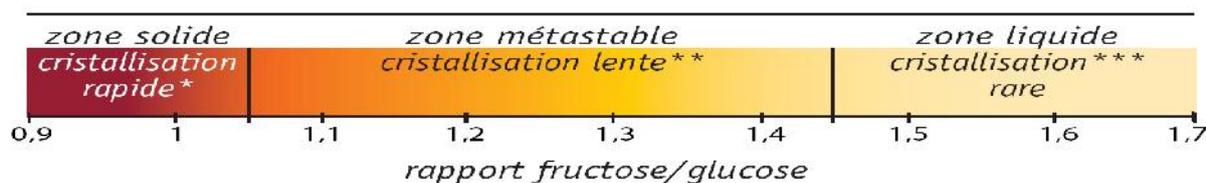
La sursaturation est un facteur important de la cristallisation, elle permet de mesurer le gradient qui est le déséquilibre de concentration entre la solution actuelle et la solution juste saturée correspondante. La solution saturée de glucose pur à 20°C correspond au rapport D/W= 0,90, la présence des autres sucres ne modifie que légèrement cette valeur de référence, par conséquent tous les miels naturels sont très sursaturés en glucose et devraient cristalliser rapidement, et d'autant plus rapidement que le rapport D/W est plus élevé, pour les miels courants dont la teneur en eau (W) supérieure à 15%, les chances de cristallisation augmentent avec D/W (Tabouret, 1979).



**Figure 2** : Vitesse de cristallisation des miels en fonction du rapport glucose/eau (Helene, 2008).

#### 4.2. Teneur en fructose et le rapport fructose /glucose

Le fructose empêche la cristallisation puisqu'il augmente la solubilité du glucose dans le miel (Crane, 1975). Généralement, les miels avec un plus petit pourcentage à 30% de glucose tendent à se cristalliser plus lentement, moins que ceux qui forment à 10% de mélézitose (Crane, 1975; White, 1978). Le fructose immobilise par solvatation les molécules d'eau et freine ainsi la migration des molécules de sucre (Tabouret, 1979). Plus la teneur en glucose est élevée, plus rapide sera la cristallisation de miel (Figure 3).



\* cristallisation rapide : complète au bout d'un mois ; \*\* cristallisation lente : 1 à 12 mois

\*\*\* cristallisation rare : + de 12 mois

**Figure 3**: Vitesse de cristallisation des miels en fonction du rapport fructose/glucose (Helene, 2008).

#### 5. La présence d'amorce

La cristallisation est favorisée par l'existence des centres de cristallisation qui agissent autour de l'agglutination des molécules de sucre ; les plus fréquents sont les microcristaux du glucose, des

grains de pollen, de particules de cire, de poussière et d'air. La plupart d'entre eux est présente dans tous les miels (Siddiqui, 1970 ; Serra, 1986).

### **III. Contrôle de la cristallisation**

Pour favoriser une cristallisation rapide et homogène, l'apiculteur peut « ensemer » son miel. Cela consiste à mélanger le miel que l'on souhaite cristalliser avec environ 10% d'un autre miel à cristallisation fine, qui introduira alors des cristaux qui serviront d'amorce à la cristallisation (Pham-Délègue M., 1999).

#### **1. Cristallisation dirigée**

Pour éviter les défauts de cristallisation et accroître la popularité d'un miel au pré des consommateurs, Il existe trois techniques qui permettent de contrôler la cristallisation du miel :

##### **1.1. Le brassage**

Cette technique permet d'obtenir un miel onctueux. Le brassage consiste à mélanger régulièrement le miel à l'aide d'un agitateur jusqu'à ce que le miel soit opaque et visqueux, soit jusqu'à ce que la cristallisation soit avancée. Le chauffage n'est pas indispensable, le brassage permet d'user les cristaux du miel par friction et écrasement (ADAAQ, 2010).

##### **1.2. Le dépeçage à froid**

Cette technique permet d'obtenir un miel souple et homogène. Le dépeçage à froid consiste à briser la structure cristalline en écrasant les cristaux grossiers les uns contre les autres par un effet de râpage, l'avantage et l'absence totale de chauffage et donc la préservation de la qualité du miel (ADAAQ, 2010).

##### **1.3. L'ensemencement**

Cette technique permet d'obtenir une cristallisation fine et homogène du miel. La technique de l'ensemencement consiste à introduire une petite quantité de miel cristallisé à cristallisation fine, appelée semence, dans du miel liquide (environ 10%). la semence joue le rôle de germe dans la cristallisation qui par le processus de croissance cristalline va engendrer une cristallisation fine et homogène dans l'ensemble du miel (ADAAQ, 2010).

# *Chapitre III*

*Traitements de liquéfaction du miel*

## I. Technique de liquéfaction du miel

Le miel est soumis à des traitements thermiques pour deux différentes raisons, la première étant pour modifier sa tendance à la cristallisation ou de retarder son apparition. La deuxième raison étant de détruire les microorganismes qui le contaminent (Tosi *et al.*, 2002). Par conséquent le chauffage peut affecter négativement la qualité du miel en modifiant sa composition naturelle. Les deux paramètres les plus importants qui limitent la qualité du miel sont la teneur en HMF et sont activité diastasique. En effet ces deux paramètres sont employés comme indicateurs de la surchauffe ou de la fraîcheur du miel (Tosi *et al.*, 2004 ; Arcy, 2007 ; Turhan *et al.*, 2008).

### 1. Microondes

Les conditions de liquéfaction du miel doivent être adaptées pour chaque appareil, pour cette raison on ne peut recommander les fours micro-ondes pour la liquéfaction du miel. En outre, il ressort des expériences effectuées avec ce type d'appareil que (Bogdanov, 1999) :

- Les enzymes et l'activité de l'inhibine subissent des détériorations importantes lors de la liquéfaction des miels de fleurs.
- Comparativement les miels de forêt et de châtaignier sont moins détériorés.

Hebbar *et al.*(2003) on conclu qu'il est possible de réaliser un niveau acceptable de réduction de levure par une combinaison du niveau de temps et de puissance du chauffage par micro-ondes pour empêcher la détérioration du miel par la fermentation pendant le stockage aux températures ambiantes.

### 2. Ultrasons

Les ultrasons sont des ondes sonores avec des hautes fréquences, elles traversent dans un milieu liquide et provoquent des cavitations si l'amplitude est suffisamment haute. Les cavitations sont causées par la rapidité de formation et de disparition des microbulles dans le liquide et qui cèdent le passage à la transmission d'énergie ultrasonique (Ensminger, 1973).

Kalogereas (1955), Liebel (1978) et Arcy (2007) ont signalé que les ondes de sons à haute fréquence (9, 18, 23 et 24 K Hertz) éliminent les cristaux existants, détruisent les levures, améliorent l'aspect du miel et retardent d'avantage la cristallisation.

Kalogereas (1955) a étudié l'utilisation des ondes à haute fréquence d'ultrasons sur le miel. Les miels ont été soumis à l'ultrason à 9 K Hertz de fréquence pendant 30 min et sont stockés aux diverses températures 39 °C et - 40°C. Les échantillons ont été examinés après des périodes de

stockage allant de 1 à 4 semaines, il a constaté l'absence totale des cristaux dans les échantillons traités. De plus, la réduction du nombre de levures.

L'utilisation des ultrasons dans le miel peut détruire les constituants indésirables, tels que les cristaux et les levures, sans pour autant réduire la qualité du miel, et de maintenir son un état liquide pendant une long durée (Arcy, 2007).

### **3. Appareil Jakel**

Appareil Jakel ou le fondoir à opercules est équipé de 2 chaudières: une qui chauffe le fond du bac du fondoir à 30°C et une autre qui chauffe les tubes à 80-90°C. La figure 4 est une vue d'ensemble sans le couvercle.

La liquéfaction dure 2,5 heures, après refroidissement, le miel liquéfié est purifié au moyen d'un filtre grossier. Après la liquéfaction du miel dans l'appareil Jakel, une multiplication par 4 de la teneur en HMF a été relevée, Quant à l'activité enzymatique elle s'est vue réduite de 9 % (tableau II) (Bogdanov, 1994).



**Figure 4:** Appareil Jakel (Bogdanov, 1994).

### **4. Melitherm**

Il s'agit d'un récipient cylindrique muni d'un corps de chauffe et d'un fond grillagé recouvert d'un tamis à mailles fines. Le corps de chauffe repose sur le fond grillagé. Le miel figé fond immédiatement au contact de corps de chauffe et s'écoule au travers du tamis et de fond grillagé dans le récipient de réception (Figure 5). Malgré une température d'environ 55-60°C, le miel ne subit aucune détérioration, car il ne reste que peu de temps en contact avec le corps de chauffe (Bogdanov, 1999).

Après la liquéfaction avec le melitherm, la teneur en HMF n'a subit aucune augmentation et seule une faible baisse de 6% l'activité enzymatique a été constatée (Tableau II) (Bogdanov, 1994).



**Figure 5:** Melitherm (Bogdanov, 1994).

**Tableau II :** Evolution de l'HMF et l'activité de la saccharase pendant la liquéfaction au melitherm et à l'appareil jakel (Bogdanov, 1994).

Echantillon (miel)	Activité de saccharase	HMF (mg /kg)	Conductibilité (mS /cm)
<b>Avant melitherm</b>	22,9	0,45	0,82
<b>Après melitherm</b>	21,6	0,45	0,82
<b>Avant jakel</b>	16,2	0,45	0,80
<b>Après jakel</b>	14,7	2,10	0,80
<b>Norme pour miels naturels</b>	Min. 10	Max. 15	/

# *Partie Expérimentale*

# **Matériels et Méthodes**

## **I. Echantillon du miel**

L'échantillon du miel cristallisé utilisé dans cette étude est procuré chez un apiculteur (Figure 6). Ce miel est élaboré à parti de fleurs (miel de nectar) et a été récolté vers mai- juin de l'année 2014 à la région de la wilaya de Bejaia (Tichy).



**Figure 6 :** Flacons de conservation du miel.

### **1. Homogénéisation et préparation des échantillons**

Avant de réaliser l'aliquotage, le miel est bien mélangé dans un grand récipient pour assurer une bonne homogénéisation. Pour pouvoir appliquer le traitement en fonction de l'amplitude de sonication à des périodes différents, 11 béchers sont remplis chacun avec 30 g du miel (Figure 7 et 8).



**Figure 7 :** Homogénéisation du miel.



**Figure 8 :** Aliquotage des 11 échantillons du miel.

## 2. Traitement

Les échantillons du miel sont traités avec des amplitudes de sonication (20, 60, et 100%) et pendant des temps variables (10, 20 et 20 minutes). Le dispositif de sonication est indiqué dans la figure 9. Les essais sont réalisés suivant le modèle du plan factoriel complet qui sont déterminés par le logiciel de JMP et qui sont indiqués dans le tableau III. Pour l'évaluation de l'erreur des modèles trois points centraux sont réalisés (E5, E5.1, E5.2).



**Figure 9:** Dispositif pour le traitement de liquéfaction du miel.

**Tableau III :** Essai du plan factoriel complet pour le traitement de liquéfaction du miel.

	<b>Essais</b>	<b>Temps (min)</b>	<b>Traitement ultrason(%)</b>
1	<b>E1</b>	10	20
2	<b>E2</b>	15	20
3	<b>E3</b>	20	20
4	<b>E4</b>	10	60
5	<b>E5</b>	15	60
6	<b>E5.1</b>	15	60
7	<b>E5.2</b>	15	60
8	<b>E6</b>	20	60
9	<b>E7</b>	10	100
10	<b>E8</b>	15	100
11	<b>E9</b>	20	100

## **II. Analyses physicochimiques des échantillons de miel**

### **1. Humidité et degré de Brix**

Deux grammes de miel sont introduites dans un tube à essai puis misent au bain marie à 50°C jusqu'à disparition des cristaux de sucre. Après homogénéisation, une goutte de miel est déposée sur le prisme du réfractomètre d'Abbe. L'indice de réfraction et le Brix de chaque échantillon sont lus directement sur le réfractomètre d'Abbe, le pourcentage de l'eau qui correspond à l'indice de réfraction est donné par la table de CHATAWAY (Annexe II, tableau XV) à 20°C (Bogdanov, 2002).

### **3. Couleur**

La méthode utilisée est celle décrite par Bath et Singh (1999). Une masse de miel (1,25 g) est dissoute dans une quantité d'eau distillée chauffée préalablement à l'étuve (40°C). Le volume est ajusté à 5 ml avec de l'eau distillée, puis la solution est filtrée sur papier whatman. L'absorbance est lue à 420 nm contre un blanc (eau distillée).

### **4. Hydroxymethylfurfural**

Le dosage de l'hydroxymethylfurfural (HMF) est basé sur la mesure de l'absorbance de ce composé dans l'ultra-violet selon la méthode de Sarra bonhevi (1991).

Une quantité de 5 grammes de miel est dissoute dans 25 ml d'eau distillée. La solution est homogénéisée avec 0,5 ml de solution de Carrez I (hexanocyanoferrate de potassium 15%) et 0,5 ml de solution Carrez II (acétate de zinc à 30%), puis le volume est ajusté à 50 ml avec de l'eau distillée. Après filtration, les premiers 10ml du filtrat sont écartés, deux aliquotes de 5ml sont alors introduites dans deux tubes à essais, l'un avec 5ml d'eau distillée (aliquote d'analyse) et l'autre avec 5ml de dissulfite de sodium à 0,2 % (aliquote de référence). L'absorbance est lue au spectrophotomètre (Shimadzu) à 284 nm et à 336 nm. La teneur en HMF est donnée par l'équation :

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

- $A_{284}$  et  $A_{336}$  : absorbance respective à 284 et à 336nm.
- P : poids de l'échantillon de miel en g.
- 149,7 : Constante.
- D : Facteur de dilution

## 5. Composés phénoliques

La teneur en phénols est déterminée selon la méthode de Velioglu *et al* (1998). Cette dernière est basée sur la réaction colorée des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu (acide phosphotungstique et acides phosphomolybdique) qui est utilisé pour déterminer les phénols totaux dans l'échantillon. Lors de la réaction avec des phénols, le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit à un oxyde de couleur bleue. La coloration bleue produite possède un maximum d'absorbance à 760 nm.

Une quantité de 1 g de miel est dissout dans 10 ml d'eau distillée, puis 100µl sont homogénéisés avec 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué. Après 5 minutes, 1,5 ml de carbonate de sodium à 6% sont ajoutés. La préparation est laissée à l'obscurité pendant 90 min, puis l'absorbance est lue à 760 nm. Les concentrations en composés phénoliques totaux du miel sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique comme standard (Annexe I, figure 29).

## 6. Activité antioxydante

### 6.1. Activité antiradicalaire

La détermination du pouvoir antiradicalaire est basée sur la diminution de l'absorbance à 517 nm quand le radical libre 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), réagit avec un antioxydant (Meda *et al.*, 2005). Un volume de 1ml de solution de miel est mélangé avec 2 ml de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 90 min avant de lire les absorbance à 517 nm.

L'activité antioxydante est exprimée en mg/kg d'inhibition du radical DPPH selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = \frac{(A_{t_0} - A_{t_{90}})}{A_{t_0}} \times 100$$

La teneur en antioxydants à activité antiradicalaire est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Annexe I, figure 30).

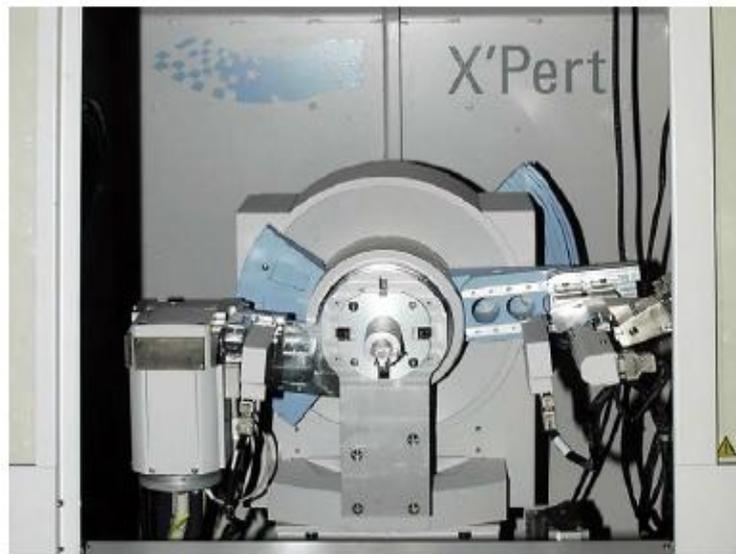
**A<sub>t<sub>0</sub></sub>**: Absorbance du témoin après 90 min.

**A<sub>t<sub>90</sub></sub>**: Absorbance des échantillons mesurés après 90 min.

## 7. Diffraction aux rayons X

Les analyses de diffraction aux rayons X ont été réalisées avec un diffractomètre expert prof panalytical (Figure 10).

La longueur d'onde de la radiation utilisée est celle du  $K_{\alpha 1} = 1,5406 \text{ \AA}$ . Elle est générée par une anode en cuivre, sous une tension de 45 kV et un courant de 30 mA. Une quantité de 8g d'échantillon est introduit dans un support en plastique (PET). L'acquisition du diffractogramme est effectuée à des angles  $2\theta$  compris entre 5 et 50°. Le type de balayage est continu avec un pas de 0,02° et une vitesse de 7°/min.



**Figure 10** : Photo du goniomètre X'Pert Pro Panalytical.

Le principe consiste à faire varier l'incidence du faisceau X par rapport à la surface de l'échantillon. Lorsque la condition de Bragg est vérifiée, pour une famille de plans donnée, il y a diffraction du faisceau X. L'intensité diffractée est proportionnelle au nombre de plans de cette famille en position de diffraction. Nous obtenons un diffractogramme où les différents pics correspondent aux différentes familles de plans cristallins.

**Loi de Bragg** :  $2d \sin \theta = n \lambda$

**n** : ordre de diffraction.

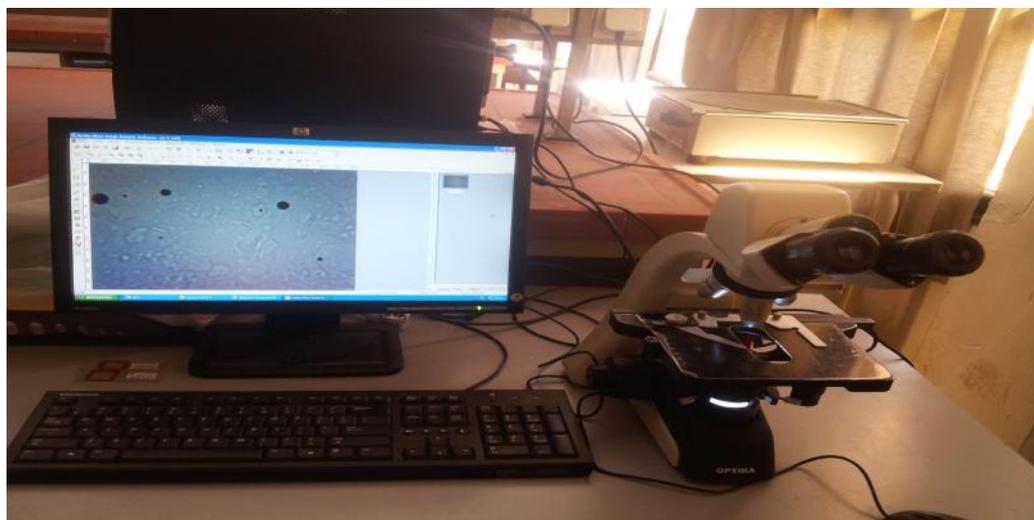
**d** : représente la distance inter planaire.

$\theta$  : l'angle d'incidence du faisceau de rayons X.

$\lambda$  : la longueur d'onde du faisceau incident.

## **8. Analyse microscopique**

Une goutte de miel est prélevée, étalée sur une lame, puis analysée au microscope optique équipé d'un logiciel Optika micro image Analysis (Figure 11). Le grossissement utilisé est de 40 X 8.



**Figure 11** : Microscope optique couplé à un logiciel Optika micro image Analysis.

## **9. Analyse statistique**

Le traitement des données de la physicochimie (Humidité, Brix, Couleur, Composés phénoliques, HMF, Pourcentage et taille des cristaux) et de l'activité antioxydante ainsi que la réalisation des graphes ont été effectuées par logiciel JMP (S.A .S).

Le modèle statistique suivie dans cette étude pour l'analyse de l'effet couple temps- amplitude est celui du plan factoriel complet avec deux facteur. L'erreur des modèles est estimée à partir de trois points centraux.

# **Résultats et Discussions**

### I. Vérification des modèles quadratiques et linéaires des facteurs

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

L'analyse des modèles de régression par le logiciel JMP a permis de décider sur l'adaptation d'une régression linéaire ou quadratique. Cela est facilité par la vérification de deux paramètres, le premier est d'obtenir une valeur de la probabilité de modèle inférieur 0,05 ( $p < 0,05$ , le modèle est significatif) et le deuxième est d'avoir un défaut d'ajustement d'une probabilité supérieure à 0,05 (le défaut d'ajustement de modèle est non significatif). Si les deux conditions ne sont pas remplies, le paramètre n'est pas considéré dans l'analyse. Nous avons facilité l'étude de prendre le modèle linéaire dans le cas où les deux modèles quadratiques répondent favorablement. L'analyse de la variance ainsi que le défaut d'ajustement des différents facteurs sont rapportés dans (Annexe II, tableau XVI-XXIII).

**Tableau IV :** Plan d'expérimentation et les résultats des analyses physico-chimiques.

Temps (min)	Amplitude (%)	Humidité (%)	Brix (%)	Couleur	HMF (mg/kg)	Phénols (mg/kg)	DPPH (mg/kg)	Cristaux (%)	Taille des cristaux (nm)
10	20	17,21	81,1	0,24	25,45	1508,33	199,6	94,17	4155
15	20	17,8	80,45	0,25	28,44	1508,97	120,55	89,79	2477
20	20	17,8	80,45	0,26	26,65	1510,77	122,53	84,73	1823
10	60	17,45	80,9	0,24	24,85	1498,53	150,2	40,15	816
15	60	16,82	81,4	0,23	24,7	1503,88	134,39	29,03	569
15	60	16,82	81,4	0,23	26,05	1503,98	136,36	24	395
15	60	16,14	82,3	0,25	23,35	1504,06	134,39	20,09	150
20	60	16,04	82,2	0,23	18,56	1507,79	130,43	23,9	394
10	100	16,43	81,9	0,24	23,35	1483,14	126,48	23,1	374
15	100	15,84	82,4	0,25	20,66	1488,74	120,55	15,37	314
20	100	15,84	82,4	0,27	21,86	1496,08	153,36	0	0

Les valeurs de probabilités sont représentées dans le tableau V ci-dessous. A partir des valeurs de probabilités et des défauts d'ajustements, les paramètres qui présentent des effets significatifs sont : l'humidité, le Brix, le pourcentage des cristaux et la taille des cristaux qui sont ajustés par des modèles linéaires et la teneur en composés phénoliques qui est ajusté au modèle quadratique. Les autres paramètres non aucun effet significatif ( $p > 0,05$ ), c'est-à-dire l'influence du temps et de l'amplitude ne montrent aucune régression ou évolution ni linéaire ni quadratique.

**Tableau V:** Valeurs de probabilités des modèles linéaires et quadratiques ainsi que les défauts d’ajustement des paramètres analysés.

	Modèle linéaire		Modèle quadratique	
	Modèle	défauts d’ajustement	Modèle	défauts d’ajustement
Humidité	0,010*	0,528	0,128	0,575
Brix	0,016*	0,702	0,161	0,693
Couleur	0,678	0,419	0,358	0,517
HMF	0,108	0,237	0,242	0,193
Composés phénoliques	0,540	0,669	<0,0001*	0,475
Anti-radical DPPH	0,025*	0,002*	0,112	0,001*
Pourcentage de cristaux	0,003*	0,059	<0,0001*	0,5193
Taille Cristaux	0,0116*	0,059	0,0009*	0,2468

(\*) Indique que le modèle ou le défaut d’ajustement est statistiquement significatif ( $p < 0,05$ ).

### 1. Analyse des modèles de l’humidité et du Brix

Les résultats de la mesure de l’humidité et du brix ainsi que le calcul de leurs valeurs prévues via les modèles linéaires pour les différentes combinaisons d’amplitude et du temps sont regroupés dans le tableau VI. Le taux d’humidité des échantillons analysés varie entre 15,84 et 17,80% et entre 82,4 et 80,45% pour le brix.

**Tableau VI :** Plan d’expérimentation et résultats mesurés et prédites de l’humidité et du brix.

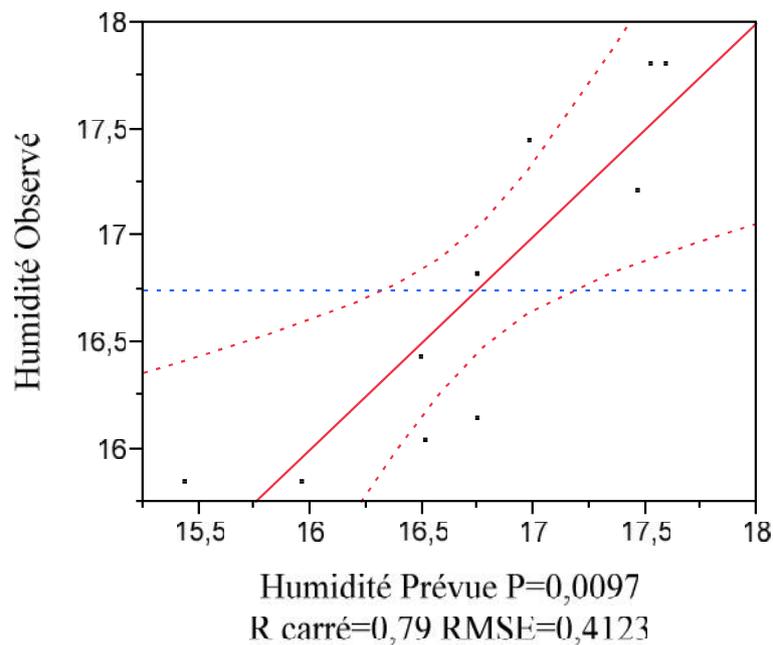
Essai	variables		Humidité		Brix	
	Temps	Amplitude	Mesurés	Prévues	Mesurés	Prévues
1	10	20	17,21	17,47	81,1	80,85
2	15	20	17,8	17,53	80,45	80,75
3	20	20	17,8	17,59	80,45	80,66
4	10	60	17,45	16,98	80,9	81,34
5	15	60	16,82	16,74	81,4	81,54
6	20	60	16,04	16,51	82,2	81,73
7	15	60	16,82	16,74	81,4	81,54
8	15	60	16,14	16,74	82,3	81,54
9	10	100	16,43	16,49	81,9	81,84
10	15	100	15,84	15,96	82,4	82,32
11	20	100	15,84	15,43	82,4	82,8

Il ressort des données du tableau VI que les valeurs expérimentales et prédites sont étroitement rapprochées. Le graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues (Figure 12 et 13) montre que les valeurs des modèles linéaires de l’humidité et du brix concordent avec les valeurs

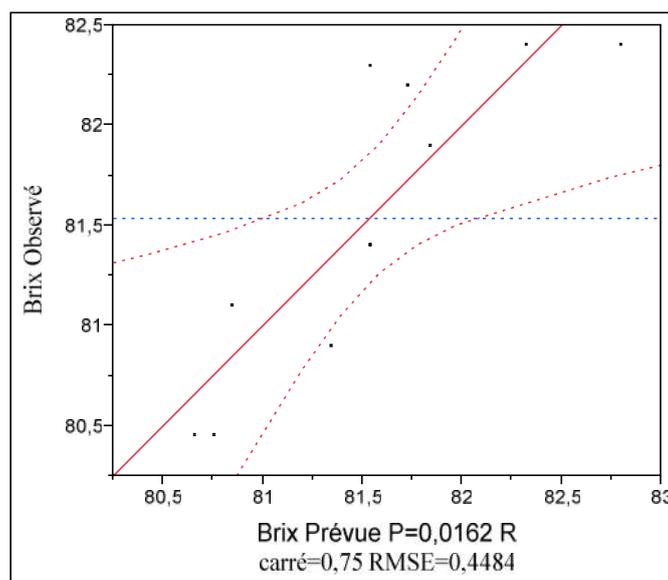
mesurées. Cela est soutenu également par les faibles valeurs des racines des carrés moyens des résidus (RMSE, *Root Mean Square Error*).

L'analyse de variance permet de calculer un paramètre statistique très utile qui est le coefficient de détermination ( $R^2$ ). Cette statistique est le rapport de la somme des carrés des réponses calculées (corrigées à la moyenne) par la somme des carrés des réponses mesurées (corrigées à la moyenne).

Si le coefficient de détermination se rapproche de 1, le modèle exprime une forte puissance d'explication. Si  $R^2$ , par contre, se rapproche de 0, le modèle ne présente pas de faculté d'explication. Avec un coefficient de détermination qui vaut 0,79 (pour l'humidité) et 0,75 (pour le brix), les modèles linéaires des deux paramètres permettent d'expliquer 79 et 75% de la réponse mesurée.



**Figure 12:** Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour la teneur en humidité.



**Figure 13:** Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour le Brix.

### 1.1. Effets des facteurs

A partir des résultats de l'estimation des coefficients (Tableau VII), l'amplitude est le seul paramètre qui influence significativement le modèle de l'humidité ( $p=0,002$ ) et celui du Brix ( $p=0,004$ ), alors que ni le temps de sonication ni l'interaction entre le temps et l'amplitude n'exprime un effet considérable.

**Tableau VII:** Estimation des coefficients des modèles linéaires de l'humidité et du brix.

	Estimation	Erreur standard	Rapport t	P > t
<b>Humidité</b>				
Constante	18,625	0,578	32,220	<0,0001*
Temps	-0,047	0,034	-1,400	0,205
Amplitude	-0,020	0,004	-4,650	0,002*
Temps*Amplitude	-0,001	0,001	-1,430	0,196
<b>Brix</b>				
Constante	79,786	0,629	126,890	<0,0001*
Temps	0,038	0,037	1,050	0,330
Amplitude	0,020	0,005	4,280	0,004*
Temps*Amplitude	0,001	0,001	1,280	0,241

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

Les modèles mathématiques du premier ordre de l'humidité et du brix simplifiés par l'élimination des facteurs non significatifs sont donnés comme suit :

$$\text{Humidité (\%)} = 18,625 - 0,02 x \quad (x : \text{Amplitude de sonication}).$$

$$\text{Brix (\%)} = 79,786 - 0,02 x \quad (x : \text{Amplitude de sonication}).$$

La figure 14 présente l'influence du temps et l'intensité de l'amplitude sur la teneur en humidité au cours de la dé cristallisation. D'après la figure 14, l'amplitude montre un effet inversement proportionnel au taux d'humidité du miel et le temps du traitement n'affecte pas significativement le taux d'humidité. Malgré que au cours de traitement, le soin est prit de ne pas dépasser la température de 40°C, mais le taux d'humidité du miel est significativement réduite. Cette diminution est attribuée à la chaleur générée par le traitement de sonication.

L'effet du temps et de l'amplitude de sonication sur le Brix de miel est illustré dans la figure 15. Comme l'humidité, le brix est influencé par l'amplitude alors qu'il n'est pas affecté par le temps de sonication. L'humidité et le Brix sont inversement proportionnel ( $r = -0,995$ ) ; la diminution du taux d'humidité se traduit par l'élévation du pourcentage de la matière sèche.

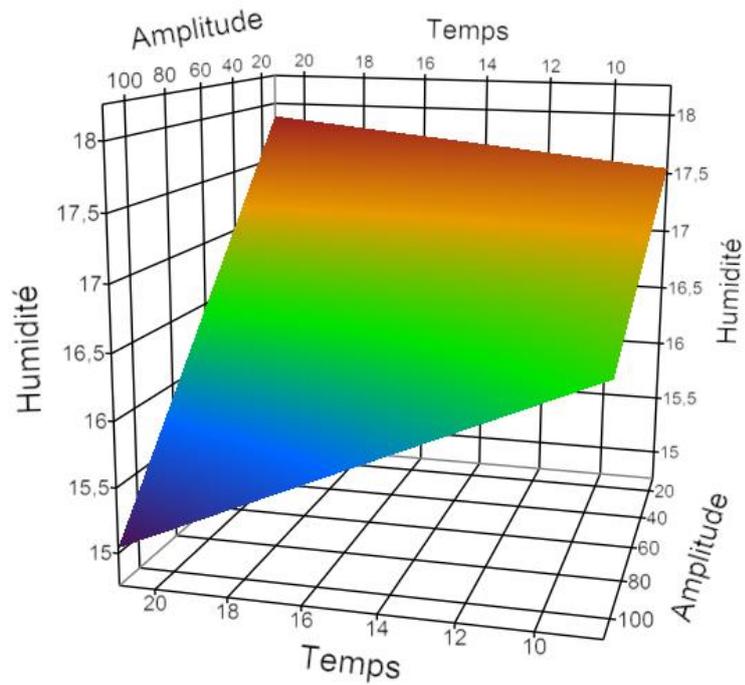


Figure 14 : Effet du temps et de l'amplitude sur l'humidité du miel.

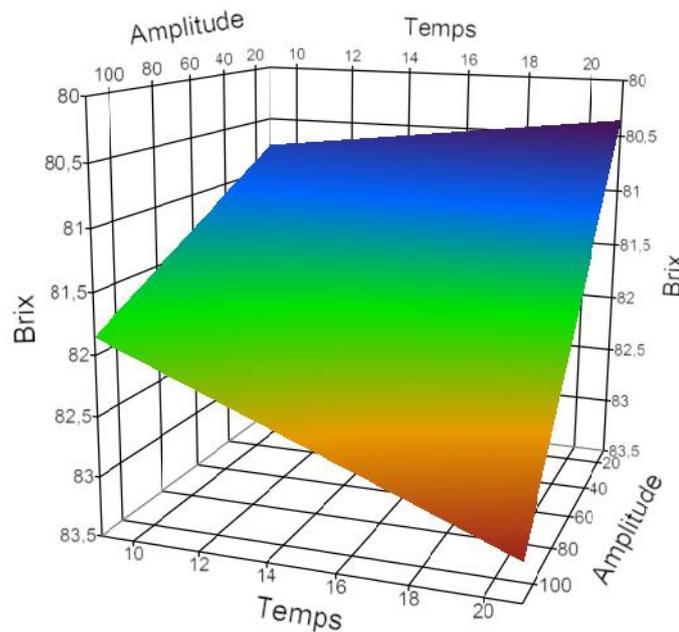


Figure 15 : Effet du temps et de l'amplitude sur le brix du miel.

## 2. Composés phénoliques

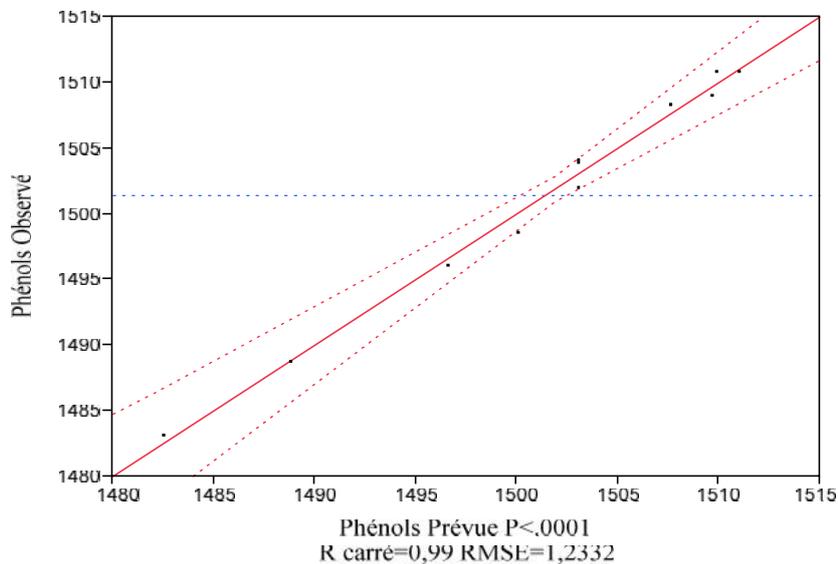
### 2.1. Analyse du modèle des composés phénoliques

Dans le tableau VIII sont regroupés les tests du plan d'expérimentation suivant le modèle quadratique (centrale composite), les résultats de l'analyse et les valeurs prédites des composés phénoliques. La plage d'expérimentation permet d'indiquer un intervalle de variation des

composés phénoliques allant de 1483,14 à 1510,79 mg/100g. La comparaison des valeurs mesurées et prédites indique une similarité étroite. Le coefficient de détermination de 0,99 indique que le modèle quadratique permet d'expliquer 99% de la réponse expérimentale ; 1% de précision est seulement perdue (Figure 16).

**Tableau VIII:** Plan d'expérimentation et les résultats mesurés et prédites des composés phénoliques.

Essai	variables		Composés phénoliques (mg/100g)	
	Temps	Amplitude	Mesurés	Prévues
1	10	20	1483,14	1482,55
2	15	20	1488,74	1488,81
3	20	20	1496,08	1496,6
4	10	60	1498,53	1500,03
5	15	60	1501,98	1503,05
6	15	60	1504,06	1503,05
7	15	60	1503,88	1503,05
8	20	60	1508,33	1507,6
9	10	100	1510,79	1509,88
10	15	100	1508,97	1509,67
11	20	100	1510,77	1510,98



**Figure 16:** Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour les composés phénoliques.

## 2.2. Effets des facteurs

L'effet des différents facteurs sur la réponse sont rapportés dans le tableau IX. Il sort des résultats que tous les paramètres influencent significativement la teneur en composés phénolique, excepté

l'effet quadratique du temps. L'effet linéaire de l'amplitude est le paramètre qui affecte le plus et d'une manière positive la concentration en composés phénoliques. Le temps de traitement contribue positivement dans l'augmentation de la concentration de ces composés. L'effet quadratique de l'amplitude de sonication est négatif, ce qui renseigne qu'à des grandes valeurs de l'amplitude, ce paramètre peut réduire la teneur en composés phénoliques. Une influence négative significative est aussi exprimée par l'effet d'interaction entre le temps et l'amplitude de sonication, cela indique que pour une concentration donnée de composés phénoliques, l'élévation de l'amplitude implique une réduction du temps et vis versa.

**Tableau IX** : Estimation des coefficients du quadratique des composés phénoliques.

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	P> t
Constante	1503,051	0,633	2375,900	<0,0001*
Temps	3,787	0,503	7,520	0,001*
Amplitude	10,428	0,503	20,710	<0,0001*
Temps*Amplitude	-3,240	0,617	-5,250	0,003*
Temps*Temps	0,764	0,775	0,990	0,370
Amplitude*Amplitude	-3,811	0,775	-4,920	0,004*

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

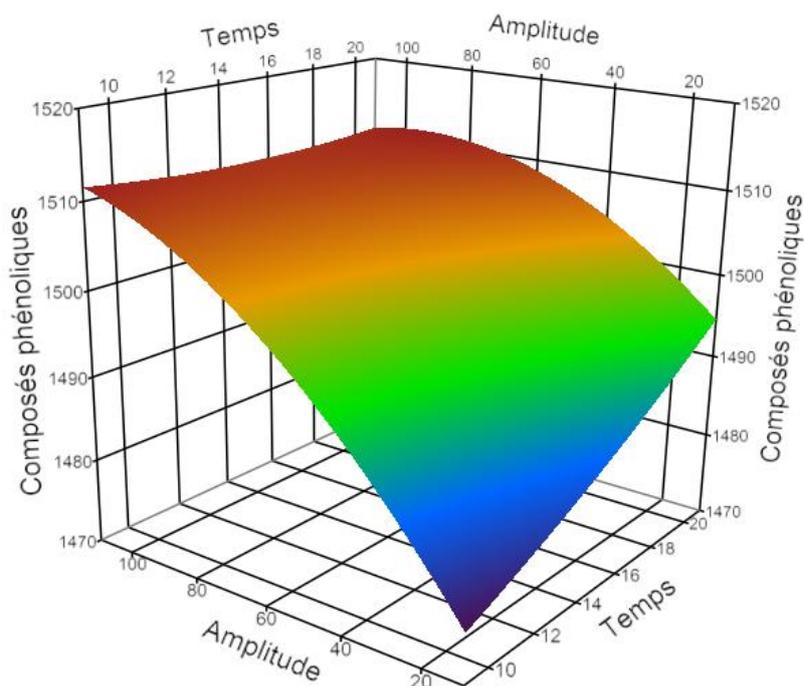
Le modèle mathématique de la régression quadratique des composés phénoliques en tenant compte des paramètres significatifs est donnée par l'équation suivante :

$$\text{Composés phénoliques (mg/kg)} = 1503,051 + 3,787x_1 + 10,428x_2 - 3,240x_1x_2 - 3,811x_2^2$$

Avec  $x_1$  : temps de sonication et  $x_2$  : amplitude de sonication.

La figure 17 représente l'effet du temps et de l'amplitude sur les teneurs en composés phénoliques du miel. Il est indiqué que l'augmentation de l'amplitude conduit à l'élévation du taux de composés phénoliques d'une manière proportionnelle au temps, mais pour des durées prolongées de sonication, la teneur en ces composés tend vers une réduction.

L'augmentation de la teneur en composés phénoliques au cours de traitement de décoloration est liée à la génération de la chaleur sous l'effet de la sonication. Mouhoubi (2006) a montré que le stockage de six échantillons du miel à 4 ou à 25°C n'affecte pas les teneurs en composés phénoliques alors que l'entreposage à 35°C manifeste une augmentation de la concentration de ces composés dans tous les échantillons, qui s'explique par l'augmentation du nombre de groupement hydroxyles libres, provenant de l'hydrolyse des flavonoïdes glycolyses.



**Figure 17:** Effet du temps et de l’amplitude sur les composés phénoliques du miel.

### 3. Pourcentages et tailles des cristaux

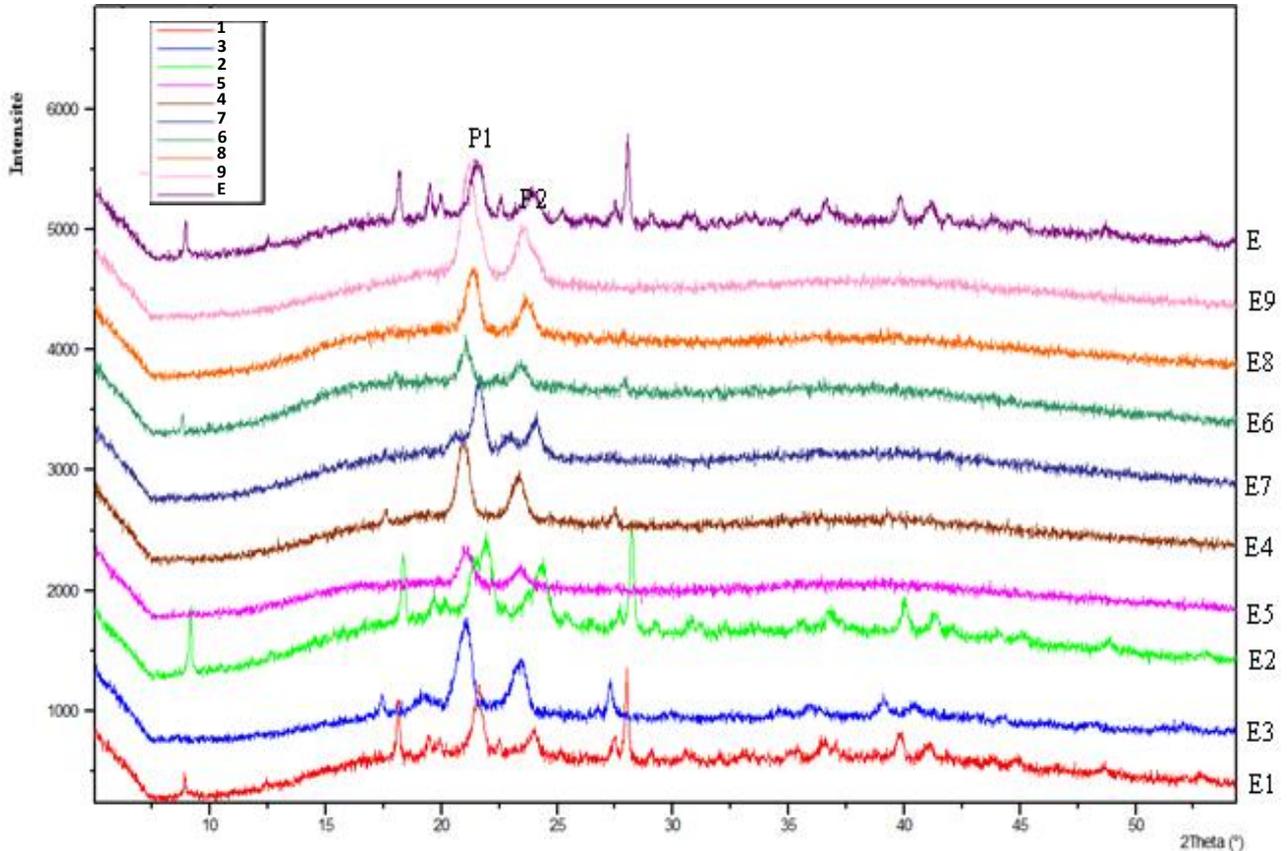
#### 3.1. Diffraction des rayons X

Le pourcentage et la taille cristaux sont suivis au cours du traitement de décristallisation du miel par la diffraction des rayons X (DRX). Cette méthode permet à partir de l’analyse d’un spectre de diffraction de déterminer des paramètres qualitatifs (nature et type de cristal) et quantitatifs (pourcentages et tailles des cristaux). Le taux de cristaux est calculé à partir de l’indice de cristallinité qui est le rapport entre l’aire des pics caractéristiques et l’aire globale.

Les spectres DRX de l’échantillon du miel avant traitement (E) ainsi que les échantillons traités par les ultrasons sont présentés dans la figure 18. À partir des spectres DRX des échantillons avant traitement (E) et ceux traités avec par l’intensité de sonication de 20%, nous pouvons constater que le traitement n’influence pas considérablement la décristallisation du miel. Cependant, les intensités de sonication de 60 et de 100%, affect d’une manière remarquable l’état cristallin du miel, une disparition des pics et la réduction de leurs tailles est constatée. La fusion totale des cristaux se manifeste par une absence totale des pics, ce qui se traduit par un état amorphe (cas de l’échantillon 9, traité par l’intensité de 100% à une durée de 20min).

**Remarque :** les deux pics répétitifs dans chaque spectre de la figure 18 (P1 et P2) sont des pics caractéristique du porte échantillon (Polytéréphtalate d’éthylène) et sont éliminés lors du traitement des spectres DRX par le logiciel X’Pert HighScore.

- Les échantillons E1, E2 et E3 traités avec une amplitude de 20%, E4, E5 et E6 traités avec une amplitude de 60% et les échantillons E7, E8 et E9 traités avec une amplitude de 100%.



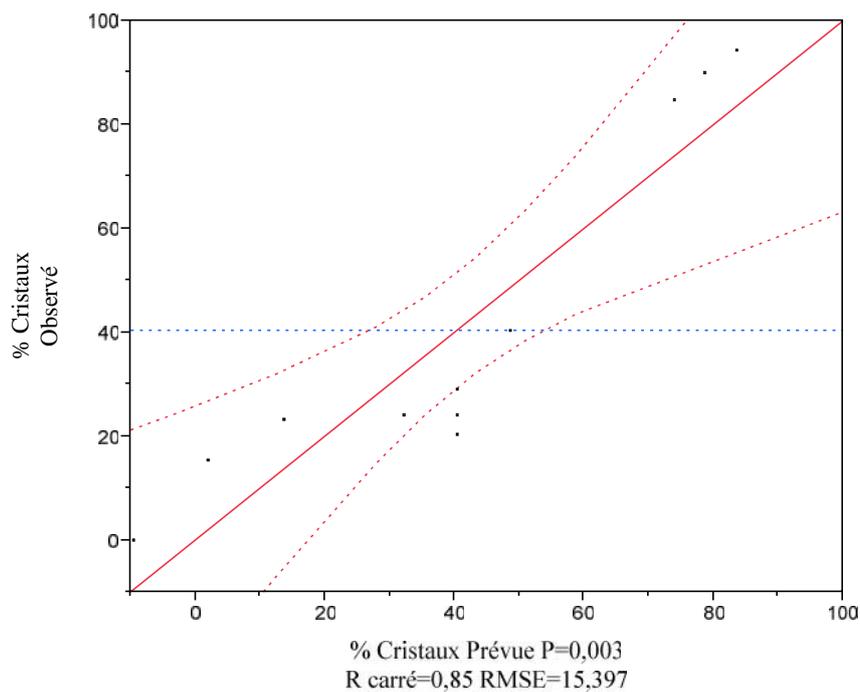
**Figure 18:** Spectres DRX des échantillons avant et après le traitement de sonication.

- **Pourcentage des cristaux**

Le plan d'expérimentation de l'effet du temps et de l'amplitude de sonication, les pourcentages de cristaux des échantillons du miel mesuré, déterminés par le logiciel X'Pert HighScore, ainsi que les valeurs prévues sont regroupés dans le tableau X. L'analyse des données des pourcentages de cristaux mesurés et prévus montre une corrélation significativement relativement importante d'un coefficient de 0,85 (Figure 19).

**Tableau X:** Plan d'expérimentation et les résultats mesurés et prévus du pourcentage des cristaux.

Essai	variables		Pourcentage des cristaux	
	Temps	Amplitude	Mesuré	Prévu
1	10	20	94,17	83,48
2	15	20	89,79	78,76
3	20	20	84,73	74,05
4	10	60	40,15	48,53
5	15	60	29,03	40,39
6	15	60	24	40,39
7	15	60	20,09	40,39
8	20	60	23,9	32,26
9	10	100	23,1	13,57
10	15	100	15,37	2,03
11	20	100	0	-9,52



**Figure 19:** Valeurs observées en fonction des valeurs prévues des pourcentages des cristaux.

### 3.2. Effets des facteurs

Le tableau XI présente l'effet des différents facteurs sur la réponse de décristallisation. Seule l'amplitude influence d'une manière significative ( $p < 0,001$ ) le pourcentage des cristaux, alors que ni le temps ( $p < 0,237$ ) ni le temps-amplitude ( $p < 0,671$ ) n'affect la réponse considérablement (Tableau XI).

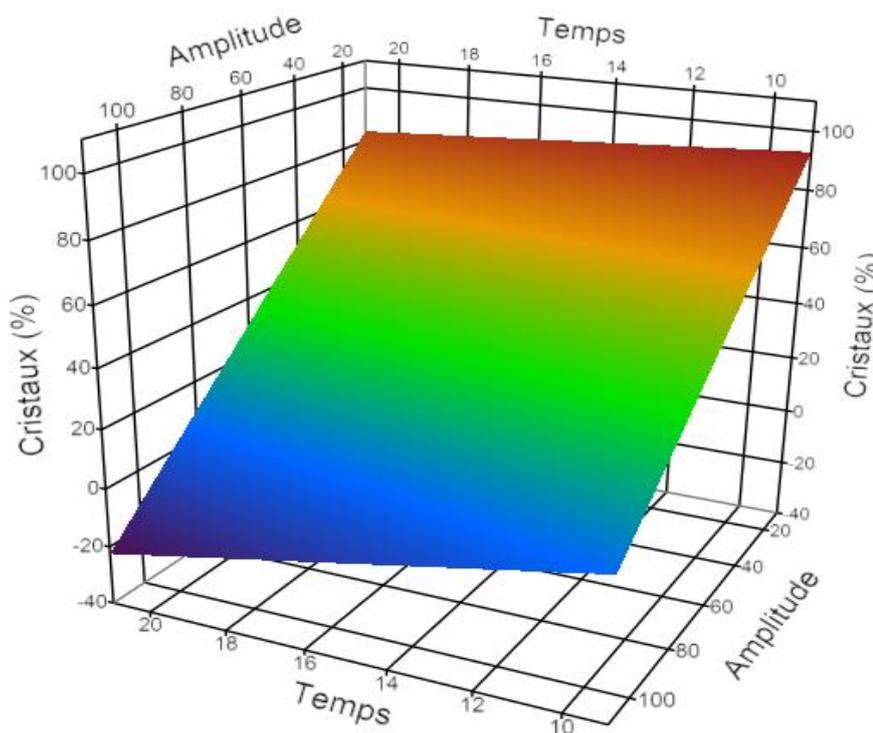
**Tableau XI:** Estimation des coefficients pour le suivi de l'évolution pourcentage des cristaux.

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Constante	122,342	21,588	5,670	0,001*
Temps	-1,626	1,257	-1,290	0,237
Amplitude	-0,959	0,157	-6,100	0,001*
Temps*Amplitude	-0,017	0,038	-0,440	0,671

Le modèle mathématique obtenu pour le pourcentage de cristaux est donnée comme suit :

$$\text{Cristaux (\%)} = 122,342 - 0,959x \quad \text{Avec } x : \text{ amplitude de sonication}$$

La figure 20 représente l'effet du temps et de l'amplitude sur le pourcentage des cristaux du miel. Le taux des cristaux diminue avec l'augmentation de l'amplitude, l'augmentation de la durée de sonication n'entraîne pas une réduction du pourcentage des cristaux.



**Figure 20 :** Effet du temps et de l'amplitude de sonication sur le pourcentage des cristaux du miel.

**- Taille des cristaux**

Le tableau XII ci-dessous illustre les résultats de l'analyse de la taille des cristaux calculée par le logiciel X'Pert HighScore suivant le plan factoriel complet. La comparaison des données expérimentales avec les valeurs prévues, montre un coefficient de détermination de 0,77. Les résultats de l'analyse de la tailles des cristaux répondent favorablement au modèle de premier, cela est soutenu par la valeur de la probabilité  $p=0,0116 < 0,05$  (Figure 21).

Tableau XII: Plan d'expérimentation et les résultats mesurés et prévus de la taille des cristaux.

Essai	variables		Taille des cristaux (nm)	
	Temps	Amplitude	Mesurée	Prévue
1	10	20	4155	3347,79
2	15	20	2477	2336,95
3	20	20	1823	1326,12
4	10	60	816	1563,79
5	15	60	569	1042,45
6	15	60	395	1042,45
7	15	60	150	1042,45
8	20	60	394	521,12
9	10	100	374	-220,21
10	15	100	314	-252,05
11	20	100	0	-283,88

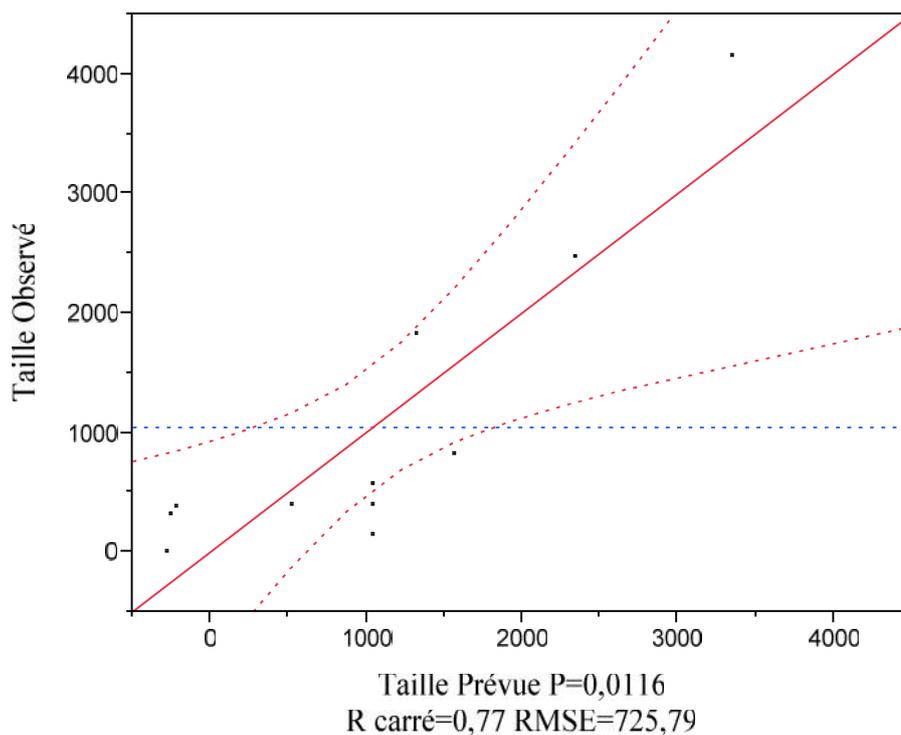


Figure 21: Valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour la taille des cristaux.

### 3.3. Effets des facteurs

L'estimation des coefficients présentés dans le tableau XIII, permet de constater que l'amplitude et le seul paramètre qui influence significativement la taille des cristaux ( $p=0,03$ ). Les effets du temps ( $p=0,122$ ) et l'interaction temps-amplitude ( $p=0,219$ ) ne sont pas significatifs.

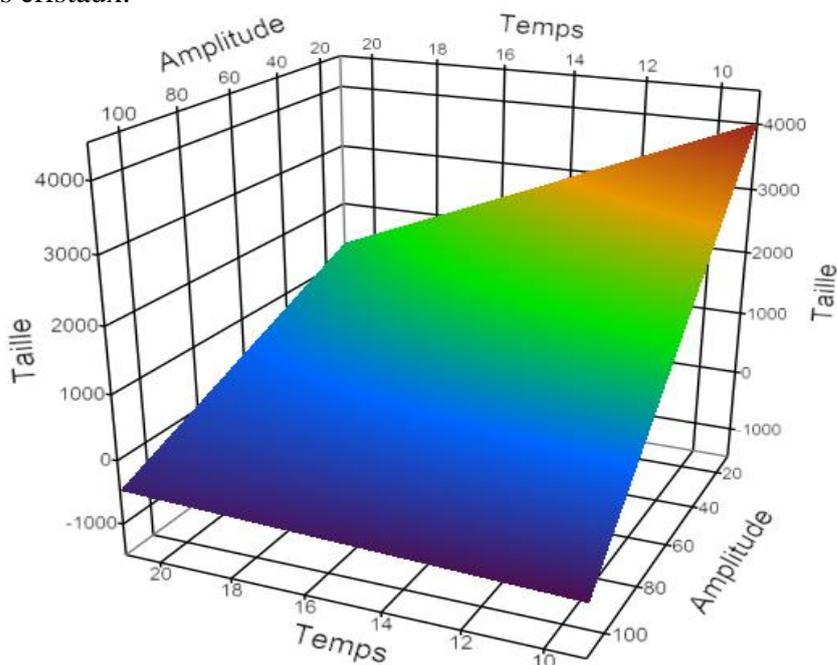
**Tableau XIII:** Estimation des coefficients pour le suivi de l'évolution de la taille des cristaux.

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	P> t
Constante	4548,205	1017,630	4,470	0,003*
Temps	-104,267	59,260	-1,760	0,122
Amplitude	-32,363	7,408	-4,370	0,003*
Temps*Amplitude	2,448	1,814	1,350	0,219

Le modèle mathématique linéaire obtenu pour la taille des cristaux est donnée par l'équation suivante :

$$\text{Taille de cristaux (nm)} = 4548,205 - 32,363x \text{ Avec } x : \text{ amplitude de sonication}$$

La figure 22 présente l'effet du temps et de l'amplitude sur la taille des cristaux. Le graphique montre une diminution de la taille des cristaux au fur et à mesure que l'amplitude augmente. Il apparaît que le temps a une influence pour les faibles valeurs d'amplitudes, mais vu l'hétérogénéité dans la taille des cristaux, analyse statistique ne montre aucun effet de ce paramètres. Pour les amplitudes de sonication élevées, en particulier à 100%, le temps n'a aucun effet sur la taille des cristaux.

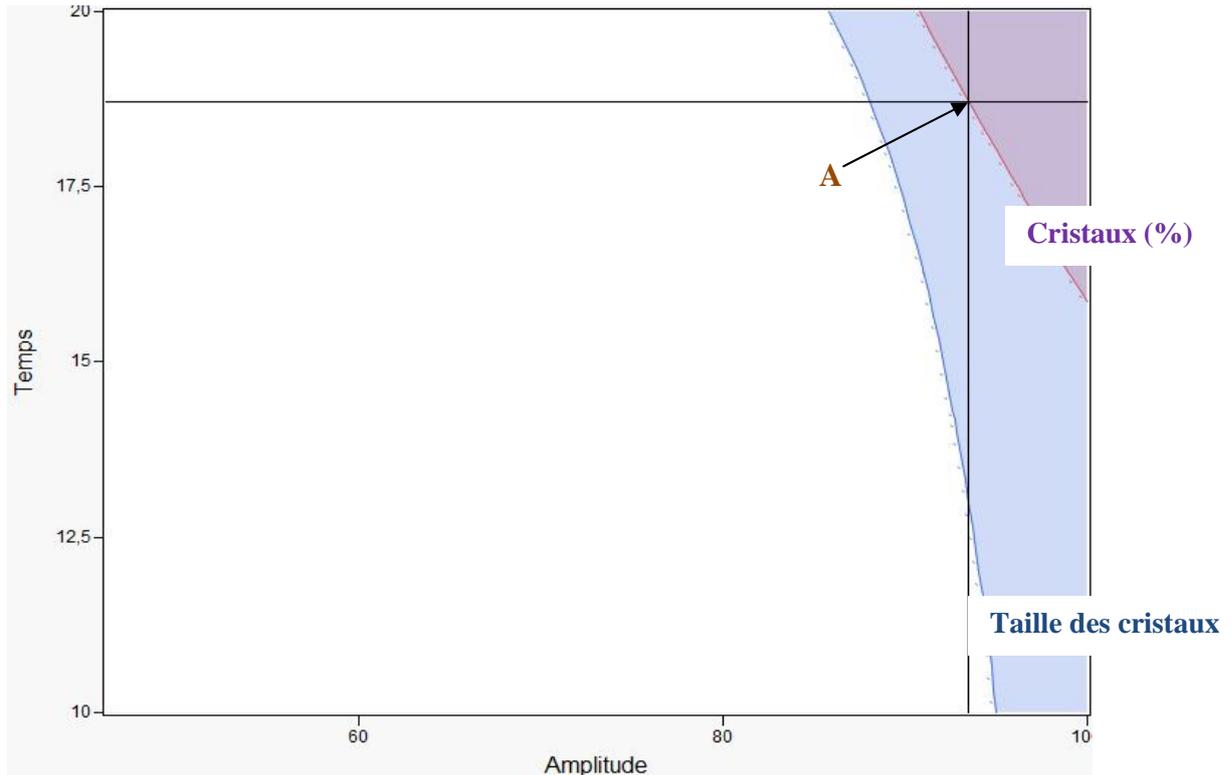


**Figure 22 :** Effet du temps et de l'amplitude sur la taille des cristaux du miel.

La figure 23 représente le profileur d'isoréponses de la taille et du pourcentage de cristaux. L'espace blanc sur la figure 23 indique la présence des cristaux, les temps et les amplitudes comprise dans cette espace n'ont pas le pouvoir de fondre la totalité des structures cristallines du miel analysé. L'aire bleue délimite la zone où le logiciel X'Pert HighScore ne détecte plus la taille

des cristaux, en fin, l'espace de couleur violette correspond à la zone de disparition de tous les cristaux.

Par exemple le point (A) sur la figure 23, qui correspond à l'amplitude et le temps de traitement de 93,46% et 18,71min, respectivement, indique la disparition des cristaux du miel et tous les points de la ligne qui passent par le point (A) correspondent aux intensités de l'amplitude et les temps correspondants qui permettent l'élimination de la totalité des cristaux.



**Figure 23** : Profileur d'isoréponses montrant l'effet du temps et de l'amplitude sur le pourcentage et la taille des cristaux.

#### 4. Hydroxyméthylfurfural

La teneur en HMF est un critère de qualité utilisé pour estimer le degré de fraîcheur du miel. La concentration en HMF de l'échantillon avant traitement est 26,34mg/kg, après traitement, les valeurs de ce composé oscillent entre 18,56 et 26,65mg/kg. L'analyse du modèle de l'HMF ne montre aucun effet significatif, de ce fait, les variations de la teneur en HMF s'expliquent par les fluctuations expérimentales. En outre, les résultats obtenus répondent à la norme du *codex alimentarius* (2001) qui est inférieure à 40 mg/kg. Ce résultat est soutenu par l'étude Dania

(2013), qui a montré que le traitement du miel, par les ultrasons (50-100-200W) à différentes températures (40-50-60°C) et pendant des temps variables (20-40-60min), n'a aucun effet sur la formation de l'HMF.

### **5. Couleur**

La couleur du miel est un facteur déterminant pour son acceptabilité par le consommateur, c'est aussi un critère très utile pour la classification des miels. Les résultats obtenus pour ce paramètre présentent des variations allant de 0,23 à 0,27. L'analyse statistique montre que l'amplitude et la durée de sonication n'exerce aucun effet sur la couleur du miel. De nombreuses études ont liées la couleur du miel à sa teneur en minéraux (Adebiyi *et al.*, 2004 ; Terrab *et al.*, 2004), et comme la teneur en minéraux est invariable avec la sonication, cela explique la stabilité de la couleur du miel après traitement.

### **6. Activité antioxydante**

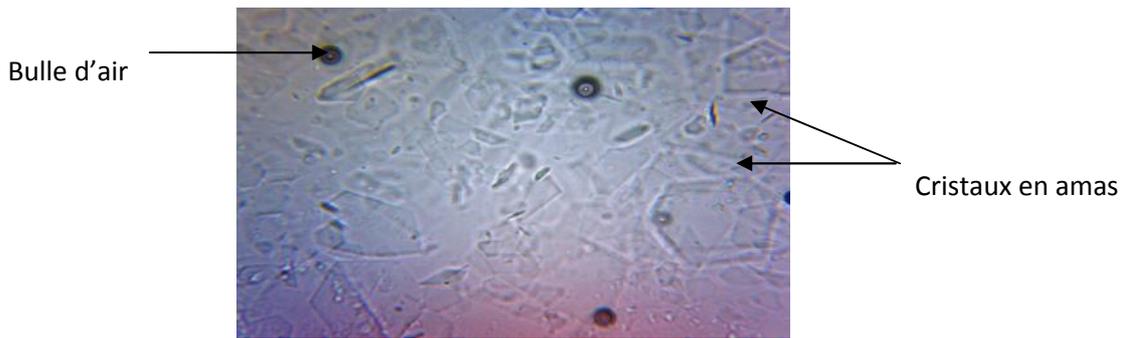
Le miel connu par sa richesse en antioxydants enzymatiques (glucose oxydase et catalase) et non enzymatique (acide ascorbique, acides organiques, produits de réaction de Maillard, acides aminés et protéines) (Dimitrova *et al.*, 2007).

Les résultats de l'activité anti-radicalaire des échantillons de miel traités varient entre 120,53 et 199,60mg EAG/100g. L'analyse statistique montre que l'amplitude et le temps du traitement de sonication n'ont pas un effet significatif sur l'activité antioxydante du miel. Malgré, la génération de la température pendant le traitement, comme un effet secondaire de sonication, mais le soin est pris de ne pas dépassé 40°C et cela dans le but de conserver les antioxydants du miel.

### **7. Analyse microscopique**

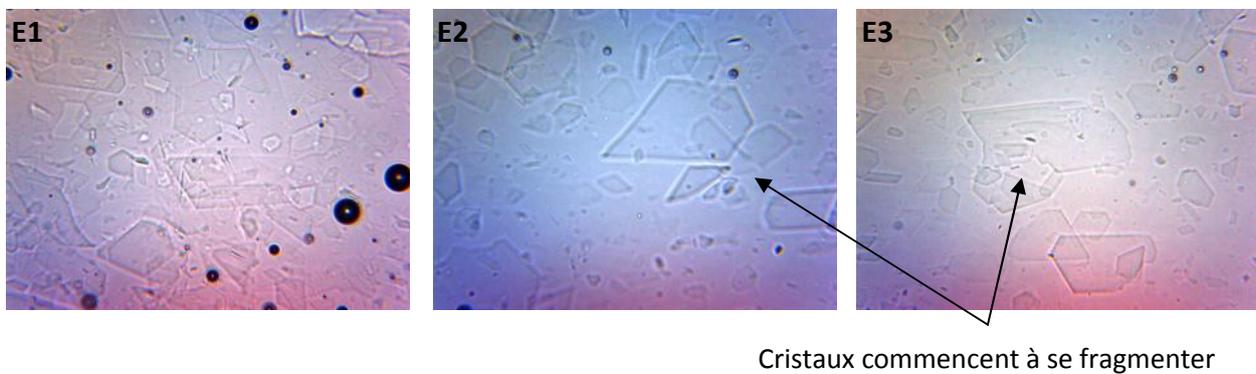
Quand le miel est traité par les ultrasons, les cristaux de sucre se liquéfient graduellement avec l'élévation de l'amplitude.

Les analyses microscopiques ont donné une indication de la structure des cristaux de miel. L'échantillon E montre une image représentative du contenu en cristal du miel avant d'être traité (Figure 24). L'image microscopique indique des structures cristallines en amas collées les unes aux autres dans une matrice amorphe avec la présence de quelques bulles d'air.



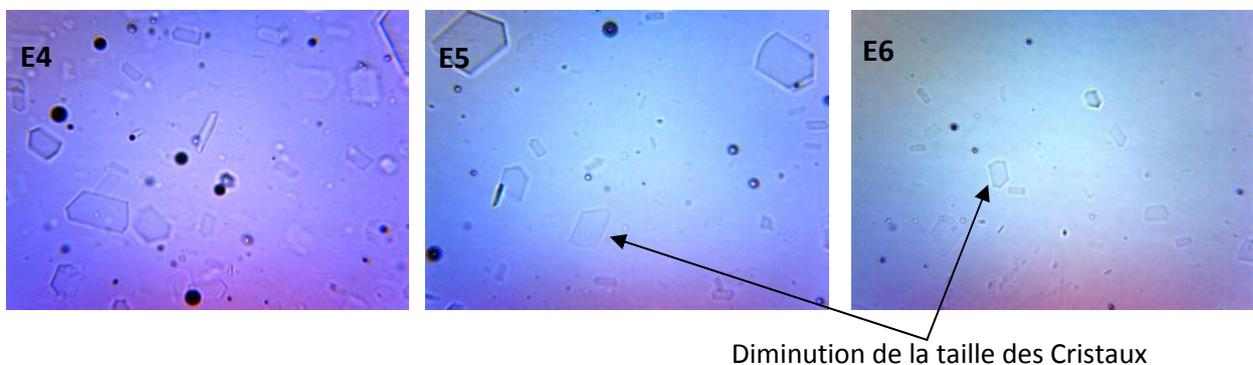
**Figure 24:** Photographie microscopique de l'échantillon du miel avant traitement.

Les photographies microscopiques des échantillons traités avec l'amplitude de 20% pendant 10, 15 et 20 min sont montrées dans la figure 25, qui montre la désagrégation des amas de cristaux avec la durée du traitement.



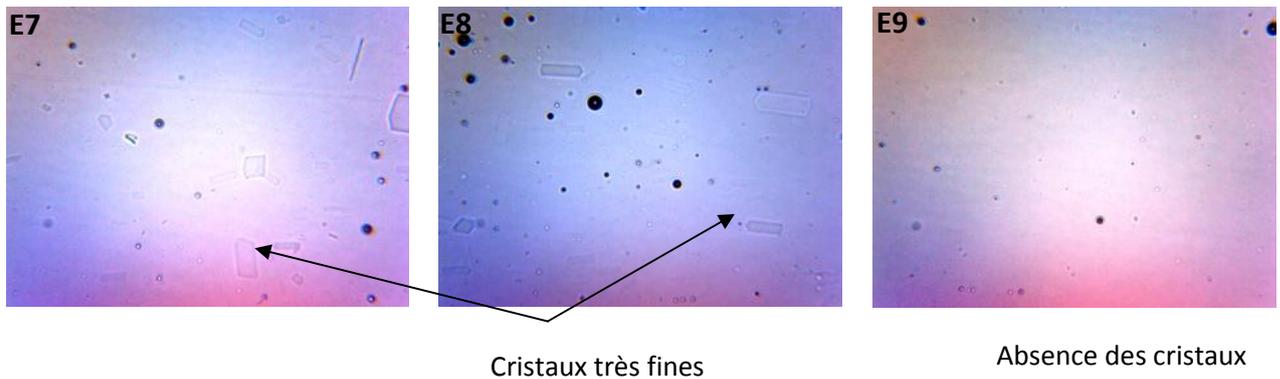
**Figure 25:** Photographies microscopiques des échantillons du miel traité avec l'amplitude de 20% pendant 10 (E1), 15 (E2) et 20 min (E3).

La figure 26 illustre les images microscopiques des échantillons traités avec l'amplitude de 60% pendant 10, 15 et 20 min, qui montrent la diminution de la charge cristalline avec réduction de la taille des cristaux.



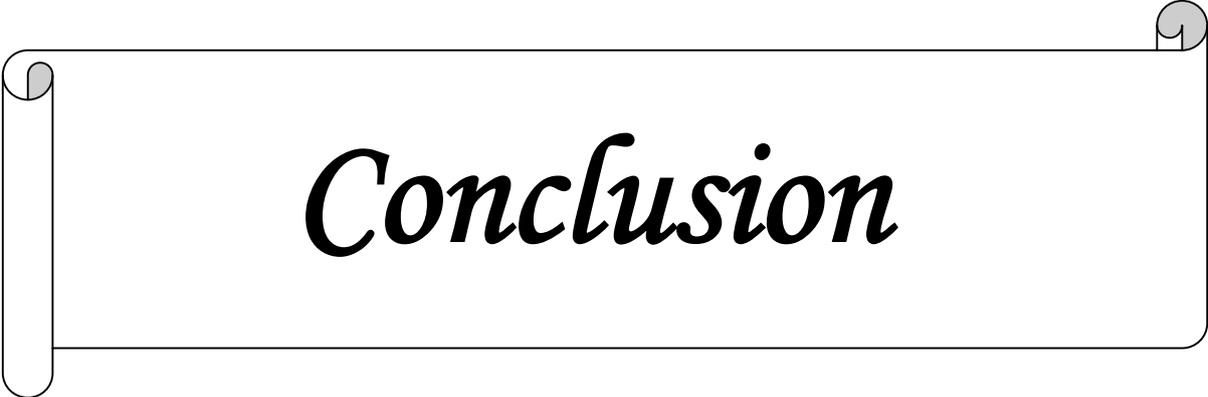
**Figure 26 :** Photographies microscopiques des échantillons du miel traité avec l'amplitude de 60% pendant 10 (E4), 15 (E5) et 20 min (E6).

Les images E4, E5, E6 montre des échantillons traités par ultrason à 60% pendant 10,15 et 20 min respectivement à une température de 40 °C, l'augmentation de la fréquence a permis d'une part la réduction de la taille des cristaux ou bien la dissolution partielle des cristaux de monohydrate de D glucose et d'autre part la diminution du contenu en cristal dans les échantillons a été réduite.



**Figure 27 :** Photographies microscopiques des échantillons du miel traité avec l'amplitude de 100% pendant 10 (E7), 15 (E8) et 20 min (E9).

Les échantillons E7, E8 traités par ultrason à 100% pendant 10 et 15min respectivement, montrent une forte diminution du nombre et de la taille des cristaux. L'échantillon E9 (traité avec une amplitude de 100% durant 20min) ne présente aucune forme cristalline, ce qui explique la dissolution complète des cristaux.



*Conclusion*

## *Conclusion*

La présente étude a permis, d'évaluer l'effet d'ultrason sur la liquéfaction d'un miel cristallisé par l'analyse de quelques paramètres physicochimiques (humidité, brix, couleur, HMF, composés phénoliques, DPPH, pourcentage et taille des cristaux) et l'activité antioxydantes.

Les conclusions suivantes ont été tirées :

- ✚ Les différentes combinaisons du traitement (temps, amplitude) n'ont pas augmenté d'une manière significative la teneur en HMF dans le miel ce qui explique que le traitement n'a pas surmonté la barrière d'énergie pour provoquer la formation d'HMF.
- ✚ La teneur en eau est influencée par le traitement des ultrasons observé par une diminution significative suivi d'une augmentation dans la teneur en brix, ce qui empêchera la recristallisation du miel en raison de la faible teneur en eau, il est intéressant de signaler que aucune forme cristallin n'est observé après un mois est demi du traitement.
- ✚ Le pourcentage et la taille des cristaux diminue significativement au fur et à mesure que l'amplitude et le temps de traitement augmente, cela explique que le traitement a porté l'énergie nécessaire, ce qui a été confirmé par l'analyse microscopique.
- ✚ Concernant l'activité antioxydantes, couleur et les composés phénoliques le traitement par ultrason n'a aucun effet significative sur ces derniers à l'exception les composés phénoliques qui s'explique par l'augmentation du nombre de groupement hydroxyles libres, provenant de l'hydrolyse des flavonoïdes glycolyses.

Enfin il ressort de notre étude que la majorité des résultats d'analyses répond aux normes du codex alimentarius, cela nous a permis de conclure que le traitement effectué sur le miel n'a pas affecté sa qualité.

Dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- D'évaluer l'effet de la conservation sur miel traité pendant une longue durée, afin de déterminer l'efficacité du traitement par les ultrasons.
- Déterminer l'énergie nécessaire pour la liquéfaction d'une quantité de miel sans affecter sa qualité.
- De quantifier et identifier les sucres du miel pour l'évaluation des paramètres de la cristallisation.

*Références  
Bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Bogdanov S. (2002).** Harmonised methods of the European honey Commission. Swiss Bee Research Center. FAM, Liebefeld, CH-3003 Berne, Suisse.
- Bogdanov S, Bieri K, Kilchmann V et Gallmann P. (2005).** Miels monofloraux Suisses. ALP Forum, 23 : 1-55.
- Bruneau E. (2002).** Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica Edition, chapitre neuf, pp 354-387.
- Cetam L. (2012).** Technologie et qualité du miel, les analyses, Apidor, Paris. 4,11 et 21.
- Chauvin R. (1968).** Traité de biologie de l'abeille Tome III, les produits de la ruche. Edition Masson et Cie, Paris. 66-84.
- Clémence H. (2005).** Le miel : de la source a la thérapeutique, Thèse doctorat en pharmacie, université Henry Poincare NANCY-1, Faculté de Pharmacie, 106p.
- Codex Alimentarius. (2001).** Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981 Rev.1 (1987), Rev. 2 (2002): 1-7.
- Cooper RA, Molan PC et Harding KG. (1999).** Antibacterial activity of honey against strains of *staphylococcus aureus* from infected wounds. Journal of the Royal Society of Medicine, 92:283-285.
- Cotte JF, Casabianca H, Giroud B, Albert M, Lheritier J et Grenier-Loustalot M F .(2004).** Characterization of honey amino acid profiles using high- pressure liquid chromatography control authenticity. Analytical and Bioanalytical Chemistry 378 (5): 1342-1350.
- Crane E. (1975).** Honey: A comprehensive survey. International Bee Research Association (IBRA). Ed. Heinemann. Londres.
- Dania KR. (2013).** Ultrasound-assisted Liquefaction of Honey, Thesis doctorate from the Universitat Politècnica de Catalunya, Departament d'Enginyeria Agroalimentària, Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, 189p.
- Dimitrova B, Gevrenova R et Anklam E., 2007.** Analysis of phenolic acids in honeys of different floral origin by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. Phytochemical Analysis ; 18 : 24–32.
- Downey G, Hussey K, Kelly JD, Walshe TF et Martin PG. (2005).** Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. Food Chemistry, 91 : 347-354.

## Références bibliographiques

**Ensminger D. (1973).** Ultrasonics, the low- and high-intensity applications, vol 19, vol 4. Marcel Dekker, Inc., New York. doi:10.1002/aic.690190442.

**Gheldof NE et Engesth NJ. (2002).** Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50 : 3050-3055.

**Gleiter RA, Horn H et Isengard HD. (2006).** Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. *Food Chemistry*, 96: 441-445.

**Ghoshdastidar N. et Chakrabarti J. (1992).** Studies on hydroxyméthylfurfural formation during storage of honey. *J. of Food Science and Technology*, 29 (6) : 399.

**Gonnet M. (1982).** Le miel : composition, propriétés et conservation. Ed. OPIDA : 22.

**Gonzalez-Miret ML, Terrab A, Hernanz D, Fernandez-Recamales MA et Heredia FJ. (2005).** Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 2574-2580.

**Hebbar HU, Nandani KE, Lakshmi MC et Subramanian R. (2003).** Microwave and infrared heat processing of honey and its quality. *Food Science and Technology Research*, 9(1), 49-53.

**Helene D. (2008).** Cristallisation du miel, le savoir et le faire ; abeilles & cie, Pour percer les mystères de la cristallisation. n°124 • 3 : pp 24-25.

**Hopper SD. (1980).** Pollen and nectar feeding by Purple-crowned Lorikeets on *Eucalyptus occidentalis*. *Emu* 80:239-240.

**Huchet E, Coustel J et Guinat L. (1996).** Les constituants chimiques du miel, école nationale supérieure des industries Agricoles et Alimentaires, 1, Avenue des olympiades 91744 Massy cedex : 3-5.

**Jeffrey AE et Echazaretta M. (1996).** Medical uses of honey *Rev Biomed* 7:43-49.

**Journal Official des Communautés Européennes .(2002).** Directive 2001/110/CE relative au miel: 47-52.

**Kalogereas T. (1955).** Preliminary report on the effect of ultrasonic waves on the crystallisation of honey. *Journal of Food Science* 121, 339–340.

**Liebl. (1978).** Ultrasound and granulation of honey. *American Bee Journal* 2, 107. 165 -199.

## Références bibliographiques

**Lobreau-Callen D, Marmion V et Clément MC. (1999).** Les miels. In «techniques de l'ingénieur» : 1-20.

**Louveaux J. (1985).** Les abeilles et leur élevage. 2<sup>ème</sup> édition. OPIDA : pp18-19,168-172.

**Luis F ,Cuevas G, Jorge AP, Louis S, Santiagob E et Sauri-Duch. (2007).** A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. Food Chemistry 103 (2007) 1032–1043

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

**Meda A, Charles EL, Marco R, Jeanne M et Odile GN. (2005):** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry. 91: 571–577.

**Mouhoubi Z. (2007).** Influence de la température de conservation sur la qualité du miel: effet sur le pouvoir antioxydant. Magister en sciences Alimentaires, université Abderrahmane Mira, faculté des sciences alimentaires, 159p.

**Nanda V., Sarkar BC, Sharma HK et Bawa ASJ. (2003).** Determination of Some major and minor elements in the east of morocco honeys through inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Food Comp. Anal; 16(5):613-619.

**Nanda V, Bera M et Bakhshi AK. (2006).** Optimization of the process parameters to establish the quality attributes of hydroxymethylfurfural content and diastasic activity of sunflower (*Helianthus annuus*) honey using reponse surface methodology. European Food Reasearch and Technology, 222: 64-70.

**Ouchemoukh S, Louaileche H et Schweitzer P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. Food Control, 18: 52-58.

**Ozcan M, Arslan D et Ceylan DA. (2006).** Effects of inverted saccharose on some properties of honey. Food Chemistry, 99: 24-29.

**Persano Oddo L, Piazza MG et Pulcini P. (1999).** Invertase activity in honey. Apidologie, 30: 57-65.

**Pham-Delegue M. (1999).** Connaître & découvrir les abeilles, éditions Minerva, pp 206.

**Recondo MP, Elizalde BE et Buera MP. (2006).** Modeling temperature dependence of honey viscosity and of related supersaturated model carbohydrate systems. Journal of Food Engineering, Volume 77, Issue 1, November 2006, Pages 126-134.

## *Références bibliographiques*

---

- Sablé. (1997).** Propriétés, valeur nutritionnelle et diététique du miel, cas du miel de tournesol. Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être, n°57950, p. 25-32.
- Sarra BJ. (1991).** Dossage de l'hydroxyméthylfurfural dans les miels par chromatographie liquide et spectrophotométrie UV. Sciences des Aliments, 11 : 547-557.
- Serra BJ. (1986).** La cristallisation du miel, Facteurs que l'affectent. Bull. Tech. Apic., 54, 13 (1), 37-48.
- Siddiqui IR. (1970).** The sugars of honey. Adv. Carbohydrate Chem. And Biochem. 25. 285-309.
- Subrahmanyam M. Shahapure AG, Nagne NS, Bhagwat VR et Ganu JV.(2003).** Free radical control-the main mechanism of the action of honey in burns. Anals of burns and fire Disasters, 14(3): 1-4.
- Tabouret T. (1979).** « Rôle de l'activité de l'eau dans la cristallisation du miel » Apidologie, 10 (4) : 341-358.
- Terrab A, Angeles F, Recamales, Dolores H, Francisco J et Heredia FJ. (2004).** Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. Food Chemistry 88: 537-542.
- Terrab A, Diez MJ, Heredia FJ. (2002).** Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. Food Chemistry; 79: 373-379.
- Tosi E, Ciappini M, Ré H et Lucero E. (2002).** Honey thermal treatment effects on hydroxyméthylfurfural content. Food Chemistry, 77: 71-74.
- Tosi EA, Ré E, Lucero H et Bulacio L. (2004).** Effect of honey high temperature short-time heating on parameters related to quality, cristallisation phenomena and fungal inhibition. Lebensm-Wiss.u.-Technol., 37 : 669-678.
- Turhan I, Tetik N, Karhan M, Gurel F, Tavukcuoglu H et Reyhan. (2008).** Quality of honeys influenced by thermal treatment. LWT - Food Science and Technology, Volume 41, Issue 8, November 2008, P: 1396-1399.
- Tuzen M, Silici S, Mendil D et Soylak M. (2007).** Trace element levels in honeys from different regions of turkey. Food Chemistry, 103: 325-330.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao,L., & Oomah, B.D. (1998).** Antioxidant activity and total phénolics in celected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 4113-4117.

## ***Références bibliographiques***

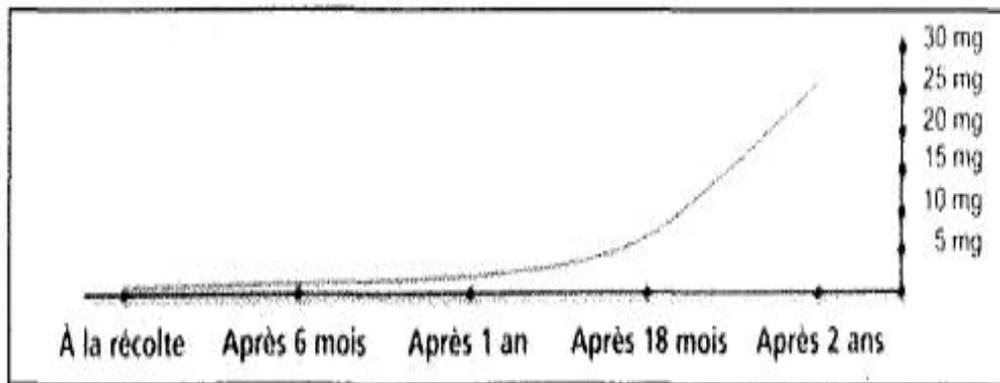
---

**Weston RJ, Mitchell KR et Allen KL. (1999).** Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honeys. *Food Chemistry*, 64: 295-301.

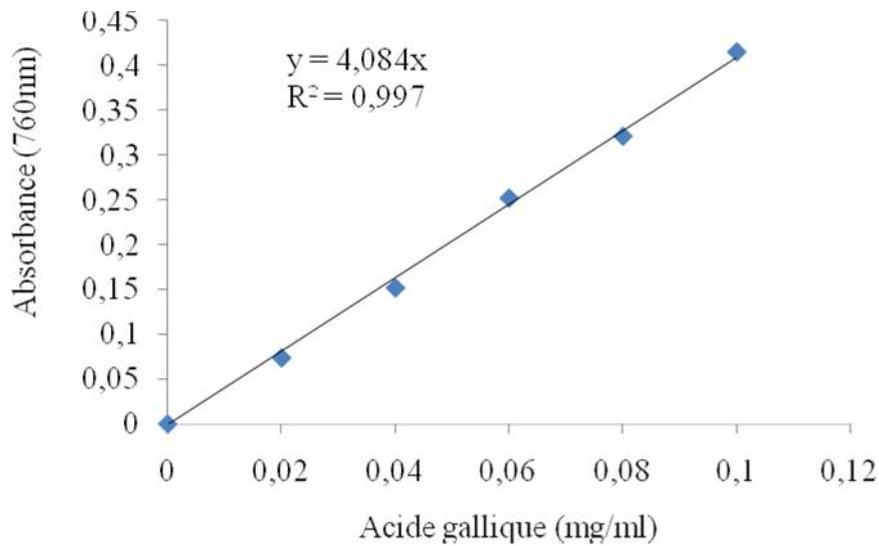
**White JW, Riethof ML, Subers MH et Kushnir T. (1962).** Composition of american honeys. Eastern utilization research and development division, Agricultural Research Service. Philadelphia Pa. Technical Bulletin n° 1261, 124 p.

**White JW Jr. (1978).** Honey. *Advances in food research*, 24, 287-375. Ed. Board. Academic Press. New York, San Francisco, London.

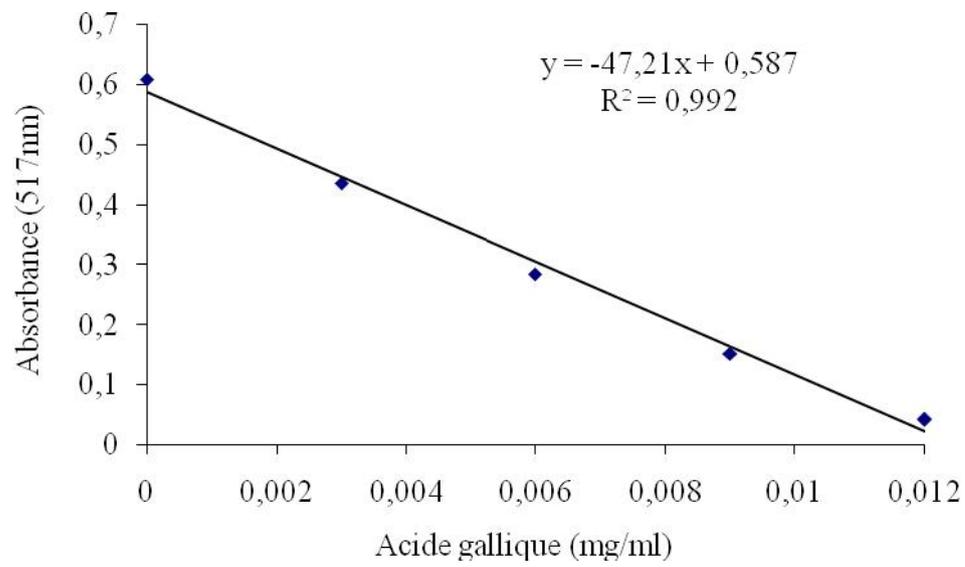
# *Annexes*



**Figure 28** : Evolution au fil du temps de la teneur en HMF dans le miel (Clémence, 2005).



**Figure 29** : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.



**Figure 30 :** Activité antiradicalaire de l'acide gallique.

**Tableau XIII:** Normes pour certaines paramètres physico-chimiques du miel selon le codex Alimentarius, 2001 et le Journal Officiel des Communautés Européennes, 2002.

<b>Paramètres physico-chimique</b>	<b>Valeur limites</b>
Teneur en eau	Miels en général : < 20%
Glucose et fructose	Miels des fleurs : > 60%
Saccharose	Miels en général : < 5%
Sucres réducteurs	Miels de fleurs : > 65%
Acidité libre	Miels en général : < 50 meq/kg
Teneur en HMF	Miels en général : < 40 mg/kg
Teneur en cendres	Miels de nectar : < 0,6 %
Conductivité électrique	Miels de nectar : < 0,8 mS/cm
Indice diastasique	Miels en général : > 8 Unité de Schade

**Tableau XIV :** Effet de la teneur en eau sur le risque de fermentation de miel (Cetam, 2012).

<b>Teneur en eau (%)</b>	<b>Effet sur le risque de fermentation</b>
< 17,1%	Quel que soit leur nombre, les levures ne peuvent se multiplier, la pression osmotique est importante, le miel ne peut donc fermenter.
De 17,1 à 18%	Pas de fermentation si le nombre de levure est inférieur à 1000 par gramme.
De 18,1 à 19%	Pas de fermentation si le nombre de levures est inférieur à 10.
De 19,1 à 20%	Pas de fermentation si le nombre de levures est inférieur à 1.
> 20%	Risque de fermentation dans tous les cas.

**Tableau XVI:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour l'humidité.

Humidité (%)	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
<b>Analyse de la variance</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	4,361	1,454	8,553	5	4,495	0,899	3,424
Résidus	7	1,190	0,170	P	4	1,050	0,263	p
Total	10	5,551	-	0,010*	9	5,545	-	0,128
<b>Défaut d'ajustement</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	0,881	0,176	1,144	3	0,819	0,273	1,181
Erreur pure	2	0,308	0,154	P	1	0,231	0,231	p
Erreur totale	7	1,190	-	0,528	4	1,050	-	0,575

**Tableau XVII:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires quadratiques pour le Brix.

Brix (%)	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
<b>Analyse de la variance</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	4,233	1,411	7,016	5	4,409	0,882	2,914
Résidus	7	1,408	0,201	P	4	1,211	0,303	P
Total	10	5,640	-	0,016*	9	5,620	-	0,161
<b>Défaut d'ajustement</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	0,868	0,174	0,643	3	0,806	0,269	0,663
Erreur pure	2	0,540	0,270	P	1	0,405	0,405	P
Erreur totale	7	1,408	-	0,702	4	1,211	-	0,693

DL : Degrés de liberté  
 SC : Somme des carrés

CM : Carré des moyennes  
 F : Rapport F

**Tableau XVIII:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour la couleur.

Couleur	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
	Analyse de la variance							
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	0,000	0,000	0,527	5	0,001	0,000	2,322
Résidus	7	0,001	0,000	P	4	0,000	0,000	P
Total	10	0,002	-	0,678	9	0,002	-	0,217
Défaut d'ajustement								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	0,001	0,000	1,647	3	0,000	0,000	//
Erreur pure	2	0,000	0,000	P	1	0,000	0,000	P
Erreur totale	7	0,001	-	0,419	4	0,000	-	//

**Tableau XIX:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour HMF.

HMF (mg/kg)	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
	Analyse de la variance							
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	44,893	14,964	2,948	5	53,419	10,684	1,609
Résidus	7	35,534	5,076	P	4	26,554	6,639	P
Total	10	80,427	-	0,108	9	79,972	-	0,333
Défaut d'ajustement								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	31,889	6,378	3,499	3	25,643	8,548	9,380
Erreur pure	2	3,645	1,823	P	1	0,911	0,911	P
Erreur totale	7	35,534	-	0,237	4	26,554	-	0,235

**Tableau XX:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour les composés phénoliques.

Phénols(mg/kg)	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
	Analyse de la variance							
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	730,953	243,651	32,171	5	773,440	154,688	290,245
Résidus	7	53,015	7,574	P	4	2,132	0,533	P
Total	10	783,968	-	0,000*	9	775,572	-	<0,0001*
Défaut d'ajustement								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	52,999	10,600	1303,244	3	2,127	0,709	141,788
Erreur pure	2	0,016	0,008	P	1	0,005	0,005	P
Erreur totale	7	53,015	-	0,001*	4	2,132	-	0,062

**Tableau XXI:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour DPPH.

DPPH (mg/kg)	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
<b>Analyse de la variance</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	8192,708	2730,900	5,866	5	8720,083	1744,020	2,575
Résidus	7	3259,034	465,580	P	4	2709,429	677,360	P
Total	10	11451,742	-	0,025*	9	11429,512	-	0,190
<b>Défaut d'ajustement</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	3256,447	651,289	503,458	3	2707,489	902,496	465,096
Erreur pure	2	2,587	1,294	P	1	1,940	1,940	P
Erreur totale	7	3259,034	-	0,002*	4	2709,429	-	0,034*

**Tableau XXII:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour le pourcentage des cristaux.

Cristaux %	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
<b>Analyse de la variance</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	9276,721	3092,240	13,044	5	10832,244	2166,45	104,1761
Résidus	7	1659,503	237,070	P	5	103,98	20,8	P
Total	10	10936,224	-	0,003*	10	10936,224	-	<0,0001*
<b>Défaut d'ajustement</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	1619,332	323,866	16,124	3	63,80925	21,2697	1,059
Erreur pure	2	40,171	20,085	P	2	40,17087	20,0854	P
Erreur totale	7	1659,503	-	0,059	5	103,98012	-	0,5193

**Tableau XXIII:** Analyse des variances et des défauts d'ajustement des modèles linéaires et quadratiques pour la taille des cristaux.

Taille cristaux (nm)	Modèle Linéaire				Modèle Quadratique			
<b>Analyse de la variance</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Modèle	3	12643553	4214518	8,0008	5	15816188	3163238	30,7279
Résidus	7	3687354	526765	P	5	514718	102944	P
Total	10	16330907	-	0,0116*	10	16330907	-	0,0009*
<b>Défaut d'ajustement</b>								
Source	DL	SC	CM	F	DL	SC	CM	F
Défaut d'ajustement	5	3598732,9	719747	16,2433	3	426097,67	142033	3,2054
Erreur pure	2	88620,7	44310	P	2	88620,67	44310	P
Erreur totale	7	3687353,6	-	0,059	5	514718,33	-	0,2468

**Tableau XV** : Table de CHATAWAY (Bogdanov, 2002).

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18,4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1,4795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15,2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				

**ADAAQ, (2010).** Association de Développement de l'Apiculture en Aquitaine, P : 19-20.

**Adebiyi FM, Akpan I, Obajunwa EI et Oliniyi HB .(2004).** Chemical/physical characterization of Nigerian honey. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(5): 278-281.

**Aljadi AM et Kamaruddin MY. (2003).** Isolation and identification of pH Enolic acids in Malaysian honey with antibacterial properties. *Turkian Journal of Medicine science*, 33: 229-236.

**Al-Khalifa AS et Al-Arifly IA. (1999).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chemistry* 67, 21–25.

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

**Arcy BR. (2007).** High-power Ultrasound to Control of Honey Crystallization.(Corporation, R.I.A.D, Ed.) Publication No. 07/145, Australian Government. Australia.

**Assie B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant, Application agroalimentaire et santé, Université Bordj Badji Mokhtar, faculté des sciences, 123p.

**Aupy G, Paccalin J et Lostalot JD. (1994).** Miel et abeilles. *Diététique et Médecine*, 4 : 161-173.

**Alexandra R. (2011).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. P 64-65.

**Azeredo L da C, Azeredo MA, de Souza SR 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.

**Bath PK et Singh N. (1999).** A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67: 389-397.

**Bertonelj J, Dobersek U, Jamnik M. et Golob T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and color of Slovenian honey. *Food chemistry* ; 105 :822-828.

**Bogdanov S. (1994).** Liquéfaction du miel au moyen de l'appareil melitherm et de l'appareil de fonte d'opercules jakel : évaluation des dégâts causés au miel par la chaleur, Centre suisse de recherches apicoles.1-3.

**Bogdanov S. (1999).** Stockage, Cristallisation et Liquéfaction du miel ; Centre suisse de recherches apicoles. P : 2-5.

**Bogdanov S et Bulmer P. (2001).** Propriétés antibiotiques et naturelles du miel. *Revue suisse apiculture*, 98(3): 107-114.

## *Résumé*

La présente étude a permis, d'évaluer l'effet d'ultrason sur la liquéfaction d'un miel cristallisé par l'analyse de quelques paramètres physicochimiques (humidité, brix, couleur, HMF, composés phénoliques, DPPH, pourcentage et taille des cristaux) et l'activité antioxydantes. La majorité des résultats des analyses répond aux normes du codex alimentarius. L'effet est significatif concernant la teneur en eau, brix, composés phénoliques et pourcentage et taille des cristaux. Les différentes combinaisons de traitement d'ultrason (temps, amplitude) peuvent être employées pour atteindre l'objectif principal pour la liquéfaction du miel sans affecter sa qualité.

**Mots clés :** miel cristallisé, qualité, Cristallisé, activité antioxydantes, amplitude.

## *Summary*

The present study allowed, to estimate the effect of ultrasound on the liquefaction of a honey crystallized, by the analysis of some physico-chemical parameters (moisture, brix, color, HMF, phenolic compounds, DPPH, percentage and size of the crystals) and the antioxidant activity. The majority of the results analyzes meets the standards of the codex alimentarius. The effect is significant concerning the water content, brix, phenolic compounds, percentage and size of the crystals. The different combination from treatment of ultrasound (time, amplitude) can be employed to achieve the goal principal for the liquefaction of honey without affecting his quality.

**Key words:** crystallized honey, quality, antioxidant activity, amplitude.