

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mohamed El Bachir El-Ibrahimi –Bordj Bou Arreridj**  
**Faculté des Sciences de La Nature et de la Vie et Sciences**  
**de La Terre et de l'Univers**  
**Département Sciences Biologique**

## **Mémoire de fin d'études**

**Présenté en vue de l'obtention**

**du diplôme de : Master II**

**Option : Biologie**

**Filière : Analyse et contrôle de qualité des denrées alimentaires**

### **Thème**

# **Les paramètres physicochimiques du miel et l'effet de l'humidité sur le développement des micro-organismes**

#### **Présenté par:**

- Benkhaddra Hasna
- Ghadbane Radia

**Soutenue le: 24/06/2014**

#### **Jury de soutenance:**

<b>Président : M<sup>r</sup>. GUISSOUS MOUKHTAR</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Univ de BBA</b>
<b>Encadreur : D<sup>r</sup>. BENOUADAH ALI</b>	<b>M.C.A</b>	<b>Univ de BBA</b>
<b>Examineur : M<sup>r</sup>. SADRATI NOUARI</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Univ de BBA</b>

**Juin 2014**



## Remercîment

*Je remercie Dieu*

*Tout puissant, maitre des cieux et de terre, qui m'a permis le courage et la volonté d'achever ce travail.*

*Ma profonde gratitude et sincère reconnaissance envers Mr Benouadah Ali pour son soutien et sa disponibilité, dont il a fait preuve par sa personne et ses moyens.*

*Merci*

*Je remercie également*

*Tous les techniciens du laboratoire, qui nous ont facilité la tache et tous ceux qui ont participé de près ou de loins pour réaliser ce travail.*

*Merci à tous mes collègues*

*Du laboratoire pour tous les bons moments passés également à Khalil, Nasr-Eddine, Amel et Zin-Eddin pour leur gentilles, leur disponibilité et leur compétence, Mercie du fond du cœur.*

*Je remercie tous les enseignements du primaire du secondaire et de l'université qui m'ont donnée le gout des études*





## *Dédicace*

*Au nom du DIEU clément et miséricordieux  
et que le salut de DIEU, soit sur  
son prophète Mohamed*

*A ceux qui m'ont encouragé pour continuer  
mon chemin Universitaire*

*Et ceux à qui je dois tant*

*A mon très cher père*

*Tu es représenté pour moi le symbole  
de la bonté par excellence.*

*A ma mère qui encourage et prier pour moi.*

*A mon marie Hocin*

*A mes frères : Khair-Eddine, Hocin*

*Ilyes et Zakaria*

*A ma sœur : Asma.*

*A toute mon famille sans exception avec tout mon amour.*

*Hasna*





## *Dédicace*

*Au nom du DIEU clément et miséricordieux  
et que le salut de Dieu, soit sur son  
prophète Mohamed*

*A ceux qui m'ont encouragé pour continuer  
mon chemin Universitaire*

*Et ceux à qui je dois tant*

*A mes parents Abderahmann et Kaltoum*

*Pour leur amour et leur*

*Support continue*

*Avec toute mon affection et mes remerciements.*

*A toute ma famille, mes frères : Sliman, Daoud  
Abd- El hafid, Abdala, Yaàkoub.*

*Et mes seures Naanaa, Zoulikha, Nacir*

*A toutes leurs enfants : Maroua, Youssef, Moussa  
Khalil, Abdelrahim, Douaà, Amina, Alaà, Meriam*

*A mes collègues de SNV surtout : Hanane et Malika*

*A toute ma famille avec mon amour.*

*Radhia*



# Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 01

## I. Données bibliographiques

<b>1. Généralité sur le miel</b> .....	02
1.1. Définition.....	02
1.2. Historique.....	02
1.3. Les différents types de miel.....	02
1.3.1. Le miel uni-floral.....	03
1.3.2. Le miel poly-floral.....	03
1.4. L'élaboration du miel.....	03
1.4.1. A partir du nectar.....	04
A. La transformation du nectar en miel.....	04
B. Maturation du nectar en miel.....	04
1.4.2. A partir du miellat.....	04
A. La récolte du miellat par l'abeille.....	05
1.5. Le rôle biologique de l'abeille.....	05
1.5.1. L'abeilles est un bon pollinisateur.....	05
1.5.2. L'abeilles est un bon bio-indicateur.....	06
1.6. La récolte du miel.....	06
1.6.1. La désoperculations et l'extraction du miel.....	06
<b>2. Compositions et propriétés du miel</b> .....	07
2.1. La composition chimique.....	07
2.1.1. La teneur en eau.....	07
2.1.2. Les glucides.....	07
2.1.3. Les acides organiques.....	07
2.1.4. Les acides aminés et les protéines.....	08
2.1.5. Les lipides.....	08
2.1.6. Les sels minéraux.....	08
2.1.7. Les enzymes.....	08
2.1.8. Les vitamines.....	08
2.1.9. Les pigments.....	09
2.1.10. Les arômes.....	09
2.1.11. Les Autres éléments présents.....	09
<b>3. Les paramètres physico-chimiques</b> .....	09
3.1. Coloration.....	09
3.2. Humidité.....	10
3.3. L'indice de réfraction(IR).....	10
3.4. La consistance.....	10
3.5. La saveur.....	10

3.6. La densité.....	10
3.7. Le pH et l'acidité.....	10
3.8. La solubilité.....	10
3.9. La viscosité.....	10
3.10. La Conductivité électrique(CE).....	11
3.11. La teneur en cendre.....	11
3.12. La teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF) .....	11
<b>4. Les Propriétés du miel.....</b>	<b>11</b>
4.1. Les valeurs nutritionnelles et diététiques du miel.....	11
4.2. Les propriétés thérapeutiques du miel.....	12
4.3. Les propriétés cicatrisantes du miel.....	12
4.4. Les propriétés antibactériennes du miel.....	12
<b>5. La contamination du miel.....</b>	<b>13</b>
5.1. Les voies de contamination du miel.....	13
5.2. La contamination chimique.....	13
5.2.1. La contamination environnementale.....	13
A. Les résidus des pesticides.....	13
B. Les polluants organiques.....	13
C. Les métaux lourds.....	13
5.2.2. La contamination provenant de l'apiculture.....	14
5.2.3. La contamination d'origine agricole.....	14
5.2.4. La contamination Bactériologique.....	14
<b>6. L'eau.....</b>	<b>15</b>
6.1. Définition.....	15
6.2. Sources de contamination.....	15
6.2.1. Les polluants physiques.....	15
A. Les éléments grossiers.....	15
B. Les sables.....	15
C. Les matières en suspension (MES) .....	15
6.2.2. Les polluants chimiques.....	15
A. Les éléments chimiques minéraux.....	16
B. Les éléments chimiques organiques.....	16
6.2.3. Les polluants microbiologiques.....	16
6.3. Les Paramètres des qualités des eaux.....	16
6.3.1 Paramètre physico-chimique.....	16
A. La température.....	16
B. pH.....	17
C. La conductivité électrique.....	17
D. La turbidité.....	17
E. Chlore.....	17
F. Les nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ).....	18
6.4. Généralité sur les microorganismes recherchés.....	18
6.4.1 Recherche des microorganismes révivifiables.....	18
6.4.2. Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux.....	19
6.4.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	19

6.4.4. Recherche de <i>staphylococcus aureus</i> .....	19
<b>7. Le miel et l'eau</b> .....	<b>20</b>
<b>II. Partie expérimentale</b>	
<b>1. Matériels et méthodes</b> .....	<b>21</b>
1.1. Matériels.....	21
1.1.1. Les analyses physicochimiques du miel.....	21
1.1.2. Les analyses microbiologiques des solutions (miel / eau) .....	21
1.2. Méthodes.....	22
1.2.1. Les analyses physicochimiques.....	22
A. Le dosage des protéines.....	22
B. L'humidité.....	24
1.2.2. Les Analyses microbiologiques.....	26
A. Recherche et dénombrement des germes révivifiables.....	26
B. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	27
C. Recherche des streptocoques fécaux en milieu liquide.....	30
D. Recherche de <i>staphylococcus aureus</i> .....	31
<b>2. Résultats et discussions</b> .....	<b>32</b>
2.1. Résultats.....	32
2.1.1. Les résultats des analyses physico-chimiques du miel.....	32
2.1.2. Les résultats des analyses microbiologiques.....	32
<b>3. Discussion</b> .....	<b>33</b>
3.1. Discussion des résultats physicochimiques.....	33
3.2. Discussion des résultats microbiologiques.....	34
<b>Conclusion</b> .....	<b>38</b>

## Résumé

Le miel est la substance sucrée produite par les abeilles à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions issues des parties vivantes des plantes ou se trouvant sur elles (miellat), il est crédité de nombreuses propriétés nutritionnelles, thérapeutiques et pharmacologiques. La présente étude porte sur les analyses physicochimiques du miel et l'évaluation de l'effet de l'humidité sur le développement des microorganismes. Les valeurs obtenues concernant les taux de protéines et de l'humidité de l'échantillon analysé sont conformes aux normes en vigueur (17.2 %) pour le taux d'humidité et (0.3g %) pour le taux des protéines. Les analyses microbiologiques des solutions (miel / eau) relative à la recherche des germes totaux, des coliformes totaux et fécaux, des streptocoques fécaux et des staphylococcus aureus, montrent que le nombre des microorganismes recherchés augmente en fonction de la concentration du miel. On peut donc conclure à la lumière des résultats obtenus que le miel antibactérien de nature a passé sous l'effet du taux d'humidité élevé à un milieu de culture favorable au développement des différents microorganismes.

**Mot clé :** miel, analyse physico-chimique, humidité, protéines, hygroscopicité, microorganismes.

## الملخص:

العسل هو المادة الحلوة المنتجة من طرف النحل سواء من رحيق الأزهار أو من الإفرازات الناتجة عن الأجزاء الحية للنبات أو تتواجد فوقها، يتميز العسل بخصائصه الغذائية، العلاجية والدوائية. الدراسة الحالية تتعلق بالتحليل الفزيو- كيميائية للعسل ومعرفة مدى تأثير الرطوبة على تطور الكائنات المجهرية، القيم المتحصل عليها فيما يخص قيمة البروتين و الرطوبة فقد كانتا مطابقتين للمعايير، قيمة (17.2 %) وقيمة البروتين (0.3 %). التحليل الميكروبيولوجية للمحاليل عسل/ ماء تتعلق بالبحث عن les streptocoques fécaux، les staphylococcus aureus، les germes totaux، les coliformes totaux et fécaux النتائج المتحصل عليها بعد الدراسة التجريبية تشير إلى تزايد عدد الكائنات المجهرية مع زيادة تركيز العسل، يمكننا بالتالي على ضوء النتائج المستفادة بأن العسل المضاد للبكتيريا قد انتقل تحت تأثير الرطوبة العالية إلى وسط ملائم لتطور مختلف الجراثيم

## الكلمات المفتاح:

عسل، تحليل فزيو- كيميائية، رطوبة، كائنات مجهرية، Hygroscopicité

## Liste des abréviations

% : pour cent.

(-) : négatif.

(+) : positif.

BLBCP : Bouillon Lactosé au Bromo Crésol Pourpre.

GC : Giolitti Cantoni.

PCA : Plate coictiny agar.

°C : degré Celsius.

*E. coli* : *Escherichia coli*.

g/l : gramme par litre.

h : heure.

ml : millilitre.

NPP : nombre le plus probable.

pH : potentiel hydrogène.

D/C : double concentration.

S/C: simple concentration.

FAO: food and agriculture organization.

AT: Acidité totale.

AL: Acides libres.

AC: Acide lactones.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Le taux de protéine et l'humidité de miel.....	32
<b>Tableau 2</b> : Les germes aérobies mésophiles.....	32
<b>Tableau 3</b> : Les germes recherchés dans les solutions (miel / eau) .....	33

## Liste des figures

<b>Figure I :</b> Le rôle biologique de l'abeille.....	05
<b>Figure II :</b> La récolte du miel.....	06
<b>Figure III:</b> Dosage de protéine du miel par la méthode de kjheldhal.....	23
<b>Figure IV :</b> Réfractomètre.....	25
<b>Figure V :</b> Le développement des germes totaux.....	34
<b>Figure VI :</b> Le développement des coliformes totaux.....	34
<b>Figure VII :</b> Le développement des coliformes fécaux.....	35
<b>Figure VIII :</b> Le développement des streptocoques fécaux.....	35
<b>Figure IX :</b> Le développement des staphylococcus aureus.....	36
<b>Figure X :</b> Le développement des microorganismes recherchés.....	37



*Introduction*

## **Introduction**

Le miel est une source riche d'hydrates de carbone qui contient du sucre naturel à 80%. En effet, il est crédité de nombreuses propriétés nutritionnelles, thérapeutiques et pharmacologiques. Aujourd'hui, l'homme peut bénéficier des divers produits de l'abeille et des services qu'elle rend à l'agriculture. Ces produits peuvent ensuite être prélevés et analysés par l'homme à des fins de recherches.

Le miel est un produit très complexe dont la fabrication demande plusieurs étapes qui toutes ont une influence sur sa composition chimique finale. En effet, la composition qualitative de ce produit est soumise à de nombreux facteurs très variables qu'il est impossible de maîtriser tels que : les conditions climatiques, la race des abeilles, et l'état physiologique de la colonie, etc.

Les principaux paramètres de qualités du miel sont l'humidité, le pH et l'acidité, la teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF), l'indice diastasique, la teneur en cendre, les poly phénols et flavonoïdes. C'est dans ce contexte précis, que se situe l'objectif de notre étude qui s'étale sur deux parties :

La première est consacrée à une étude bibliographique sur le miel, le rôle biologique de l'abeille et les étapes d'élaboration et de la récolte, ainsi que sur la microbiologie de l'eau.

La deuxième porte sur l'étude expérimentale concernant les analyses suivantes :

- Les analyses physicochimiques du miel.
- Les analyses microbiologiques des solutions (miel / eau).
- L'hygroscopicité du miel.

Dans le but d'évaluer l'effet du taux d'humidité sur le développement de certains microorganismes.



I - *Partie*

*Bibliographique*

## 1. Généralité sur le miel

### 1.1. Définition

Le miel est la substance sucrée produite par les abeilles à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions issues des parties vivantes des plantes ou se trouvant sur elles (miellat), qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. (Aubert, 2006).

Le miel est constitué essentiellement de sucres tels que le fructose et le glucose, d'eau et autres substances comme des acides organiques, des enzymes, des vitamines et des particules solides provenant de la récolte.

Plusieurs définitions sont effectuées pour le miel comme celle du Codex Alimentarius 1999 ( Le miel est une substance sucrée naturelle produite par les abeilles à partir du nectar des plantes ou à partir des sécrétions de parties vivantes de plantes, ou d'excrétions d' insectes qui sucent les parties vivantes des plantes et que les abeilles récoltent et transforment en les combinant à des substances spécifiques qu'elles produisent, déposent, déshydratent, et stockent et font mûrir dans les rayons à miel ).

La FAO donne la définition suivante : Le miel est une substance sucrée produite par les abeilles domestiques à partir du nectar des sécrétions provenant de parties de plantes ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment et combinent avec des matières spécifiques et emmagasinent dans les rayons de la ruche.

### 1.2. Historique

Le miel est un aliment connu depuis longtemps et a toujours eu une place privilégiée dans beaucoup de civilisations et de croyances (Lefief-Delcourt, 2010). Des peintures préhistoriques montrent d'environ 10 000 ans que l'homme pratiquait la cueillette d'essaims. Les Egyptiens utilisaient le miel comme offrande aux dieux, pour la production des médicaments, pour des soins de beauté, pour panser les blessures, et comme agent sucrant dans la préparation de pains et gâteaux, ils utilisaient ainsi le miel, la cire et la propolis, pour embaumer leurs morts. Les Grecs et les Romains appliquaient le miel sur la peau pour ses propriétés adoucissantes, régénératrices, nourrissantes et hydratantes. Hippocrate disait que l'usage du miel conduisait à la plus grande vieillesse (Domerego, 2002).

Enfin, dans la tradition musulmane aussi, des fleuves de miel coulent au paradis (Hoyet, 2005 ; Laudine, 2010). Actuellement, le miel entre dans la composition de nombreuses préparations pharmaceutiques, joue essentiellement un rôle d'excipient (Rossant, 2011).

### 1.3. Les différents types de miel

La majorité des miels viennent d'une flore bien diversifiée. Ainsi, il est fréquent que l'ensemble des abeilles d'une même ruche visitent plusieurs espèces végétales différentes fleurissant dans leur secteur de butinage. Il résulte que les miels peuvent

être définis, associés à des facteurs physico-chimiques ou organoleptiques (**Marechal, 2006; Donadieu, 1978 et 1994**).

### **1.3.1. Le miel uni-floral**

Les miels “mono-floraux” sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant d’une seule espèce végétale, ce qui nécessite d’installer les ruches à proximité de la plante recherchée.

Les miels de colza et de tournesol représentent à eux seuls près de la moitié de la production française globale. Plus spécifiques, les miels d’acacia, de lavande, de romarin, de callune, de tilleul, de châtaignier, sont bien caractérisés. Enfin, des miels mono-floraux plus rares sont élaborés sur des territoires exigus : miels de cerisier, de framboisier, de serpolet, d’aubépine, de pigments et vitamines. La matrice sucrée du miel est susceptible d’influer sur la biodisponibilité des molécules qu’elle contient (**Bonté et al, 2011 ; Daniele et al, 2012**).

### **1.3.2. Le miel poly-floral**

Ce miel est élaboré à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales. Pour valoriser leur spécificité et permettre au consommateur de reconnaître leur caractère dominant, les apiculteurs indiquent leur origine géographique. Celle-ci indique soit l’aire de production (région, département...), soit un type de paysage faisant référence à une flore identifiée (garrigue, forêt...) (**Clément, 2002**).

## **1.4. L’élaboration du miel**

Le miel produit par les abeilles de l’espèce *Apis mellifera* peut provenir de deux sources mellifères distinctes : le nectar ou le miellat.

### **1.4.1. A partir du nectar**

Le nectar, exsudation sucrée plus ou moins visqueuse, contient environ 90 % de sucres, les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose. Les proportions de chacun d’entre eux sont relativement stables pour une même espèce végétale. Le nectar contient également des acides organiques (acides fumarique, succinique, malique, oxalique, etc.), des protéines, notamment des enzymes, des acides aminés libres (acides glutamique et aspartique, méthionine, sérine, tyrosine, etc.), et des composés inorganiques (comme les phosphates). Dans certains nectars peuvent se retrouver des composés huileux, des alcaloïdes ou des substances bactéricides. Chaque espèce végétale fournit un nectar aux caractéristiques propres qui confèrent au miel sa saveur et son parfum. Ce nectar est produit par des glandes nectarifères ou

nectaires et sa quantité dépend de très nombreux facteurs dont la structure des inflorescences, la durée de floraison, l'humidité de l'air et le moment de la journée. Dans de bonnes conditions, lorsqu'une espèce végétale produit un nectar en quantité, une colonie peut en récolter jusqu'à 5 kg par jour (Rossant, 2010).

### **A. La transformation du nectar en miel**

Pour produire 100 g de miel, l'abeille butineuse doit visiter un nombre considérable de fleurs (Ioïriche, 1984). Elle aspire le nectar à l'aide de sa trompe, le nectar est ainsi envoyé dans l'œsophage puis dans le jabot. Afin que l'aspiration soit plus facile, l'abeille dilue le nectar avec la salive, mélange de sécrétions riches en enzymes, provenant des glandes pharyngiennes labiales (GPL) et thoraciques (GPT). Au sein du jabot où est effectuée la filtration de ce contenu peut être envoyée les particules solides de petite taille (grains de pollen, spores..., etc.) dans l'intestin moyen de l'abeille, sans laisser passer le contenu liquidien. Ceci permet à la récolte de nectar d'être purifiée (Maurizio, 1968).

### **B. Maturation du nectar en miel**

Elle consiste en une transformation des sucres et une diminution de la teneur en eau (Popa, 1962 ; Maurizio, 1968). La durée de maturation du miel est de 2 à 5 jours. Les enzymes apportées par la salive (l'invertase) hydrolysent le saccharose en glucose et fructose, ainsi la glucose-oxydase catalyse l'oxydation de glucose en acide gluconique, ce qui confère au miel son acidité. Lors de cette réaction, du peroxyde d'hydrogène est également produit (Simpson, 1960 ; Popa, 1962 ; et Maurizio, 1968). Les abeilles y maintiennent une température élevée (proche de 35°C) pour diminuer le taux d'humidité du nectar environ 18% par la ventilation des cadres. Lorsque le miel est mature, la glucose- oxydase devient inactive et le produit se stabilise. Les abeilles cirières opercules l'alvéole à l'aide d'une fine couche de cire, imperméable à l'air, ce qui permet une longue conservation du miel.

#### **1.4.2. A partir du miellat**

Le miellat est un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons). Il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes. Il est récolté par les abeilles en complément ou en remplacement du nectar et produit un miel plutôt sombre, moins humide que le miel de nectar. La récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire, se réalisant essentiellement sur les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne.

## A. La récolte du miellat par l'abeille

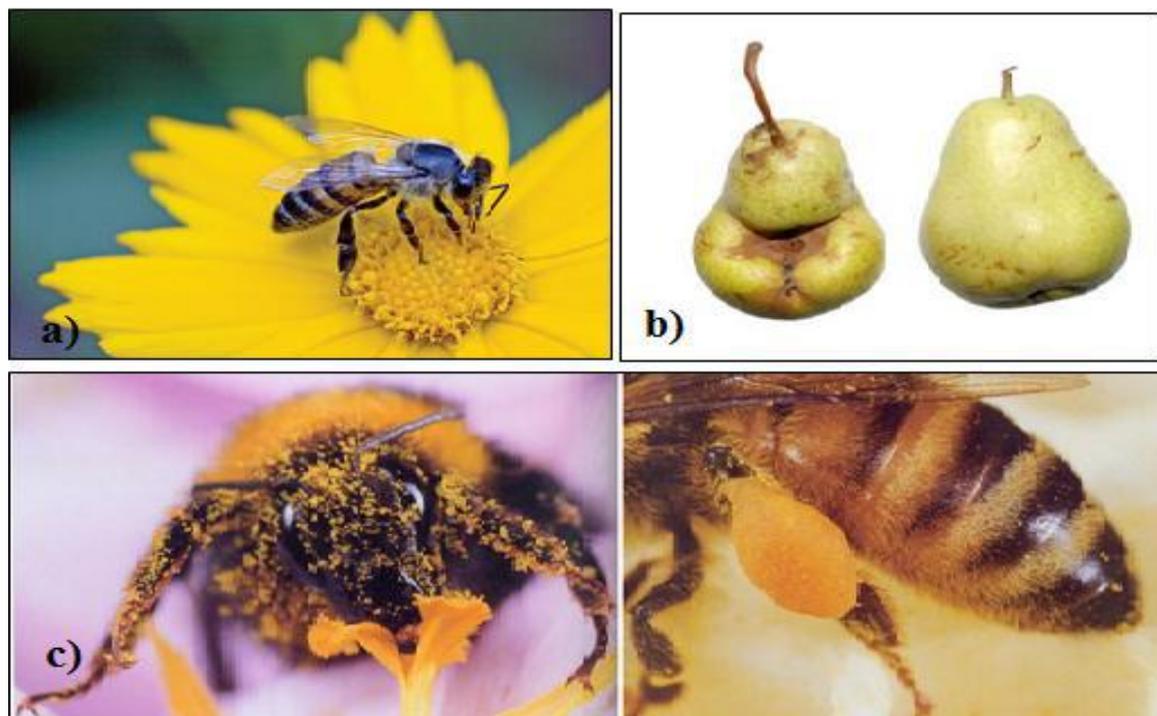
Il faut noter qu'en présence d'une abondance de nectar, cette source est délaissée par les abeilles. Les butineuses recueillent le miellat par léchage et remplissent progressivement leur jabot. Ce dernier plein, elles regagnent la ruche. Dans leurs jabot, le miellat entre en contact avec de diverses substances qui l'enrichissent en matières spécifiques notamment en enzymes tels que : la diastase, l'invertase, le glucose oxydase.

### 1.5. Le rôle biologique de l'abeille

Les abeilles sont des insectes aux multiples rôles dans notre société mais leur principal service éco-systémique est celui de la pollinisation (**Figure I**).

#### 1.5.1. L'abeilles est un bon pollinisateur

La pollinisation est la méthode de reproduction pour les plantes à fleurs et la façon de créer des fruits pour les arbres fruitiers. Ceux-ci utilisent le pollen provenant des étamines pour transmettre leurs gamètes mâles (pollen) aux gamètes femelles localisées dans les stigmates (**Laramée, 2007**). Certaines plantes peuvent se polliniser elles-mêmes : c'est l'autopollinisation, d'autres nécessitent l'intervention d'un agent intermédiaire (le vent, les insectes) c'est la pollinisation croisée.



**Figure I** : le rôle biologique de l'abeille, a) L'abeille domestique, b) Pollinisation, c) la récolte du pollen par l'abeille ouvrière (**Rossant, 2011**).

### 1.5.2. L'abeilles est un bon bio-indicateur

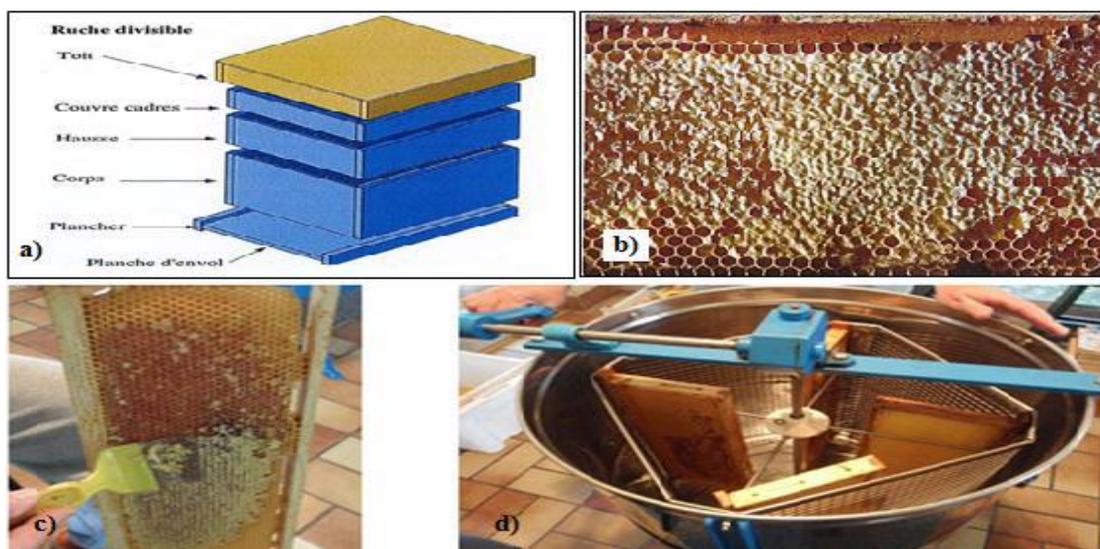
Les bio-indicateurs sont souvent utilisés pour mesurer l'impact des activités humaines sur la nature. L'abeille domestique est un très bon bio-indicateur de polluants environnementaux car elle est quotidiennement en contact avec plusieurs éléments abiotiques des écosystèmes, tel que l'eau, l'air et les végétaux. Elle permet notamment de mesurer certains polluants atmosphériques (métaux lourds), radioactifs et phytosanitaires (Jones, 1987). Il y a deux façons principales de détecter la pollution de l'environnement avec *l'Apis mellifera*, soit par l'analyse des abeilles mortes à la suite d'un taux anormalement élevé, soit par l'analyse de ses produits (miel, pollen et nectar) (Porrini *et al*, 2003).

### 1.6. La récolte du miel

La récolte du miel peut se pratiquer par l'apiculteur quand les cadres des hausses sont remplis de miel operculé (Laudine, 2010; Hoyet, 2005).

#### 1.6.1. La désoperculassions et l'extraction du miel

Avant d'extraire le miel d'un cadre, il est indispensable de retirer la fine pellicule de cire qui obstrue les alvéoles remplies de miel grâce à un couteau ou à une griffe désoperculer en acier inoxydable (figure II c). Les cadres sont ensuite mis dans un extracteur. C'est une sorte de centrifugeuse manuelle ou automatisée où ils vont tourner très rapidement. La force centrifuge fait alors sortir le miel des alvéoles (figure II d). Le miel glisse le long des parois, s'accumule au fond de l'extracteur et est récupéré par l'apiculteur après ouverture de la vanne.



**Figure II** : la récolte du miel ; a) la structure de la ruche b) un cadre rempli de miel avec les alvéoles operculées c) désoperculassions d) la centrifugation.

## 2. Compositions et propriétés du miel

### 2.1. La composition chimique

La composition chimique du miel est très complexe car il subit de nombreuses étapes et plusieurs facteurs rentrent en compte : transmission d'abeille en abeille, température, ventilation de la ruche, teneur en eau, enzymes de la butineuse, nature de la flore visitée, qualité du sol sur la quel pousse, les plants, état physiologique de la colonie, la race de l'abeille, condition météorologique lors de la miellée. Le miel regroupé près de 200 substances différentes ; il s'agit donc d'un produit biologique très complexe, d'une diversité extrême, lui conférant de très nombreuse propriété diététiques, pharmacologique et thérapeutique (**Louveaux ,1959**) les principaux éléments constitués sont :

#### 2.1.1. La teneur en eau

La teneur en eau des miels varie entre 14 et 23%. L'optimum se situe autour de 17%. Cette eau conditionne la qualité et la conservation de celui-ci, car un miel trop épais est difficile à extrait et à conditionner, tandis qu'un miel trop liquide riche en eau risque de fermenter.

#### 2.1.2. Les glucides

Les glucides constituent la partie la plus importante du miel. La teneur en sucre se situe entre 95% et 99% de la matière sèche. Il existe ainsi une quinzaine de sucres différents, jamais présents tous à la fois. Les deux sucres principaux, des monosaccharides, sont le glucose (31% en moyenne) et le fructose ou lévulose (38%). Ils proviennent en grande partie de L'hydrolyse du saccharose (présent dans le nectar ou le miellat) par l'invertase ou les acides. Le fructose est donc le sucre le mieux présenté, suivi de près par le glucose. On trouve aussi des disaccharides, maltose (7,3%) et saccharose (1,5%), des oligosaccharides (1,5 à 8%) et des polysaccharides (3,5%). On peut citer parmi eux : L'éclose, le raffinose, le mélézitoze, le kojibiose, le dextrantriose, le mélibiose, etc. les autres disaccharides et sucres supérieurs sont présents en petite quantité.

Le miel est doué d'un pouvoir supérieur au sucre blanc, tout en ayant un apport calorique moindre grâce à la présence du fructose et de glucose. Ainsi, 10g de sucre correspondent à 7,5g de miel.

#### 2.1.3. Les acides organiques

Le miel contient aussi des acides. Le plus important est l'acide gluconique mais on trouve aussi une vingtaine d'acides organiques, comme l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide malique, l'acide oxalique, l'acide butyrique, l'acide pyroglutamique et l'acide succinique. A l'état de traces, le miel à contient de l'acide formique et de l'acide phosphorique. D'autres composés, les lactones participent également à l'acidité du miel (**Hoyet, 2005**).

Leurs provenance est diverse : certaine sont issus du nectar directement, d'autres sont le fruit de réactions enzymatiques et de fermentation (**Laudine, 2010**) L'acidité totale (AT) est la somme des acides libres (AL) et des lactones (AC). Légalement, elle ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents par kg. Le pH peut varier de 3,2 et 4,5 mais il est en moyenne de 3,9 (**Pham-Délègue, 1999**).

#### 2.1.4. Les acides aminés et les protéines

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041%. Ils proviennent des nectars, des sécrétions des abeilles et des grains de pollen. Il y'a surtout des peptones, albumines, globulines, nucléoprotéines, et tous les acides aminés essentiels comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine, etc. La proline est le plus abondant des acides aminés du miel, la quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle ne doit pas être inférieure à 183mg/kg (**Meda et al, 2005**).

#### 2.1.5. Les lipides

Concernant les lipides qui sont présents de faibles quantités, on retrouve plus largement des stérols comme le cholestérol libre ou des esters de cholestérol. En plus petite quantités, le miel contient essentiellement des acides gras (acide palmitique, oléique et linoléique) ; ils proviendraient vraisemblablement de la cire.

#### 2.1.6. Les sels minéraux

Les matières minérales ou cendres ne sont présentes qu'à un taux de 0,1 % à 1% pour les miels de miellats, et il existe essentiellement le potassium ainsi que des sels de calcium, de sodium, de magnésium, de cuivre, de chlore, de manganèse, et une trentaine d'oligo-éléments. Les miels foncés en contiennent plus que les miels clairs. Les taux dépendent des plantes visitées et des types de sols, les plus élevés se retrouvant surtout chez les miels poly floral : fer (callune, pain), calcium (tournesol, colza) (**Blanc, 2010**).

Bien qu'habituellement considéré comme un produit relativement "propre", le miel peut contenir des polluants présents en très faible quantité, comme le plomb et le cadmium. Le dosage de ces polluants constitue un bon indicateur de la pollution de l'environnement (**Donnadieu, 1978**).

#### 2.1.7. Les enzymes

Elles proviennent soit des nectars (origine végétale), soit des sécrétions salivaires des abeilles (origine animale). Le miel contient également de nombreuses enzymes comme la gluco-invertase qui est dominante, l'amylase qui transforme l'amidon en glucose mais aussi une catalase, une phosphatase, une glucose-oxydase (transforme le glucose en acide gluconique), des diastases détruites par chauffage exagéré du miel et un dérivé du fructose, l'hydroxyméthylfurfural qui est un indicateur de qualité du miel (**Blanc, 2010**). Ces enzymes étant thermolabiles, leur présence ou absence peut servir d'indicateur de surchauffe du miel (**Hoyet, 2005**).

#### 2.1.8. Les vitamines

Le miel contient une quantité infime de vitamines, probablement issues des quelques grains de pollen qu'il renferme (**Laudien, 2010**). quasiment pas de vitamines A et D liposolubles et des traces de vitamine C, provenant le plus souvent du nectar des menthes, mais il se retrouve des vitamines du groupe B, B1 (la thiamine), B2 (la riboflavine), B3 (acide nicotinique), B5, B6, B9 (l'acide folique), de la pyridoxine, de l'acide pantothénique, de la biotine apportées par les grains

de pollen (**Blanc,2010**). Les vitamines du miel sont d'autant mieux conservées que le pH est faible (**Rossant, 2011**).

### 2.1.9. Les pigments

Il contient également des pigments comme les caroténoïdes et les flavonoïdes, intéressants sur le plan nutritionnel, et des grains de pollen, signe d'un miel de qualité (**Blanc, 2010**). Les flavonoïdes qui appartiennent aux groupes des poly phénols possèdent des propriétés anti-oxydantes très intéressantes, car ils participent à la neutralisation des radicaux libres de l'organisme. La quantité et le type de flavonoïdes varient selon la source florale. Les substances phénoliques interviennent également sur la couleur du miel : la couleur jaune, par exemple, est liée aux flavonoïdes (**Laudien, 2010**). En règle générale, plus les miels sont foncés (comme ceux issus du tournesol, du sarrasin et de miellat), plus ils sont riches en flavonoïdes, parmi les flavonoïdes retrouvés dans le miel, on peut citer : la pinocembrine, la pinobanskine, le chrysin, la galangine, la quercétine la lutéoline et la kaempférol (**Amiot *et al*, 1989**).

### 2.1.10. Les arômes

Les arômes sont des mélanges de plusieurs dizaines de composés, alcool, cétones, acides, aldéhydes, dont l'analyse est compliquée car la composition des arômes dans le miel n'est pas stable et évaluée avec le temps (**Damiri, 2010**).

### 2.1.11. Les Autres éléments présents

Autre les composés déjà mentionnés, un certain nombre de substances encore mal identifiées et regroupées sous le nom d'inhibées donnent au miel des propriétés antibactériennes. On peut aussi retrouver dans le miel, des pollens, des spores, des algues unicellulaires, des levures osmotolérantes (responsables de la fermentation), et des champignons microscopiques dont l'identification sous le microscope permet d'obtenir des renseignements sur l'origine florale et géographique (analyse pollinique des miel ou la méliissopalynologie) (**Hayet, 2005**).

## 3. Les paramètres physico-chimiques

Ces caractères sont importants pour bien différencier le miel les uns des autres mais également pour évaluer la quantité de ceux-ci.

### 3.1. Coloration

La coloration est une caractéristique physique importante de miel car elle est en rapport avec leur origine florale ainsi qu'avec leur composition (**Louveaux, 1968**). La coloration d'un miel dépend de l'origine florale de celui-ci. La palette des couleurs du miel est vaste : de quasiment incolore à presque noir en passant par le beige, le jaune, l'orange et le marron (**Gonnet *et al*, 1986**), plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement. Le chauffage, le vieillissement ainsi que la lumière provoquent une intensification de la coloration du miel (**Louveaux, 1968**).

### **3.2. Humidité**

L'humidité de miel est le critère de quantité qui détermine les possibilités du miel pour restes stable et pour résister à la détérioration par la fermentation (par les levures) : plus elle est élevée, plus le miel risque de fermenter rapidement ou de mal cristalliser. Le miel ne doit pas dépasser 20% d'humidité (**Décret n°2003-587 du 30 juin 2003**).

### **3.3. L'indice de réfraction (IR)**

Il est inversement proportionnel à l'humidité du miel. Cette propriété est d'ailleurs utilisée pour mesurer la teneur en eau d'un miel en se référant à des tables de correspondance (table de Chataway) (**Bogdanov, 2002 ; Rossant, 2011**).

### **3.4. La consistance**

En fonction de sa composition et de ses conditions de conservation, le miel peut avoir une consistance fluide, épaisse ou cristallisée.

### **3.5. La saveur**

La saveur plus ou moins sucrée et aromatique, d'odeur variable, le goût et l'arôme varient et dépendent de l'origine végétale, mais le miel ne doit pas présenter de goût étranger ou d'odeur étrangère (fumée, etc.), ni avoir commencé à fermenter.

### **3.6. La densité**

La densité est importante pour la production du miel, dans la sensation perçue par le palais. Elle dépend de la teneur en eau, de la température et de la composition chimique.

### **3.7. Le pH et l'acidité**

L'étude de l'acidité d'un miel permet d'identifier son origine botanique. Le pH d'un miel est fonction de la quantité d'acides ionisables qu'il renferme ainsi que de sa composition minérale, il est acide sur pH oscille entre 3 et 6. Les miels de nectar ont un pH faible (de 3,3 à 4,0) tandis que les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (de 4,5 à 5,5). Un pH extrême révèle une dégradation biochimique suite à de mauvaises conditions de récolte ou de conservation (**Louveaux, 1968 ; Deschamps, 1998**).

### **3.8. La solubilité**

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

### **3.9. La viscosité**

La viscosité se définit comme la résistance à l'écoulement d'une substance. Dans le cas de miel, elle dépend de sa teneur en eau, de sa composition chimique et de sa température. La plus part des miels se comportent comme des liquides newtoniens (il n'y a pas de résistance à l'écoulement) :

toute fois, il existe des exceptions notamment pour certains miels qui ont une composition particulière. Par exemple, le miel d'eucalyptus est dilatant : au repos, il coule sans difficulté alors que, après agitation, sa viscosité augmente et il devient de plus en plus dur, jusqu'à bloquer l'extracteur en fonctionnement. Cette propriété est due à la présence d'une substance proche d'un sucre, une dextrine de formule  $(C_6H_{12}O_6)_n$  (Garcia, 1986).

### 3.10. La Conductivité électrique (CE)

C'est un bon critère pour déterminer l'origine botanique d'un miel et détecter si les abeilles ont été artificiellement nourries au sucre. Elle est intéressante, car elle permet de distinguer facilement les miels de miellats des miels de nectar, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds. Cette mesure dépend de la teneur en cendres et en acides du miel : plus leur contenu est haut, plus la conductivité résultante est haute (Vorwohl, 1964).

### 3.11. La teneur en cendre

La teneur en cendre est utilisée pour évaluer le type de miel.

### 3.12. La teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF)

L'analyse de la teneur en HMF est une excellente méthode pour apprécier la qualité d'un miel (Gonnet, 1963 ; Dustamann *et al*, 1985. et Deschamps, 1998).

L'HMF, substance qui provient de la transformation du fructose en milieu acide, est présente dans les vieux miels ou ceux ayant subi un surchauffage. Plus sa teneur est faible, plus le miel est meilleur. Le dosage de l'HMF permet de détecter si le miel a été chauffé et donc dénaturé.

## 4. Les Propriétés du miel

Le miel possède plusieurs propriétés nutritionnelles, diététiques et thérapeutiques.

### 4.1. Les valeurs nutritionnelles et diététiques du miel

Le miel, aliment de tous les âges, est resté l'agent sucrant de choix pour l'alimentation, jusqu'à l'arrivée du sucre de canne. Le miel représente un apport énergétique de l'ordre de 300 calories pour 100g. Les sucres contenus dans le miel sont rapidement utilisés.

Tout d'abord, le miel présente une innocuité absolue et une parfaite tolérance, même à doses très élevées. De plus, il peut prétendre à de nombreux avantages nutritionnels et énergétiques. Ainsi, il aurait une action dynamisante, apéritive, antioxydante (par le bêta-carotène, les polyphénols.....), facilite l'assimilation d'autres aliments grâce à la présence d'enzymes (amylase....) exerce une action positive sur la croissance des enfants en bas-âge. Certains miels contiennent du fer et du cuivre nécessaires à la synthèse et à la régénération de l'hémoglobine. Il favorise également l'assimilation du calcium et la rétention du magnésium par l'organisme contribuant ainsi à une meilleure calcification osseuse et dentaire. Les oligo-éléments contenus dans le miel auraient une biodisponibilité et une absorption plus grande que ceux que l'on ingère sous forme isolée. Les enzymes, les vitamines et les oligo-éléments également présents dans le miel facilitent la digestion.

La consommation régulière de miel pourrait venir en aide aux personnes âgées pour pallier leurs déficits (fatigue, carences en vitamines en oligo-éléments, digestion difficile, fonctionnement intestinal perturbé, etc. ..) en augmentant leur appétit et en stimulant les glandes salivaires par les acides et les principes aromatiques qui influencent favorablement la digestion . Le fructose est, parmi les sucres simples, celui qui induit la réponse glycémique la plus atténuée. Ainsi, l'index glycémique du miel est de 34,6 contre 100% pour l'index glycémique du glucose. Cela veut dire qu'une même dose de sucre apportée par du miel entrainera une élévation globale de la glycémie trois fois plus faible. C'est-à-dire qu'il va entrainer une élévation de 50% de la synthèse et de la sécrétion d'insuline par rapport à celle provoquée par le glucose. Ceci est important puisque l'on fait jouer à l'insuline, notamment dans les diabètes non insulino-dépendants (**Lecerf, 2009**).

#### 4.2. Les propriétés thérapeutiques du miel

On attribue au miel un très grand nombre de propriétés thérapeutiques : antiseptiques, antianémiques et antitussives (**Guarch, 2008 ; Chanaud, 2010**). Le miel est doué d'un pouvoir bactériostatique important, par sa haute teneur en sucres (plus de 95% de matière sèche), sa faible teneur en eau (14 à 20 %), son acidité et la présence de substances à activité antibactérienne (peroxyde d'hydrogène libre et inhibez). Il est régulièrement utilisé dans le traitement de plaies.

#### 4.3. Les propriétés cicatrisantes du miel

Le miel est depuis longtemps favorisant la cicatrisation des plaies qu'elles soient profondes, étendues, nécrosées, surinfectées (**Ndayisaba et al, 1992**). Le caractère visqueux du miel crée une barrière physique autour de plaie en empêchant toute surinfection de la lésion, il contribue à l'hydratation de la plaie, et possède ainsi une forte osmolarité qui provoque un "appel" de lymphes et de plasma qui draine les exsudats et favorise l'arrivée massive des cellules entrant dans la cicatrisation (macrophages. Fibroblastes...) (**Iusby et al, 2002**). Les sucres et notamment le lévulose et le fructose présents dans le miel améliorent la nutrition de la plaie et donc accélèrent le processus d'épithélialisation (**Subrahmanyam, 1996**). Molan en (1998) a remarqué que les plaies traitées avec du miel ne dégagent aucune mauvaise odeur, ce processus aboutit à la formation d'acide lactique inodore. Les pansements au miel n'adhèrent pas aux plaies, et le changement de pansement se fait sans douleur.

#### 4.4. Les propriétés antibactériennes du miel

C'est l'action combinée des propriétés physiques et chimiques qui confère au miel son activité antibactérienne. Le miel est une solution de sucres hyper saturée puisque composée environ 80% de fructose et de glucose, ces sucres auraient une activité antibactérienne par leur pouvoir d'abaissement de l'activité de l'eau 'aw' (**Molan, 1992**). Mais les propriétés antibactériennes du miel ne sont pas dues uniquement à cette haute teneur en sucres (**Bose, 1982 ; Drouet, 1983**). Du fait de sa viscosité, le miel va former une barrière protectrice qui va préserver la zone à traiter de toute surinfection, leur pH est suffisamment acide (entre 3 et 6) pour inhiber le développement de nombreux microorganismes pathogènes, et la production enzymatique de peroxyde d'hydrogène ou inhibez qui sert d'agent « stérilisant » (**Whit, 1962 ; Iusby E P et al, 2005 ; Ahmed et al, 2012**). Il existe d'autres facteurs antibactériens dans le miel à l'état naturel : les flavonoïdes (Taormina et al 2001), les acides phénoliques (**Dimitrova et al, 2003 ; Wahdan, 1998 ; et Molan, 1999**).

## 5. La contamination du miel

Le miel est un produit naturel, sain consommé par de nombreuses personnes à travers le monde, un aliment devient sain quand il rencontre les normes nutritionnelles appropriées, cependant, il est une préoccupation récente au sujet de la contamination du miel (**Liobera, 2008**).

Les abeilles collectent des poussières qu'elles ramassent sur les plantes butinés ; Le miel n'est pas stérile ; il peut contenir des spores des clostridies (*C. Botulinum*) et des bacilles (*B. subtilis*) mais peut être stérilisé par irradiation gamma sans perdre ses propriétés biologiques. Il peut contenir aussi des résidus d'antibiotique ou d'acaricides par l'usage qu'en fait l'apiculteur pour la prévention ou le traitement des maladies des abeilles (**Benitte, 2004 ;Barbancon, 2002**).

### 5.1. Les voies de contamination du miel

### 5.2. La contamination chimique

Les deux sources de contamination du miel sont ; l'environnement, les étapes de l'élaboration du miel, mais aussi l'apiculteur par des pratiques apicoles peu rigoureuses.

#### 5.2.1. La contamination environnementale

L'abeille est en contact permanent avec notre environnement naturel. Celui-ci est pollué par différentes émissions issues essentiellement de l'activité humaine. Trois types d'agents de contamination sont contrôlés : les résidus des pesticides, les polluants organiques et les métaux lourds (**Flamini, 1986**).

#### A. Les résidus des pesticides

Les pesticides sont des substances permettant de lutter contre les ennemis des cultures. Ils regroupent les fongicides, herbicides, insecticides et bactéricides. Il en existe de très nombreux sur le marché actuellement. Les pesticides les plus fréquemment recherchés dans le miel sont les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates (**Bogdanov, 2006**).

#### B. Les polluants organiques

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

#### C. Les métaux lourds

L'air et le sol contiennent les métaux lourds, principalement dans l'industrie qui peut également souiller la colonie d'abeille et ses produits. Le plomb (Pb) et le cadmium (Cd) sont considérés les principaux métaux lourds toxiques et les plus fréquemment étudiés, le Pb n'est pas transporté par les plantes. D'autre part, le Cd provenant de l'industrie métallurgique et des incinérateurs, est transporté du sol aux plantes et peut alors souiller le nectar et la miellée. Cependant, les teneurs les

plus élevées en Pb ont été souvent trouvées dans le miel des secteurs pollués. La contamination du miel est relativement basse probablement due au « filtrage » par les abeilles et qu'elles peuvent, elles et leurs produits, servir de bio-indicateurs pour une contamination par des métaux lourds dans un rayon de 3 km autour de la ruche (Devillers *et al*, 2002), puisque le miel a un contenu considérablement inférieur de métal lourd que les abeilles (Leita *et al*, 1996).

### 5.2.2. La contamination provenant de l'apiculture

La prévention ou le traitement des maladies des abeilles. Nécessite l'utilisation des acaricides comme celles utilisés contre la Varroa qui sont constitués les principales causes de contamination du miel car ils sont utilisés régulièrement.

Les acaricides hydrosolubles se répartissent dans le nourrissement de sucre des abeilles et le miel tandis que celles qui sont liposolubles s'accumulent dans la cire.

Selon la directive 1998-12-9 concernant la qualité du miel, l'utilisation de différents pesticides influencent fortement sur l'abeille et la qualité des produits apicoles notamment le miel. Et dans ce contexte, plusieurs études ont été réalisées à travers le monde surtout en Europe et aux Etats Unis d'Amérique (Bonniat, 1999).

### 5.2.3. La contamination d'origine agricole

Les agriculteurs pour améliorer et développer le rendement de l'agriculture utilisent les pesticides se qui conduit à la contamination des abeilles qui ces polluants à la ruche ; la plus part des pesticides sont interdits d'utilisés pendant la floraison ; période au cours du quelles les abeilles visitent la culture ou son susceptible d'être exposées aux produit chimiques (Liobera, 2008).

### 5.2.4. La contamination Bactériologique

Les micro-organismes qui peuvent être rencontrés dans les produits de la ruche ont deux origines différentes : une flore habituelle, mésophile et mycélienne et un microbisme occasionnel, résultat des manipulations nécessaires au conditionnement. De nombreuses recherches ont été menées sur la flore intestinale de l'abeille et de la larve (Gilliam *et al*, 1987; Tysset *et al*, 1968) et sur les micro-organismes qui colonisent le pollen ramené à la ruche (Gilliam, 1979). Ces recherches ont mis en évidence une importante flore banale constituée de bactéries, levures et champignons, largement répandus dans la nature (sur les végétaux, le sol, dans les eaux) comme *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* et, moins fréquemment, *Clostridium botulinum* (Huhtanen *et al*, 1981), ainsi que des entérocoques plus spécifiques d'homéothermes, hébergés à titre transitoire par l'abeille. Le miel possède une activité d'eau très basse, empêchant la multiplication et, dans la plupart des cas, même la survie des bactéries. En outre, très peu de microbes pathogènes ont été trouvés dans le miel (Snowdon *et al*, 1996 ; Snowdon, 1999 ; et Fléché *et al*, 1997).

## **6. L'eau**

### **6.1. Définition**

L'eau destinée à la consommation humaine est potable lorsqu'elle est exempte d'éléments chimique et/ou biologique susceptibles, à plus au moins long terme, de nuire à la santé des individus. Par conséquent, en fonction des caractéristiques de l'eau brute destinée à la production d'eau potable. La mise en place de traitements spécifiques s'avère le plus souvent nécessaire afin de répondre aux exigences réglementaires établies par les organismes de santé publique.

### **6.2. Sources de contamination**

La pollution d'eau peut être définie comme une dégradation de celle-ci par les éléments qu'elle a accumulés de son utilisation. Ces éléments indésirables proviennent des excréments chimiques. Des rejets provenant d'industries divers. Du lessivage des terrains traversés. Le problème de la pollution des eaux représente sans aucun doute des aspects des plus inquiétants de la dégradation du milieu naturel.

#### **6.2.1. Les polluants physiques**

La pollution physique représente les éléments solides entraînés par l'eau. Il se subdivise en plusieurs catégories selon leur nature et leur dimension :

##### **A. Les éléments grossiers**

Leur dimension est suffisamment grande pour être retenue par de simple grille. Dans les eaux de surface. Ces éléments sont généralement les brindilles, Les feuilles, les arbres....etc.

##### **B. Les sables**

Les sables sont des particules minérales d'une certaine dimension. Ils sont généralement à base ou de composition minérale équivalence. Leur masse spécifique est de 2,5 à 2,6g/cm<sup>3</sup>, ce qui permet leur élimination par simple décantation (**Mizi, 2006**).

##### **C. Les matières en suspension (MES)**

Les matières en suspension rencontrées dans les eaux (essentiellement superficielles) sont très divers tant par leur nature que leur dimension. Elles sont constituées de quartz, d'argiles, de sels minéraux insolubles, de particules organiques composées de micro-organismes, et de produits de dégradation animaux ou végétaux (**Marcel**).

#### **6.2.2. Les polluants chimiques**

La pollution chimique d'une eau est autrement plus complexe et peut provenir de plusieurs sources. On distingue selon la nature de la pollution chimique :

Les éléments chimiques minéraux.

Les éléments chimiques organiques.

## A. Les éléments chimiques minéraux

L'eau étant un très bon solvant permettra la mise en solution de nombreux composés avec lesquels elle sera en contact. La dissolution des sels, la corrosion des métaux et dissolution des acides et des bases sont des phénomènes qui donnent lieu à des eaux de rejets caractérisées par certaines formes de pollution dont les plus représentatives sont :

- ❖ L'élévation de la température; une eau plus chaude constitue une pollution.
- ❖ Des eaux dont les pH présents de grands écarts par rapport à la neutralité sont pollués (Sghiri, 1993).
- ❖ La présence des métaux lourds dans les eaux sous formes dissoute et en suspension ainsi que sous une forme difficilement soluble dans les sédiments (Degremont, 1989), Ils ont un effet cumulatif. Leur fixation sélective sur des organes et tissus sensibles peut être dangereuse aux concentrations élevées (Lallogo, 1992).
- ❖ La formation des sels parfois en grandes quantités, tels que des chlorures, des nitrates, des sulfates et des phosphates, ont une grande importance vis-à-vis l'environnement (Degremont, 1989).

## B. Les éléments chimiques organiques

La matière organique est principalement issue de la décomposition des végétaux, des animaux et des micro-organismes. Il est donc difficile d'en donner une description précise ou une composition moyenne. Elle participe à beaucoup de paramètres de qualité de l'eau : couleur, sous-produits de désinfection, odeurs, saveurs....etc.

### 6.2.3. Les polluants microbiologiques

L'eau peut contenir des micro-organismes pathogènes (des virus, des bactéries, des parasites). Ils sont dangereux pour la santé humaine, et limitent donc les usages que l'on peut faire de l'eau.

## 6.3. Les Paramètres des qualités des eaux

### 6.3.1 Paramètre physico-chimique

#### A. La température

La température joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gazes, et dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, pour l'eau potable, la température maximale acceptable est de 15°C. Dans les eaux naturelles et au-dessus de 15°C, il y a risque de croissance accélérée de microorganismes, d'algues, entraînant des goûts et des odeurs désagréables, une modification de la couleur, ainsi qu'une augmentation de la turbidité. La température est un paramètre important dans l'étude et de la surveillance des eaux soient souterraines ou superficielles. Les eaux souterraines gardent généralement une fraîcheur constante, mais la température des eaux de surface varie selon plusieurs facteurs, saisonniers et autre (Rodier, 1996 ; Beaudry, 1948 ; Philipo *et al*, 1981). Généralement on utilise un thermomètre pour mesurer la température.

## B. pH

Le pH correspond pour une solution diluée, à la concentration d'ions d'hydrogène. Il mesure l'acidité ou l'alcalinité d'une eau. Le pH d'une eau naturelle dépend de l'origine de celle-ci et de la nature des terrains traversés. Dans le domaine de l'eau, le pH joue un rôle primordial à la fois dans :

- Les propriétés physico-chimiques.
- Les processus biologiques dont certains exigent des limites très étroites des pH.
- L'efficacité de certains traitements (coagulation, contrôle de la corrosion, chloration). Pour mesurer le pH, on utilise un pH mètre.

## C. La conductivité électrique

La conductivité, caractéristique physico-chimique de l'eau liée à la concentration des substances dissoutes et à leur nature. Les matières organiques et colloïdes ne présentent qu'une faible conductivité. Elle varie avec la température. La conductivité électrique s'exprime en micro siemens /cm. La mesure de la conductivité permet d'avoir très rapidement une idée sur la concentration des sels dissous dans l'eau. Une conductivité élevée traduit soit des pH anormaux, soit le plus souvent une salinité élevée (**Rodier, 1996**).

## D. La turbidité

La turbidité est la mesure de l'aspect trouble de l'eau. C'est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes. Elle est causée, dans les eaux, par la présence de matières en suspension (MES), comme les argiles, les limons et les microorganismes. Une faible part de la turbidité peut être due également à la présence de matières colloïdales d'origine organique ou minérale. Pour mesurer la turbidité on utilise souvent le turbidimètre (Tardat *et al*, 1984 ; Degremont, 1989). Cette turbidité doit être éliminée pour améliorer l'aspect esthétique de l'eau de consommation mais aussi pour permettre une désinfection efficace et éviter les dépôts dans l'usine ou dans le réseau. En effet, les MES peuvent servir de support aux microorganismes qui seront ainsi partiellement protégés de l'action des désinfectants et qui pourront ensuite se développer dans les réseaux et entraîner des problèmes sanitaires.

## E. Chlore

Le chlore total est l'ensemble des espèces chimiques renfermant du chlore à l'état oxydé. Correspond habituellement à la somme du chlore libre et du chlore combiné présent dans l'eau.

Chlore libre : quantité de chlore présent dans l'eau sous forme de gaz dissous ( $\text{Cl}_2$ ), d'acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ ) et/ou d'ion hypochlorite ( $\text{OCl}^-$ ) qui n'est pas lié à l'ammoniac ni à d'autres composés.

Le risque de trouver du chlore libre dans les eaux de surface est très limité dans la mesure où cette molécule est très réactive. Le chlore libre peut se combiner à des substances organiques pour former des formes halogénées (chloroforme par exemple) (**Institut bruxellois, 2005**).

## F. Les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )

Les nitrates sont présents naturellement dans les eaux, les apports excessifs ou mal maîtrisés d'engrais azotés provoquent une augmentation des nitrates dans les ressources. Les nitrates se transforment en nitrite dans l'estomac. Ces nitrites peuvent provoquer la transformation de l'hémoglobine du sang en méthémoglobine, impropre à fixer l'oxygène. Ce phénomène est à l'origine de cyanoses, notamment chez les nourrissons. La consommation d'eau chargée en nitrates ou nitrites par la femme enceinte ou le nourrisson peut constituer un risque pour le nouveau-né (Laferrière *et al*, 1995).

### 6.4. Généralité sur les microorganismes recherchés

#### 6.4.1 Recherche des microorganismes révivifiables

- **Définition et nature des microorganismes révivifiables**

Les microorganismes révivifiables : toutes bactéries aérobies, levure ou moisissure, capable de former des colonies dans le milieu spécifié et sans les conditions d'essai décrites dans la norme (Rejesk, 2000).

Soit dans les milieux naturels de très bonne qualité microbiologiques pour contrôler une possible contamination bactérienne. Ce sont essentiellement des eaux souterraines des nappes profondes qui seront ainsi contrôlées.

Le dénombrement des germes révivifiables, nommées également mésophiles aérobies en fonction de leurs conditions de développement, et utilisés comme indicateur de pollution :

Soit dans les réseaux : une augmentation de la concentration bactérienne après la station de traitement peut être le signe d'une multiplication bactérienne dans le réseau ou d'une intrusion de bactérie à l'intérieur de celui-ci (Rejesk, 2000).

Parmi les bactéries cultivant dans les conditions de la norme, on peut distinguer deux catégories différentes sur le plan de l'hygiène :

- Les microorganismes se développant à  $20\text{C}^\circ$  : qui des saprophytes présents naturellement dans l'eau.
- Les microorganismes se développant à  $37\text{C}^\circ$  : qui proviennent de l'homme ou d'animaux à sang chaud. Même s'il ne s'agit pas forcément de germes pathogènes, ils peuvent montrer une contamination de l'eau analysée par des produits d'animaux, en particulier les matières fécales (Rejesk, 2000).

### 6.4.2. Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux

- **Définition et nature des coliformes**

#### Coliformes totaux

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateur de la qualité microbienne, ce sont des bactéries en forme de bâtonnet, aérobie ou anaérobie facultatives, dégradé le lactose à 37°C (Archibald, 2000 ; Edberg *et al*, 2000).

#### Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux sont des groupes des coliformes totaux capable de fermenté le lactose à 44°C, l'espèce la plus fréquemment associés à ce groupe bactérien est l'E coli qui représente toutefois 80 à 90% des coliformes fécaux (Edberg *et al*, 2000 ; Barthe *et al*, 1998).

### 6.4.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

- **Définition et nature des streptocoques :**

Les streptocoques fécaux appartiennent à un groupe qui n'est pas tous d'origine fécale (groupe D). Se présent sous forme de cocci à Gram positif, sphérique à ovoïdes, formant des chainettes. Ils témoignent d'une contamination d'origine fécale ancienne (Rejesk, 2000).

### 6.4.4. Recherche de *staphylococcus aureus*

- **Définition et nature des microorganismes**

*S.aureus* est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0.5 à 1µm de diamètre, non sporulé, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulasse. Produit de nombreuses toxines, responsables d'épidémies. Ces bactéries sont également isolées de l'environnement naturel (sol, eau.....etc.).

## 7. Le miel et l'eau

Le miel est par nature hygroscopique : il a la capacité de reprendre des atomes d'eau dans l'air et des levures, il fermente.

L'hygroscopie d'une matière est sa capacité d'absorber l'humidité de l'air. Cette propriété est importante car l'augmentation de l'humidité du miel peut conduire à la fermentation. Elle dépend en grande partie de la concentration de sucres qu'il contient (fructose), qui varie selon les miels.

Pour assurer une bonne conservation du miel, il est préférable de le mettre sur le marché avec le taux d'humidité le plus bas possible. Le taux d'humidité représente le paramètre le plus délicat en matière de conservation du miel.

Le miel tend à absorber l'humidité de l'air et si on le laisse trop longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable.

Un miel "normal", contenant environ 18% d'eau, peut atteindre, au bout de trois mois, une hygrométrie de 55% : son poids augmente donc de 84%. D'autre part, lorsqu'on veut dessécher le miel, il est nuisible de le maintenir en atmosphère rigoureusement sèche, parce qu'il se forme en surface une pellicule dure.

A cet effet, notre étude porte sur les effets du taux d'humidité dans des solutions eau / miel sur le développement des certaines bactéries telles que : les mésophiles, coliformes totaux et fécaux, streptocoques fécaux, staphylococcus aureus.



II - *Partie*

*Expérimentale*

## **1. Matériels et méthodes**

### **1.1. Matériels**

#### **1.1.1. Les analyses physicochimiques du miel**

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie et microbiologiques, de la faculté sciences de la nature et de la vie.

-Balance analytique de marque KERN (ALS 220-4N).

-Hotte chimique.

-Réfractomètre model (WYA Abbe Réfractomètre, Germany).

-Minéralisateur.

-Distillateur kjeldhal.

-Spatules.

#### **- Réactifs**

-Sulfate de potassium.

-Acide sulfurique pur.

-Oxalate de potassium.

#### **-Indicateurs colorés**

-Rouge de méthyle.

#### **1.1.2. Les analyses microbiologiques des solutions (miel / eau)**

-Autoclave de marque Sano clav.

- Bain marie de marque Memmert.

- Balance analytique de marque KERN (ALS 220-4N).

- Bec benzen.

- Compteur de colonie Selecta (digital S).

- Etuve microbiologique réglable de marque Memmert (Allemagne).

- Hotte microbiologique stérile (Steril-Gemini).

-Micropipette.

-Plaque chauffante.

- Agitateur magnétique.

### - Ustensiles

Boiter de pétri, distributeur, pissettes, portoirs, spatules.

### - Verreries

Béchers, entonnoirs, éprouvettes graduées, erlenmeyers, fioles jaugées, flacons, pipettes graduées, pipettes pasteurs, burettes, tubes à essais.

### - Milieux de culture

-Eau distillée, eau physiologique stérile.

-Bouillon Bromo-Crésol-Pourpre-Lactosé (BLBCP) utilisé pour la recherche des coliformes totaux et fécaux.

-Bouillon Rothe pour le test de présomption des streptocoques fécaux.

-Bouillon Ethyle Violet-Azide de sodium Litsky (EVA Litsky), pour le test de confirmation des streptocoques fécaux.

-Plate coictiny agar (PCA) utilisé pour la recherche des germes aérobies mésophiles.

-Bouillon Giolitti Cantoni (GC) pour le test de présomption des staphylococcus aureus.

-Chapman au mannitol pour le test de confirmation des staphylococcus aureus.

## 1.2. Méthodes

### 1.2.1. Les analyses physicochimiques

Les solutions du miel dans l'eau de concentrations : 0.5g / L, 1g / L et 3g / Litre.

L'échantillon du miel de la région de Ras-El-Oued au niveau de B.B.A a été prélevé avec toutes les précautions d'asepsie nécessaires dans un flacon stérile, de capacité d'environ 500 g.

L'échantillon d'eau prélevée à partir d'une source situé à Ain Loulou au niveau de ach en B.B.A dans des flacons stériles chaque flacon est de capacité d'environ 1 litre.

### A. Le dosage des protéines

Contrairement aux sucres et aux lipides, les protéines contiennent de l'azote. Cette propriété sera exploitée dans la méthode de détermination de la teneur en protéines dans les aliments.

La méthode kjeldahl est la méthode de référence qui a été utilisée dans le présent travail (**Johan, 1883**).

## Principe

❖ La détermination des protéines par la méthode kjeldahl s'effectue en trois étapes :

### Etape 1 : digestion ou minéralisation de l'échantillon

-On introduit dans chaque matras

- ✓ 5g de miel
- ✓ 15 à 20g d'acide sulfurique concentré
- ✓ 2g d'oxalate de potassium
- ✓ 8g de sulfate de potassium
- ✓ Agiter les matras
- ✓ Poursuivre l'expérience jusqu'à l'obtention d'une solution limpide pendant 3 à 4 heures avec en température de 390°C pour obtenir une couleur noire puis une couleur claire, laisser 30 min et refroidir pendant 15 min.

Pendant l'étape de la digestion, l'azote protéique transformée azote ammoniacal par oxydation de la matière organique dans l'acide sulfurique concentré à haute température, en présence d'un catalyseur et d'un sel.

-L'acide sulfurique concentré a pour but d'oxyder la matière organique et transformer l'azote protéique en ammoniac  $\text{NH}_3$ . Il sert également à piéger l'ammoniac gazeux sous la forme de sulfate d'ammoniac, par action de la base avec l'acide :

- ✓ L'addition de sel  $\text{K}_2\text{SO}_4$  et l'oxalate de potassium sont utilisés pour accélérer la réaction de minéralisation de la matière organique.

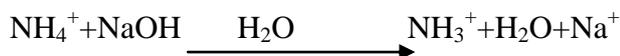


**Figure III** : Dosage de protéine du miel par la méthode de kjeldhal.

### Etape 2 : distillation de l'ammoniac

Avant de distiller l'ammoniac à la vapeur d'eau, on doit libérer l'ammoniac sous la forme du sel  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  par l'addition d'une solution de  $\text{NaOH}$  ( $d=1,33$ ) en excès.

L'ammoniac est ensuite distillé par la vapeur d'eau et piégée 15 ml d'une solution d'acide borique (40g dans 1000l d'eau) mélanger avec 10ml d'une solution alcoolique de rouge de méthyle (5g par 100ml).L'ammoniac réagit avec l'acide borique pour former des sels borates d'ammonium.



### Etape 3: titrage de l'ammoniac

L'ammoniac sous la forme de borates d'ammonium est titré directement à l'aide d'une solution standardisée d'acide, tel  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,1N), et d'un indicateur coloré, le rouge de méthyle.

## B. L'humidité

### 2.1. Appareillage

- Flacon avec fermeture hermétique.
- Etuve à  $50^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ .
- Spatule.
- Réfractomètre du type Abbe à thermomètre incorporé.

### 2.2. Mode opératoire

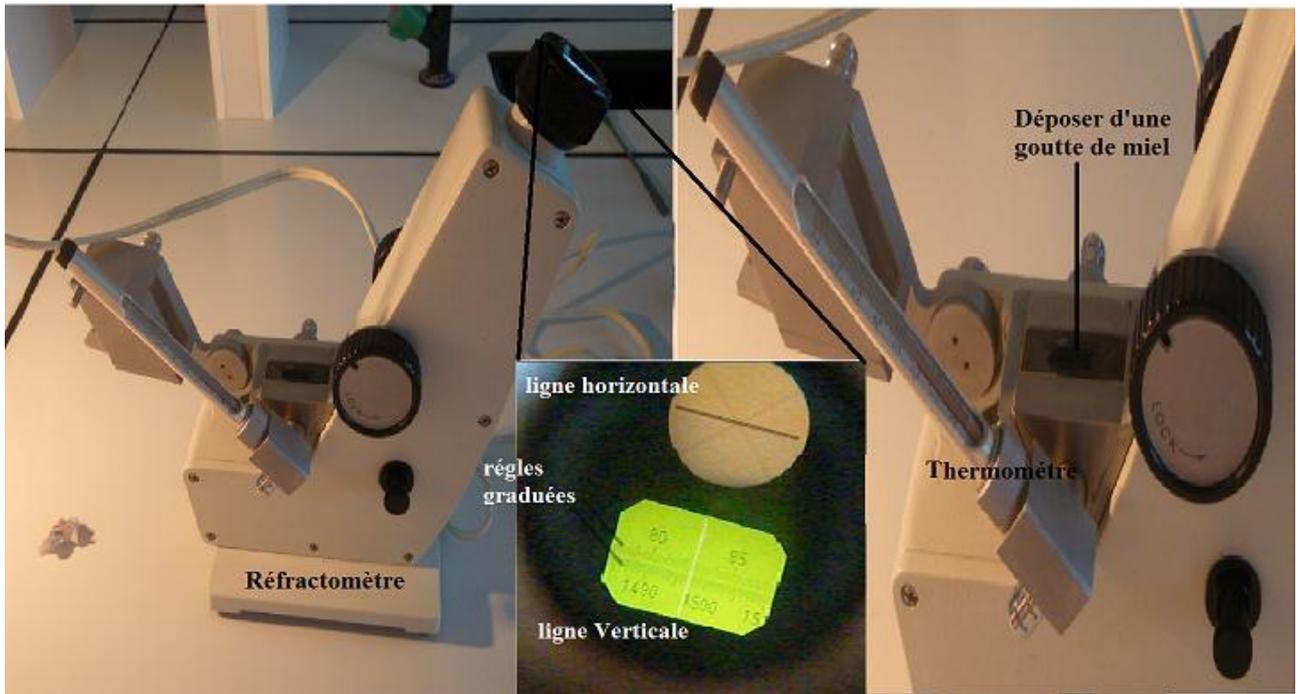
#### 2.2.1. Préparation de l'échantillon

Introduire dans le flacon quelques grammes de miel homogénéisé, obturer le flacon et le placer à l'étuve pendant un temps suffisant pour assurer la disparition des cristaux de sucre. Homogénéiser par agitation et laisser refroidir.

#### 2.2.2. Mesure de l'indice de réfraction et détermination de la teneur en eau

A l'aide de la spatule déposer rapidement une goutte de miel sur le prisme du réfractomètre, fermer l'appareil, après 2 minutes lire l'indice de réfraction, la lecture est faite à travers l'oculaire de réfractomètre au niveau de la ligne horizontale de partage qui coupe le cercle en deux zones égales: une zone claire et une obscure. Une ligne Verticale qui partage les deux règles graduées (la grande et la petite).

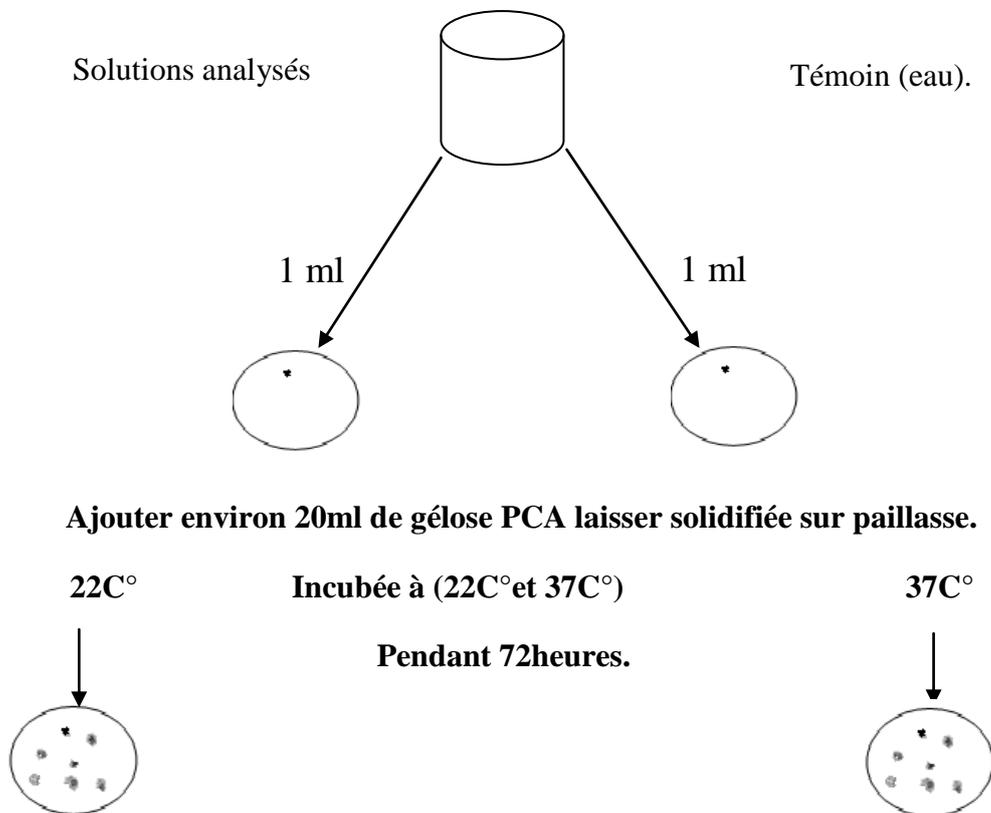
La température du prisme est notée sur le thermomètre de réfractomètre. Puis lire le contenu d'humidité correspondant de la table de Chataway.



**Figure IV** : Réfractomètre.

### 1.2.2. Les Analyses microbiologiques

#### A. Recherche et dénombrement des germes révivifiables



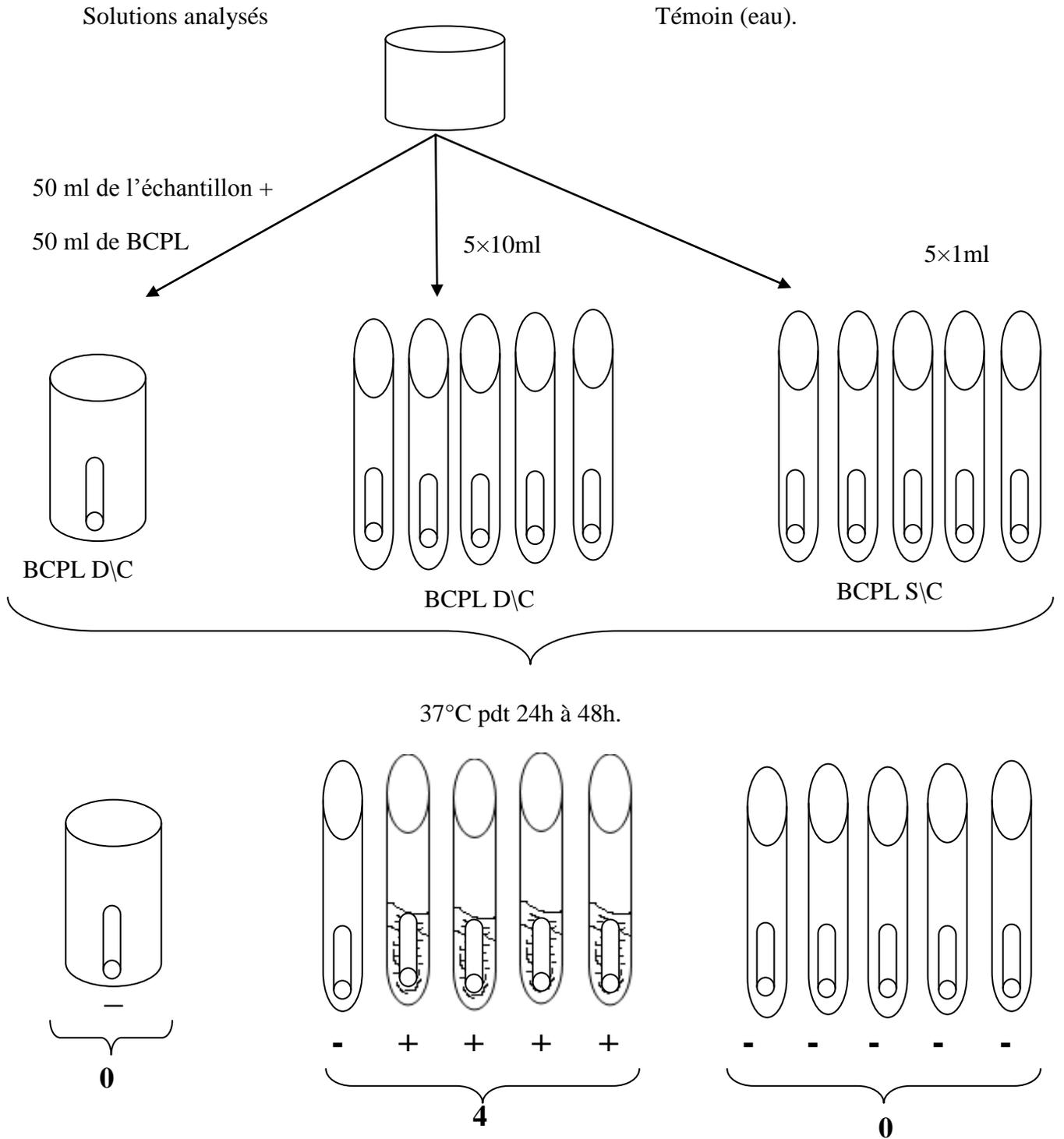
**Dénombrer les colonies en ufc / ml.**

**Incubation :** pendant 72h :

- première lecture à 24h.
- Deuxième lecture à 48h.
- Troisième lecture à 72h.

**B. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux**

**Test de présomption pour les coliformes totaux**

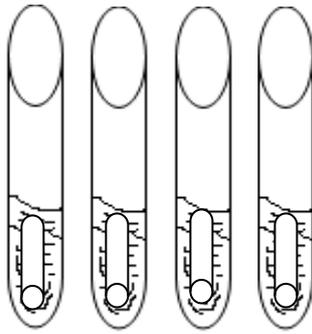


Le nombre caractéristique est donc (040) ce qui correspond sur la table de Mac Grady au nombre 5.

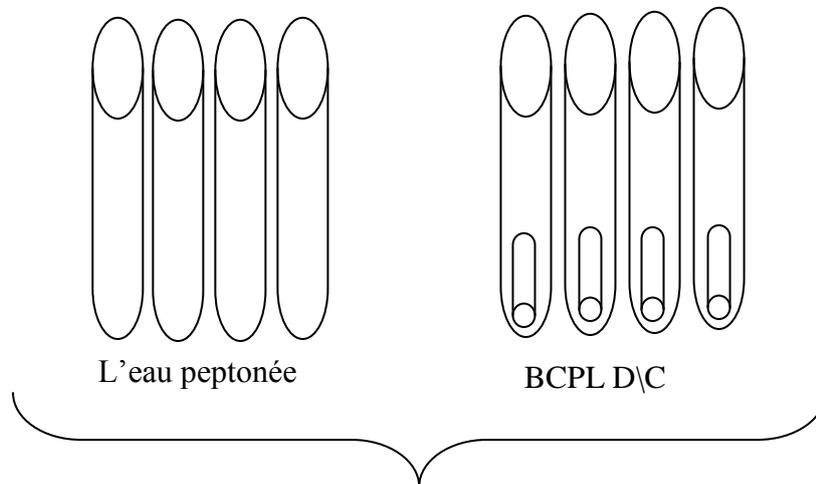
On considère alors qu'il ya 5 coliformes totaux par 1ml de solution analysée.

**Test de confirmation ou BCPL D\C réservé pour les coliformes fécaux, et l'eau peptonée pour E, coli**

**(E, coli)**

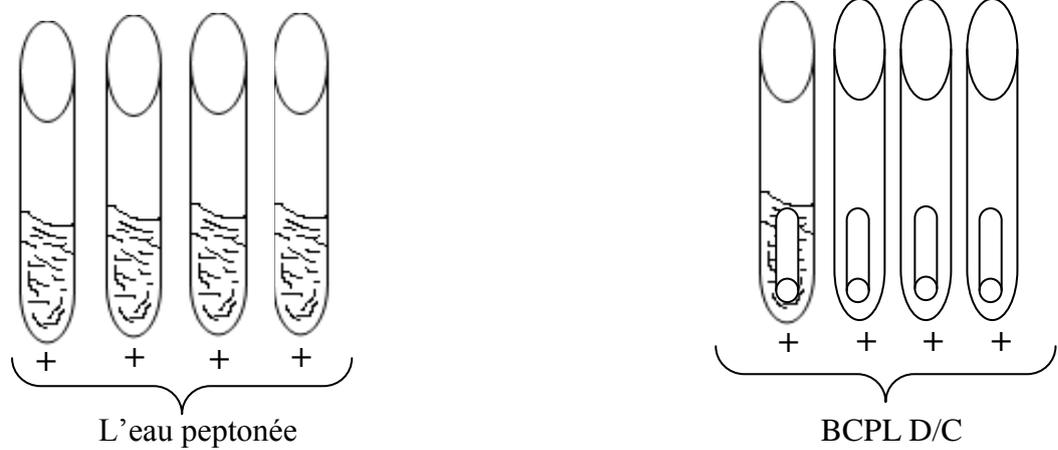


Repiquage sur milieu BCPL D\C + Cloche et l'eau peptonée pour l'E, coli.



Incubée à 44°C pdt 24h.

Après l'incubation :

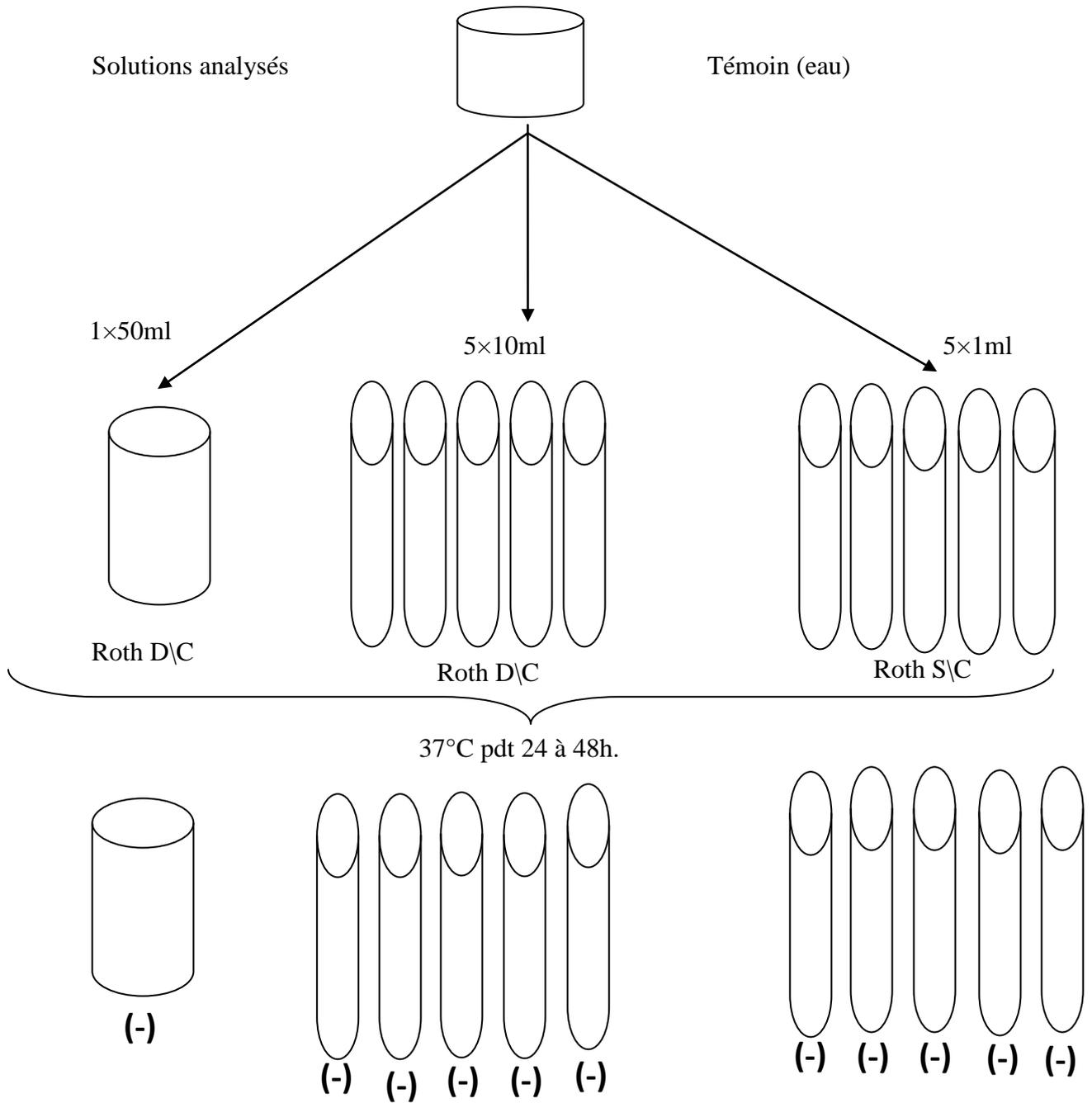


En ajoute 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs, la formation d'anneau rouge en surface est donc la production d'indole par l'E. coli.

Les nombres caractéristiques relatifs au dénombrement des coliformes fécaux (010) ce qui correspond sur la table de NPP au chiffre 1 Coliformes fécaux dans 1ml de la solution analysée.

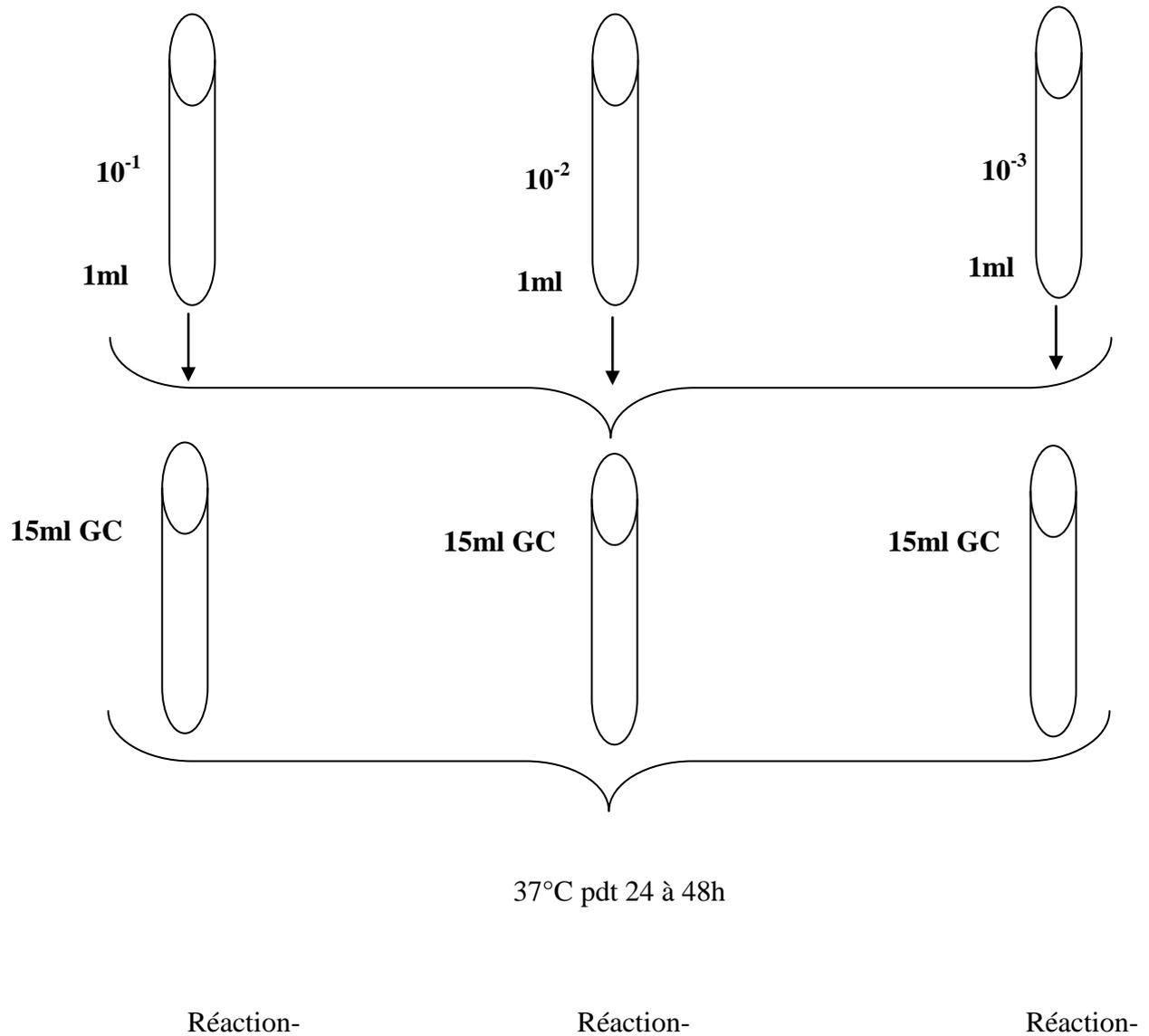
**C. Recherche des streptocoques fécaux en milieu liquide**

**Test de présomption**



**Test de confirmation des tubes (+) sur un milieu Litsky EVA**

37°C pdt 24

**D. Recherche de *staphylococcus aureus***

**Isolement sur Chapman à 37°C pdt 24 à 48h.**

**Même étapes pour les autres solutions (0.5g / L ,1g / L et 3g / L).**

## 2. Résultats et discussions

### 2.1. Résultats

#### 2.1.1. Les résultats des analyses physico-chimiques du miel

On peut calculer le taux des protéines comme suit (Johan, 1883) :

Pour  $V = 1,94\text{ml}$  (Sachant que  $1\text{L} = 1400\text{g}$ ).

$$\text{Azote} = 1,4 \times V \setminus 5 = 1,4 \times 1,94 \setminus 5 = 0,554 \text{ g} \setminus \text{L}$$

$$\text{Protéine} = \text{Azote} \times 6,25$$

$$\text{Protéine} = 0,554 \times 6,25 = 3,4 \text{ g} \setminus \text{L} = 3\text{g} \setminus \text{Kg} = 0,3 \text{ g des protéines} / 100 \text{ g du miel.}$$

**Tableau 1** : Le taux de protéine et l'humidité du miel.

Taux des protéines en g % du miel	L'humidité en %
0.3	17.2

#### 2.1.2. Les résultats des analyses microbiologiques

##### ➤ Les germes révivifiables dans les solutions de miel dans l'eau

**Tableau 2** : Les germes aérobies mésophiles

Désignation	Incubation à 22°C	Incubation à 37°C
Témoin	$4.10^2$	$10.10^3$
0.5g du miel / 1litre d'eau	$6.10^3$	$12.10^3$
1g du miel / L	$14.10^3$	$17.10^3$
3g du miel / L	$>10^4$	$>10^4$

**NB** : Résultats en ufc par ml de solution.

**Tableau 3** : Les germes recherchés dans les solutions (miel / eau).

Désignation	Coliformes totaux à 37°C	Coliformes fécaux à 44°C	Streptocoques fécaux à 37°C	Staphylococcus aureus à 37°C
Témoin	5	1	Abs	< 1
Solution de 0.5g de miel / 1litre d'eau	9	7	1	3
Solution de 1g de miel / 1litre d'eau	11	9	1	4
Solution de 3g de miel / 1 litre d'eau.	12	10	3	7

**NB** : Résultats en ufc par 1 ml de solution.

### 3. Discussion

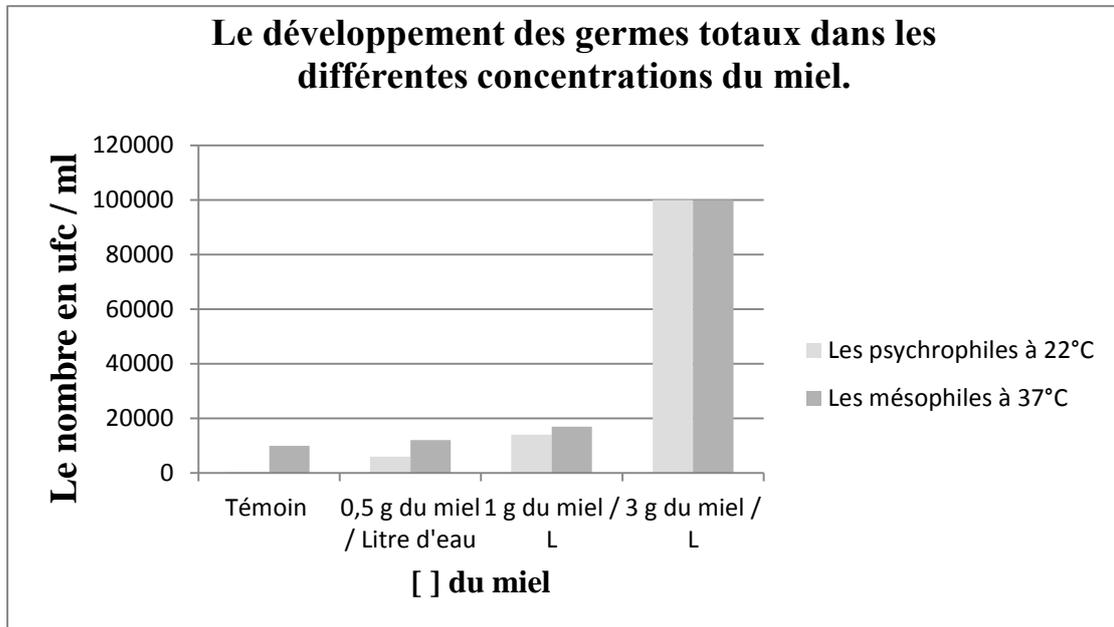
#### 3.1. Discussion des résultats physicochimiques

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles « *Apis mellifera* » à partir du nectar, de sécrétions de plantes ou d'excrétions d'insectes butineurs, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec les substances spécifiques qu'elles secrètent, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (Bessas *et al*, 2008). L'humidité représente la teneur en eau, elle est très importante car elle conditionne la qualité du miel. Elle est mesurée par la méthode réfractométrique.

Après avoir rapporté les indices de réfractions obtenues à la table de CHATAWAY, nous avons déterminé le taux d'humidité dans notre échantillon qui est de 17.2%, avec un l'indice de réfraction de 1.4935, cette valeur concorde avec les normes des codex alimentarius (2003) qui prescrit une teneur maximale de 20%, concernant les protéines du miel le dosage a été réalisé selon la méthode de khjeldhal, en utilisant 5g du miel. Le résultat obtenu (**tableau I**) montre que la teneur en protéine est de 0.3 g de protéine / 100 g de miel, cette quantité provient soit de la plante, soit de la sécrétion salivaire de l'abeille (Louveaux, 1968).

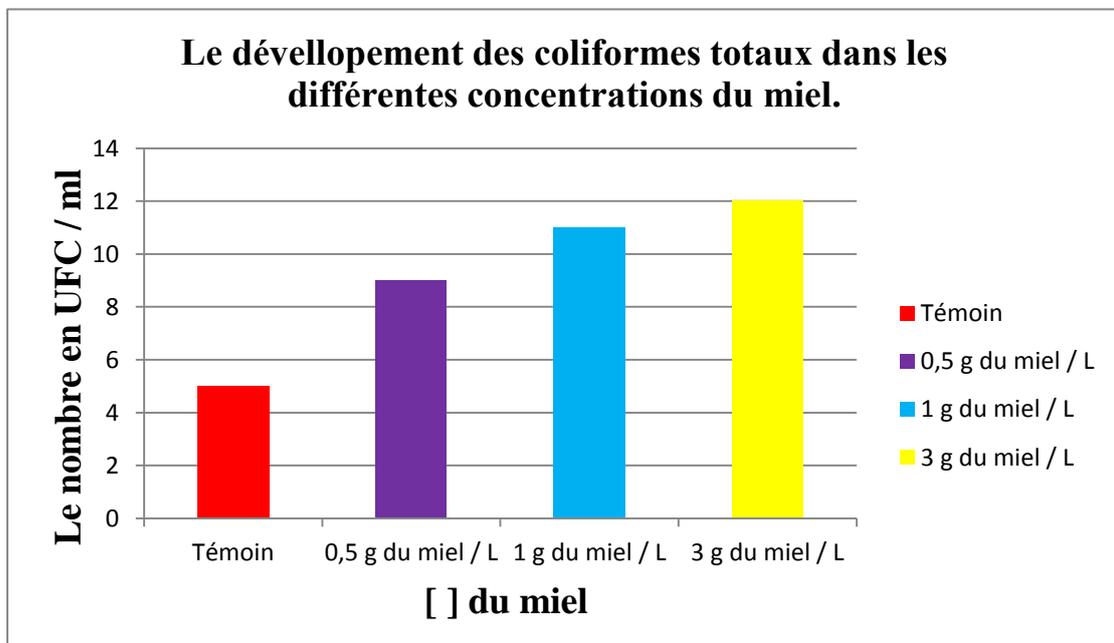
### 3.2. Discussion des résultats microbiologiques

#### ➤ La flore aérobie mésophiles totale

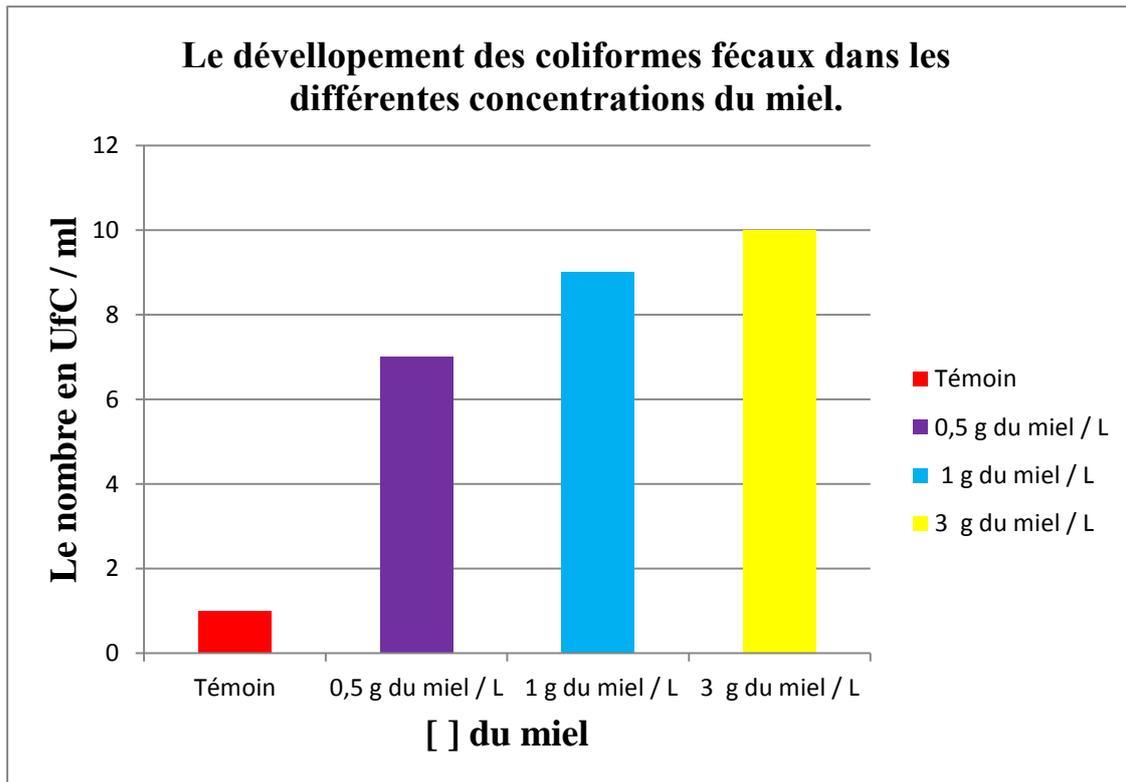


**Figure V :** Le développement des germes totaux.

#### ➤ Les coliformes totaux et fécaux

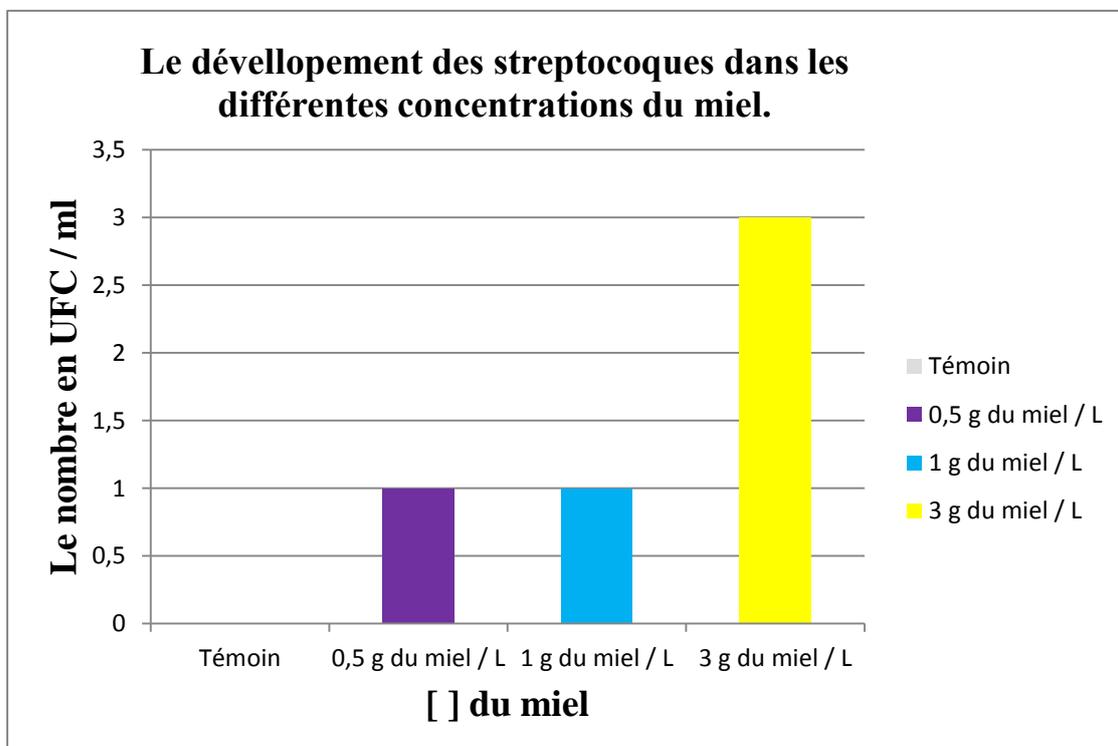


**Figure VI :** Le développement des coliformes totaux.



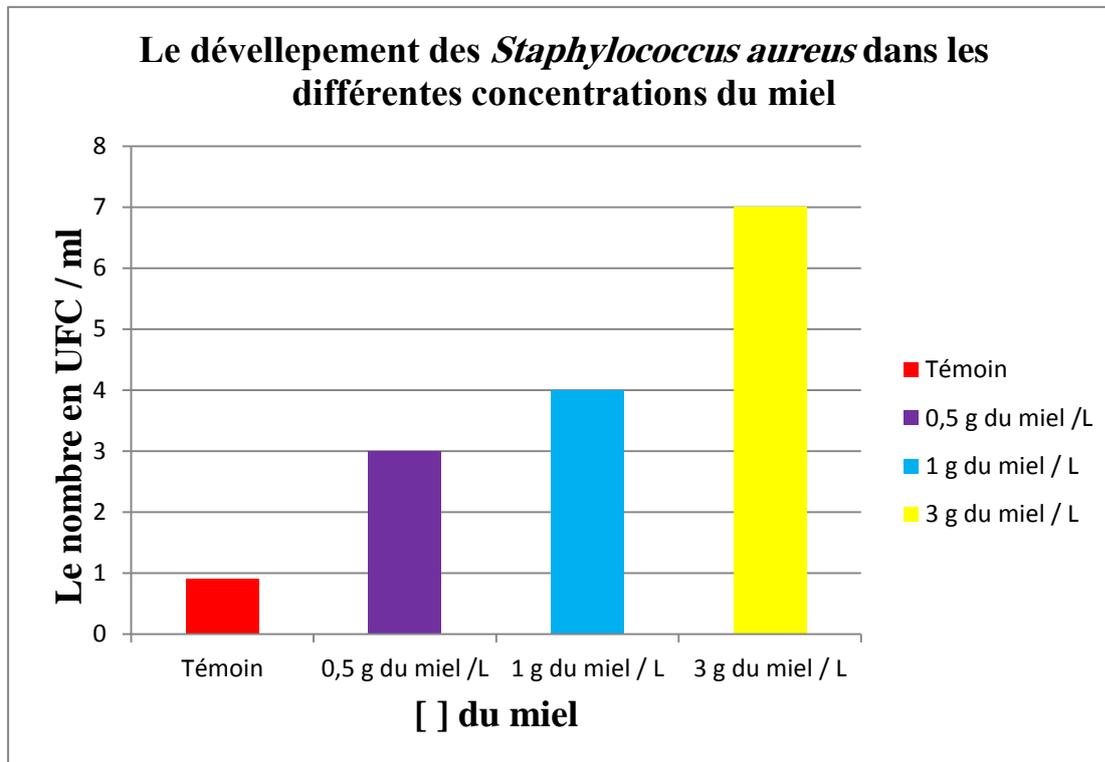
**Figure VII :** Le développement des coliformes fécaux.

➤ **Les streptocoques fécaux**



**Figure VIII :** Le développement des streptocoques fécaux.

➤ **Staphylococcus aureus**



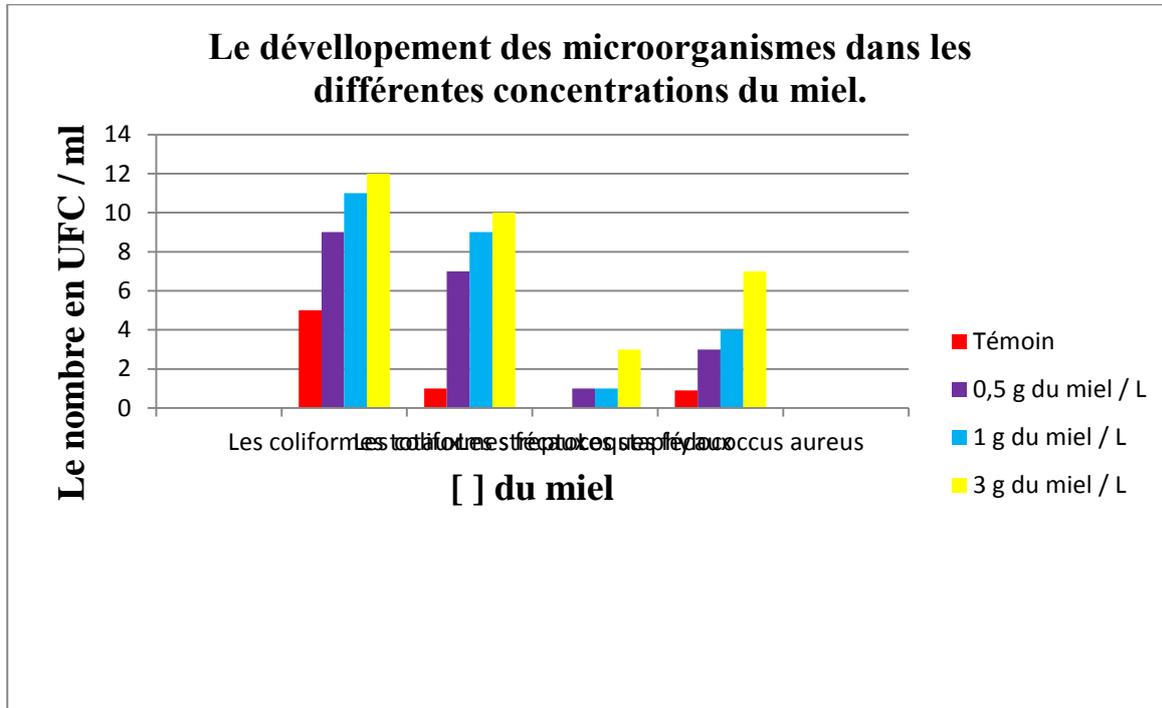
**Figure IX :** Le développement des staphylococcus aureus.

L'analyse des échantillons de l'eau témoin et des solutions (miel / eau) (0.5g / L- 1g / L et 3g / L) montre qu'une charge de flore aérobie, respectivement à 22°C ( $4.10^2$ -  $6.10^3$ -  $14.10^3$  et supérieur à  $10^4$  ufc / ml) et à 37°C ( $10^4$ -  $12.10^3$ - $17.10^3$  et supérieur à  $10^4$  ufc / ml) (**Figure V**). La charge microbienne en germes totaux semble augmenter avec la concentration du miel dans la solution, ce qui indique un rôle favorisant le développement des germes analysés.

Les résultats obtenus pour les coliformes totaux à 37°C dans l'eau témoin et les solutions miel / eau (0.5 g / L-1 g / L et 3 g / L) respectivement (5-9-11 et 12 ufc / ml) (**Figure VI**), et pour les coliformes fécaux à 44°C est (1-7-9 et 10 ufc / ml) (**Figure VII**), montrent l'absence des streptocoques fécaux à 37°C dans l'eau témoin et la présence de (1ufc) pour les solutions de 0.5 g / L et 1g / L, et (3ufc) dans la solution de 3 g / L, ce qui signifie que la concentration du miel dans la solution favorise le développement des streptocoques fécaux.

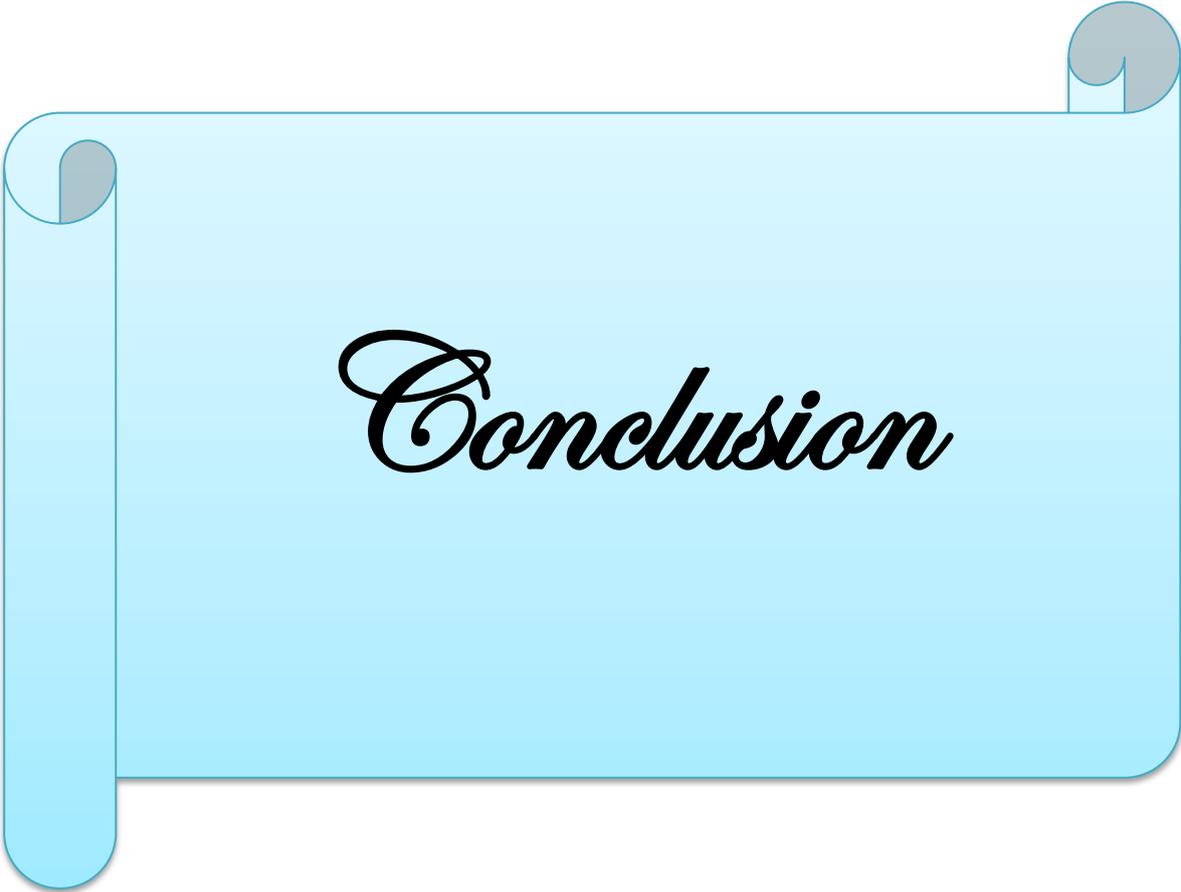
L'analyse de l'eau témoin révèle l'absence de staphylococcus aureus à 37°C. Mais pour les autres solutions (miel / eau) (0.5 g / L-1 g / L et 3 g / L) ont donné respectivement (3-4 et 7 ufc / ml) (**Figure VIII**), donc la présence du miel dans la solution favorise le développement des staphylococcus aureus.

➤ Les microorganismes recherchés dans les solutions (miel / eau).



**Figure X :** Le développement des microorganismes recherchés.

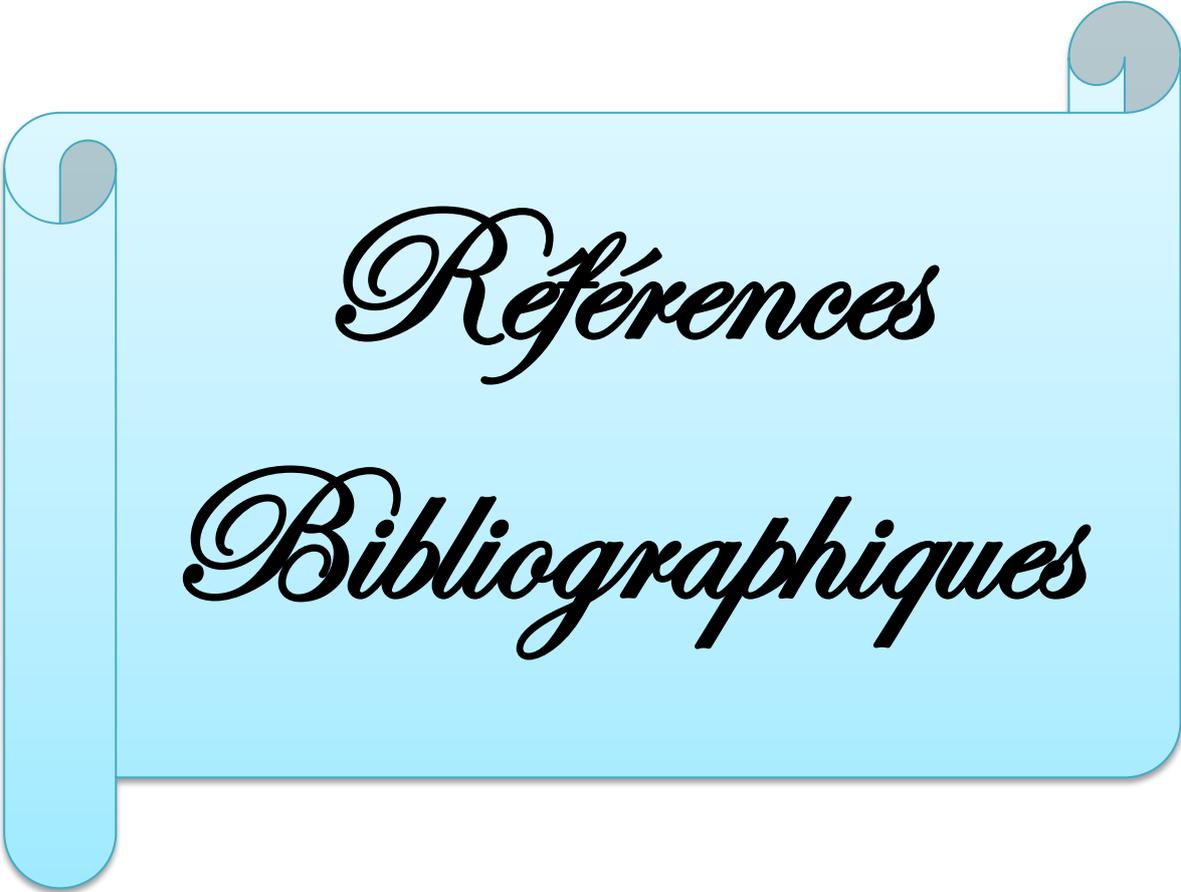
L'analyse des échantillons de l'eau témoin et des solutions miel / eau (0.5g / L- 1g / L et 3g / L) montre que le nombre des coliformes totaux a augmenté de (5 à 12 ufc / ml), et pour les coliformes fécaux de (1 à 10 ufc / ml). Même résultats pour les streptocoques et les staphylococcus aureus (**Figure X**), donc il y a une augmentation des germes en fonction de la concentration du miel dans les solutions.



*Conclusion*

## **Conclusion**

L'hygroscopie d'une matière est sa capacité à absorber l'humidité de l'air. Cette propriété est importante car l'augmentation de l'humidité du miel peut conduire à sa fermentation. Le miel tend à absorber l'humidité de l'air, si on le laisse trop longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable. Donc le taux d'humidité du miel est un paramètre physicochimique déterminant à la préservation de sa qualité. Les analyses microbiologiques des solutions (miel / eau) révèlent que le taux d'humidité élevé dans le miel modifie les propriétés de ce dernier. Le miel qui un antibactérien de nature a passé sous l'effet du taux d'humidité a un milieu de culture favorisant le développement des différents microorganismes.



*Références*

*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Amiot M J., Aubert S., Gonnet M., Tacchini M. (1989).** Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*, 20, (2), pp : 115-125.
- Archibald F. (2000).** The presence of coliform bacteria canadian pulp and paper mill water system- a causes for concern water Quality Research journal Of Canada, 35 (1): pp: 1-22.
- Aubert M.,Faucon J.,Chauzat P.(2008).**Enquete prospective multifactorielles: influence des agents microbien de et parasitaires ,et des résidues pesticides sur le devenir de colonies des abeille domestique en condition naturel.Agence Francaise de sécurité sanitaire des aliments,18,35-37.
- Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M. (2008).** Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltés dans le Sud Algérien. Pp ;70 .
- Blanc M. (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. pp ; 8/140.
- Barthe C., Perron j., & J. M. R. Perron. (1998).** Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'interêt dans le domaine de l'eau potable. Document de travail (versionn priliminaire), Ministere de l'environnement du Québec, Canada, pp : 155.
- Benitti C., Dainese N., Biancotto G., Piro B. R., Mutinelli., F (2004).** Unauthorised antibiotic treatments une beekeepung Devollepement and validation of a method to quantify and conform tylosin residues une heony using liquid chromatography-tendem mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 520.*Biotechnology*,37(3), 195-201.
- Bounnias M. (1999).** Les invertetret auxilliaires (traitement de toxicology general).*Spriger*,804 :563-565pp.
- Bogdanov, S. (2006).** Contaminants of bee products. *Apidologie* 37, INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences, PP : 1–18.
- Bonté F., Rossant A., Archambault J C., Desmoulière A.** Miels et plantes : de la thérapeutique à la cosmétique. *La Phytothérapie Européenne*. 2011;63:22-8.
- Bose B. (1982).** Honey or Sugar in treatment of infected wounds? *The lancet*, (1), PP: 8278, 963.
- Clément H. (2002).** Guide des miels. Paris, Rustica, pp : 64.
- Commission du Codex Alimentarius. (1999).** Projet de norme codex révisée pour le mielProgramme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, comite du codex sur les sucres. CX/S 00/3. pp : 1-40.
- Damiri A. (2010).** Les molécules aromatiques : comportement électrique et polarité, Document Powerpoint, Habana.
- Décret n°2003-587 du 30 juin 2003,** pris pour l'application de l'article L.214-1 du code de la consommation en ce qui concerne le miel. <http://www.legifrance.gouv.fr>
- Degremont. (1989).** Mémento technique de l'eau, Technique et documentation, tome1, P : 5, 24-25.
- Devillers J., Ben Ghouma-Tomasella N., Doré J C. (2002).** Cesium-134 and Cesium-137 in French honeys collected after the Chernobyl accident, in: Devillers J., Pham-Delègue M.H. (Eds.), *Honey bees: Estimating the environmental impact of chemicals*, Taylor & Francis, London and New York, pp: 151–159.
- Dimitrova B., Gevrenova R., Anklam E. (2003).** Aromatic and arylaliphatic carboxylic acids as markers for the floral origin of heather honey. *European Journal of drug matabolism and pharmacokinetics*, 28, (1), Special issue, pp: 44.
- Domerego R. (2001).** Ces abeilles qui nous guérissent, éditions J-C Lattès, pp : 205.

- Domerego R. (2002).** Santé, bien-être, apithérapie. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica, p : 390-416.
- Donadiou Y. (1978).** Le miel thérapeutique naturel, 2° Edition, Paris, Maloine edit, pp : 36.
- Edberg S. C., Rice E.W., Karlin R. j. & Allen M. J. (2000).** Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of applied Microbiology*, 88: pp:106S.
- Flamini C. (1986).** Analyse de divers types de résidus en apiculture. Thèse de Doctorat, Université de Nice, pp : 101.
- Franck Rejsek.** Analyse des eaux aspects réglementaires et techniques, lycée de borda.
- Gilliam M. (1979).** Microbiology of pollen and bee bread: the yeasts. *Apidologie*, 10 (1), pp: 43-53.
- Gilliam M., Prest D B. (1987).** Microbiology of feces of the larval honey bee, *Apis mellifera*.]. *Invertebr. Pathol*, 49, pp: 70-75.
- Gomez-Caravaca AM., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D et al.** Advances in the analysis of phenolic compound in product derived from bees. *J Pharm Biomed Analysis*. 2006; 41:1220-34.
- Gonnet M., Aubert S., Ferry P. (1986).** Evolution de la couleur du miel lors de sa cristallisation. *Apidologie*, 17, (1), pp : 49-62.
- Guarch C. (2008).** Le miel. Cuisine, santé et beauté. Editions Cabédita, Yens sur Morges, pp : 72.
- Hoyet., C (2005).** Le Miel : de la source à la thérapeutique. 85, pp : 106.
- Huhtanen C N., Knox D., Shimanuki H. (1981).** Incidence and origin of *Clostridium botulinum* spores in honey. *J. Food Protect.*44, pp: 812-814.
- Ioïriche N. (1984).** Les abeilles, pharmaciennes ailées. 3e édition complétée. Editions MIR, Moscou, pp : 240.
- Johan K. (1883).** Le dosage de l'azote organique par la méthode de kjeldahl, Capes Physique Chimie.
- Johnson R M. (2010).** Pesticides and honey bee toxicity-USA. *Apidologie*. INRA/DIB-AGIB/EDP Sciences. www.apidologie.org. Pp : 20.
- JORA. (2000).** Les normes de potabilité d'une eau de consommation. Journal officiel de la République algérienne N°51, 20 août 2000, Alger, pp : 4.
- Jones K C. (1987).** Honey as an indicator of heavy metal contamination. *Water, Air, and Soil Pollution* 33, pp: 179-189.
- Lallogo H. (1992).** Concentration de certains métaux d'importance médicale dans les poisons : cas des poisons de la lagune de Lomé. Mémoire de technicien supérieur en Génie Sanitaire (EAM), UL, p : 36.
- Laramée S. (2007).** L'abeille domestique comme bio-indicateur écotoxicologique de polluants : le cas de l'insecticide Imidaclopride. Sherbrooke, Québec, Canada. pp : 7.
- Laudine L. (2010).** Du nectar a un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur. Ecole Nationale Vétérinaire De Lyon. N° 085, pp : 195.
- Lecerf J M. (2009).** Effets métaboliques du fructose et du miel. *Phytothérapie*, vol.7, n°2, pp : 83-86.
- Lefferriere M., Nadeau A., Malenfant G. (1995).** La contamination par les nitrates : Prévention des risques à la santé, p : 38.
- Leita L., Muhlbachova G., Cesco S., Barbattini R., Mondini C. (1996).** Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination, *Environ. Monit. Assess.* pp: 43, 1-9.

- Liobera A. (2008).** Best of period once opened for honey samples from oceanic climates on the basis of their acidity typ. *International Journal of food science and technology*, 43, 1929-1934.
- Louveaux J. (1959).** La technologie du miel. *Ann. Abeille*, 2, (4), pp : 343-354.
- Louveaux J. (1968).** Composition, propriétés et technologie du miel. In : CHAUVIN R. *Traité de biologie de l'abeille*. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, pp : 277-324.
- Louveaux. (1968).** *Composition propriété et technologie du miel*. Les produits de la ruche, in *Traité de biologie de l'abeille. Ed Masson et Cie*. Tome 03, p : 389.
- Lusby P E., Coombes A., Wilkinson J M. (2002).** Honey: a potent agent for wound healing? *Wound, Ostomy and Continence Nurses Society*, 6 (29), pp: 295-300.
- Marcel Dore.** Chimie des oxydants et traitement des eaux. L'université de poitiers (E.S.I.P), p : 2-3.
- Maurizio A. (1968).** La formation du miel. In : CHAUVIN R. *Traité de biologie de l'abeille*. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, pp : 264-276.
- Meda A., Lamien C. E., Marco R., et al. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, vol. 91, n°3, pp: 571-577.
- Meda A., Lamien C. E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O G. (2005).** Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, pp: 571–577.
- Mizi Abdelkadere. (2006).** Traitement des eaux de rejets d'une raffiner et des corps gras région de bejaia et valorisation de déchets oléicoles. Thèse de doctorat d'état, université d'Anaba, Algérie, p : 26-27.
- Molan P C. (1992).** The antibacterial activity of honey. *Bee World*, 73, pp; 5-28.
- Pham-Delegue M H. (1999).** Les abeilles. Genève, Minerva. pp : 206.
- Philippo P., Pommery J, Thomas P. (1981).** Evolution d'une eau de surface au cours des traitements de potabilisation ; comportement des espèces métalliques au contact des matières humiques, *J.fr.Hydrobiol*.
- Popa A. (1962).** The maturation of honey. *J. Insect Physiol.*, 5, pp: 180-183.
- Porrini C., Sabatini A G., Girotti S., Ghini S., Medrzycki P., Grillenzoni F., Bortolotti L., Gattavecchia E., et Celli G. (2003).** Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination, *Apiacta*, volume 38, pp: 63-70.
- Rejesk M. (2000).** Analyses des eaux, aspect réglementaire et technique ; *Collection biologie Technique Environnementale*, pp : 53-54-71-142-148.
- Roder J., Bazing C., Broutin J. P., Champsaur H., Rodi L. (2005).** L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, chimie, physicochimie, microbiologie, biologie, interpretation des resultants. Ed Dunod, Paris, pp : 1384.
- Rodier J. (1996).** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 7ème édition.
- Rossant A. (2011).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. PP : 132.
- Rossant A. (2010).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse Pharm : Université de Limoges.
- Sghiri R. (1996).** Elimination des substances chimiques extraites de l'eau de retenue Hammam-Ghrouz par coagulation-floculation avec le fer ferrique et les sels d'aluminium, Thèse de Magister, université de Constantine.
- Snowdon J A. (1999).** The microbiology of honey –Meeting your buyers' specifications, *Am. Bee J.* 139, pp: 51–60.
- Snowdon J A., Cliver D O. (1996).** Microorganisms in honey, *Int. Food Microbiol.* 31, pp: 1–26.

**Subrahmanyam M. (1996).** Honey dressing versus boiled potato peel in the treatment of burns: a prospective randomized study. *Burns*, 22, pp: 3-941.

**Tardat Henry M., beaury J.P. (1984).** chimie des eaux. Ed. Le Griffon d'argile INC, Canada. Qualité physico-chimique et chimique des eaux se surface : cadre général. (2005), institut bruxellois pour la gestion de l'environnement, pp : 3-5.

**Vorwohl G. (1964).** Die Beziehungen zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der Honige und ihrer trachtmässigen Herkunft. *Ann. Abeille*, 7, (4), pp: 301-309.

**White J W. (1979).** Spectrophotometric Method for Hydroxymethylfurfural in Honey, *J. Ass. Off. Anal.Chem.* pp: 62, 509.

[www.miel mrg.emonsite.com/pages/types de miel.html](http://www.miel.mrg.emonsite.com/pages/types%20de%20miel.html)



*Annexes*

## **Annexe 1**

Composition des milieux de culture :

### **Milieu BLBCP D / C**

-Tryptone.....	4.2g
-Extrait de viande.....	2.52g
-Lactose.....	8.4g
-Pourpre de bromocrésol.....	0.21g

### **Milieu BLBCP S / C**

-Tryptone.....	1.1g
-Extrait de viande.....	0.66g
-Lactose.....	2.2g
-Pourpre de bromocrésol.....	0.055g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $6,7 \pm 0,2$

### **Milieu Rothe**

-Rothe D / C.....	29.1g
-Rothe S / C.....	7.6g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $6,8 \pm 0,2$

### **Milieu EVA Litsky**

-Litsky.....	8.95g
--------------	-------

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $6,8 \pm 0,2$ .

### **Milieu Chapman**

-Chapman.....	22.2g
---------------	-------

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7 \pm 0,2$ .

### **Giolitti Cantoni (GC)**

-Giolitti Cantoni (GC).....	10.8g
-----------------------------	-------

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7 \pm 0,2$ .

### **L'eau peptonée exempte d'indole**

-L'eau peptonée exempte d'indole.....	11.25g
---------------------------------------	--------

PH du milieu prêt à l'emploi à 121°C : 7.2

**Annexe 2** : Table de CHATAWAY (1935)

<b>Indice de réfraction (20°C)</b>	<b>Teneur en eau (%)</b>	<b>Indice de réfraction (20°C)</b>	<b>Teneur en eau (%)</b>	<b>Indice de réfraction (20°C)</b>	<b>Teneur en eau (%)</b>
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				

**Annexe 3 :** Table de Mac Grady

1 X 50 ml	5 X 10 ml	5 X 1 ml	Nombre caractéristique	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0,5	4
0	0	2	2	<0,5	6
0	1	0	1	<0,5	4
0	1	1	2	<0,5	6
0	1	2	3	<0,5	8
0	2	0	2	<0,5	6
0	2	1	3	<0,5	8
0	2	2	4	<0,5	11
0	3	0	3	<0,5	8
0	3	1	5	<0,5	13
0	4	0	5	<0,5	13
1	0	0	1	<0,5	4
1	0	1	3	<0,5	8
1	0	2	4	<0,5	11
1	0	3	6	<0,5	15
1	1	0	3	<0,5	8
1	1	1	5	<0,5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	100
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	100
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	>240		