



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur**  
**et de la Recherche Scientifique**  
**Université Ibn Khaldoun-Tiaret**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences de la nature et de la vie**

**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du diplôme de master académique**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

**Présenté par :**

**M<sup>elle</sup> : AIT AHMED LAMARA Yousra**

**M<sup>elle</sup> : BELABBES Kheira**

**Thème**

**Essai de stérilisation du miel par ultraviolet**

**Soutenu publiquement le : 01/07/2020**

<b>Jury :</b>		<b>Grade :</b>
<b>Président :</b>	<b>Mr. BENBEGUARAM.</b>	<b>MAA</b>
<b>Encadreur :</b>	<b>Mr. HOCINEL.</b>	<b>MCA</b>
<b>Co-promoteur :</b>	<b>Melle SOUALMI K.</b>	
<b>Examineur :</b>	<b>Mme. MOULAY M .</b>	<b>MCA</b>

**Année universitaire 2019/2020**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

«وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنْ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ (68) ثُمَّ كُلِي مِن

كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلًا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِّلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ

لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (69)»

صدق الله العظيم

(سورة النحل آية 68 - 69)

Dans le Coran, Dieu, dont le nom est béni et exalté, dit

« [Et voilà] ce que ton Seigneur révéla aux abeilles : "Prenez des demeures dans les montagnes, les arbres, et les treillages que [les hommes] font. 68. Puis mangez de toute espèce de fruits, et suivez les sentiers de votre Seigneur, rendus faciles pour vous. De leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens. Il y a vraiment là une preuve pour des gens qui réfléchissent 69. »

Sourat Les abeilles 16, Aya 68 et 69

# REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord **Allah** le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger nos pas. Nous tenons à exprimer toute notre gratitude envers notre promoteur **Mr HOCINE.L**, pour avoir toujours eu confiance en nous et pour son soutien. Il a toujours été disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire. et pour nous avoir donné les moyens et l'assistance nécessaire à la réalisation de notre travail.

Nous adressons nos remerciements à nos Co-promotrices **Melle SOUALMI .K** et **Melle DJELLOULI. Z** pour le temps précieux qu'elles nous ont consacré, pour leur patience et leurs précieux conseils, et pour leur aide.

Nos profonds remerciements s'adressent à **Mr .BENBEGUARA.M** d'avoir accepté de présider le jury et qui a pris le temps de lire et de corriger ce mémoire. C'est un honneur pour nous de vous avoir dans le jury.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à **Mme. MOULAY.M** d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, nous sommes très honorées de sa présence dans ce jury.

Nous remercions chaleureusement le personnel des bibliothèques SNV et centrale. Sincères remerciements à **Mme Mokhtari .B** pour sa présence à nos côtés, son humeur et gentillesse .nous n'oublie pas son aide .merci du fond du cœur. Sans oublier nous remercions à tous ceux qui nous ont porté de l'aide dans nos recherches notamment l'équipe du laboratoire de Biochimie et Ecologie.

Nos remerciements vont également aux étudiants de la 2eme année master promotion de Microbiologie appliquée 2019/2020 de l'Université **Ibn KHALDOUN** de Tiaret.

Nous remercions vivement et sans exception tous nos précepteurs, Directeurs, administrateurs et enseignants de l'école primaire, de l'école Fondamentale, du lycée et du département des sciences biologiques.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection.

## DEDICACE

Tout d'abord je remercie **ALLAH** (mon dieu) de m'avoir donné la capacité, la volonté et de la patience pour réaliser ce travail

Du profond de mon cœur, ce mémoire est dédié

A mes chers parents **Azedine** et **Faroudja**. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A ma chère sœur **Abir** et mon frère **Hassane**, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A ma chère copine **Kheira** pour tes jolis mots et belles actions, tes conseils précieux, ton beau cœur et ta gentillesse. Merci pour les bons moments qu'on a passés ensemble.

A toute la famille **AIT AHMED LAMARA** ; à la famille **Hassani** que dieu leurs donnent une longue et joyeuse vie.

A tous mes cousins et cousines spécialement : **Asma, Siham, Nadia** qui m'ont encouragé, aidé que dieu leurs offre le bonheur.

A toutes les amies qui m'ont encouragé : **Yasmine, Maroua, Hadjer, Aicha, Hanane, Iman, Kawther, Ilham, Sarra**.

A la mémoire de mes grands-pères et mes grand-mères et à mon oncle : **LEKRIM**, ma tante **SALIHA**, décédés très tôt, qu'ils m'ont toujours motivé dans mes études. J'espère qu'ils apprécieront du monde où ils sont maintenant, ce geste humble en signe de gratitude de la fille qui a toujours prié pour le salut de leurs âmes. Que dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde. J'aurais tant aimé que vous soyez présents

A tous ceux que j'aime et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation ce travail.

**YOUSRA**

## DEDICACE

Je dédie ce travail ;

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et mon tout respect : mon cher père **Ahmed** aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour et ma considération pour tes conseils d'or. Vous étiez toujours poussé et motivé.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable

**Fatima.**

A mes chers frères : **Mohamed amine, Youcef, Snousi** et le jeune prince **Rayen Anes** sans oublier mon adorable sœur **Bouchra**. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A mes grandes -mères, mes oncles et mes chères tantes **Khaldia et Halima**. Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mon cher grand-père, que Dieu lui fasse miséricorde. Tu m'as encouragé .tu m'as beaucoup appris depuis mon enfance .j'aurais aimé que tu sois là pour voir mon succès.

Ce travail est dédié également, à ma chère binôme **Yusra** pour son soutien moral, sa patience, sa compréhension tout au long de ce projet et pour tous les bons moments passés ensemble.

En fin à mes chères amies **Bakhta, Asma , Anfel, Ilhem, sarra, Hadjer, Soria ,samira, Fatima et Imen** qui m'ont toujours encouragé .puisse Dieu vous donner santé, bonheur et surtout réussite.

**KHEIRA**

# Sommaire

---

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	III
Liste des abreviations.....	IV
Introduction.....	1

## Synthèse Bibliographique

I.Généralités sur le miel.....	3
I.1. Définition du miel.....	3
I.2. Origine du miel.....	3
I.2.1. Nectar.....	3
I.2.2. miellats.....	3
I.3. Types de miel.....	3
I.3.1. Miel uni floral (mono floral).....	3
I.3.2. Miel poly floral (multi-floral).....	3
I.4. Récolte.....	4
I.5. Critères physicochimiques.....	4
I.6. Composition chimique.....	5
II - Conservation et altération du miel.....	6
II.1. Critères biologie.....	6
II.2. Conditionnement du miel.....	6
II.3. Altération du miel.....	6
II.3.1 Vieillessement du miel.....	6
II.3.2 Cristallisation.....	6
II.3.3 Lumière.....	7
II.3.4 Fermentation.....	7
II.3.5 Température.....	7
II.3.6 Teneur en eau et en levure.....	7
II.4. Techniques de conservation du miel.....	8
II.4.1. Traitement thermique.....	8
II.4.1.1 Pasteurisation.....	8
II.4.1.2 Conservation du miel par emmagasinage.....	8
II.4.2.Traitement non thermique.....	8
II.4.2.1 Ultrasons.....	8
II.4.2.2 Irradiation Gamma.....	8
II.4.2.3 Effet des ultraviolets sur les microorganismes.....	8

## Partie Expérimentale

### Matériel et Méthodes

I.Objectif du travail.....	10
II.Lieu et durée de travail.....	10
III.Matériel expérimental.....	10
III.1. Matière première.....	10

---

# Sommaire

---

III.2. Matériels utilisés .....	10
III.3. Appareils à ultraviolet .....	11
III.3.1. Type des ultra-violets .....	11
III.3.2. Mode d'action des rayonnent UV sur les microorganismes.....	12
IV.Préparation des diluants.....	14
V.Préparation de la solution mère (SM).....	14
V.1. Germes recherchés et choix des milieux de culture .....	14
V.1.1. La flore totale .....	14
V.1.1.1 Ensemencement et incubation .....	15
V.1.1.2 Dénombrement des bactéries .....	15
V.1.2. Analyse mycologique .....	15
V.1.2.1. Les levures osmophiles .....	15
V.1.2.2.Ensemencement et incubation .....	15
V.1.2.3. Dénombrement des levures et moisissures.....	16
VI.Analyses physico-chimiques .....	17
VI.1. Teneur en eau .....	17
VI.2. pH .....	17
VII. Traitement par ultraviolet.....	17
VII.1.Procédé .....	17
<b>Résultats et Discussions</b>	
I.Teneur en eau.....	19
II. pH.....	19
III.avant traitement aux UV.....	20
III.1.Analyse microbiologique .....	20
III.1.1.Flores mésophile totale (germes totaux) .....	23
III.2.Analyse mycologique .....	23
IV.Après stérilisation.....	24
Conclusion.....	34
Références Bibliographiques .....	36
Annexes .....	40

---

## Liste des figures

---

<b>Figure 1:</b> organigramme de la récolte du miel .....	4
<b>Figure 2</b> Schéma du protocole expérimental .....	13
<b>Figure 3:</b> préparation de la solution mère.....	14
<b>Figure 4:</b> Ensemencement sur milieux YM40G, PCA, SABOURAUD .....	16
<b>Figure 5:</b> exposition de miel au l'appareil d'ultraviolet ( $\lambda=253,7\text{nm}$ ).....	18
<b>Figure 6:</b> exposition de miel au l'appareil d'ultraviolet ( $\lambda =365 \text{ nm}$ ). .....	18
<b>Figure 7:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu Sabouraud.....	21
<b>Figure 8:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu Sabouraud. ....	21
<b>Figure 9:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA. ....	21
<b>Figure 10:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA. ....	21
<b>Figure 11:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G.....	22
<b>Figure 12:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G. ....	22
<b>Figure 13 :</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu MEA .....	22
<b>Figure 14:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu MEA .....	22
<b>Figure 15:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (90sec) $\lambda =$ 365nm.....	24
<b>Figure 16:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (90sec) $\lambda =$ 365nm.....	24
<b>Figure 17:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (90sec) $\lambda =$ 253.7nm.....	25
<b>Figure 18:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (90sec) $\lambda =$ 253.7nm.....	25
<b>Figure 19:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec) $\lambda = 365\text{nm}$ .....	25
<b>Figure 20:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec) $\lambda = 365\text{nm}$ .....	25
<b>Figure 21:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec) $\lambda = 253.7\text{nm}$ .....	26
<b>Figure 22:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec) $\lambda =253.7\text{nm}$ .....	26
<b>Figure 23:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition (90s) $\lambda =$ 365nm.....	26
<b>Figure 24:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition (90s) $\lambda =$ 365nm.....	26

---

## Liste des figures

---

<b>Figure 25:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition (90sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	27
<b>Figure 26:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition (90sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	27
<b>Figure 27:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition (120sec) $\lambda = 365 \text{ nm}$ .....	28
<b>Figure 28:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition (120sec) $\lambda = 365 \text{ nm}$ .....	28
<b>Figure 29:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition (120sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	28
<b>Figure 30:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition (120sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	28
<b>Figure 31:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (120sec) $\lambda = 365 \text{ nm}$ .....	29
<b>Figure 32:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (120sec) $\lambda = 365 \text{ nm}$ .....	29
<b>Figure 33 :</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (120sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	29
<b>Figure 34 :</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (120sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	29
<b>Figure 35 :</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec) $\lambda = 365 \text{ nm}$ .....	30
<b>Figure 36:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec) $\lambda = 365 \text{ nm}$ .....	30
<b>Figure 37:</b> aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	30
<b>Figure 38:</b> aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec) $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ .....	30
<b>Figure 39:</b> schéma montrant la structure de l'ADN avant et après absorption de photon UV.	32
<b>Figure 40:</b> dénombrement des levures et moisissure du miel normal après exposition aux UV. ....	33
<b>Figure 41:</b> Dénombrement des levures et moisissures de miel fermenté après exposition aux UV. ....	33

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1</b> :composition moyenne des principaux constituants du miel (en %).....	5
<b>Tableau 2</b> : Influence de la richesse en levures sur la fermentation des miels plus ou moins riches en eau selon les travaux de Lochhead (1933) cité par Chauvin (1968).....	7
<b>Tableau 3</b> : matériels, verrerie et milieux de cultures utilisés.....	10
<b>Tableau 4</b> : teneur en eau des échantillons de miel étudiés.....	19
<b>Tableau 5</b> : pH des échantillons de miels.....	20
<b>Tableau 6</b> : charges microbiennes des échantillons de miel avant exposition aux rayons UV	20
<b>Tableau 7</b> :Dénombrement de la flore totale, levures et moisissures après exposition de 90 sec .....	24
<b>Tableau 8</b> : Dénombrement de la flore total, levures et moisissures après la stérilisation de 120 sec.....	27

## Liste des abréviations

---

**ARNt** : acides ribonucléiques de transfert

**HMF** : hydroxy methyl furfuraldehyde

**HPP** : traitement à haute pression

**MEA**: Malt Extract Agar

**MF** : miel fermenté

**MN** : miel normal

**PCA**: Plate Count Agar / Gélose sur plaque

**pH**: potentiel Hydrogène

**SM** : solution mère

**UFC/g** : Unité Formant Colonie/gramme

**UV** : lumière ultraviolet

**YM40G**: yeast malt 40% Glucose

# **Introduction**

# Introduction

---

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles à partir du nectar des fleurs ou des exsudats d'arbres et des plantes donnant des miels de nectar ou de miellat respectivement (Liu et al, 2013). Il a des caractéristiques sensorielles et physico-chimiques très variables dues aux conditions climatiques et environnementales et à la diversité des origines des plantes à partir desquelles ils sont récoltés (Cimpoi et al, 2012)..

Il bénéficie depuis longtemps d'une bonne image de marque à travers le monde entier, cette renommée est liée à ses qualités alimentaires ou médicinales (Phillippe, 1988). D'après un verset du Coran, « Tout ce qui sort par le ventre de l'abeille devient médicament ». Aujourd'hui, le miel fascine de plus en plus la médecine moderne, les études et travaux scientifiques prouvant ses propriétés cicatrisantes et antiseptiques puissantes se multiplient (Monia, 2020).

La consommation de miel augmente les antioxydants plasmatiques qui protègent les cellules dans le sang, permettant ainsi de contre balancer des processus pathologiques tels que le stress qui est responsable dans l'apparition de plusieurs troubles et maladies tel que le diabète, le rhumatisme, les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Ouchemoukh, 2012 ; Anand et al., 2018).

Le miel peut être sujet à des contaminations qui sont la plupart du temps inoffensives , certaines levures responsables de la fermentation, des moisissures des bactéries ou encore des spores de champignons peuvent faire partie de la flore mésophile naturelle , les micro-organismes qui survivent dans le miel sont ceux qui résistent au sucre concentré, à l'acidité et à d'autres caractères antimicrobiens du miel. Les principales sources de contamination microbienne sont susceptibles d'inclure le pollen, les voies digestives des abeilles saleté, poussière, air et fleurs (Olaitan, 2007).

Pour l'élimination des bactéries de détérioration dans le miel, faciliter l'emballage et retarder la cristallisation, il subit un traitement thermique (généralement chauffé au-dessus de 70 °C (Fauzi al, 2014). Le chauffage à haute température diminue les activités antioxydantes du miel par la décomposition des vitamines et de la destruction des enzymes (Nagaiet al, 2001).

Il existe un grand intérêt à développer une technique non thermique comme le traitement par ultrasons afin d'inactiver les micro-organismes d'altération présents dans le miel sans détruire ou altérer au minimum les attributs sensoriels, couleur, saveur, valeurs nutritionnelles et

## introduction

---

activités antioxydants (Chaikham et al,2015). Le traitement à haute pression (HPP) est un procédé alternatif au traitement thermique, conventionnel cette méthode permet l'augmentation de la valeur d'activité antioxydant qui peut garantir la haute qualité nutritionnelle du miel et sa fraîcheur naturelle d'origine (Akhmazilah et al, 2013).

La lumière UV a une large action antimicrobienne, fournissant une inactivation efficace contre les virus (Eischeid et al., 2009), bactéries végétatives, spores bactériennes, levures (vicente et al., 2012).

Le potentiel d'utilisation de la lumière UV pour atteindre les objectifs de sécurité sanitaire des aliments et de qualité des aliments sous forme liquide, s'est étendue au cidre de pomme (Koutchma et al., 2004), lait (Keklik et al., 2007), et le miel (Hillegas et al, 2003).

Les systèmes UV ont été efficacement conçus et validés pour les entreprises manufacturières qui produisent du soda, des bonbons, du miel, du yaourt ...etc (Vicente et al.,2012).

Le miel contient un grand nombre de composés thermosensibles responsables de sa saveur et de certaines de ses propriétés fonctionnelles. La perte de ces composés mineurs est proportionnelle à la température et à la durée des traitements thermiques (Lado et al, 2002; Tosi et al , 2004). Notre démarche globale a pour objet de déterminer l'efficacité de l'ultraviolet pour stériliser le miel tout en évitant la perte de ses propriétés.

# **Synthèse Bibliographique**

## **I. Généralités sur le miel**

### **I.1. Définition du miel**

Selon le CODEX Alimentarius (2001), le miel est “ la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche”.

### **I.2. Origine du miel**

Les abeilles produisent le miel à partir du nectar ou de miellat

#### **I.2.1. Nectar**

c'est la source la plus naturelle, selon leur origine florale, ils peuvent être plus ou moins riches en sucres dont les principaux sont le fructose, le glucose et le saccharose (Schweitzer, 2004).

#### **I.2.2. miellats**

C'est un produit plus complexe que le nectar, résultant du parasitisme d'un végétal par des insectes piqueurs (Schweitzer, 2004).

### **I.3. Types de miel**

Chaque type a le goût que lui confère l'ensemble de la flore du terroir où le rucher est installé. Les miels peuvent être classés par espèce de plante

#### **I.3.1. Miel uni floral (mono floral)**

D'après Clément (2003), chacun de ces miels est issu du butinage prédominant d'une espèce particulière et présente des caractéristiques propres.

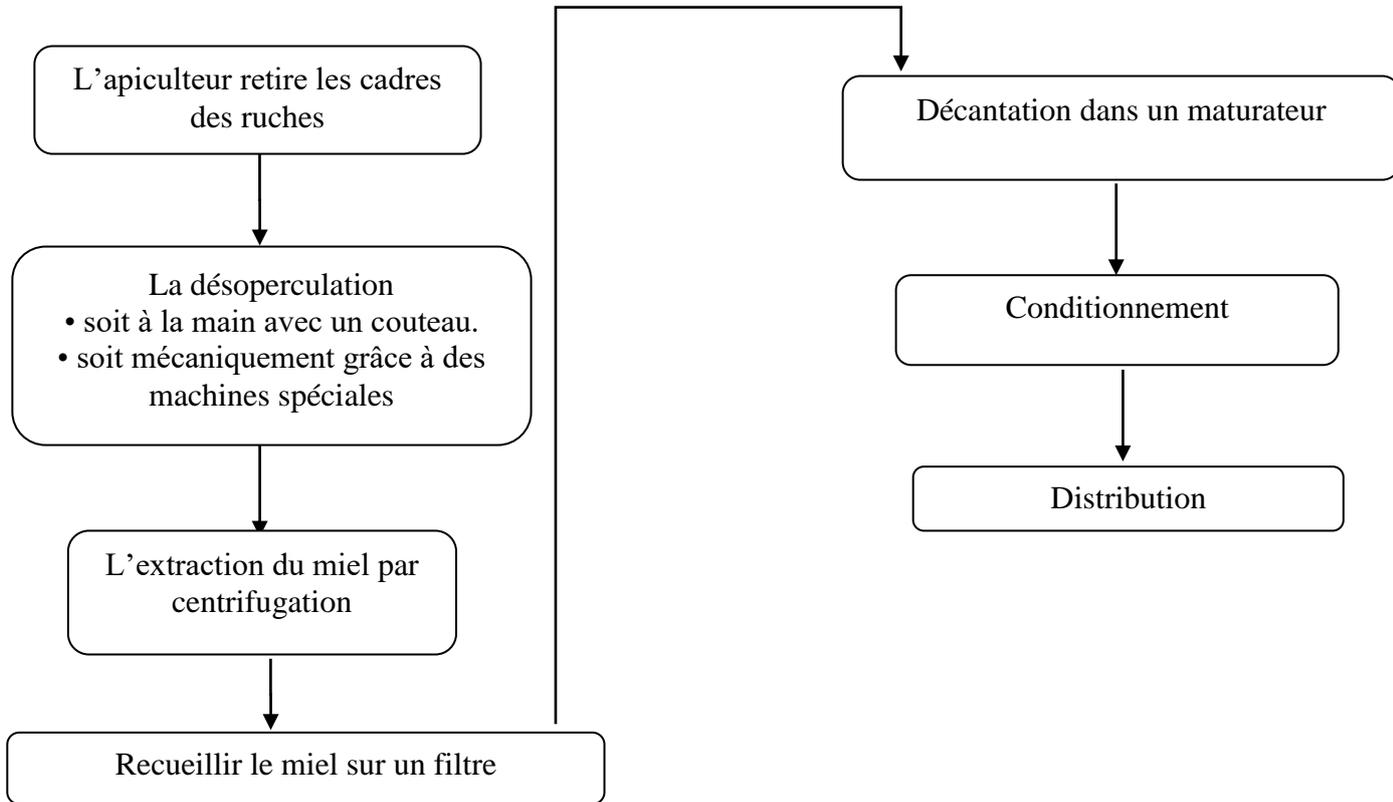
#### **I.3.2. Miel poly floral (multi-floral)**

D'après Clément (2003), ces miels élaborés à partir de plusieurs espèces de plantes ne présentent aucune dominance d'une espèce florale.

## I.4. Récolte

On procède à la récolte du miel à la fin des grandes miellées, dès que l'operculation est terminée, afin d'éviter pour certains miels, la cristallisation dans les alvéoles. En rucher sédentaire, la récolte se fait ordinairement une fois par an (Philippe, 1996)

D'après Donadieu(1978), cette récolte se pratique très schématiquement comme suit :



**Figure 1:** organigramme de la récolte du miel

## I.5. Critères physicochimiques

D'après Donadieu (1978), Le miel se présente sous l'aspect d'une substance :

\* Visqueuse.

\* De couleur variable

\*D'odeur très variable selon son origine botanique.

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

\*Il a une densité moyenne qui se situe autour de 1,42 à la température de 20°C.

\*Le miel a un indice de réfraction qui oscille entre 1,47 et 1,50 (suivant sa teneur en eau) à la température de 20°C.

## Synthèse bibliographique

---

\* Le poids spécifique du miel est en moyenne de 1,4225 à 20°C.

\*HMF : cette molécule est dérivée de la déshydratation des hexoses (monosaccharide) principalement du fructose au niveau mondial le miel ne doit pas posséder une teneur en HMF supérieure à 80mg/kg, taux maximum a été fixé à 40mg/kg dans l'union européenne (Jean-Prost ,2005).

### I.6. Composition chimique

La composition chimique du miel varie assez bien selon son origine florale. Le tableau 1 donne la composition moyenne du miel obtenu en majeure partie de l'analyse de 490 échantillons différents (White et al, 1962)

**Tableau 1** :composition moyenne des principaux constituants du miel (en %)

Eau		17.2
Sucres	Lévuiose (d-fructose) : 38,19 Dextrose (d-glucose) : 31,28 Sucrose (saccharose) : 1,31 Maltose et autres disaccharides réducteurs : 7,31 Sucres supérieurs : 1,50	79.59
Acides	gluconique, citrique, malique, succinique, formique, etc....; acides totaux calculés en acide gluconique	0.57
Protéines	acides aminés : acide glutamique, alanine, arginine, glycine, leucine, isoleucine, acide aspartique, valine, histidine et lysine.	0.26
Cendres	(minéraux : potassium, sodium, magnésium, calcium, phosphore, fer, manganèse, cuivre, etc.)	0.17
Composants mineurs	Comprenant principalement des pigments, des substances aromatiques, des alcools de sucre, des tanins, des enzymes et diastases dont l'amylase, la peroxydase, la succindeshydrogenase, la phosphatase et les invertases ; des vitamines dont la thiamine, la riboflavine, l'acide nicotinique, la vitamine K, l'acide folique, la biotine, la pyridoxine et l'acide panthothénique :	2.21

## II - Conservation et altération du miel

### II.1. Critères biologiques

Les sources de contamination peuvent être à peu près divisées en environnement et apicole. Les contaminants peuvent atteindre les matières premières des produits apicoles (nectar, miellat, pollen) par l'air, l'eau, les plantes et le sol, puis être transporté dans la ruche par les abeilles (Bogdanov, 2006).

Le miel a une très faible activité hydrique, empêchant la multiplication et, dans la plupart des cas, même la survie des bactéries. La consommation du miel peut poser un problème de santé publique à cause de la présence éventuelle des spores de *Clostridium botulinum*. Cependant, cette présence ne permet pas la production de la toxine. Dans de rares cas, le botulisme infantile a été expliqué par l'ingestion de miel (Bogdanov, 2006). Les levures souvent rencontrées dans le miel, qui est un produit de forte concentration en sucre et de faible teneur en eau, sont des levures osmophiles (Gonnet, 1982).

### II.2. Conditionnement du miel

L'oxygène de l'air est un facteur qui a un effet néfaste sur la qualité du miel. Il provoque l'oxydation des sucres qui peut se traduire avec le temps par un brunissement accéléré et une dégradation de la qualité au niveau aromatique du miel (Gonnet, 1982). L'absorption d'eau par le miel est toujours un accident grave susceptible d'entraîner des modifications physico-chimiques profondes se terminant par la fermentation du produit. Le choix du lieu de stockage des récipients et des emballages utilisés pour la conservation et le conditionnement du miel sont donc très importants (Amri, 2016).

Dans le maturateur, le miel cristallise plus ou moins rapidement, suivant la température et le type de nectar dont il est originaire. Il est préférable de procéder à la mise en futs ou en pots des miels. Ainsi ils peuvent être conservés en récipients étanches à l'air s'ils contiennent moins de 17 à 20 % (Philippe, 1996).

### II.3. Altération du miel

Parmi les nombreux facteurs influençant la qualité du miel on peut citer :

#### II.3.1 Vieillessement du miel

Selon Rossant (2011), Le miel est un produit périssable qui subit au cours du temps un grand nombre de modifications aboutissant inévitablement à la perte de ses qualités essentielles. La rapidité de la dégradation dépend de la composition du produit ainsi que des conditions de sa conservation.

#### II.3.2 Cristallisation

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 qui est un 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 (Rossant, 2011). Au-delà de 30°C, la

## Synthèse bibliographique

---

cristallisation d'un miel est arrêtée. La température optimale de cristallisation est de 14°C à une humidité de 18 % (Bruneau, 2002).

### II.3.3 Lumière

Millum (1956) indique que la lumière décolore le miel.

### II.3.4 Fermentation

Un miel parfaitement mûr et dont la teneur en eau ne dépasse pas 17% est un milieu dans lequel les micro-organismes capables de provoquer la fermentation du miel ne peuvent pas se développer, même les levures qui s'attaquent aux sucres (Polus, 2007).

### II.3.5 Température

La température qui convient à la fermentation du miel est voisine de 16°C. En dessous de 10°C et au-dessus de 26°C, cette fermentation n'est pas possible (Polus, 2007). L'action d'une température moyenne de longue durée (20 °C pendant quelques mois) a autant d'influence qu'une température plus élevée sur un laps de temps plus court (50 °C pendant quelques jours) (Polus ,2007).

### II.3.6 Teneur en eau et en levure

La teneur en eau est très corrélée au taux de levure comme le montre le tableau 2.

**Tableau 2** : Influence de la richesse en levures sur la fermentation des miels plus ou moins riches en eau selon les travaux de Lochhead (1933) cité par Chauvin (1968).

Teneur en eau du miel	Effet de la richesse en levure. Le nombre de germes de fermentation est exprimé par gramme de miel.
A moins de 17,1%	Pas de fermentation quel que soit la richesse en levures
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.
Au-dessus de 20%	Risque de fermentation dans tous les cas.

## **II.4. Techniques de conservation du miel**

### **II.4.1. Traitement thermique**

#### **II.4.1.1 Pasteurisation**

Est un traitement thermique modéré permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération. La température et la durée du traitement sont généralement réalisées à 78 C° pendant 6 minutes (Louveaux , 1964)

#### Législation

Selon le codex alimentarius (2001), le miel ne doit pas être chauffé ou transformé à un point tel que sa composition essentielle soit changée et/ou que sa qualité s'en trouve altérée.

#### **II.4.1.2 Conservation du miel par emmagasinage**

Elle est à 0°C pendant au moins 5 semaines. Ensuite, on peut entreposer le miel à température ordinaire ou de préférence à 14°C. A cette température il reste liquide et ne fermente pas pendant deux ans (Philippe, 1996)

### **II.4.2. Traitement non thermique**

#### **II.4.2.1 Ultrasons**

Le miel traité pendant moins de 5 minutes à des fréquences d'ultrasons de 18 000 Hz, à une température située entre 10°C et 37°C conserve toutes ses propriétés, il ne cristallise pas, ne fermente pas, les levures et en général tous les micro-organismes sont tués (Liebl, 1977).

#### **II.4.2.2 Irradiation Gamma**

La décontamination par irradiation gamma est un procédé qui nous permet d'obtenir une grande pureté microbiologique des miels. Selon les travaux de Migdal (2000) , les facteurs et paramètres des miels testés tels que la consistance, la teneur en eau et en saccharose, l'acidité, les valeurs de diastase et de 5-HMF n'ont pas changé de manière significative et le nombre total de bactéries et de moisissures aérobies et anaérobies diminue de 99% à la dose de 10 kGy.

#### **II.4.2.3 Effet des ultraviolets sur les microorganismes**

Le traitement UV continu est une méthode athermique, non chimique et considérée comme non ionisante (Keklik et al, 2012). Les radiations UV ont un mécanisme d'action assez similaire aux irradiations ; elles causent des ruptures au sein de la molécule d'ADN, ainsi que des dimères de pyrimidine (notamment de thymine, lésions les plus fréquemment

## Synthèse bibliographique

---

retrouvées chez les cellules végétatives (Coohill et al, 2009). Ces lésions bloquent la réplication et la transcription, compromettant les fonctions cellulaires et entraînant la mort de la cellule (Guerrero et al, 2005).

De manière générale, les bactéries à Gram- sont plus facilement détruites que les Gram+, les spores (de bactéries et moisissures) sont plus résistantes que les cellules végétatives. Les virus sont également plus résistants aux UV que les cellules bactériennes.

Les UV semblent agir en désorganisant les constituants de la surface cellulaire (le flux net de sodium et potassium) permettant à  $K^+$  de quitter la cellule en échange de  $Na^+$  (Raymond et al, 1958).

Les levures ne pouvaient vivre que de quelques secondes à quelques minutes de plus que les bactéries, à cause de la différence de taille. Les levures pigmentées sont plus résistantes que les levures blanches. Cela est dû à la résistance à la pénétration des rayons (Fred et al, 1923)

# **Partie Expérimentale**

# **Matériel et Méthodes**

# Matériel et Méthodes

---

## I. Objectif du travail

L'objectif de notre travail est de déterminer la durée et l'efficacité de l'ultraviolet comme moyen de stérilisation de certains miels exposés aux altérations microbiennes et aux risques de détérioration.

## II. Lieu et durée de travail

Notre expérimentation a eu lieu au niveau des laboratoires de Microbiologie et de département et la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université " IBN KHALDOUN " de Tiaret, et ce du 26 février 2020 jusqu'au 15 mars 2020.

## III. Matériel expérimental

### III.1. Matière première

Pour réaliser notre expérimentation, nous avons utilisé :

✓ Des échantillons de miel : miel fermenté (Mellakou) production juin 2018, miel normal de Tiaret production 2019.

### III.2. Matériels utilisés

Tout le matériel ainsi que les produits utilisés sont présentés dans le tableau 03.

**Tableau 3:** matériels, verrerie et milieux de cultures utilisés.

• Matériels	
Appareillage	2 Appareils à Ultraviolet de déférente longueur d'onde (365nm et 253,7nm). Réfractomètre pH mètre Etuve Autoclave (autocuiseur) Vortex Minuterie Bain marie
Verrerie	Béchers Boites de pétri Pipettes graduées Tubes à essais Pipettes pasteurs

## Matériel et Méthodes

Autres	<p>Bec bunsen</p> <p>Bandelettes de PH</p> <p>Etiquettes</p> <p>Poire d'aspiration</p> <p>Micropipette</p>
Produits	
Milieux de culture	<p>PCA</p> <p>YM40G</p> <p>SABOROD</p> <p>MEA</p>
MEDISANA ND 870	Tau SterilUltraviolet
<p>longueur d'onde <math>\lambda = 365\text{nm}</math></p> <p>L'appareil est utilisé pour le durcissement de matières telles que le gel, et les vernis à ongles acryliques et UV qui sont utilisés en manucure et dans le stylisme d'ongle.</p>	<p>la longueur d'onde de 2537 Å (lampe germicide). (<math>\lambda = 253.7\text{ nm}</math>).</p> <p>cette appareil efficace et pratique est parfait pour une stérilisation rapide (de 5 à 10 minutes) de matériaux non contaminés par des substances organiques donc son utilisation est appréciée dans les infirmeries d'environnements extrêmement différents, des usines.. Ect</p>
	
Additifs	<p>Solution acide lactique 88-92%</p> <p>Glucose</p>
Autres produits	<p>Eau distillée</p> <p>Eau peptone</p> <p>Eau de javel</p>

### III.3. Appareils à ultraviolet

#### III.3.1. Type des ultra-violets

Il existe trois catégories de rayonnement ultra-violet (UV) qui se distinguent par leur gamme de longueur d'onde ( $\lambda$ ).

- UV-A (315  $<\lambda<$ 400 nm) : ils sont responsables de la pigmentation de la peau et du bronzage.
- UV-B (280  $<\lambda<$ 315 nm) : ce type de rayonnement a une action biologique importante puisqu'il induit par exemple la synthèse de la vitamine D.
- UV-C (200  $<\lambda<$ 315 nm) : ces UV, de courte longueur d'onde et par conséquent les plus énergétiques, sont aussi les plus nocifs.

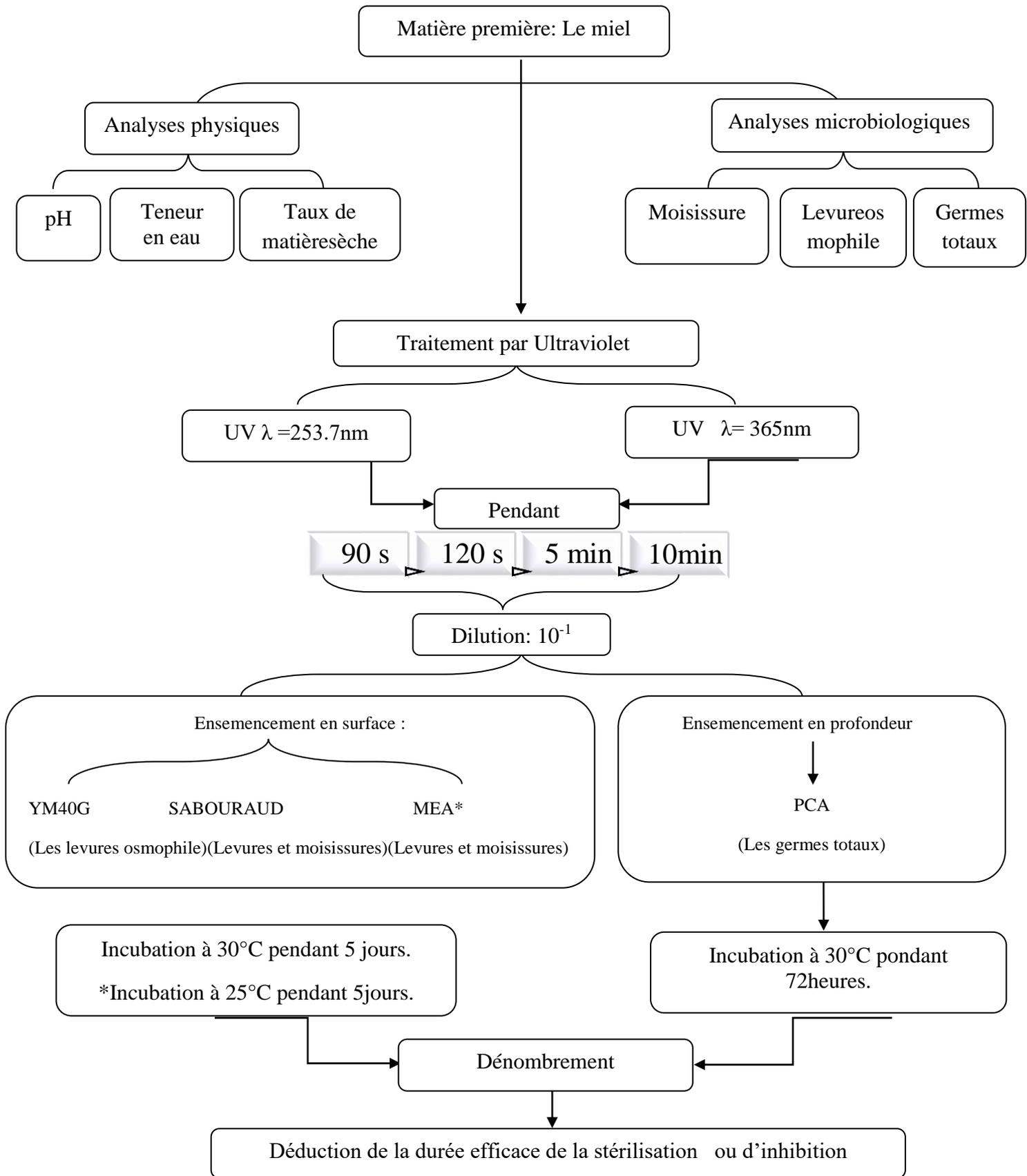
### **III.3.2. Mode d'action des rayonnent UV sur les microorganismes**

Les rayons UV-C provoquent la destruction des micro-organismes (virus, levures, bactéries, algues, moisissures et protozoaires). La dénaturation de l'ADN a pour conséquence une destruction de la cellule.

Wekhof et al (2000) ont rapporté que la moitié de la désinfection flash est causée par la seule région UV-C, bien que les UV-B et UV-A puissent également induire des changements dans les micro-organismes. Il est démontré que la lumière composée uniquement de régions UV-B et UV-A pouvait également entraîner la surchauffe et la désintégration d'un micro-organisme.

Les différentes étapes de notre expérimentation sont présentées dans le protocole expérimental (figure 2)

## Matériel et Méthodes



**Figure 2** :Schéma du protocole expérimental

### IV. Préparation des diluants

Nous avons utilisé deux diluants dans notre expérimentation composés de : eau peptonée à 0,1% additionnée de 40g du glucose et le 2<sup>ème</sup> diluant sans ajout de glucose (eau peptonée).les solution obtenues sont agitées jusqu'à homogénéisation puis stérilisées à 120°C pendant 15 min.

### V. Préparation de la solution mère (SM)

La solution mère est obtenue en mélangeant 2g de miel (miel fermenté ou miel normal) avec 18 ml de diluant (eau peptonée) pour la recherche de la flore totale et l'eau peptonée et glucosée pour la recherche des levures osmophiles et les moisissures xérophiles. Nous avons agité légèrement pour avoir des solutions mères homogènes (Ward et Trueman, 2001)



**Figure 3:** préparation de la solution mère.

### V.1. Germes recherchés et choix des milieux de culture

#### V.1.1. La flore totale

Selon Guiraud (1993), la flore aérobique mésophile est dénombrée sur le milieu PCA avec ensemencement dans la masse de la gélose de 1ml de la solution mère et 72heures d'incubation à 30°C.

Selon Guiraud(1993) et Ward et Trueman(2001), préconisent l'utilisation de milieu PCA pour la recherche de la flore mésophile totale dans le miel.

---

## Matériel et Méthodes

---

### V.1.1.1 Ensemencement et incubation

Nous avons réalisé un ensemencement en profondeur, nous avons transféré 1 ml de solution mère de chaque échantillon (miel normal et miel fermenté) dans les boîtes de pétri, puis nous avons coulé dessus le milieu PCA et Homogénéisation en gardant à la boîte de Pétri fermée en effectuant des mouvements circulaires (en dessinant des 8 sur la paillasse). Les boîtes ont été laissées refroidir sans les bouger et ont été incubées à 30 °C pendant 3 jours.

### V.1.1.2 Dénombrement des bactéries

Nous avons compté le nombre des colonies apparues à la surface des milieux. L'expression de ces résultats se fait en UFC/g de miel.

Le calcul d'UFC se fait par la loi

$$\diamond \quad \text{UFC} = \text{N} / (\text{V} * \text{F})$$

(avec : V = volume de dilution ; N = nombres de colonies ; F = facteur de dilution)

Dans notre expérimentation on a utilisé dilution  $10^{-1}$  Donc  $\text{UFC} = \text{N} \times 10$

### V.1.2. Analyse mycologique

Plusieurs milieux sont utilisés dans la recherche et l'isolement des levures et moisissures. Durant les tests préliminaires nous avons utilisé trois milieux : YM40G, SABOURAUD et MEA pour retenir que deux : YM40G et soit Sabouraud soit MEA.

#### V.1.2.1. Les levures osmophiles

Selon Ward et Trueman(2001), le milieu destiné à la culture des levures osmophiles est YM40G, l'incubation se fait à 30°C pendant 5 jours et on compte les colonies des levures qui se présentent comme de petites colonies blanches.

Selon Guiraud (1993), le dénombrement de la culture des levures et moisissures se fait sur le milieu SABOURAUD, l'incubation 30°C pendant 5 jours.

Selon le manuel Difco (1984) Le milieu MEA est recommandée pour la détection, l'isolement et le dénombrement des levures et moisissures, l'incubation 25°C pendant 5 jours.

#### V.1.2.2. Ensemencement et incubation

Nous avons coulé les milieux YM40G, Sabouraud glucosé à 4% et MEA dans des boîtes de pétri, à la surface des quels nous avons transféré 0.1ml de la solution mère glucosée de chaque échantillon (miel fermenté, miel normal). Les suspensions ont été étalées sur la

## Matériel et Méthodes

---

surface de la gélose avec un râteau stérile jusqu'à ce que la solution soit entièrement absorbée par les milieux pour les levures moisissures. Les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 5 à 7 jours.



**Figure 4:** Ensemencement sur milieux YM40G, PCA, SABOURAUD

### V.1.2.3. Dénombrement des levures et moisissures

Nous avons compté le nombre des colonies apparues à la surface des milieux. L'expression de ces résultats se fait en UFC/g de miel.

Le calcul d'UFC se fait par la loi

$$\diamond \quad \text{UFC} = \text{N} / (\text{V} * \text{F})$$

(Avec : V = volume de dilution ; N = nombres de colonies ; F = facteur de dilution)

Dans notre expérimentation nous avons utilisé dilution  $10^{-1}$

$$\text{Donc UFC} = \text{N} \times 10 \times 10$$

Les différentes analyses microbiologiques ont été effectuées avant et après traitement aux UV

### VI. Analyses physiques

#### VI.1. Teneur en eau

Selon la méthode réfractométrique de Chataway (1935) révisée par Wedmore (1955) et la commission internationale du miel (2009), La détermination de l'indice de réfraction de la prise d'essai est déterminée par réfractométrie et à température constante voisine de 20°C. Convertir les résultats obtenus en pourcentage d'eau (m/m) conformément aux indications du tableau (annexe 1).

Nos échantillons des miels sont visqueux donc il est recommandé de les placer au bain-marie pour les liquéfier et les homogénéiser avant de procéder à leurs analyses.

La détermination a été faite tout en maintenant la température de réfractomètre à 20°C grâce à un circuit d'eau qui lie l'appareil au bain marie ainsi on s'assurant que le prisme du réfractomètre est propre et sec. Directement après homogénéisation couvrir la surface du prisme par l'échantillon après 2 min lire l'indice de réfraction puis déterminer le taux d'humidité par le tableau de Chataway .

#### VI.2. pH

Selon la commission internationale du miel (2009), le pH mesuré est par un pH-mètre qui doit être étalonné à pH 3,7 ; 7,0 et 9,0 par des Solutions tampons. Dissolvez 10 g d'échantillon dans 75 ml d'eau distillé Agiter avec l'agitateur magnétique puis plonger les électrodes de pH-mètre dans la solution et enregistrer la valeur de pH.

Nous avons utilisé également des bandelettes de papier indicateur de pH pour lire les valeurs du pH.

### VII. Traitement par ultraviolet

#### VII.1. Procédé

En vue de comparer le pouvoir désinfectant de la lampe UV à différentes longueurs d'onde, nous avons utilisé deux longueurs d'onde :  $\lambda=253,7\text{nm}$  (correspondant à l'UV-C) et  $\lambda =365 \text{ nm}$  (correspondant à l'UV-A) pour traiter les deux échantillons de miel et à différentes durées d'exposition allant de 90 sec à 10 mn.

Dans une zone stérile, nous avons identifié les boites à l'aide d'un marqueur comme suit: t 90sec / t 120 sec / t 5min / t 10min.

## Matériel et Méthodes

---

Les appareils à UV utilisés ont été mis en marche pendant 10-15 min avant d'exposer les échantillons à la lumière UV et ce pour activer la lampe et donc stabiliser l'énergie produite à la longueur d'onde considérée.

16 des boîtes (8boîtes MN et 8 boîtes MF) ont subi une exposition aux UV (4boîtes pendant 90 sec, 4 boîtes pendant 120 sec, 4 boîtes pendant 5 min , 4 boîtes pendant 10 min ).L'exposition concerne les deux différentes longueurs d'onde :  $\lambda=253,7\text{nm}$  et  $\lambda=365\text{nm}$ .



**Figure 5:** exposition de miel au l'appareil d'ultraviolet ( $\lambda=253,7\text{nm}$ ).



**Figure 6:** exposition de miel au l'appareil d'ultraviolet ( $\lambda=365\text{ nm}$ ).

# **Résultats et Discussions**

## Résultats et Discussions

---

### I. Teneur en eau

Les résultats obtenus de l'analyse des échantillons du miel sont présentés dans le tableau 4.

**Tableau 4:** teneur en eau des échantillons de miel étudiés

Caractéristique	Échantillons	
	Miel fermenté	Miel normal
Indice de réfraction	1.483	1.494
Teneur en eau	21.4%	17%
Taux de matière sèche	77%	81.1%

La teneur en eau est un facteur hautement important dans l'évaluation du degré de maturité du miel et de sa durée de vie. Elle conditionne sa conservation (Terrab et al, 2002).

Le risque de fermentation est très faible pour les miels qui contiennent moins de 18% (Carvalho et al, 2009).

Selon Almasi et al. (2019) et Nanda et al. , (2003), la variation de la teneur en eau est en fonction de l'origine géographique et botanique.

La teneur en eau des échantillons de miels analysés (miel normal, miel fermenté) oscille entre 17% et 21,4%, correspondant à des indices de réfraction 1,494 et 1,483 respectivement (tableau 4).

Le résultat du miel normal répond aux normes fixées par le codex alimentarius (2002) ; cependant pour le deuxième échantillon (miel fermenté) sa teneur en eau est supérieure à la norme et concorde avec son état constaté de fermentation. Cet échantillon a été étudié par Benmoussa et al (2019) et qui ont caractérisé son état de fermentation.

### II. pH

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est la mesure des protons  $H^+$  caractérisant l'acidité d'un milieu. Les résultats de ce paramètre figurent dans le tableau 5.

## Résultats et Discussion

**Tableau 5:** pH des échantillons de miels

	<b>pH par bandelettes</b>	<b>pH-métrie</b>
<b>Miel normal</b>	<b>4</b>	<b>3.15</b>
<b>Miel fermenté</b>	<b>4</b>	<b>4.02</b>

Les résultats des échantillons présentés dans le tableau 5 montrent des pH de 3.15 et 4.02 pour le miel normal et le fermenté respectivement. Ces résultats confirment le caractère acide des miels (Nanda et al, 2003).

La mesure du pH d'un miel permet d'identifier son origine florale. Ces valeurs sont en accord avec les normes du Codex Alimentarius : pour les miels de nectar le pH varie de 3,5 à 4,5 et entre 4,5 à 5,5 pour les miels de miellat.

### III. Avant traitement aux UV

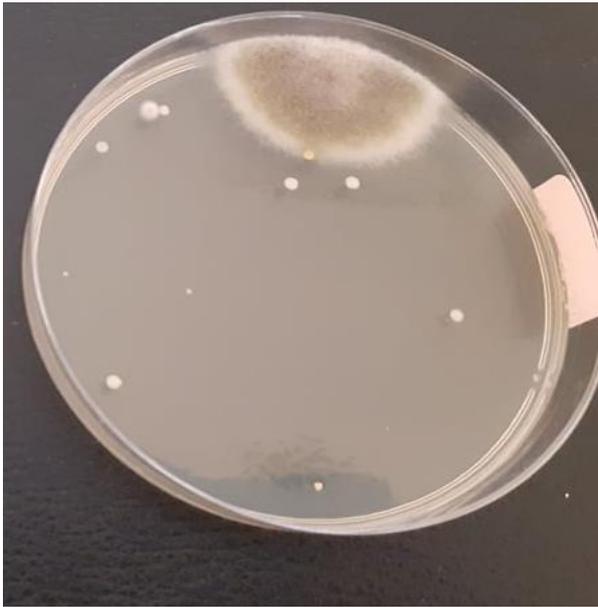
#### III.1. Analyse microbiologique

Les résultats obtenus des analyses microbiologiques sont présentés dans le tableau 6

**Tableau 6:** charges microbiennes des échantillons de miel avant exposition aux rayons UV

Milieu de culture	PCA		SABOURAUD		YM40G		MEA	
	MN	MF	MN	MF	MN	MF	MN	MF
<b>Ech</b>	<b>MN</b>	<b>MF</b>	<b>MN</b>	<b>MF</b>	<b>MN</b>	<b>MF</b>	<b>MN</b>	<b>MF</b>
<b>Flore totale</b>	<b>130</b>	<b>360</b>						
<b>Levures</b>			<b>1400</b>	<b>1600</b>	<b>0</b>	<b>69200</b>	<b>100</b>	<b>200</b>
<b>Moisissures</b>			<b>200</b>	<b>600</b>	<b>400</b>	<b>600</b>	<b>200</b>	<b>100</b>

**MN** : miel normal / **MF** : miel fermenté



**Figure 8:** aspect macroscopique de MN sur le milieu Sabouraud.



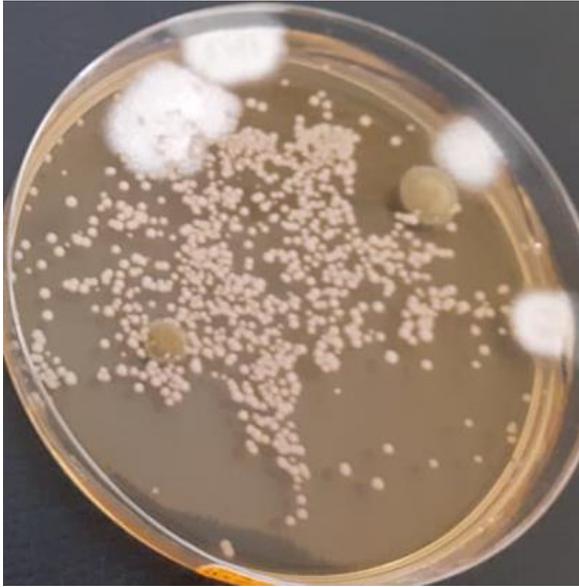
**Figure 7:** aspect macroscopique de MF sur le milieu Sabouraud.



**Figure 10:** aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA.



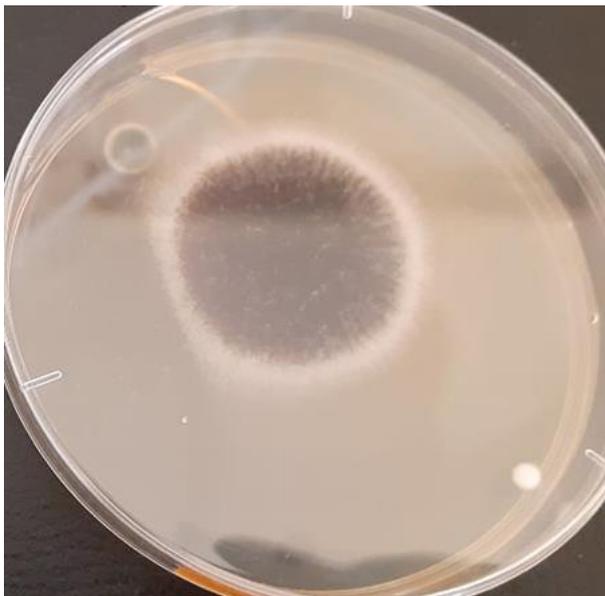
**Figure 9:** aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA.



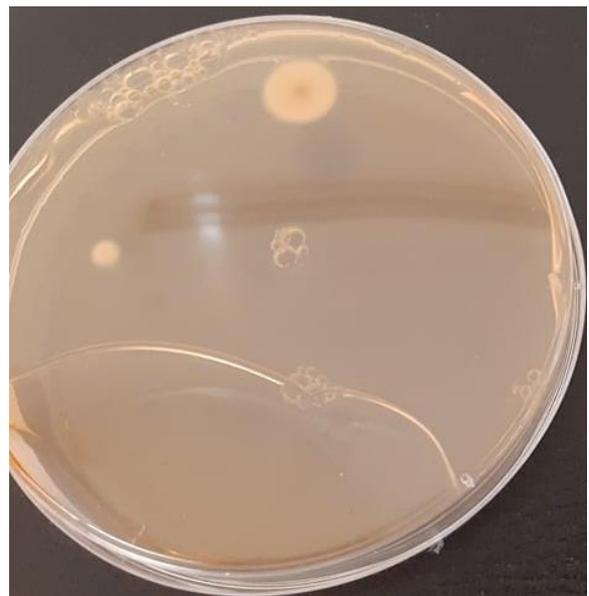
**Figure 12:** aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G.



**Figure 11:** aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G



**Figure 14:** aspect macroscopique de MN sur le milieu MEA



**Figure 13 :** aspect macroscopique de MF sur le milieu MEA

### **III.1.1.Flores mésophile totale (germes totaux)**

Selon Assie (2004), La flore mésophile totale concerne des bactéries se multipliant entre 30 et 38°C. Elles peuvent être pathogènes ou banales pour le consommateur.

D'après le codex alimentarius de la slovaquie (Kunova et al. 2015), Les spores bactériennes se retrouvent régulièrement dans le miel.

D'après Snowdon (1996), le dénombrement des colonies de coliformes est un indicateur de qualité de miel, dont la présence dans le miel apporte la preuve d'une contamination ou l'altération (Collins et al. 1999).

Le nombre maximal de la flore mésophile totale fixé dans le miel est de 100 UFC/g (Snowdon ,1996). Pour Fléché et al (1997), un miel de qualité supérieure ne doit pas dépasser 500 UFC/g. D'autres considèrent que jusqu'à un million par gramme ne reflète pas une mauvaise qualité

D'après le dénombrement que nous avons effectué sur le milieu PCA, les valeurs obtenues sont acceptables et répondent aux normes internationales et aux normes de la plupart des grands producteurs et exportateurs de miel. Le miel fermenté a une charge plus élevée que celle du miel non fermenté.

### **III.2.Analyse mycologique**

Pour une bonne conservation de miel le nombre de levure et de champignons ne doit pas dépasser une valeur de 100UFC /g, seuil maximal autorisé par la réglementation Mercosur (Finola et al. 2007) et le codex alimentarius de la slovaquie (Kunova et al, 2015). Le nombre des levures que nous avons dénombré dans le miel fermenté est supérieur à la norme (> 100 UFC/g), d'autre part, la présence des levures dans le miel normal était à faible niveau. Les microorganismes préoccupants dans le miel sont les champignons et les levures. Ils sont responsables de la fermentation du miel dont l'humidité de miel est élevée (c'est-à-dire supérieure à 21%) selon les normes du codex alimentarius de la Slovaquie et le mercosure (Kunova et al, 2015 ; Finola et al, 2007).

## Résultats et Discussion

### IV. Après stérilisation

Pour réduire le nombre de colonie, nous avons utilisé une méthode de stérilisation par exposition des échantillons de miel à deux longueurs d'onde d'ultraviolet. Les résultats sont présentés dans les tableaux 7 et 8.

**Tableau 7:** Dénombrement de la flore totale, levures et moisissures après exposition de 90 sec.

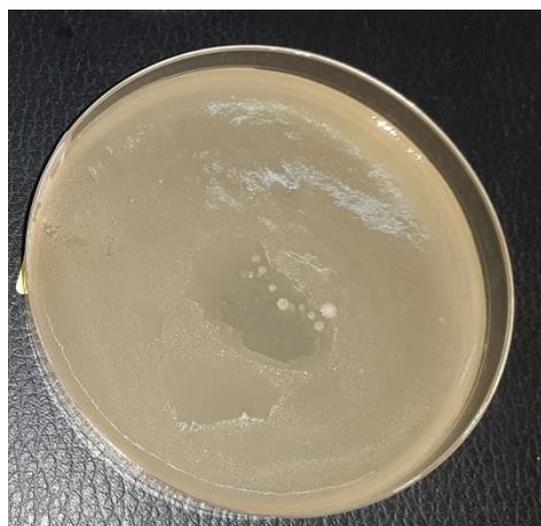
#### Pour Exposition de 90 Secondes

Milieu de culture	PCA				SABOURAUD				YM40G			
	MN		MF		MN		MF		MN		MF	
L'appareil	$\lambda = 365\text{nm}$	$\lambda = 253.7\text{nm}$										
Flore totale	INC	INC	INC	INC								
Levures					INC	INC	INC	INC	1610	130	00	60
Moisissures					INC	INC	INC	INC	00	30	20	00

INC :incomptable



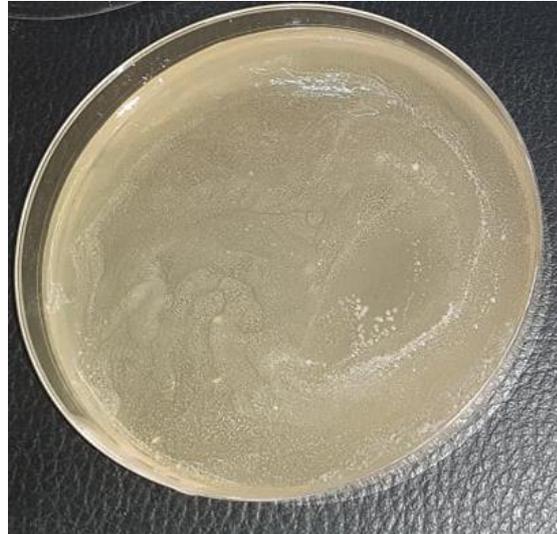
**Figure16:**aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (90sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 15:**aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (90sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 18:** aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (90sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$



**Figure 17:** aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (90sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$



**Figure 19:** aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 20:** aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 22:** aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$



**Figure 21:** aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (90sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$

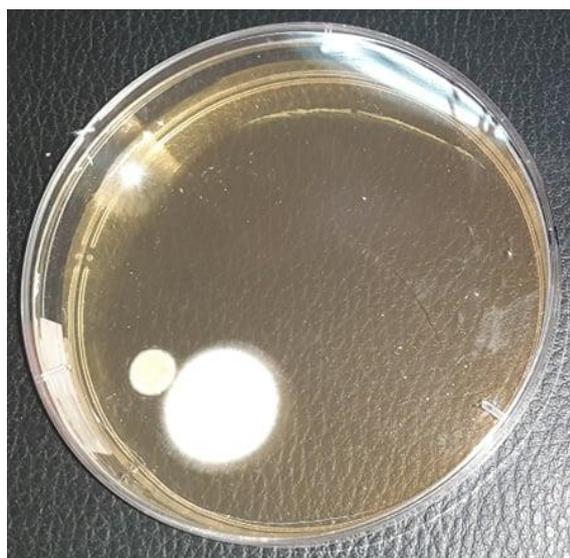


**Figure 23:** aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition (90s)  $\lambda = 365\text{nm}$

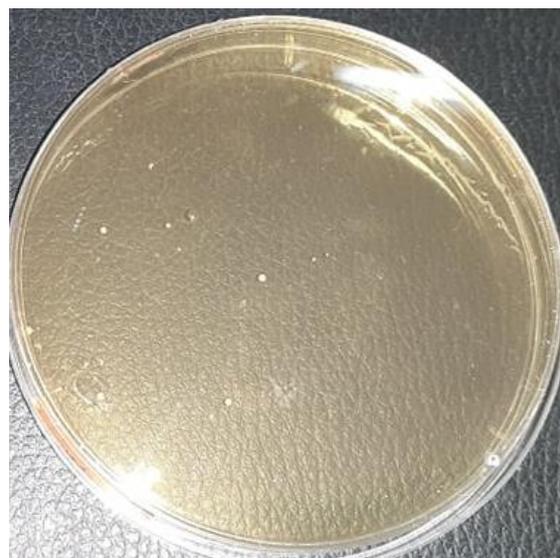


**Figure 24:** aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition (90s)  $\lambda = 365\text{nm}$

## Résultats et Discussion



**Figure 26:** aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition(90sec)  $\lambda = 253.7 \text{ nm}$

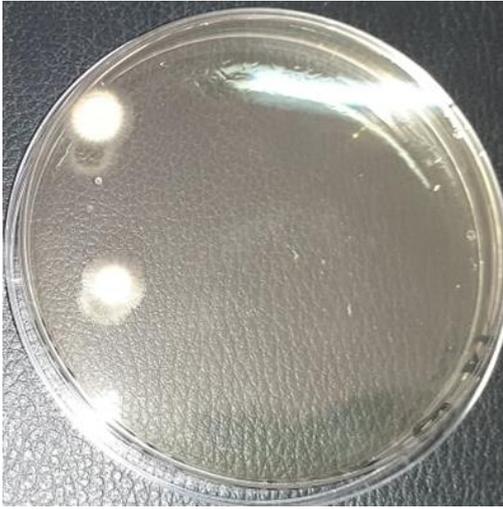


**Figure 25:** aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition(90sec)  $\lambda = 253.7 \text{ nm}$

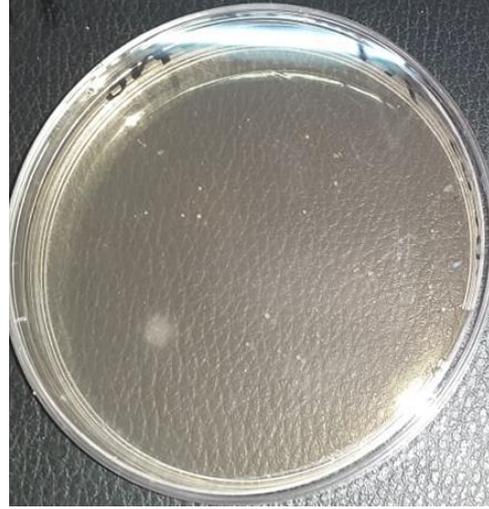
**Tableau 8:** Dénombrement de la flore total, levures et moisissures après l'exposition de 120 sec.

Pour exposition de 120 Secondes												
Milieu de culture	PCA				SABOURAUD				YM40G			
Solution mère	MN		MF		MN		MF		MN		MF	
L'appareil	$\lambda = 365\text{nm}$	$\lambda = 253.7 \text{ nm}$	$\lambda = 365\text{nm}$	$\lambda = 253.7 \text{ nm}$	$\lambda = 365\text{nm}$	$\lambda = 253.7 \text{ nm}$	$\lambda = 365\text{nm}$	$\lambda = 253.7 \text{ nm}$	$\lambda = 365\text{nm}$	$\lambda = 253.7 \text{ nm}$	$\lambda = 365\text{nm}$	$\lambda = 253.7 \text{ nm}$
Flore totale	INC	INC	INC	INC								
Levures					INC	INC	INC	INC	200	10500	2700	32800
Moisissures					/	/	/	/	100	/	100	100

INC :incomptable



**Figure 27:** aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition(120sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 28:** aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition(120sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



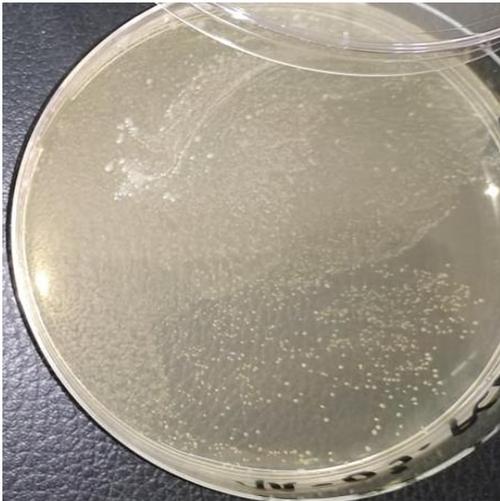
**Figure 30:** aspect macroscopique de MF sur le milieu YM40G après exposition (120sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$



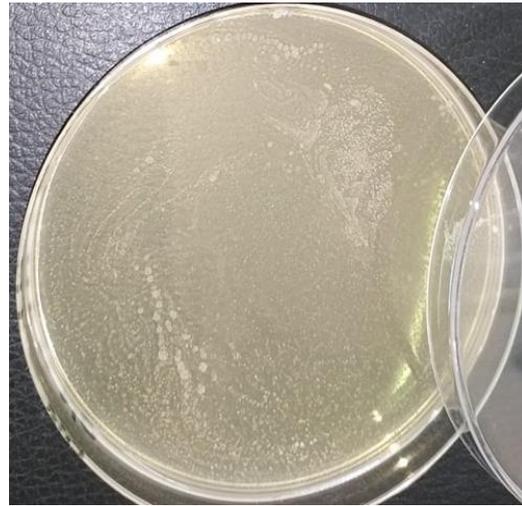
**Figure 29:** aspect macroscopique de MN sur le milieu YM40G après exposition (120sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$

## Résultats et Discussion

---



**Figure 31:** aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (120sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



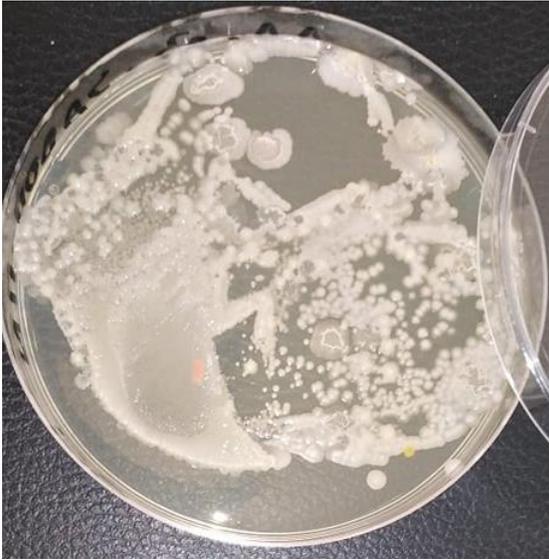
**Figure 32:** aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (120sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 33 :** aspect macroscopique de MN sur le milieu PCA après exposition (120sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$



**Figure 34 :** aspect macroscopique de MF sur le milieu PCA après exposition (120sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$



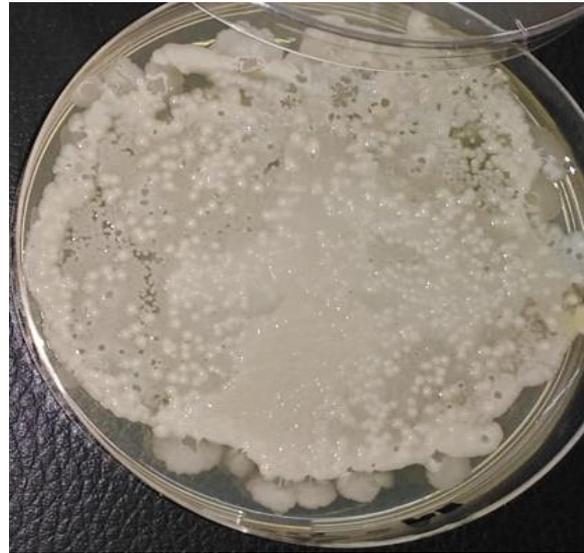
**Figure 36:** aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 35 :** aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec)  $\lambda = 365\text{nm}$



**Figure 37:** aspect macroscopique de MN sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$



**Figure 38:** aspect macroscopique de MF sur le milieu SABOURAUD après exposition (120sec)  $\lambda = 253.7\text{nm}$

## Résultats et Discussion

---

Après exposition des échantillons de miel aux rayonnements ultraviolets les résultats obtenus sont incomplets pour les deux durées (90 secs et 120 secs) ; concernant les résultats pour les durées d'exposition de 5min et 10 min, nous n'avons pas eu l'occasion de les réaliser à cause de la situation du Covid-19 qui a conduit à la fermeture des universités dont le dernier accès au laboratoire a eu lieu le 15 mars 2020.

D'après les résultats présentés dans les tableaux 7 et 8 en comparaison avec les résultats du tableau 6(témoin) nous avons constaté une augmentation de la charge microbienne du miel normal sur tous les milieux de culture. Par contre, pour le miel fermenté nous avons observé une augmentation bactérienne sur le milieu PCA et levurienne sur le milieu SABOURAUD, et une réduction du nombre de colonies sur le milieu YM40G (la figure 40 et 41) qui est spécifique aux levures osmophiles et peut être pour les moisissures xérophiles.

Nicodim et al. (2014), ont démontré que le traitement par ultraviolet diminue l'activité antimicrobienne ce qui signifie la croissance des bactéries et des levures

Selon Snowdon et Cliver(1996), le miel contient un nombre élevé de bactéries végétatives qui pourrait indiquer une contamination récente d'une source secondaire, d'autres germes sont également susceptibles de se trouver dans le miel (*Actinobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Micrococcus* et *Vagococcus*) ; ces bactéries couramment présentes dans le sol, l'air et la poussière.

Le nombre des levures dénombrées sur le milieu YM40G correspond aux levures osmophiles. Selon Hijen et al. (2006) les bactéries et les spores bactériennes étant plus résistantes aux UV, les causes de résistance aux ultraviolets sont multiples ; l'un d'eux la réparation : les microorganismes peuvent garder les fonctions métaboliques telles que l'activité enzymatique après l'exposition aux ultraviolets.

Nous avons noté une augmentation des bactéries présentées dans le tableau 7 et 8. Ces résultats sont identiques aux résultats des travaux de Ben Said et al, (2011) montrant qu'il y' a des souches bactériennes qui pouvaient surmonter les dégâts induits par l'UV.

L'inactivation des bactéries est essentiellement liée à l'absorption des UV par l'ADN et à la dépolymérisation des bases pyrimidiques résultantes (figure 39). Ces dimères de thymine dénaturent la conformation de la double hélice et interfèrent sur le déroulement normal de la réplication cellulaire, suite à l'exposition aux UV, les altérations cellulaires peuvent au

## Résultats et Discussion

---

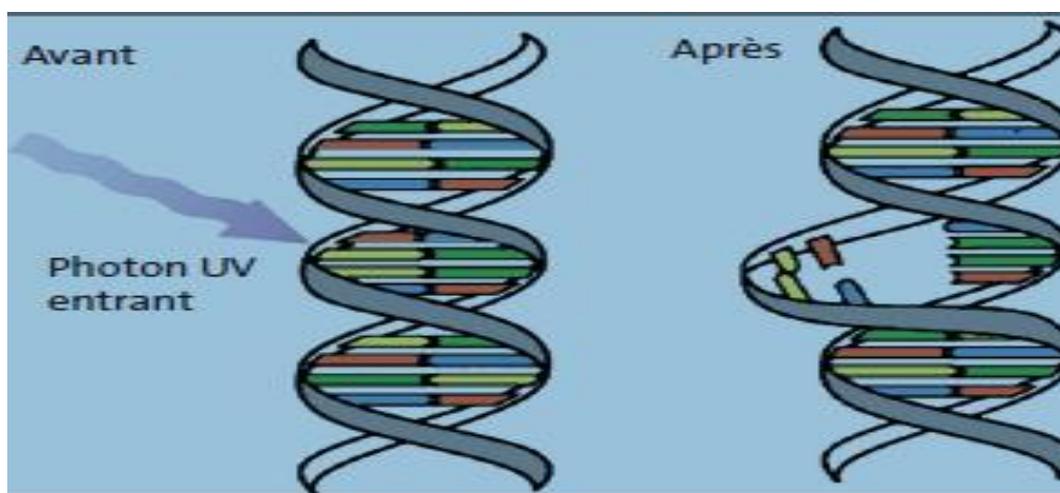
niveau d'ADN altéré, être réparées : ce phénomène est appelé photo réactivation (Attal, 2013).

De plus, nous pouvons déduire que le temps d'exposition requis pour inactiver 99,99 % de la densité bactérienne, diminue en cas d'utilisation d'une lampe UV alimentée à haute fréquence (Ben Said. et al., 2011).

Selon Attal(2013) les acides nucléiques absorbent de manière intense les UV avec un pic autour de 260 nm, ce qui correspond au spectre d'absorption UV pour les bactéries. En effet, pour la plupart des espèces, l'effet bactéricide est maximum pour une longueur d'onde de 253,7 nm

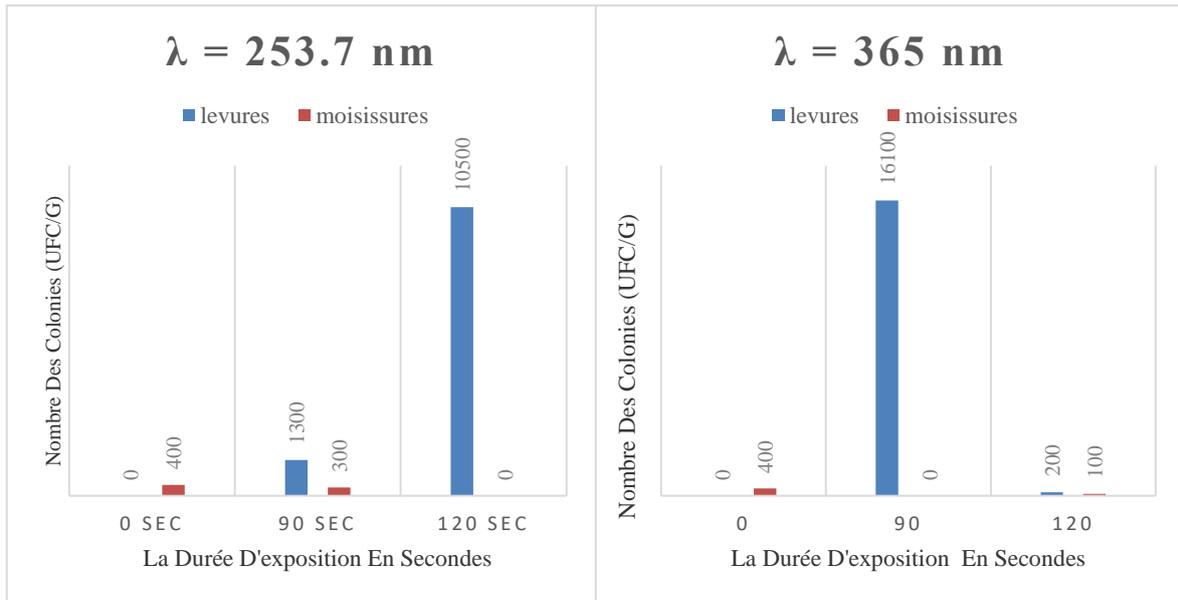
Selon Chevremont et al(2012), les UV –A sont responsables de la perturbation oxydative des bactéries membranes en produisant des espèces actives et aussi des ARNtphoto-endommages, ce qui ralentit considérablement la synthèse des protéines.

Le rayonnement UVA cause des dommages à l'ADN par le biais de mécanismes de type I et types II. Le mécanisme de type I, dans le transfert d'électron, ne nécessite pas d'oxygène. Les mécanismes de type II ne fonctionnent qu'en présence d'oxygène. De ces mécanismes dépendent les propriétés chimiques des microorganismes (Thiele et al.,2001).

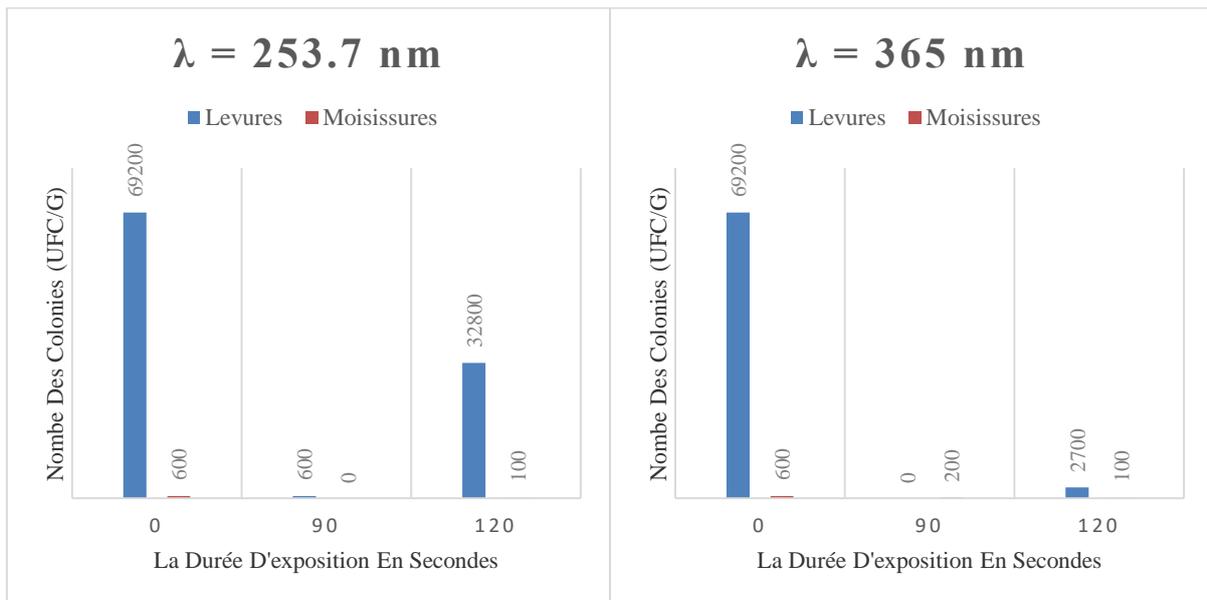


**Figure 39:** schéma montrant la structure de l'ADN avant et après absorption de photon UV.

## Résultats et Discussion



**Figure 40:** dénombrement des levures et moisissure du miel normal après exposition aux UV.



**Figure 41:** Dénombrement des levures et moisissures de miel fermenté après exposition aux UV.

Morgan (1989) rapporte que les UV ne sont pas, ou peu efficaces sur les levures, dès qu'elles ont commencé à se développer.

# Conclusion

## Conclusion

---

Le miel est un aliment naturel, accessible et noble mais qui risque d'être contaminé ou altéré il est préférable d'utiliser des moyens pour les conserver. La composition et la qualité du miel dépendant aussi de plusieurs facteurs environnementaux, de la maturité du miel, le mode de production, le traitement et les conditions climatiques de stockage.

Les méthodes chimiques de stérilisation ne sont pas autorisées dans la conservation de plusieurs aliments par exemple : le miel, l'huile d'olive vierge et l'eau minérale.

D'autre part les traitements thermiques avoir un impact sur certains paramètres en particulier sur l'augmentation du taux d' HMF qui est un critère de qualité du miel et dont dépend la validité de consommation ou de péremption.

Dans ce travail nous avons testé une méthode physique de traitement par ultraviolet ; les résultats obtenus varient en fonction du type de germes. Pour les bactéries, nous avons constaté une augmentation après exposition aux UV ; cependant pour les levures et moisissures obtenues sur le milieu usuel YM40G nous avons constaté une réduction du nombre de germes.

Dans notre protocole expérimental, il était question de réaliser des traitements pour des durées d'exposition de 5 et 10 min voire plus pour atteindre la durée minimale efficace ou de stérilisation. Malheureusement la situation de COVID -19 ne nous a pas permis de réaliser cette partie. Pour ces raisons, nous recommandons de faire une continuité de ce travail afin d'atteindre probablement la durée minimale d'exposition en fonction de la longueur d'onde permettant de stériliser le miel et d'étudier l'impact de ceci sur les paramètres de qualité du miel.

# **Références Bibliographiques**

## References Bibliographiques

---

- ✚ **Akhmazilah N.F** , **Farid. M.M** , **Silva F. V. M.**, 2014.High-Pressure Processing of ManukaHoney: Improvement of Antioxidant Activity, Preservation of Colour and Flow Behaviour.. 2299-2307 p
- ✚ **Akhmazillah.M.F.N** ,**Farid. M.M**, **Silva. F.V.M.**, 2013.High pressure processing (HPP) of honey for the improvement of nutritional value. 59 – 63 p
- ✚ **Almasi, R., Sekarappa, B.** 2019, Analyse du miel unifloral et multifloral pour les propriétés physico-chimiques dans le Karnataka méridional, en Inde. Int J récente SciRes. 10 (05) : 32469-32473 p
- ✚ **Amri A .,** 2016. contribution à l'étude approfondie de quelques miels produits en Algérie : aspect physico –chimique et botanique .thèse : biochimie appliquée en agroalimentaire et santé .université baji mokhtar –ANNABA.170 P
- ✚ **Anand, J., Sun, Y., Zhao Y., Nitiss, K.C., Nitiss J.L.** 2018. Detection of Topoisomerase Covalent Complexes in Eukaryotic Cells. Méthodes Mol Bio. 283-299
- ✚ **ASSIE B.,** 2004. le miel comme agent cicatrisant .thèse : pour le diplôme d'état de docteur en médecine. faculté de médecine, université toulouse III – paulsabatie 115P.
- ✚ **Attal F.S.** ,2013.Innactivation par rayonnements ultraviolets de Staphylococcus aureus (ATCC 6538), Escherichia coli (ATCC 25922) et Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027) inoculés dans du lait écrémé .Alimentation et Nutrition .Magister : sciences Agronomique. Ecole National Supérieure Agronomique El –Harrach – Alger.96 P
- ✚ **Ben moussa N. Bounedjar W. Bouzid W.** ,2019. Essai de détection de la fermentation des miels. Mémoire master microbiologie appliquée. Fac SNV, Univ Tiaret. 70 p
- ✚ **Ben Said M, Mounir Ben Mustapha, DhekraTrabelsi, Abdennaceur Hassen et ChamamAbdeljellil.,** 2011. Impact du mode d'alimentation électronique d'une lampe UV-C sur le processus de désinfection des eaux.11 (07-09).
- ✚ **Bogdanov S .** 2006. Contaminants of bee products.19 (06) p.
- ✚ **Bruneau E.** ,2002 .Les produits de la ruche. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica, 354-384p
- ✚ **Chevremont .A-C,Farnet .A-M , Coulomb .B , Boudenne. J-L.,** 2012. Effect of coupled UV-A and UV-C LEDs on bothmicrobiological and chemical pollution of urbanwastewaters .pp304–310

## References Bibliographiques

---

- ✚ **Cimpoiu C., Hosu A., Miclaus V. and Puscas A., 2012.** Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 149–154 P.
- ✚ **Clément H., 2003.** créer son rucher .2eme édition, Rustica/FLER, Paris, France ,91/112p.
- ✚ **Collins, C.H., Lyne , P.M., Grange, J .M. 1999.** Collins and Lyne's
- ✚ **Commission Du Codex Alimentarius., 2001 .** Programme Mixte FAO/OMS Sur Les Normes Alimentaires.35(4,22) :0-31p.
- ✚ **Commission du codex alimentarius., 2009.** Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires.64(35,38)p.
- ✚ **Commission international du miel, 2009.** Harmonised methods of the international honey commission. 63 p
- ✚ **Coohill, T. P. & Sagripanti, J. L. 2009.** Bacterial inactivation by solar ultraviolet Radiation compared with sensitivity to 254 nm radiation. *Photochemistry and Photobiology* 85, 1043-1052.
- ✚ **Costerton, J.W, Lewandowski, Z, Caldwell, D.E, Korber D.R., et Lappin-Scott, H.M. ,1995** Microbial Biofilms *Annu Rev Microbial.* 711-745
- ✚ **Davaux DATE** Stérilisation à froid du vin et du mout par les rayons ultra-violet disponible sur le site : <https://www.vignevin-occitanie.com/fiches-pratiques/sterilisation-a-froid-du-vin-et-du-mout-par-les-rayons-ultra-violets-uv/> .
- ✚ **Difco Dehydrated cultur Media et Reagents for microbiologie. , 1984.** 10eme édition .1155(555,565) p.
- ✚ **Donadieu Y. 1978.** Thérapeutique naturelle .2eme édition, revue et complété, paris, France ,8,20/36p
- ✚ **Finola M. S., Lasagno M. C., Marioli J. M., 2007.** Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina.1649-1653p
- ✚ **Flèche M, Clément C, Zeggane S, Faucon JP., 1997.** Contamination des produits de la ruche et risque pour la santé humaine. situation en France. *Rev SCI TECH INT Epiz.* . 609–12.
- ✚ **Fred W. Tanner and Earl Ryder., 1923.** Action of Ultraviolet Light on Yeast-Like Fungi. II. *Botanical Gazette, Vol. 75, No. 3. (316)* 309-317p.
- ✚ **Gonnet M, Lavie P ,Louveau J., 1964.** la pasteurisation de miel .29(21)P.

## References Bibliographiques

---

- ✚ **Gonnet, M., 1982.**le miel, composition, propriétés et conservation. INRA Station expérimentale d'apiculture. p : 1-18
- ✚ **Guerrero.B.n, J.A., Barbosa-Ca´novas, G.V., 2005.** Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in applejuice by ultraviolet light. *J. Food Proc. Eng.* 28, 437452.
- ✚ **Guiraud J.P, 1993.**Microbiologie alimentaire.651 (351, 438,439) p.
- ✚ **Hijen W.A., Beeredonk E.F., Medema G.J., 2006.** innactivationcredit of uv radiation for viruses ,bacteria and protozon (00) cysts in water : A review . *Water research*, n40 .3-22 P
- ✚ **Jean-Prost P., Medori PA. 2005.** Apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher : EditionsTec& Doc. Paris - 7e édition revue et complétée, par Yves Le Conte, 698 p.
- ✚ **Keklik.N.M ,Krishnamurthy.K , Demirci .A .,2012.**Microbialdecontamination of food by ultraviolet (UV) and pulsed UV light .344-369p
- ✚ **Kunová S., Kačániová M., Haščík P., Čuboň J., 2015.** Microbiological and Chemicalquality of slovak and europeanhone, *J MicrobiolBiotech Food Sci.*, (Special issue 1). 41-44p
- ✚ **Lado, B. H., & Yousef, A. E. (2002).** Alternative food-preservation technologies: Efficacy and mechanisms. *Microbes and Infection*, 4(4), 433–440.
- ✚ **Levy C., 2010.**Principaux facteurs influençant l'efficacité de la lumière pulsée pour la décontamination des microorganismes pathogènes et d'altération des denrées alimentaires .thèse : pour obtenir le titre de Docteur de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse : Biotechnologie, Microbiologie.192 P
- ✚ **Liebl David Edmund., 1977.**Method of preserving honey.65p
- ✚ **Liu J.R., Ye Y.L., Lin T.Y., Wang Y.W. and Peng C.C., 2013.** Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory. 938–943P
- ✚ **Lochhead A.G., 1933.** Factors concerned with the fermentation of honey.
- ✚ **Migdal. W, Owczarczyka. H.B, Kedzia .B, E.holderna-Kedzia ,Madajczyk .,2000.** Microbiologicaldecontamination of naturallhoney by irradiation .285-288 p
- ✚ **Milum,V. G. ,1956.** Proc. 10th Int. Congr. Entomol. 4, 1085–1088. IN:frumhoffpeter, c. et baker j. agenetic component to division of labourwithinhoneybee colonies. *Nature* .1988 . 358 – 361p
- ✚ **Monia H., 2020.** Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florales. thèse :pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Production et Biotechnologie Animales. faculté

## References Bibliographiques

---

des Sciences de la Nature et de la Vie université abdelhamid ibn badismostaganem  
253 p

- ✚ **Morgan R: UV «green» light disinfection. Dairy Ind. Int., 1989, 54, 33-35**
- ✚ **Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H., Suzuki, N., 2001.** Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. Food Chemistry, 237–240P
- ✚ **Nandaa .V, Sarkara B.C, Sharmaa H.K, Bawab A.S., 2003.** Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. 613- 619 p
- ✚ **Nicodim I. F, Otilia .B ,Octavain .N ., 2014.** Assessment of the Antimicrobial Effect of Honey, Treated By Heat and Ultraviolet Radiation. 448 -455 p
- ✚ **Olaitan, P.B., Adeleke O.E., Ola, L.O., 2007.** Honey a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. African Health Science. 159-165p.
- ✚ **Ouchemoukh, S., 2012.** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Bejaia. 90 P
- ✚ **Philippe .M. 1988.** Miels, miellats, miellées. In: Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 35<sup>e</sup> année, pp. 121-146 ;
- ✚ **Philippe J. M ., 1996.** Le guide d'apiculteur .édition de la lesse, Aix-en-provence ,France, 213, 256, 262, 264, 286, 347p .
- ✚ **Pittaya C .N ,Varongsiri K. B, Arunee A., 2016 .** Effects of conventional and ultrasound treatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern Thailand. Food Bioscience. 19-26P
- ✚ **Polus., 2007** récolté et conditionnement du miel. consulter le site : <https://www.apiservices.biz/fr/articles/401-recolte-et-conditionnement-du-miel-2007>
- ✚ **Raymond T. Sanders, Arthur C. Gies., 1958.** The Effect of Ultraviolet Light on the Sodium and Potassium Composition of Resting Yeast Cells. 589-607P
- ✚ **Roig-Saguésa A.X, Gervillab.R ,Pixnera .S , Terán-Peñafiel T, M.M. Hernández-Herreroa., 2018.** Bactericidal effect of ultraviolet-C treatments applied to honey. 566–571p
- ✚ **ROSSANT .A., 2011.** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes .thèse : pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Faculté de Pharmacie, Université de Limoges, France. 136 P

## References Bibliographiques

---

- ✚ **Schweiter. p., 2004** : nectar, miellat, pollen et environnement. Disponible sur : <https://www.apiservices.biz/fr/articles/375-nectar-miellat-pollen-et-environnement-2004> .
- ✚ **Snowdon .Jill A and Cliver .Dean O . , 1996**. Microorganisms in honey. 26 P
- ✚ **Terrab A, Maria J, Francisco J. Heredia. . , 2002**Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics .pp 373–379
- ✚ **Thiele .J etElsner .P . , 2001**.Oxidants and Antioxidants in Cutaneous biology .vol 29.pp 74-82.
- ✚ **Tosi, E. A., Ré, E., Lucero, H., &Bulacio, L. (2004)**. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. Lwt.foodscience and technology 669-678
- ✚ **Vicente M. Gomez-Lopez, Tatiana Koutchma and Karl Linden., 2012**. Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. 185-223p
- ✚ **Ward .WH et Trueman .KF . , 2001**. A Quality Survey of Australian Honeys.41p
- ✚ **WedmoreEB . ,1955**. Bee World, 36, 197
- ✚ **wekhof A., 2000**. ‘Disinfection with flash lamps’, PDA J Pharm SciTechnol, 54(3),264–276
- ✚ **White J.W 1962**. Composition of American honey. Techno. Bull. p.126

# **Annexes**

## Annexe 1

---

Table de CHATAWAY (1935).

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

## Annexe 2

---

### Composition des milieux de culture

#### Le milieu YM40G

Glucose.....	540g
Extrait de levure.....	5g
Extrait de Malt.....	20g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.

#### Le milieu Sabouraud 4% Glucose Agar.

sabouraud glucosé à 4% en poudre.....	65g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.

#### Le milieu PCA

PCA en poudre .....	26.5g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.

#### Le milieu MEA

MEA en poudre.....	50g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclavage à 115°C pendant 10 minutes.

On ajoute 2ml d'acide lactique à 10% par un filtre stérile jusqu'à un pH final 3.5.

## Annexe 2

---

### Préparation des solutions

#### ✚ Eau peptone

Eau peptone en poudre.....75g

Eau distillée.....1000ml

Autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.

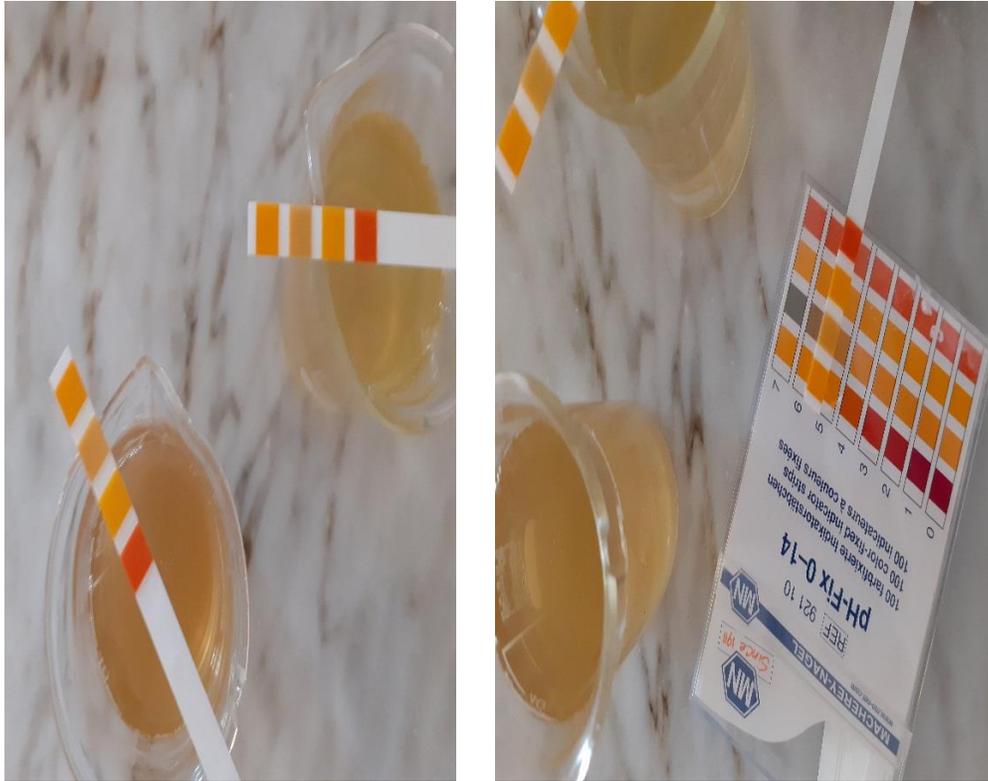
#### ✚ Eau peptonée 40% glucose

Eau peptonée en poudre .....75g

Glucose ..... 40g

Eau distillée .....100ml

## Annexe 3



**Figure 01** : Test du pH de deux échantillons miel fermenté et normal avec les bandelettes du pH.



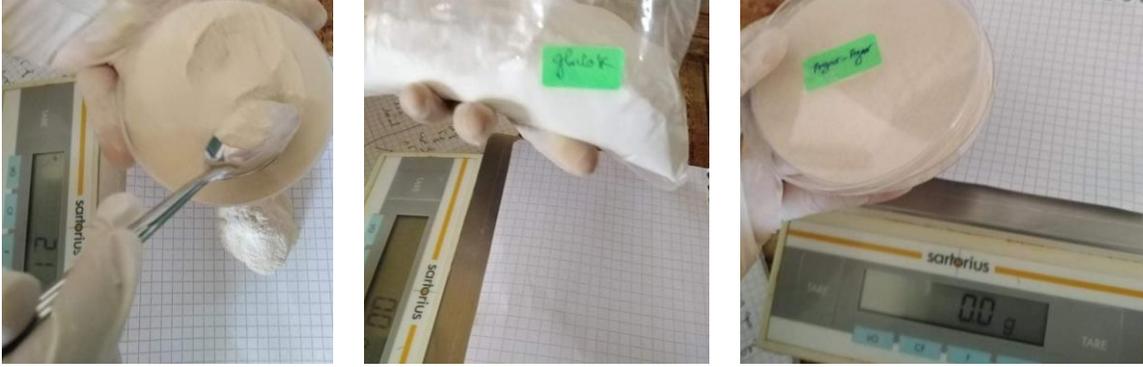
**Figure 02** : mesure le pH du miel fermenté et miel normal avec pH mètre .

## Annexe 3

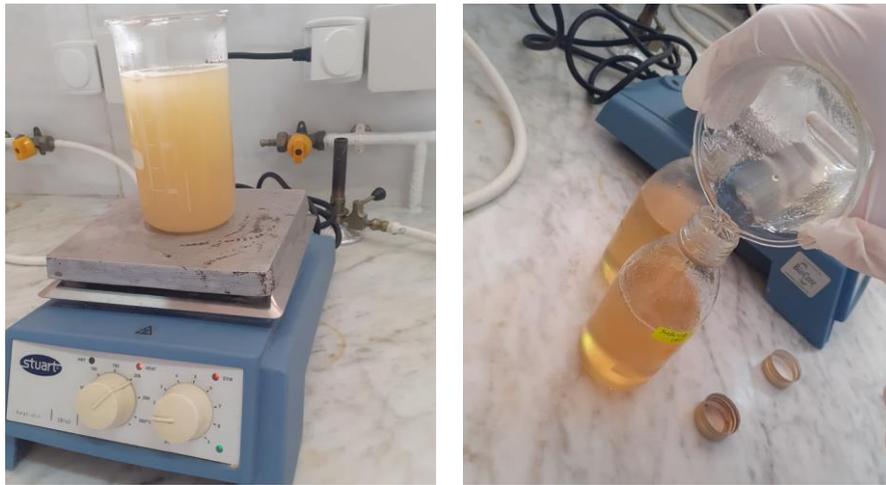


**Figure 03** : détermination de l'indice de réfraction du miel fermenté et miel normal.

## Annexe 3



**Figure 04** : La pèse des compositions des milieux de culture avec la balance.



**Figure 05** : agitation des milieux avec agitateur magnétique.

## Annexe 3

---



**Figure 06** : la pèse des échantillons du miel

## ملخص

العسل هو منتج طبيعي رافق البشر منذ العصور القديمة ، فهو يعطي العديد من الخصائص المفيدة للصحة. يتغير بمرور الوقت ويخضع لتعديلات تؤدي بالضرورة إلى فقدان صفاته الأساسية ؛ يعود سبب سرعة فساد العسل الى مكوناته وظروف تخزينه .

الغرض من دراستنا هو تحديد مدة وفعالية الأشعة فوق البنفسجية كوسيلة لتعقيم العسل.

أجرينا تحاليل فيزيائية و ميكروبيولوجية (بكتريولوجية وميكولوجية) على عينتي عسل متخمّر وعسل عادي مأخوذة من منطقة تيارت بحيث تم تعريضهما للموجات فوق البنفسجية  $\lambda = 253.7$  نانومتر و 365 نانومتر لفترات 90 t ثانية ، 120 ثانية 5 دقائق / 10 دقائق (لم يتم تحقيق هاتين الفترتين الأخيرتين بسبب حالة covid-19) .

أظهرت النتائج نمو البكتيريا على PCA والخميرة في وسط SABOURAD ، كما لاحظنا انخفاضًا في الخمائر المحبة للسكر في وسط YM40G .

**الكلمات المفتاحية:**

أشعة فوق بنفسجية, تعقيم ,عسل متخمّر ,عسل عادي.

## Résumé

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'homme de plus antiquité, il apporte de nombreuses propriétés bénéfiques pour la sante. Il vieillit avec le temps et subit des Modifications aboutissant forcément à la perte de ses qualités essentielles ; la rapidité de la dégradation dépend de sa composition et des conditions de sa conservation.

Notre étude avait pour but de déterminer la durée et l'efficacité de l'ultraviolet comme moyen de stérilisation des miels.

Nous avons réalisé des analyses physiques et microbiologiques (bactériologique et mycologique) sur les deux échantillons de miels (miel non fermenté et miel fermenté) provenant de la région de Tiaret et qui ont été étaient exposés à deux longueurs d'onde d'ultraviolet ( $\lambda = 253.7 \text{ nm}, 365\text{nm}$ ) pendant des durées de t90 sec, 120 sec, 5 min / 10min (ces deux dernières durées prévues n'ont pas été réalisées suite à la situation du covid-19).

Les résultats ont montré une croissance bactérienne sur milieu PCA et levurienne sur le milieu SABOURAUD, nous avons constaté également une réduction des levures osmophiles sur le milieu YM40G.

**Mots clés : ultraviolet, stérilisation, miel fermenté , miel normal .**

## **Abstract**

Honey is a natural product that has backed humans for many good health properties since ancient times. It ages over time and undergoes through modifications necessarily leading to the loss of essential qualities; the speed of its degradation depends on its composition and the conditions of its storage.

The purpose of our study was to determine the duration and effectiveness of the ultraviolet as a means of sterilizing honey.

We carried out physical and microbiological analyses (bacteriological and mycological) on the two honey samples (normal honey and fermented honey) coming from the region of Tiaret and which were exposed to two wavelengths of ultraviolet ( $\lambda = 253.7 \text{ nm}$ ,  $365\text{nm}$ ) for periods of t 90 sec, 120 sec, 5 min / 10 min (these last two planned durations were not carried out due to the circumstances of COVID-19).

The results have shown bacterial growth on PCA and yeast medium on SABOURAD medium, we also observed a reduction of osmophilic yeasts on YM40G medium.

**Keywords:**

**ultraviolet radiation, Sterilization, fermented honey , normal honey.**