

## SOMMAIRE

GLOSSAIRE .....	i
LISTE DES ABREVIATIONS.....	ii
LISTE DES FIGURES .....	iii
LISTE DES TABLEAUX .....	iv

INTRODUCTION .....	1
--------------------	---

### PREMIERE PARTIE : PARTIE THEORIQUE

#### I. GENERALITES SUR LE MIEL

1. DEFINITION DU MIEL .....	3
2. DIFFERENTS TYPES DE MIEL .....	3
2.1. Origine botanique .....	3
2.1.1. <i>Miels issus de nectar</i> .....	3
2.1.1.1. Miels monofloraux .....	3
2.1.1.2. Miels multifloraux .....	4
2.1.2. <i>Miels issus de miellat</i> .....	4
2.2. Origine géographique .....	4
3. ELABORATION DU MIEL .....	4
4. RECOLTE DU MIEL .....	5
4.1. Retrait de la ruche des cadres de miel .....	5
4.2. Désoperculage des alvéoles .....	5
4.3. Extraction du miel .....	5
4.4. Filtrage du miel .....	5
4.5. Maturation du miel .....	6
5. COMPOSITION CHIMIQUE .....	6
6. CRISTALLISATION DU MIEL .....	6

#### II. APICULTURE MALGACHE

1. TECHNIQUES APICOLES EXISTANTES A MADAGASCAR .....	7
1.1. Apicueillette .....	7

1.2. Apiculture traditionnelle .....	7
1.3. Apiculture améliorée .....	8
1.4. Apiculture moderne .....	8
2. PRINCIPALES ZONES DE PRODUCTIONS .....	9
3. CALENDRIER DE PRODUCTION .....	9
4. PROBLEMES RENCONTRES .....	10

### III. PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES ET ELEMENTS MINERAUX SUSCEPTIBLES D'ETRE PRESENTS DANS LE MIEL

1. GERMES SUSCEPTIBLES D'ETRE PRESENTS DANS LE MIEL.....	12
1.1. Microorganismes à 30°C .....	12
1.2. <i>Escherichia coli</i> .....	12
1.3. Levures et moisissures .....	12
1.4. Bactéries anaérobies sulfito-réductrices à 46°C .....	13
2. ELEMENTS MINERAUX SUSCEPTIBLES D'ETRE PRESENTS DANS LE MIEL .....	14
2.1. Fer .....	14
2.1.1. <i>Rôles biologiques du fer</i> .....	14
2.1.2. <i>Besoin en fer</i> .....	14
2.1.3. <i>Problèmes dus aux déséquilibres en fer</i> .....	15
2.2. Manganèse .....	16
2.2.1. <i>Rôles biologiques du manganèse</i> .....	16
2.2.2. <i>Besoin en manganèse</i> .....	16
2.2.3. <i>Problèmes dus aux déséquilibres en manganèse</i> .....	16
2.3. Fluorure .....	17
2.3.1. <i>Rôles biologiques du fluorure</i> .....	17
2.3.2. <i>Besoin en fluorure</i> .....	17
2.3.3. <i>Problèmes dus aux déséquilibres en fluorure</i> .....	17
2.4. Aluminium .....	17
2.4.1. <i>Rôles biologiques de l'aluminium</i> .....	17

2.4.2. <i>Besoin en aluminium</i> .....	18
2.4.3. <i>Problèmes dus aux déséquilibres en aluminium</i> .....	18
2.5. Nitrate .....	18
2.5.1. <i>Rôles biologiques du nitrate</i> .....	18
2.5.2. <i>Besoin en nitrate</i> .....	18
2.5.3. <i>Problèmes dus aux déséquilibres en nitrate</i> .....	18
2.6. Ammoniaque .....	19
2.6.1. <i>Rôles biologiques de l'ammoniaque</i> .....	19
2.6.2. <i>Besoin en ammoniaque</i> .....	19
2.6.3. <i>Problèmes dus aux déséquilibres en ammoniaque</i> .....	19

## DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

### I. ETUDES MICROBIOLOGIQUES

1. PRESENTATION DE L'ECHANTILLON .....	21
2. GERMES RECHERCHES .....	21
3. MATERIELS .....	21
4. MILIEU DE CULTURE .....	22
5. PROTOCOLE DE DENOMBREMENT .....	22

### II. METHODES ET DOSAGE DES ELEMENTS MINERAUX DANS L'ECHANTILLON DE MIEL

1. DETERMINATION DE LA TENEUR EN CENDRE BRUTE .....	27
1.1. Principe .....	27
1.2. Matériels .....	27
1.3. Mode opératoire .....	27
1.4. Mode de calculs .....	28
2. DOSAGE PAR COLORIMETRIE .....	28
2.1. Mise en solution de l'échantillon .....	28
2.2. Principe .....	28
2.3. Matériels .....	29

2.4. Dosage du fer .....	30
2.5. Dosage du manganèse .....	31
2.6. Dosage du fluorure .....	31
2.7. Dosage de l'aluminium .....	31
2.8. Dosage du nitrate .....	32
2.9. Dosage de l'ammoniaque .....	32

### **III. RESULTATS ET DISCUSSIONS**

1. RESULTATS .....	33
1.1. Etudes microbiologiques .....	33
1.2. Teneur en cendre brute .....	33
1.3. Dosage par colorimétrie .....	33
2. DISCUSSIONS .....	35
2.1. Etudes microbiologiques .....	35
2.2. Teneur en cendre brute .....	36
2.3. Dosage par colorimétrie .....	37
 CONCLUSION .....	 40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	41

### **ANNEXES**

## GLOSSAIRE

**Alvéole** : Compartiment de section hexagonale d'un rayon de ruche.

**Anémie** : Diminution du nombre de globules rouges ou de la concentration sanguine en hémoglobine, se traduisant par une accélération du rythme cardiaque, un essoufflement, une sensation de fatigue générale due à un manque de fer.

**Botulisme** : Affection neurologique grave provoquée par une toxine très puissante produite par la bactérie *Clostridium botulinum*.

**Colonie** : Ensemble de plusieurs milliers d'abeilles.

**Entérotoxine** : Toxine produite par les bactéries intestinales et susceptible de provoquer des troubles intestinaux.

**Essaim** : Colonie qui quitte la ruche sous la conduite d'une ou de plusieurs reines.

**Flatulence** : Production de gaz intestinaux, accumulés dans l'intestin ou l'estomac et provoquant des ballonnements, qui peuvent être expulsés hors du corps de façon volontaire ou involontaire par l'anus ou la bouche.

**Gélose** : Substance nutritive favorisant ou inhibant (selon sa composition) la prolifération et le développement des bactéries.

**Germe** : Ensemble des microorganismes vivants qui sont à l'origine des maladies.

**Mellisopalynologie** : Pic d'activité des essaims d'abeilles au cours duquel la production du miel est la plus intense.

**Miellé** : Période pendant laquelle la floraison des plantes contenant du nectar est suffisamment importante pour permettre aux abeilles de stocker un surplus de miel.

**Myoglobine** : Protéine du tissu musculaire dont la structure est proche de celle de l'hémoglobine, permet le stockage de l'oxygène.

**Ostéoporose** : Maladie qui consiste en une fragilisation progressive des os, due à une perte de la densité osseuse et à un amincissement des tissus osseux.

**Propolis** : Substance prélevée par des abeilles au niveau des bourgeons. La propolis a des vertus antibiotiques.

**Spore** : Cellule ou organe (pluricellulaire) de multiplication végétative ou de reproduction.

**Stress oxydant** : Type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives oxygénées et azotées oxydantes.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**ANR** : Apport Nutritionnel Recommandé

**EAA** : European Aluminium Association (Association européenne de l'aluminium)

**EFSA** : European Food Safety Authority (Autorité européenne de la sécurité alimentaire)

**EPT** : Eau Peptonée Tamponnée (pré-enrichissement)

**HMF** : Hydroxyméthylfurfural

**ISO** : International Organisation of Standardization  
(Organisation internationale de standardisation)

**NF** : Norme française

**PCA** : Plant Count Agar (Milieu de culture)

**SM** : Suspensions mères

**TBX** : Tryptone-Bile-X-glucuronide (Milieu de culture)

**TSC** : Tryptose-sulfite à la cylosérine (Milieu de culture)

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UV** : Ultra-Violet

## **LISTE DES FIGURES ET DES PHOTOS**

**Figure 1 :** Essaim sauvage

**Figure 2 :** Ruche faite par un tronc d'arbre creux

**Figure 3 :** Ruche améliorée, transition entre l'apiculture traditionnelle et moderne

**Figure 4 :** Ruche Dadant

**Figure 5 :** Four à moufle

**Figure 6 :** Principe de colorimétrie

**Photo 1 :** Pipette

**Photo 2 :** Boîte de pétri

**Photo 3 :** Photomètre 7100

## **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau 1 :** Calendrier de production par région

**Tableau 2 :** Apport nutritionnel recommandé en fer

**Tableau 3 :** Résultats des études bactériologiques

**Tableau 4 :** Teneur de chaque élément en  $\text{mg.L}^{-1}$

**Tableau 5 :** Teneur de chaque élément en  $\text{mg.kg}^{-1}$



## INTRODUCTION

Depuis la découverte du miel, la méthode de sa récolte n'a cessé de progresser. La récolte artisanale est remplacée par la technique moderne, qui a pour objectif de produire du miel de qualité en quantité suffisante. Ce changement a été effectué afin de répondre à la demande des consommateurs. D'ailleurs, la demande mondiale en miel n'a cessé de croître car le miel est considéré par le grand public comme un aliment naturel, non pollué et bénéfique pour la santé.

En effet, l'apiculture devient vite une filière importante pour tous les pays du monde, notamment pour la Chine, l'Argentine, le Mexique et les pays de l'Union Européenne. Madagascar a également pris option sur cette filière. De plus, la Grande île a un énorme potentiel pour élargir la filière miel, la variété écologique qu'elle possède permet sans doute une augmentation de la production de miel.

À cause de la dégradation du niveau de qualité, le miel de Madagascar a été sous l'embargo européen pendant plusieurs années, plus précisément depuis la fin des années 90. En 2000, la grande île a exporté 14,1 tonnes de miel vers l'île Maurice, les Comores et la République de Corée. En revanche, le miel restait toujours interdit d'exportation vers l'Union Européenne à cette époque. Ce n'est que l'année dernière (2014) que Madagascar a pu exporter du miel vers le marché européen. Malgré la restructuration de la filière miel à Madagascar, la qualité pose toujours des problèmes. Tout au long de cette étude, nous allons découvrir les origines de ce problème en se référant aux normes existantes relatives aux miels. C'est pourquoi nous avons pris ce thème. Le miel d'eucalyptus est choisi par le fait qu'il figure parmi les miels les plus exportés par Madagascar.

Un miel de qualité doit répondre à certains critères dont la teneur en eau, teneur en HMF, teneur en sucre réducteur, teneur en saccharose apparent, teneur en matières insolubles dans l'eau, teneur en cendres brutes, activité diastasique, acidité libre et conductivité. Les travaux de recherche sur les matières minérales contenus dans le miel ne sont pas encore très nombreux jusqu'à nos jours.

Ainsi, cette étude s'articule principalement sur deux grandes parties. La première est une partie théorique et porte sur la synthèse bibliographique. La partie expérimentale fait l'objet de la deuxième partie. Elle présente les matériels et les méthodes utilisés pour les différentes analyses ainsi que les résultats, suivis des discussions.

**PREMIERE PARTIE :**  
**PARTIE THEORIQUE**

# **I. GENERALITES SUR LE MIEL**

## **1. DEFINITION DU MIEL [CODEX, 2003]**

Les abeilles de l'espèce *Apis Mellifera* assurent la production d'une substance naturelle sucrée que l'on appelle **miel**. Il est obtenu à partir des mélanges du nectar des plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes que les abeilles butinent avec des matières spécifiques propres qu'elles secrètent elles-mêmes. Ces mélanges sont ensuite déposés, déshydratés, emmagasinés et laissés mûrir dans les rayons de la ruche.

## **2. DIFFERENTS TYPES DE MIEL [GUERZOU M N, 2002]**

Plusieurs paramètres comme les caractéristiques sensoriels, la composition chimique peuvent différencier les miels. Mais d'une manière générale, on les classe selon l'origine botanique et l'origine géographique.

### **2.1. Origine botanique**

Selon leur origine botanique, les miels sont répartis en deux classes bien distinctes : les miels issus du nectar et les miels issus de miellat.

#### **2.1.1. Miels issus du nectar [GUERZOU M N, 2002]**

Le nectar est un liquide sucré produit par les nectaires des fleurs. Sa teneur en sucre varie entre 50% et 80%. Les miels issus du nectar sont divisés en deux catégories : les miels monofloraux et les miels multifloraux.

##### **2.1.1.1. Miels monofloraux [BOGDANOV, 2005]**

Par définition, les miels monofloraux ou encore les miels de cru sont des miels provenant principalement d'une espèce florale déterminée, tels que le miel d'eucalyptus, le miel de niaouli et le miel de litchi. Pourtant, l'obtention d'un miel monofloral 100% est impossible. En effet les abeilles peuvent butiner partout et la fabrication de 1 kg de miel nécessite des millions de fleurs butinées.

### **2.1.1.2. Miels multif floraux [GUERZOU M N, 2002]**

Ces miels peuvent parfois s'appeler miels toutes fleurs. Ce sont des miels récoltés à partir de plusieurs espèces florales, qui proviennent de mélanges sans prédominance et donc sans origine précise.

### **2.1.2. *Miels issus de miellat* [BOGDANOV, 2005]**

Les miellats sont des substances provenant des insectes piqueurs et suceurs tels les pucerons. Les miels de miellat sont d'origine forestière. Leur couleur va du bleu clair ou brun verdâtre à une teinte presque noire.

## **2.2. Origine géographique [BOGDANOV, 1997]**

La détermination de l'origine géographique des miels fait appel à la détermination et au dénombrement des grains de pollen. Mais seule la melissopalynologie peut donner des résultats fiables.

## **3. ELABORATION DU MIEL [GONNET, 1982]**

L'élaboration du miel comporte trois étapes. La première commence dans le jabot des abeilles butineuses. Les nectars prélevés sont ensuite mélangés aux sécrétions des glandes salivaires de l'abeille. Après avoir subi une transformation biochimique, ce mélange devient alors du miel brut. L'étape suivante consiste à la transmission du miel brut par les abeilles butineuses aux abeilles ouvrières. Ce processus se déroulera dans la ruche et il durera entre 15 à 20 minutes. Un autre phénomène se déroulera parallèlement, il s'agit de l'évaporation. Après ceci, le miel brut deviendra miel à demi-mûri qui représente 60% de matières sèches. Enfin, sous l'influence de l'air sec, le miel va être déposé dans les alvéoles. Ce dernier va s'épaissir jusqu'à ce qu'il atteigne une teneur en eau de 17 à 20%. A maturité, les abeilles ferment les alvéoles à l'aide de la cire produite par les glandes cirières des abeilles.

#### **4. RECOLTE DU MIEL [HUCHET et al, 1996]**

Le moment de la récolte du miel monofloral est différent du multifloral. Pour le cas d'un miel monofloral, elle s'effectue à la fin de la floraison de la plante qui caractérisera le miel. En revanche, pour un miel toutes fleurs, elle est réalisée lors des floraisons les plus tardives. Mais d'une manière générale et surtout concernant l'apiculture moderne, la méthode de récolte s'effectue en 5 étapes :

##### **1<sup>e</sup> étape : retrait de la ruche des cadres de miel**

Il consiste à faire un enfumage des abeilles afin de retirer les cadres. Puis on fait un décollage et un brossage des cadres.

##### **2<sup>e</sup> étape : désoperculage des alvéoles**

C'est l'enlèvement de la pellicule de cire qui bouche les alvéoles remplies de miel. Un couteau à désoperculer est utilisé afin de trancher la couche de cire de bas en haut.

##### **3<sup>e</sup> étape : extraction du miel**

Généralement, le miel est jailli des cadres à l'aide d'une machine appelée extracteur. C'est une cuve qui possède un bras muni de quelques cadres désoperculés. En raison de la force centrifuge générée par une manivelle qui fait tourner les cadres, les gouttes de miel sont projetées sur les parois.

##### **4<sup>e</sup> étape : filtrage du miel**

Pour enlever les impuretés que contenait le miel, le passage à une grille à double filtre est inévitable. Cette étape permet de retirer diverses particules de propolis, de cire, d'opercules, de pattes d'abeilles ou de pollen.

##### **5<sup>e</sup> étape : maturation du miel**

Pour faire remonter en écume l'ensemble des dernières impuretés, le repos de 4 à 5 jours à une température de 20°C minimum est obligatoire. L'enlèvement de cette écume sera effectué avant l'étape suivante. Après ceci, on peut présenter le miel dans des pots étiquetés avec des mentions légales.

## **5. COMPOSITION CHIMIQUE DU MIEL [HUCHET et al, 1996]**

La composition qualitative du miel dépend de nombreux facteurs variables tels que la nature de la flore visitée et celle du sol, l'état physiologique de la colonie, la race des abeilles, le moment et le mode de récolte, le mode d'extraction et de conservation, et surtout le type de nourrissage. La composition moyenne en miel se répartit comme suit : eau : 17% ; fructose : 37% ; glucose : 30% ; maltose : 8% ; saccharose : 2% ; sucres supérieurs : 2%, et divers composants : 4%.

## **6. CRISTALLISATION DU MIEL [HUCHET et al, 1996]**

Le miel est récolté à l'état liquide, mais au cours du temps, on constate qu'il subit un changement d'état. C'est un processus naturel que l'on appelle « cristallisation du miel ». Notons que ce phénomène est un paramètre sensoriel très important car elle assure la qualité du miel.

Cette cristallisation dépend tout d'abord de la teneur en sucre. Les miels qui ont une teneur élevée en glucose cristallisent très rapidement. En revanche, la vitesse de cristallisation est lente si la concentration en fructose par rapport à celle du glucose est élevée. Ensuite, elle dépend de la teneur en eau miel. La teneur en eau de 17 à 18% est idéale pour la vitesse de cristallisation. Enfin, elle dépend de la température du miel. Une température basse favorise la cristallisation. C'est précisément à 14°C que la cristallisation des miels est la plus rapide.

Nous venons de voir les généralités sur le miel. Mais qu'en est-il de cette filière à Madagascar ?

## **II. APICULTURE MALGACHE**

### **1. TECHNIQUES APICOLES EXISTANTES A MADAGASCAR [CITE, 2004]**

La technique traditionnelle est sans doute la technique qui prédomine à Madagascar. Elle est exploitée dans toutes les régions, notamment sur la côte Est. Mais grâce à des projets initiés par le gouvernement, les apiculteurs commencent à appliquer des techniques modernes. La production de miel à Madagascar se repose sur quatre grandes typologies de techniques telles que : l'apicueillette, l'apiculture traditionnelle, l'apiculture améliorée et l'apiculture moderne.

#### **1.1. Apicueillette**

L'apicueillette est la technique la plus simple car elle repose sur la recherche des essaims sauvages pour en extraire le miel (figure 1).



**Figure 1 : Essaim sauvage**

#### **1.2. Apiculture traditionnelle**

C'est encore une technique simple car les ruches sont souvent faites de poterie, de troncs d'arbre creux, de récipients de récupération ou de caisses (figure 2).



**Figure 2 : Ruche faite dans un tronc d'arbre creux**

### **1.3. Apiculture améliorée**

C'est une technique qui utilise la ruche à barrette. C'est la forme améliorée de la ruche traditionnelle en caisse (figure 3).

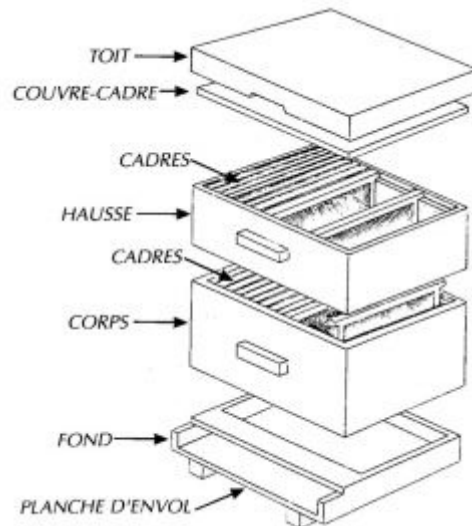


**Figure 3 : Ruche améliorée, transition entre l'apiculture traditionnelle et moderne**

### **1.4. Apiculture moderne**

Cette technique utilise des ruches de derniers modèles qui sont les ruches de type Langstroth ou Dandant (figure 4). Elles sont accompagnées par d'autres matériels apicoles modernes tels que les enfumeurs, le lève cadre et l'extracteur en inox.





**Figure 4 : Ruche Dadant**

## **2. PRINCIPALES ZONES DE PRODUCTION [E. SCHNEIDER, 2007]**

La production de miel à Madagascar est assurée par les régions suivantes : les Hauts plateaux (Manjakandriana, axe sud d’Ambositra, Fianarantsoa) ; la Côte Est (de Maroantsetra à Fort Dauphin) et le Nord-ouest (Befandriana Nord, Antsohihy, Mahajanga, Morondava).

Les produits de collecte sont estimés entre 3 000 à 4 000 tonnes par an. Les parts régionales sur la production totale sont estimées comme suit : 50% sont réalisés par la région Nord-ouest ; 30% par la région d’Ambositra-Manandriana et le reste c'est-à-dire 20% par les Hauts plateaux et la Côte Est.

## **3. CALENDRIER DE PRODUCTION [CITE, 2009]**

La période de récolte suit les grandes miellées et varie selon les régions. Dans la région de Toamasina, on récolte le miel de litchi de septembre à novembre. Mais comme notre étude porte sur le miel d’Eucalyptus, nous allons présenter dans le tableau 1 suivant le calendrier de production propre à chaque région.

**Tableau 1 : CALENDRIER DE PRODUCTION DE MIEL D'EUCALYPTUS PAR REGION**

(Source : CITE)

Activités	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Jul	Aoû	Sep	Oct	Nov	Déc
<b>REGION ANALANJIROFO</b>												
<b>Essaimage</b>												
<b>Récolte</b>												
<b>REGION ANALAMANGA</b>												
<b>Essaimage</b>												
<b>Récolte</b>												
<b>REGION AMORON'I MANIA</b>												
<b>Essaimage</b>												
<b>Récolte</b>												
<b>REGION HAUTE MATSIATRA</b>												
<b>Essaimage</b>												
<b>Récolte</b>												

#### **4. PROBLEMES RENCONTRES [E SCHNEIDER, 2007]**

Le principal problème rencontré par les apiculteurs Malgache est la présence de la maladie des abeilles, le varroa ou la maladie de la varroase. Arrivée officiellement à Madagascar en février 2010, elle est actuellement la première cause de la réduction des produits mellifères chez nous. Par ailleurs, les apiculteurs sont aussi confrontés au problème de la mort des abeilles, provoquée par les aléas climatiques tels que le cyclone, et surtout par les fortes pluies sur la côte Est qui perturbent la recherche de nourriture.

Enfin le blocage se situe au niveau des capacités d'investissement qui sont faibles. Les matériels apicoles coûtent cher et ne sont pas à la portée financière de la plupart des apiculteurs.

Ce chapitre nous a permis de comprendre l'apiculture malgache. Maintenant, nous allons voir les paramètres microbiologiques et les éléments minéraux susceptibles d'être présents dans le miel.

*Rapport-gratuit.com*   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

### **III. PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES ET ELEMENTS MINERAUX SUSCEPTIBLES D'ETRE PRESENTS DANS LE MIEL**

#### **1. GERMES SUSCEPTIBLES D'ETRE PRESENTS DANS LE MIEL**

Le miel est un aliment qui contient plusieurs microorganismes dont certains peuvent être pathogènes. Les paramètres microbiologiques tels que les microorganismes à 30°C, les *Escherichia Coli*, les levures et moisissures et les bactéries sulfito-réductrices à 46°C sont des éléments à risque sanitaire.

##### **1.1. Microorganismes à 30°C**

Les microorganismes à 30°C peuvent également être appelés flores totales ou encore flores aérobies mésophiles. Ils représentent l'ensemble des bactéries qui se développent en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C. C'est un indicateur d'hygiène important car il apporte un risque de présence de germes pathogènes très dangereux.

##### **1.2. *Escherichia coli***

Ce sont des bactéries qui vivent dans les intestins des animaux comme les bovins, les porcs, les moutons et les volailles. Ces bactéries peuvent se propager aux surfaces externes de la viande. C'est également un indicateur d'hygiène important car elles peuvent provoquer des symptômes comme la grippe, les crampes abdominales plus graves, les vomissements et la fièvre et elles peuvent même provoquer une insuffisance rénale.

##### **1.3. Levures et moisissures**

Les levures et moisissures sont des eumycètes ou champignons microscopiques.

Les levures sont unicellulaires. Elles peuvent se développer par bourgeonnement et elles sont aussi capables de produire des transformations biologiques à l'air libre ou en milieu clos. Lors d'une absorption massive de levures, des troubles gastro-intestinaux légers peuvent survenir.

Les moisissures sont aérobies, donc capables de se reproduire à la surface des denrées alimentaires. Elles deviennent visibles à l'œil nu en cas d'un développement massif. Présentes

en très faible quantité, elles sont inoffensives pour l'organisme. Cependant, les moisissures peuvent rendre les aliments impropres à la consommation dans le cas où elles sont présentes en quantité considérable.

#### **1.4. Bactéries anaérobies sulfite-réductrices à 46°C**

Ce sont des bactéries capables de se développer sans oxygène et qui peuvent se transformer sous forme de spores très résistantes aux conditions défavorables. Elles sont présentes dans les milieux extérieurs (le sol, l'air, l'eau, ...) et dans la flore intestinale de l'homme et des animaux.

Cette nomination regroupe essentiellement les deux types de *clostridium* notamment les *clostridium perfringens* et les *clostridium botulinum*.

##### **❖ *Clostridium perfringens* [CUQ, 2007] :**

C'est sans doute la troisième cause d'intoxication alimentaire après les salmonelles et les staphylocoques. Elles agissent par une entérotoxine. Sa contamination peut se manifester par des symptômes comme la diarrhée accompagnée d'une forte flatulence, les crampes et les maux de tête.

##### **❖ *Clostridium botulinum* [CUQ, 2007] :**

Ils sont responsables du botulisme. Sa contamination peut provoquer une vision double, des nausées, des vomissements, une fatigue, de l'étourdissement, des maux de tête et une sécheresse de la gorge et du nez. Dans les cas les plus graves, les symptômes peuvent se manifester jusqu'à l'insuffisance respiratoire.

## **2. ELEMENTS MINERAUX SUSCEPTIBLES D'ETRE PRESENTS DANS LE MIEL**

Le miel contient de nombreux éléments minéraux et des oligo-éléments. Mais seulement les six éléments à savoir le fer, le manganèse, le fluorure, l'aluminium, le nitrate et l'ammoniaque seront abordés durant notre étude.

### **2.1. Fer**

#### **2.1.1. Rôles biologiques du fer [CHAMBON, 2015]**

Le Fer est un élément indispensable à la vie puisqu'il assure tout d'abord le transport de l'oxygène, du poumon aux tissus par l'hémoglobine. Puis, il assure la fixation de l'oxygène par la myoglobine musculaire qui a plus d'affinités pour l'oxygène que l'hémoglobine. Enfin, il joue un rôle de catalyseur au niveau de nombreuses réactions enzymatiques.

#### **2.1.2. Besoins en fer [CHAMBON, 2015]**

Les besoins journaliers en fer dépendent de l'âge, et ils sont doublés pour les femmes enceintes ou allaitantes.

Le tableau 2 suivant donne les apports journaliers recommandés en fer.

**Tableau 2:** APPORT NUTRITIONNEL RECOMMANDE EN FER

<b>Groupe d'âge</b>	<b>Apport Nutritionnel Recommandé en fer (mg.j<sup>-1</sup>)</b>
<b>Nourrissons</b>	7
<b>Enfants 1 – 9 ans</b>	7
<b>Enfants 10 – 12 ans</b>	8
<b>Adolescents Garçons 13-19 ans</b>	12
<b>Adolescents Filles 13-19 ans</b>	14
<b>Hommes adultes</b>	9
<b>Femmes adultes</b>	16
<b>Femmes enceintes</b>	25 à 35
<b>Femmes allaitantes</b>	10
<b>Femmes ménopausées</b>	9

### ***2.1.3. Problèmes dus aux déséquilibres en fer [CHAMBON, 2015]***

La carence en fer peut se traduire en deux formes selon leur degré. L'une est plus visible, l'anémie qui présente des signes apparents comme la fatigue, la perte des cheveux et des poils, la pâleur, l'essoufflement. L'autre, la moins visible ne présente aucun signe apparent. Elle se manifeste par une réduction de la capacité physique chez l'homme, une diminution des

performances intellectuelles, une moindre résistance aux infections, et des perturbations au cours de la grossesse.

En revanche, l'absorption excessive en fer dans l'organisme entraîne l'hémochromatose. Cette hyperabsorption, due à une anomalie génétique, aboutit à une accumulation progressive de fer et à une destruction de tous les organes au cours de la vie : le foie, le pancréas, le cœur, les glandes endocrines, les articulations et la peau.

## **2.2. Manganèse**

### **2.2.1. Rôles biologiques du manganèse [EFSA, 2014]**

Le manganèse est un oligo-élément essentiel à l'organisme puisqu'il intervient dans de nombreux mécanismes vitaux pour l'organisme notamment dans les activités enzymatiques où il participe à l'activité de nombreuses enzymes. Outre ces rôles, le manganèse participe au bon fonctionnement du métabolisme de graisses, à la synthèse du tissu conjonctif ainsi qu'à la régulation du glucose dans le sang. Enfin, il peut synthétiser des hormones thyroïdiennes et sexuelles.

### **2.2.2. Besoins en manganèse [NUTRITION, 2014]**

Le manganèse est un oligo-élément essentiel, non synthétisé par l'organisme. Il doit être apporté en quantité suffisante par notre alimentation, et notamment par la consommation des produits riches en manganèse. Le besoin en manganèse est de 1 à 2,5 mg par jour pour un adulte. Cet apport est capital chez les femmes enceintes et les enfants.

### **2.2.3. Problèmes dus aux déséquilibres en manganèse [NUTRITION, 2014]**

Les déficiences graves en manganèse n'ont été jamais relevées chez la population en général, mais une étude récente de caractère expérimental sur des humains dont le régime alimentaire comportait une déficience en manganèse (0,11 mg par jour) a provoqué des dermatites et de l'hypocholestérolémie. De même, l'intoxication due à cet oligo-élément est également rare, mais elle peut affecter négativement le système nerveux.



## **2.3. Fluorure**

### **2.3.1. Rôles biologiques du fluorure [NUTRITION, 2014]**

Le fluor, sous forme de fluorure, est un élément qui entre dans la constitution des tissus durs, comme l'émail dentaire et il le rend plus résistant aux bactéries responsables de la carie dentaire. Le fluor intervient aussi dans l'activité des cellules osseuses, au même titre que le calcium et le phosphore.

### **2.3.2. Besoins en fluorure [NUTRITION, 2014]**

Le fluorure est un oligo-élément essentiel pour l'organisme. Il doit être apporté en quantité suffisante par notre alimentation, et notamment par la consommation de produits riches en fluorure. Les besoins en fluorure sont estimés à 0,5 mg par jour pour une personne de moins de 3 ans et à 1mg par jour pour les plus de 3 ans.

### **2.3.3. Problèmes dus aux déséquilibres en fluorure [NUTRITION, 2014]**

La carence en fluorure provoque des caries dentaires et l'ostéoporose. Tandis qu'un apport excessif en fluorure est à l'origine d'une fluorose squelettique, une maladie évolutive, mais non mortelle, dans laquelle les os augmentent de densité et deviennent de plus en plus fragiles. Dans les cas bénins, les symptômes peuvent inclure de la douleur et des raideurs dans les articulations. Dans les cas plus graves, l'amplitude des mouvements est réduite et le risque de fracture est accru.

## **2.4. Aluminium**

### **2.4.1. Rôles biologiques de l'aluminium [EAA, 2014]**

L'aluminium est un élément non essentiel car il n'apporte rien à l'organisme. De plus notre corps possède de barrières efficaces contre sa pénétration.

#### **2.4.2. Besoins en aluminium [NATUROSANTE, 2014]**

La dose hebdomadaire tolérable en aluminium pour un être humain est de  $1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

#### **2.4.3. Problèmes dus aux déséquilibres en aluminium [NATUROSANTE, 2014]**

A forte dose, l'aluminium peut entraîner des maladies neurodégénératives comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. De plus il peut également provoquer des nausées, des vomissements, des manques d'appétit, des troubles de la parole, des gastrites et de l'ulcère d'estomac. La déficience en aluminium n'a été jamais relevée.

### **2.5. Nitrate**

#### **2.5.1. Rôles biologiques du nitrate**

Les nitrates sont des entités chimiques très utilisées par l'organisme humain. Ils participent à la protection sanitaire par leur action vis-à-vis de nombreux agents pathogènes comme les bactéries et les champignons.

#### **2.5.2. Besoins en nitrate**

Les besoins quotidiens en nitrate ne sont pas connus. Mais pour protéger les nourrissons et les femmes enceintes, la réglementation a fixé des teneurs maximales entre 2000 à 4500 mg de nitrate par kilogramme.

#### **2.5.3. Problèmes dus aux déséquilibres en nitrate**

La carence en nitrate est rare voire inexistante puisque l'organisme lui-même produit de l'oxyde de nitrite (NO). D'ailleurs, on ne reconnaît pas encore les maladies causées par l'excès en nitrate.

## **2.6. Ammoniaque**

### **2.6.1. Rôles biologiques de l'ammoniaque [DOCTISSIMO, 2015]**

L'ammoniaque est un constituant non essentiel pour l'organisme. Il est toxique et le foie le transforme en urine. C'est la raison pour laquelle on ne connaît pas le rôle biologique de l'ammoniaque.

### **2.6.2. Besoins en ammoniaque**

Les besoins quotidiens en ammoniaque n'ont été pas déterminés. Certes, on a conclu qu'il n'était pas nécessaire d'établir une recommandation à son égard, vu l'absence d'effet sur la santé aux concentrations attendues dans les aliments.

### **2.6.3. Problèmes dus aux déséquilibres en ammoniaque**

La carence en ammoniaque n'existe pas puisqu'il s'agit d'un composé non essentiel à l'organisme. L'hyperammoniémie peut provoquer une irritation et des dommages à la bouche, à la gorge et au tube digestif. Cependant, ce scénario est peu probable, vu les concentrations d'ammoniaque dans les aliments. En revanche, l'indigestion accidentelle ou intentionnelle de sels d'ammonium à usage domestique peut entraîner des maladies ou même le décès.

C'était le dernier chapitre de la partie théorique. Il nous a donné des informations sur les paramètres microbiologiques et les éléments susceptibles d'être présents dans le miel. Par ailleurs, dans le premier chapitre de la deuxième partie, nous allons aborder les techniques expérimentales de l'étude microbiologique de l'échantillon.

**DEUXIEME PARTIE :**  
**PARTIE EXPERIMENTALE**

# I. ETUDES MICROBIOLOGIQUES

## 1. PRESENTATION DE L'ECHANTILLON

Les analyses microbiologiques de l'échantillon ont été effectuées dans le Laboratoire d'Hygiène des Aliments et de l'Environnement (LHAE) de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM).

Avant de procéder aux analyses, voici quelques informations sur l'échantillon à étudier :

<b>Type</b>	: Miel d'eucalyptus
<b>Date de récolte</b>	: 13/04/2014
<b>Lieu de récolte</b>	: Manjakandriana
<b>Date de prélèvement</b>	: 22/07/2014
<b>Date de manipulation</b>	: 23/07/2014
<b>Température de réception</b>	: Température ambiante

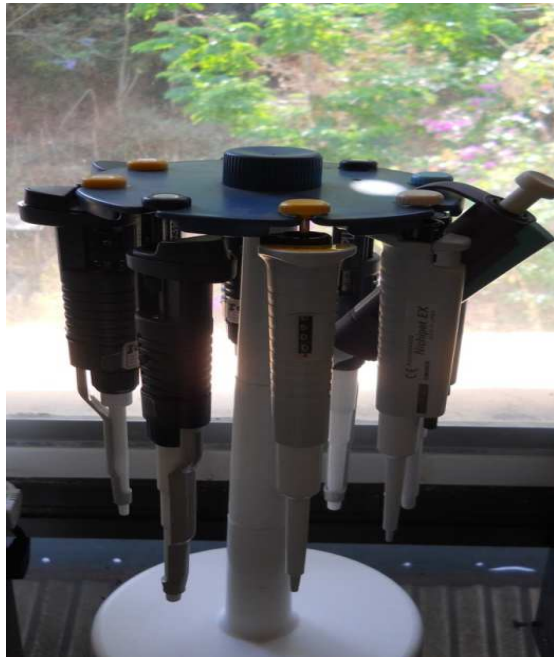
## 2. GERMES RECHERCHES

Au départ, les aliments sont déjà rarement stériles. Ils contiennent initialement des flores qui sont en général, des microorganismes non pathogènes. Mis en contact avec l'air, avec l'homme (mains sales, cheveux, ...), avec les insectes (mouches), avec des matériels (souillé) s'y rajoutent d'autres microorganismes qui sont pathogènes. On obtient donc des aliments avec une flore très différente de celle de départ. C'est pourquoi les germes suivants ont été recherchés : les microorganismes à 30°C, l'*Escherichia coli*, les levures et les moisissures et les anaérobies sulfito-réducteurs.

## 3. MATERIELS

La préparation et l'analyse microbiologique de l'échantillon nécessitent l'utilisation des matériels suivants : des tubes à essai, du portoir pour tube à essai, des pipettes stériles en plastiques de 10 ml, des pipettes stériles en plastiques de 1 ml, des multipipettes à 8 canaux, des embouts stériles pour multipipette, un bain marie réglé à 50±1 °C, un bain marie réglé à 79±1 °C, des boîtes de pétri stériles, une étuve réglable à (36±2) °C, une étuve réglable à (44±1) °C, une étuve réglable à (37±1) °C et des pinces stériles à bouts arrondis.

Les photographies ci-après présentent deux matériels utilisés lors des manipulations microbiologiques.



**Photo 1:** Pipette



**Photo 2:** Boîte de pétri

#### **4. MILIEU DE CULTURE [NF EN ISO 8199]**

La composition du milieu de culture doit permettre la croissance bactérienne et doit donc tenir compte des besoins nutritifs des bactéries. Chaque bactérie a son propre milieu de culture. La gélose PCA est réservée pour les microorganismes à 30°C. La gélose TBX est le milieu spécifique pour l'*Escherichia coli*. Le milieu Sabouraud solide stérile doit être utilisé afin de rechercher les levures et les moisissures. Les anaérobies sulfite-réducteurs ont besoin de la gélose TSC en surfusion stérile.

#### **5. PROTOCOLE DE DENOMBREMENT**

Les protocoles de dénombrement des quatre germes recherchés sont schématisés ci-après.

## DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES 30°C (NF EN ISO 4833-1)

20 g d'échantillon + 180 g d'EPT



Homogénéisation



Incubation à température ambiante pendant 30 min



Inoculation (culture en profondeur) : 1 mL de SM et ses dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ...) dans des boîtes de Pétri.



Coulage du milieu PCA (15 mL)



Solidification



Incubation à 30°C pendant 72 h



Lecture des résultats sur des boîtes contenant 15 à 300 colonies

**Expression des résultats** :  $N$  (ufc.g<sup>-1</sup> ou .mL<sup>-1</sup> d'échantillon) =  $\frac{C_1 + C_2}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$

**N entre 1,0.10<sup>x</sup> et 9,9.10<sup>x</sup>**

$C_1 + C_2$  = somme de toutes les colonies apparues sur les deux boîtes retenues ;

$V$  = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte ;

$d$  = taux de dilution correspondant à la première dilution retenue ;

$n_1$  = nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

$n_2$  = nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

## DENOMBREMENT DES *Escherichia coli* (NF ISO 16649-2)

20 g d'échantillon + 180 g d'EPT



Homogénéisation



Incubation à température ambiante pendant 30 min



Inoculation (culture en profondeur) : 1 mL de SM et ses dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ...)

dans des boîtes de Pétri.



Coulage du milieu TBX (15 mL)



Solidification



Incubation à 30°C pendant 24 h



Lecture des résultats sur des boîtes contenant 15 à 150 colonies caractéristiques (bleues)

**Expression des résultats** :  $N$  (ufc.g<sup>-1</sup> ou .mL<sup>-1</sup> d'échantillon) = 
$$\frac{C_1 + C_2}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$$

**N entre 1,0.10<sup>x</sup> et 9,9.10<sup>x</sup>**

$C_1 + C_2$  = somme de toutes les colonies apparues sur les deux boîtes retenues ;

$V$  = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte ;

$d$  = taux de dilution correspondant à la première dilution retenue ;

$n_1$  = nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

$n_2$  = nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.



## DENOMBREMENT DES LEVURES ET DES MOISSURES (NF V 08-036)

20 g d'échantillon + 180 g d'EPT



Homogénéisation



Incubation à température ambiante pendant 30 min



Inoculation (culture par étalement) : 0,1 mL de SM et ses dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ...) dans des boîtes de Pétri contenant 15 mL du milieu SABOURAUD solide stérile.



Incubation à 30°C pendant 5 jours



Lecture des résultats sur des boîtes contenant 30 à 300 colonies (levures : colonies blanchâtres, les moisissures présentent des hyphes ou des mycéliums)

**Expression des résultats** :  $N$  (ufc.g<sup>-1</sup> ou .mL<sup>-1</sup> d'échantillon) =  $\frac{C_1 + C_2}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$

**N** entre  $1,0 \cdot 10^x$  et  $9,9 \cdot 10^x$

$C_1 + C_2$  = somme des colonies caractéristiques sur les deux boîtes retenues ;

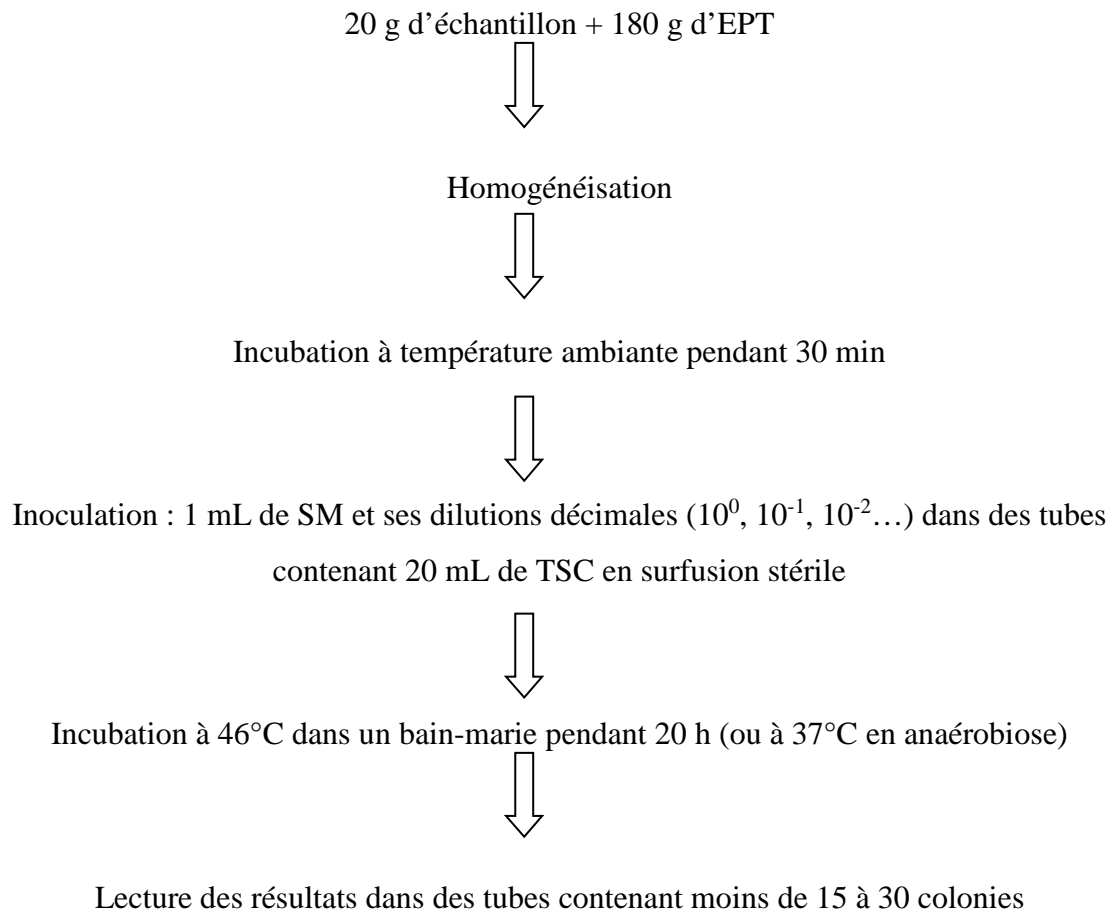
$V$  = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte ;

$d$  = taux de dilution correspondant à la première dilution retenue ;

$n_1$  = nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

$n_2$  = nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

## DENOMBREMENT DES ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS (NF V 08-061)



**Expression des résultats** :  $N$  (ufc.g<sup>-1</sup> ou .mL<sup>-1</sup> d'échantillon) =  $\frac{C_1 + C_2}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$

**N entre  $1,0 \cdot 10^x$  et  $9,9 \cdot 10^x$**

$C_1 + C_2$  = somme des colonies caractéristiques sur les deux tubes retenus ;

$V$  = volume de l'inoculum appliqué à chaque tube ;

$d$  = taux de dilution correspondant à la première dilution retenue ;

$n_1$  = nombre de tubes retenus à la première dilution ;

$n_2$  = nombre de tubes retenus à la deuxième dilution.

Dans le cas de dénombrement des spores d'anaérobies sulfito-réducteurs, la solution à analyser doit-être traitée à 80°C pendant 10 min avant de la mélanger avec le milieu TSC.

Ce chapitre que nous venons de voir nous a permis de savoir les techniques utilisées lors de l'étude microbiologique. Dans le chapitre suivant nous allons voir les matériels et les méthodes pour la détermination de la teneur en éléments minéraux.

## II. METHODES ET DOSAGE DES ELEMENTS MINERAUX DANS L'ECHANTILLON DE MIEL

### 1. DETERMINATION DE LA TENEUR EN CENDRE BRUTE

Pour la détermination de la teneur en cendre brute, l'expérience a été effectuée au Laboratoire des Radio-Isotopes (LRI) à Ambohimirary.

#### 1.1. Principe

Le miel est incinéré dans un four à moufle de température entre 550 – 800°C pendant 4 à 5 heures. La cendre ainsi obtenue est pesée. La teneur en cendre brute obtenue représente tous les éléments minéraux du miel.

#### 1.2. Matériels

Lors de l'incinération de l'échantillon, nous avons utilisé les trois matériels suivants ont été utilisés : un four à moufle, une capsule en platine et une balance de précision.

#### 1.3. Mode opératoire

La capsule d'incinération vide est pesée, puis on y verse 150 g de miel. Avant de les chauffer dans un four à 600°C, le tout est pesé. Après incinération, la capsule contenant les cendres est refroidie puis pesée.



**Figure 5** : Four à moufle

#### 1.4. Mode de calculs

La teneur en cendres brutes C(%) est obtenue par la formule suivante :

$$C(\%) = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \cdot 100 \quad (1)$$

C% : teneur en cendres brutes ;

M<sub>0</sub>: masse en g de la capsule d'incinération vide ;

M<sub>1</sub> : masse en g de la capsule d'incinération et de l'échantillon avant incinération ;

M<sub>2</sub> : masse en g de la capsule d'incinération et des cendres après incinération.

## 2. DOSAGE PAR COLORIMETRIE

Pour terminer les travaux de recherches, nous avons effectué des dosages par colorimétrie au Laboratoire de Chimie Minérale à Ampasampito.

### 2.1. Mise en solution de l'échantillon

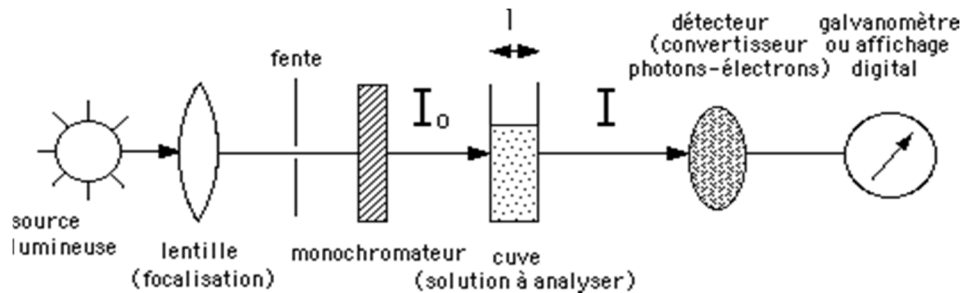
Les cendres sont d'abord mouillées avec un peu d'eau distillée à l'aide d'une pissette. Un volume de 10 mL d'acide sulfurique 2N est ajouté à 1g de cendres obtenues. La solution acide obtenue est transvasée dans un bécher de 100 mL ; le creuset devrait être bien rincé avec de l'eau distillée. Cette solution a été agitée pendant quelques minutes puis filtrée sur du papier filtre. Le filtrat est recueilli dans une fiole jaugée de 100 mL puis additionné d'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Le dosage des éléments minéraux a été effectué avec cette solution.

### 2.2. Principe [WAGTECH, 2014]

Le principe de cette méthode colorimétrique est basé sur la mesure de l'intensité de couleur. Après avoir traversé une éprouvette qui contient un échantillon, la lumière passe à travers un filtre coloré vers un photodétecteur. Le choix des filtres est réalisé de telle sorte que la lumière effectue une sélection d'une longueur d'onde spécifique. Dans le cas où la solution est sans couleur, toute la lumière passe l'échantillon. En revanche, la lumière est absorbée dans le cas

où l'échantillon est coloré. La lumière qui passe à travers l'échantillon est réduite proportionnellement (figure 6).

En fait, il s'agit d'une technique très utilisée qui est la spectrophotométrie UV-Visible.



**Figure 6** : Principe de colorimétrie (Source : SNV.JUSSIEU)

### 2.3. Matériels [WAGTECH, 2014]

Lors de cette manipulation, le photomètre 7100 a été utilisé accompagné par deux accessoires : le chapeau lumière et les deux éprouvettes (éprouvette de témoins et éprouvette d'échantillons).

#### ❖ Le photomètre 7100

C'est un colorimètre permettant de faire le dosage colorimétrique et de réaliser d'autres analyses chimiques comme la turbidité, la conductivité. L'avantage de cet appareil c'est qu'il est à la fois léger et portable, donc idéal pour un travail en laboratoire ou sur terrain. Le plus important c'est que cet instrument possède un système automatique de sélection de la longueur d'ondes, d'arrêt et de remise à blanc.



**Photo 3** : Photomètre 7100

#### ❖ **Chapeau pare-lumière**

Chaque photomètre est accompagné d'un chapeau pare-lumière. Il a comme rôle d'empêcher la lumière d'atteindre la photodiode. Son utilisation n'est nécessaire que si on est dans des conditions d'éclairage intense. De plus, des instructions de test s'affichent quand il faut l'utiliser.

#### ❖ **Eprouvettes de témoin et d'échantillon**

A chaque usage du photomètre, on a besoin d'une éprouvette témoin et d'une éprouvette d'échantillon.

L'éprouvette témoin permet à l'instrument de se régler automatiquement, et compense toute couleur inhérente à l'échantillon.

L'éprouvette d'échantillon contient l'échantillon à analyser et les réactifs selon les instructions de test. Cette éprouvette est utilisée pour prendre la lecture photométrique.

### **2.4. Dosage du fer [POTALAB]**

Cette méthode consiste à faire réagir le ferrozine dans l'échantillon en milieu acide. Avec les traces de fer dans l'échantillon, le réactif de ferrozine forme un complexe de couleur violette. Une minute après, le développement de la couleur sera atteint. La couleur produite dans le test est indicative de la concentration du fer. La mesure se fait à l'aide du photomètre.

Le mode opératoire est donné en annexe 1.

## **2.5. Dosage du manganèse [POTALAB]**

La méthode pour trouver le taux du manganèse est basée sur l'oxydation du permanganate. Le manganèse est oxydé en permanganate à l'aide du periodate de potassium en milieu acide. Les réactifs sont fournis sous deux formes de comprimés. Le test est simplement effectué en ajoutant les deux comprimés dans l'échantillon. La teneur en manganèse est déterminée en mesurant les intensités de couleur. Elle est donnée automatiquement par le photomètre.

Le mode opératoire est donné en annexe 2.

## **2.6. Dosage du fluorure [POTALAB]**

Cette méthode consiste à faire réagir le chlorure de zirconyle avec l'ériochrome cyanine R dans une solution acide pour former un complexe de couleur rouge. Cette couleur est détruite par les ions fluorures pour donner la couleur jaune pâle de l'ériochrome de cyanine. Dans le matériel watech, on utilise deux comprimés comme réactifs pour le fluorure. Mais le test a été réalisé simplement en ajoutant un comprimé dans chaque échantillon. La couleur produite dans le test est indicative de la concentration en fluorure. La valeur de cette concentration est connue à l'aide d'un photomètre.

Le mode opératoire est donné en annexe 3.

## **2.7. Dosage de l'aluminium [POTALAB]**

La méthode pour trouver le taux de l'aluminium est basée sur l'aurine tricarboxylate d'ammonium. L'aluminium réagit avec l'aurine tricarboxylate d'ammonium en milieu acide pour former un complexe rouge susceptible d'un dosage colorimétrique. Les catalyseurs sont incorporés pour assurer le développement complet et rapide de couleur. Les réactifs ont été fournis en forme de deux comprimés pour la commodité maximale. Le test est simplement effectué en ajoutant les deux comprimés dans l'échantillon. La teneur en aluminium est déterminée en mesurant les intensités de couleur produite dans le test. La valeur est mesurée automatiquement à l'aide du photomètre.

Le mode opératoire est donné en annexe 4.

## **2.8. Dosage du nitrate [POTALAB]**

Cette méthode comporte quelques étapes. Tout d'abord le nitrate est réduit en nitrite. Le nitrite ainsi obtenu est ensuite déterminé par une réaction de diazonium pour former un colorant rouge. L'étape de réduction est effectuée en utilisant une poudre de zinc et un comprimé qui aident la floculation rapide après le contact. L'essai est effectué dans un Nitratest spécial (tube-récipient d'échantillon gradué avec le fond de la trémie pour faciliter le réglage et la décantation de l'échantillon). Le nitrite résultant de l'étape de réduction est déterminé par réaction avec de l'acide sulfanilique en présence de N-(1-Naphtyl)-éthylènediamine, pour former un colorant rouge. Les réactifs sont fournis dans un seul comprimé Nitricol qui est simplement ajouté à la solution d'essai. La concentration en nitrate est proportionnelle à l'intensité de la couleur produite dans le test. Elle est mesurée à l'aide du photomètre.

Le mode opératoire est donné en annexe 5.

## **2.9. Dosage de l'ammoniaque [POTALAB]**

La méthode pour trouver le taux d'ammoniaque est basée sur l'indophénol (indicateur coloré). L'ammoniaque réagit avec le salicylate alcalin en présence du chlore pour former un complexe bleu-vert d'indophénol. Les catalyseurs sont incorporés pour assurer le développement complet et rapide de couleur. Les réactifs sont sous forme de deux comprimés. Le test est simplement effectué en ajoutant les deux comprimés dans l'échantillon. La teneur en ammoniaque est déterminée en mesurant les intensités de couleur produite dans le test. La mesure se fait à l'aide d'un photomètre.

Les détails du mode opératoire seront mentionnés dans l'annexe 6.

C'était l'avant dernier chapitre de la partie expérimentale. Il nous a représenté les techniques expérimentales de dosage des éléments minéraux. Pour mettre un terme à notre travail, nous donnerons les résultats des études.



### III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### 1. RESULTATS

##### 1.1. Etudes microbiologiques

Les résultats des études microbiologiques sont présentés dans le tableau 3 suivant

**Tableau 3 : RESULTATS DES ETUDES BACTERIOLOGIQUES**

Type de germes	Unités	Résultats	Normes
Microorganismes à 30°C	ufc.g <sup>-1</sup>	<40	100 000
<i>Escherichia coli</i>	ufc.g <sup>-1</sup>	<10	10
Levures et moisissures	ufc.g <sup>-1</sup>	<10	100
Bactéries sulfito-réductrices à 46°C	ufc.g <sup>-1</sup>	<10	10

##### 1.2. Teneur en cendre brute

D'après le calcul selon la formule (1) de la page 28, le pourcentage en cendre brute obtenue est égal à 0,72%. Cette valeur peut être exprimée sous la forme 0,72g/100g de miel.

##### 1.3. Dosage par colorimétrie

La méthode par colorimétrie nous a permis de déterminer la teneur en éléments minéraux tels que le fer, le manganèse, le fluorure, l'aluminium, le nitrate et l'ammoniaque.

Le photomètre donne la concentration de l'élément à doser en mg.L<sup>-1</sup> comme le montre le tableau 4 ci-après.

**Tableau 4:** TENEUR DE CHAQUE ELEMENT EN mg.L<sup>-1</sup>

<b>Eléments</b>	<b>Valeur détectée par l'appareil (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Teneur obtenue (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Fer</b>	0 - 10	0,05
<b>Manganèse</b>	0 - 0,3	0,01
<b>Fluorure</b>	0 - 1,5	0,01
<b>Aluminium</b>	0 - 0,5	0,02
<b>Nitrate</b>	0 - 20	0,01
<b>Ammoniaque</b>	0 - 1,0	-

La teneur en mg.kg<sup>-1</sup> de miel en éléments minéraux est calculée selon la formule suivante :

$$C' = \frac{C.V}{m} \quad (2)$$

C : concentration de l'élément minéral en mg.L<sup>-1</sup>;

V : volume de l'échantillon en L ;

m : masse de l'échantillon en kg;

C' : concentration de l'élément minéral en mg.kg<sup>-1</sup>.

Les résultats de chaque dosage exprimés en mg.kg<sup>-1</sup> en de miel sont présentés dans le tableau 5.

**Tableau 5 : TENEUR DE CHAQUE ELEMENT EN mg.kg<sup>-1</sup>**

<b>Eléments</b>	<b>Teneur obtenue (mg.l<sup>-1</sup>)</b>	<b>Teneur obtenue (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>
<b>Fer</b>	0,05	50
<b>Manganèse</b>	0,01	10
<b>Fluorure</b>	0,01	10
<b>Aluminium</b>	0,02	20
<b>Nitrate</b>	0,01	10
<b>Ammoniaque</b>	-	-

## **2. DISCUSSIONS**

Notre travail consiste à comparer les résultats obtenus à partir des différentes analyses effectuées sur l'échantillon avec les valeurs indiquées par les normes puis à donner quelques recommandations en cas de problèmes.

### **2.1. Etudes microbiologiques**

#### **❖ Microorganismes à 30°C**

Le nombre des microorganismes à 30°C trouvé dans l'échantillon est inférieur à 40 ufc.g<sup>-1</sup>. En se basant sur le tableau 3, la valeur limite imposée par la Norme NF EN ISO 4833-1 est de 100 000 ufc.g<sup>-1</sup>. La valeur trouvée pour notre échantillon est largement inférieure à la valeur limite. Le faible nombre de microorganismes à 30°C prouve que l'échantillon n'est pas contaminé. Donc l'échantillon n'est pas pollué car un excès de flore mésophile aérobie à 30°C est la conséquence soit d'une pollution, soit d'une mauvaise conservation (température trop élevée et/ou durée de conservation trop longue). Le résultat est alors satisfaisant.

### ❖ *Escherichia coli*

Le nombre d'*Escherichia coli* présents dans l'échantillon étudié est inférieur à  $10 \text{ ufc.g}^{-1}$ . Or la valeur limite imposée par la Norme NF ISO 16649-2 est de  $10 \text{ ufc d'Escherichia coli}$  dans un gramme d'échantillon. Donc le nombre d'*Escherichia coli* présents dans notre miel n'atteint pas la valeur limite imposée par la norme. Ce résultat explique que l'échantillon n'est pas contaminé par cette bactérie. Le résultat est donc acceptable.

### ❖ Levures et moisissures

Le nombre de levures et moisissures confondues est inférieur à  $10 \text{ ufc.g}^{-1}$  d'échantillon. Or la valeur de référence mentionnée dans le tableau 3 est de  $100 \text{ ufc.g}^{-1}$ . On constate que le résultat trouvé est très loin d'atteindre la valeur limite imposée par la Norme NF V 08-036. Ce qui prouve que l'échantillon n'est pas contaminé ni par des levures ni par des moisissures. Le résultat est donc convenable à la norme.

### ❖ Bactéries anaérobies sulfite-réductrices à $46^\circ\text{C}$

Le nombre de bactéries trouvé est inférieur à  $10 \text{ ufc.g}^{-1}$  d'échantillon. En se basant sur le tableau 3, la valeur limite des nombres de bactéries sulfite-réductrices à  $46^\circ\text{C}$  imposée par la Norme NF V 08-061 est de  $10 \text{ ufc.g}^{-1}$ . Puisque la valeur limite n'est pas atteinte, l'échantillon n'est pas contaminé. Le résultat est alors acceptable.

## 2.2. Teneur en cendre brute [LOUVEAUX, 1968]

La teneur en cendre brute est l'une des critères de qualité d'un miel. D'après des études effectuées par LOUVEAUX, la teneur en cendre brute devrait être comprise entre 0,020 et 1,028g/100g de miel. La valeur 0,72g/100g de miel que nous venons de trouver appartient à cet intervalle. Ce résultat confirme que les miels sont des aliments pauvres en éléments minéraux. Ce qui place notre miel dans la norme en termes de la composition en éléments minéraux.

### 2.3. Dosages par colorimétrie

#### ❖ Dosage du fer [AHMED B, 2008]

Le matériel avait effectué une sélection automatique de longueur d'onde correspondant au fer qui est de 216 nm. La valeur correspond à la teneur en fer de l'échantillon est de 50 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. Des précédentes analyses ont donné un taux moyen en fer dans un miel variant de 0,3 à 40 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. Certes, on peut constater que la teneur en fer de notre échantillon est légèrement supérieure à celle du normal. Ce résultat peut être expliqué par le fait que la teneur en sel minéraux du miel dépend du type du sol sur lequel les plantes visitées par l'abeille poussent. Donc on peut dire que le sol sur lequel notre échantillon de miel est originaire peut être plus riche en fer.

Comme nous l'avons vu précédemment, le fer est important à notre organisme mais son excès entraîne la mort cellulaire. Une éventuelle accumulation en fer n'a rien à craindre vu sa quantité dans l'échantillon qui est de 50 mg.kg<sup>-1</sup>. Le miel étudié est donc un aliment bénéfique pour la santé.

#### ❖ Dosage du manganèse [AHMED B, 2008]

De même, le photomètre avait effectué une sélection automatique de longueur d'onde correspondant qui est de 545 nm. La valeur correspondant à la teneur en manganèse de l'échantillon est de 10 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. Le taux moyen en manganèse d'un miel varie de 0,2 à 10 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. On constate que la teneur en manganèse de notre miel appartient à cet intervalle.

Il est important de rappeler que c'est un oligo-élément nécessaire à l'homme pour survivre puisqu'il participe à la synthèse d'enzymes dans la lutte contre le stress oxydant. Mais il peut devenir toxique lorsque la consommation est trop importante. Certes la quantité 10 mg.kg<sup>-1</sup> de manganèse dans l'échantillon est normal car il ne constitue pas de risque pour notre santé. L'échantillon du miel étudié renferme donc un élément essentiel pour la santé de l'homme.

### ❖ Dosage du fluorure

Le matériel a fait une sélection automatique de longueur d'onde correspondant au fluorure qui est de 570 nm. La valeur correspondant à la teneur en fluorure dans l'échantillon est de 10 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. Cette valeur montre que le miel étudié est un aliment qui contient du fluorure même en très faible quantité. D'ailleurs, comme nous l'avons précisé précédemment, le fluorure est un constituant essentiel des os et des dents. Le miel est donc un aliment qu'on a besoin pour notre santé.

### ❖ Dosage de l'aluminium [AHMED B, 2008]

La valeur de la longueur d'onde sélectionnée automatiquement par l'appareil pour détecter la présence d'aluminium est de 525 nm. La valeur correspondant à la teneur en aluminium de l'échantillon est de 20 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. Le taux moyen en aluminium dans un miel varie de 3 à 60 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. On constate que la teneur en aluminium du miel étudié appartient à cet intervalle. Cette valeur prouve que le miel est un aliment qui contient de l'aluminium mais en très faible quantité.

L'aluminium n'apporte rien à l'organisme. De plus, son accumulation entraîne des maladies graves comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. On s'aperçoit que l'échantillon de miel est sain car il ne contient qu'un très faible taux en aluminium.

### ❖ Dosage du nitrate [BERETTA G et al, 2010]

En injectant le témoin puis l'échantillon dans le matériel, ce dernier effectue une sélection automatique de longueur d'onde correspondant au nitrate qui est de 570 nm. La valeur correspond à la teneur en nitrate de l'échantillon, qui est de 10 mg.kg<sup>-1</sup> de miel. Le taux moyen en nitrate dans un miel est de 18,1 mg.kg<sup>-1</sup>. On constate que cette valeur est très inférieure à la valeur normale. Ce résultat s'explique sans doute par le fait que la teneur dépend du type de sol sur lequel les plantes poussent, où butinent les abeilles.

Le nitrate contribue à la protection sanitaire par leur action vis-à-vis des bactéries et des champignons. Il ne présente pas un effet toxique direct sauf à des doses élevées. L'échantillon de miel étudié renferme donc un taux normal de nitrate, d'où la qualité nutritive du miel.

### ❖ Dosage de l'ammoniaque

Le photomètre a effectué une sélection automatique de la longueur d'onde correspondant à l'ammoniaque et affiche 640 nm. La valeur lue sur l'écran est très petite, cela veut dire que la teneur en ammoniaque dans notre échantillon est infime et que même notre appareil ne peut plus le détecter. Ce résultat n'a rien d'étonnant car les recherches antérieures effectuées n'ont relevé une quelconque présence d'ammoniaque dans le miel. Il est normal que l'ammoniaque possède une teneur négligeable.

L'accumulation de l'ammoniaque dans l'organisme peut provoquer une irritation et des dommages à la bouche, à la gorge et au tube digestif. Cependant, ce scénario est peu probable vu qu'on n'a pas pu trouver d'ammoniaque dans notre échantillon de miel.

## CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous nous sommes consacrés à l'analyse microbiologique et au dosage des éléments minéraux dans un échantillon de miel d'eucalyptus de Manjakandriana.

L'analyse microbiologique nous a permis de déterminer le nombre d'ufc ou d'unité formant colonie, dans quatre germes différents à savoir les microorganismes à 30°C, *Escherichia coli*, les levures et moisissures et les bactéries sulfite-réductrices à 46°C. Les résultats de ces analyses nous ont montré que le miel étudié est un aliment conforme aux normes.

La détermination de la teneur en cendres brute montre que notre échantillon de miel contient 0,72g de matières minérales dans 100g de miel. Le dosage des éléments minéraux de l'échantillon, par la méthode colorimétrique, met en évidence la présence des éléments minéraux tels que le fer, le manganèse, le fluorure, l'aluminium et le nitrate. La teneur en ammoniacale trouvée est négligeable. Le miel est donc un aliment sain qu'on peut consommer quotidiennement.

Tous ces résultats sont des informations utiles surtout avec la réouverture du marché européen. La commercialisation d'un miel de qualité nécessite un développement sur le plan technique, mais aussi le suivi de bonnes conduites d'hygiène afin d'offrir un produit bénéfique pour la santé, sain et propre à la consommation.

Dans l'avenir, nous proposons d'abord d'élargir les études dans les autres régions productrices de miel de Madagascar et aussi sur d'autres types de miel. Ensuite, des recherches sur d'autres éléments minéraux essentiels à l'organisme peuvent être envisagées. Enfin, des critères de qualité d'un miel tels que la teneur en eau, la teneur en HMF, la teneur en sucre réducteur peuvent également faire l'objet de la suite de ce travail.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

### Ouvrages

**AHMED B, 2008** : Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltes dans le sud Algérien – Université Djillali Liabes – Sidi Bel Abbes – Ingénieur d'état en biologie option contrôle de qualité et analyses.

**BERETTA G, GELMINI F, LODI V, PIAZZALUNGA A, FACINO R.M, 2010**: Profile of nitric oxide (NO) metabolites (nitrate, nitrite and N-nitroso groups) in honeys of different botanical origins; Nitrate accumulation as index of origin, quality and therapeutic opportunities. Journal of pharmaceutical and biochemical analysis 53, 343-349.

**BIERI K, BOGDANOV S, GALLMANN P., 2005** : Miels monofloraux suisses, Centre de recherches apicoles, Station de recherches en production animale et laitière, 55p.

**BOGDANOV S, LULLMANN C et MARTIN P., 1997**: Harmonised methods of the European Honey Commission. Apidologie. p 1-59.

**CITE et GRET, 2009** : Etude nationale de la filière miel, Analamanga, Amoron'i Mania, Haute Matsiatra. 67p.

**CITE, 2004** : Etude de la filière apiculture en vue du développement de l'exportation

**CODEX ALIMENTARIUS, 2003** : Norme pour le miel. 10p.

**CUQ Jean Louis, 2007** : Microbiologie Alimentaire, Université Montpellier II, Département Sciences et Technologie des Industries Alimentaires. 134p.

**E. SCHNEIDER, 2007** : Synthèse filière Miel- région Analanjirofo. 20p.

**European Aluminium Association, 2012** : l'aluminium et la santé

**GONNET M, 1982** : Le miel ; composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture. p 1-18.

**GUERZOU M N et NADJI Noureddine, 2002** : Etude comparative de quelques miels locaux et autres importés – Université Ziane Achour de Djelfa – Algérie – ingénierie d'état en Agronomie 2002.

**HUCHET E, COUSTEL J, GUINOT L, 1996** : Les constituants chimiques du miel. Méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. France. 16p.

**LOUVEAUX J, 1968**. Composition propriété et technologie du miel. Les produits de la ruche, in Traité de biologie de l'abeille. Tome 03. Ed Masson et Cie. 389p.

**NEYRAT P, 2008** : Guide technique diététique : rubrique nutriments, rubrique sels minéraux.

**NF EN ISO 4833-1**: Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des microorganismes à 30°C – Partie 1 : comptage des colonies par ensemencement en profondeur.

**NF EN ISO 8199** : Lignes directrices générales pour le dénombrement des microorganismes sur milieu de culture.

**NF ISO 16649-2** : Microbiologie Alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidase positive – Partie 2 : comptage des colonies à 44°C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl  $\beta$ -D-glucuronate.

**NF V 08-059** : Microbiologie Alimentaire – Recherche et dénombrement des levures et des moisissures.

**NF V 08-061** : Microbiologie Alimentaire – Recherche et dénombrement des colonies à 46°C en anaérobiose.

**POTALAB WE10010** Instructions. 80p.

**RABEHARIFARA Z P, 2011** : Caractérisation alimentaire des miels malgaches en vue d'une authentification : cas des miels d'eucalyptus – Université d'Antananarivo – Faculté des Sciences – DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition.

## Webographie

<http://www.chambon.ac-versailles.fr/science/bioch/fer.htm> consulté le 07/01/15

[http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/ana\\_equil\\_ions15.htm](http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/ana_equil_ions15.htm) consulté le 27/01/15

<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/3419.htm> consulté le 16/10/14

<http://www.naturosante> - Info- Minéraux et oligo-éléments.htm consulté le 16/10/14

<http://www.nutrition-expertise/manganese.fr.htm> consulté le 16/10/14

<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/spectro/C1.html> consulté le 07/01/15

<http://www.wagtech.co.uk/categories/water-and-environmental/water-test-kits> consulté le 16/10/14

# ANNEXES

## ANNEXE 1 : MODE OPERATOIRE POUR LE DOSAGE DU FER

### TEST INSTRUCTIONS

Méthode photométrique

Sélection automatique des longueurs d'ondes **0 – 10 mg.L<sup>-1</sup> Fe**

### Réactifs

Pastille Iron HR

Photomètre Wag-WE 10441

Eprouvettes rondes, verre, 10mL (Wag-WE 10755)

### Procédure de test

Remplir le tube jusqu'à 10mL. Ajouter une pastille pastille Iron HR, écraser et remuer pour dissoudre. Attendre 1 minute pour permettre le développement de la couleur. Sélectionner phot 19 puis Lire le résultat (Voir mode d'emploi de l'instrument). Le résultat s'affiche en mg.L<sup>-1</sup> Fe.

### Complexes de fer

Le développement de la couleur sera complet normalement sous une minute. Le développement continué de couleur après cette période indique des complexes de fer plus fortement liés dans l'eau. Dans un tel cas il faut attendre 10 – 15 minutes pour le développement complet de la couleur.

Dans certaines applications industrielles, des agents complexants forts sont ajoutés pour empêcher la corrosion. De plus, certains échantillons peuvent contenir des complexes de fer précipités ou des particules de fer métallique. Ces échantillons exigeront donc un prétraitement par une procédure standard de laboratoire pour déterminer la teneur totale en fer. La méthode normale de prétraitement est l'acidification – avec ou sans ébullition, selon le caractère de l'échantillon.

Pour utiliser le test Wagtech Fer HR après une telle procédure de prétraitement, ajouter la pastille Iron HR à l'échantillon acidifié, utiliser de l'ammoniaque ou de l'hydroxyde de sodium pour ajuster le pH entre 6,0 – 9,0 puis prendre une lecture avec le photomètre en suivant la procédure normale.

## **ANNEXE 2 : MODE OPERATOIRE POUR LE DOSAGE DU MANGANESE**

### **TEST INSTRUCTIONS**

Méthode photométrique

Sélection automatique des longueurs d'ondes **0 – 0,030 mg.L<sup>-1</sup>Mn**

### **Réactifs**

Pastille Manganèse N° 1

Pastille Manganèse N° 2

Photomètre Wagtchech Wag-WE 10441

Eprouvettes rondes, verre, 10mL (Wag-WE 10755)

### **Collection d'échantillons**

Le manganèse est facilement absorbé par les surfaces de récipients d'échantillon. Pour éviter la perte du manganèse, tester l'échantillon aussitôt que possible après collection.

Due à l'extrême sensibilité de ce test, il est important d'assurer que la verrerie utilisée soit scrupuleusement propre. Pour les meilleurs résultats en laboratoire, il est conseillé de rincer toute verrerie à l'acide, puis de la laver avec l'eau déionisée, avant l'usage.

### **Procédure de test**

Remplir le tube jusqu'à 10mL. (Voir Note 1) ;

Ajouter une pastille Manganèse N° 1, écraser et remuer pour dissoudre ;

Ajouter une pastille Manganèse N° 2, écraser et remuer pour dissoudre ;

Attendre 20 minutes pour permettre de développement de la couleur. (Voir Note 2) ;

Sélectionner phot 20 ; puis lire le résultat (Voir mode d'emploi de l'instrument) ;

Le résultat s'affiche en mg.L<sup>-1</sup> Mn.

### **Note**

La formation de la couleur est très sensible à la température. La température de l'échantillon devrait être de 20° ± 1°C pour un résultat optimal.

Il est important d'observer une période d'attente de 20 minutes ± 1 minute, pour un résultat optimal. Toute continuation dans le développement de la couleur après cette période devrait être ignorée.

## **ANNEXE 3 : MODE OPERATOIRE POUR LE DOSAGE DU FLUORURE**

### **TEST INSTRUCTIONS**

Méthode photométrique

Sélection automatique des longueurs d'onde **0 – 1, 5 mg.L<sup>-1</sup> F**

#### **Réactifs**

Pastille Fluoride N° 1

Pastille Fluoride N° 2

Photomètre Wagtchech Wag-WE 10441

Eprouvettes rondes, verre, 10mL (Wag-WE 10755)

#### **Procédure de test**

Remplir le tube jusqu'à 10mL.

Ajouter une pastille Fluoride N° 1, écraser et remuer pour dissoudre ;

Ajouter une pastille Fluoride N° 2, écraser et remuer pour dissoudre ;

Attendre 5 minutes pour permettre le développement de la couleur ;

Sélectionner phot 14 ;

Lire le résultat (Voir mode d'emploi de l'instrument)

Le résultat s'affiche en mg.L<sup>-1</sup> F.

## **ANNEXE 4 : MODE OPERATOIRE POUR DOSAGE DE L'ALUMINIUM**

### **TEST INSTRUCTIONS**

Méthode photométrique

Sélection automatique des longueurs d'ondes **0 – 0,5 mg.L<sup>-1</sup> Al**

#### **Réactifs**

Pastille Aluminium N° 1

Pastille Aluminium N° 2

Photomètre Wagtech Wag-WE 10441

Eprouvettes rondes, verre, 10mL (Wag-WE 10755)

#### **Procédure de test**

Remplir le tube jusqu'à 10mL. ;

Ajouter une pastille Aluminium N° 1, écraser et remuer pour dissoudre ;

Ajouter une pastille Aluminium N° 2, écraser et remuer doucement pour dissoudre. Eviter d'agiter vigoureusement ;

Attendre 5 minutes pour permettre le développement complet de la couleur ;

Sélectionner phot 3. ;

Lire le résultat (Voir mode d'emploi de l'instrument) ;

Le résultat s'affiche en mg.L<sup>-1</sup> Al.

## **ANNEXE 5 : MODE OPERATOIRE POUR LE DOSAGE DU NITRATE**

### **TEST INSTRUCTIONS**

Méthode photométrique

Sélection automatique des longueurs d'ondes **0 – 1 mg.L<sup>-1</sup> ; 0 – 20 mg.L<sup>-1</sup>**

### **Matériel**

Pastille Nitratest ; Poudre Nitratest ; Pastille Nitricol ; Tube Nitratest, en plastique, 20 mL (PT 526) ; Photomètre Wagtech Wag-WE 10441 et Eprouvettes rondes, verre, 10 mL (Wag-WE 10755)

### **Procédure de test**

Remplir le tube Nitratest avec l'échantillon jusqu'au trait 20 mL. Ajouter une cuillère de poudre Nitratest et une pastille Nitratest. Ne pas écraser la pastille. Fermer le tube avec le capuchon et agiter pendant une minute. Attendre une autre minute puis remuer le tube trois ou quatre fois pour permettre la floculation. Attendre encore deux minutes ou jusqu'à l'obtention d'une solution claire. Enlever le capuchon et nettoyer le haut du tube avec un papier propre. Transférer le contenu de cette solution claire dans une éprouvette ronde, jusqu'au trait 10 mL. Ajouter une pastille Nitricol, écraser et remuer pour dissoudre. Attendre 10 minutes, jusqu'au développement complet de la couleur. Sélectionner la longueur d'ondes 570 nm du photomètre. Lire la valeur en % de transmission (voir méthode). Se référer à la table d'étalonnage du Nitratest. La valeur correspondante au % de transmission observée donne la concentration en mg.L<sup>-1</sup> de Nitrate. Pour convertir la concentration en mg.L<sup>-1</sup> en N à une concentration en mg.L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub>, multiplier le résultat par 4,4. Les teneurs en Nitrate supérieures à 1,0 mg.L<sup>-1</sup> peuvent être mesurées en diluant l'échantillon original avec de l'eau deionisée. Le test peut être conduit dans une gamme de mesure de 0 – 20 mg.L<sup>-1</sup> N comme indiqué : Prendre un tube Nitratest propre. Ajouter 1 mL de l'échantillon en utilisant une pipette ou un doseur. Remplir le tube Nitratest avec l'eau deionisée, jusqu'au trait 20 mL. Poursuivre la procédure normale (étapes 2 à 9), multiplier le résultat obtenu avec la table de calibration par 20 pour obtenir la concentration en Nitrate dans l'échantillon original.



## ANNEXE 6 : MODE OPERATOIRE POUR DOSAGE DE L'AMMONIAQUE

### TEST INSTRUCTIONS

Méthode photométrique

Sélections automatique des longueurs d'ondes **0 – 1,0 mg.L<sup>-1</sup> N**

### Réactifs

Pastille Ammoniac N° 1

Pastille Ammoniac N° 2

Photomètre Wagtchech Wag-WE 10441

Eprouvettes rondes, verre, 10mL (Wag-WE 10755)

### Procédure de test

Remplir le tube jusqu'à 10mL.

Ajouter une pastille Ammoniac N° 1 et une pastille Ammoniac N° 2, écraser et remuer pour dissoudre.

Attendre 10 minutes pour permettre le développement de la couleur.

Sélectionner phot 4 pour mesurer l'ammoniac en mg.L<sup>-1</sup> N ou sélectionner phot 62 pour mesurer en mg.L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>.

Lire le résultat (Voir mode d'emploi de l'instrument)

### Echantillons d'eau de mer

Le réactif de conditionnement ammoniacale doit être utilisé lors du contrôle d'échantillons d'eau de mer ou d'eau saumâtre, afin d'empêcher la précipitation de sels. Le réactif est fourni dans un paquet cuillère pour aider le dosage de la poudre.

Remplir l'éprouvette jusqu'à 10 ml, puis ajouter une cuillère de réactif de conditionnement.

Remuer pour dissoudre, puis suivre les consignes ci-dessus à partir de l'étape 2.

Si la turbidité continue à se développer, répéter en utilisant 2 cuillères du réactif de conditionnement.