

# Les effets du chauffage sur le HMF et l'invertase des miels

**Sophia KARABOURNIOTI et P. ZERVALAKI**  
**Laboratory of Quality Control, Bee Culturing Company Attiki**  
**Arcadias 18, Peristeri I2131, Athènes, Grèce**  
**Tél.: 0105711721, 0105751896; fax: 0105717113**  
**E-mail: [atikibee@otenet.gr](mailto:atikibee@otenet.gr)**

**Apiacta, 2001, 36 (4), 178 - 181**

## Résumé

Cinq échantillons de miels d'origine botanique différente ont été soumis pendant 24 heures à la température de 35o, 45o, 55o, 65o ou 75oC. La baisse du taux d'invertase et la hausse du taux de HMF ont été déterminées par des méthodes harmonisées. On discute de la possibilité d'utiliser l'invertase et le HMF comme indicateurs du niveau de chauffage subi par les miels. Le HMF peut être utilisé pour le dépistage des miels surchauffés, alors que l'invertase peut servir d'indicateur du chauffage moyen.

## Mots-clefs

miel/invertase/HMF/chauffage

## Introduction

En vue de sa mise sur le marché, le miel doit être soumis à différents traitements, dont l'exposition à la chaleur. L'activité de la diastase et le taux d'hydroxyméthylfurfural (HMF) sont considérés comme les principaux paramètres permettant d'évaluer la fraîcheur des miels et d'avoir des informations sur les traitements thermiques subis et les conditions de conservation. De nombreux auteurs ont exprimé des opinions différentes sur l'utilité de ces paramètres. WHITE (1992, 1994) a critiqué sévèrement, dans une série d'articles, l'emploi de la teneur en diastase comme critère de qualité dans l'évaluation de miels. Selon lui, la teneur en diastase n'est pas un indicateur fiable de la qualité des miels, alors que le taux de HMF convient mieux à ce but et peut "fournir toutes les informations nécessaires concernant l'exposition à la chaleur de n'importe quel miel". Dans une étude antérieure, WHITE (1964) démontrait que l'invertase est préférable à la diastase car plus sensible au chauffage. DUSTMANN (1993) a affirmé que "l'invertase, en association avec d'autres critères analytiques, permet de dépister les dommages provoqués par le surchauffage ou le stockage de longue durée" et encore que "le HMF ne convient nullement à la mise en évidence des dommages dus à la chaleur s'il est pris comme critère unique d'évaluation". L'invertase est l'enzyme responsable de la conversion du saccharose en fructose et en glucose. Elle est sécrétée par les glandes nourricières des ouvrières qui l'ajoutent au nectar amené dans la ruche (WHITE, 1975) et elle assure la transformation du nectar en miel au cours du processus de maturation. La quantité d'enzyme sécrété dépend de l'âge de l'abeille (BROUWERS, 1982, 1983), de l'état et de la force de la colonie (HUANG et coll., 1989), du flux de nectar, des conditions météorologiques (WHITE, 1975) et des méthodes de conduite des colonies (LAUDE et coll., 1991).

WHITE et coll. (1964) ont étudié les effets de la conservation et des traitements thermiques sur l'invertase, la diastase et le HMF. TAKENAKA et ECHIGO (1974) ont étudié le processus de baisse de l'invertase et de la diastase durant le stockage des miels et DUSTMANN et coll. (1985) ont déterminé la précision des méthodes basées sur l'invertase. La teneur en invertase a été déterminée par BOGDANOV et coll. (1987) sur des miels suisses et d'autres pays, ALDCORN et coll. (1985) sur des miels canadiens, LAUDE et coll (1991) sur des miels des Philippines, HUIDOBRO et coll. (1995) sur des miels espagnols, KARABOURNIOTI et DRIMJIAS (1997) et TSIGOURI et PASSALOGLOU (2000) sur des miels grecs et PERSANO ODDO et coll. (1996, 1999) sur des miels italiens.

Le but de la présente étude a été de suivre l'évolution du processus de diminution de l'activité de l'invertase et de hausse du HMF au cours du chauffage à des températures différentes et d'étudier les associations possibles entre ces paramètres en vue de les utiliser comme indicateurs d'un éventuel surchauffage. La sélection d'échantillons d'origine botanique diverse et à valeur initiale différente de ces paramètres a eu justement pour objectif de déterminer les effets de la chaleur sur des miels divers et d'évaluer la résistance de ce produit de la ruche au traitement thermique.

## **Matériel et méthodes**

Cinq échantillons de miels d'origine botanique différente, à savoir: pin, thym, cotonnier, tournesol et oranger, ont été divisés en six portions de 500 g chaque. L'origine botanique a été déterminée par analyse sensorielle, à l'aide de la conductibilité électrique et de l'analyse pollinique réalisée par la méthode de Louveaux et coll. (1978). L'une des six portions obtenues pour chacun des miels n'a pas été chauffée, mais les cinq autres ont été placées en bain-marie pour 24 heures à la température de 350, 450, 550, 650 ou 750°C. Tous les miels provenaient de la récolte 2001, à l'exception de celui de tournesol récolté en 2000 et ayant donc été conservé pendant un an, ce qui explique la forte teneur en HMF de la fraction non chauffée. Pour tous les miels récoltés en 2001, l'intervalle écoulé entre l'extraction et le traitement a varié de dix jours à trois mois, temps pendant lequel ils ont été conservés à la température de la chambre. Les miels ont été examinés tout de suite après le chauffage pour leur teneur en HMF et en invertase.

L'activité de l'invertase a été déterminée par la méthode de SIEGENTHA-LER (1977), basée sur la mesure par spectrophotométrie de la décomposition du p-nitrophényl-alpha-D-glucopyrinoside (p-NPG) en p-nitrophénol, à 400 nm. Les résultats sont exprimés en unités d'enzyme par kilogramme (U/kg). Le HMF a été mesuré par la méthode de WHITE (1979), basée sur l'absorption en UV du HMF à 284 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes par kilogramme (mg/kg). L'analyse a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre en UV à double rayon Hitachi U-2001.

## **Résultats**

Sur le tableau I nous donnons les valeurs obtenues pour le HMF et l'invertase pour les cinq miels soumis à des températures différentes. Comme nous nous y attendions, le HMF a augmenté et l'invertase a baissé à la suite du traitement thermique. Nous avons constaté que la résistance à la chaleur varie en fonction de l'origine botanique du miel

considéré. Le miel de pin s'est avéré le plus résistant à la chaleur, tout comme celui d'oranger, suivis par les miels de thym, de cotonnier et de tournesol.

*Les effets du chauffage sur les taux d'invertase et de HMF des miels (Tableau I)*

Type de miel	Pin		Oranger		Cotonnier		Thym		Tournesol	
	HMF (en mg/kg)	Invertase (en U/kg)	HMF (en mg/kg)	Invertase (en U/kg)	HMF (en mg/kg)	Invertase (en U/kg)	HMF (en mg/kg)	Invertase (en U/kg)	HMF (en mg/kg)	Invertase (en U/kg)
Non chauffé	1,20	200,30	2,25	23,85	26,80	93,00	9,70	104,10	8,78	70,64
35	1,95	179,30	3,45	18,90	29,20	90,10	9,90	96,50	10,78	65,64
45	2,25	174,50	3,75	12,70	32,60	72,50	11,40	74,20	13,17	53,56
55	4,80	121,30	4,35	10,80	39,00	28,90	16,50	32,40	23,95	20,66
65	12,40	10,65	19,00	3,50	87,60	2,55	52,70	4,0	48,20	6,35
75	43,40	4,90	63,30	0	226,35	0	173,4	0	191,35	1,11

La baisse de l'invertase a démarré déjà à la température de 35oC. Les résultats que nous avons enregistrés montrent que le chauffage du miel pendant 24 heures à 55oC n'entraîne aucune hausse significative du HMF. De fait, le taux initial de HMF a été inférieur à 40 mg/kg sur tous les miels analysés, y compris celui de tournesol. La teneur en invertase a baissé après chauffage à 55oC de moins de la moitié de sa valeur de départ sur le miel de pin, de la moitié environ sur celui d'oranger et d'environ 70% sur les miels de cotonnier, de thym et de tournesol. Après chauffage à 65oC, le HMF est encore bas sur les miels de pin et d'oranger, alors que sur les autres il dépasse les 40 mg/kg. À cette température, la baisse de l'invertase est d'environ 90% sur les miels de pin, de tournesol, de cotonnier et de thym et de 85% sur celui d'oranger. Bien que le miel d'oranger ait eu la valeur de départ la plus faible, il s'est avéré par ailleurs le plus résistant à la dégradation thermique de l'enzyme, comparé aux autres miels à invertase initiale plus élevée. À 75oC l'enzyme est pratiquement complètement détruit et le HMF augmente très fortement, à l'exception toutefois du miel de pin sur lequel il dépassait à peine les 40 mg/kg.

**Discussion**

La dégradation de l'invertase est très rapide et démarre déjà à 35oC, température qui est atteinte couramment pendant l'été dans bon nombre de pays. La valeur de départ de l'invertase dépend de l'origine du miel et peut varier dans de très larges limites. L'utilisation de l'invertase comme indicateur du niveau de chauffage suppose la connaissance des limites de variation de l'enzyme en rapport avec l'origine du produit et des teneurs initiales des produits lorsqu'il s'agit de mélanges. De plus, comme l'a d'ailleurs démontré PERSANO ODDO (1999), il est très difficile d'établir des limites générales pour le niveau de l'enzyme car "toute limite peut s'avérer trop stricte pour certains miels et tout à la fois beaucoup trop permissive pour d'autres".

Le taux de HMF est le critère le plus important et le plus fiable pour détecter les miels surchauffés, d'autant plus que le HMF est absent des miels frais. Tout comme pour l'invertase, il y a des différences entre les miels floraux et les miellats, entre les miels d'origine botanique diverse, en fonction aussi des amples variations du pH et de l'acidité. Dans certains miels la hausse du taux de HMF est lente, ce qui rend difficile le dépistage d'un éventuel surchauffage. L'exposition à des températures pas très élevées, entre 40°C et 50°C par exemple, est plutôt difficile à détecter.

Du fait que tant l'invertase que le HMF présentent des limites d'utilisation, la meilleure solution semble être l'association de ces deux critères analytiques, compte tenu du fait que l'invertase permet d'identifier l'exposition à des températures modérées et que le HMF fournit des informations sur l'éventuel surchauffage du produit.

## Bibliographie

- [1] Aldcorn, D L; Wandler, E; Sporns, P (1985) Diastase( $\alpha$  and  $\beta$ -amylase) and  $\alpha$ -glucosidase(sucrase) activity in western Canadian honeys. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 18(3): 268-270.
- [2] Bogdanov, S; Rieder, K; Ruegg, M (1987) Neue Qualitastskriterien bei Honiguntersuchungen. *Apidologie* 18(3): 267-278.
- [3] Brouers EVM (1982) Measurement of hypopharygeal gland activity in the honeybee *Journal of Apicultural Research* 21(4): 193-198.
- [4] Brouers EVM (1983) Activation of hypopharygeal glands of honeybees in winter *Journal of Apicultural Research* 22(3): 137-141.
- [5] Dustmann, JH; Praagh, JP; Bote, K (1985) Zur bestimmung von diastase, invertase und HMF in honig. *Apidologie* 16(1): 19-30.
- [6] Dustmann JH(1993) Honey quality and its control. *American Bee Journal* 133(9): 648-651.
- [7] Huang,ZY; Otis, GW; Teal,PEA (1989) Nature of broad signal activity the protein synthesis of hypopharygeal gland in honeybee *Apis mellifera*(Apidae:Hymenoptera) *Apidologie* 20, 455-464.
- [8] Huidobro, JF; Santana, FJ; Sanchez, MP; Sancho, MT; Muniategui, S; Simal-Lozano J(1995) Diastase, invertase and  $\beta$ -glucosidase activities in fresh honey from north-west Spain. *Journal of Apicultural Research* 34(1): 39-44.
- [9] Karabournioti S; Drimjias N (1997) Some physicochemical characteristics of Greek monofloral honeys *Apiacta* XXXII 44-50.
- [10] Laude, VT; Naegel, L; Horn, H (1991) Die physiko-chemischen Eigenschaften Philippinischer Honige *Apidologie* 22, 371-380.
- [11] Louveaux, J; Maurizio, A; Vorwohl, G (1978) Methods of melissopalynology. *Bee World* 59(4): 139-157.
- [12] Siegenthaler U (1977) Eine einfache und rasche Methode zur Bestimmung der  $\alpha$ -Glucosidase(Sacharase) in Honig. *Mitt Geb Lebensmittelunters Hyg* 68, 251-258.
- [13] Takenaka, T; Echigo, T (1974) Changes in enzyme activity during the storage of honey. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Tamagawa University* no 14: 19-25.
- [14] Tsigouri A, Passaloglou M (2000) A scientific note on the characteristics of thyme honey from the Greek island of Kithira. *Apidologie* 31, 457-458.
- [15] Persano Oddo, L; Pulcini, P; Piazza, MG ((1996) Invertase content of Italian unifloral honeys. *Apicoltura Moderna* 87 (1) 25-29.
- [16] Persano Oddo, L; Piazza, MG; Pulcini, P((1999) Invertase activity in honey.

Apidologie 30: 57-65.

[17] White, J; Kushnir, I; Subers M H (1964) Effect of storage and processing Temperatures on honey quality. Food Technology 18(4): 153-156.

[18] White, JW (1975) Composition of honey, in Crane E. (Ed), Honey: A Comprehensive Survey, Heinemann, London pp. 180-194.

[19] White, JW(1979) Spectrophotometric method for hydroxymethylfurfural in honey. J Assoc Off Anal Chem 62, 509.

[20] White, JW (1992)Quality evaluation of honey: Role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. American Bee Journal 132(11/12): 737-742, 792-794.

[21] White, JW (1994) The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. Bee World 75(3): 104-117.