

Les sucres d'un miel par RMN

1. Qu'est ce que le miel ?

1.1 Faire une recherche sur la définition légale et les règles d'étiquetage.

1.2 Rechercher la composition moyenne d'un miel ; faire une présentation en secteurs.

✂ : Google Scholar est un moteur de recherche utile.

1.3 En solution, les molécules de glucose et de fructose sont sous forme cyclique (revoir partie B). Rechercher quelles en sont les formes prédominantes dans le miel.

1.4 Rechercher les formules des formes prédominantes et les dessiner en utilisant la représentation de Haworth.

2. Le miel d'acacia étudié correspond-il à cette description ?

On utilisera la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton (^1H) car elle permet de connaître la nature des composés présents.

2.1 Pour une première approche des spectres, on peut réaliser un spectre simulé de l'espèce majoritaire du glucose contenu dans un miel à l'aide du logiciel de simulation

http://www.nmrdb.org/new_predictor/index.shtml?v=v2.28.0

Etude des spectres RMN ^1H du glucose, du fructose du saccharose et d'un miel d'acacia

Ces spectres ont été réalisées par Camille Doyen et Laetitia Le Falher dans le groupe de gastronomie moléculaire, Inra -AgroParis Tech (Paris centre Claude Bernard)

Conditions de l'expérience : l'appareil utilisé est un spectromètre Avance 300 MHz Bruker. La sonde utilisée était une sonde de proton. Le spectre résulte de 32 acquisitions, avec des conditions d'acquisition qui permettent la relaxation totale des protons.

Annexe 1 : spectre RMN du glucose

Annexe 3 : spectre RMN du saccharose

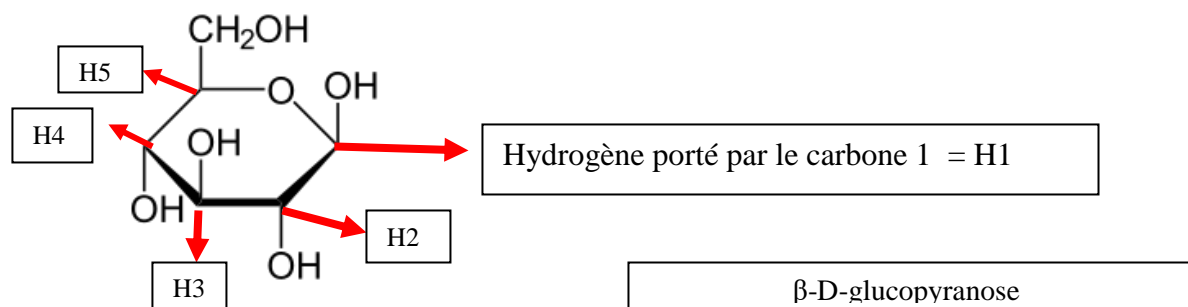
Annexe 2 : spectre RMN du fructose

Annexe 4 : spectre RMN du miel d'acacia.

2.2. Etude du spectre RMN du glucose (annexe 1)

On étudie la spectroscopie de RMN du noyau d'atome d'hydrogène ^1H (appelée couramment spectroscopie de RMN du proton). Des signaux sont multiples, deux groupes de résonances (pics, signaux) sont retenus pour une analyse rapide : le **doublet à 5,1 ppm** et le **triplet entre 3,0 et 3,2 ppm**. Ils sont caractéristiques du glucose.

La représentation cyclique d'une des formes du glucose est donnée, avec une numérotation des atomes de carbone :



2.2.1. Pourquoi a-t-on des signaux multiples dans certains cas ?

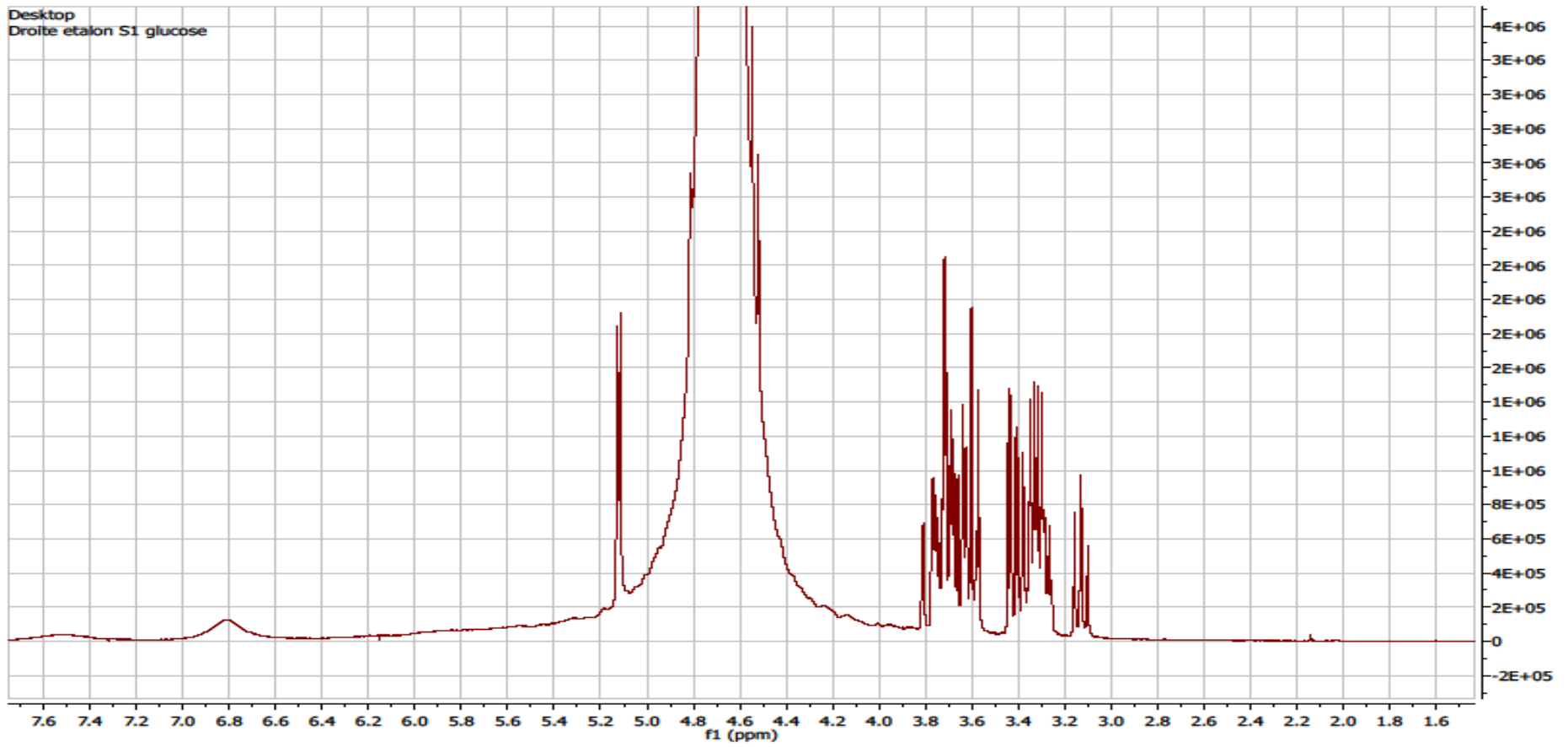
2.2.2. De quelle grandeur dépend la multiplicité des signaux ?

2.2.3. Emettre des propositions sur l'origine du doublet et du triplet étudiés.

2.3 Quels sucres dans le miel d'acacia ?

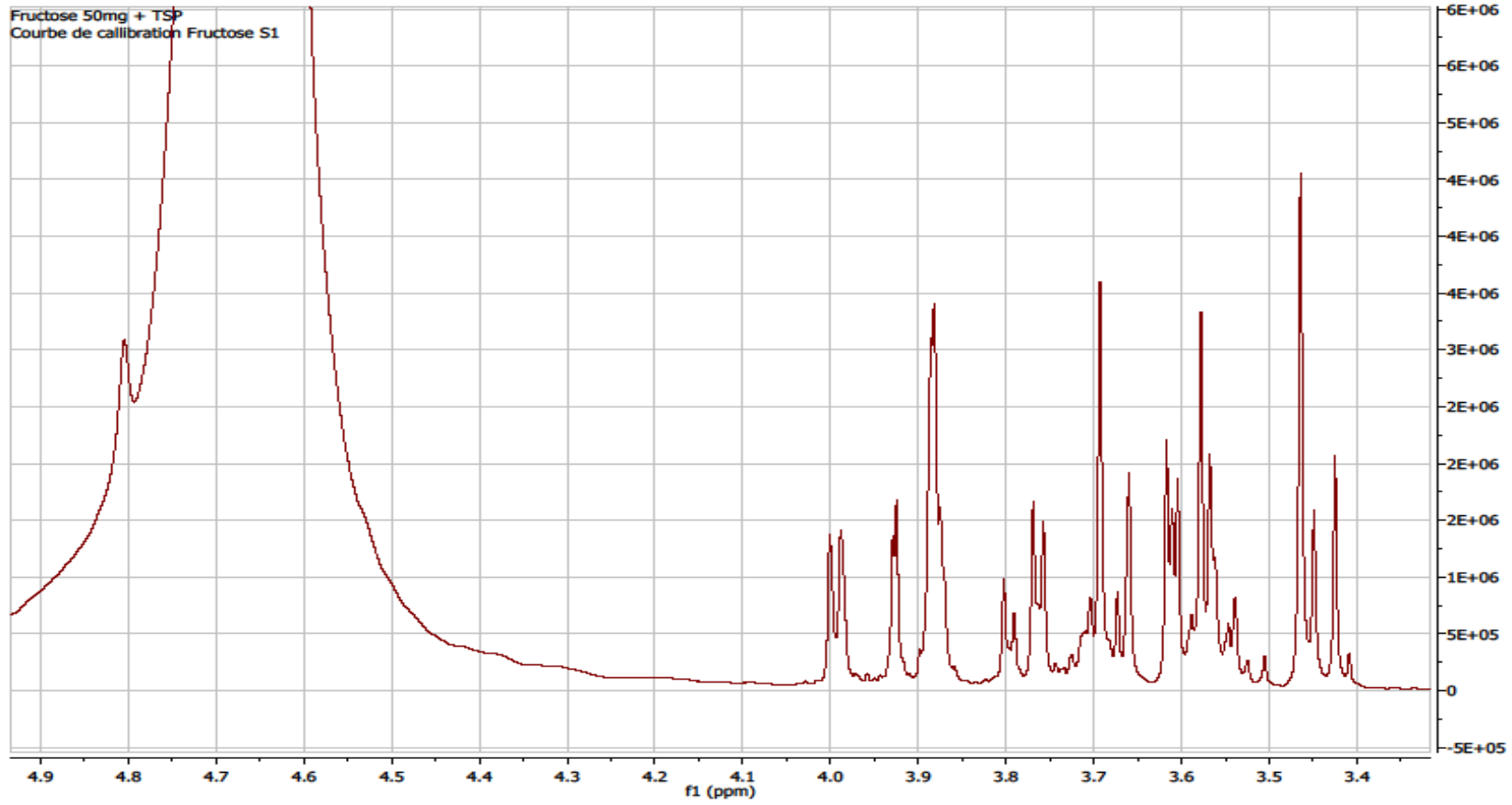
En étudiant le spectre du miel d'acacia (annexe 4) et en le comparant aux autres spectres (annexes 1 à 3), justifiez la présence ou l'absence de glucose, de fructose et de saccharose. Argumenter la réponse.

Annexe 1 : Spectre RMN du glucose



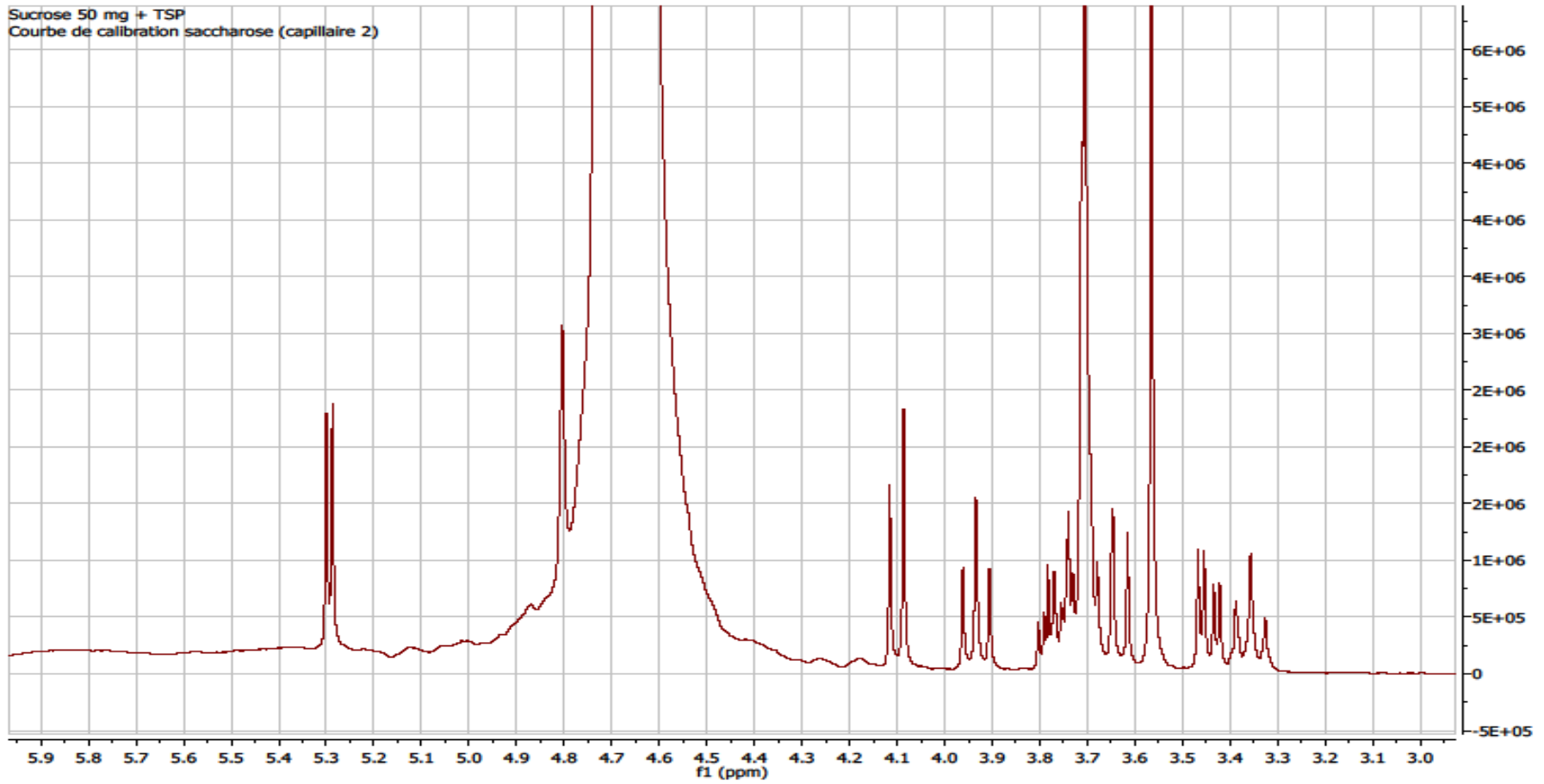
Le doublet à 5,1 ppm et le triplet entre 3,0 et 3,2 ppm sont caractéristiques du glucose.

Annexe 2 : Spectre du fructose



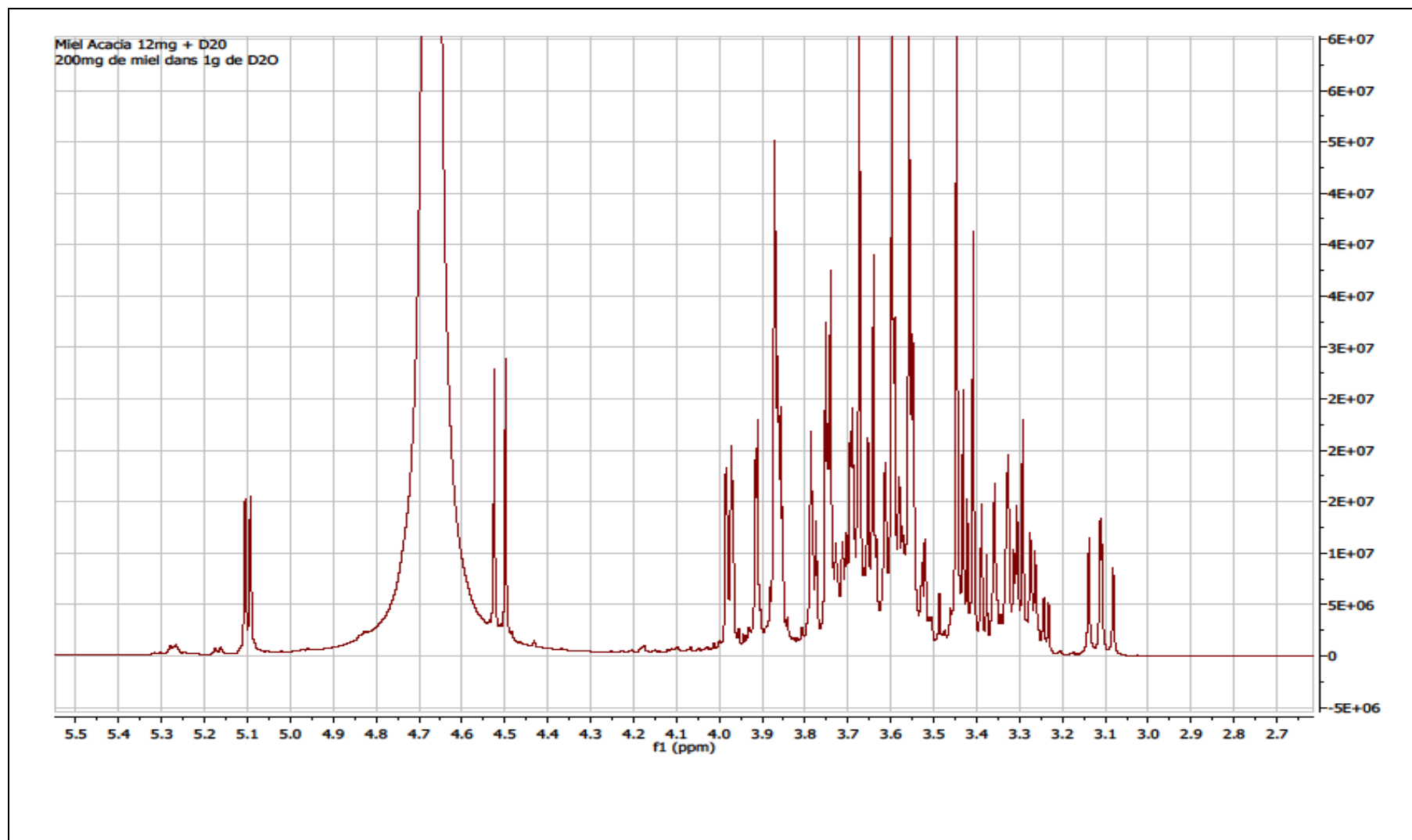
Le doublet à 3,98 ppm sera retenu comme caractéristique du fructose

Annexe 3 : Spectre du saccharose (nommé sucrose en anglais)



Triplet entre 3,9 et 3,95 et le doublet à 4,1 ppm seront retenus, caractérisant le saccharose

Annexe 4 : Spectre d'un miel d'acacia



Compléments pour le professeur

1.1.Étiquetage du miel (01/10/2010)

La réglementation définit le miel, fixe les dénominations légales de vente des différentes variétés de miel et précise les modalités générales et particulières d'étiquetage et de présentation, ainsi que les caractéristiques de composition des produits.

Définition : <http://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publications/Vie-pratique/Fiches-pratiques/Etiquetage-du-miel>):

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment, en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. A l'exception du miel filtré, aucun pollen ou constituant propre au miel ne doit être retiré, sauf si cela est inévitable lors de l'élimination de matières organiques et inorganiques étrangères.

Caractéristiques de composition :: Elles sont fixées par l'annexe II du [Décret n°2003-587 du 30 juin 2003](#) pris pour l'application de l'article L. 214-1 du code de la consommation en ce qui concerne le miel Annexes I et II.pour :

la teneur en sucres : fructose, glucose et saccharose, la teneur en eau, la teneur en matières insolubles dans l'eau
la conductivité électrique, les acides libres, l'indice diastasique et la teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF).

Étiquetage : Les règles d'étiquetage et de présentation sont celles applicables aux denrées alimentaires et celles concernant les denrées préemballées prévues par le code de la consommation.

Mentions obligatoires : La dénomination de vente

Exemples : miel de fleurs, miel de miellat, miel en rayons, miel de printemps, miel crémeux, miel filtré, miel destiné à l'industrie.

Elle peut être complétée (sauf pour le miel filtré ou destiné à l'industrie) par des indications ayant trait à l'origine florale ou végétale : miel d'acacia, miel de sapin ..., à l'origine régionale, territoriale. Toutefois, cette mention complémentaire ne doit pas être de nature à induire l'acheteur en erreur sur les qualités substantielles du produit.

Pour les miels polyfloraux : miel de thym et de lavande, par exemple, la double indication florale ou végétale peut figurer en complément de la dénomination de vente à condition que les fleurs et végétaux mentionnés aient la même période de production et la même origine géographique. Si ce n'est pas le cas, le terme mélange doit apparaître clairement sur l'étiquette.

Autres dénominations : miel filtré et miel destiné à l'industrie.

Liste des ingrédients : Elle n'est pas exigée pour le miel désigné sous la dénomination miel (produit ne comportant qu'un seul ingrédient - Article R. 112-15 du code de la consommation) mais la composition des miels polyfloraux peut être signalée (miel de lavande et miel de thym par exemple).

Date de durabilité : La DLUO (date limite d'utilisation optimale) est indiquée en clair. Toutefois elle peut être annoncée par la mention : A consommer de préférence avant fin ... en indiquant le mois et l'année lorsque la durabilité est comprise entre 3 et 18 mois ou seulement l'année lorsque la durabilité est supérieure à 18 mois.

Nom ou raison sociale et adresse du fabricant ou conditionneur ou vendeur

Indication du lot de fabrication peut être remplacée par la DLUO lorsqu'elle est exprimée en clair (jour, mois, année).

Indication du ou des pays d'origine : Exemples : Origine France, Récolté en France ou "Mélange de miels"

1.2. Rechercher la composition moyenne d'un miel, faire une présentation en secteur.

Composition moyenne du miel :

D'après la thèse Alexandra ROSSANT, POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 1er avril 2011

UNIVERSITE DE LIMOGES, FACULTE DE PHARMACIE, LE MIEL, UN COMPOSE COMPLEXE AUX PROPRIETES SURPRENANTES

Comme nous l'avons vu, le miel est un produit très complexe dont la fabrication demande plusieurs étapes qui toutes ont une influence sur sa composition chimique finale. En effet, la composition qualitative de ce produit est soumise à de nombreux facteurs très variables qu'il est impossible de maîtriser tels que : la nature de la flore visitée et celle du sol sur lequel pousse ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie, etc. En schématisant à l'extrême, on pourrait dire que la composition moyenne du miel est la suivante (www.Beekeeping.com) :

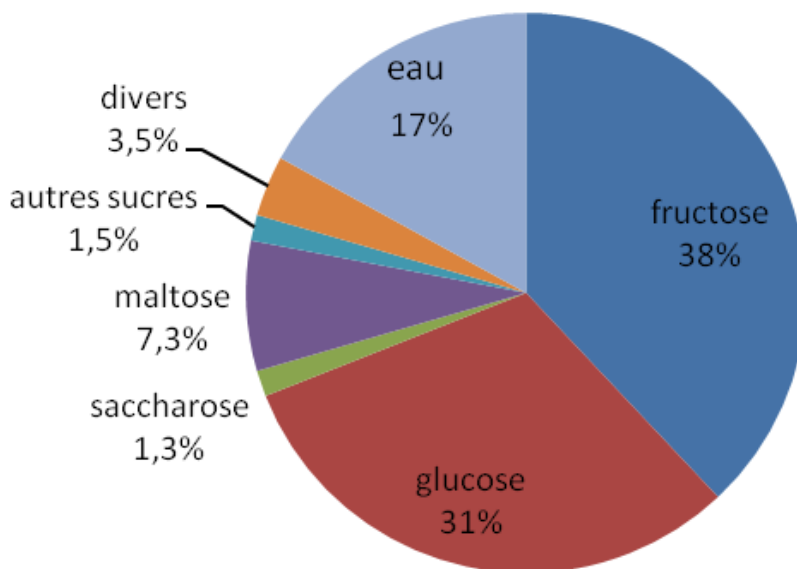
- Saccharides: 79,5%

- Eau : 17%

- Divers : 3,5%

Il est évident qu'en réalité, cette composition est beaucoup plus complexe et aujourd'hui, tous les constituants sont loin d'être connus

Composition moyenne du miel (Bruneau E., 2002).

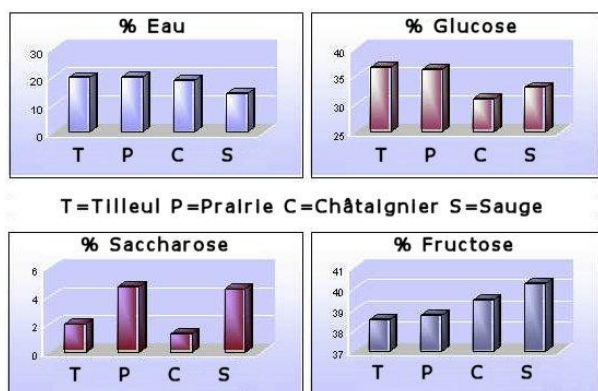


Des sucres simples : à eux seuls, glucose et fructose qui a eux seuls représentent plus des 2/3 du miel de nectar.

(Le rapport fructose/glucose est très variable de 0.8 à 1.8 avec une moyenne de 1.2)

- D'un peu moins de 20% d'eau

- De rarement plus de 5% de saccharose (que l'on appelle communément le sucre)



Le miel de châtaignier est un miel de miellat riche en trioses

Le glucose et le fructose entrent en compte pour environ 35 à 40% chacun, ce sont les principaux sucres du miel, mais la présence de tous les autres sucres fait la variété des miels.

3 facteurs principaux déterminent la rapidité de cristallisation du miel :

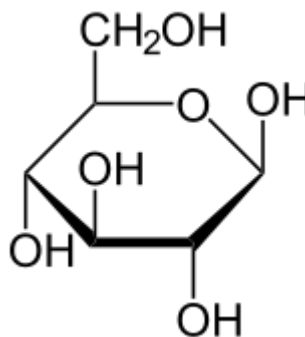
- le rapport du pourcentage en glucose avec celui du fructose,
- le rapport du pourcentage en glucose avec celui en eau,
- la température du lieu de stockage.

Lorsqu'un miel est riche en glucose et pauvre en fructose, sa cristallisation sera rapide. Le miel d'acacia, riche en fructose et pauvre en glucose reste en l'état dans la mesure où il n'est pas pollué par d'autres nectars

1.4 Représentation des molécules de glucose et fructose

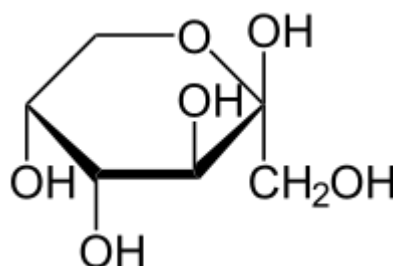
Le glucose : en solution aqueuse, le glucose est en équilibre tautomère : 65 % sous forme β-D-glucopyranose, 0,1 % sous forme D-glucose (linéaire) et 35 % d'α-D-glucopyranose (20°C). La cyclisation des sucres permet d'avoir deux fois plus d'isomères.

β -D-glucopyranose



Dans l'eau, la forme tautomère prédominante est la forme bêta-D-Fructopyranose (73 % à 20 °C), suivie de la forme bêta-D-fructofuranose (20 %)

β -D-Fructopyranose



Etude du spectre RMN du glucose

2.2.1 Pourquoi a-t-on dans certains cas des signaux multiples ?

La démultiplication des signaux est due aux interactions entre les protons voisins non équivalents.

2.2.2 De quelle grandeur dépend la multiplicité des signaux ?

Dans un spectre du proton, la multiplicité des signaux dépend du nombre n d'atomes d'hydrogène portés par les atomes voisins. Le nombre de résonances (pics) dans un signal est égal à n+1.

2.2.3 Emettre des propositions sur l'origine du doublet et du triplet étudiés.

Hydrogène	Multiplicité	Multiplicité
H1	1+1=2	doublet
H2	2+1=3	triplet
H3	2+1=3	triplet
H4	2+1=3	triplet
H5	3+1=4	quadruplet

La molécule de glucose existe sous deux formes alpha et bêta

*D'après la thèse Anatoli P. Sobolev,¹ Elvino Brosio,² Raffaella Gianferri² and Anna L. Segre¹
1 Institute of Chemical Methodologies of CNR, Rome 1 Research Area, Via Salaria km 29,300-00016
Monterotondo (Roma), Italy 2 Department of Chemistry, University of Rome La Sapienza, P.le Aldo Moro, 5-
00185 Roma, Italy (May 2005)*

Il est possible d'établir

Glucose	H1	H2	H3	H4	H5
Forme α	5,23	3,53	3,71	3,41	3,82
Forme β	4,64	3,24	3,49	3,40	3,46

On peut conclure que le doublet à 5,1 ppm correspond à la forme α du glucose et que le triplet à 3,24 ppm

Correspond à la forme β du glucose