



MÉTHODES D'ANALYSE DE L'ACTIVITÉ DIASTASIQUE DU MIEL

CE QUE DÉTECTE LA MÉTHODE



✓ L'activité de la diastase dans le miel, critère réglementé indicateur de qualité et de fraîcheur du miel.

Fourchette de prix : 15-25€HT

Avantages

- Critère réglementé reconnu
- Trois méthodes d'analyse harmonisées et normées
- Indicateur de qualité du miel (âge, traitements thermiques, stockage)
- Moins sensible aux traitements thermiques rapides qu'aux chauffages prolongés
- Peut permettre de détecter l'adultération

Limites

- Trois méthodes d'analyse : résultats globalement comparables, mais parfois variables
- Variabilité naturelle selon le type de miel
- Moins sensible aux traitements thermiques rapides qu'aux chauffages prolongés

01

DÉFINITIONS

Les enzymes du miel : le miel contient des enzymes, comme la diastase, l'invertase ou encore la gluco-oxydase, apportées principalement par les abeilles. Une enzyme est une protéine spécialisée qui accélère une réaction chimique sans être consommée. Chacune est spécifique, elle agit sur certaines molécules et pour un type de réaction chimique.

La diastase : regroupe un ensemble d'enzymes, les amylases, qui catalysent la dégradation de l'amidon et des sucres complexes en sucres simples :

- L' α -amylase est la seule amylase apportée par les glandes salivaires de l'abeille lors du butinage. Certains nectars peuvent aussi en contenir.
- La β -amylase peut également être trouvée naturellement dans le miel, en faible proportion, apportée par le nectar ou le pollen.
- La γ -amylase n'est normalement pas présente naturellement dans le miel.

Les amylases sont également utilisées dans le processus de fabrication enzymatique des sirops de sucres, elles permettent d'hydrolyser l'amidon jusqu'à obtenir du sirop de glucose.

Pour aller plus loin dans les définitions, lire la fiche d'introduction 

LA DIASTASE COMME MARQUEUR DE QUALITÉ ET D'AUTHENTICITÉ

La présence de diastase dans le miel est un signe de fraîcheur et de qualité du produit. En effet les enzymes sont sensibles à la chaleur et se dégradent naturellement dans le temps. Leur activité est donc un indice de l'âge du miel, des traitements thermiques subis ainsi que des conditions de stockage.

Lorsqu'on parle de diastase ou d'indice diastasique dans le miel, il s'agit en réalité de l'activité enzymatique de l' α -amylase. La directive européenne 2001/110/CE relative au miel impose un seuil minimal d'activité diastasique « déterminée après traitement et mélange » pour les miels commercialisés :

- En général ≥ 8 unités de Schade (sauf pour les miels destinés à l'industrie).
- Pour les miels naturellement pauvres en enzymes (comme le miel d'agrumes), une valeur plus basse ≥ 3 unités de Schade est tolérée si la teneur en HMF (hydroxyméthylfurfural) est ≤ 15 mg/kg.

Une valeur anormalement élevée de diastase peut aussi indiquer une adultération avec ajout de diastase de synthèse. Dans ce cas, il est conseillé de faire des analyses complémentaires spécifiques pour la détection d'amylase exogène.

MÉTHODES DE MESURE ET DE CALCUL DE L'ACTIVITÉ DE LA DIASTASE

On ne mesure par la quantité de diastase dans le miel, mais l'activité de cette diastase. Toutes les méthodes d'analyse de l'activité diastasique reposent sur un principe commun : la diastase présente dans le miel dégrade un substrat.

Le substrat restant ou les produits de réaction sont révélés grâce à un colorant. La coloration de la solution est quantifiée par spectrophotométrie, c'est-à-dire en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde spécifique. L'intensité du signal mesuré est proportionnelle à l'activité enzymatique, permettant de calculer un indice diastasique nommé *Diastase Number* (DN).

L'activité diastasique est définie par l'IHC, *International Honey Commission*, comme la quantité d'enzyme nécessaire pour convertir 0,01 g d'amidon dans les conditions définies par le test. Les résultats sont exprimés en unités Schade par gramme de miel (parfois également appelées unités Gothe).

Trois méthodes sont aujourd'hui proposées par les laboratoires, certains n'en font qu'une seule, d'autres laissent le choix au client. Ces méthodes se basent sur le même principe mais diffèrent dans le substrat utilisé, c'est-à-dire la molécule sur laquelle l'enzyme agit.

• Analyse de l'activité diastasique selon Schade

Datant de 1958, la méthode d'analyse de l'activité diastasique selon Schade et al.¹ est la plus ancienne. Elle fait partie des méthodes harmonisées par l'IHC en 2009² et fait également l'objet d'une norme allemande DIN³.

Le miel est mis en solution avec de l'amidon soluble et l'échantillon est placé dans des conditions d'expérimentation à 40 °C pendant 1h. L'amidon est dégradé progressivement par l' α -amylase apportée

par l'abeille dans le miel, mais également par la β et γ -amylase, qui peuvent être présentes en faibles quantités. Des échantillons sont prélevés à intervalles réguliers et mélangés à de l'iode, qui réagit avec l'amidon présent et donne une couleur bleue à la solution. L'intensité de la couleur diminue avec le temps, à mesure que l'amidon se dégrade. La mesure de la couleur dans le temps jusqu'à atteindre le point fixé permet de calculer l'activité diastasique.

• Analyse de l'activité diastasique avec Phadebas®

Développée à partir de 1975, la méthode d'analyse avec Phadebas® a été harmonisée par l'IHC en 2009, elle a également été publiée à l'AOAC⁴. Il s'agit de la méthode préconisée dans le *Codex Alimentarius*.

Le miel est mis en solution avec un substrat spécifique commercialisé par Phadebas®. Sous forme de tablettes, il est constitué d'amidon lié à un colorant bleu. Lorsque l'amidon est dégradé par la diastase, des fragments de colorant soluble sont libérés. L'intensité de la couleur, c'est-à-dire son absorbance, est mesurée dans le temps par photométrie. La quantité de colorant libérée est proportionnelle à l'activité diastasique de l'échantillon.

Une étude sur 57 échantillons de miel analysés par la méthode Schade et la méthode Phadebas® a mis en évidence une corrélation entre les mesures obtenues et a permis de déterminer une équation permettant de calculer le DN en unités Schade à partir de l'absorbance mesurée avec Phadebas®. Cependant, cette formule n'est pas adaptée pour les valeurs faibles d'activité diastasique, comme on peut en trouver dans les miels chauffés ou dans certains miels monofloraux naturellement pauvres en enzymes.

Elle pourrait également poser problème pour les miels avec des valeurs de diastase >40 , mais de tels miels sont rares. Une adaptation de la formule a été proposée pour les activités diastasiques inférieures à 8⁵.

Cette méthode est plus rapide et plus précise que Schade, avec une meilleure reproductibilité entre laboratoires. Elle nécessite cependant l'achat des substrats Phadebas®, avec une variabilité entre les lots de substrats qui peut impacter les résultats. Afin de résoudre ce problème, l'entreprise propose désormais des tablettes conçues spécifiquement pour l'analyse du miel, ce qui permettrait de réduire cette variabilité⁶.

• Analyse de l'activité diastasique au nitrophénol

La méthode d'analyse avec le nitrophénol est plus récente et fait l'objet d'une norme DIN⁷. Cette norme n'est disponible qu'en allemand. Ne faisant pas partie des méthodes harmonisées par l'IHC en 2009, il est plus compliqué de trouver des informations détaillées sur sa mise en œuvre.

Un substrat synthétique est utilisé, le 4,6-Ethylidene(G7)-1[4-nitrophenyl(G1)]-1,4- α -D-maltoheptaoside⁸, également nommé 4-nitrophenyl. En présence d'une autre enzyme, l' α -glucosidase, cette molécule est dégradée par l' α -amylase. Un des produits de la réaction, le 4-nitrophenol, teinte la solution en jaune.

Plus sélective, cette méthode ne cible que la diastase apportée par l'abeille, l' α -amylase, là où les méthodes Schade et Phadebas® mesurent toutes les amylases, β et γ incluses. Moins répandue, l'analyse de la diastase au nitrophénol n'est pas proposée par tous les laboratoires.

COMPARAISON DES MÉTHODES D'ANALYSE DE L'ACTIVITÉ DIASTASIQUE

	Méthode Schade	Méthode Phadebas®	Méthode Nitrophénol
Harmonisation : standards et normes	Harmonised methods of the IHC (2009) DIN 10750-1	Harmonised methods of the IHC (2009) AOAC Official method 958.09-1977 (2010)	DIN 10750-2
Sélectivité⁸	Faible (mesure l'activité des α , β et γ -amylase)	Moyenne (principalement α -amylase)	Élevée (uniquement α -amylase)
Avantages	- Méthode historique largement documentée et éprouvée - Ne nécessite pas l'achat d'un substrat spécifique, substrat peu coûteux	- Méthode rapide et adaptée à l'analyse en série - Méthode recommandée dans le <i>Codex Alimentarius</i> - Substrat commercial standardisé (Phadebas®), ne nécessitant pas de préparation - Proposée par la majorité des laboratoires d'analyse de miels	- Méthode rapide - Substrat commercial standardisé
Limites	- Temps d'analyse long (1 heure) - Méthode manuelle avec prélèvement à intervalles réguliers, donc moins reproductible	- Coût élevé des réactifs commerciaux - Nécessite une équation adaptée pour les activités diastatiques faibles - Des variations entre lots de substrat peuvent entraîner des différences de résultats	- Méthode moins répandue, qui n'est pas proposée par tous les laboratoires d'analyse

Les trois méthodes sont reconnues, standardisées ou normées, et ont fait l'objet de tests comparatifs. Les résultats obtenus sont considérés comme comparables, bien qu'une variabilité puisse être observée. Si les différences de résultats entre méthodes pour un échantillon sont importantes, cela pourrait être un indice d'ajout de β - ou γ -amylase exogène.

Selon QSI, laboratoire international reconnu, la méthode selon Schade est moins sélective, elle mesure l'activité de l' α -amylase mais aussi des β - et γ -amylases⁹. C'est pourquoi les valeurs d'activité diastatique obtenues par cette méthode seraient généralement légèrement plus élevées que les autres.

AVANTAGES

L'analyse de l'activité diastatique du miel présente plusieurs avantages :

- Critère réglementé et reconnu, avec des données de référence.
- Moins sensible aux traitements thermiques rapides qu'aux chauffages prolongés¹⁰.
- Peut permettre de détecter l'adultération, en cas d'ajout d'enzyme ou au contraire d'activité enzymatique insuffisante.

LIMITES

L'analyse de l'activité diastatique du miel comporte également certaines limites :

- Moins sensible aux traitements thermiques rapides qu'aux chauffages prolongés¹⁰.
- Trois méthodes d'analyses sont proposées et utilisées. Bien que les résultats soient généralement comparables, des différences peuvent être observées.
- Variabilité naturelle selon le type de miel.

EXCEPTIONS CONNUES

La directive européenne relative au miel prévoit une exception avec une valeur de l'activité diastatique plus basse pour les miels naturellement pauvres en enzymes, sans donner d'autres exemples que le miel d'agrumes.

D'autres miels sont connus pour avoir naturellement une teneur en enzymes plus faible comme les miels de bruyère, d'acacia, de pissenlit, d'arbusier⁹ ou encore le miel de lavande^{11, 12}.

SOURCES BIBLIOGRAPHIQUES

¹ Schade J. E., Marsh G. L., Eckert J. E. (1958) « Diastase activity and hydroxy-methyl-furfural in honey and their usefulness in detecting heat alteration. » Journal of Food Science vol 23 issue 5, 446-463

² Bogdanov, S. (2009) « Harmonised methods of the international honey commission. » International Honey Commission.

³ DIN 10750-1 Analyse de miel - Détermination de l'activité de diastase - Partie 1: Méthode de Schade

⁴ AOAC Official method 958.09-1977 (2010), Diastatic activity of honey.

⁵ Persano Oddo L., Pulcini P. (1999) « A scientific note on the Phadebas method for honeys with low enzyme content. » Apidologie 30, 347-348.

⁶ Phadebas. « Diastase activity in honey »

⁷ DIN 10750-2 Analysis of honey - Determination of diastase activity - Part 2: Nitrophenol-based process

⁸ QSI GmbH. « Possibilities for the determination of diastase with QSI. A comparison of the methods according to Schade, Phadebas and Nitrophenol. »

⁹ Persano Oddo L., Baldi E., Accorti M. (1990) « Diastatic activity in some unifloral honeys. » Apidologie 21 (1), 17-24.

¹⁰ Bruneau E. (2011) « La refonte du miel. Fiche technique ».

¹¹ Estevinho LM, Chambó ED, Pereira APR, Carvalho CALd, Toledo VdAAAd. (2016) « Characterization of Lavandula spp. Honey Using Multivariate Techniques. » PLoS ONE 11(9): e0162206.

¹² Tourlet E. (2025) « La diastase est-elle un bon indicateur de fraîcheur pour le miel de lavande » Réussir Apiculture 11.



Interprofession des produits de la ruche

www.interapi.fr

ENSEMBLE, FAIRE AVANCER LA FILIÈRE APICOLE

InterApi, l'interprofession des produits de la ruche, a été créée en 2018 et reconnue officiellement en 2019. Elle rassemble l'ensemble des acteurs de la filière apicole : apiculteurs, conditionneurs, distributeurs et fabricants de matériel.

Sa mission : fédérer, représenter et défendre leurs intérêts, notamment en améliorant la qualité et la traçabilité des produits de la ruche, afin de garantir des conditions d'exercice durables et une rémunération équitable pour chaque maillon de la filière.