



HAL
open science

Qualification des miels de Corse par une approche multifactorielle : diversité pollinique & variabilité chimique

Yin Yang

► **To cite this version:**

Yin Yang. Qualification des miels de Corse par une approche multifactorielle : diversité pollinique & variabilité chimique. Autre. Université Pascal Paoli, 2014. Français. NNT : 2014CORT0009 . tel-01258188

HAL Id: tel-01258188

<https://theses.hal.science/tel-01258188>

Submitted on 18 Jan 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE DE CORSE-PASCAL PAOLI
ECOLE DOCTORALE ENVIRONNEMENT ET SOCIETE
UMR CNRS 6134 (SPE)



Thèse présentée pour l'obtention du grade de
DOCTEUR EN CHIMIE
Mention : CHIMIE ORGANIQUE ET ANALYTIQUE
Soutenue publiquement par
YIN YANG
le 9 décembre 2014

QUALIFICATION DES MIELS DE CORSE PAR UNE APPROCHE
MULTIFACTORIELLE : DIVERSITE POLLINIQUE & VARIABILITE
CHIMIQUE

Directeur(s) :

M Jean Costa, Professeur, Université de Corse
M Julien Paolini, Dr-HDR, Université de Corse

Rapporteurs :

Mme Mariana Usai, Professeure, Université de Sassari (Italie)
M Lhou Majidi, Professeur, Université Moulay Ismail de Meknès (Maroc)

Jury

Mme Mariana Usai, Professeure, Université de Sassari (Italie)
Mme Chantal Menut, Professeure, ENS de Chimie de Montpellier
M Lhou Majidi, Professeur, Université Moulay Ismail de Meknès (Maroc)
M Mauro Marchetti, Directeur de Recherche, CNR de Sassari (Italie)
M Antoine-François Bernardini, Professeur, Université de Corse
M Julien Paolini, Dr-HDR, Université de Corse
Mme Marie-José Battesti, Dr, Ing R, Université de Corse

Avant-propos

Ce travail a été réalisé sous la direction du Professeur Jean COSTA et du Docteur Julien PAOLINI, Maître de Conférences HDR, au sein du Laboratoire « Chimie des Produits Naturels », relevant du Projet structurant « Ressources Naturelles » faisant partie intégrante de l'UMR CNRS 6134 « Sciences pour l'Environnement » / Université de Corse Pascal Paoli.

Je remercie tout d'abord le Professeur Jean COSTA pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire qu'il dirige. Sa grande expérience et ses précieux conseils m'ont toujours motivé et encouragé tout au long de ma thèse. Je veux le remercier aussi pour la disponibilité qu'il m'a toujours réservée malgré ses accaparantes responsabilités. Je le remercie, enfin de s'être soucié, comme il l'a fait, de mon devenir

Je remercie grandement le Docteur Julien PAOLINI pour m'avoir dirigé au quotidien dans ce travail et pour la confiance qu'il m'a toujours accordée. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour son dévouement exemplaire et son encadrement sans faille que pour ses recommandations et avis judicieux durant nos séances de travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement la Docteure Marie-José BATTISTI pour m'avoir initiée au domaine de l'apologie. Sans sa présence constante, son expérience et ses compétences, cette thèse interdisciplinaire n'aurait pu être envisagée. Je lui suis reconnaissante tant pour ma formation scientifique par son encadrement que pour les résultats auxquels nous avons pu aboutir.

J'adresse également mes remerciements aux membres du jury :

- Le Professeur Antoine-François BERNARDINI, fondateur et ancien directeur du laboratoire de « Chimie des Produits Naturels », pour avoir eu l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail ;
- La professeure Mariana USAI (Université de Sassari, Italie) et le Professeur Lhou MAJIDI (Université Moulay Ismail de Meknès, Maroc) pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail. Je suis très heureuse de bénéficier de leurs observations et je tiens à leur exprimer ma sincère gratitude pour cette marque d'intérêt ;

- La Professeure Chantal MENUT (Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier) et le Directeur de Recherche Mauro MARCHETTI (CNR, Université de Sassari, Italie) pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu apporter à ce travail en acceptant de participer au jury.

Un grand merci au Maître de Conférences HDR Alain MUSELLI pour ses grandes qualités scientifiques et ses conseils éclairés. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance et mon amitié

Je remercie du fond du cœur Jean-Marie DESJOBERT pour m'avoir apporté son savoir-faire, son expérience et sa grande disponibilité tout au long de ma thèse.

J'exprime également mon amitié à Louis-Félix NOTHIAS-SCAGLIA, Stéphane ANDREANI, et Nassim DJABOU (recruté entretemps comme Maître de Conférences) qui ont fait preuve envers moi de tant de sollicitude et m'ont soutenue bien des fois.

Mes pensées vont également à mes autres condisciples, Marion BRUNEL, Grégory CRISTOFARI ainsi que Florent DARRIET et Nicolas VENTURINI, docteurs depuis, pour leur sympathie, et les bons moments que nous avons passés ensemble.

Je tiens à remercier également les stagiaires, Pascal GIORGI, Lisa LECA et Weiwen JIANG qui m'ont aidé durant la thèse. Merci pour votre implication.

Que le syndicat et les apiculteurs de l'AOP « Miel de Corse – Mele di Corsica » soient également chaleureusement remerciés pour leur contribution à mon étude.

Je veux, enfin exprimer ma gratitude et mon profond respect pour la Collectivité Territoriale de Corse et en premier lieu à son président, Monsieur Giacobbi, pour le financement octroyé à ces travaux à travers le projet de recherche «Atlas des miels de Corse ».

Merci à mes parents et à toute ma famille pour m'avoir toujours soutenue et encouragée durant mes séjours en France et, notamment, durant cette thèse.

Table des matières

I- Introduction	1
II- Qualification des miels : Etat de l'art	7
II.1. Origine et formation du miel	7
II.2. Les approches conventionnelles	9
II.2.1. Analyse méssopalynologique	9
II.2.2. Analyse sensorielle	13
II.2.3. Analyses physico-chimiques.....	14
a) <i>Eau</i>	15
b) <i>Sels minéraux</i>	15
c) <i>Acides</i>	16
d) <i>Sucres</i>	17
II.3. Les approches «complémentaires»	19
II.3.1. Composés azotés.....	19
II.3.2. Composés polyphénoliques	21
II.3.3. Composés volatils.....	23

III- Qualification des miels de Corse	27
III.1. Les miels de nectar	27
III.1.1 Pr ésentation des échantillons	27
III.1.2. Caract érisation par les m éthodes conventionnelles.....	29
<i>a) Analyses polliniques.....</i>	<i>29</i>
<i>b) Analyses physico-chimiques.....</i>	<i>36</i>
III.1.3.Caract érisation de la fraction volatile.....	38
<i>a) Analyse de la variabilit é chimique inter-gamme</i>	<i>38</i>
<i>b) Identification de mol écules marqueurs dans les plantes nectarif ères.....</i>	<i>50</i>
<i>c) Analyse multifactorielle de la diversit é intra-gamme</i>	<i>53</i>
III.2. Les miels de miellats	59
III.2.1 Caract éristiques polliniques et physico-chimiques	59
III.2.2. Composition volatile	61
V- Conclusion.....	70
Partie Exp érim mentale	75
R éf érences	82
Annexes	98

I- Introduction

Ce travail de Doctorat s'inscrit dans les thématiques de l'UMR CNRS 6134 SPE (Université de Corse) dont l'un des projets structurant concerne la caractérisation des ressources naturelles issues directement ou indirectement de la biomasse végétale. Depuis une trentaine d'années, le laboratoire «Chimie des Produits Naturels» (CPN) réalise divers travaux relatifs à la valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PPAM) et des produits agro-alimentaires à forte typicité territoriale. Ces programmes de recherche ont été menés en concertation avec les structures professionnelles régionales en considérant les choix stratégiques des filières.

Dans le cas présent, nos travaux s'inscrivent dans le développement de la filière apicole, dans le cadre d'un partenariat avec le syndicat AOC «Miel de Corse – Mele di Corsica », par le biais de la qualification des produits de la ruche (miels, pollens, propolis). En effet, la définition de la qualité liée à l'origine botanique et géographique se fonde sur une démarche interdisciplinaire en constante évolution. Pour notre part, nous proposons de déterminer la composition chimique de ces produits du terroir, souvent encore peu ou mal connue, notamment en appliquant les méthodes d'analyse les plus performantes. Ces objectifs sont en cohérence avec la politique régionale dans le cadre du projet de recherche «Atlas des Miels de Corse » financé par la Collectivité Territoriale de Corse (CTC)

Le miel - aliment énergétique de la ruche - est une denrée fabriquée par les abeilles à partir du nectar et/ou du miellat. Selon la législation européenne, le miel est défini comme : *«une substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce Apis mellifera à partir du nectar de plantes, des sécrétions provenant des organes végétaux 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 »* (Directive 2001/110/CE, 2002).

Le miel est un produit d'origine complexe à l'intersection des mondes végétal et animal. L'homme a commencé à le prélever par cueillette en détruisant les colonies puis il a développé une apiculture rationalisée avec des ruches à cadres (Marchenay et

al., 2007, Ministère de la culture, 1981). Aujourd'hui, l'apiculture est considérée comme une activité agricole à part entière (Jean-Prost, 1987) et le miel est classé comme une production animale, bien qu'il diffère significativement des autres produits d'élevage. En effet, l'intervention de l'homme se situe "en amont" puis "en aval" de l'élaboration du miel par les abeilles : (i) en amont, du nectar au miel operculé l'apiculteur intervient par la préparation des colonies et la mise en place du cheptel et (ii) en aval, du miel operculé au conditionnement, l'apiculteur intervient au niveau des procédés de récolte, d'extraction, de conditionnement et de stockage. Cette conduite apicole implique une connaissance du cheptel, des conditions du milieu (sol, flore, climat) ainsi qu'une maîtrise technique et technologique. Lorsqu'il vise la reconnaissance de la qualité par un signe officiel, l'objectif de l'apiculteur est de proposer aux consommateurs un miel au plus près de sa fabrication naturelle en préservant les spécificités originelles du produit.

Par la diversité des matières premières végétales et les transformations qu'elles subissent au sein de la colonie d'abeilles, le miel possède des compositions chimiques et des propriétés biologiques originales. De tout temps, il a été considéré avec un statut particulier à la fois « aliment » et « remède ». Consommé par l'homme pour ses saveurs, arômes et vertus nutritives, le miel est également utilisé pour ses qualités thérapeutiques. De récentes études ont démontré les activités antibactériennes, cicatrisantes, antioxydantes et antifongiques du produit (Eteraf-Oskouei *et al.*, 2013). Il est, à l'évidence, l'une des meilleures illustrations de la recommandation d'Hippocrate : « *que ton aliment soit ton seul médicament* ».

En 2010, la production mondiale de miel était d'environ 1,54 million de tonnes ; l'Asie et l'Europe représentant respectivement 42% et 23% du total. Les principaux exportateurs sont la Chine, l'Argentine et le Mexique alors que les premiers importateurs sont l'Union Européenne, les Etats Unis et le Japon. En France, la production s'élevait à 18 326 tonnes générant un chiffre d'affaire de 115 millions d'euros tandis que la consommation était d'environ 40 000 tonnes par an (France Agrimer, 2012). Par ailleurs, l'audit économique de la filière apicole française qui rapporte ces chiffres souligne que : « *la mondialisation des approvisionnements et la directive communautaire « miel », assez peu exigeante en terme d'identification du miel, sont synonymes d'une fragilisation des composantes d'image du miel. Dans ce*

contexte il semblerait judicieux de renforcer l'identification du miel français » (France Agrimer, 2012). En effet, une meilleure valorisation du miel repose principalement sur la qualification des produits par l'utilisation de mentions particulières faisant référence aux notions d'authenticité et/ou aux spécificités liées à l'origine botanique et/ou géographique.

Ainsi, l'étiquetage « monofloral » a été - et reste encore - une manière efficace de positionner les miels sur le marché par la mise en exergue de caractéristiques particulières liées à l'origine botanique dominante voir quasi exclusive du produit. A partir de ces miels monofloraux, les méthodes d'analyse dites « classiques » ou « conventionnelles » ont été développées pour la caractérisation et le contrôle de la qualité. En 2004, les experts européens de l'*International Honey Commission* ont publié une harmonisation des techniques en définissant les propriétés physico-chimiques, polliniques et organoleptiques des principales étiquettes monoflorales européennes (Bogdanov *et al.*, 2004 ; Persano Oddo *et al.*, 2004a&b ; Piana *et al.*, 2004 ; Piazza *et al.*, 2004 ; Von Der Ohe *et al.*, 2004).

Une autre approche de la qualité est basée sur la définition de la valeur du produit miel en fonction du terroir de production (origine géographique). Elle est apparue pour la valorisation des miels d'origines botaniques complexes ; jusqu'ici commercialisés sous les appellations : « *miels toutes fleurs* » ou « *miels de table* », appellations jusqu'alors dépréciées par le consommateur, car synonymes de mélanges de miels d'origines diverses. C'est à ce titre qu'en France, un comité national a été créé en 1992 au sein de l'INAO. Ce comité offre aux miels la possibilité d'accéder à un signe officiel de qualité lié à l'origine géographique : l'appellation d'origine contrôlée (AOC) et qui a été aujourd'hui traduite par la mention équivalente au niveau européen : l'Appellation d'Origine Protégée (AOP).

La Corse offre un terroir d'exception caractérisé par : (i) des ressources mellifères et pollenifères directement issues de la végétation naturelle, (ii) une abeille particulière (écotype d'*Apis mellifera mellifera*) et (iii) une conduite apicole adaptée à ces spécificités (Battesti *et al.*, 1997). En Corse, la filière apicole a une histoire récente ; elle est passée du statut d'activité d'amateurs dans les années 1970 à celui d'activité agricole dans les années 1980, engageant et réussissant une démarche de valorisation de ses productions mellifères par l'obtention successive des deux signes

de qualité liés aux origines géographique et botanique : l'AOC en 1998 puis l'AOP «Miel de Corse - Mele di Corsica » en 2000. Cette appellation concerne l'ensemble du territoire et présente l'originalité d'inclure - sous la même mention - une production diversifiée comprenant des miels d'origines botaniques complexes allant du plus clair au plus foncé ainsi que du plus doux au plus amer. Selon le Syndicat des apiculteurs corses, on dénombrerait en 2012 une centaine d'adhérents à l'AOP pour une production de 328 tonnes.

L'obtention de l'AOC et l'AOP « Miel de Corse - Mele di Corsica » s'est appuyée sur une démarche pluridisciplinaire rassemblant les résultats des analyses polliniques, organoleptiques et physico-chimiques. Dans le cadre de la détermination du lien au terroir, les analyses polliniques et sensorielles sont reconnues en tant que méthodes officielles ; elles ont été capitales pour mettre en évidence les relations entre les spécificités organoleptiques des miels de Corse et les typologies polliniques. Pour cela, une méthode informatisée de traitement des données de l'analyse pollinique a été mise au point ; elle permet l'exploitation des spectres polliniques et l'établissement de la typologie des miels grâce à un module spécifique de comparaison automatisée des résultats (logiciel Melisoft) (Battesti, 1990 ; Battesti *et al.*, 1992). Cette méthodologie a notamment permis de classer les miels de Corse en six catégories traduisant la diversité des productions : « *printemps* », « *maquis de printemps* », « *miellat du maquis* », « *maquis d'été* », « *châtaigneraie* » et « *maquis d'automne* » (Battesti *et al.*, 1997). La classification des miels de Corse présentée en fonction des périodes de récolte (saisons) et des zones de production fait apparaître le lien entre les caractéristiques organoleptiques et les principales associations végétales visitées (Décret n°2013-1057, 2013).

Au niveau international, de nombreuses recherches ont été récemment menées afin d'identifier de nouveaux critères en vue de la certification de l'origine botanique ou géographique des miels ; il s'agit principalement de bio-marqueurs tels que les protéines et les composés phénoliques ou volatils. Le recours à ces méthodes « complémentaires » basées sur la caractérisation de la composition chimique des miels présente l'inconvénient de protocoles n'étant pas normés, harmonisés et validés *a contrario* des techniques usuelles de contrôle. En revanche, le recours à ces analyses ouvre de nouvelles perspectives pour définir les interactions entre les caractéristiques

sensorielles des miels et les ressources nectarifères et/ou miellatifères du territoire. En termes d'expertise, le développement d'approche interdisciplinaire (analyses méssopalynologiques, sensorielles et chimiques) reste donc à privilégier pour la qualification des miels.

Dans ce travail de Doctorat, nous nous sommes principalement intéressés à la composition de la fraction volatile des miels de Corse en vue d'établir le lien entre les spécificités des conditions de production (végétation, climat, pratiques apicoles) et les propriétés olfactives et aromatiques des miels. Sur cette base, nous procéderons à une caractérisation de la diversité chimique des échantillons que nous confronterons avec la classification traditionnelle basée sur l'analyse pollinique. Nous étudierons les apports de ces nouveaux critères pour la définition de la qualité des miels AOC-AOP de Corse. Le manuscrit est bâti selon le format d'une « thèse sur articles » (cinq publications parues), ce qui nous permet d'explicitier les méthodes conventionnelles de classification des miels et de mieux positionner nos propres travaux dans cet existant.

Notre présentation débutera par une étude bibliographique précisant les différentes approches de définition et de caractérisation des miels, l'état des connaissances sur les techniques d'analyse utilisées pour le contrôle de l'origine botanique et la mise en évidence d'une éventuelle typicité régionale. Nous analyserons les avantages et inconvénients des principales techniques « conventionnelles » ainsi que les nouvelles méthodologies « complémentaires » basées sur l'étude des métabolites tels que les composés volatils, les composés phénoliques, les acides aminés et les protéines.

Dans la suite de notre étude, nous traiterons de la variabilité chimique de la fraction volatile à partir d'un échantillonnage couvrant plusieurs années de production sur l'ensemble du territoire insulaire. Grâce à une banque de miels de référence gérée par le laboratoire CPN et sur la base des caractéristiques polliniques et organoleptiques, nous avons sélectionné 269 échantillons de miels AOC-AOP de Corse.

Ainsi, nous étudierons la composition des fractions volatiles de 195 miels de nectar en vue de déterminer la signature chimique des cinq catégories variétales : « *printemps* », « *maquis de printemps* », « *maquis d'été* », « *châtaigneraie* » et « *maquis d'automne* ». L'objectif est d'établir un répertoire des constituants volatils présents dans les miels de Corse et, ce faisant, de proposer un nouveau critère de qualification pour l'origine botanique. Pour cela, notre étude s'attachera à établir la typologie chimique des miels de Corse en fonction des apports nectarifères certifiés par l'analyse pollinique et organoleptique des échantillons. Afin d'identifier les molécules marqueurs permettant de différencier de façon non ambiguë les miels en fonction de leur origine botanique, nous avons également étudié les compositions de la fraction volatile des matières premières végétales butinées (nectars des fleurs) par les abeilles. L'empreinte volatile des diverses matrices (miels et végétaux) sera caractérisée par les outils et méthodes adaptés à savoir : la Micro-Extraction en Phase Solide (MEPS), la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) et son couplage en ligne avec la Spectrométrie de Masse (CPG-SM).

A l'aide de traitements statistiques, nous chercherons à déterminer les corrélations entre les caractéristiques polliniques, les paramètres physico-chimiques (teneur en eau, coloration et conductibilité) et les compositions volatiles (analyses qualitative et quantitative). Pour ce faire, nous proposerons une étude de la diversité chimique intra-gamme afin de déterminer l'impact de l'évolution des conditions du milieu : contribution des espèces nectarifères, apport de miellat, influence du climat.

Enfin, nos travaux aborderont les miels de « *miellat du maquis* » et les miels dits « *généralistes* » à partir d'une sélection de 74 échantillons. Comme pour les miels de nectar, nous avons caractérisé les profils chimiques dans le but de définir ces productions - encore peu étudiées à ce jour - et de mieux cerner le processus des miellés et leurs évolutions spatio-temporelles.

II- Qualification des miels : Etat de l'art

II.1. Origine et formation du miel

La connaissance de l'histoire de la fabrication du miel depuis le butinage « au champ », jusqu'au conditionnement par l'apiculteur est un préalable indispensable si nous voulons caractériser le produit et expliciter notamment les notions de miel de nectar et de miel de miellat.

Au cours du butinage, le nectar comme le miellat est provisoirement stocké dans les jabots des abeilles butineuses. Ces dernières régurgitent ensuite la matière première végétale récoltée aux abeilles d'intérieur qui assurent la maturation et le stockage. Au cours de ce processus, nous distinguons deux principaux types de transformations : (i) une concentration par évaporation active (avant le dépôt au sommet de la cellule du rayon) et passive (lors du stockage et jusqu'à l'operculation) et (ii) des réactions chimiques par action des enzymes provenant des glandes salivaires des abeilles (Maurizio, 1968, 1975a ; Gonnet, 1982). Lorsque le produit atteint une concentration d'eau que les abeilles « estiment » convenable pour sa conservation, les cellules sont couvertes d'un opercule de cire ; on parle alors de miel stocké dans la ruche. Il sert de nourriture tout au long de l'année aux abeilles. La particularité de la colonie d'abeilles est de stocker au-delà de ses besoins - instinct de « hoarding » - (Louveaux, 1958, 1959).

En fonction de l'origine de la matière première végétale, les miels peuvent être classés en deux catégories : les miels de fleurs ou miels de nectar et les miels de miellat (Décret n° 2003-587, 2003). La dénomination « *miel de fleurs* » ou « *miel de nectar* » signifie que le miel est obtenu à partir du nectar ; sécrétion aqueuse, sucrée et aromatique produite par des glandes nectarifères situées généralement sur les fleurs (nectaires floraux) de plantes dites mellifères. À côté de cela, il peut exister, aussi, des glandes nectarifères extraflorales situées dans les autres parties de la plante comme les cotylédons, les troncs, les feuilles, les stipules, les bractées et les péioles (Maurizio, 1975a).

Dans cette catégorie, nous distinguons les miels monofloraux et les miels multifloraux. Les premiers sont essentiellement produits à partir du nectar d'une seule espèce végétale alors que les seconds - appelés aussi « *miels toutes fleurs* » - sont élaborés à partir de plusieurs espèces mellifères. Nous pouvons citer comme exemple de miels monofloraux : le miel d'acacia (*Robinia pseudacacia*), de callune (*Calluna vulgaris*), de colza (*Brassica napus*), d'agrumes (*Citrus* sp.), d'eucalyptus (*Eucalyptus* sp.), de tournesol (*Helianthus annuus*) ou de lavande (*Lavandula angustifolia*, *L. x intermedia*, *L. latifolia* et *L. stoechas*). En Europe, plus d'une centaine d'espèces végétales peuvent servir à produire des miels monofloraux (Persano Oddo *et al.*, 2004a). En France, environ 436 taxons ont été identifiés comme mellifères, et 31 sont considérés comme très importants pour les abeilles (Louveaux, 1980).

Le miellat ou « miel de miellat » est défini comme un produit « *obtenu essentiellement à partir des excréments laissés sur les parties vivantes des plantes par des insectes suceurs (hémiptères) ou à partir des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes* » (Décret n°2003-587, 2003). La principale différence entre un miel de miellat et un miel de nectar concerne donc la matière première récoltée ; elle implique l'intervention d'un intermédiaire ; il s'agit d'un insecte producteur de miellat. Celui-ci pique le végétal pour prélever la sève élaborée riche en protéines et rejette des matières sucrées - miellat - qui sont recueillies par les abeilles pour la fabrication du miel. Il existe de nombreux insectes piqueurs-suceurs comme les pucerons, les psylles ou les cochenilles (Kloft, 1968 ; Ricciardelli d'Albore, 1998). Ces hémiptères interviennent sur une grande variété de plantes mais principalement sur des arbres appartenant aux familles des *Coniferae* (sapins et pins comme *Abies alba*, *Abies cephalonica*, *Picea excelsa*, *Pinus halepensis* et *Pinus brutia*) et *Latifoliae* (principalement des chênes du genre *Quercus* sp.) (Persano Oddo *et al.*, 2004b). Généralement, les miels de miellat sont dénommés en fonction de l'origine botanique du miellat de la plante (miels de sapin, de pin ou de chêne). Cependant, nous voulons souligner le cas particulier des « *miellats de metcalfa* » ; à ce jour, c'est le seul miel de miellat commercialisé sous le nom d'un insecte : *Metcalfa pruinosa*. Cette cicadelle, d'origine américaine, a été introduite en Europe à la fin des années 1970 ; elle est maintenant très répandue en Italie, en Slovénie et en France (Persano Oddo *et al.*, 2004a, 2004b).

II.2. Les approches conventionnelles

La caractérisation des miels, outil indispensable de valorisation et de contrôle des productions, est fondée sur trois types d'analyses « conventionnelles » : les analyses polliniques, organoleptiques et physico-chimiques (Bogdanov, 2009). Ces trois méthodes sont complémentaires, chacune d'elles fournit des informations différentes. L'analyse pollinique est reconnue comme une technique référentielle pour la détermination de l'origine géographique et botanique du miel. Pour leur part, les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques permettent de caractériser le produit en relation avec ses origines et/ou de contrôler sa fraîcheur, son intégrité et ses potentialités de conservation (Décret n°2003-587, 2003). En conséquence toute démarche de valorisation prônant une qualité spécifique visera la pluridisciplinarité et le recours à ces trois types d'analyses (Battesti *et al.*, 1997 ; Von Der Ohe *et al.*, 2004).

II.2.1. Analyse méssopalynologique

L'analyse pollinique des miels ou méssopalynologie, est une application particulière de l'étude du grain de pollen : la palynologie, dont les fondements ont été posés à la fin du XIX^{ème} siècle par Pfister (1895) à partir du principe suivant : tout miel produit dans des conditions naturelles contient toujours de petites quantités de pollen qui varient qualitativement et quantitativement en fonction de l'origine géographique et botanique des échantillons. Les travaux réalisés par Zander (1935, 1937, 1941, 1949, 1951) sont considérés comme la base de l'analyse méssopalynologique.

En 1952, la Commission Internationale de Botanique Apicole (*International Commission for Bee Botany, ICBB*) a mis au point un protocole de méthodes standardisées pour la confection des préparations microscopiques utilisées pour ce type d'analyse. Ces techniques ont été rééditées en 1963 par Louveaux *et al.* (1963), puis développées par plusieurs chercheurs (Louveaux *et al.*, 1964 ; Vergeron, 1964 ; Maurizio *et al.*, 1967 ; Louveaux, 1968b). En 1970 et 1978, la Commission Internationale de Botanique Apicole a publié les méthodes relatives à l'analyse et à l'interprétation des données polliniques des miels (Louveaux *et al.*, 1970, 1978).

Au cours des années 1960 à 1980, la méliissopalynologie s'est développée avec l'évolution des sciences de l'abeille - l'apiculture - dans un contexte nord européen puis euro-méditerranéen de collaborations scientifiques. Ces études ont notamment permis de définir les différentes productions nationales et de proposer des méthodes de contrôle (Louveaux, 1958, 1970, 1978 ; Maurizio *et al.*, 1965 ; Louveaux *et al.*, 1970, 1978 ; Maurizio, 1975b ; Gadbin, 1980 ; Lobreau-Callen *et al.*, 1986 ; Kerkvliet *et al.*, 1995, 2000).

Les récents travaux sur l'harmonisation des méthodes de la méliissopalynologie réalisés par Von Der Ohe *et al.* (2004) traitent des différentes étapes de l'analyse pollinique des miels et proposent des protocoles précis pour les phases techniques d'extraction, de montage et de lecture des préparations. En ce qui concerne l'interprétation des résultats, les auteurs soulignent la nécessité de constituer une palynothèque de référence. Mais surtout, ils précisent les deux points fondamentaux à prendre en compte pour la détermination de l'origine botanique : la densité pollinique (quantité totale en grains de pollen pour 10 grammes de miels) et le «type de représentation pollinique ». Ce dernier point dépend de la fréquence relative du taxon dominant exprimé en pourcentage (quantité de grains de pollen du taxon considéré par rapport au nombre total de grains de pollen dans l'échantillon).

La notion de «type de représentation », a été définie par les premières commissions de botanique apicole (Louveaux *et al.*, 1970, 1978). Elle a été mise en évidence à partir de miels monofloraux d'origine botanique connue, comme les miels de châtaigner, - de cynoglosse, - d'acacia, - de lavande ou - d'agrumes. Selon les espèces nectarifères responsables de la miellée, les auteurs ont enregistré des variations significatives des proportions en pollen de l'espèce dominante. Ces observations ont conduit à la définition des types suivants :

- *pollen de type « sur-représenté »* : c'est, par exemple, le cas des miels monofloraux de châtaignier (*Castanea sativa*) et d'eucalyptus (*Eucalyptus* sp.) qui présentent un spectre pollinique dans lequel la fréquence relative du pollen de l'espèce correspondante est très élevée, supérieure à 80%, voire 90 % ;

- *pollen de type « normal »* : le miel est considéré « monofloral » pour une fréquence relative de l'espèce nectarifère dominante supérieure à 45% dans le spectre pollinique. Exemple : les miels de bruyère (*Erica arborea*), - de sainfoin (*Hedysarum coronarium*) et - de ronce (*Rubus* sp.) ;
- *pollen de type « sous-représenté »* : un miel peut être considéré comme monofloral alors que la fréquence relative de l'espèce considérée est peu élevée, souvent de l'ordre de 10% à 30%, voire inférieure à 5%. Il s'agit notamment des miels d'arbousier (*Arbutus unedo*), - d'agrumes (*Citrus* sp.), - de pissenlit (*Taraxacum* sp.) et - de tilleul (*Tilia* sp.).

Ces différents types de représentation pollinique sont en relation étroite avec la morphologie de la plante, la physiologie de l'abeille, l'action de la butineuse et la taille du grain de pollen (Louveau, 1968b). A titre d'exemple, le pollen d'asphodèle est de type « sous-représenté » dans les miels en raison de la forme des fleurs (le nectar étant protégé par de longues et larges étamines qui empêchent le contact avec le pollen durant le butinage). En général, une corrélation est observée entre les types de représentation et la densité pollinique. Celle-ci est élevée dans le cas d'une « sur-représentation », moyenne dans une représentation de type normal et faible dans les miels de type « sous-représenté ».

Pour cerner ces notions de représentation pollinique, il faut se référer aux trois origines des pollens présents dans les miels (Battesti, 1990) :

- l'enrichissement primaire - le pollen marqueur de l'origine botanique - qui correspond à la récolte de la matière première (nectar) au moment du butinage ;
- l'enrichissement secondaire qui se produit depuis la transformation du miel dans la ruche et jusqu'à l'operculation. Ces grains de pollens proviennent de l'atmosphère de la ruche et principalement des pollens en pelotes fixés aux pattes des butineuses ou stockés dans les rayons ;
- l'enrichissement tertiaire qui a lieu au moment de l'extraction du miel, lorsque des cellules à pollen sont au voisinage des cellules à miel.

Ces phénomènes expliquent la présence d'espèces uniquement pollenifères (et non nectarifères) dans un spectre pollinique de miel. Ils permettent également de différencier les miels de miellat et les miels de nectar sur la base des profils

polliniques. En effet, un miel de miellat est caractérisé par l'absence d'enrichissement primaire ; il est donc plus riche qu'un miel de nectar en espèces uniquement pollenifères. En outre, il contient un nombre important d'algues et spores de champignons microscopiques qui sont prélevés au moment de la collecte du miellat par l'abeille sur les feuilles, aiguilles ou autres pièces végétales (Louveaux, 1968b).

L'observation de la totalité des pollens du spectre pollinique permet de reconnaître les spécificités de la végétation du lieu de production (proportions, associations et particularités biogéographiques des taxons présents). Cette analyse contribue aussi à la définition de l'origine variétale ou botanique des miels à condition de prendre en compte les notions qualitatives de structure des spectres (types de représentation) et quantitatives de densité pollinique (Battesti, 1990; Battesti *et al.*, 1992 ; Louveaux, 1992). C'est la raison pour laquelle les normes européennes soulignent qu'« *aucun pollen ou autre constituant particulier du miel ne doit être retiré, sauf si cela est inévitable lors de l'élimination de matières organiques et inorganiques étrangères* » (Directive 2001/110/CE, 2002 ; Décret n°2003-587, 2003).

L'analyse pollinique est à l'origine de nouvelles connaissances sur le fonctionnement de la colonie d'abeilles en permettant de mieux comprendre les relations entre l'abeille et la végétation, notamment sur la caractérisation des cycles biologiques annuels de développement des colonies et sur la détermination des ressources mellifères, pollenifères et miellatifères d'un terroir (Ricciardelli d'albore *et al.*, 1978 ; Battesti, 1990 ; Persano Oddo *et al.*, 2007 ; Dimou *et al.*, 2009).

Cependant, la méssopalynologie présente des limites d'application pour la détermination de l'origine botanique des miels (Molan, 1998) ; ainsi, il est difficile de déterminer l'origine botanique de certains miels produits à partir de nectaires extrafloraux comme le coton (*Gossypium hirsutum*), le ricin (*Ricinus communis*) et l'hévéa (*Hevea brasiliensis*) (Molan, 1998). De même, il est difficile de différencier les miels de Manuka (*Leptospermum scoparium*) et de Kanuka (*Kunzea ericoides*) car les deux espèces ont des grains de pollen similaires (Moar, 1985 ; Stephens *et al.*, 2010).

II.2.2. Analyse sensorielle

L'analyse organoleptique procède méthodiquement par une approche sensorielle (couleur, état physique, intensité et qualité des odeurs) avant la mise en bouche qui permet de définir l'arôme, le goût et la texture. Elle s'adresse directement aux consommateurs et aux producteurs puisque qu'elle se fonde sur les perceptions et les sensations. Elle est aujourd'hui utilisée dans plusieurs domaines industriels (agro-alimentaire, cosmétique, pharmacie) pour établir les profils sensoriels des produits, d'élaborer qui a conduit au développement et à l'harmonisation des méthodes.

Les premières évaluations organoleptiques des miels ont été développées par Gonnet *et al.* (1979, 1985, 1992, 1998) en s'inspirant des méthodes utilisées pour l'analyse sensorielle des vins. Celle-ci a notamment permis de caractériser les principaux miels monofloraux français et européens, et de développer une méthodologie standard comprenant des formulaires d'évaluation, des méthodes de dégustation, de formation et de sélection des spécialistes (Persano Oddo *et al.*, 1995a, 2000). Par la suite, sa pratique a évolué par le biais d'une harmonisation conduisant à l'utilisation de roues des odeurs et arômes spécifiques aux miels (Bruneau *et al.*, 2000 ; Piana *et al.*, 2004) et à la publication de grilles d'évaluation permettant un traitement statistique des données recueillies par des panels de dégustateurs formés. Il s'ensuit un caractère répétable et reproductible des analyses. La roue des odeurs et arômes présente sept classes bien différenciables (végétal, frais, boisé floral/fruit frais, chaud, avancé et chimique) qui se divisent en sous-classes avec des références aromatiques pour chacune d'entre-elles (**Annexe 1**). Aujourd'hui, l'analyse sensorielle est donc considérée comme une technique complémentaire aux analyses polliniques et physico-chimiques pour contrôler la conformité des miels monofloraux ; elle peut notamment être utilisée pour le contrôle de qualité et l'identification de défauts tels que la fermentation, la présence d'impuretés ou encore d'arômes étrangers (Piana *et al.*, 2004). Certaines caractéristiques révélées par l'analyse sensorielle peuvent être également déterminées par des analyses de laboratoire. La couleur - propriété organoleptique essentielle pour le consommateur - varie du clair à l'ambéré très foncé en fonction de l'origine nectarifère des miels. Les valeurs de coloration peuvent être établies par comparaison avec une échelle de couleur ; elles se situent généralement entre 5 et 140 mm selon l'échelle de Pfund (Bogdanov *et al.*, 2004).

II.2.3. Analyses physico-chimiques

Le miel est un produit complexe ; riche de plusieurs centaines de composés à la fois d'origine végétale et animale. Sa composition chimique dépend de multiples paramètres : origine botanique et géographique, nature du sol, race d'abeille, état physiologique de la colonie, climat, conditions de récolte et mode de stockage (Jean-Prost, 1987 ; Kaskonien *et al.*, 2010a).

La première composition chimique «moyenne » a été proposée par l'équipe de White en 1962 en analysant 490 miels provenant des Etats-Unis (White *et al.*, 1962). Par la suite, Louveaux (1980) a proposé la composition moyenne suivante : 17% d'eau, 79,5% de glucides se décomposant en 38% de fructose, 31% de glucose, 7,5% de maltose et 3% de divers autres sucres et, enfin, de plusieurs types de constituants mineurs : acides, protéines, sels minéraux, enzymes, colloïdes, pigments, substances odorantes et éléments figurés comme le pollen, les spores d'algues et/ou les champignons microscopiques. De multiples auteurs (Louveaux, 1968a ; White, 1975) ont constaté que la teneur des constituants varie significativement en fonction de l'origine botanique et/ou géographique des échantillons. A partir de ces observations, les constituants chimiques du miel ont été classés en deux catégories (Gonnet *et al.*, 1985) :

- les composés toujours présents quelle que soit la variété de miels mais dont les proportions varient en fonction de l'origine des produits ; tels que les sucres (glucose, fructose, maltose, iso-maltose, saccharose et erlose), les acides (acide ascorbique, acide gluconique et acide formique), les enzymes (amylases, invertase et glucose-oxydase), les minéraux (potassium, calcium, sodium, magnésium, manganèse, fer, cuivre) et les pigments (flavones) ;
- les composés mineurs présents uniquement dans certaines variétés de miels ; comme par exemple des tri- et poly-saccharides, des acides aminés, des vitamines ou encore des composés volatils et phénoliques. Les premières caractérisations détaillées de ces métabolites remontent aux années 80.

La qualité dite «normée » est celle définie par les textes officiels internationaux, européens et nationaux, relatifs à la commercialisation et au contrôle de la qualité (Codex Stan 12-1981, 2001; Directive 2001/110/CE, 2002 ; Bogdanov *et al.*, 2004) ;

les exigences sont plus ou moins strictes selon l'échelle géographique considérée. Elles portent sur différents aspects de la composition du produit permettant :

- de garantir sa fraîcheur (hydroxyméthyl furfural et activité enzymatique) et sa bonne conservation (teneur en eau) ;
- de contrôler l'intégrité du produit (absence de fraude de type adultération par ajout de sucre).

Les protocoles d'analyse de ces paramètres ont été validés et harmonisés par la Commission Internationale du Miel (*International Honey Commission*) (Bogdanov, 2009). En outre, plusieurs mesures physico-chimiques peuvent également être réalisées en vue de la caractérisation des productions : coloration, conductibilité électrique, acidité, pouvoir rotatoire (Bogdanov *et al.*, 2004).

a) Eau

La teneur en eau influence directement les propriétés physiques telles que la viscosité et la cristallisation (Bogdanov *et al.*, 2004) mais aussi la dégradation du produit car une forte humidité accélère les processus de fermentation. Dans la ruche, le miel est operculé par les abeilles lorsque la teneur en eau atteint environ 18%, valeur considérée par Gonnet *et al.* (1985) comme une limite supérieure pour la bonne conservation des produits. A l'exception des miels de *Calluna* et ceux destinés à l'industrie, la législation relative aux miels commercialisés en Europe indique que la teneur en eau doit être inférieure à 20% (Décret n°2003-587, 2003) alors que certaines normes AOC et AOP, comme celles de « Miel de Corse – Mele di Corsica » et de « Miel de sapin des Vosges », exigent une teneur en eau inférieure à 18% (Décret n° 2010-1046, 2010 ; Décret n° 2013-1057, 2013). Généralement, les miels de miellat ont une teneur en eau plus faible que les miels de nectar (Persano Oddo *et al.*, 1995b ; Persano Oddo *et al.*, 2004b).

b) Sels minéraux

Les sels minéraux sont présents en faible proportion dans les miels ; la teneur est comprise entre 0,020 et 1,028 g / 100 g (White *et al.*, 1962). Les éléments les plus courants sont : K, Cl, S, Ca, Na, P, Mg, Si, Fe, Mn et Cu (Louveaux, 1968a). La composition minérale des miels est corrélée à la nature du sol ; les éléments sont

transportés du sol vers les plantes mellifères à travers le système racinaire, puis aux miels via le nectar. Ainsi, Feller-Demalsy *et al.* (1989) ont montré que l'analyse des minéraux permet de distinguer les miels québécois des provinces des Prairies de ceux des provinces atlantiques. De même, la teneur en sels minéraux varie également en fonction de l'origine botanique du miel (Accorti *et al.*, 1987; Bogdanov *et al.*, 2004). Fernandez-Torres *et al.* (2005) ont différencié les miels d'eucalyptus, - de bruyère, - d'agrumes et - de romarin d'Espagne en fonction des concentrations en Zn, Mn, Mg et Na. Les miels ambrés - comme les miels de châtaignier, - de bruyère ou - de miellat - contiennent des quantités plus élevées de métaux que les miels clairs (Sevlimli *et al.*, 1992 ; Anklam, 1998 ; Terrab *et al.*, 2003 ; Pohl, 2009). La concentration en minéraux est de 0,1 - 0,2% dans les miels de nectar alors qu'elle est environ 10 fois plus élevée dans ceux de miellat (Hernandez *et al.*, 2005). Il est à noter que certains éléments sont essentiellement d'origine florale tels Na et K alors que d'autres tels Pb et Cd sont des indicateurs d'une contamination de l'écosystème (Fodor *et al.*, 1993 ; Yazgan *et al.*, 2006 ; Pohl, 2009 ; Kaskonien *et al.*, 2010a).

La conductivité électrique du miel, introduite par Vorwohl en 1964 (Bogdanov *et al.*, 2004), est directement liée à la teneur en minéraux (Accorti *et al.*, 1987 ; Bogdanov, 2009). Généralement, sa valeur est comprise entre 0,08 et 2,09 mS/cm (Persano Oddo *et al.*, 2004b). De nombreux travaux ont démontré que ces variations dépendent de l'origine botanique des échantillons (Bogdanov *et al.*, 2000 ; Persano Oddo *et al.*, 2004b) ; la conductivité électrique des miels de miellat est supérieure à 0,8 mS/cm alors que celle des miels de nectar est souvent inférieure à cette valeur ; certaines exceptions sont observées comme pour les miels de châtaignier, - d'arbousier, - de bruyère, - d'eucalyptus, - de tilleul et - de callune (Codex Stan 12-1981, 2001).

c) Acides

Le miel est un produit acide dont le pH se situe entre 3,5 et 5,5 (Bogdanov *et al.*, 2004) ; cela est dû à la présence des acides organiques qui représentent moins de 0,5% de la composition chimique (White *et al.*, 1980). Ces constituants acides sont directement issus des apports nectarifères ou miellatifères mais ils peuvent également

provenir de la dégradation de composés par réaction enzymatique et/ou fermentation (Louveau, 1968a). Les acides organiques contribuent à l'arôme des miels mais aussi à la stabilité des produits en limitant le développement des microorganismes (White *et al.*, 1980). Issu de la dégradation du glucose, l'acide gluconique est le principal constituant de cette fonction dans les miels. Parmi les autres acides identifiés, nous pouvons citer l'acide formique, l'acide acétique, l'acide butyrique, l'acide lactique, l'acide oxalique et l'acide succinique (White *et al.*, 1980). Selon la réglementation européenne (Décret n°2003-587, 2003), la teneur en acides libres ne doit pas dépasser 50 milli-équivalent d'acide par kg (à l'exception des miels destinés à l'industrie (< 80 milli-équivalent d'acide par kg)).

Les acides ont été utilisés pour la caractérisation de l'origine botanique des miels. Ainsi, l'analyse par résonance magnétique nucléaire de miels de tilleul (*Tilia* sp.) a mis en évidence la présence de l'acide cyclohex-1,3-diène carboxylique et de l'ester correspondant (Berreta *et al.*, 2008). Par ailleurs, l'acide kynurénique et l'acide 4-quinolone-2-carboxylique ont été proposés comme marqueurs des miels de châtaigniers (Berreta *et al.*, 2008 ; Truchado *et al.*, 2009 ; Donarski *et al.*, 2010).

d) Sucres

Les sucres sont les principaux constituants des miels ; la teneur s'élève à environ 95% du poids sec (Bogdanov *et al.*, 2004). Les constituants majoritaires sont deux monosaccharides : le fructose et le glucose. Après analyse de 490 échantillons de miels d'origine américaine, White *et al.* (1962) ont établi la composition moyenne suivante : fructose (38,19%), glucose (31,28%), saccharose (1,31%), maltose (7,31%) et divers polysaccharides mineurs (1,5%) tels que le mélézitose, l'erlose, le kestose, le raffinose, le dextrantriose, l'isomaltose, le turanose, le maltulose, le nigérose, le kojibiose et le leucrose.

Il a été montré que le rapport glucose/fructose participe aux propriétés organoleptiques des miels et à la cristallisation (Bogdanov, 2008 ; Tabouret, 1979). Au niveau de la législation européenne (Décret n°2003-587, 2003), la teneur en ces deux sucres ne doit pas dépasser 60 g/100 g pour les miels de fleurs et 45 g/100 g pour les miels de miellat. Par ailleurs, la caractérisation des glucides est utilisée

comme un indicateur de l'adultération des miels par ajout de sirops notamment de sucre ou de maïs (Swallow *et al.*, 1994 ; Wang *et al.*, 2011).

L'hydroxyméthyl furfural (HMF) est issu de dégradation du fructose par réaction acido-basique et/ou d'égradation thermique (Wang *et al.*, 2011). Généralement, HMF est absent ou présent en faible proportion (0,6 – 2 mg/kg) dans les miels frais (White, 1975) et sa concentration augmente durant le stockage ou le chauffage prolongé du miel (Bogdanov *et al.*, 2011). La teneur en HMF est donc très utilisée pour contrôler la qualité de conservation des produits (Gonnet, 1982). Au niveau de la législation européenne (Décret n°2003-587, 2003), les teneurs d'HMF admises ont été définies de la manière suivante : < 40 mg/kg pour les miels «classiques » (exceptés ceux destinés à l'industrie) ; < 80 mg/kg pour les miels ou mélange de miels d'origine tropicale. Certaines réglementations nationales exigent des teneurs en HMF plus strictes : 10 mg/kg pour le «Miel de Corse » (Décret n° 2013-1057, 2013) et 15 mg/kg pour le «Miel de sapin des Vosges » (Décret n°2010-1046, 2010).

Certains sucres, principalement des disaccharides et des trisaccharides, sont présents en très faibles abondances. Ils résultent généralement de réactions chimiques et/ou enzymatiques se produisant lors de la maturation du miel dans la ruche (White *et al.*, 1980). Récemment, plusieurs techniques analytiques ont été proposées pour obtenir une composition détaillée des sucres présents dans les miels (notamment CPG-SM), ce qui a permis d'identifier plus de 25 oligosaccharides (Mateo *et al.*, 1987 ; Horvath *et al.*, 1997 ; Anklam, 1998). L'analyse de ces glucides a conduit à différencier les miels de miellat et les miels de nectar (Sabatini *et al.*, 1990 ; Bogdanov *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2011). Les premiers sont riches en mézitose et raffinose non décelés dans des miels de nectar (Bogdanov *et al.*, 2004). Toutefois, l'étude de la composition en sucres mineurs ne permet pas la détermination de l'origine botanique des miels de nectar (Bogdanov *et al.*, 1988 ; Foldhazi, 1994 ; Da Costa Leite *et al.*, 2000 ; De la Fuente *et al.*, 2007 ; Kaskonien *et al.*, 2010b).

II.3. Les approches « complémentaires »

Les approches dites complémentaires visent à identifier des marqueurs chimiques de l'origine botanique (plantes nectarifères) ; les principales familles de métabolites utilisés sont des composés azotés (acides aminés et protéines), des composés polyphénoliques (acides phénoliques et flavonoïdes) et les composés volatils (Kaskonien *et al.*, 2010a). La diversité de ces constituants dans les miels peut s'expliquer par la récolte de différents nectars et miellats, par les transformations chimiques dues au métabolisme de l'abeille ou encore par les processus de maturation et les traitements post-récolte des miels (Lee *et al.*, 1985 ; Stadelmeier *et al.*, 1986 ; Rowland *et al.*, 1995).

II.3.1. Composés azotés

Les miels contiennent de nombreuses substances azotées ; notamment des protéines et des acides aminés. Les protéines ont une abondance d'environ 0,26% (White *et al.*, 1962 ; White, 1978 ; Anklam, 1998). De nombreuses enzymes ont été identifiées dans les miels dont les plus courantes sont l'invertase, l' α -amylase, la β -amylase, l' α -glucosidase, la glucose-oxydase, la catalase, la phosphatase (Huchet *et al.*, 1996). Elles sont responsables des transformations des nectars et miellats en miels et sont souvent employés comme indicateurs de la qualité (Vorlova *et al.*, 2002). Nisbet *et al.* (2009) ont montré que les profils chromatographiques des protéines des miels naturels et ceux des produits adultérés (ajout de sirop de saccharose) sont qualitativement similaires mais différent au niveau quantitatif ; les teneurs en protéines sont plus élevées dans les miels naturels. Les activités enzymatiques, en particulier celles de la diastase et de l'invertase, diminuent pendant le stockage et le traitement thermique. Bien que moins fiables que la mesure des teneurs en hydroxyméthylfurfural pour le contrôle de la qualité, les activités enzymatiques sont largement utilisées pour le contrôle de la fraîcheur des miels (Persano Oddo *et al.*, 1990, 1999). Les protéines ont été également utilisées pour la détermination de l'origine ; par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE), Marshall *et al.* (1987) ont identifié 19 protéines dans des miels d'origines botaniques diverses.

De nombreux acides aminés, obtenus par décomposition des protéines, ont été identifiés dans les miels. Il s'agit notamment de la proline, l'acide glutamique, l'alanine, la phénylalanine, la tyrosine, la leucine et l'isoleucine (White *et al.*, 1980). La proline, principal acide aminé du miel, est considérée comme un critère de maturité (Von der Ohe *et al.*, 1991; Bogdanov *et al.*, 2004) ou d'éventuelles adultérations par ajout de sirops (Cotte *et al.*, 2003, 2004). Généralement, la teneur en proline est supérieure à 200 mg/kg ; soit environ 66 % de quantité totale d'acides aminés du miel (Wang *et al.*, 2011). Les valeurs les plus élevées en proline ont été rapportées dans les miels de thym provenant de Grèce et d'Italie alors que les teneurs les plus faibles ont été observées dans les miels de colza (Pologne), de rhododendron (Italie) et d'acacia (Pologne, Italie, Hongrie et Bulgarie) (Piazza *et al.*, 2004).

Certains acides aminés ont été proposés comme indicateur de l'origine géographique des miels (Gilbert *et al.*, 1981 ; Davies *et al.*, 1982 ; Anklam, 1998 ; Wang *et al.*, 2009, 2011). La comparaison des profils chromatographiques (Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance) a permis de différencier des échantillons provenant d'Argentine, d'Australie et du Canada (Gilbert *et al.*, 1981). La caractérisation des acides aminés libres a également été utilisée pour la détermination de l'origine botanique (Conte *et al.*, 1998 ; Cometto *et al.*, 2003 ; Wang *et al.*, 2011). Ainsi, l'étude de la composition en acides aminés de miels de diverses origines botaniques (acacia, agrumes, châtaignier, romarin et rhododendron) a conduit à la différenciation des échantillons en fonction des teneurs en arginine, en tryptophane et en cystéine (Pirini *et al.*, 1992). Les miels de lavande sont caractérisés par une concentration élevée en phénylalanine et en tyrosine alors que ceux d'eucalyptus sont dominés par la proline (Bouseta *et al.*, 1996). Hermosin *et al.* (2003) ont confirmé la proportion élevée de tyrosine dans les miels de lavande tandis que Cotte *et al.* (2004) ont proposé la thréonine et la phénylalanine respectivement comme composés caractéristiques des miels de tournesol et de lavande. Les miels de thym présentent une teneur élevée en serine, en tyrosine et en lysine ; ceux de romarin sont dominés par la tyrosine, la proline et la phénylalanine (Conte *et al.*, 1998). Enfin, les miels de miellat se distinguent par une présence marquée de tryptophane et d'acide glutamique (Iglesias *et al.*, 2004).

II.3.2. Composés polyphénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes et constituant un groupe important de substances naturelles présentes dans le règne végétal. Ils sont naturellement présents dans notre alimentation (fruits, légumes, céréales, vin, thé, café etc.) sous différentes formes telles que les flavonoïdes et les acides phénoliques, les stilbènes et les lignanes (Manach *et al.*, 2004 ; Pyrzynska *et al.*, 2009). Beretta *et al.* (2005) ont montré que la teneur en polyphénols dans le miel varie de 55 à 800 mg/kg selon leur origine botanique. La teneur en flavonoïdes dans les miels est d'environ 6000 µg/kg et la concentration en acides phénoliques varie de 10 à 1000 µg/100 g (Anklam, 1998). Les flavonoïdes présents sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont : les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes.

Les flavonoïdes participent activement aux propriétés organoleptiques des miels. De nombreux travaux font état d'une forte corrélation entre la couleur du miel et la teneur en polyphénols (Massaux, 2012 ; Dong *et al.*, 2013) ; la coloration jaune semble liée à la concentration en flavonoïdes alors que l'intensité de la couleur ambrée dépend de la teneur en acides phénoliques (Amiot *et al.*, 1989). De même, l'amertume des miels d'arbousier est probablement due à une teneur élevée en polyphénols totaux (Campus *et al.*, 1983 ; Amiot *et al.*, 1989). Les polyphénols manifestent de nombreuses propriétés bénéfiques telles des propriétés antiseptiques, anti-inflammatoires et antioxydantes (Hollman *et al.*, 1996 ; Al-Mamary *et al.*, 2002 ; Heim *et al.*, 2002 ; Vela *et al.*, 2007 ; Estevinho *et al.*, 2008 ; Percie du Sert, 2009 ; Uthurry *et al.*, 2011). Les flavonoïdes sont généralement de puissants antioxydants ; certains de ces composés présentent en effet une activité jusqu'à 200 fois supérieure à celle de la vitamine E (Percie du Sert, 2009).

Les principales techniques utilisées pour l'extraction des composés phénoliques présents dans les miels sont l'extraction liquide-liquide à l'acétate d'éthyle ou à l'éthanol (Siess *et al.*, 1996 ; Cabras *et al.*, 1999), d'une part, et l'extraction en phase solide sur colonne d'amberlite avec une éluation à l'eau (élimination des sucres et autres composés polaires) puis au méthanol pour isoler les composés phénoliques (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006 ; Pyrzynska *et al.*, 2009), d'autre part.

Dans les produits de la ruche, par CLHP, il a été identifié de multiples composés tels l'apigénine, la luteoline, le kaempférol, la pinobanskine, l'hesperidine, la rutine, la myricétine, la chrysin, la quercétine, la pinocembrine et la galangine. Récemment, dans les miels de divers pays d'Europe, Tomas-Barberan *et al.* (2001) ont identifiés des composés typiques de la propolis : deux flavanones (pinobanksine et pinocébrine), cinq flavones (chrysin, galangine, techtochrysin, pigéline et genkwanine), la quercétine, des oxydes de méthyl-kaempférol, et des esters de l'acide caféique. Les concentrations de ces derniers dépendent du taux de propolis dans le miel.

La composition polyphénolique des miels peut fortement varier en fonction de la source butinée ainsi qu'en relation avec les conditions géographiques et climatiques (Amiot *et al.*, 1989 ; Gheldof *et al.*, 2002a, 2002b ; Yao *et al.*, 2003 ; Beretta *et al.*, 2005 ; Dong *et al.*, 2013). Aussi, les composés phénoliques ont-ils été proposés comme marqueurs botaniques de certains miels monofloraux : l'hespérite pour les miels d'agrumes (Ferrerres *et al.*, 1993, 1994b ; Andrade *et al.*, 1997b), le kaempférol pour les miels de romarin (Ferrerres *et al.*, 1994a, 1998), la quercétine pour les miels de tournesol (Tomas-Barberan *et al.*, 2001), ou encore différents flavanols (myricétine, quercétine, tricétine, lutéoline) pour les miels d'eucalyptus (Martos *et al.*, 2000a, 2000b ; Yao *et al.*, 2004). De même, les acides phénoliques ont été proposés comme indicateurs chimiques de l'origine botanique : l'acide ellagique et l'acide abscisique pour les miels de bruyère (Soler *et al.*, 1995 ; Ferrerres *et al.*, 1996a, 1996b ; Andrade *et al.*, 1997a, 1997b) ; l'acide caféique, l'acide *p*-coumarique et l'acide férulique - en proportions variables - pour les miels de châtaignier, - de lavande, - de tournesol et - d'acacia (Tomas-Barberan *et al.*, 2001) ; l'acide homogentisique pour les miels d'arbousier (Cabras *et al.*, 1999). Plus récemment, trois autres composés phénoliques (unedone, acide 2-*E*, 4-*E* abscisique et acide de 2-*Z*, 4-*E* abscisique) ont été proposés comme marqueurs dans des miels d'arbousier (Tuberoso *et al.*, 2010).

II.3.3. Composés volatils

Les premiers travaux sur la fraction volatile des miels datent du début des années 60 et à ce jour plus de 600 composés volatils appartenant à différentes familles chimiques ont été identifiés (Kaskoniené *et al.*, 2010a ; Manyi-Loh *et al.*, 2011). Ces quinze dernières années, l'étude de la composition volatile des miels a attiré une attention croissante puisque une cinquantaine d'articles sont parus sur le sujet. Ces publications soulignent une faible teneur en constituants volatils dans les miels (Pontes *et al.*, 2007 ; Kaskoniené *et al.*, 2010a). Les composés volatils participent aux propriétés organoleptiques des miels ; la contribution d'une substance dépend de sa concentration mais aussi des interactions avec différents autres constituants (Shimoda *et al.*, 1996 ; Kaskoniené *et al.*, 2010a). Ainsi, Zhou *et al.* (2002) ont proposé comme principaux principes odorants des miels de sarrasin (*Fagopyrum* sp.) : le 3-méthylbutanal, le 3-hydroxy-4,5-diméthyl-2(5H)-furanone et l'(E)- β -damascénone alors que Moreira *et al.* (2005) souligne l'importance du benzaldéhyde, de l'acide 2,3-diméthylbutanoïque, du benzonitrile et du 2-phényléthanol pour les miels de *Gochmatia velutina*.

De multiples méthodes ont été utilisées pour l'extraction de la fraction volatile (Kaskoniené *et al.*, 2010a ; Manyi-Loh *et al.*, 2011) : l'hydrodistillation (Clevenger) ; l'extraction liquide-liquide (ELL) ; l'extraction-distillation en simultané (Likens-Nickerson) ; la Micro Extraction en Phase Solide (MEPS) ; la Désorption Thermique Automatique (DTA) ; l'extraction aux solvants par ultrasons (ESU) ou encore l'extraction sur phase solide (EPS). Toutes ces techniques présentent des avantages et des inconvénients. Parmi ces derniers : le temps d'extraction est généralement long, l'utilisation de solvant peut entraîner la perte de constituants de faible poids moléculaire lors de l'évaporation et la température favorise une dégradation thermique des composés (Cuevas-Glory *et al.*, 2007). Le mode de préparation peut donc influencer sur le résultat de l'analyse. Jerković *et al.* (2007) ont montré des différences qualitatives et quantitatives dans les compositions des fractions volatiles de miels extraites par hydrodistillation et extraction aux solvants par ultrasons ; l'hydrodistillation favorise la formation des composés furaniques par dégradation thermique des sucres. Nous exposons ci-dessous les techniques les plus couramment utilisées pour l'extraction de la fraction volatile des miels.

L'extraction liquide-liquide (ELL) est la méthode la plus répandue (Castro-Vazquez *et al.*, 2002, 2003 ; Pontes *et al.*, 2007) ; elle a été mise en œuvre notamment pour la caractérisation de différents miels monofloraux (Castro-Vazquez *et al.*, 2003). L'efficacité de cette méthode réside principalement dans le choix du solvant (généralement l'acétate d'éthyle ou le dichlorométhane). Il est à noter que des concentrations élevées en sucres rendent parfois délicate l'utilisation de cette technique.

L'extraction-distillation simultanée a été proposée par Likens et Nickerson en 1964 et a été optimisée par Godefroot *et al.* en 1981 (Castro-Vazquez *et al.*, 2002). Cette technique est très utilisée pour l'analyse quantitative des volatils de produits agro-alimentaires, en général. En comparaison avec la méthode ELL, elle présente certains avantages (Bogdanov *et al.*, 2004 ; Cuevas-Glory *et al.*, 2007) ; son meilleur rendement d'extraction permet de travailler avec de plus faibles quantités d'échantillons, la consommation en solvant est moindre et les durées d'analyse sont plus courtes (1 à 2 heures d'extraction). De plus, l'extraction se fait sous atmosphère inerte et à température ambiante minimisant ainsi les transformations thermiques éventuelles.

L'extraction aux solvants par ultrasons (ESU) est une technique - sans chauffage - utilisée pour isoler les composés volatils à partir de produits naturels. Elle est basée sur l'utilisation de solvants organiques et d'un bain d'eau soumis aux ultrasons. Cette technique a été mise en œuvre pour caractériser les fractions volatiles des fleurs d'agrumes et des miels correspondants (Alissandrakis *et al.*, 2003) ainsi que celles des miels de châtaignier, d'asphodèle et d'acacia (Jerković *et al.*, 2007, 2009, 2011).

Depuis le début des années 1990, la Micro Extraction en Phase Solide (MEPS) a été largement utilisée dans différents domaines de la chimie tels l'environnement, la parfumerie, l'industrie pharmaceutique et l'agro-alimentaire (Bogdanov *et al.*, 2004 ; Alissandrakis *et al.*, 2005 ; Cuevas-Glory *et al.*, 2007). Ses principaux avantages résident dans la rapidité de l'analyse, l'absence de solvant, la sensibilité élevée et le son faible coût. La méthode a été appliquée pour la première fois sur des miels d'Italie par Guidotti et Vitali en 1998 (Bogdanov *et al.*, 2004). Elle apparaît, pour de

nombreux auteurs, comme une méthode bien adaptée pour la caractérisation des volatils des miels, d'une part, et pour la détermination de marqueurs moléculaires de l'origine botanique de ces produits, d'autre part.

Après extraction, la fraction volatile des miels est généralement analysée par CPG associée à un détecteur à ionisation de flamme (FID) et/ou couplée en ligne à un spectromètre de masse (CPG-SM). Une nouvelle stratégie basée sur un nez électronique (dite E-nez) a été développée pour l'étude des arômes dans les aliments (Ampuero *et al.* 2004 ; Cuevas-Glory *et al.*, 2007 ; Verzera *et al.*, 2012). Cette technique a notamment été appliquée pour l'analyse de la composition volatile de miels de différentes origines botaniques (Benedetti *et al.*, 2004).

Différents constituants volatils indicateurs de l'origine nectarifère des miels ont été rapportés :

- l'anthranilate de méthyle ; les isomères du lilac aldéhyde, - du d'hydroxylinaloxydes et - du 1-*p*-menthène-9-al dans les miels d'agrumes (*Citrus* sp.) (White, 1966 ; Ferreres *et al.*, 1994b ; Alissandrakis *et al.*, 2003, 2007 ; Bogdanov *et al.*, 2004) ;
- le salicylate de méthyle dans les miels de saule (*Salix* sp.) (De la Fuente *et al.*, 2007) ;
- le syringate de méthyle dans les miels d'asphodèle (Jerković *et al.*, 2011) ;
- le *trans*-oak lactone pour les miels de miellat de chêne (*Quercus* sp.) (Castro-Vazquez *et al.*, 2006) ;
- les dérivés d'isophorone (l' α -isophorone, l' β -isophorone et le 4-oxoisophorone) dans les miels d'arbousier (*Arbustus unedo*) (Bianchi *et al.*, 2005) ;
- le 1-phényléthanol et les dérivés de l'acétophénone (acétophénone, 2-aminoacétophénone et 3-aminoacétophénone) dans les miels de châtaignier (*Castanea sativa*) (Bonaga *et al.*, 1986 ; Guyot *et al.*, 1998 ; Verzera *et al.*, 2001 ; Bonvehí *et al.*, 2003 ; Jerkovic *et al.*, 2007 ; Alissandrakis *et al.*, 2011) ;
- le *p*-anisaldéhyde, l'acide de *p*-anisique et le vanillate de méthyle dans les miels de bruyère (*Erica arborea*) (Guyot *et al.*, 1999).

Toutefois, le marquage de l'origine d'échantillons dépend non seulement de la présence de ces molécules mais aussi de leurs teneurs. Castro-Vazquez *et al.* (2014) ont identifié 80 composés dans le miel de lavande (*Lavandula latifolia*) et de lavandin (*L. angustifolia* x *L. latifolia*). Bien que la plupart des composés soit présents dans les deux types de miels, ils se distinguent par leurs concentrations en 4-méthoxyacétophénone, décanal, farnésol, acétovanillone et dihydrovomifoliol.

L'analyse comparative entre la fraction volatile des miels et celle des matières premières récoltées par l'abeille, a fait l'objet de peu d'études. Rowland *et al.* (1995) ont montré que les compositions volatiles des miels et des fleurs d'*Eucryphia lucida* sont dominées par le 2,6-diméthyl-3,7-diène-2,6-diol. Alissandrakis *et al.* (2003) ont mis en évidence que les fractions volatiles des fleurs d'agrumes sont riches en linalol alors que les miels correspondants présentent des compositions où prédominent des dérivés du linalol. Les miels et les fleurs de *Solidago canadensis* sont caractérisés par des sesquiterpènes (43 composés représentant 52% de la composition totale) dérivés du germacrène (Amtmann, 2010). De façon analogue, les compositions volatiles des miels et des fleurs d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) sont dominées par le 3-oxo- α -ionone (Alissandrakis *et al.*, 2011). Enfin, Alissandrakis *et al.* (2011) ont identifié 13 composés communs dans les fractions volatiles des chatons et des miels de châtaignier.

Comme nous l'avons vu ci-dessus, la plupart des études sur la fraction volatile des miels ont pour objectif la détermination de l'origine botanique. Peu de travaux concernent la certification de l'origine géographique ; à notre connaissance, deux articles traitent de la différenciation entre les miels de Corse et ceux d'autres origines géographiques sur la base des constituants volatils (Cajka *et al.*, 2009 ; Stanimirova *et al.*, 2010).

III- Qualification des miels de Corse

III.1. Les miels de nectar

III.1.1 Présentation des échantillons

195 échantillons de miels de nectar de Corse commercialisés sous « Appellation d'Origine Protégée » ont été sélectionnés à partir de la banque de miels de référence gérée par le laboratoire CPN. Depuis l'obtention de l'AOC en 1998, des campagnes régulières d'échantillonnage de miels ont été menées dans le cadre des contrôles de qualité; elles ont ainsi permis de constituer puis d'enrichir au fur et à mesure cette banque qui compte aujourd'hui plus de 1500 miels référencés. Afin d'assurer une conservation optimale de ces miels (Gonnet *et al.*, 1985), les échantillons de la banque ont été conditionnés directement après le prélèvement, puis stockés à 4 °C en chambre froide. Préalablement aux analyses de la composition volatile, pour chaque échantillon, les caractéristiques organoleptiques (en particulier, l'absence de goût parasite et/ou d'évolution du produit) ont été contrôlées, ainsi que leur conformité avec la qualité décrite pour chaque gamme variétale dans le cahier des charges de l'AOC-AOP.

Les échantillons de miels proviennent de 65 exploitations régionales représentatives de la diversité des paysages végétaux apicoles de la Corse. Les informations relatives aux récoltes (lieu, altitude, période, année) des miels analysés ont été rassemblées dans le **Tableau A.1 (Annexe 2)**. Afin de prendre en compte les variations interannuelles, dues aux facteurs bioclimatiques, dans chaque gamme variétale de miels, les échantillons ont été sélectionnés sur plusieurs années de production (2003 à 2013), et principalement sur trois années de récolte consécutives (2004, 2005 et 2006) avec un suivi sur plusieurs exploitations «types» représentatives des diverses conduites apicoles du territoire insulaire. Il est à noter que les saisons 2003 et 2004 ont été caractérisées par des conditions climatiques particulières; l'année 2003 a été marquée par une sécheresse exceptionnelle qui a entraîné une diminution des productions pour l'ensemble des gammes tandis que l'année suivante a connu des productions nectarifères inhabituelles telles que les

Fabaceae (*Trifolium* sp., *Lupinus* sp., *Vicia* sp.), les *Apiaceae*, les *Rubus* sp. et les *Teucrium* sp. ; alors que la miellée de «maquis de printemps » (*Erica arborea*) n'a pas eu lieu (Battesti *et al.*, 2007).

Les 195 miels de nectar se répartissent dans les cinq gammes variétales comme suit :

- 50 miels «*châtaigneraie* » (CH01 – CH50) récoltés par 28 producteurs entre Juillet et Septembre durant six années (période 2003 à 2006, 2008 et 2009). Les ruchers étaient situés à des altitudes de 50 à 1000 m, dans des microrégions représentatives de la répartition de châtaigniers sur le territoire insulaire (Castagniccia, vallées de la Gravona, du Taravo et du Prunelli, forêts et vergers du Cap Corse et Centre-Corse).
- 45 miels «*maquis de printemps* » (MP01 – MP45) issus de 26 exploitations, récoltés principalement entre Mai et Juin (période 2003, 2005, 2006, 2007 et 2010). Les ruchers sont situés du littoral à 860 m d'altitude mais essentiellement au-dessus de 300 m.
- 30 miels «*maquis d'automne* » (MA01 – MA30) récoltés de Septembre à Janvier pendant sur la période de janvier 2005 jusqu'à janvier 2013 dans 20 exploitations localisés du littoral à 1000 m d'altitude (50% des ruchers sont localisés au-dessus de 400 m).
- 41 miels «*printemps* » (PR01 – PR41) provenant de 12 producteurs, prélevés entre Avril et Juin pendant trois années (2004-2006). Ils ont été récoltés principalement au-dessous de 100 m, dans les zones cultivées de la plaine orientale ou dans les zones rudérales.
- 29 miels «*maquis d'été* » (ME01 – ME33) échantillonnés chez 17 apiculteurs entre Juin et Septembre durant les années 2004 à 2012. Les ruchers étaient essentiellement localisés à une altitude supérieure à 800 m dans la région du Niolu et de Quenza ainsi que la haute vallée de la Gravona et du Taravo.

III.1.2. Caractérisation par les méthodes conventionnelles

a) Analyses polliniques

L'analyse pollinique effectuée sur les 195 échantillons a permis de répertorier 131 taxons, dont 92 nectarifères et pollenifères et 39 uniquement pollenifères. Parmi les 131 taxons, 9 sont des taxons très fréquents (présents dans plus de 50% des échantillons, autrement dit avec un taux de présence TP > 50%), 25 sont fréquents (taux de présence TP de 20 à 50%), 18 sont peu fréquents (taux de présence TP de 10 à 20%). Ces 52 taxons peuvent être considérés comme des éléments représentatifs du répertoire mellifère et/ou pollenifère régional (**Tableau A.2-Annexe 3**). Les 79 autres taxons sont considérés comme « rares » avec des taux de présence < 10%.

Certification de l'origine géographique

La détermination de l'origine géographique des miels de Corse est fondée sur l'analyse chorologique et écologique des taxons du répertoire pollinique, à savoir : la diversité des types biogéographiques, la présence de taxons « marqueurs » et l'absence significative de taxons caractéristiques d'autres miels euro-méditerranéens (Battesti *et al.*, 1992 ; Battesti *et al.*, 1997 ; Décret n° 2013-1057, 2013). Les 52 taxons ayant un taux de présence TP > 10% sont classés en fonction de leur type biogéographique (CB : code biogéographique), puis par leur taux de présence décroissant. Leur répartition selon les étages de végétation de la Corse permet de remarquer une forte diversité d'espèces végétales dont la répartition s'étend du littoral à la montagne en fonction de la localisation des ruchers.

L'originalité du répertoire des miels de Corse est fondée sur la diversité des types biogéographiques des taxons rencontrés. La majorité des espèces sont d'origine méditerranéenne au sens large du terme. Nous pouvons citer *Echium* sp., *Rubus* sp. pour les taxons euryméditerranéens (CB 21) et *Erica arborea*, *Lavandula stoechas*, *Myrtus communis* pour les taxons sténoméditerranéens (CB 31). De plus, nous relevons un nombre non négligeable de taxons eurasiatiques (CB 51, 52, 54, 58 et 59) et atlantiques (CB 65) qui s'explique par le caractère montagneux du territoire insulaire. L'analyse met également en évidence l'importance des ressources mellifères

spontanées ; seulement cinq taxons cultivés sont représentés dans le répertoire ; il s'agit d'arbres fruitiers (*Prunus* sp., *Pyrus/Malus* forme, *Citrus* sp. et *Actinidia sinensis* et *Eucalyptus* sp.), qui sont essentiellement localisés dans la plaine orientale.

Trois taxons endémiques ont été identifiés avec un taux de présence TP > 10% : *Teucrium* sp. (essentiellement *T. marum*) ; *Genista* sp. (essentiellement *G. corsica*, *G. salzamannii* var. *salzamannii* et *G. salzamannii* var. *lobelioides*) et *Thymus herbarona*. Ces espèces sont les principaux indicateurs endémiques. Toutefois, il convient de souligner la présence d'*Anthyllis hermanniae* (origine sténo-méditerranéenne orientale : CB 28) dans 51% des échantillons. Cette espèce est considérée comme un des marqueurs de l'origine géographique par son absence dans les spectres polliniques des miels du continent français et des miels de l'ouest méditerranéen (Battesti, 1990). Conformément au cahier de charge de l'AOP sur les miels de Corse (Décret n°2013-1057, 2013), l'absence de taxons - fréquents dans les miels des autres régions ou pays méditerranéens - est également utilisée pour la certification de l'origine Corse ; il s'agit d'espèces cultivées comme *Onobrychis viciifolia*, *Brassica napus*, *Helianthus annuus*, *Hedysarum coronarium* et *Fagopyrum esculentum*, ou encore de plantes non cultivées comme *Hypocoum* sp., *Loranthus europaeus*, *Rhus* sp., *Calluna vulgaris* et *Thymus vulgaris*.

Comme marqueurs d'une certaine constance régionale, nous observons la présence de *Castanea sativa* et *Quercus* sp. ; ces deux taxons sont rapportés dans plus de 90% des échantillons, quelles que soient la zone de production et la période de récolte. Il faut également souligner la présence de *Rubus* sp., *Cistus* sp., *Erica arborea*, *Fraxinus ornus*, *Genista* sp. et *Salix* sp. dans une majorité d'échantillons (TP > 50%). L'ensemble de ces résultats est en accord avec la définition des spécificités relatives à la certification de l'origine des miels de Corse (Battesti *et al.*, 1992, 1997).

Caractérisation de l'origine botanique

Pour déterminer l'origine botanique, nous avons pris en compte différents critères :

- le spectre pollinique (données qualitatives) et la densité pollinique (données quantitatives) ;
- la valeur apicole des taxons (espèces nectarifères et/ou pollenifères et espèces uniquement pollenifères) ;
- le type de représentation des taxons nectarifères (normal, sur- et sous-représenté) ;
- les associations caractéristiques de la miellée.

La **Figure A.2 (Annexe 4)** présente la synthèse des résultats obtenus après dépouillement des 195 spectres polliniques ; elle permet notamment d'observer les principales caractéristiques polliniques des cinq gammes variétales. En effet, le diagramme permet de mettre en évidence le type de représentation pollinique des espèces dominantes et de décrire les associations végétales typiques à chaque gamme. Pour cela, les taxons majeurs (présents à plus de 10% dans les échantillons et ayant une fréquence relative maximale supérieure à 3% $FR_{Max} > 3\%$) et les spectres polliniques ont été respectivement classés en fonction de la chronologie de floraison des espèces (en abscisse) et de la gamme variétale (en ordonné).

Miels de « châtaigneraie »

L'étude des spectres polliniques des 50 échantillons de miels de « châtaigneraie » (CH01-CH50) révèle une sur-représentation de *Castanea sativa* ; la fréquence relative (FR) de ce dernier varie de 82,5% à 98,0% et 40 échantillons ont une $FR > 90\%$. Cette espèce est associée principalement avec *Rubus* sp., taxon également présent dans tous les échantillons avec une FR comprise entre 0,1% et 12,7%. Quatorze autres taxons peuvent être considérés comme représentatifs de ces productions par des FR_{Max} supérieure à 1% et un taux de présence d'au moins 45% (i.e. *Quercus ilex*, *Anthyllis hermanniae*, *Myrtus communis*, *Genista* sp., *Erica arborea*, *Cistus* sp. et *Fraxinus ornus*). Par ailleurs, l'analyse a montré une diversité de structure pollinique qui atteste de la richesse en ressources mellifères et/ou pollenifères des zones de productions. Ce ne sont pas moins de 76 espèces qui ont été

identifiées comme taxons isolés (FR < 1%) se déclinant en 12 fréquents (TP : 20 à 46%), 20 peu fréquents (TP : 10 à 20%) et 44 rares (TP : < 10%).

La densité pollinique des miels de « *châtaigneraie* » est particulièrement élevée avec une valeur moyenne de $636,6 \times 10^3$ PK/10g : 18 échantillons ont des valeurs supérieures à cette valeur moyenne. Conformément aux données décrites dans la bibliographie (Battesti, 1990 ; Persano Oddo *et al.*, 2004b), la densité pollinique des miels de « *châtaigneraie* » de Corse est beaucoup plus élevée que celle d'autres origines (de 100 à $642,8 \times 10^3$ PK/10g, moyenne $288,2 \times 10^3$ PK/10g).

Miels de « maquis de printemps »

Les 45 miels de « *maquis de printemps* » (MP01-MP45) présentent un seul et même taxon dominant : la bruyère (*Erica arborea*) dont la représentation pollinique est de type « normal ». 25 échantillons admettent une FR d'*E. arborea* comprise entre 45,0 et 77,9% et les 20 autres ont une FR < 45,0% (valeur minimale : 27,9%). Les FR des autres taxons nectarifères varient de 4,2% à 56,7%. D'autres espèces nectarifères sont également bien représentées dans certains échantillons : *Genista* sp. (FR_{Max} : 38,8%), *Salix* sp. (FR_{Max} : 14,5%), *Lavandula stoechas* (FR_{Max} : 11,7%), *Prunus* sp. (FR_{Max} : 10,5%), *Viburnum tinus* (FR_{Max} : 10,5%) et *Crataegus monogyna* (FR_{Max} : 8,7%). La fréquence relative des espèces uniquement pollenifères varie de 13,5% à 59,6% et la valeur moyenne est élevée (32,8%) par rapport à celle observée pour les autres catégories (excepté la gamme « *printemps* »). Les principaux taxons pollenifères sont *Quercus* sp., *Fraxinus ornus* et *Cistus* sp. Dans certains échantillons, nous remarquons la présence de *Castanea sativa* avec des valeurs de FR relativement élevées. Toutefois, le caractère « sur-représenté » du châtaignier, nous oriente vers un rôle principalement pollenifère dans ces échantillons.

La densité pollinique des miels de « *maquis de printemps* » est relativement constante avec une moyenne de 177×10^3 PK/10g. En effet, 33 échantillons admettent des valeurs comprises entre 100 et 300×10^3 PK/10g, ces données sont comparables à celles décrites par Battesti (1990). Cependant, nous pouvons distinguer neuf échantillons ayant une densité inférieure à 100×10^3 PK/10g et trois échantillons avec des valeurs supérieures à 500×10^3 PK/10g.

Miels de « maquis d'automne »

L'arbousier est le taxon caractéristique de la miellée automnale. Son pollen est de type « sous-représenté » en raison de la forme des fleurs et la taille importante du grain (Ricciardelli d' Albore *et al.*, 1978). Dans les 30 miels de « maquis d'automne » étudiés (MA01-MA30), la FR d'*Arbutus unedo* varie de 0,7% à 40,1% avec une valeur moyenne de 12,5%. L'arbousier est associé à d'autres taxons nectarifères de floraison automnale à savoir *Hedera helix*, *Smilax aspera*, *Dittrichia viscosa*, *Asteraceae* fenêtrée forme, *Rosmarinus officinalis*, *Odontites* sp. et *Asparagus* sp. Nous pouvons souligner la présence d'*H. helix* dans tous les échantillons avec des valeurs de FR comprises entre 0,3% et 50,5% ; il est le taxon dominant dans deux échantillons (FR > 45%). Afin de déterminer la contribution nectarifère d'*H. helix* dans les miels de « maquis d'automne », nous avons prélévé un miel monofloral sur cadre ; le spectre pollinique de ce dernier indique une FR d'*H. helix* de 94,6%. Ainsi, nous pouvons supposer que le pollen de ce taxon est de type « sur-représenté ». Cette caractéristique permet de suggérer que des fréquences relatives de l'ordre de 50% ne sont pas significatives pour confirmer les apports de nectar par cette espèce dans les miels de « maquis d'automne ». De façon analogue, les valeurs élevées de FR de *C. sativa* observés dans certains échantillons ne sont pas indicatrices d'une contribution nectarifère.

Enfin, la densité pollinique des miels de « maquis d'automne » admet une valeur moyenne relativement faible ($64,7 \times 10^3$ PK/10g) par rapport à celle des autres gammes de miels corses. Toutefois, elle présente de fortes variations allant de 20,6 à $271,3 \times 10^3$ PK/10g. De telles observations ont également été rapportées dans les miels d'arbousier de Sardaigne (Floris *et al.*, 2007) et s'expliquent notamment par une grande quantité de pollens de type « sur-représenté ».

Miels de « printemps »

L'analyse pollinique des 41 échantillons de miels de la gamme « printemps » (PR01-PR41) a conduit à l'observation de 64 taxons nectarifères présents en proportions variables et ayant des types différents de représentation : « sur-représenté » (*Lotus* sp. et *Echium* sp.), « normal » (*Erica arborea*, *Genista* sp., *Rubus*

sp., *Salix* sp. et *Apiaceae*) et « sous-représenté » (*Lavandula stoechas*, *Citrus* sp. et *Asphodelus* sp.). Nous constatons également qu'aucun d'entre eux ne peut être considéré comme dominant commun à tous les échantillons. Ces taxons nectarifères sont associés à 28 taxons uniquement pollenifères dont les principaux sont *Quercus* sp., *Cistus* sp., *Castanea sativa* et *Fraxinus ornus*. Deux groupes principaux de spectres polliniques peuvent être distingués en fonction des associations végétales :

- Le premier est composé de 18 échantillons (PR01 – PR18) - regroupés sous l'appellation « *printemps clémentinier* » - dont les profils polliniques sont caractérisés par l'association de taxons provenant de zones cultivées : *Citrus* sp., *Actinidia sinensis*, *Prunus* sp. et/ou *Olea* sp. En effet, *Citrus* sp. (essentiellement l'espèce *C. sinensis* × *reticulata*) est présente dans tous les échantillons avec une fréquence relative FR comprise entre 0,2% et 16,1%, correspondant aux caractéristiques des miels d'agrumes décrits dans la littérature (Floris *et al.*, 2007) ;
- Le second regroupe 23 échantillons (PR19 – PR 41) - dénommés « *printemps autres* » - caractérisés au niveau pollinique par la présence significative d'espèces végétales des zones rudérales telles que *Asphodelus* sp., *Apiaceae* et *Brassicaceae* mais également par l'absence des taxons cultivés, notamment l'association *Citrus/Actinidia*. En accord avec la littérature (Ricciardelli d' Albore *et al.*, 1978), 16 échantillons de ce groupe présentent des fréquences relatives d'*Asphodelus* sp. comprises entre 0,2% et 2,9%, conformes à celles des miels à dominante asphodèle (taxon à sous-représentation extrême). De plus, la complexité des proportions et associations nectarifères est importante ; ainsi, de multiples taxons peuvent également jouer un rôle nectarifère dans certains échantillons : *Trifolium* sp. (FR_{Max} : 53,5%), *Echium* sp. (FR_{Max} : 71,1%) et *Lotus* sp. (FR_{Max} : 52,8%) *Erica arborea* (FR_{Max} : 35,5%), *Prunus* sp. (FR_{Max} : 24,1%), *Viburnum tinus* 16,2%, *Genista* sp. (FR_{Max} : 31,5%), *Salix* sp. (FR_{Max} : 29,9%), *Lupinus angustifolius* (FR_{Max} : 18,9%) et *Apiaceae* (FR_{Max} : 17,5%).

La densité pollinique moyenne des 41 échantillons de miels de « *printemps* » est relativement faible (90×10^3 PK/10g) comparée à celle des quatre autres gammes variétales. 32 d'entre eux ont une densité inférieure à 100×10^3 PK/10g et huit autres ont une densité pollinique comprise entre 100 et 300×10^3 PK/10g. Un seul

échantillon (PR23) se distingue par une valeur de densité particulièrement élevée (600×10^3 PK/10g). La densité pollinique ne permet pas de distinguer les miels « *printemps clémentinier* » des miels « *printemps autres* » ; les valeurs moyennes sont relativement proches : 68×10^3 PK/10g et 84×10^3 PK/10g, respectivement.

Miels de « maquis d'été »

La structure du spectre des 29 miels de « *maquis d'été* » (ME01-ME29) est caractérisée une association d'espèces de fruticées naines caractéristiques de l'habitat d'*Anthyllis hermanniae*. De plus, l'association de cette espèce avec *Rubus* sp. est caractéristique de tous les échantillons. Ces deux taxons sont présents dans tous les échantillons avec une forte variation de leurs FR (*A. hermanniae* : 0,6% à 33,8% ; *Rubus* sp. : 0,9% à 19,4%). Le pollen de *C. sativa* est présent dans tous les échantillons avec de fortes variations de FR (6,8% à 95,4%). La somme des FR d'*A. hermanniae* et *Rubus* sp. (FR_{A+R}) permet de classer les échantillons en trois groupes :

- 9 échantillons (ME01 – ME09) se caractérisent par une $FR_{A+R} > 20\%$ (20,9 – 34,6%). Ces résultats démontrent qu'*A. hermanniae* et *Rubus* sp. participent significativement à l'apport nectarifère dans ces miels. Bien que la FR de *C. sativa* soit comprise entre 6,8 et 67,6% ; la sur-représentation de ses pollens, nous conduit à conclure à l'absence de contribution nectarifère du châtaigner dans ces échantillons.
- 13 échantillons (ME10 – ME22) possèdent une grande variation des valeurs FR_{A+R} (10 – 20%) et FR de *C. sativa* (56,5 – 83,9%). Par ailleurs, nous constatons la présence de *Thymus herba-barona* - taxon endémique de type « sous-représenté » - avec une FR $> 0,5\%$ dans les spectres de certains échantillons. Nous pouvons, ainsi, faire l'hypothèse que ce taxon joue un rôle nectarifère dans ces miels.
- 7 échantillons (ME23 – ME29) sont caractérisés par une $FR_{A+R} < 10\%$, une FR de *C. sativa* élevée (85,4 à 95,4%). Outre les apports nectarifères de *A. hermanniae* et *Rubus* sp., la participation de *C. sativa* ne peut pas être négligée dans ces miels.

Les miels de la gamme « *maquis d'été* » se caractérisent aussi par une forte variation de la densité pollinique (42,9 - 1950,0 $\times 10^3$ PK/10g). La complexité des spectres polliniques de ces miels s'explique par le fait qu'*A. hermanniae* est de type normal (voir sous-représenté) et qu'il s'agit d'une espèce essentiellement nectarifère

(Battesti, 1990). Par conséquent, son pollen est associé à celui d'autres ressources pollénifères d'origines diverses tels que *Rubus* sp., *Genista* sp., *Crataegus monogyna* et *Jasione montana*. De plus, sa période de floraison précède et/ou coïncide avec celle du châtaignier, dont les peuplements voisinent avec son habitat. Cette typologie pollinique des différentes catégories variétales est en accord avec la banque référentielle (Battesti, 1990 ; Battesti *et al.*, 1992, 1997).

b) Analyses physico-chimiques

De manière conventionnelle, l'analyse des données polliniques est complétée par des analyses sensorielles et certaines caractéristiques physico-chimiques. Cette démarche pluridisciplinaire est nécessaire pour la caractérisation des différentes catégories de la gamme variétale (Battesti, 1992; Décret n°2013-1057, 2013). Dans la présente étude, nous avons mesuré la teneur en eau, la coloration et la conductivité électrique des 195 miels de nectar. Le **Tableau 1** regroupe les valeurs moyennes des caractéristiques précitées obtenues pour chaque gamme variétale à partir de l'ensemble des échantillons étudiés.

Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques des miels de nectar en fonction des gammes variétales

	Teneur en eau (%)			Coloration (mm Pfund)			Conductivité électrique (mS/cm)		
	Moyenne	Min.	Max.	Moyenne	Min.	Max.	Moyenne	Min.	Max.
CH	16,8±0,8	15,3	18,6	81,4±8,6	71,0	99,0	1,38±0,31	0,69	1,90
MP	16,4±0,9	14,7	18,6	86,9±12,9	55,0	110,0	0,66±0,19	0,38	1,10
MA	17,0±0,7	16,0	18,9	66,4±8,0	46,0	83,0	0,83±0,09	0,64	1,01
PR	16,0±0,7	14,8	17,5	30,3±15,4	11,0	71,0	0,24±0,08	0,13	0,45
ME	16,0±1,0	14,4	17,8	40,6±20,3	11,0	71,0	0,47±0,28	0,18	1,16

CH : Châtaigneraie; MP : Maquis de printemps; MA : Maquis d'automne ; PR : Printemps; ME : Maquis d'été

Teneur en eau

La valeur moyenne de la teneur en eau est de 16.4 g/100g. Tous les échantillons ont une teneur en eau inférieure à 18 g/100g (excepté certains miels de « châtaigneraie » et de « maquis d'automne » pour lesquels la teneur en eau peut atteindre 19%), ce qui est conforme aux normes européennes relatives à la commercialisation et la conservation des miels (Décret n°2003-587, 2003) et au cahier des charges de l'AOP « Miel de Corse – Mele di Corsica » (Décret n° 2013-1057,

2013). Nous constatons que les teneurs en eau des miels de « *maquis de printemps* », de « *printemps* » et de « *maquis d'été* » sont comparables (environ 16,0 g/100g) alors que celles des gammes « *châtaigneraie* » et « *maquis d'automne* » sont légèrement plus élevées (environ 17,0 g/100g).

Coloration

La coloration des miels est très variable selon l'origine botanique des échantillons. En effet, les valeurs moyennes de coloration augmentent (du clair au foncé) dans l'ordre suivant : miels de « *printemps* » (30,3 mm Pfund), « *maquis d'été* » (40,6 mm Pfund), miels de « *maquis d'automne* » (66,4 mm Pfund), « *châtaigneraie* » (81,4 mm Pfund) et miels de « *maquis de printemps* » (86,9 Pfund).

Conductivité électrique

La conductivité électrique moyenne des 195 miels analysés est relativement élevée (0,93 mS/cm). Celle-ci est corrélée positivement avec la couleur. Les miels clairs (gammes « *printemps* » et « *maquis d'été* ») ont des conductivités électriques plus faibles (0,24 et 0,47 mS/cm, respectivement) que les miels foncés (« *maquis de printemps* » et « *maquis d'automne* » : 0,66 et 0,83 mS/cm, respectivement). Pour leur part, les miels de la « *châtaigneraie* » se démarquent des autres échantillons par des valeurs de conductivité particulièrement élevées (1,38 mS/cm).

Synthèse :

Conformément aux normes de l'AOP « Miels de Corse – Mele di Corsica » (Décret n° 2013-1057, 2013), les analyses méssopalynologiques et physico-chimiques menées sur les 195 miels de nectar ont permis de certifier l'origine géographique et botanique des échantillons. Elles ont ainsi permis :

- de confirmer la classification des miels de nectar au sein de cinq gammes variétales ;
- de définir la diversité des productions mellifères insulaires au sein de chacune des catégories.

III.1.3. Caractérisation de la fraction volatile

a) Analyse de la variabilité chimique inter-gamme

Les fractions volatiles des 195 échantillons de miels ont été préconcentrées par MEPS et caractérisées par CPG et CPG/SM. L'analyse a permis d'identifier globalement 80 composés représentant 60,7 à 98,5% des fractions volatiles (**Tableau 2**). Le nombre de constituants identifiés diffère selon les gammes variétales : 38, 35, 21, 43, 37 composés dans les miels de « *châtaigneraie* », de « *maquis de printemps* », de « *maquis d'automne* », de « *printemps* » et de « *maquis d'été* », respectivement.

D'une manière générale, la composition chimique est dominée par des constituants oxygénés (54,0 – 95,4%). Seuls trois composés sont présents (en abondance variable) dans tous les échantillons : le 3-furaldéhyde **V10** (0,1 – 18,5%), le benzaldéhyde **V18** (0,3 – 28,0%) et le phénylacétaldéhyde **V25** (0,1 – 57,8%). Bien que détectés dans tous les miels étudiés, ces constituants ne peuvent pas être considérés comme des marqueurs de l'origine géographique des échantillons ; le benzaldéhyde **V18** et le phénylacétaldéhyde **V25** ont été identifiés dans des miels de diverses origines (France, Italie, Allemagne, Grèce, Belgique, Espagne, etc.) (Verzara *et al.*, 2012). En revanche, nous constatons une forte variabilité des teneurs de ces composés en fonction de l'origine botanique des échantillons.

Afin de classer les 195 échantillons de miels de nectar en fonction de la composition volatile, nous avons conduit une étude statistique par Analyse en Composante Principale (ACP) et Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). L'ACP a été réalisée en sélectionnant 40 composés sur les 80 constituants identifiés dans les fractions volatiles. Les deux axes de l'ACP (**Figure 1 & 2**) expliquent 42,38% de la variance de la matrice analysée :

- l'axe 1 (25,03%) est corrélé positivement avec le 3-méthylbut-3-énol **V1**, le 2-méthylbutanol **V3**, le toluène **V5**, l'hexanal **V8**, l'octane **V9**, le 3-furaldéhyde **V10**, le furfural **V11**, le benzaldéhyde **V18**, l'acide hexanoïque **V20**, le phénylacétaldéhyde **V25**, le *p*-cymène **V26**, l'acétophénone **V31**, le *trans*-oxyde de linalol (squelette furanoïde) **V32**, le *cis*-oxyde de linalol (squelette furanoïde) **V35**,

le nonanal **V38**, le *cis*-oxyde de linalol (squelette pyranoïde) **V52**, le menthofurane **V53**, l'acide octanoïque **V54**, l'acide nonanoïque **V65**, la 2-aminoacétophénone **V66** et l'acide décanoïque **V74** ;

- l'axe 2 (17,35%) est corrélé positivement avec le 3-méthyl but-3-ène-2-ol **V1**, l'(*E*) pent-2-ène **V4**, le toluène **V5**, l'hexanal **V8**, le 3-furaldéhyde **V10**, le benzaldéhyde **V18**, le phénylacétaldéhyde **V25**, le *trans*-oxyde de linalol (squelette furanoïde) **V32**, le *cis*-oxyde de linalol (squelette furanoïde) **V35**, le *p*-cymène **V36**, le nonanal **V38**, les trois stéréoisomères du lilacaldéhyde (**V44**, **V48** et **V51**), les isomères du *p*-menthène-9-al (**V57** et **V58**), le *p*-anidaldéhyde **V60**, le 4-n-propylanisol **V64**, l'anthranilate de méthyle **V71**, l'(*E*)- β -damascénone **V73**, l'acide décanoïque **V74** et la 4'-méthoxy propiophénone **V75**.

Les analyses statistiques par ACP (**Figures 1 & 2**) et CAH (**Figure 3**) permettent la mise en évidence de cinq groupes distincts :

- Le premier groupe **I** est constitué des miels CH01 à CH50, autrement dit, des 50 miels de « châtaigneraie » (à dominance nectarifère de *Castanea sativa*). La composition volatile de ces miels est dominée par les composés aromatiques (38,9%) suivi par les linéaires (30,1%). Nous constatons que la fraction volatile des miels de « châtaigneraie » est caractérisée par des teneurs importantes en acétophénone **V31** (7,0%) et en 2-aminoacétophénone **V66** (11,4%). Ces échantillons sont également riches en acides linéaires comme l'acide hexanoïque **V20** (2,1%), l'acide octanoïque **V54** (5,0%) et l'acide nonanoïque **V65** (5,9%). Ces miels de « châtaigneraie » se distinguent par la présence de certains composés non décelés dans les autres gammes variétales : le 2-méthyl-butanol **V3** (0,1 – 3,5%), le furfural **V11** (0,2 – 8,0%), le *cis*-oxyde de linalol (squelette pyranoïde) **V52** (0,3 – 2,4%) et le menthofurane **V53** (0,3 – 6,0%). Dans la littérature, l'acétophénone et la 2-aminoacétophénone sont signalés comme composés caractéristiques des miels monofloraux de châtaignier de diverses origines : France, Grèce et Italie (Guyot *et al.*, 1998 ; Verzera *et al.*, 2001 ; Bonvehi *et al.*, 2003 ; Alissandrakis *et al.*, 2011), alors que la 4-aminoacétophénone est décrite uniquement dans le miel de Croatie (Jerkovic *et al.*, 2007). En outre, la 2-aminoacétophénone est considérée comme une substance odorante contribuant fortement à l'arôme des miels de châtaignier (Guyot *et al.*, 1998).

- Le second groupe **II** comprend les miels MP01 à MP45, autrement dit, les 45 échantillons de la gamme « *maquis de printemps* » (dominance nectarifère d'*Erica arborea*). La fraction volatile des miels de « *maquis de printemps* » est dominée par les composés aromatiques (45,9%), suivi par les composés furaniques (10,3%) et les composés linéaires (8,5%). Ces échantillons se caractérisent notamment par une teneur importante en dérivés du méthoxybenzène comme le *p*-anisaldéhyde **V60** (11,7% contre 0,7% dans les autres groupes) et le 4-n-propylanisol **V64** (14,7% contre 2,5%). Ceux-ci ont été rapportés précédemment comme composés majoritaires dans les fractions volatiles des miels d'*Erica arborea* de France, de Grèce et d'Italie (Guyot *et al.*, 1999) ainsi que dans les miels de bruyère (origine botanique non précisée) d'Espagne (Castro-Vazquez *et al.*, 2009). En outre, huit autres constituants identifiés dans cette gamme variétale (benzaldéhyde **V18**, phénylacétaldéhyde **V25**, *cis*-oxyde de linalol (squelette furanoïde) **V35**, isophorone **V42**, 4-oxoisophorone **V43** et les isomères de lilacaldéhyde (**V44**, **V48** et **51**) ont également été rapportés dans des miels de bruyère (espèce botanique non précisée) de diverses origines géographiques (Radovic *et al.*, 2001 ; Soria *et al.*, 2003 ; De la Fuente *et al.*, 2005 ; Wolski *et al.*, 2006 ; Soria *et al.*, 2008 ; Castro-Vazquez *et al.*, 2009). Par ailleurs, les fractions volatiles des miels de « *maquis de printemps* » contiennent des constituants comme l'*(E)* pent-2-énal **V4** (1,4%), le *p*-cymène **V36** (0,7%) et l'*(E)*- β -damascénone **V73** (1,1%) qui sont absents de celles des autres gammes variétales.
- Le troisième groupe **III** est constitué des miels MA01 à MA30, autrement dit, des 30 échantillons de miels de « *maquis d'automne* » (dominante nectarifère d'*Arbutus unedo*). La fraction volatile des miels de « *maquis d'automne* » présente une composition atypique avec des taux élevés en dérivés de l'isophorone (39,0% contre 2,6% dans les autres échantillons) notamment en β -isophorone **V30**, isophorone **V42** et 4-oxoisophorone **V43**. De plus, ils se distinguent des autres échantillons par une forte abondance en isomères du triméthylphénol, notamment le 2,3,5-triméthylphénol **V63** (4,6% contre 0,7%) et le 3,4,5-triméthylphénol **V70** (27,1% contre 1,8%). Cette richesse en dérivés de l'isophorone des miels d'arbousier a été précédemment décrite dans la bibliographie relative aux échantillons de Sardaigne et d'Espagne (Dalla Serra *et al.*, 1999; Bianchi *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2007). A notre connaissance, le 3,4,5-triméthylphénol

- V70** n'a encore jamais été signalé dans les miels d'arbousier. Par ailleurs, les miels de « *maquis d'automne* » sont également caractérisés par le 2,5-diméthylfurane **V2** (1,2%) qui n'a pas été détecté dans les autres échantillons analysés.
- Le quatrième groupe **IV** est caractérisé par les 17 échantillons PR01 à PR17 de la gamme « *printemps* », typés par le clémentinier. Les fractions volatiles de ces miels présentent une forte proportion des isomères du lilac aldéhyde (**V44**, **V48** et **V51** : 20,8%) et du *p*-menthène-9-al (**V57** et **V58** : 3,7%). Ces composés - représentant entre 13,2 et 36,3% de la composition volatile - sont absents ou en très faible abondance dans les autres gammes variétales (1,1%). Par exemple, ils ne sont pas détectés sur le profil chromatographique des miels « *châtaigneraie* » et « *maquis d'automne* ». Dans la littérature, ces cinq constituants ont été signalés comme composés caractéristiques des miels monofloraux d'agrumes provenant d'Espagne et de Grèce (Perez *et al.*, 2002 ; Alissandrakis *et al.*, 2003, 2007b ; Castro-Vazquez *et al.*, 2007, 2009 ; Aliferis *et al.*, 2010). Enfin, l'anthranilate de méthyle **V71** (1,4%) - marqueur connu des miels d'agrumes (Cuevas-Glory *et al.*, 2007) - a été détecté en faible quantité dans tous ces échantillons.
 - le dernier groupe **V** rassemble 53 miels appartenant aux gammes « *printemps* » (24 échantillons typés « *printemps autres* ») et « *maquis d'été* » (29 échantillons). Les fractions volatiles de ces échantillons sont caractérisées par de fortes teneurs en toluène **V5** (4,8%) et en phénylacétaldéhyde **V25** (27,1 ; les pourcentages relatifs de ces deux constituants sont significativement supérieurs à ceux des groupes **I**, **II** et **III** (0% et 1,8%, respectivement) mais comparables à ceux du groupe **IV** (6,5% et 10,1%, respectivement).

Les 24 échantillons de la gamme « *printemps* » (PR18 – PR41) à dominante nectarifère d'asphodèle et/ou des herbacées des zones rudérales, sont caractérisés par le phénylacétaldéhyde **V25** (19,9%), le benzaldéhyde **V18** (8,9%) et le toluène **V5** (6,9%). Dans ces miels, les isomères du lilac aldéhyde et du *p*-menthène-9-al sont absents ou présents en faible proportion. Nous signalons également la présence de syringate de méthyle **V78** - marqueur des miels d'*Asphodelus microcarpus* (Tuberoso *et al.*, 2009 ; Jerkovic *et al.*, 2011) - en faible abondance (0,8%) dans 19 échantillons.

La fraction volatile des 29 miels de « *maquis d'été* », caractérisés par l'association d'*Anthyllis hermanniae*, *Rubus sp.* et d'autres espèces de fructifères basses, est riche en composés aromatiques (56,4%), en particulier en aldéhydes phénoliques (43,3%). Nous notons également des teneurs importantes en acides linéaires (17,0%). Ici encore, les composés majoritaires sont le phénylacétaldéhyde **V25** (33,6%) et le benzaldéhyde **V18** (9,1%). La composition volatile des miels de « *maquis d'été* » montre une variabilité importante aussi bien au niveau qualitatif que quantitatif. A titre d'exemple, la 2-aminoacétophénone **V66** est présente avec des abondances variant de 5,3% à 14,9% dans huit échantillons alors qu'elle est absente dans six autres échantillons. De façon analogue, le 4-n-propylanisol **V64** n'est détecté que dans deux échantillons avec des proportions comprises entre 0,7% et 4,8%. Par ailleurs, l'analyse statistique (**Figures 1 & 2**) permet de différencier 13 échantillons de la gamme « *maquis d'été* » sur la base de teneurs en acétophénone **V31** (3,1%) et en 2-aminoacétophénone **V66** (7,6%) relativement plus importantes que pour les autres échantillons du groupe **V** (0,5% et 2,1%, respectivement). De plus, ces échantillons présentent des teneurs en acides (25,0%) plus élevées que les autres miels du groupe **V** (11,3%).

Synthèse :

Pour conclure sur cette partie, il apparaît que le classement obtenu à partir de la composition chimique des fractions volatiles des 195 miels analysés permet de différencier les échantillons en accord avec la gamme variétale de l'AOP « Miel de Corse – Mele di Corsica ». Nous distinguons sans ambiguïté - d'un point de vue chimique - les miels de « *châtaigneraie* », de « *maquis d'automne* » et de « *maquis de printemps* ». La composition volatile des miels de « *printemps* » présente une forte diversité intra-gamme. Ils se divisent en deux sous-groupes :

- le premier « *printemps typé énéentinier* » possède des caractéristiques chimiques analogues aux miels d'agrumes référencés dans la littérature.
- le second « *printemps autres* » a une composition similaire à la gamme « *maquis d'été* ».

Tableau 2. Composition chimique des fractions volatiles des miels de nectar en fonction des gammes variétales de l'AOP « Miel de Corse »

N ^o	Composés	RI (Lit) ^b	RI ^c	Châtaigneraie			Maquis de printemps			Maquis d'automne			Printemps			Maquis d'été			Identification ^e
				Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	
V1	3-Méthyl but-3-ène	711	704	1,9±1,4	0,3	6,5	-	-	-	-	-	-	2,3±2,0	0,3	11,3	1,3±1,0	0,2	5,0	IR, SM, Ref
V2	2,5-Diméthylfuran	715	710	-	-	-	-	-	-	1,2±0,9	0,1	3,5	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V3	2-Méthyl butanol	728	727	1,6±0,9	0,1	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V4	(E)-Pent-2-ène	725	728	-	-	-	1,4±1,7	0,1	9,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V5	Toluène	745	741	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,1±4,0	1,5	17,3	4,2±2,4	0,7	8,3	IR, SM
V6	3-Méthyl but-2-ène	755	750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6±1,1	0,1	5,2	IR, SM, Ref
V7	Acide butanoïque	779	771	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7±1,9	0,1	5,3	IR, SM, Ref
V8	Hexanal	777	773	1,2±1,4	0,1	6,4	-	-	-	-	-	-	1,4±1,1	0,1	6,3	1,2±1,1	0,1	3,7	IR, SM
V9	Octane	800	800	2,6±1,5	0,1	8,5	0,3±0,4	0,1	2,2	-	-	-	1,9±1,4	0,3	5,6	0,6±0,5	0,1	1,8	IR, SM
V10	3-Furaldéhyde	799	804	4,9±2,6	0,8	11,0	5,6±2,2	2,4	11,0	0,7±0,5	0,1	2,0	3,6±2,9	0,6	18,5	4,5±2,7	0,7	10,4	IR, SM
V11	Furfural	836	835	2,1±1,8	0,2	8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V12	Acide 3-méthyl butanoïque	830	831	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,8±1,8	0,1	6,2	IR, SM, Ref
V13	Acide 2-méthyl butanoïque	860	858	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2±3,5	0,1	20,4	1,3±0,9	0,1	3,8	IR, SM, Ref
V14	2-Méthyl octane	868	873	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6±0,4	0,1	1,7	0,3±0,2	0,1	0,7	IR, SM, Ref
V15	Styrène	873	874	0,6±0,3	0,2	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V16	2-Acétylefuran	878	879	-	-	-	0,5±0,2	0,2	1,0	0,2±0,2	0,1	0,9	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V17	Nonane	900	899	0,5±0,6	0,2	4,3	-	-	-	-	-	-	1,2±0,9	0,2	3,8	1,2±0,9	0,2	3,4	IR, SM
V18	Benzaldéhyde	929	930	10,8±6,2	2,5	28,0	8,4±3,5	3,1	20,2	0,8±0,7	0,3	2,8	7,5±4,5	2,4	18,4	9,1±3,3	4,4	18,2	IR, SM
V19	Oct-3-ène	962	959	-	-	-	0,4±0,2	0,1	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V20	Acide hexanoïque	973	970	2,1±2,0	0,1	10,1	-	-	-	-	-	-	1,1±0,8	0,3	3,9	2,1±1,7	0,4	7,7	IR, SM
V21	Octan-4-ène	973	975	0,9±1,2	0,1	7,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V22	Octanal	981	980	1,4±1,6	0,1	11,4	0,5±0,3	0,1	1,8	0,2±0,1	0,1	0,3	1,2±1,0	0,2	6,6	0,9±0,9	0,1	5,2	IR, SM
V23	2,2,4,6,6-Pentaméthylheptane	995	992	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0±2,6	0,1	15,6	-	-	-	IR, SM, Ref
V24	p-Méthylanisol	1004	995	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9±1,2	0,1	6,1	0,4±0,5	0,2	1,7	IR, SM, Ref
V25	Phénylacétaldéhyde	1012	1010	1,8±2,2	0,2	9,9	2,8±1,8	0,5	9,8	0,4±0,3	0,1	1,3	15,8±10,1	0,8	39,1	33,6±12,5	12,5	57,8	IR, SM
V26	p-Cymène	1015	1012	4,6±3,4	0,6	19,1	0,4±0,3	0,1	1,9	-	-	-	0,7±0,3	0,1	1,2	-	-	-	IR, SM
V27	Dihydroisophorone	-	1013	-	-	-	-	-	-	0,6±0,3	0,1	1,4	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V28	(E,E)-Non-2,4-diène	1014	1017	-	-	-	0,3±0,1	0,1	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V29	Limonène	1025	1021	0,7±0,8	0,1	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V30	β-Isophorone	1027	1026	-	-	-	-	-	-	0,7±1,1	0,1	4,2	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref

Tableau 2. (suite)

N ^a	Composés	RI (Lit) ^b	RI ^c	Châtaigneraie			Maquis de printemps			Maquis d'automne			Printemps			Maquis d'été			Identification ^e
				Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	
V31	Acétophénone	1036	1035	7,0±2,6	0,7	13,8	0,2±0,1	0,1	0,9	-	-	-	0,2±0,1	0,1	0,5	2,1±1,5	0,2	4,8	IR, SM
V32	trans-Oxyde de linalol (furanoïde)	1058	1058	0,9±0,4	0,4	2,2	0,7±0,3	0,1	1,8	-	-	-	1,9±1,1	0,5	6,3	1,2±0,9	0,1	4,1	IR, SM
V33	Benzoate de méthyle	1072	1059	-	-	-	0,2±0,2	0,1	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V34	Octanol	1063	1065	0,5±0,3	0,1	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V35	cis-Oxyde de linalol (furanoïde)	1072	1073	1,4±0,5	0,3	2,6	0,6±0,3	0,2	1,7	-	-	-	1,1±0,3	0,5	2,0	1,1±0,4	0,4	2,2	IR, SM
V36	p-Cymène	1075	1075	-	-	-	0,7±0,7	0,1	3,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V37	β-Phényléthanol	1085	1077	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,7±1,6	1,6	5,8	2,8±2,0	0,9	6,7	IR, SM
V38	Nonanal	1076	1082	2,8±1,5	0,7	7,8	1,7±1,5	0,2	9,4	-	-	-	2,7±1,8	0,4	7,6	3,5±2,6	0,7	10,0	IR, SM
V39	Linalol	1086	1084	-	-	-	1,8±1,4	0,4	7,1	-	-	-	7,3±9,0	0,2	32,3	-	-	-	IR, SM
V40	3-Acétyle-2,5-diméthylfurane	1084	1085	-	-	-	-	-	-	0,2±0,1	0,1	0,4	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V41	Hotrienol	1083	1085	2,3±1,7	0,1	8,0	2,6±4,2	0,1	24,2	-	-	-	5,2±4,5	0,7	10,5	-	-	-	IR, SM, Ref
V42	Isophorone	1100	1092	1,3±0,5	0,1	3,0	0,9±0,5	0,3	2,8	34,8±5,4	20,0	42,0	6,0±7,3	0,1	29,3	0,8±1,2	0,1	4,6	IR, SM
V43	4-Oxo-isophorone	1122	1123	0,6±0,3	0,1	1,9	0,8±0,9	0,1	5,6	3,6±1,4	2,0	8,3	1,6±1,4	0,3	6,4	0,4±0,3	0,2	0,9	IR, SM
V44	(2S, 2'S, 5'S)-Lilacaldéhyde	1124	1123	-	-	-	1,9±2,0	0,4	11,8	-	-	-	5,2±2,4	1,3	8,9	0,4±0,5	0,2	2,6	IR, SM, Ref
V45	Citronellal	1129	1125	-	-	-	0,6±0,3	0,1	1,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V46	Dihydrolinalool	1118	1125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2±0,6	0,5	3,0	-	-	-	IR, SM, Ref
V47	2,2-Diméthyl-4-oxocyclohexane-1-carbaldéhyde	1132	1130	-	-	-	-	-	-	2,9±0,9	1,1	5,2	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V48	(2R, 2'S, 5'S)-Lilacaldéhyde	1133	1138	-	-	-	0,8±0,9	0,1	5,3	-	-	-	10,1±4,0	2,4	16,5	0,4±1,0	0,4	5,1	IR, SM, Ref
V49	Benzoate d'éthyle	1150	1144	-	-	-	0,2±0,1	0,1	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V50	trans-Oxyde de linalol (pyranoïde)	1144	1144	0,5±0,4	0,1	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V51	(2R, 2'R, 5'S)-Lilacaldéhyde	1146	1147	-	-	-	0,3±0,1	0,1	0,9	-	-	-	4,6±1,9	1,1	8,1	0,1±0,4	0,7	2,2	IR, SM, Ref
V52	cis-Oxyde de linalol (pyranoïde)	1148	1151	0,8±0,4	0,3	2,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V53	Menthofurane	1150	1152	1,1±1,0	0,2	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V54	Acide octanoïque	1167	1172	5,0±2,2	0,4	11,5	-	-	-	0,3±0,2	0,1	0,8	1,7±1,2	0,3	6,0	2,9±1,4	0,5	7,0	IR, SM
V55	Décanal	1180	1184	0,9±0,8	0,1	3,7	0,9±0,5	0,1	3,2	0,5±0,2	0,1	1,1	1,3±0,6	0,2	2,8	1,0±0,7	0,3	3,0	IR, SM
V56	Acétate d'octyle	1188	1184	0,7±0,7	0,1	3,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V57	p-Menthène-9-al (isomère 1)	1188	1189	-	-	-	0,5±0,4	0,1	1,9	-	-	-	1,9±0,4	1,2	2,7	-	-	-	IR, SM, Ref
V58	p-Menthène-9-al (isomère 2)	1190	1191	-	-	-	0,4±0,4	0,1	2,2	-	-	-	1,7±0,4	0,5	2,5	-	-	-	IR, SM, Ref
V59	m-Anisaldéhyde	1194	1195	0,2±0,1	0,1	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V60	p-Anisaldéhyde	1218	1215	0,6±0,9	0,1	5,3	11,7±4,0	0,7	21,3	-	-	-	0,7±0,9	0,1	4,6	0,2±0,5	0,2	1,9	IR, SM

Tableau 2. (suite)

N ^o	Composés	RI (Lit) ^b	RI ^c	Châtaigneraie			Maquis de printemps			Maquis d'automne			Printemps			Maquis d'été			Identification ^c
				Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	
V61	(Z)-Cinnamaldéhyde	1219	1222	0,6±0,6	0,1	2,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V62	(E)-Cinnamaldéhyde	1234	1231	0,7±0,6	0,1	2,2	0,6±0,4	0,1	1,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V63	2,3,5-Triméthylphénol	1260	1251	-	-	-	0,8±0,1	0,1	5,0	4,6±2,5	1,3	13,2	0,6±0,6	0,1	2,0	0,1±0,2	0,2	0,6	IR, SM
V64	4-n-Propylanisol	1254	1257	-	-	-	14,7±5,3	3,0	29,4	-	-	-	2,1±1,8	0,2	6,3	0,2±0,9	0,7	4,8	IR, SM, Ref
V65	Acide nonanoïque	1263	1260	5,9±2,4	1,5	13,5	-	-	-	0,7±0,7	0,1	2,5	2,9±1,3	0,5	6,4	5,1±2,4	0,3	10,6	IR, SM
V66	2-Aminoacétophénone	1261	1266	11,4±5,4	2,7	26,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,6±3,9	0,5	14,9	IR, SM
V67	Thymol	1267	1272	1,5±2,6	0,1	9,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V68	Carvacrol	1278	1280	0,2±0,2	0,1	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V69	Undécanal	1287	1286	-	-	-	-	-	-	0,8±0,4	0,1	1,6	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V70	3,4,5-Triméthylphénol	-	1290	-	-	-	2,6±3,8	0,1	22,1	27,1±7,3	13,7	43,9	1,5±2,3	0,1	9,4	0,2±0,3	0,3	1,6	IR, SM
V71	Anthranilate de méthyle	1308	1300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4±0,9	0,2	3,5	-	-	-	IR, SM
V72	cis-p-Mentha-1(7),8-diène-1-hydroperoxide	-	1348	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4±0,1	0,2	0,7	-	-	-	IR, SM
V73	(E)-β-Damascénone	1351	1352	-	-	-	1,1±0,8	0,3	4,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V74	Acide décanoïque	1353	1362	-	-	-	-	-	-	0,3±0,1	0,1	0,7	1,5±1,1	0,1	6,8	2,0±1,3	0,7	6,7	IR, SM, Ref
V75	4-Méthoxypropiophénone	1415	1420	-	-	-	2,8±1,4	0,2	5,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM, Ref
V76	4-Aminoacétophénone	1440	1446	0,3±0,3	0,1	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1±0,2	0,3	0,6	IR, SM
V77	3,5-Diméthoxybenzoate de méthyle	-	1494	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5±0,2	0,2	0,8	-	-	-	IR, SM
V78	Syringate de méthyle	-	1722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8±1,0	0,1	4,1	-	-	-	IR, SM
V79	Heneicosane	2100	2096	-	-	-	-	-	-	0,1±0,1	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-	IR, SM
V80	Tricosane	2300	2305	-	-	-	-	-	-	0,1±0,1	0,1	0,3	0,4±0,2	0,1	0,7	0,9±0,4	0,3	1,7	IR, SM
Total identification				83,3±4,0	68,9	90,7	70,3±5,7	60,7	81,6	79,9±3,6	72,9	85,4	86,0±6,3	71,5	96,8	93,1±3,9	80,0	98,5	
Composés hydrocarbonés				9,0±4,0	3,2	24,2	1,6±0,9	0,5	5,9	0,2±0,1	0,0	0,5	11,9±6,5	4,7	32,8	7,2±3,3	2,1	13,6	
Composés oxygénés				74,3±5,6	58	83,5	68,7±5,8	59,7	80,1	79,7±3,6	72,8	85,3	74,1±8,2	54,0	90,3	86,0±4,2	76,4	95,4	
Composés aromatiques				38,9±8,7	21,2	55,0	45,9±7,9	25,2	61,7	32,9±9,2	17,5	53,2	35,6±12,4	12,6	60,4	56,4±9,6	40,4	77,8	
Composés furaniques				11,9±3,9	5,2	24,1	10,3±4,2	4,3	22,7	2,2±1,1	0,6	4,7	15,2±10,8	3,9	38,6	7,7±3,5	1,2	14,5	
Composés linéaires				30,1±6,3	16,0	46,0	9,1±6,3	2,9	38,6	1,6±0,9	0,5	3,4	21,8±9,0	8,8	52,0	28,6±9,0	11,6	46,0	
Composés terpéniques				0,7±0,8	0,0	4,0	4,3±2,1	1,9	12,5	-	-	-	6,7±7,7	0,0	32,3	-	-	-	
Dérivés d'isophorone				1,9±0,6	0,7	3,5	1,8±1,1	0,5	6,6	42,5±7,4	24,6	54,3	5,3±7,6	0,0	35,7	1,3±1,6	0,0	7,1	

Tableau 2. (suite)

	Châtaigneraie			Maquis de printemps			Maquis d'automne			Printemps			Maquis d'été		
	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Min	Max
Câtones	20,3±6,2	6,8	34,8	5,9±1,3	3,5	9,3	39,6±6,7	23,5	50,4	5,4±7,6	0,0	35,7	6,2±5,7	0,0	17,9
Aldéhydes	27,5±7,8	12,3	45,2	37,8±6,0	21,1	51,5	5,8±1,9	3,6	10,0	43,5±10,0	22,1	63,1	55,9±11,3	31,2	72,5
Acides	13,0±4,8	3,4	27,1	-	-	-	1,3±0,8	0,3	3,1	8,7±4,7	0,4	27,0	17,0±7,9	5,5	36,9
Esters	0,7±0,7	0,0	3,6	0,5±0,3	0,2	1,5	-	-	-	0,7±0,8	0,0	3,5	-	-	-
Alcools	8,0±3,7	3,0	17,0	8,1±7,9	1,6	39,0	31,6±9,5	15	51,7	8,1±7,4	0,0	32,3	5,0±2,5	1,0	10,8
Oxydes	4,9±1,9	1,7	10,5	16,4±5,3	4,0	30,7	1,4±0,9	0,2	3,7	5,4±2,8	0,0	14,3	2,5±1,6	0,5	7,7

^a : Ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b : Indice de rétention provenant de la littérature

^c : Indice de rétention sur colonne apolaire (Rtx-1)

^e : IR : Indice de rétention, SM : Spectrométrie de masse en impact électronique

R_f : Composés identifiés à partir de la littérature :

Konig *et al.*, 2001 (V24, V30, V33, V41, V44, V45, V47, V48, V51, V57, V58, V61, V64, V75);

Adams, 2009 (V40);

Nist (V1, V3, V6, V7, V12-V14, V16, V23, V27, V28, V59, V74)

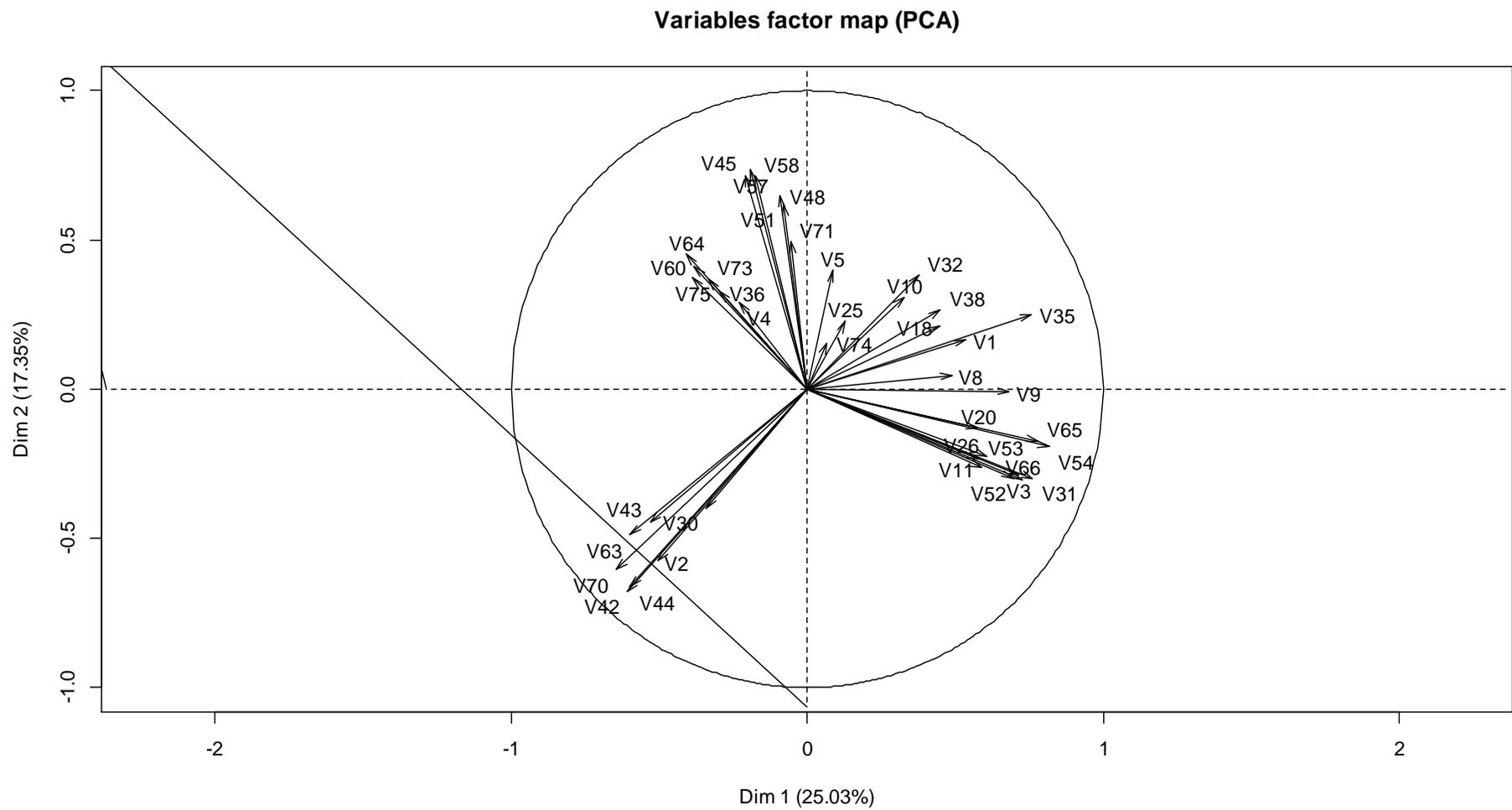


Figure 1. Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des principaux composés volatils (variables) des miels de nectar

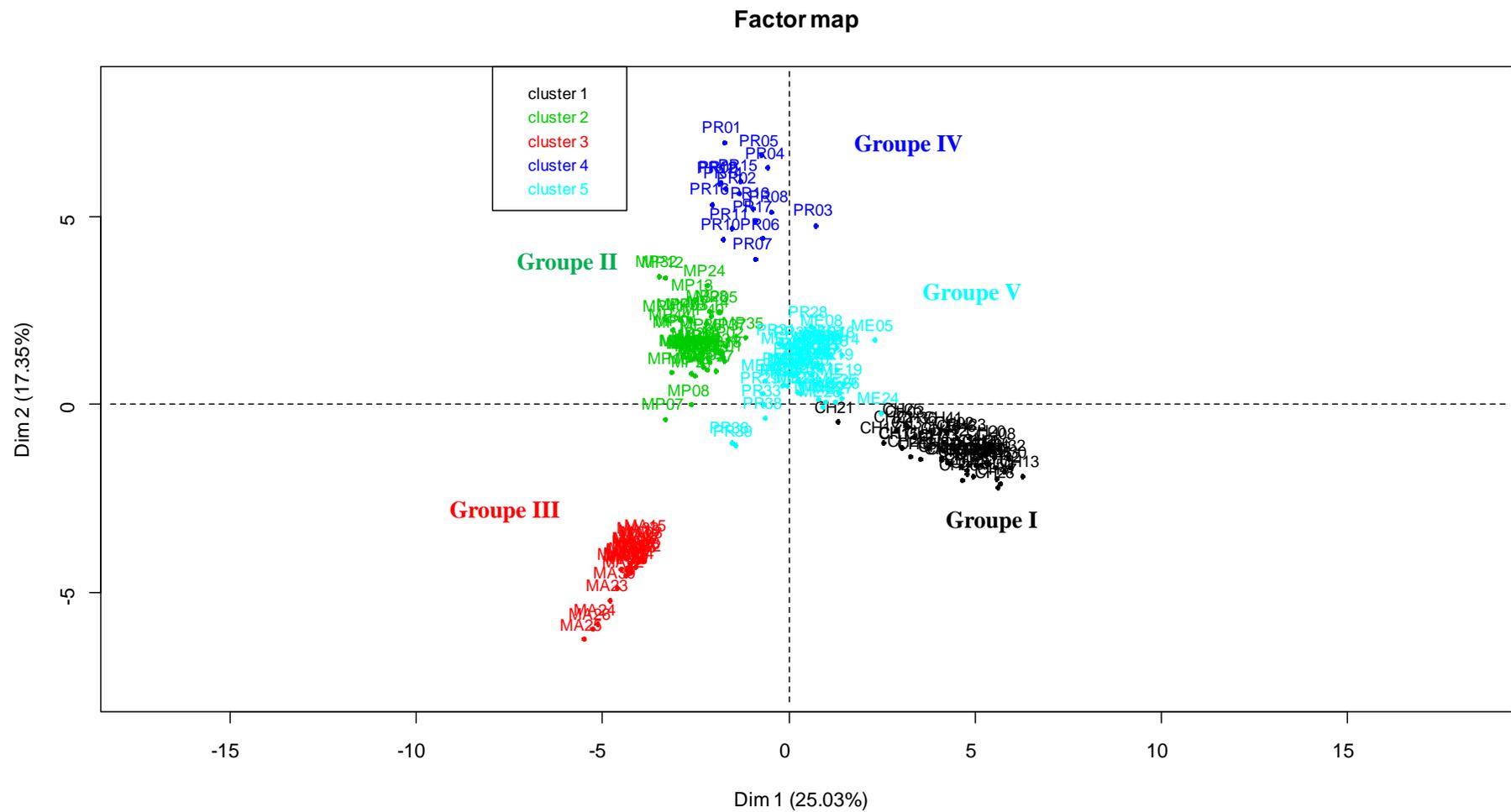


Figure 2. Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des 195 échantillons de miels de nectar en fonction de la composition volatile

Dendrogram of agnes(x = miels, metric = "euclidean", stand = T, method = "ward")

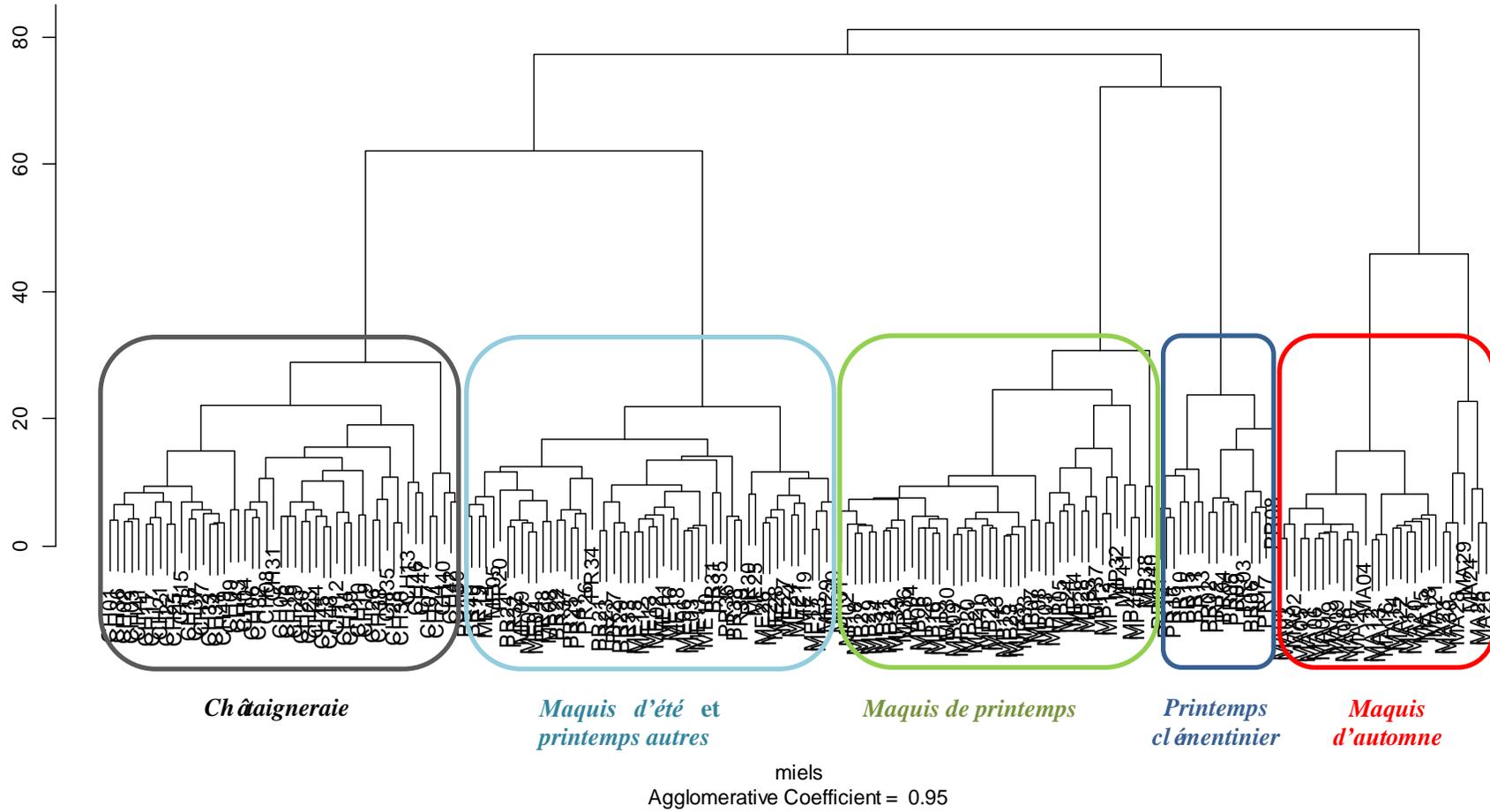


Figure 3. Classification Ascendance Hierachique (CAH) des 195 échantillons de miels de nectar en fonction de la composition volatile

b) Identification de molécules marqueurs dans les plantes nectarifères

Par l'identification de molécules marqueurs, l'objectif est d'établir un lien entre l'origine florale dominante et la composition volatile du miel. Ainsi que cela apparaît dans les articles correspondants, nous avons caractérisé la fraction volatile des principales ressources nectarifères, à savoir le chaton de châtaignier (*Castanea sativa*), les fleurs de la bruyère (*Erica arborea*), de l'arbousier (*Arbutus unedo*), du clémentinier (*Citrus sinensis* × *reticulata*) et de l'asphodèle (*Asphodelus ramosus*).

Les chatons de châtaignier

L'étude menée sur les chatons de châtaignier a permis d'identifier 53 composés représentant 90,6 - 97,4% de la composition volatile totale (tableau 3 de la publication infra correspondante). Les composés majoritaires sont l'acétophénone (21,5%), le salicylate de méthyle (13,4%), le nonanal (10,9%) et le linalol (7,5%). Parmi ces quatre composés, seule l'acétophénone a été identifiée comme constituant commun à la fraction volatile des chatons et à celle des miels. De plus, dans les fractions volatiles des deux matrices nous observons la présence de nombreuses molécules issues de la voie de biosynthèse de l'acide shikimique (Devon *et al.*, 1975; Lee *et al.*, 1995); c'est le cas de l'acétophénone, du salicylate de méthyle et de la 2-aminoacétophénone (Rapp *et al.*, 1995).

Il est à relever la présence du linalol dans le nectar de châtaignier ; ce composé monoterpénique est absent dans la fraction volatile des miels. Toutefois, des réactions enzymatiques sur le linalol - se produisant lors de la fabrication du miel à partir du nectar - pourraient justifier la présence des oxydes de linalol et d'hotriénol dans les miels de « *châtaigneraie* » (Alissandrakis *et al.*, 2007). De façon analogue, la présence de benzaldéhyde dans les miels analysés peut s'expliquer par la biotransformation de l'alcool benzylique (Lapadatescu *et al.*, 2000). Enfin, les acides linéaires (acide hexanoïque, acide octanoïque et acide nonanoïque) identifiés dans les miels de « *châtaigneraie* » peuvent provenir de l'oxydation des composés linéaires (hexanal, loctanal, nonanal) présents en proportion importante dans la fraction volatile des chatons nectarifères.

Les fleurs de bruyère

La composition de la fraction volatile des fleurs d'*Erica arborea* est caractérisée par 19 composés ; les majoritaires sont trois constituants linéaires : l'octèn-3-ol (42,7%), l'(E)- β -ocimène (24,7%) et l'(Z)- β -ocimène (2,2%) (tableau 3 de la publication infra correspondante). L'octèn-3-ol est présent dans la fraction volatile des miels de « *maquis de printemps* » en très faible proportion (0,1 - 1,1%) tandis que les deux isomères du β -ocimène ne sont pas détectés dans ces échantillons. De la même manière, les molécules majoritaires de la fraction volatile des miels sont absentes - ou présentes en faibles proportions - de la composition chimique des fleurs d'*E. arborea*.

D'après la littérature (Bonvehi *et al.*, 2003 ; Kaskoniene *et al.*, 2008 ; Castro-Vazquez *et al.*, 2009), ces différences qualitatives et quantitatives entre la composition volatile des fleurs nectarifères et celle des miels correspondants s'expliquent par :

- la transformation chimique (réaction enzymatique) des constituants du nectar lors de la récolte par les abeilles et/ou du miel lors du stockage dans la ruche ou encore ;
- par l'influence des espèces nectarifères accompagnantes.

Les fleurs d'arbousier

L'analyse de la fraction volatile des fleurs d'arbousier (*A. unedo*) a permis d'identifier 30 composés (tableau 2 de la publication infra correspondante). Parmi eux, le 4-oxo-isophorone (18,9%), l'heptan-2-one (8,0%), le β -isophorone (6,3%) et le 2-pentylfurane (6,2%) ont été rapportés comme composés majoritaires. Huit composés communs aux fractions volatiles des fleurs d'arbousier et des miels de « *maquis d'automne* » ont été détectés. Nous pouvons citer notamment les trois dérivés de l'isophorone : β -isophorone, isophorone et 4-oxo-isophorone. Ces derniers présentent des teneurs élevées aussi bien dans les fractions volatiles des nectars que dans celles des miels : 26,2% et 42,5%, respectivement.

Les fleurs de clémentinier

La fraction volatile de fleurs de clémentinier (*C. sinensis* × *reticulata*) est caractérisée par 29 composés (tableau 4 de la publication infra correspondante) ; le linalol (17,8%), le sabinène (16,8%), le dihydrolinalol (10,8%), le tetrahydrocitronellène (6,8%) et le myrcène (6,1%) ont été identifiés comme composés majoritaires. De faibles teneurs en linalol et en dihydrolinalol ont été rapportés dans la fraction volatile des échantillons de miels de « *printemps* » à dominante clémentinier. Cette dégradation du linalol en divers constituants dérivés (hotriénol, oxydes de linalol, lilac aldéhydes, *p*-menthène-9-al) au cours de la fabrication des miels a été précédemment décrite dans la bibliographie par Alissandrakis *et al.* (2007). Enfin, il convient de souligner la présence de l'anthranilate de méthyle - décrit dans la littérature comme un indicateur des miels d'agrumes - aussi bien dans la fraction volatile des nectars de clémentinier que dans celle des miels correspondants.

Les fleurs d'asphodèle

Nous avons également étudié la fraction volatile des fleurs d'asphodèle (*Asphodelus ramosus* ssp. *ramosus*). La composition chimique est caractérisée par 21 composés (tableau 4 de la publication infra correspondante) ; elle est dominée par des composés oxygénés, en particulier les composés linéaires tels que le nonanal (25,8%), l'acétate de (*Z*) hex-3-ényle (21,6%), l'octanal (7,0%), l'octanol (6,0%) et l'heptanal (5,4%). Ces constituants ne permettent pas d'établir une relation directe entre la fraction volatile des nectars et celle des miels de « *printemps* » correspondants. En revanche, l'un des principaux composés des miels de « *printemps* » issus des zones rudérales (à dominante *Asphodelus* sp.) - le phénylacétaldéhyde - a été détecté en faible concentration dans les fleurs ; contrairement, au syringate de méthyle (marqueur décrit dans la littérature pour les miels monofloraux d'asphodèle) qui est absent des fractions volatiles des fleurs analysées alors qu'il est présent dans certains échantillons de miels.

Synthèse :

Pour conclure, l'analyse des fractions volatiles a permis d'identifier des marqueurs moléculaires de l'origine botanique des miels et d'établir des relations entre la composition des fleurs et celle des miels correspondants. Des molécules caractéristiques communes ont été répertoriées : l'acétophénone (miels de « *châtaigneraie* »), l'anthranilate de méthyle (miels de « *printemps typé clémentinier* ») et les dérivés de l'isophorone (miels de « *maquis d'automne* »). Ainsi, nous avons suggéré la transformation chimique de certains constituants du nectar au miel :

- de l'acétophénone en 2-aminoacétophénone au cours de la biosynthèse de l'acide shikimique (via la dégradation du tryptophane) lors de la fabrication des miels de « *châtaigneraie* »;
- la dégradation enzymatique du linalol en divers constituants dérivés (hotriénol, oxydes de linalol, lilac aldéhydes, *p*-menthène-9-al) pour les productions des gammes « *châtaigneraie* » et « *printemps typé clémentinier* ».

Cependant, pour les catégories « *maquis de printemps* » et « *printemps autres* » issus des zones rudérales, la caractérisation des volatiles des fleurs d'*Erica arborea* et d'*Asphodelus ramosus* ne permet pas, à ce stade de l'étude, de mettre en évidence les relations recherchées.

c) Analyse multifactorielle de la diversité intra-gamme

Afin de mettre en évidence les relations entre les divers paramètres de classification des miels, nous avons entrepris une analyse multifactorielle (typologie pollinique, densité pollinique, coloration, conductivité électrique, marqueur chimique, intensité aromatique) sur les cinq gammes variétales. Sur ces points, les résultats obtenus sur les miels de chacune des gammes sont présentés, dans ce manuscrit, de manière synthétique puis de façon explicite dans la publication afférente reproduite à la suite de chaque présentation.

Miels de « châtaigneraie »

Pour cette gamme variétale, nous avons montré que l'intensité aromatique (aire totale du signal mesuré en CPG-FID) et les teneurs en dérivés de l'acétophénone sont corrélées avec une augmentation de la fréquence relative des grains de pollens de *Castanea sativa* (pollen de type sur-représenté) ; inversement, elles diminuent lorsque les fréquences relatives d'*Anthylis hermanniae* et de *Rubus* sp. augmentent. Ces observations s'expliquent par les variations interannuelles des facteurs bioclimatiques ; l'année 2004 - consécutive à la sécheresse de 2003 - a fourni des miels de « châtaigneraie » ayant des spectres polliniques avec des FR d'*A. hermanniae* et de *Rubus* sp. particulièrement élevées (donc des FR de *C. sativa* et des densités polliniques plus faibles) qui sont statistiquement corrélées à une intensité aromatique moins importante que celle des échantillons des autres millésimes. Par ailleurs, les miels des années 2006, 2008 et 2009 présentent une forte intensité aromatique associée à des valeurs importantes de coloration et de conductibilité électrique ; ces résultats nous conduisent à supposer un apport de miellat dans ces échantillons. Ainsi, il apparaît que les données multifactorielles sur les miels de la « châtaigneraie » permettent d'obtenir des informations relatives à l'origine nectarifère (et/ou miellatifère) des échantillons et de démontrer l'influence des variations bioclimatiques sur les caractéristiques organoleptiques des productions.

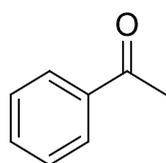
Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican “chestnut grove” honeys.

Y. Yang, M.J. Battesti, N. Djabou, A. Muselli, J. Paolini, P. Tomi, J. Costa

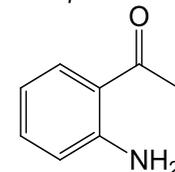
Food Chemistry, 2012, 132 : 2144-2154



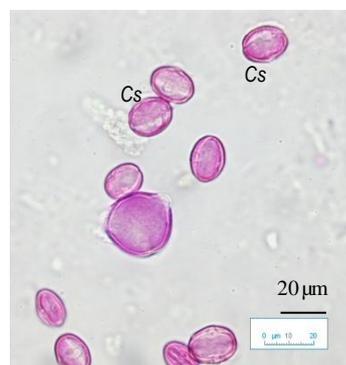
Castanea sativa



Acétophénone



2-Aminoacétophénone



Pollen de *Castanea sativa* (Cs)



Analytical Methods

Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican “chestnut grove” honeys

Yin Yang, Marie-José Battesti, Nassim Djabou, Alain Muselli*, Julien Paolini, Pierre Tomi, Jean Costa

Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, BP 52, 20250 Corte, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 February 2011
 Received in revised form 5 May 2011
 Accepted 19 July 2011
 Available online 16 January 2012

Keywords:

Corsican “chestnut grove” honey
 Chestnut catkins
 Melissopalynological analysis
 HS-SPME-GC-FID and HS-SPME-GC-MS
 Statistical analysis

ABSTRACT

Fifty Corsican “chestnut grove” honeys were certified by melissopalynological analysis. *Castanea sativa* was strongly overrepresented and was accompanied mainly by *Rubus* sp., *Quercus ilex*, *Anthyllis hermanniae*, *Myrtus communis*, *Genista* sp., *Erica arborea*, *Cistus creticus*, and *Fraxinus ornus*. Headspace solid-phase microextraction was performed to investigate the volatile composition of Corsican chestnut catkins and chestnut grove honeys. The main compounds of the chestnut catkins were acetophenone (21.5%), methyl salicylate (13.4%), nonanal (10.9%), and linalool (7.5%), whereas the major constituents of the honeys were 2-aminoacetophenone (11.4%), benzaldehyde (10.8%), acetophenone (7.0%), nonanoic acid (5.9%), octanoic acid (5.0%), and 3-furaldehyde (4.9%). By entering the aromatic intensity, the relative frequency of *C. sativa*, *Rubus* sp., and *A. hermanniae* pollens, and the physicochemical parameters as discriminate variables, principal component analysis (PCA) and cluster analysis (CA) showed that the distribution of Corsican “chestnut grove” honeys correlates with climatic events and/or honeybee foraging behaviours.

© 2012 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Corsica Island is characterized by a richness of polliniferous and melliferous resources, which provide honey productions throughout the year. The quality of Corsican honeys is recognized by two official designations of origin: the national Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) since 1998 and the European Protected Designation of Origin (PDO) since 2000, both marketed as Miel de Corse-Mele di Corsica. The characterization and the control of Corsican honeys are both based on a method of statistical treatment of melissopalynological data that take into account the entire pollen spectrum (Battesti, 1990; Battesti & Goeur, 1992; Von Der Ohe, Persano Oddo, Piana, Morlot, & Martin, 2004). Supplemented by the physicochemical and sensory characteristics, this method is used to certify the diversity of the botanical origins of honeys. According to the time of harvest throughout the year and the geographic locations of apiaries, six ranges are distinguished: “spring”, “spring maquis”, “honeydew maquis”, “chestnut grove”, “summer maquis”, and “autumn maquis” (Battesti, Gamisans, & Piana, 1997). In terms of production, “chestnut grove” honey is one of the most produced and its interannual variation is less than for other honeys.

Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) is found in central and southern Europe, as well as around the Mediterranean basin (e.g., North

Africa). It is one of the best sources of nectar and pollen for honeybees at the beginning of summer. In Corsica, chestnut trees are widespread in the entire insular territory from the littoral zone to 1200 m, but 90% of chestnut trees are located above 450 m because of the need for moisture (minimum 700 mm of atmospheric precipitation). The Corsican chestnut area is estimated at 25,000–30,000 ha, which accounts for about 17% of the total forest area (Battesti, 1990). Its wide distribution at the meso-Mediterranean and supra-Mediterranean levels (Gamisans, 1999) is reflected in the term “chestnut grove” honey, because of the complexity of plant associations in and around the chestnut orchards or forests. This range includes the unifloral chestnut honey as defined in the unifloral honeys description sheets (Persano Oddo & Piro, 2004) and the predominant *C. sativa* honey with some other nectariferous or honeydew contributions.

Chestnut honey is an amber honey that remains in a liquid state for a long time because it has a slow crystallization rate. According to the odour and aroma wheel (Piana et al., 2004), the chestnut honeys are described as an olfactory and aromatic product of medium to strong intensity, with a complex aroma description: woody, chemical, spoiled, and vegetal. Chestnut honey is marked by its bitter taste and its persistent aftertaste.

Because honey is a flavour-rich product and its chemical composition is highly dependent on the floral origin, use of the aroma profiles of honeys has been proposed to improve the classical approaches (melissopalynological, sensory, and physicochemical analysis) of the origin determination (Bogdanov, Ruoff, & Persano Oddo, 2004). Extraction of volatile and semivolatile components

* Corresponding author. Tel.: +33 4 95 45 01 71; fax: +33 4 95 45 01 80.
 E-mail address: muselli@univ-corse.fr (A. Muselli).

of honey has been performed by simultaneous steam distillation–solvent extraction, solid-phase microextraction (SPME), headspace extraction (HS), hydrodistillation, and ultrasound-assisted extraction (Bogdanov et al., 2004; Cuevas-Glory, Pino, Santiago, & Sauri-Duch, 2007). These methods have been applied to the sampling of the chestnut honey volatiles from different countries, with 1-phenylethanol, acetophenone, 2-aminoacetophenone, and 3-aminoacetophenone suggested as markers of chestnut honey (Alissandrakis, Tarantilis, Pappas, & Harizanis, 2011; Bonaga & Giumanini, 1986; Bonvehi & Coll, 2003; Guyot, Bouseta, Scheirman, & Collin, 1998; Jerkovic, Mastelic, Marijanovic, Klein, & Jelic 2007; Verzera, Campisi, Zappalà, & Bonaccorsi, 2001). To our knowledge, only one work has described the correlation between volatiles of chestnut catkin and its unifloral honey. Using Assisted Solvent Extraction (ASE), 13 common volatile compounds were identified in chestnut catkins and chestnut honeys, and among them 1-phenylethanol and acetophenone were assumed to be transferred to honey without any modification (Alissandrakis et al., 2011). Only two works dealt with the HS–SPME volatile fractions of Corsican honeys, but neither specified the botanical origins of the samples (Cajka, Haislova, Pudil, & Riddellova, 2009; Stanimirova et al., 2010). These studies showed that 26 volatile compounds (markers) could be used to classify or discriminate Corsican and non-Corsican honeys. Corsican chestnut honeys were also characterized by ¹H-Nuclear Magnetic Resonance, and kynurenic acid was identified as a marker of Corsican chestnut honey (Donarski, Jones, Harrison, Driffield, & Charlton, 2010).

As reported in the literature, the analysis of honey volatiles by HS–SPME–GC–FID and HS–SPME–GC–MS is a promising approach for determining the botanical origin of honey (Bogdanov et al., 2004; Cuevas-Glory et al., 2007). We chose to use HS–SPME–GC–FID and HS–SPME–GC–MS analysis to extract and identify the volatiles emitted by Corsican chestnut catkins and “chestnut grove” honeys. The aim of this work was to establish for the first time: (i) the volatile composition of Corsican “chestnut grove” honeys with botanical and geographic origins certified by detailed analysis of pollen spectra; (ii) the chemical relationship between the volatile components of chestnut catkins and those of “chestnut grove” honeys; and (iii) the correlation between volatile components and the melissopalynological and physicochemical characteristics of the Corsican “chestnut grove” honeys.

2. Materials and methods

2.1. Honey samples

Fifty honey samples commercialized under the AOC and PDO appellations were studied. These honeys were collected from 28 Corsican producers. These apiaries are located at an altitude of 50–1000 m and are representative of Corsican chestnut regional distribution: the most extended chestnut region “Castagniccia”; other regions of dense forests or mixed chestnut grove areas of Gravona, Taravo, and Prunelli valleys; and the mixed forests or orchards of Cap Corse and Center Island. In addition, these honeys were provided from six different years of harvest (2003: samples S1–S3; 2004: S4–S14; 2005: S15–S22; 2006: S23–S34; 2008: S35–S43; and 2009: S44–S50) to take account of the impact of bioclimatic annual variations on production. All these honey samples were stored at 4 °C. Before analysis, the sensory honey qualities were controlled to ensure a good conservation mode of honeys.

2.2. *C. sativa* catkin samples

Twelve flower specimens of chestnut “catkins” were collected in July 2009 and 2010 from eight localities of Corsica. The catkins

were gathered in full bloom during the secretion nectar period, and the foraging nectar by honeybee was chosen as the indicator of gathering. Fresh chestnut catkin samples were analyzed within 48 h.

2.3. Sample analysis

2.3.1. Melissopalynological analysis

Analysis of pollen and solid constituents in honey includes:

- (i) *Pollen extraction and sample preparation*: Due to the high sugar content and viscosity of honeys, pollen extraction was performed by two successive centrifugations at 3000 rpm/min for 10 min. In order to prevent colloid precipitation, 10 g of the honey sample was first dissolved in 40 ml of H₂SO₄ aqueous solution (5 ml H₂SO₄ in 1 l of distilled water), before the supernatant liquid was poured off and the sediment was mixed in 40 ml of distilled water to wash pollen by another centrifugation. The sediment was stirred in 40–80 μl of water and entirely transferred and spread out with a micropipette on a slide. After water evaporation on a hot-plate at 40 °C, fresh pollens were degreased with diethyl ether (Fisher Scientifique, France) and were embedded in Kaiser's glycerol gelatin (Merck, France) coloured by Ziehl fuchsin (Reactifs RAL, France).
- (ii) *Qualitative and quantitative analysis*: Completed qualitative analysis was performed by the determination of all pollen grains with a 50× and/or 100× immersion microscope ocular and establishing their relative proportions by counting. The pollen identification was carried out by comparison with reference library pollen slides produced in our laboratory and with the aid of the palynological expertise practise developed for the characterization and the AOC and PDO control of Corsican honeys (Battesti, 1990; Battesti & Goeury, 1992). The counting of the pollen grains was performed using a lens with a microscopic field of view in order to obtain (i) the total pollen spectrum (qualitative analysis) of each honey sample expressed in terms of relative frequency (RF) of each identified taxon and (ii) the pollen density (quantitative analysis) exemplified by the absolute number of pollen grains in 10 g of honey (PG/10 g). The pollen density was calculated using the formula:

$$PG/10\text{ g} = Ng/NC * NTC * 10/Pm$$

where Pm is the mass of honey analyzed; Ng is the total number of pollen grains counted; NC is total number of microscopic fields studied; NTC is the total number of fields of the microscopic preparation of honey sediment.

2.3.2. Physicochemical analyses

To complete the botanical origin characterization of “chestnut grove” honey, the colour, electrical conductivity, and water content were assessed. The colour of the honey samples was measured by a Lovibond Comparator apparatus at 20 °C following the method of Aubert and Gonnet (1983). Electrical conductivity was measured with a conductivity meter micro CM2210 (CRISON, Spain) at 20 °C, and the water content was measured by a specific honey refractometer PAL-22S (Atago, Japan) at room temperature using the method described by Bogdanov (1997).

2.3.3. HS–SPME conditions

The SPME fibre divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, 30 μm) was used to extract the honey and chestnut catkin volatiles. The optimization of the SPME parameters was performed using one honey sample (S18) and one chestnut catkin sample for the analysis of these two matrices. The optimization

was based on the sum of the total peak areas measured using a GC-flame ionization detection (FID) system. For the honey samples, the sample concentration (in distilled water) was optimized after five different experiments at 0.5, 1, 1.4, 2 g/ml, and with salt addition (Na_2SO_4). The weight of the chestnut catkin was optimized after three different experiments at 2, 4, and 6 g, respectively. For each optimization, the temperature was optimized in three different experiments at 30, 50, and 70 °C, respectively. The equilibration time was optimized in three different experiments at 30, 60, and 90 min. The extraction time was optimized in two different experiments at 30 and 60 min. After sampling, the SPME fibre was inserted into the GC-FID and GC-MS injection ports for desorption of volatile components (5 min), both using the splitless injection mode. Before sampling, each fibre was reconditioned for 5 min in the GC injection port at 280 °C. HS-SPME and subsequent analyses were performed in triplicate.

2.3.4. HS-SPME/GC analysis

GC analyses were performed using a PerkinElmer (Waltham, MA, USA) AutoSystem XL GC apparatus equipped with a FID system and a fused-silica capillary column (30 m \times 0.25 mm, film thickness 1 μm) coated with Rtx-1 (polydimethylsiloxane). The oven temperature was programmed from 60 to 230 °C at 2 °C/min and then held isothermally at 230 °C for 35 min. The injector and detector temperatures were maintained at 280 °C. The samples were injected with an SPME inlet liner (0.75 mm i.d.; Supelco) in the split mode (1:50), using helium as the carrier gas (1 ml/min). The retention indices of the compounds were determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes (C_5 – C_{30}) with linear interpolation. The relative concentrations of components were calculated from the GC peak areas without using correction factors.

2.3.5. HS-SPME/GC-MS analysis

Samples were analyzed with a PerkinElmer TurboMass detector (quadrupole), coupled to a GC PerkinElmer AutoSystem XL, equipped with a fused-silica Rtx-1 capillary column. The ion source temperature was 150 °C, and the ionization energy was 70 eV. Electronic ionisation (EI)-mass spectra were acquired over the mass range of 35–350 Da (scan time 1 s). Other GC conditions were the same as described for HS-SPME/GC analysis except for the use of a split ratio of 1:80.

2.3.6. Component identification

Identification of the components was based on: (i) the comparison of their GC retention indices (RI) on a nonpolar column, determined relative to the retention time of a series of *n*-alkanes with linear interpolation to the retention times of authentic compounds or data in the literature (Konig, Hochmuth, & Joulain, 2001; NIST, 2008); and (ii) computer matching with commercial mass spectra libraries (Konig et al., 2001; NIST, 2008) and comparison of spectra with those of the laboratory's library.

2.3.7. Data statistical analysis

The melissopalynological data were analyzed using the methodology reported previously by Battesti and Goeur (1992). The chemical data were analyzed using principal component analysis (PCA) and cluster analysis (CA), which were performed using R software (R Foundation-Institute for Statistics and Mathematics, Austria). The variables were selected by the statistical software. The CA produced a dendrogram (tree) using Ward's method of hierarchical clustering, which is based on the Euclidean distance between pairs of honey samples.

3. Results and discussion

3.1. Certification of botanical and geographic origin of Corsican "chestnut grove" honey

The botanical and geographic origin of the analyzed honey was certified by the melissopalynological analysis, which included quantitative analysis (pollen density) and statistical analysis of taxa presented in the honey samples and their biogeographic origin.

3.1.1. Pollen richness of Corsican "chestnut grove" honey

The average pollen density calculated from the 50 honey samples was 636.6×10^3 PG/10 g and ranged from 88.8×10^3 to 2240.0×10^3 PG/10 g. Among these 50 honey samples, 80% possessed a pollen density $>300 \times 10^3$ PG/10 g (46% at 300 – 700×10^3 PG/10 g; 34% at $>700 \times 10^3$ PG/10 g). One sample was characterized as atypical (RF $<100 \times 10^3$ PG/10 g). These results agree with the melissopalynological "chestnut grove" honey database of the AOC and PDO (Battesti, 1990). Our result showed that the richness of pollen grain in Corsican "chestnut grove" honey was much higher than that of other geographic origins. That is, 485 chestnut honey samples from five European (International Honey Commission [IHC] collection data) countries exhibited a mean pollen density of 288.2×10^3 PG/10 g (range 100.0–642.8 $\times 10^3$ PG/10 g) (Persano Oddo & Piro, 2004).

3.1.2. Statistical analysis of taxa of Corsican "chestnut grove" honeys

All the honeys analyzed showed a profile of pollen spectra (proportion and association of taxa) that featured overrepresented *C. sativa* pollen grains in the honey. The range was 82.47–98.04% in the pollen spectrum, and 80% of the honey samples possessed a RF $>90\%$ (Table 1). Consequently, the taxa (15 taxa, group 1) whose maximum RF was $>1\%$ might be regarded as more statistically representative than the others (76 taxa, group 2).

The 15 taxa of group 1 were classed by their increasing coefficient variation (CV). The most characteristic taxa associated with *C. sativa* (presence ratio (PR) $>45\%$ and CV $<200\%$) were *Rubus* sp., *Quercus ilex*, *A. hermanniae*, *Myrtus communis*, *Genista* sp., *Erica arborea*, *Cistus creticus*, and *Fraxinus ornus*. Among them, *Rubus* sp. was present in all honey samples and accounted for 0.07–12.67% (mean: 3.24%) of the total pollen. The seven other characteristic taxa were well represented in "chestnut grove" honeys (PR: 48–86%). Finally, the six other taxa of group 1 (*Actinidia sinensis*, *Jasione montana*, *Salix* sp., *Crataegus monogyna*, *Papaver rhoeas*, and *Cytisus/Calicotome* forms) were present in a few honey samples (PR: 10–32%, CV: 300–600%).

The 76 taxa of group 2 were classed by their decreasing presence ratio. In this group, 12 taxa were frequent (present in 20–50% of honey samples), 20 were infrequent (10–20%), and 44 were rare ($<10\%$). These taxa showed the richness and the diversity of pollen spectra.

3.1.3. Certification of the geographic origin of Corsican "chestnut grove" honey

Among the 91 determined taxa (Table 1), 47 taxa (PR $>10\%$) could be considered as the more representative taxa of Corsican "chestnut grove" honeys. These taxa were classed by their biogeographic code (BC) according to Gamisans (1985) (Table 2).

The authentication of geographic origin was founded on the associations of taxa from various biogeographic origins using the presence of "marker" taxa. The predominant taxon *C. sativa* (BC 59, southern European) and its first accompanying *Rubus* sp. (*Rubus canescens* and *Rubus ulmifolius*, BC 31–35) were associated principally with seven taxa of other origins: *Genista* sp., which contains

Table 1
Statistical analysis of the taxa identified in chestnut honeys.

No ^a	Taxa	Mean ^b	Min.	Max.	St. Dev.	CV ^c	Presence ratio ^d	
1	<i>Castanea sativa</i>	92.99	82.47	98.04	3.719	4	100	Group 1
2	<i>Rubus</i> sp.	3.24	0.07	12.67	2.996	92	100	
3	<i>Quercus ilex</i>	0.40	0.00	1.68	0.403	102	86	
4	<i>Anthyllis hermanniae</i>	0.35	0.00	1.34	0.375	108	70	
5	<i>Myrtus communis</i>	0.50	0.00	2.41	0.616	124	58	
6	<i>Genista</i> sp.	0.34	0.00	2.38	0.470	140	60	
7	<i>Erica arborea</i>	0.52	0.00	4.38	0.776	150	66	
8	<i>Cistus creticus</i>	0.13	0.00	1.08	0.204	152	62	
9	<i>Fraxinus ornus</i>	0.12	0.00	1.24	0.224	186	48	
10	<i>Actinidia sinensis</i>	0.05	0.00	1.01	0.159	342	16	
11	<i>Jasione montana</i>	0.06	0.00	1.50	0.230	355	20	
12	<i>Salix</i> sp.	0.15	0.00	4.23	0.612	405	32	
13	<i>Crataegus monogyna</i>	0.07	0.00	2.08	0.302	430	16	
14	<i>Papaver rhoeas</i>	0.04	0.00	1.26	0.201	455	10	
15	<i>Cytisus</i> / <i>Calicotome</i> form	0.03	0.00	1.00	0.144	512	10	
16	<i>Cistus monspeliensis</i>	0.09	0.00	0.65	0.145	158	46	Group 2
17	<i>Clematis</i> sp.	0.06	0.00	0.45	0.107	167	38	
18	<i>Quercus</i> fc.	0.06	0.00	0.31	0.094	152	38	
19	<i>Trifolium</i> sp.	0.07	0.00	0.89	0.156	217	36	
20	<i>Eucalyptus</i> sp.	0.10	0.00	0.83	0.198	197	34	
21	<i>Lotus</i> sp.	0.07	0.00	0.99	0.170	238	30	
22	<i>Olea</i> sp.	0.02	0.00	0.22	0.045	205	26	
23	<i>Thymus herba-barona</i>	0.04	0.00	0.34	0.114	271	24	
24	<i>Echium</i> sp.	0.04	0.00	0.68	0.113	290	20	
25	<i>Quercus suber</i>	0.02	0.00	0.22	0.051	242	20	
26	<i>Lavandula stoechas</i>	0.02	0.00	0.21	0.055	221	20	
27	<i>Asteraceae</i> (echinulated grain type)	0.02	0.00	0.22	0.050	315	20	
28	<i>Hedera helix</i>	0.03	0.00	0.62	0.096	319	18	
29	<i>Prunus</i> sp.	0.02	0.00	0.20	0.043	242	18	
30	<i>Teucrium</i> sp.	0.02	0.00	0.20	0.048	242	18	
31	<i>Cistus salviifolius</i>	0.03	0.00	0.88	0.131	382	16	
32	<i>Plantago lanceolata</i>	0.03	0.00	0.40	0.083	274	16	
33	<i>Pyrus</i> / <i>Malus forme</i>	0.02	0.00	0.22	0.044	263	16	
34	<i>Fabaceae</i> (others)	0.02	0.00	0.17	0.048	240	16	
35	<i>Tilia</i> sp.	0.02	0.00	0.21	0.045	278	14	
36	<i>Pinus</i> sp.	0.01	0.00	0.12	0.032	266	14	
37	<i>Phillyrea</i> sp.	0.02	0.00	0.43	0.074	335	12	
38	<i>Lamiaceae</i> (others)	0.02	0.00	0.42	0.070	345	12	
39	<i>Rosaceae</i> (others)	0.02	0.00	0.39	0.075	336	12	
40	<i>Chenopodiaceae</i> / <i>Amaramthaceae</i>	0.02	0.00	0.21	0.049	291	12	
41	<i>Sambucus ebulus</i> form	0.01	0.00	0.21	0.046	308	12	
42	<i>Asteraceae</i> (fenestrated type)	0.01	0.00	0.17	0.041	323	12	
43	<i>Ferula</i> / <i>Foeniculum</i> form	0.03	0.00	0.67	0.105	390	10	
44	<i>Brassicaceae</i>	0.01	0.00	0.27	0.052	349	10	
45	<i>Citrus</i> sp.	0.01	0.00	0.22	0.039	373	10	
46	<i>Rosa</i> sp.	0.01	0.00	0.17	0.032	328	10	
47	<i>Poaceae</i>	0.03	0.00	0.42	0.084	280	10	

44 other determined taxa (presence ratio <10%): *Centaurium erythraea*, *Scrophulariaceae* sp., *Ilex aquifolium*, *Ranunculaceae* sp., *Chamaerops humilis*, *Vicia* sp., *Asparagus* sp., *Urticaceae*, *Apiaceae* (others), *Mercurialis annua*, *Erica terminalis*, *Artemisia* sp., *Cytinus hypocistis*, *Pistacia lentiscus*, *Acer* sp., *Alnus* sp., *Sedum* sp., *Verbascum* sp., *Lupinus angustifolius*, *Helianthemum* sp., *Platanus* sp., *Viburnum tinus*, *Boraginaceae* sp., *Hypericum* sp., *Vitis* sp., *Rosmarinus officinalis*, *Sherardia avensis*, *Carex* sp., *Knautia* sp., *Ailanthus altissima*/form, *Potentilla* sp., *Ulmus* sp., *Scabiosa* sp., *Caryophyllaceae Silene* form, *Bupleurum fruticosum*, *Euonymus europaeus*, *Ostrya carpinifolia*, *Mentha* sp., *Rumex* sp., *Ruta* sp., *Asphodelus* sp., *Cupressaceae* sp., *Borago officinalis*, *Cercis siliquastrum*.

^a Order of taxa were classed by increasing of CV (group 1) and decreasing of presence ration (group 2).

^b Mean, Min., Max. values expressed as relative frequency (number of specify pollen counted/total pollen counted).

^c Coefficient variation expressed as %.

^d Presence ration, number of honey samples presented/50 samples, expressed as %.

mainly the endemic species *Genista corsica*, *Genista salzmannii* var. *salzmannii*, and *Genista salzmannii* var. *lobelioides* (BC 14); wider steno-Mediterranean taxa (BC 21) *E. arborea*, *Q. ilex*, *C. creticus*, and *M. communis*; and northwest steno-Mediterranean taxa *A. hermanniae* (BC 28) and *F. ornus* (BC 48). We note that *A. hermanniae*, present in 70% of honey samples, is particularly important for the origin control because Corsica is the western limit of its geographic distribution (BC 28, oriental Mediterranean basin) (Battesti, 1990). Otherwise, the other endemic (or subendemic) taxa (*Thymus herba-barona* and *Teucrium marum*), which have a lower contribution (PR: 18–24%) could also be employed as markers for the certification of Corsican honey origin. The other taxa included 10 steno-Mediterranean taxa (BC 2), six Euro-Mediterranean taxa (BC 3), seven Eurasian taxa (BC 5), one Atlantic–Mediterranean taxon (BC 65),

and four cultivated taxa (BC 99). Finally, four taxa (*Eucalyptus* sp., *A. sinensis*, *Citrus* sp., and *Pyrus*/*Malus* forms) were cultivated species that exhibited a low proportion in their pollen spectra (isolated grains to 1.01%). This result shows the richness of natural polliniferous and nectariferous resources in Corsica.

3.2. Physicochemical analyses

Corsican “chestnut grove” honeys exhibit dark to very dark colour. The colouration values vary between 71.0 and 99.0 mm Pfund, whereas the IHC collection data (485 samples) display greater variation of 56.3–119.4 mm Pfund (Persano Oddo & Piro, 2004). The average electrical conductivity value was 1.38 ± 0.30 mS/cm (range: 0.69–1.90 mS/cm). The chestnut honey samples had a high

Table 2
Biogeographical code of taxa identified in chestnut honey.

No ^a	Taxon	BC ^b	Presence ratio
23	<i>Thymus herba-barona</i>	14	24
6	<i>Genista</i> sp.	14-20-62	60
30	<i>Teucrium</i> sp.	12-25-62	18
3	<i>Quercus ilex</i>	21	86
7	<i>Erica arborea</i>	21	66
8	<i>Cistus creticus</i>	21	62
5	<i>Myrtus communis</i>	21	58
22	<i>Olea</i> sp.	21	26
26	<i>Lavandula stoechas</i>	21	20
31	<i>Cistus salvifolius</i>	21	16
32	<i>Plantago lanceolata</i>	21	16
19	<i>Trifolium</i> sp.	21-31-51	36
21	<i>Lotus</i> sp.	21-51	30
15	<i>Cytisus/calicotome</i> form	21-51	10
43	<i>Ferul/Foeniculum</i> form	24-34	10
4	<i>Anthyllis hermanniae</i>	28	70
16	<i>Cistus monspeliensis</i>	29	46
24	<i>Echium</i> sp.	31	20
41	<i>Sambucus ebulus</i> form	31	12
2	<i>Rubus</i> sp.	31-35	100
17	<i>Clematis</i> sp.	31-54	38
46	<i>Rosa</i> sp.	31-51	10
14	<i>Papaver rhoeas</i>	33	10
25	<i>Quercus suber</i>	35	20
11	<i>Jasione montana</i>	51	20
13	<i>Crataegus monogyna</i>	51	16
12	<i>Salix</i> sp.	51-52	32
29	<i>Prunus</i> sp.	54-99	18
35	<i>Tilia</i> sp.	54-99	14
18	<i>Quercus</i> fc.	55-58	38
9	<i>Fraxinus ornus</i>	58	48
1	<i>Castanea sativa</i>	59	100
28	<i>Hedera helix</i>	65	18
20	<i>Eucalyptus</i> sp.	99	34
10	<i>Actinidia sinensis</i>	99	16
45	<i>Citrus</i> sp.	99	10
33	<i>Pyrus/Malus</i> forme	99	16

In the 47 more representative taxa, *Rosaceae* (others), *Chenopodiaceae*/*Amaranthaceae* *Asteraceae* (fenestrated type), *Brassicaceae*, *Poaceae* (5 taxa) were determined at level of plant family, so their biogeographical were not defined in this table.

^a Taxa number were defined in Table 1.

^b Biogeographical Code, according to Gamisans (1985). 1 – Endemic; 12 Stenomediterranean origin, 14 Mediterraneo-montane origin. 2 – Stenomediterranean: 21 Wider stenomedit., 24 Southerner stenomedit., 25 Western stenomedit., 28 North west stenomedit., 29 Western macaronesian stenomedit. 3 – Eurymediterranean: 31 Wider eurymedit., 33 Eastern eurymedit., 34 Southerner eurymedit., 35 Western eurymedit. 5 – Eurasian: 51 Wider eurasiatic, 52 Eurasian, 54 European-caucasian, 55 European, 58 South east European, 59 Southern European. 6 – Atlantic: 62 Subatlantic, 65 Atlantic mediterranean. 99 – Cultivated plants.

average water content of 16.9 ± 0.80 g/100 g (range: 15.3–18.6 g/100 g). The electrical conductivity and water content values of the honeys analyzed were close to those in the IHC collection data (0.86–1.91 mS/cm and 15.2–19.8 g/100 g, respectively) (Persano Oddo & Piro, 2004).

3.3. Volatile constituents of Corsican chestnut catkins and honeys

The optimization of the HS–SPME sampling parameters for chestnut catkins and honeys was performed using one chestnut catkin sample (Castagniccia location) and one honey sample (S18) and was based on the sum of the total peak areas. The maximum sum of the total peak area was obtained from 4 g of chestnut cut catkins and an aqueous honey solution (1.4 g/ml) with 2 g of Na₂SO₄ for these two different matrices, at a temperature of 70 °C, an equilibrium time of 90 min, and an extraction time of 30 min. The CVs were 9–14% for the chestnut catkins and 10–14% for the honeys, indicating that the HS–SPME method produced reliable results. Similarly, the CV of the major compounds was always <15%.

GC and GC/MS analysis of the headspaces of chestnut catkin and honey samples identified 53 components (amounting to 90.6–97.4% of the total volatile composition) and 38 components (68.9–90.7%), respectively (Table 3). Among them, 64 components were identified by comparison of their EI-MS and retention indices with those in our laboratory library, and 16 components were identified by comparison of the EI-MS and apolar retention indices with commercial or published libraries (Konig et al., 2001; NIST, 2008). The volatile fractions extracted from chestnut catkins and honeys were dominated by phenolic compounds (which accounted for 45.9% and 38.8%, respectively) followed by linear compounds (36.3% and 30.6%, respectively). To our knowledge, among the 80 identified compounds, 47 compounds are reported for the first time in the volatile fraction of chestnut catkins, and 10 are reported for the first time in honeys.

The volatile fractions obtained from the chestnut catkins and honey samples showed important qualitative and quantitative differences. The main compounds of chestnut catkins were acetophenone **35** (21.5%), methyl salicylate **54** (13.4%), nonanal **42** (10.9%), and linalool **43** (7.5%). The major constituents of Corsican “chestnut grove” honeys were 2-aminoacetophenone **71** (11.4%), benzaldehyde **17** (10.8%), acetophenone **35** (7.0%), nonanoic acid **70** (5.9%), octanoic acid **57** (5.0%), and 3-furaldehyde **5** (4.9%).

Among the four main compounds of chestnut catkins, nonanal **42** was also identified as a main component of the Grecian chestnut catkins (Alissandrakis et al., 2011), whereas the three other compounds accounted for a small proportion in this study. In addition, benzyl alcohol, 1-phenylethanol, and nonanoic acid were also reported as major compounds of the Grecian chestnut catkins (Alissandrakis et al., 2011) but were absent or appeared in a lower percentage in Corsican chestnut catkins. Acetophenone, 1-phenylethanol, and 2-aminoacetophenone are considered characteristic compounds of chestnut honey (Bonvehi & Coll, 2003; Guyot et al., 1998; Verzera et al., 2001). Except for 1-phenylethanol, these chestnut honey markers were also identified in the volatile fraction of Corsican “chestnut grove” honeys. Among them, 2-aminoacetophenone is considered a powerful odorant that is suspected to contribute to the aroma of chestnut honey (Guyot et al., 1998). In addition, 3-aminoacetophenone, which was reported only by Bonaga and Giumanini (1986) in Italian chestnut honey, was not detected in any of the honey samples analyzed. Another aminoacetophenone isomer, 4-aminoacetophenone, which was absent or present in a low amount (<1.3%) in the Corsican honey samples, has been reported in Croatian chestnut honey (Jerkovic et al., 2007).

According to the literature (Alissandrakis, Taranilis, Harizanis, & Polissiou, 2007), the honey aroma could be produced from plant constituents, the transformation of plant constituents by honeybees, or the transformation of plant constituents during the conservation in hives. In our study, only acetophenone **35** was identified as a major component in the volatile fractions of both flowers (21.5%) and chestnut honeys (7.0%). Acetophenone **35** and methyl salicylate **54** (13.5% in the catkin volatile fraction) are considered a product related to the shikimic acid pathway (Devon & Scott, 1975; Lee, Leon, & Raskin, 1995). In addition, 2-aminoacetophenone **71** (11.4% in the honey volatile fraction) might result from the degradation of tryptophan (Rapp, Versini, & Engel, 1995), which is also a product of the shikimic acid pathway.

However, the absence of linalool **43** (7.5% in the catkin volatile fraction) in the “chestnut grove” honey volatile fraction could be explained by oxidative degradation, which occurs in the hive during honey conservation (Alissandrakis et al., 2007). The occurrence of hotrienol, *trans*- and *cis*-furanoid linalool oxides, or *trans*- and *cis*-pyranoid linalool oxides in all honey samples studied could be explained by the enzymatic degradation of linalool by two pathways: (i) hydroxylation of linalool at the C8 position, which

Table 3
Chemical composition of volatile fraction of chestnut flowers and honeys.

No ^a	Components ^b	RI (Lit) ^c	RI ^d	Flower			Honey			Identification ^f
				Mean ^e	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	
1	2-Methyl-1-buten-4-ol	710	714	–	–	–	1.9 ± 1.39	0.3	6.5	RI, MS, Ref
2	2-Methyl-1-butanol	728	727	–	–	–	1.6 ± 0.89	0.1	3.5	RI, MS, Ref
3	Hexanal	777	773	0.5 ± 0.22	0.2	0.8	1.2 ± 1.37	0.1	2.3	RI, MS
4	Octane	800	800	0.3 ± 0.39	0.0	1.1	2.6 ± 1.55	0.1	8.5	RI, MS
5	3-Furaldehyde	799	804	–	–	–	4.9 ± 2.60	0.8	11.0	RI, MS
6	(E)-2-Hexenal	832	823	0.4 ± 0.56	0.0	1.9	–	–	–	RI, MS, Ref
7	Furfural	836	835	–	–	–	2.1 ± 1.83	0.2	8.0	RI, MS
8	(Z)-Hex-3-en-1-ol	836	833	3.2 ± 2.15	0.7	8.1	–	–	–	RI, MS
9	(Z)-Hex-2-en-1-ol	845	843	0.7 ± 0.72	0.1	2.2	–	–	–	RI, MS
10	Hexanol	850	846	0.9 ± 0.79	0.4	3.1	–	–	–	RI, MS, Ref
11	2-Heptanone	871	867	0.1 ± 0.20	0.0	0.7	–	–	–	RI, MS
12	Styrene	873	874	0.3 ± 0.14	0.1	0.5	0.6 ± 0.28	0.2	1.3	RI, MS
13	Heptanal	882	876	2.6 ± 4.24	0.1	14.8	–	–	–	RI, MS
14	3-Heptanol	877	884	0.7 ± 1.25	0.0	4.0	–	–	–	RI, MS
15	2-Heptanol	880	889	0.5 ± 0.74	0.0	2.5	–	–	–	RI, MS
16	Nonane	900	899	–	–	–	0.5 ± 0.63	0.2	4.3	RI, MS
17	Benzaldehyde	929	928	0.9 ± 0.72	0.3	3.1	10.8 ± 6.25	1.5	28.0	RI, MS
18	Camphene	950	946	0.5 ± 0.65	0.0	2.4	–	–	–	RI, MS
19	Heptanol	950	950	0.1 ± 0.17	0.0	0.6	–	–	–	RI, MS
20	2-Octanone	964	968	0.1 ± 0.05	0.0	0.1	–	–	–	RI, MS
21	Hexanoic acid	973	970	–	–	–	2.1 ± 2.04	0.2	10.1	RI, MS, Ref
22	4-Octanol	973	975	–	–	–	0.8 ± 1.20	0.0	7.5	RI, MS
23	Myrcene	978	979	0.3 ± 0.29	0.0	1.1	–	–	–	RI, MS
24	6-Methylhept-5-en-2-one	981	980	0.2 ± 0.25	0.0	0.9	–	–	–	RI, MS
25	Octanal	981	982	2.0 ± 1.01	0.8	3.8	1.4 ± 1.61	0.2	11.4	RI, MS
26	(E)-3-Hexenyl acetate	987	986	0.7 ± 0.62	0.0	2.2	–	–	–	RI, MS
27	Hexyle acetate	1006	997	0.4 ± 0.54	0.0	2.0	–	–	–	RI, MS
28	(Z)-3-Hexenyl acetate	1002	999	0.4 ± 0.58	0.0	2.1	–	–	–	RI, MS
29	Benzyl alcohol	1006	1007	1.0 ± 0.91	0.1	3.5	–	–	–	RI, MS
30	p-Methyl anisol	1004	1008	0.6 ± 0.77	0.0	2.1	–	–	–	RI, MS, Ref
31	Phenylacetaldehyde	1012	1010	–	–	–	1.8 ± 2.22	0.2	9.9	RI, MS
32	p-Cymene	1015	1012	–	–	–	4.6 ± 3.44	0.6	19.1	RI, MS
33	Limonene	1025	1021	0.6 ± 0.31	0.2	1.2	0.7 ± 0.81	0.0	4.0	RI, MS
34	(Z)-β-Ocimene	1029	1024	0.3 ± 0.26	0.0	0.8	–	–	–	RI, MS
35	Acetophenone	1036	1041	21.5 ± 12.06	3.7	43.5	7.0 ± 2.56	0.7	13.8	RI, MS
36	(E)-β-Ocimene	1041	1042	0.2 ± 0.49	0.0	1.3	–	–	–	RI, MS
37	γ-Terpinene	1051	1049	0.1 ± 0.10	0.0	0.3	–	–	–	RI, MS
38	trans-Furanoid-linaloxide	1058	1058	–	–	–	0.9 ± 0.40	0.4	2.2	RI, MS
39	1-Octanol	1063	1065	0.9 ± 0.68	0.2	2.5	0.5 ± 0.36	0.1	1.8	RI, MS
40	Methyl benzoate	1072	1074	0.4 ± 0.34	0.0	1.1	–	–	–	RI, MS, Ref
41	cis-Furanoid-linaloxide	1072	1075	0.4 ± 0.18	0.2	0.7	1.4 ± 0.57	0.3	2.6	RI, MS
42	Nonanal	1076	1082	10.9 ± 4.08	4.6	17.3	2.8 ± 1.54	0.7	7.8	RI, MS
43	Linalool	1086	1084	7.5 ± 4.33	2.5	15.1	–	–	–	RI, MS
44	Hotrienol	1083	1085	–	–	–	2.3 ± 1.71	0.1	8.0	RI, MS, Ref
45	Isophorone	1100	1092	–	–	–	1.3 ± 0.54	0.1	3.0	RI, MS
46	(E)-4,8-Dimethylenona-1,3,7-triene	1103	1105	1.9 ± 1.32	0.2	3.7	–	–	–	RI, MS, Ref
47	4-Oxoisophorone	1122	1123	–	–	–	0.6 ± 0.37	0.1	1.9	RI, MS, Ref
48	o-Hydroxyacetophenone	1139	1131	0.6 ± 0.41	0.0	1.4	–	–	–	RI, MS, Ref
49	trans-Pyranoid-linaloxide	1144	1144	–	–	–	0.5 ± 0.44	0.1	1.8	RI, MS
50	Ethyl benzoate	1150	1146	0.6 ± 0.57	0.2	2.2	–	–	–	RI, MS
51	cis-Pyranoid-linaloxide	1148	1151	–	–	–	0.8 ± 0.42	0.3	2.4	RI, MS
52	Methofurane	1150	1152	–	–	–	1.1 ± 1.03	0.3	6.0	RI, MS
53	Nonanol	1161	1163	0.7 ± 0.34	0.3	1.3	–	–	–	RI, MS
54	Methyl salicylate	1171	1167	13.4 ± 9.59	5.7	40.4	–	–	–	RI, MS
55	Myrtenol	1178	1173	0.4 ± 0.37	0.0	1.0	–	–	–	RI, MS
56	α-Terpineol	1176	1180	0.3 ± 0.30	0.0	0.9	–	–	–	RI, MS
57	Octanoic acid	1183	1183	0.3 ± 0.47	0.0	1.8	5.0 ± 2.21	0.4	11.5	RI, MS, Ref
58	Decanal	1180	1184	0.5 ± 0.23	0.2	0.9	0.9 ± 0.80	0.2	3.7	RI, MS
59	Octylacetate	1188	1185	–	–	–	0.7 ± 0.74	0.0	3.6	RI, MS
60	m-Anisaldehyde	1194	1195	–	–	–	0.2 ± 0.12	0.0	0.5	RI, MS, Ref
61	3-Phenylpropanol	1201	1201	0.4 ± 0.49	0.0	1.5	–	–	–	RI, MS, Ref
62	Nerol	1210	1211	0.4 ± 0.27	0.0	0.9	–	–	–	RI, MS
63	(Z)-3-Hexenyl-2-methylbutyrate	–	1216	0.5 ± 0.48	0.0	1.6	–	–	–	RI, MS
64	p-Anisaldehyde	1218	1217	–	–	–	0.5 ± 0.92	0.0	5.3	RI, MS
65	Hexyl-2-methylbutyrate	1222	1221	0.1 ± 0.19	0.0	0.6	–	–	–	RI, MS
66	(Z)-Cinnamaldehyde	1219	1222	–	–	–	0.5 ± 0.57	0.0	2.3	RI, MS, Ref
67	(E)-Cinnamaldehyde	1234	1231	–	–	–	0.5 ± 0.60	0.0	2.0	RI, MS
68	Geraniol	1235	1233	1.7 ± 2.22	0.0	3.1	–	–	–	RI, MS
69	Ethyl salicylate	1245	1246	2.1 ± 1.92	0.1	5.2	–	–	–	RI, MS, Ref
70	Nonanoic acid	1263	1260	–	–	–	5.9 ± 2.46	1.5	13.5	RI, MS
71	2-Aminoacetophenone	1261	1266	–	–	–	11.4 ± 5.47	2.7	26.5	RI, MS
72	Thymol	1267	1272	–	–	–	0.8 ± 2.08	0.0	9.6	RI, MS
73	Undecanal	1281	1276	0.4 ± 0.18	0.0	0.6	–	–	–	RI, MS

(continued on next page)

Table 3 (continued)

No ^a	Components ^b	RI (Lit) ^c	RI ^d	Flower			Honey			Identification ^f
				Mean ^e	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	
74	Carvacrol	1278	1280	–	–	–	0.1 ± 0.21	0.0	1.0	RI, MS
75	Tridecane	1300	1300	2.9 ± 3.65	0.0	11.1	–	–	–	RI, MS
76	Eugenol	1331	1328	1.6 ± 2.39	0.0	8.0	–	–	–	RI, MS
77	(E)-β-Caryophyllene	1421	1417	1.7 ± 1.36	0.3	4.5	–	–	–	RI, MS
78	4-Aminoacetophenone	1440	1446	–	–	–	0.1 ± 0.21	0.0	1.3	RI, MS
79	trans-β-Bergamotene	1480	1482	0.2 ± 0.34	0.0	1.1	–	–	–	RI, MS
80	(E,E)-α-Farnesene	1506	1498	4.1 ± 4.52	0.0	14.7	–	–	–	RI, MS
Total identification (%)				94.3 ± 2.48	90.6	97.4	83.3 ± 4.04	68.9	90.7	
Classes of compounds										
Hydrocarbons compounds				14.8 ± 4.20	7.8	11.0	9.0 ± 3.98	3.2	24.2	
Oxygenated compounds				81.7 ± 90.60	79.6	89.1	74.3 ± 5.61	58.0	83.5	
Acids				0.2 ± 0.10	0.1	0.3	13.0 ± 4.79	3.4	27.1	
Alcohols				16.2 ± 15.10	21.6	22.1	9.7 ± 3.61	4.0	18.9	
Aldehydes				16.7 ± 20.50	14.4	25.6	26.3 ± 7.61	11.8	44.4	
Ketones				22.8 ± 5.70	18.5	32.4	20.3 ± 6.19	6.8	34.8	
Oxides				0.6 ± 2.30	0.3	0.5	3.3 ± 1.07	1.2	5.5	
Esters				22.1 ± 46.60	12.1	19.1	1.8 ± 1.17	0.3	6.2	
Linear compounds				36.3 ± 31.50	33.7	46.9	30.6 ± 6.40	18.1	45.7	
Phenolic compounds				45.9 ± 53.20	27.3	49.9	38.8 ± 8.73	21.2	55.0	
Furan compounds				–	–	–	10.0 ± 3.68	3.2	16.9	

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1).

^b Among these identified compounds, **29**, **35**, **42**, **43**, **54**, **57** were reported in Alissandrakis et al. (2011) for the study of chestnut flower; **4**, **5**, **16**, **22**, **31**, **47**, **49**, **51**, **52**, **59** were never reported as volatile compounds of chestnut honey.

^c Retention indices of literature on the apolar column reported from references (Konig et al., 2001; NIST, 2008).

^d Retention indices on the Rtx-1 apolar column.

^e Mean, Min. and Max. values expressed as percentage of the volatile composition.

^f RI, Retention indices; MS, mass spectra in electronic impact mode; Ref., compounds identified from commercial data libraries: König et al. (2001) (**6**, **10**, **30**, **40**, **44**, **46**, **61**, **66**, **69**) and NIST (2008) (**1**, **2**, **21**, **47**, **48**, **57**, **60**).

provides two isomers of 8-hydroxylinalool and then hotrienol; or (ii) under acidic conditions or by heating, linalool could be transformed via 6,7-hydroxylinalool into both isomers of furanoid linalool oxides (Alissandrakis et al., 2007).

We note that benzaldehyde **17** (0.9% in the catkin volatile fraction) was identified as the main compound in the honey volatile fraction (10.8%). This compound is considered an intermediate in the biosynthetic pathway from L-phenylalanine to aryl metabolites, and the biotransformation between benzaldehyde **17** and benzyl alcohol **29** (1.0% in the catkin volatile fraction) has been demonstrated (Lapadatescu, Ginies, Le Quere, & Bonnarme, 2000).

Relatively high amounts (13.0%) of linear acids (hexanoic acid **21**, octanoic acid **57**, and nonanoic acid **70**) were observed in chestnut honey. The richness of the oxygenated linear compounds (C7, C8, and C9) in the volatile fraction of chestnut catkins suggests that the presence of linear acids in chestnut honey can be explained by the transformation of linear compounds from nectar. For instance, the occurrence of nonanoic acid **70** in honey samples (5.9%) seems to result from nonanal oxidation.

Finally, the significant proportion of furan compounds (10.0%) in the volatile fraction of chestnut honey could be explained by the heat treatment during analysis (Guyot et al., 1998; Jerkovic et al., 2007).

3.4. Statistical analysis

3.4.1. Chemical variation of Corsican “chestnut grove” honeys

To synthesize the chemical data, PCA and CA (dendrograms) were applied to the matrix linking “chestnut grove” honey volatiles and sample origins to identify possible relationships between classes of volatile compounds and honey samples (Table 4, Supplementary material). The analyses included the compound classes of aldehydes, acids, ketones, hydrocarbons, alcohols, and other compounds (esters and oxides). As shown in Fig. 1a, the principal factorial plane (constructed using axes 1 and 2) accounted for 55.3% of the entire

variability of the honey samples. Dimension 1 (32.38%) correlated negatively with acids, ketones, and aldehydes, and positively with alcohols, hydrocarbons, and others compounds (Fig. 1a). Dimension 2 (22.92%) correlated negatively with alcohols, hydrocarbons, and other compounds and positively with acids, ketones, and aldehydes (Fig. 1a). The plot, established according to the first two axes, suggested the existence of one group of Corsican chestnut honeys (Fig. 1b). The principal group comprised 48 of 50 analyzed samples, whereas two samples (S10 and S19) were characterized as atypical. The principal group was divided into two subgroups of 21 samples (subgroup I: S1–S3, S12, S15, S18, S21, S22, S24–26, S33, S36–S43, and S50) and 27 samples (subgroup II: S4–S9, S11, S13, S14, S16, S17, S20, S23, S27–S32, S34, S35, and S44–S49). Subgroup I was characterized by a high concentration of ketones (10.9–34.8%) and aldehydes (19.2–44.4%), and subgroup II was characterized by a greater abundance of hydrocarbons (6.4–24.2%), alcohols (4.7–18.9%), esters (0.4–5.4%), and oxides (2.1–5.5%). Samples S10 and S19 were distinguishable from the principal group by the greater presence of acids (27.2% and 22.4%, respectively), whereas the abundance of acids in the other honey samples was never >20% (3.4–19.8%).

3.4.2. Correlation of “chestnut grove” honey volatile and melissopalynological data

To identify a possible relationship between the chemical and melissopalynological data from Corsican “chestnut grove” honeys, PCA and CA (dendrograms) were also applied. The aromatic intensity of chestnut honeys exemplified by the sum of the total peak areas measured by HS-SPME-GC experiments, the relative frequency of *C. sativa*, *Rubus* sp., and *A. hermanniae* pollens, the physicochemical parameters (water content, electrical conductivity, and colour) were all selected for the statistical analysis (Table 5, Supplementary material). The distributions of the different parameters are shown in Fig. 2a, and the distribution of honey samples is presented in Fig. 2b. The principal factorial plane constructed using axes 1 and 2 accounted for 62.5% of the entire

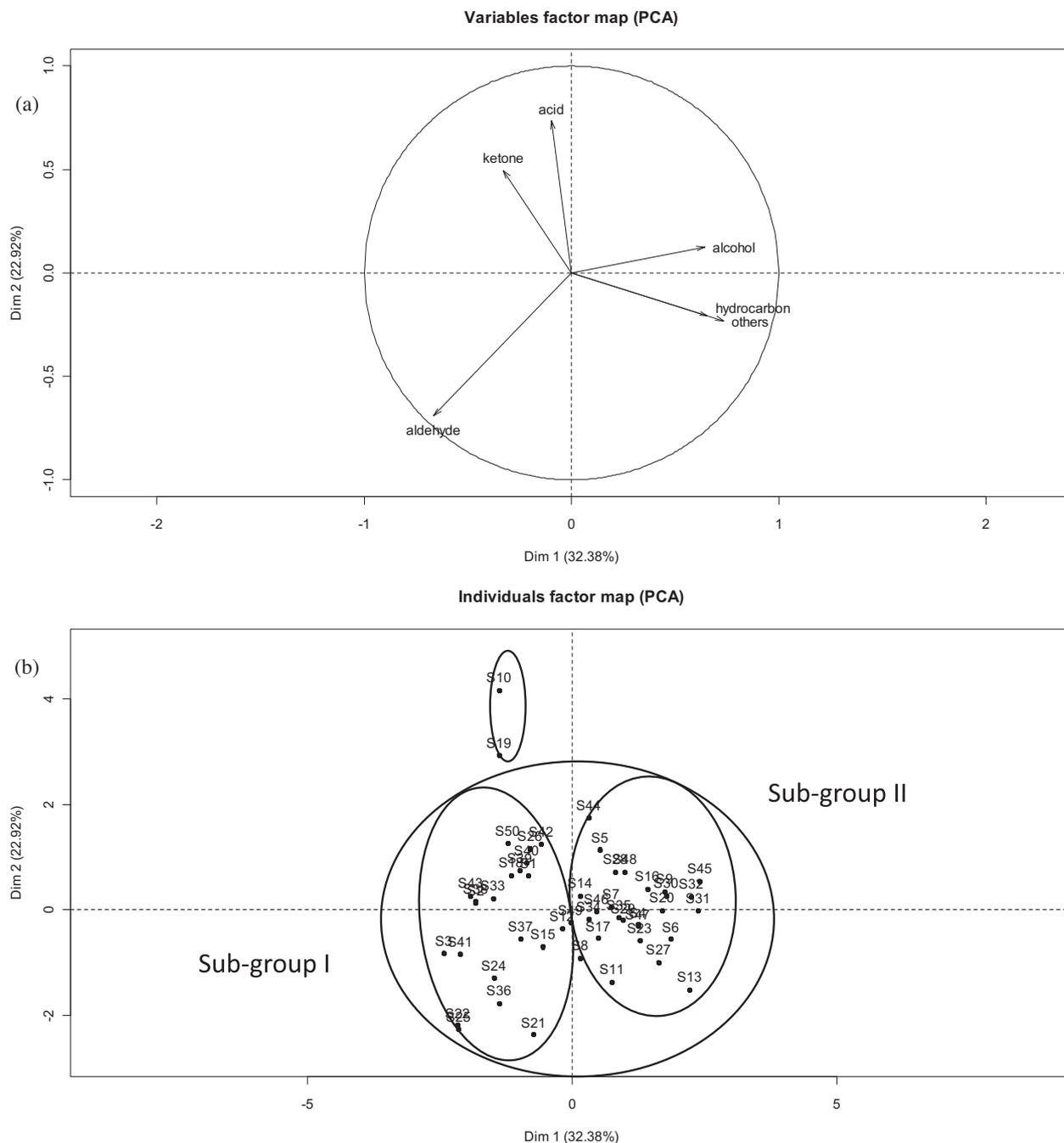


Fig. 1. PCA of chemical composition of Corsican "chestnut grove" honey. (a) PCA distribution of variable; (b) PCA distribution of samples.

variability of honey samples. Dimension 1 (41.06%) correlated negatively with the relative frequency of *Rubus* sp. and *A. hermanniae* pollens and positively with the total peak areas, the relative frequency of *C. sativa*, and the physicochemical parameters. Dimension 2 (21.44%) correlated negatively with the total peak areas and the relative frequency of *C. sativa* and *Rubus* sp. pollens and positively with the relative frequency of *A. hermanniae* pollen and the physicochemical parameters.

The plot established using the first two axes suggests that there are two main groups of "chestnut grove" honeys (groups I and II). This was confirmed by the general structure of the dendrogram (Fig. 3). Group I included 13 samples and had two characteristics. First, group I honeys had a higher relative frequency of *Rubus* sp. and *A. hermanniae* pollens (0.17–12.67% and 0.18–1.17%, average

6.69% and 0.78%) compared with honeys in group II (0.07–5.30% and 0–0.90%, average 2.03% and 0.19%). Second, honeys in group I had a lower aromatic intensity; i.e., the ranges of the sum of the total peak areas, measured by HS-SPME-GC, were $5.14\text{--}9.66 \times 10^5$ (average: 7.64×10^5) in group I honeys and $3.87\text{--}15.43 \times 10^5$ (average: 9.42×10^5) in group II honey samples. The group I honey samples displayed low values of colouration (71.0–83.0 mm Pfund, average 71.9 mm Pfund) and electrical conductivity (0.69–1.45 mS/cm, average: 1.08 mS/cm). Group II was comprised of 37 honey samples and was divided into two sub-groups (IIa and IIb). Subgroup IIa included 12 samples, which exhibited a high relative frequency of *C. sativa* pollens (93.82–98.04%, average: 96.49%) and high aromatic intensity ($9.91\text{--}15.43 \times 10^5$, average: 12.80×10^5). Subgroup IIb exhibited

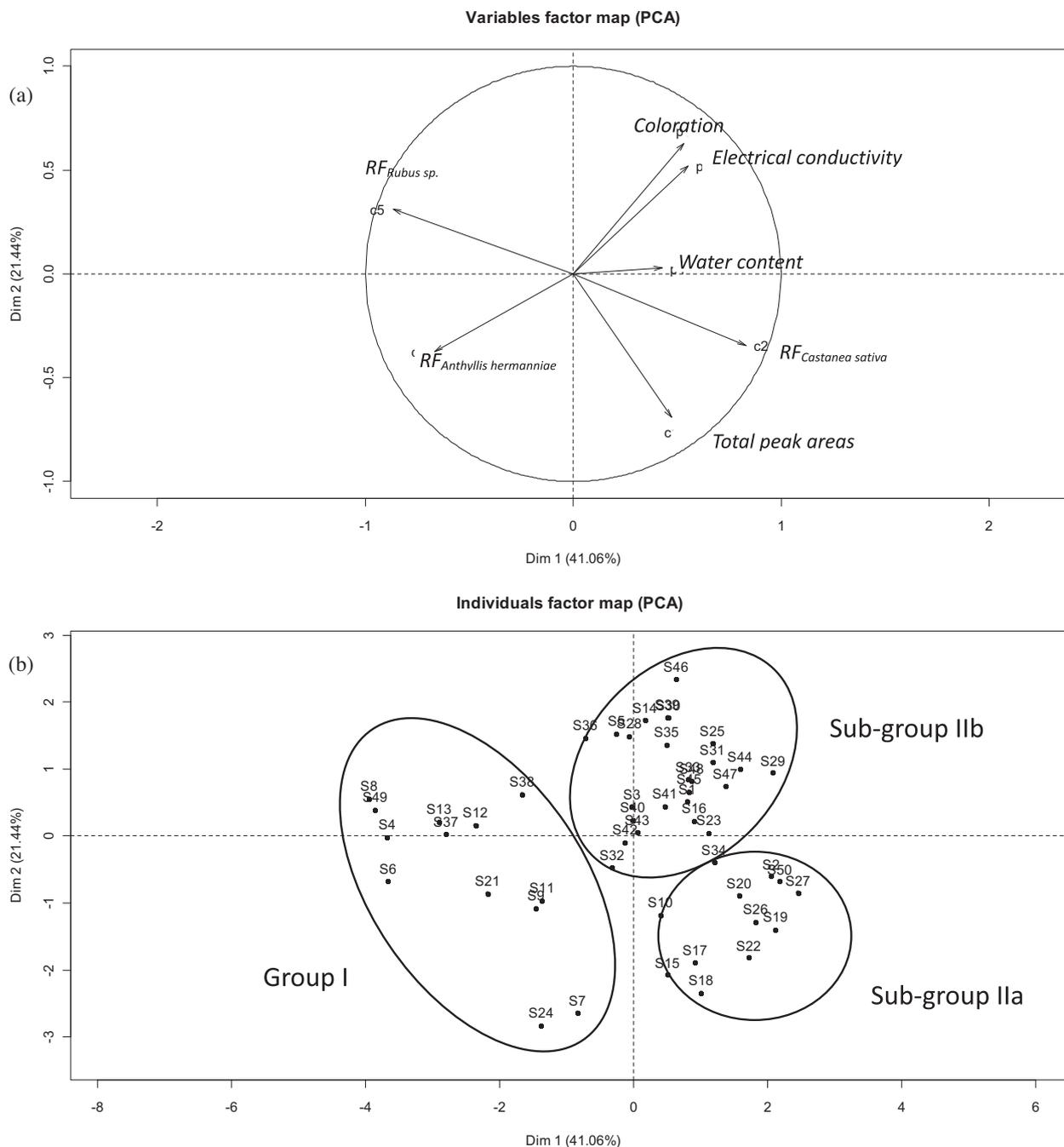


Fig. 2. PCA of melissopalynological, physico-chemical and chemical data of Corsican “chestnut grove” honey. (a) PCA distribution of variable; (b) PCA distribution of samples.

87.66–95.97% (average: 93.24%) of the *C. sativa* pollen, and its aromatic intensity was $3.87\text{--}10.59 \times 10^5$ (average: 7.80×10^5). The water content was also higher in subgroup IIa (16.3–18.6 g/100 g, average: 17.0 g/100 g) than in subgroup IIb (15.3–18.6 g/100 g, average: 16.9 g/100 g). Subgroup IIb was characterized by higher colouration values (83.0–99.0 mm Pfund, average: 87.2 mm Pfund) than in subgroup IIa (71.0–99.0 mm Pfund, average 79.3 mm Pfund) and also by higher electrical conductivity (0.85–1.90 mS/cm, average: 1.54 mS/cm in subgroup IIb versus 1.00–1.70 mS/cm with average 1.48 mS/cm in subgroup IIa).

Statistical analysis clearly showed that the aromatic intensity of chestnut honeys correlated negatively with the presence of pollens of both nectariferous species, *Rubus* sp. and *A. hermanniae* and clearly decreased the fragrance of chestnut honeys. In addition,

the distribution of chestnut honeys appeared to be influenced by the annual climatic factors. For example, 73% (8 of 11) of honey samples produced in 2004 were included in group I; 75% (6 of 8) of honey samples produced in 2005 were located in subgroup IIa, whereas subgroup IIb contained more than 70% of honey samples produced in 2006 (8 of 12), 2008 (7 of 9), and 2009 (5 of 7). The characteristics of honey samples of 2004 (with an importance on *Rubus* sp. and *A. hermanniae*) were affected by drought conditions in 2003. Group II was divided according to the honeybee compartments during the production of chestnut honeys. Subgroup IIa was dominated by honey produced from *C. sativa* nectar, whereas the honey samples of subgroup IIb were produced from honeydew additions, which improve the colouration and electrical conductivity of honeys.

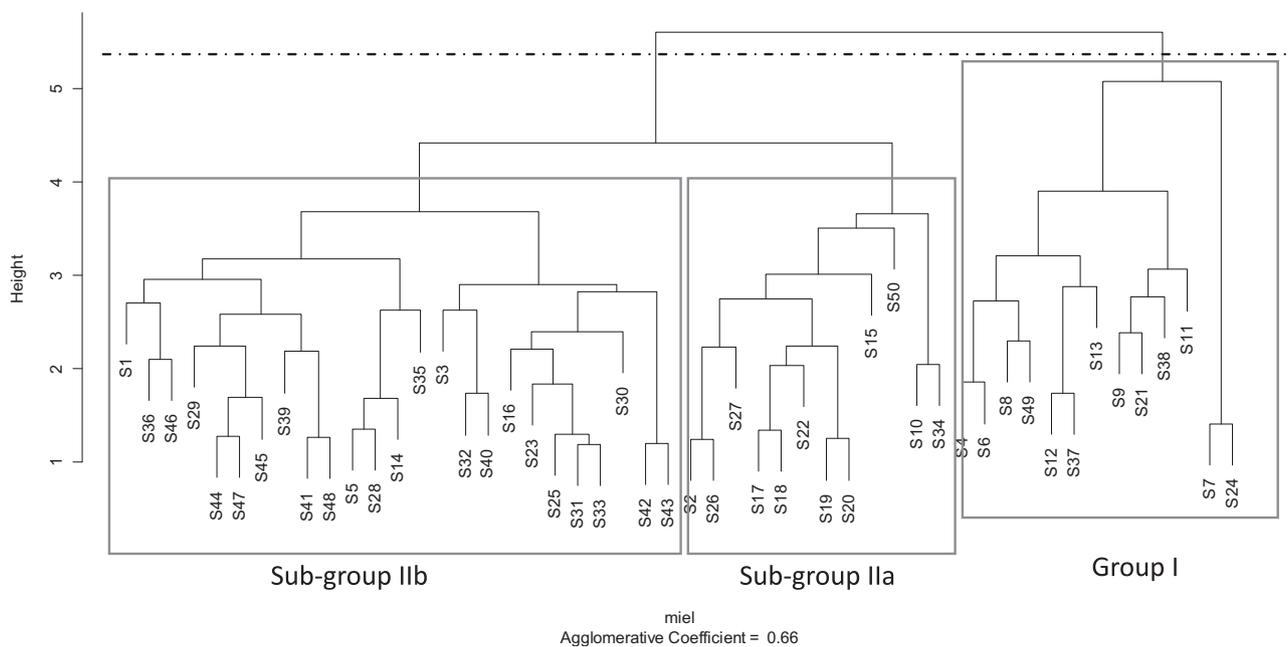


Fig. 3. Dendrogram of melissopalynological, physico-chemical and chemical data of Corsican "chestnut grove" honey.

4. Conclusion

For the first time, correlations have been demonstrated between the melissopalynological, physicochemical, and chemical data of Corsican "chestnut grove" honeys. The relationships between volatile components of chestnut catkins and chestnut honeys from Corsica have also been shown. Corsican "chestnut grove" honeys are characterized by the occurrence of pollens from 91 taxa. *C. sativa* is the overrepresented taxon and is accompanied by *Rubus* sp., *Q. ilex*, *A. hermanniae*, *M. communis*, *Genista* sp., *E. arborea*, *C. creticus*, and *F. ornus*. The high pollen density confirmed the existence of a unifloral production. The Corsican origin was certified by the occurrence of specific pollen provided from endemic taxa, the diversity of species-specific associations, and the richness of natural polliniferous and nectariferous resources. Relative to other botanical honey origins, Corsican "chestnut grove" honeys are characterized by higher colouration, electrical conductivity, and water content.

The main compounds of the volatile fraction extracted from Corsican chestnut catkin samples were acetophenone, methyl salicylate, nonanal, and linalool, whereas 2-aminoacetophenone, benzaldehyde, acetophenone, nonanoic acid, octanoic acid, and 3-furaldehyde were identified as the main volatile components of the chestnut honey samples. These suggest that chemical transformations occur during the honeybee activities and during honey conservation in hives. Statistical analysis showed that the aromatic intensity of "chestnut grove" honeys, the relative frequency of *C. sativa*, *Rubus* sp., and *A. hermanniae* pollens, and the physicochemical parameters explain the distribution of Corsican "chestnut grove" honeys. The diversity of Corsican chestnut honey can be explained by interannual climatic variations and by honeybee foraging behaviour during the chestnut honey flow.

Acknowledgements

The authors are indebted to the Délégation Régionale à la Recherche et à la Technologie de Corse (DRRT), the Collectivité Territoriale de Corse (CTC) and the European Community for partial financial support.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.075](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.075).

References

- Alliandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P., & Polissiou, M. (2007). Aroma investigation of Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Food Chemistry*, *100*, 396–404.
- Alliandrakis, E., Tarantilis, P. A., Pappas, C., & Harizanis, P. C. (2011). Investigation of organic extractives from unifloral chestnut (*Castanea sativa* L.) and eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) honeys and flowers to identification of botanical marker compounds. *LWT-Food Science and Technology*, *44*, 1042–1051.
- Aubert, S., & Gonnet, M. (1983). Mesure de la couleur des miels. *Apidologie*, *14*, 105–118.
- Battesti, M. J. (1990). *Contribution à la melissopalynologie méditerranéenne: les miels Corses*. PhD thesis, University of Marseille St. Jérôme (Aix-Marseille III), France.
- Battesti, M. J., Gamisans, J., & Piana, L. (1997). *Définition du périmètre de production-Rapport des experts en vue de la mise à l'enquête. Demande de reconnaissance en A.O.C. "Miel de Corse-Mele di Corsica"*.
- Battesti, M. J., & Goery, C. (1992). Efficacité de l'analyse méliopalynologique quantitative pour la certification des origines géographique et botanique des miels: le modèle des miels corses. *Review of Palaeobotany and Palynology*, *75*(1–2), 77–102.
- Bogdanov, S. (1997). Charakterisierung von Schweizer Sortenhonigen. *Agrarforschung*, *4*, 427–430.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, *35*, 4–17.
- Bonaga, G., & Giunani, A. G. (1986). The volatile fraction of chestnut honey. *Journal of Apicultural Research*, *25*(2), 113–120.
- Bonvehí, J. S., & Coll, F. V. (2003). Flavour index and aroma profiles of fresh and processed honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *83*, 275–282.
- Cajka, T., Haislova, J., Pudil, F., & Riddellova, K. (2009). Traceability of honey origin based on volatiles pattern processing by artificial neural networks. *Journal of Chromatography A*, *1216*(9), 1458–1462.
- Cuevas-Glory, L. F., Pino, J. A., Santiago, L. S., & Sauri-Duch, E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, *103*, 1032–1043.
- Devon, T. K., & Scott, A. I. (1975). *Handbook of naturally occurring compounds. Acetogenins, shikimates and carbohydrates* (Vol. 1). New York: Academic Press.
- Donarski, J. A., Jones, S. A., Harrison, M., Driffield, M., & Charlton, A. J. (2010). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, *118*, 987–994.
- Gamisans, J. (1985). *Catalogue des plantes vasculaires de la Corse*. Ajaccio: Parc Naturel Régional de la Corse.
- Gamisans, J. (1999). *La végétation de la Corse*. Aix-en-Provence: Edisud.

- Guyot, C., Bousea, A., Scheirman, V., & Collin, S. (1998). Floral origin markers of chestnut and lime tree honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2), 625–633.
- Jerkovic, I., Mastelic, J., Marijanovic, Z., Klein, Z., & Jelic, M. (2007). Comparison of hydrodistillation and ultrasonic solvent extraction for the isolation of volatile compounds from two unifloral honeys of *Robinia pseudoacacia* L. and *Castanea sativa* L. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 750–756.
- Konig, W. A., Hochmuth, D. H., & Joulain, D. (2001). *Terpenoids and related constituents of essential oils*. Library of Mass Finder 2.1, Institute of Organic Chemistry, Hamburg.
- Lapadatescu, C., Ginies, C., Le Quere, J. L., & Bonnarne, P. (2000). Novel scheme for biosynthesis of aryl metabolites from L-phenylalanine in the fungus *Bjerkandera adusta*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 1517–1522.
- Lee, H. I., Leon, J., & Raskin, I. (1995). Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 4076–4079.
- NIST (National Institute of Standards and Technology). (2008). *Spectral database for organic compounds*. NIST WebBook. <<http://www.webbook.nist.gov/chemistry>>.
- Persano Oddo, L., & Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35, 38–81.
- Piana, M. L., Persano Oddo, L., Bentabol, A., Bruneau, E., Bogdanov, S., & Guyot Declerck, C. (2004). Sensory analysis applied to honey: State of the art. *Apidologie*, 35, 26–37.
- Rapp, A., Versini, G., & Engel, L. (1995). Determination of 2-aminoacetophenone in fermented model wine solutions. *Vitis*, 34, 193–194.
- Stanimirova, I., Üstün, B., Cajka, T., Riddelova, K., Hajslova, J., Buydens, L. M. C., et al. (2010). Tracing the geographical origin of honeys based on volatile compounds profiles assessment using pattern recognition techniques. *Food Chemistry*, 118(1), 171–176.
- Verzera, A., Campisi, S., Zappalà, M., & Bonaccorsi, I. (2001). SPME–GC–MS analysis of honey volatile components for the characterization of different floral origin. *American Laboratory*, 33(15), 18–21.
- Von Der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M. L., Morlot, M., & Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, 18–23.

Table 4 (Supplementary content) Volatile compound classes of honey

No ^a	Classes of compounds ^b							No ^a	Classes of compounds ^b						
	Alcohols	Acids	Aldehydes	Ketones	Hydrocarbons	Oxides	Esters		Alcohols	Acids	Aldehydes	Ketones	Hydrocarbons	Oxides	Esters
S1	11.5	12.9	26.0	23.4	5.0	2.3	1.6	S26	7.0	9.7	20.1	34.8	9.0	2.5	1.3
S2	5.0	12.2	31.7	29.5	5.8	3.5	0.9	S27	9.6	8.3	20.4	12.6	10.9	4.7	2.4
S3	6.8	10.0	39.1	23.5	4.4	2.9	0.5	S28	14.9	13.6	19.5	17.9	7.9	2.6	1.6
S4	7.7	10.8	22.4	25.1	15.0	4.6	1.3	S29	10.0	11.5	22.5	19.1	10.0	4.3	1.9
S5	10.6	15.5	18.6	22.3	7.3	4.8	1.6	S30	18.9	12.1	20.0	15.5	9.5	3.6	0.6
S6	10.2	12.8	22.9	17.5	15.2	4.5	1.1	S31	15.2	10.5	16.5	16.7	24.2	3.5	0.8
S7	16.2	9.2	23.0	19.4	9.0	2.8	1.0	S32	9.4	13.3	15.6	20.9	14.4	5.2	2.0
S8	6.7	11.7	30.8	21.0	13.0	4.3	1.0	S33	5.9	16.7	31.1	19.8	8.5	2.1	0.8
S9	4.7	18.4	23.3	13.6	20.3	2.1	0.4	S34	7.7	12.7	24.8	19.9	11.8	3.3	1.3
S10	5.0	27.1	11.8	34.4	5.7	2.1	1.4	S35	12.2	3.6	21.3	32.1	10.3	3.3	2.5
S11	12.6	3.4	30.0	23.9	9.6	4.4	2.6	S36	7.5	10.6	39.7	12.4	4.2	2.9	2.5
S12	8.6	17.8	26.8	14.1	9.0	2.8	1.3	S37	10.5	12.1	34.3	19.1	4.1	3.3	2.2
S13	9.6	9.0	25.9	16.8	11.8	3.7	6.2	S38	8.4	8.0	30.5	31.1	5.9	2.7	0.3
S14	9.3	14.1	24.4	20.1	9.1	4.2	1.1	S39	8.1	13.4	26.9	29.0	7.5	2.9	1.5
S15	6.5	16.9	32.7	10.9	9.6	2.5	1.9	S40	12.5	19.8	30.9	17.6	7.2	1.5	1.2
S16	13.8	16.1	21.8	17.3	7.0	5.5	1.9	S41	5.4	14.8	39.2	17.0	3.2	3.4	1.6
S17	14.1	5.7	26.6	23.6	8.2	3.7	1.6	S42	13.2	19.7	19.2	21.3	7.1	1.8	1.4
S18	4.9	13.5	24.9	26.4	7.2	2.5	2.4	S43	5.4	17.9	33.2	19.9	8.8	1.3	0.4
S19	8.5	22.4	17.4	27.8	3.8	1.9	1.0	S44	9.9	18.8	17.1	23.0	6.4	3.2	3.0
S20	14.9	15.4	22.6	14.0	8.6	4.3	2.2	S45	12.2	15.0	14.7	15.0	7.8	5.0	5.4
S21	4.5	4.0	34.8	15.6	7.4	2.7	3.6	S46	12.2	17.5	28.9	12.9	6.8	3.1	3.5
S22	4.0	5.6	43.4	21.8	6.9	2.5	2.2	S47	13.9	9.1	24.3	22.5	6.5	4.7	3.7
S23	12.0	15.3	26.7	12.2	10.9	3.7	2.0	S48	12.3	14.8	20.0	20.5	7.5	4.2	2.6
S24	13.1	9.0	39.8	6.8	15.6	1.2	0.5	S49	9.7	11.4	27.8	22.1	9.4	3.8	1.0
S25	3.8	9.0	44.4	15.1	8.5	2.2	1.4	S50	7.4	16.1	24.6	28.1	7.3	2.2	0.9

^a Sample number is given in the "Material and methods"

^b Classes of compounds expressed as percentage of the volatile composition

Table 5 (Supplementary content) Parameters for the statistic analysis of honey volatile and melissopolynological, physico-chemical data

No ^a	Total peak area ^b	RF ^c			Physico-chemical parameters ^d		
		<i>Castanea sativa</i>	<i>Anthyllis hermanniae</i>	<i>Rubus sp.</i>	Color	Electrical conductivity	Water content
S1	9.29E+05	89.34	0.00	0.40	83.0	1.46	17.7
S2	11.31E+05	96.67	0.00	0.17	83.0	1.40	18.0
S3	8.52E+05	90.71	0.21	0.84	92.0	1.23	15.3
S4	5.43E+05	85.28	0.87	7.79	71.0	0.89	16.8
S5	5.30E+05	93.08	0.07	5.30	83.0	1.52	16.8
S6	5.14E+05	87.08	1.08	9.36	71.0	0.96	16.5
S7	9.66E+05	96.74	1.14	1.14	71.0	0.86	16.9
S8	7.11E+05	84.22	0.52	12.67	71.0	0.98	17.0
S9	8.31E+05	93.41	0.23	5.68	71.0	0.80	16.4
S10	10.24E+05	96.05	0.68	2.18	71.0	1.47	18.0
S11	9.25E+05	92.43	0.86	5.16	71.0	1.27	17.1
S12	8.24E+05	89.20	0.57	8.54	71.0	1.36	16.2
S13	8.17E+05	88.03	1.34	8.05	83.0	1.38	15.8
S14	5.34E+05	93.16	0.00	4.51	92.0	1.39	16.8
S15	13.97E+05	93.82	0.56	0.81	83.0	1.00	16.9
S16	8.27E+05	96.47	0.00	1.34	83.0	1.47	15.8
S17	13.56E+05	96.41	0.27	0.66	71.0	1.41	16.3
S18	13.02E+05	97.97	0.22	0.07	71.0	1.14	16.5
S19	15.43E+05	96.78	0.00	0.73	83.0	1.44	16.9
S20	13.34E+05	95.39	0.00	0.78	83.0	1.42	16.6
S21	6.20E+05	90.62	0.71	3.44	71.0	0.89	16.1
S22	14.59E+05	96.35	0.00	0.41	71.0	1.44	17.4
S23	10.59E+05	94.03	0.08	1.15	92.0	1.32	16.3
S24	9.59E+05	93.96	1.17	0.17	71.0	0.69	16.5
S25	8.25E+05	94.53	0.13	2.42	99.0	1.59	16.2
S26	12.13E+05	98.04	0.08	0.96	83.0	1.16	17.9
S27	13.91E+05	97.28	0.21	0.31	83.0	1.70	17.9
S28	6.42E+05	90.91	0.00	3.54	83.0	1.60	16.5
S29	9.45E+05	94.64	0.00	1.10	92.0	1.67	18.1
S30	5.50E+05	94.92	0.00	2.98	92.0	1.61	15.5
S31	8.91E+05	94.46	0.00	2.11	92.0	1.67	16.0
S32	8.13E+05	94.24	0.05	3.46	83.0	0.85	16.3
S33	9.53E+05	93.54	0.27	2.83	92.0	1.64	16.4
S34	9.91E+05	95.18	0.14	1.84	71.0	1.60	18.6
S35	3.87E+05	95.61	0.10	3.50	83.0	1.44	18.0
S36	7.28E+05	87.66	0.34	5.29	83.0	1.61	17.6
S37	9.57E+05	85.96	0.79	7.75	71.0	1.45	15.7
S38	5.71E+05	91.33	0.18	6.40	71.0	1.33	16.0

Table 5 (continued)

No ^a	Total peak area ^b	RF ^c			Physico-chemical parameters ^d		
		<i>Castanea sativa</i>	<i>Anthyllis hermanniae</i>	<i>Rubus sp.</i>	Color	Electrical conductivity	Water content
S39	5.64E+05	92.99	0.33	4.52	83.0	1.84	18.6
S40	7.91E+05	91.89	0.00	2.03	83.0	1.18	16.3
S41	8.63E+05	92.73	0.62	2.80	83.0	1.66	18.2
S42	8.14E+05	94.51	0.90	2.30	92.0	1.28	16.5
S43	8.24E+05	94.64	0.58	2.39	92.0	1.24	16.1
S44	9.36E+05	93.80	0.00	1.60	83.0	1.90	17.5
S45	8.03E+05	94.73	0.42	1.69	83.0	1.78	17.0
S46	7.31E+05	89.05	0.00	3.80	92.0	1.84	17.5
S47	9.22E+05	95.97	0.00	2.78	83.0	1.78	17.0
S48	7.91E+05	93.36	0.55	1.44	83.0	1.86	17.8
S49	7.00E+05	82.46	0.66	10.75	71.0	1.22	16.0
S50	12.19E+05	97.88	0.39	0.19	99.0	1.24	17.5

^a Sample number is given in the "Material and methods"

^b Total peak area was measured by HS-SPME/GC experiments

^c RF expressed as percentage of the pollen counted in the pollen spectrum

^d Unity of parameters: color (mm Pfund); electrical conductivity (mS/cm); water content (g/100g)

Miels de «maquis de printemps »

Par nos travaux relatifs aux miels de «maquis de printemps », nous avons montré qu'un apport élevé en nectar d'*E. arborea* est corrélé à une augmentation de l'intensité aromatique qui est liée à des teneurs élevées en *p*-anisaldéhyde et en 4-*n*-propylanisol (13,9% et 18,1%, respectivement). *A contrario*, les échantillons ayant des FR d'*E. arborea* les plus faibles présentent les pourcentages en *p*-anisaldéhyde et en 4-*n*-propylanisol les moins élevés (10,8% et 12,1%, respectivement). Par ailleurs, nous avons pu démontrer la complexité des miels de la gamme «maquis de printemps »; ils se différencient par des valeurs élevées de coloration et de conductivité électrique qui peuvent s'expliquer par des apports d'autres espèces nectarifères et/ou de miellats. Les fractions volatiles se démarquent également par des concentrations élevées en alcools qui sont statistiquement corrélés à la présence de diverses espèces nectarifères telles que *Cytisus/Calicotome* forme et *Genista* sp. Enfin, l'étude «multicritère » (données polliniques, physico-chimiques et volatils) de cette gamme variétale a permis de mieux cerner l'origine botanique de ces productions, c'est-à-dire d'identifier les caractéristiques typiques des miels « quasi » monofloraux de bruyère et de distinguer ces derniers de ceux ayant des apports nectarifères (ou miellatifères) plus diversifiés.

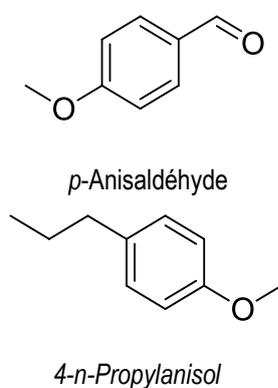
Melissopalynological and volatile composition investigation of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honeys

Y. Yang, M.J. Battesti, J. Paolini, A. Muselli, P. Tomi, J. Costa

Food Chemistry, 2012, 134 : 37-47



Erica arborea



Pollen d'*Erica arborea* (Ea)



Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honeys

Yin Yang, Marie-José Battesti, Julien Paolini*, Alain Muselli, Pierre Tomi, Jean Costa

Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, BP 52, 20250 Corte, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 July 2011

Received in revised form 29 November 2011

Accepted 6 February 2012

Available online 18 February 2012

Keywords:

Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honey

E. arborea flowers

Melissopalynological analysis

HS-SPME–GC–FID and HS-SPME–GC–MS

Statistical analysis

ABSTRACT

Melissopalynology and volatiles' analysis are applied for origin identification of 45 Corsican “spring maquis” honeys, regionally representative of this Protected Denomination of Origin “Miel de Corse–Mele di Corsica” range. They are dominated by *Erica arborea* pollens. Studies of statistical distribution, biogeographical typology and altitudinal distribution of the 50 characteristic taxa certify the Corsican origin of these honeys. The volatile fraction extracted by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) from Corsican *E. arborea* flowers was dominated by octen-3-ol, (*E*)- β -ocimene and (*Z*)- β -ocimene whereas 4-propylanisole, *p*-anisaldehyde, benzaldehyde and 3-furaldehyde were identified as the main volatile components of Corsican honeys. Taking into account the volatile fraction and melissopalynological and physicochemical data, cluster analysis and principal component analysis highlighted the correlation between the relative frequency of *E. arborea* pollens, the total peak areas of spring maquis honeys and the amounts of *p*-anisaldehyde and 4-propylanisole.

© 2012 Crown Copyright. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The Corsican honey was certified by two official designations of origin: the national Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) and the European Protected Designation of Origin (PDO), both marketed as “Miel de Corse–Mele di Corsica”. It is a common and diversified product that is classified into six ranges: “spring,” “spring maquis,” “honeydew maquis,” “chestnut grove,” “summer maquis” and “autumn maquis” according to the geographic location of the apiaries and the harvest season (Battesti, Gamisans, & Piana, 1997). The control of geographical and botanical origins of Corsican honeys takes into account the statistical treatment of melissopalynological data supplemented by the sensory characteristics and physicochemical parameters (Battesti, 1990; Battesti & Goeury, 1992; Von Der Ohe, Persano Oddo, Piana, Morlot, & Martin, 2004). The sensorial characteristics of Corsican “spring maquis” honeys were used by beekeepers and consumers to distinguish them from the five other ranges of the AOC and PDO (Battesti et al., 1997). Effectively, all of these honeys have a high granulation rate (because of glucose super-saturation), however, the intensity of colouration showed a variability from light brown to dark brown. It is a product with medium to high olfactory and aromatic intensities, and has a typical description: warm, caramel, cacao (Battesti et al., 1997; Persano Oddo, Piazza, Sabatini, & Accorti, 1995).

In Europe, many *Ericaceae* species such as *Erica vagans*, *Erica cinerea*, *Erica carnea* and *Calluna vulgaris* are visited by bees for nectar and/or pollen, and can give uniflorous honeys (Maurizio & Louveaux, 1965) commonly qualified as “heather honey.” In Corsica, the *Ericaceae* family is represented by four genera and seven species. Among them, *Erica arborea* and *Arbutus unedo* have the highest density, being widespread over the whole island territory. Relative to *A. unedo*, which flowers from October to December, *E. arborea* is the first spring apiarian resource (flowering period: February to May) for the quantities of nectar and pollen provided (Ricciardelli d'Albore & Persano Oddo, 1978). It is a steno-Mediterranean ubiquitous species that is widespread in Corsica from littoral to 1200 m. The distribution of *E. arborea* is concentrated in (i) meso-Mediterranean level (0–700 m north facing and 0–1000 m south facing) with many associations with other spring flowering species: *Lavandula stoechas*, *Rosmarinus officinalis*, *Viburnum tinus*, *Ge corsica*, *Calicotome spinosa*, *Calicotome villosa*, *Cytisus villosus*, *Pistacia lentiscus*, *Phyllirea angustifolia*, *Cistus creticus*, *Cistus monspeliensis* and *Cistus salvifolius*, with proximity of *Quercus suber* and *Quercus ilex* series or *Castanea sativa* facies; (ii) supra-Mediterranean level (700–1000 m north facing and 1000–1300 m south facing) associated with more mesophilous species such as *Crataegus monogyna*, *Genista lobelii* var. *salzmannii*, *Buxus sempervirens*, *Ilex aquifolium* and *Anthyllis hermanniae*. The distribution of *E. arborea* and its plant associations explains the complexity of Corsican “*E. arborea* spring maquis” honey. This range includes not only the uniflorous *E. arborea* honey as defined in the “characterisation of uniflorous honey” (Persano Oddo et al., 1995) but also the “spring

* Corresponding author. Tel.: +33 4 95 45 01 87; fax: +33 4 95 45 01 80.

E-mail address: paolini@univ-corse.fr (J. Paolini).

maquis" honey characterised by *E. arborea* and other nectariferous or honeydew contributions.

Taking into account the flavour-rich proprieties of honeys, use of the aroma profiles has been proposed to improve the classical approaches (melissopalynological, sensory and physicochemical analysis) of the origin determination (Bogdanov, Ruoff, & Persano Oddo, 2004). Several analytical techniques, such as headspace solid-phase microextraction (HS-SPME), infrared spectroscopy and ¹H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy have been recently applied to the analysis of Corsican honeys (Cajka, Haislova, Pudil, & Riddellova, 2009; Donarski, Jones, & Charlton, 2008; Donarski, Jones, Harrison, Driffield, & Charlton, 2010; Hennessy, Downey, & O'Donnell, 2010; Stanimirova et al., 2010; Woodcock, Downey, & O'Donnell, 2009). These studies focused on the discrimination between Corsican and non-Corsican honeys but did not provide results to characterise the diversity of each Corsican honey range.

The "heather honeys" (botanical origin not specified) have also been the subject of research for identifying floral markers. Flavonoids such as myricetin and its derivatives, 3,5,5-trimethylcyclohex-2-ene derivatives such as abscisic acid and isophorone, and some shikimate-pathway derivatives such as benzoic acid, *p*-anisaldehyde and *p*-anisic acid have been considered as markers of heather honey (Guyot, Scheirman, & Collin, 1999). To our knowledge, only one work has described the volatile fraction of *E. arborea* honey extracted by simultaneous distillation/extraction (Guyot et al., 1999). In this study, three shikimate-pathway derivatives were identified as markers of *E. arborea* honey: *p*-anisaldehyde, *p*-anisic acid and methyl vanillate (methyl 4-hydroxy-3-methoxybenzoate). No research has previously focused on the volatile fraction of the *E. arborea* flowers.

In the present work, the HS-SPME volatile fractions of Corsican "*E. arborea* spring maquis" honey and *E. arborea* flowers were investigated using GC-FID and GC-MS analysis. The aim of this work was to establish for the first time: (i) the volatile composition of Corsican "*E. arborea* spring maquis" honeys with botanical and geographical origins certified by detailed analysis of pollen spectra; (ii) the chemical relationship between the volatile compounds of *E. arborea* flowers and the corresponding honeys; and (iii) the correlation between volatile components and the melissopalynological and physicochemical characteristics of the Corsican "*E. arborea* spring maquis" honeys.

2. Materials and methods

2.1. Honey samples

The honey samples analysed came from a honey reference bank in which they were packaged in a sealed pot and stored below 14 °C after gathering. As reported by Gonnet and Vache (1985), this is the optimal condition for the conservation of honey to avoid degradation, especially fermentation, of honey samples. Before analysis, honey samples were examined by sensory analysis to ensure a good conservation mode of honeys. All honey samples investigated in our study were crystallised and remained as homogeneous samples. They possessed the olfactory and gustatory characteristics of "*E. arborea* spring maquis" honeys.

Forty-five "*E. arborea* spring maquis" honey samples commercialised under the AOC and PDO appellations were selected. These honeys were collected in May to June from 26 Corsican producers. These apiaries are representative of the *E. arborea* regional distribution and they are located from littoral to 860 m, but principally above 300 m. In addition, honey samples were provided from five different years of harvest (2003: 1–11; 2005: 12–28; 2006: 29–

34; 2007: 35–43 and 2010: 44–45) to take account of the impact of bioclimatic annual variations on production.

2.2. *E. arborea* flowers samples

Eleven flower specimens of *E. arborea* were collected in April and May 2009–2011 from 11 localities of Corsica. The flowers were gathered in full bloom during the secretion period, and the foraging nectar by honeybees was chosen as the indicator of nectar. These fresh flowers were analysed within 48 h.

2.3. Sample analysis

2.3.1. Melissopalynological analysis

Analysis of pollen and solid constituents in honey included: (i) pollen extraction and microscopic preparation and (ii) qualitative and quantitative analysis using a microscopic method. Analyses were performed using the method described by Yang et al. (in press). The pollen identification was carried out by comparison with a reference pollen-slides library produced in our laboratory and with the aid of the palynological expertise practice developed for the characterisation and the AOC and PDO control of Corsican honeys (Battesti, 1990; Battesti & Goeur, 1992). The total pollen spectrum (qualitative analysis) of each honey sample has been established and expressed in terms of relative frequency (RF) of each identified taxon. The pollen density (quantitative analysis) exemplified by the absolute number of pollen grain in 10 g of honey sample and expressed as PG/10 g.

2.3.2. Physicochemical analyses

To complete the botanical origin characterisation of Corsican "*E. arborea* spring maquis" honey, the colouration and electrical conductivity were assessed. The colour of the honey samples was measured using a Lovibond Comparator apparatus at 20 °C following the method of Aubert and Gonnet (1983) and expressed as mm Pfund. Electrical conductivity was measured with a conductivity meter micro CM2210 (CRISON, Spain) at 20 °C using the method described by Bogdanov (1997) and expressed as mS/cm.

2.3.3. HS-SPME conditions

The SPME fibre divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, 30 μm) was used to extract the honey and flower volatiles. Optimisation of the SPME parameters was performed using one honey sample (21) and one flower sample for the analysis of these two matrices. The optimisation was based on the sum of the total peak areas measured using a gas chromatography-flame ionisation detection (GC-FID) system. For the honey samples, the sample concentration (in distilled water) was optimised after five different experiments at 0.5 g/ml, 1 g/ml, 2 g/ml, and with Na₂SO₄ addition (1 and 2 g). The weight of the *E. arborea* flowers was optimised after three different experiments at 1, 3, and 5 g. For each optimisation, the temperature was optimised in three different experiments at 30, 50, and 70 °C. The equilibration time was optimised in three different experiments at 30, 60, and 90 min. The extraction time was optimised in two different experiments at 30 and 60 min. After sampling, the SPME fibre was consecutively inserted into the GC-FID and GC-MS injection ports for desorption of volatile components (5 min), both techniques using the splitless injection mode. Before sampling, each fibre was reconditioned for 5 min in the GC injection port at 280 °C. HS-SPME and subsequent analyses were performed in triplicate.

2.3.4. HS-SPME/GC analysis

GC analyses were performed using a PerkinElmer (Waltham, MA, USA) AutoSystem XL GC apparatus equipped with a FID system and a fused-silica capillary column (30 m × 0.25 mm, film

Table 1
Statistical analysis and geographical origin of the taxa determined in Corsican "Erica arborea spring maquis" honey.

No. ^a	Type ^b	Taxa	PR ^c	Relative frequency (RF) ^d					BC ^g	Geographical origin						
				Mean	Min.	Max.	SD ^e	CV ^f		Repartition of vegetation levels ^h						
T1	N, P	<i>Erica arborea</i>	100	47.7	18.9	77.9	14.36	30	21		TM	ME	SM	mo		
T2	P	<i>Quercus</i> sp.	100	13.4	2.5	41.1	8.20	61	21–35–55–58		TM	ME	SM	mo		
T3	P	<i>Castanea sativa</i> ⁱ	93	9.8	0.0	44.6	11.46	117	59			ME	SM			
T4	N, P	<i>Genista</i> forms	93	4.5	0.0	38.8	6.40	141	14–29–62		li	tm	ME	SM	MO	OR
T5	P	<i>Cistus</i> sp.	93	3.5	0.0	14.8	3.14	88	21–29			TM	ME	sm		
T6	N, P	<i>Salix</i> sp.	89	2.8	0.0	14.5	3.09	111	51–52		RI					
T7	P	<i>Fraxinus ornus</i>	84	2.7	0.0	25.9	4.51	167	58			tm	ME	SM	mo	
T8	N, P	<i>Lavandula stoechas</i>	73	1.3	0.0	11.7	2.04	158	21			TM	ME			
T9	N, P	<i>Prunus</i> sp.	71	1.3	0.0	10.5	2.04	151	54–99				ME	SM		
T10	N, P	<i>Rubus</i> .sp	62	0.5	0.0	3.1	0.67	125	31–35			tm	ME	SM	mo	
T11	N, P	<i>Crataegus monogyna</i>	60	1.0	0.0	8.7	1.80	178	51			tm	ME	SM	mo	
T12	N, P	<i>Viburnum tinus</i>	58	0.8	0.0	10.5	1.85	233	21			TM	ME			
T13	P	<i>Phillyrea</i> sp.	56	1.1	0.0	6.4	1.75	157	25			TM	ME			
T14	N, P	<i>Pyrus/Malus</i> type	53	0.5	0.0	3.3	0.74	134	99			tm	ME	SM	mo	
T15	N, P	<i>Eucalyptus</i> sp.	53	0.6	0.0	3.2	0.90	155	99				ME			
T16	N, P	<i>Anthyllis hermanniae</i>	51	0.5	0.0	3.3	0.78	144	28			tm	ME	SM	MO	OR
T17	N, P	<i>Trifolium</i> sp.	51	0.4	0.0	2.6	0.59	145	21–31–51		Li		ME	SM	mo	
T18	N, P	<i>Ilex aquifolium</i>	49	0.4	0.0	4.1	0.81	185	65		ri			SM	MO	
T19	N, P	Brassicaceae	47	0.5	0.0	7.9	1.22	267	nd		nd					
T20	P	<i>Pistacia lentiscus</i>	44	0.4	0.0	2.7	0.71	172	29		Li	TM	ME			
T21	N, P	<i>Echium</i> sp.	36	0.5	0.0	3.8	1.02	202	31			TM	ME	SM		
T22	N, P	<i>Lotus</i> sp.	33	0.2	0.0	2.3	0.45	222	21–51		Li	TM	ME	SM	MO	
T23	N, P	<i>Allium</i> .sp	33	0.2	0.0	2.2	0.48	199	21–25			TM	ME	sm		
T24	P	<i>Olea</i> sp.	33	0.2	0.0	1.3	0.32	182	21		li	TM	ME			
T25	N, P	Asteraceae (fenestrated type)	33	0.1	0.0	0.8	0.17	175	21–94			TM	ME	SM	mo	
T26	P	<i>Populus</i> sp.	31	0.2	0.0	1.5	0.40	196	52–82		RI					
T27	P	Scrophulariaceae	29	0.1	0.0	1.1	0.28	205	nd		nd					
T28	N, P	Asteraceae (echinulated type)	29	0.1	0.0	0.5	0.13	180	21–94			TM	ME	SM	mo	
T29	N, P	<i>Citrus</i> sp.	27	0.2	0.0	3.0	0.58	241	99				ME			
T30	N, P	<i>Jasione montana</i>	24	0.2	0.0	1.3	0.32	204	54		li	tm	ME	SM	MO	
T31	P	<i>Actinidia deliciosa</i>	22	0.5	0.0	6.5	1.22	268	99				ME			
T32	P	<i>Buxus sempervirens</i>	22	0.2	0.0	3.3	0.58	284	65		RI1–2		me	SM	mo	
T33	N, P	<i>Helleborus lividus</i> subsp. <i>corsicus</i>	22	0.1	0.0	1.4	0.26	237	14				me	SM	MO	or sa
T34	N, P	Apiaceae	22	0.1	0.0	1.1	0.28	228	nd		nd					
T35	N, P	Rosaceae (others)	22	0.1	0.0	1.0	0.28	209	nd		nd					
T36	N, P	<i>Acer</i> sp.	20	0.2	0.0	3.4	0.55	312	31				ME	SM		
T37	N, P	<i>Hedera helix</i>	20	0.1	0.0	2.1	0.33	331	65			tm	ME	SM	mo	
T38	N, P	Fabaceae (others)	20	0.1	0.0	1.0	0.18	266	nd		nd					
T39	P	<i>Platanus</i> sp.	20	0.1	0.0	0.8	0.16	241	99				ME			
T40	N, P	<i>Rosa</i> sp.	18	0.1	0.0	2.2	0.36	330	31–51		RI1		ME	SM	mo	
T41	P	<i>Alnus</i> sp.	18	0.0	0.0	0.4	0.12	240	51		RI		me	SM	mo	
T42	P	<i>Myrtus communis</i>	16	0.3	0.0	4.6	0.89	344	21		li	TM	ME			
T43	P	<i>Plantago</i> sp.	16	0.1	0.0	0.9	0.17	293	nd		nd					
T44	P	Poaceae	16	0.0	0.0	0.6	0.13	272	nd		nd					
T45	N, P	<i>Muscari</i> sp.	16	0.1	0.0	0.5	0.13	252	21–24			TM	ME	SM		
T46	N, P	<i>Acacia dealbata</i>	16	0.1	0.0	0.5	0.15	244	99		li		me			
T47	N, P	<i>Robinia pseudoacacia</i>	16	0.0	0.0	0.4	0.08	280	91				ME	sm	mo	
T48	N, P	<i>Galactites</i> sp.	11	0.1	0.0	1.2	0.20	350	21			TM	ME	SM		
T49	P	<i>Corylus avellana</i>	11	0.1	0.0	1.1	0.23	332	53		ri1–2		me			
T50	P	Cupressaceae	11	0.0	0.0	0.3	0.08	295	nd		nd					

1-Endemic
14 Mediterraneo-montane origin
2-Steno-Mediterranean

(continued on next page)

21 Wider stenomedit., 24 Southerner stenomedit., 25 Western stenomedit., 28 North west stenomedit., 29 Western macaronesian stenomedit
 3-Eury-Mediterranean
 31 Wider eurymedit., 35 Western eurymedit.
 5-Eurasian
 51 Wider eurasiatic, 52 Eurasian, 53 South European-South Siberian, 54 European-caucasian, 55 European, 58 South east european, 59 Southern european
 6-Atlantic
 62 Subatlantic, 65 Atlantic mediterranean
 82 Euro-Siberian; 91 Pantropical; 94 sub-Cosmopolitan; 99 Cultivated plants
 nd: not defined
 RI or ri 1–3: Riparian forest of meso-Mediterranean, supra-Mediterranean and moutain, respectively
 Li ou li: littoral (roche, salt land or dune)
 ME or me: meso-Mediterranean
 SM or sm: supra-Mediterranean
 MO or mo: Moutain
 OR or or: oro-Mediterranean
 SA or sa: subalpine
 lower case: rare or at least less common than in those shown in capital letter

Forty three other determined taxa (PR < 10 %): *Clematis* sp., *Asphodelus ramosus*, *Cercis siliquastrum*, *Boraginaceae*, *Vicia* sp., *Veronica* sp., *Cynoglossum creticum*, *Pinus* sp., *Lamiaceae* (others), *Arbutus unedo*, *Laurus nobilis*, *Smilax aspera*, *Silene gallica*, *Stachys glutinosa*, *Oxalis* sp., *Caryophyllaceae*, *Anemone hortensis*, *Syringa vulgaris*, *Carex* sp., *Rosmarinus* sp., *Papaver rhoeas*, *Rumex* sp., *Thymus herba-barona*, *Odontites* sp., *Liliaceae* (others), *Epilobium* sp., *Artemisia* sp., *Mercurialis annua*, *Reseda* sp., *Apiaceae Ferula/Foeniculum* type, *Cytinus hypocistis*, *Erodium* sp., *Daphne gnidium*, *Ranunculaceae* (others), *Betula pendula*, *Vitis vinifera*, *Ostrya carpinifolia*, *Teucrium* sp., *Convolvulus* sp., *Knautia integrifolia*, *Chamaerops humilis*, *Mimosaceae* (others), *Carpobrotus* sp.

^a Order of taxa were classified by decreasing presence ratio (PR).

^b Type of taxa: P, polleniferous taxa; N, nectariferous taxa.

^c PR: presence ratio, number of honey samples presented/45 samples, expressed as %.

^d Mean, Min, Max values expressed as relative frequency RF (number of specify pollen counted/total pollen counted).

^e SD: standard deviation.

^f CV: coefficient variation.

^g Biogeographical Code, according to [Jeanmonod and Gamisans \(2007\)](#).

^h Repartition of vegetation levels.

ⁱ *Castanea sativa* can be considered as an only polleniferous taxa according to its relative frequency (RF < 45%) and taking into account its overrepresented pollen type ([Persano Oddo & Piro, 2004](#)).

thickness 1 μm) coated with Rtx-1 (PDMS). The oven temperature was programmed from 60 to 230 $^{\circ}\text{C}$ at 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and then held isothermally at 230 $^{\circ}\text{C}$ for 35 min. The injector and detector temperatures were maintained at 280 $^{\circ}\text{C}$. The samples were injected with an SPME inlet liner (0.75 mm i.d.; Supelco) in the split mode (1:50), using helium as the carrier gas (1 ml/min). The retention indices of the compounds were determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes (C_5 – C_{30}) with linear interpolation. The relative concentrations of components were calculated from the GC peak areas without using correction factors.

2.3.5. HS-SPME/GC–MS analysis

Samples were analysed with a PerkinElmer TurboMass detector (quadrupole), coupled to a GC PerkinElmer AutoSystem XL, equipped with a fused-silica Rtx-1 capillary column. The ion source temperature was 150 $^{\circ}\text{C}$, and the ionisation energy was 70 eV. Electronic ionisation (EI) mass spectra were acquired over the mass range of 35–350 Da (scan time 1 s). Other GC conditions were the same as described for the HS-SPME/GC analysis except for the use of a split ratio of 1:80.

2.3.6. Component identification

Identification of the components was based on: (i) the comparison of their GC retention indices (RI) on a nonpolar column, determined relative to the retention time of a series of *n*-alkanes with linear interpolation to the retention times of authentic compounds or data in the literature (Konig, Hochmuth, & Joulain, 2001; National Institute of Standards and Technology (NIST), 2008); (ii) computer matching with commercial mass spectra libraries (Konig et al., 2001; NIST, 2008); and (iii) comparison of spectra with those of the laboratory's library.

2.3.7. Data statistical analysis

The melissopalynological data were analysed using the methodology reported previously and described by Battesti and Goery (1992). The statistical analysis was performed by using R software (R Foundation – Institute for Statistics and Mathematics, Austria) and the data were analysed by cluster analysis (CA) and principal component analysis (PCA). The chemical variables (volatile components) were selected by the same statistical software. The CA produced a dendrogram (tree) using Ward's method of hierarchical clustering, which is based on the Euclidean distance between pairs of honey samples.

3. Results and discussion

3.1. Melissopalynological analysis

The analysis of 45 Corsican “*E. arborea* spring maquis” honeys allowed the determination of 93 taxa, including 63 nectariferous taxa and 30 only-polleniferous taxa. To define the most representative taxa of the regional directory, the presence ratio (PR) and the RF distribution (mean, minimum, maximum, standard deviation and coefficient variation [CV]) of each taxon are reported in Table 1. These taxa were classified by decreasing PR. *E. arborea* **T1** appeared as the most characteristic taxon according to all of these parameters. Furthermore, 17 very frequent taxa (**T1**–**T17**, PR > 50%) were the most regionally representative taxa. Among them, nine taxa (**T1**–**T9**) can be distinguished by their RF_{Max} and RF_{Mean} values.

The biogeographical origin (biogeographical code: BC) of 50 identified taxa (PR > 10%) and their local distribution in vegetation level according to Jeanmonod and Gamisans (2007) were used order to qualify the specificity and the originality of the regional pollen directory (Table 1). Analysis of the biogeographical distribution

showed that 44 taxa were mainly from natural vegetation of the Mediterranean area (23 taxa, BC 1–3) associated with Eurasian and Atlantic species (12 taxa, BC 5–6). Among them, two taxa can be especially employed as markers for the certification of Corsican origin: *Genista forms* **T4**, which contained mainly endemic species (*G. corsica*, *G. salzmannii* var. *salzmannii* and *G. salzmannii* var. *lobelioides*) and the endemic species *Helleborus lividus* subsp. *corsicus* **T33**. It was noted that the oriental Mediterranean taxon *A. hermanniae* **T16** could also be a geographical origin indicator because Corsica is the western limit of its geographic distribution. Finally, six taxa were exclusively cultivated species that exhibited a frequent distribution in honey samples especially some fruit trees (“*Pyrus/Malus* type” **T14**, *Citrus* sp. **T29**, *Actinidia deliciosa* **T31**)

Table 2

Melissopalynological and physico-chemical data of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honeys.

No. ^a	Melissopalynological data ^b				Physico-chemical parameters ^c	
	RF_{Erica}	$\text{RF}_{\text{N}}^{\text{d}}$	$\text{RF}_{\text{P}}^{\text{e}}$	Pollen density	Colour	Electrical conductivity
1	43.4	18.8	37.2	169	110.0	0.77
2	37.3	16.2	44.8	108	92.0	0.69
3	33.2	37.5	27.4	76	83.0	0.50
4	59.3	26.9	13.5	197	92.0	0.69
5	27.2	23.7	48.6	108	92.0	0.69
6	53.5	29.7	15.7	131	99.0	0.51
7	27.9	31.8	39.2	766	92.0	0.54
8	39.9	32.5	26.7	279	83.0	0.44
9	62.1	17.7	19.5	187	99.0	0.74
10	55.7	24.1	19.4	186	92.0	0.62
11	36.5	35.7	25.1	161	83.0	0.52
12	47.4	20.3	32.0	160	71.0	0.46
13	40.9	16.6	37.8	72	71.0	0.41
14	44.7	19.1	33.8	109	71.0	0.55
15	73.4	8.6	17.3	139	71.0	0.56
16	47.9	15.7	35.8	208	83.0	0.59
17	30.5	8.6	59.6	504	83.0	0.69
18	32.2	11.0	56.1	262	83.0	0.59
19	57.2	10.6	31.4	253	83.0	0.65
20	74.1	8.4	17.6	89	71.0	0.52
21	56.8	19.5	22.9	195	83.0	0.58
22	60.7	22.1	17.3	169	83.0	0.55
23	48.8	27.0	22.9	202	71.0	0.49
24	47.9	11.8	38.2	111	55.0	0.50
25	77.9	4.2	17.0	103	83.0	0.64
26	70.3	6.3	23.3	254	83.0	0.62
27	53.5	17.6	28.9	132	83.0	0.51
28	33.9	18.0	47.8	108	83.0	0.47
29	33.2	22.4	41.8	95	71.0	0.48
30	58.6	14.0	26.1	69	71.0	0.45
31	45.2	13.2	40.9	140	83.0	0.58
32	27.0	18.4	51.9	68	62.0	0.38
33	55.6	15.6	28.4	183	92.0	0.75
34	31.5	8.8	58.4	145	92.0	0.81
35	46.6	16.9	34.4	155	110.0	0.98
36	49.9	11.2	37.9	235	110.0	1.01
37	60.7	9.8	28.8	100	99.0	0.93
38	18.9	56.7	22.4	86	99.0	0.87
39	68.0	9.8	22.0	107	99.0	1.01
40	39.5	8.4	50.0	85	110.0	1.10
41	39.0	18.1	42.5	182	99.0	1.03
42	44.1	8.3	47.2	88	92.0	0.77
43	72.1	13.5	13.8	136	92.0	0.65
44	47.8	24.8	26.9	140	99.0	1.03
45	37.3	15.5	46.5	505	99.0	0.71

^a Sample number is given in Section 2.

^b RF expressed as percentage of the pollen counted in the pollen spectrum; pollen density expressed as the absolute number of pollen grains in 10 g of honey (103 PG/10 g).

^c Unity of parameters: colour (mm Pfund); electrical conductivity (mS/cm).

^d total sum of other nectariferous taxa.

^e total sum of only polleniferous taxa.

Table 3
Chemical composition of volatile fraction of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honeys and *Erica arborea* flowers.

No. ^a	Components ^c	RI (Lit) ^b	RI ^c	Honey			Flower			Identification ^e
				Mean ^d	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	
C1	(E)-2-Pentenal	725	728	1.4 ± 1.74	0.1	9.0	–	–	–	RI, MS
C2	Hexanal	777	772	–	–	–	0.9 ± 0.67	0.1	2.2	RI, MS
C3	Octane	800	794	0.3 ± 0.39	0.1	2.2	0.4 ± 0.26	0.0	0.8	RI, MS
C4	3-Furaldehyde	799	800	5.6 ± 2.19	2.4	11.0	–	–	–	RI, MS, Ref
C5	(Z)-3-Hexenol	836	834	–	–	–	1.4 ± 0.88	0.3	2.6	RI, MS
C6	Styrene	873	872	–	–	–	0.1 ± 0.09	0.0	0.1	RI, MS
C7	2-Acetylfuran	878	875	0.5 ± 0.2	0.2	1.0	–	–	–	RI, MS, Ref
C8	Heptanal	882	879	–	–	–	1.3 ± 0.87	0.2	3.2	RI, MS
C9	Nonane	900	894	–	–	–	0.2 ± 0.21	0.1	0.8	RI, MS
C10	Benzaldehyde	929	927	8.4 ± 3.54	3.1	20.2	0.8 ± 0.64	0.1	2.4	RI, MS
C11	Oct-1-en-3-ol	962	959	0.4 ± 0.21	0.1	1.1	42.7 ± 10.25	20.6	53.5	RI, MS
C12	Octanal	981	977	0.5 ± 0.35	0.1	1.8	–	–	–	RI, MS
C13	(Z)-3-Hexenyl acetate	1002	995	–	–	–	0.7 ± 0.36	0.1	1.2	RI, MS
C14	Phenylacetaldehyde	1012	1008	2.8 ± 1.85	0.5	9.8	–	–	–	RI, MS
C15	p-Cymene	1015	1011	0.4 ± 0.33	0.1	1.9	–	–	–	RI, MS
C16	(E,E)-2,4-Nonadiene	1014	1017	0.3 ± 0.1	0.1	0.6	–	–	–	RI, MS, Ref
C17	(Z)-β-Ocimene	1029	1024	–	–	–	2.2 ± 1.06	1.0	4.7	RI, MS
C18	(E)-β-Ocimene	1038	1034	–	–	–	24.7 ± 10.34	10.0	46.0	RI, MS
C19	Acetophenone	1036	1036	0.2 ± 0.15	0.1	0.9	–	–	–	RI, MS
C20	trans-Furanoid-linaloxide	1058	1055	0.7 ± 0.37	0.1	1.8	–	–	–	RI, MS
C21	Methyl Benzoate	1062	1059	0.2 ± 0.22	0.1	1.3	1.1 ± 0.97	0.2	2.6	RI, MS, Ref
C22	cis-Furanoid-linaloxide	1072	1071	0.6 ± 0.29	0.2	1.7	–	–	–	RI, MS
C23	p-Cymenene	1075	1075	0.7 ± 0.71	0.1	3.9	–	–	–	RI, MS
C24	Nonanal	1076	1080	1.7 ± 1.56	0.2	9.4	1.5 ± 0.91	0.1	2.8	RI, MS
C25	Linalool	1086	1084	1.8 ± 1.4	0.4	7.1	0.4 ± 0.34	0.1	1.2	RI, MS
C26	Hotrienol	1085	1089	2.6 ± 4.22	0.1	24.2	–	–	–	RI, MS, Ref
C27	Isophorone	1100	1104	0.9 ± 0.51	0.3	2.8	–	–	–	RI, MS
C28	4-Oxoisophorone	1111	1114	0.8 ± 0.97	0.1	5.6	–	–	–	RI, MS
C29	(2S, 2'S, 5'S)-Lilac aldehyde	1124	1123	1.9 ± 2.04	0.4	11.8	–	–	–	RI, MS, Ref
C30	Citronellal	1129	1125	0.6 ± 0.34	0.1	1.9	–	–	–	RI, MS
C31	(2R, 2'S, 5'S)-Lilac aldehyde	1133	1138	0.8 ± 0.93	0.1	5.3	–	–	–	RI, MS, Ref
C32	Ethyl Benzoate	1143	1144	0.2 ± 0.13	0.1	0.6	0.3 ± 0.40	0.1	1.5	RI, MS
C33	(2R, 2'R, 5'S)-Lilac aldehyde	1146	1147	0.3 ± 0.18	0.1	0.9	–	–	–	RI, MS, Ref
C34	Decanal	1180	1182	0.9 ± 0.53	0.1	3.2	0.4 ± 0.11	0.0	0.6	RI, MS
C35	p-Menth-1-en-9-al (isomer 1)	1188	1189	0.5 ± 0.45	0.1	1.9	–	–	–	RI, MS, Ref
C36	p-Menth-1-en-9-al (isomer 2)	1190	1191	0.4 ± 0.46	0.1	2.2	–	–	–	RI, MS, Ref
C37	p-Anisaldehyde	1218	1213	11.7 ± 4.08	0.7	21.3	–	–	–	RI, MS
C38	(E)-Cinnamaldehyde	1234	1231	0.6 ± 0.46	0.1	1.9	–	–	–	RI, MS
C39	2,3,5-Trimethylphenol	1242	1251	0.8 ± 0.99	0.1	5.0	–	–	–	RI, MS
C40	4-n-Propylanisole	1254	1257	14.7 ± 5.32	3.0	29.4	–	–	–	RI, MS, Ref
C41	3,4,5-Trimethylphenol	–	1290	2.6 ± 3.87	0.1	22.1	–	–	–	RI, MS
C42	Methyl-p-methoxybenzoate	1338	1337	–	–	–	0.3 ± 0.27	0.0	0.8	RI, MS, Ref
C43	(E)-β-Damascenone	1351	1352	1.1 ± 0.84	0.3	4.8	–	–	–	RI, MS
C44	4-Methoxypropiphenone	1415	1417	2.8 ± 1.4	0.2	5.6	–	–	–	RI, MS, Ref
C45	(E)-β-Caryophyllene	1421	1420	–	–	–	1.1 ± 2.10	0.1	6.1	RI, MS
C46	(E,E)-α-Farnesene	1506	1494	–	–	–	3.9 ± 3.96	0.6	12.0	RI, MS
	Total identification (%)			70.2 ± 5.76	60.7	81.6	83.9 ± 5.72	76.0	93.8	
	Hydrocarbons			1.6 ± 0.96	0.5	5.9	32.4 ± 11.95	17.7	49.1	
	Oxygenated compounds			68.6 ± 5.85	59.7	80.1	51.6 ± 11.95	37.7	63.2	
	Phenolic compounds			45.9 ± 7.93	25.2	61.7	2.4 ± 1.64	0.7	6.2	
	Furan compounds			10.3 ± 4.17	4.3	22.7	–	–	–	
	Linear compounds			8.5 ± 5.83	2.6	37.1	80.5 ± 6.00	72.4	89.4	
	Terpenic compounds			8.9 ± 4.6	3.7	24.5	–	–	–	
	Ketones			5.9 ± 1.29	3.3	9.3	–	–	–	
	Aldehydes			37.8 ± 6	21.1	51.5	4.0 ± 1.61	1.0	5.9	
	Esters			0.5 ± 0.27	0.2	1.5	0.7 ± 0.36	0.1	1.2	
	Alcohols			22.8 ± 7.31	11.6	48.4	44.5 ± 10.78	21.9	56.8	
	Oxides			1.7 ± 0.7	0.5	4.0	–	–	–	

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1).

^b Retention indice of literature on the apolar column reported from references (Konig et al., 2001; NIST, 2008).

^c Retention indice on the Rtx-1 apolar column.

^d Means ± SD, Min and Max values expressed as percentages from the 45 honey samples and 11 *E. arborea* flowers evaluated. SD were calculated after three experiments.

^e RI, Retention indice; MS, mass spectra in electronic impact mode; Ref., compounds identified from commercial data libraries: Konig et al., 2001 (21, 26, 29, 31, 33, 35, 36, 40, 42, 44) and NIST, 2008 (4, 7, 16).

* Among these identified compounds, 7, 10, 14, 19, 27, 37, 40 were reported in Guyot et al. (1999) as the composition of *Erica arborea* honey; 1, 4, 11, 15, 16, 21, 23, 30, 34–36, 39, 44 were never reported as volatile compounds of heather honey.

and *Eucalyptus* sp. **T15**, which are principally located in the east coastal area of Corsica.

The complexity and the variability of species associations of each honey were directly linked to the altitudinal extension of *E.*

arborea and the apiaries location from littoral to 1000 m. *E. arborea* was consistently associated with ubiquitous and high recovery density taxa (**T3**, **T5**, **T7** and **T8**). Other taxa (**T12**, **T13**, **T20**, **T24** and **T42**) with strict thermal requirements marked the thermo-

and meso-Mediterranean levels. In contrast, taxa **T11**, **T16**, **T18** and **T33** were indicators of higher levels.

The authentication of botanical origin takes into account the total pollen richness of each sample and the entire pollen spectrum: the RF_{Erica} with the total amount of other nectariferous taxa (RF_N) and the total amount of only-polleniferous taxa (RF_P). *E. arborea* was determined as the only nectariferous dominant taxa in the 45 honey samples. Twenty-five honey samples possessed an $RF_{Erica} > 45\%$ and 20 samples had an RF_{Erica} between 16% and 45% with only four samples (**5**, **7**, **32** and **38**) displaying an $RF_{Erica} < 30\%$ (Table 2). These results are in accordance with the normal type of appearance of *E. arborea* pollen in heather honeys (Louveaux, Maurizio, & Vorwohl, 1978; Von Der Ohe et al., 2004).

The other nectariferous contributions varied from 4.2% to 56.7% in the 45 pollen spectra. Only five samples (**3**, **7**, **8**, **11** and **38**) could be distinguished by their higher value of RF_N ($>30\%$). The Corsican “*E. arborea* spring maquis” honey exhibited a high average of the RF_P ($32.8 \pm 12.7\%$) which varied from 13.5% to 59.6%. Nine honey samples (**5**, **17**, **18**, **28**, **32**, **34**, **40**, **42** and **45**) had an $RF_P > 45\%$. This high value of RF_P might mask the quantitative contributions of nectariferous taxa. Quantitative analysis showed that the pollen density of “*E. arborea* spring maquis” honeys was almost constant. The average pollen density was 177×10^3 PG/10 g and 33 honey samples possessed a pollen density between 100 and 300×10^3 PG/10 g. However, some significant deviations distinguished nine samples (**3**, **13**, **20**, **29**, **30**, **32**, **38**, **40** and **42**) with lower pollen density ($<100 \times 10^3$ PG/10 g) and three honey samples (**7**, **17** and **45**) with a higher pollen density ($> 500 \times 10^3$ PG/10 g).

3.2. Physicochemical characteristics

Corsican “*E. arborea* spring maquis” honeys exhibited amber to dark amber colours. The mean colouration value was 86.8 ± 1.3 mm Pfund with great variation between 55.0 and 110.0 mm Pfund (Table 2). Twenty-two honey samples had amber colour (70–90 mm Pfund) and 21 samples showed dark amber colour (90–120 mm Pfund). Only two samples (**24** and **32**) had lighter colour (<70 mm Pfund). The average electrical conductivity value was 0.66 ± 0.19 mS/cm (range: 0.38–1.10 mS/cm). Thirty-five honey samples had a medium electrical conductivity that ranged from 0.4 to 0.8 mS/cm, while nine honey samples (**34–41** and **44**) showed high values of electrical conductivity (>0.8 mS/cm) and one sample (**32**) possessed a low value of electrical conductivity (0.38 mS/cm). These results are in accordance with the mellissopolynological spring maquis honey database of the AOC and PDO (Battesti, 1990; Battesti et al., 1997).

3.3. Volatile composition analysis

3.3.1. Optimisation of HS-SPME parameters and component identification

The optimisation of the HS-SPME sampling parameters for *E. arborea* flowers and honeys was based on the sum of the total peak areas. The maximum sum of the total peak areas was obtained from 3 g of *E. arborea* flowers and an aqueous honey solution (4 g of honey sample with 4 ml of water and 2 g of Na_2SO_4) at a temperature of 70 °C, an equilibrium time of 90 min, and an extraction time of 30 min. The CVs were 7–10% for the *E. arborea* flowers and 10–12% for the honeys, indicating that the HS-SPME method produced reliable results. Similarly, the CV of the major compounds was always $<15\%$. GC and GC/MS analysis of the headspaces of *E. arborea* flowers and honey samples allowed the identification of 19 components (amounting to 76.0–93.8% of the total volatile composition) and 35 components (60.7–81.6%), respectively (Table 3). Among them, 33 components were identified by comparison of their EI-MS and retention indices with those in our laboratory library, and 13 components were reported by comparison of the EI-MS

and nonpolar retention indices with commercial or literature libraries (Konig et al., 2001; NIST, 2008). The volatile fractions obtained from the flowers and honey samples showed important qualitative and quantitative differences (Fig. 1, supplementary material).

3.3.2. Volatile components of *E. arborea* “spring maquis” honeys

The volatile fractions of “*E. arborea* spring maquis” honeys were dominated by phenolic compounds (25.2–61.7%) followed by furan compounds and linear compounds (4.3–22.7% and 2.6–37.1%, respectively). The main components were 4-propylanisol **C40** (3.0–29.4%), *p*-anisaldehyde **C37** (0.7–21.3%), benzaldehyde **C10** (3.1–20.2%) and 3-furaldehyde **C4** (2.4–11.0%). To our knowledge, among the 35 identified compounds, 27 compounds are reported for the first time in the volatile fraction of *E. arborea* honeys.

To our knowledge, only two works have dealt with the HS-SPME volatile fractions of Corsican honeys; however, they did not specify the botanical origins of the samples (Cajka et al., 2009; Stanimirova et al., 2010). Corsican “spring maquis” honeys, without specification of predominance of *E. arborea*, were also characterised by 1H NMR spectroscopy, and a biomarker B (not identified) was considered as a marker of Corsican “spring maquis” honey for its high concentration in this product and its absence in non-Corsican honey (Donarski et al., 2010).

Concerning the *E. arborea* honey of other origins, only Guyot et al. (1999) reported the volatile fraction of *E. arborea* honey obtained by simultaneous distillation/extraction. Thus, *p*-anisaldehyde **C37** and 4-propylanisol **C40** were identified as the main compounds in the honey samples from France, Greece and Italy

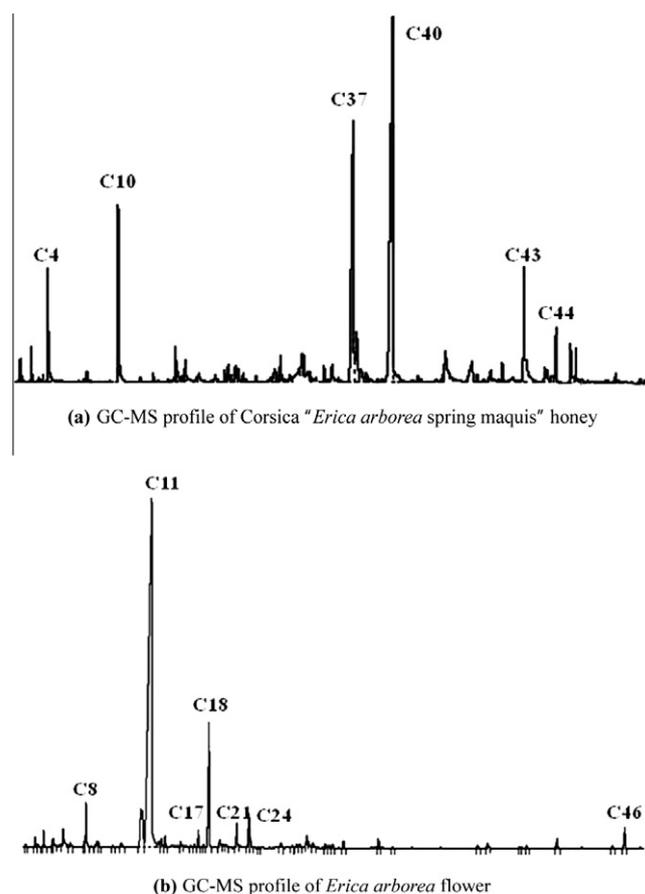


Fig. 1. GC-MS chromatogram of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honey (a) and *Erica arborea* flower volatile fractions (b).

Table 4
Chemical composition of volatile fraction of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honey.

No. ^a	Chemical compounds ^b											Total peak areas (10 ⁶) ^c
	C1	C4	C10	C24	C25	C26	C29	C37	C40	C41	C44	
1	0.8	11.0	12.7	2.1	2.3	0.2	0.5	11.0	11.8	2.2	1.0	8.82
2	0.4	9.2	10.8	1.3	3.1	0.8	1.8	11.1	13.9	1.5	1.0	9.42
3	1.6	7.6	5.6	1.0	2.4	2.1	2.5	12.4	21.0	2.5	1.8	7.06
4	0.4	5.8	6.8	0.5	1.2	0.2	2.2	12.5	27.0	1.8	1.7	7.70
5	1.6	10.2	10.2	1.9	4.8	2.5	5.3	6.1	4.5	2.1	0.4	9.21
6	0.4	5.9	7.5	0.4	1.3	0.1	0.8	12.1	29.4	1.3	3.6	6.79
7	0.0	4.1	3.8	0.2	0.4	11.4	1.0	8.9	9.5	22.1	2.6	16.24
8	1.3	7.4	6.3	1.0	1.0	11.6	1.3	7.3	11.3	14.7	0.9	10.01
9	0.3	4.9	7.1	0.6	0.8	2.2	0.9	14.1	15.5	2.6	3.0	13.42
10	0.2	2.4	3.9	0.5	0.5	2.9	2.5	16.6	14.3	8.8	5.6	22.41
11	1.1	5.0	6.4	1.8	2.1	1.0	3.1	11.6	14.6	3.0	2.0	10.45
12	0.9	4.5	6.9	1.8	1.3	0.3	7.7	9.1	11.1	0.6	1.6	8.31
13	1.4	4.8	11.8	3.4	0.9	0.4	3.5	9.7	10.6	1.0	2.0	7.52
14	2.7	5.8	3.1	1.6	4.8	0.2	3.4	7.6	14.2	2.8	2.2	11.21
15	0.7	4.6	8.0	1.4	0.7	0.2	0.9	15.8	16.1	0.8	4.4	12.53
16	0.5	4.7	6.6	0.8	1.2	0.6	0.5	14.7	20.0	0.8	4.7	12.55
17	0.3	4.6	8.8	0.7	0.9	1.6	0.9	14.1	11.1	3.3	4.0	16.09
18	1.0	7.1	9.0	1.7	1.7	1.1	0.7	12.1	10.6	1.4	2.7	11.49
19	0.3	5.9	4.5	0.7	1.1	0.2	1.4	13.9	18.4	1.4	3.5	7.89
20	0.2	3.5	4.7	1.6	1.0	0.5	0.4	14.5	19.9	0.7	3.7	14.49
21	0.3	3.5	4.3	0.5	0.9	2.6	1.1	10.3	18.9	5.4	3.0	14.22
22	0.1	2.6	5.2	0.4	0.4	0.3	0.6	18.3	18.3	0.5	5.2	21.26
23	0.3	5.0	9.7	0.4	0.6	0.2	1.0	15.5	20.1	0.8	4.1	12.19
24	1.0	7.2	4.9	2.7	7.1	0.4	2.5	9.0	9.4	0.3	2.0	8.24
25	0.3	4.6	6.5	0.8	0.9	0.4	0.5	18.9	17.1	0.2	4.6	15.64
26	1.2	7.2	6.4	0.6	1.2	0.8	0.4	14.0	20.9	0.5	3.4	5.05
27	0.6	5.1	8.0	1.1	1.3	2.8	0.5	13.8	10.3	3.4	2.0	13.03
28	4.9	10.7	12.5	1.7	2.0	1.0	2.6	8.0	15.4	0.1	0.8	1.69
29	0.6	6.5	5.6	1.5	1.8	1.6	2.3	11.5	16.8	2.8	2.4	3.05
30	0.5	5.8	4.5	3.2	1.8	1.8	0.9	9.0	21.1	2.2	3.4	12.47
31	1.4	3.3	7.3	1.9	2.4	5.0	2.0	8.2	11.5	2.5	3.4	11.54
32	2.5	3.6	6.1	1.5	1.6	2.5	11.8	4.4	15.5	2.1	2.1	9.34
33	0.4	2.5	13.0	0.6	0.8	4.7	0.9	21.3	12.7	2.3	4.2	16.60
34	0.6	6.3	9.6	1.7	2.2	1.0	1.2	11.4	15.1	1.1	2.5	8.71
35	3.7	7.8	20.2	5.0	3.7	1.2	1.6	6.9	10.2	0.4	1.3	3.36
36	2.0	6.5	13.2	1.7	3.9	0.8	1.3	13.6	18.7	0.4	3.7	3.37
37	2.3	5.2	12.8	9.4	1.8	3.5	1.4	8.6	15.2	2.2	2.0	2.53
38	9.0	7.2	12.8	1.2	3.7	24.2	1.2	0.7	3.0	3.9	0.2	2.92
39	1.2	3.5	12.9	1.6	1.6	8.3	1.1	14.1	8.4	2.6	3.8	11.86
40	6.7	10.3	14.8	2.7	3.5	4.0	1.4	3.8	7.6	0.9	0.6	1.72
41	1.7	5.2	9.0	0.5	0.9	1.3	3.1	10.9	11.9	0.4	3.1	8.17
42	0.7	3.3	7.0	2.4	2.1	3.2	1.8	12.6	12.3	2.7	4.3	10.65
43	0.6	2.6	10.1	1.1	0.7	3.8	0.5	16.0	20.4	3.7	4.7	12.68
44	1.3	5.3	8.6	2.5	0.5	0.4	0.7	15.2	9.6	0.6	5.2	4.41
45	1.9	4.8	7.5	3.9	0.8	0.2	1.5	14.1	17.7	0.5	3.4	7.53

^a Sample number of honeys (corresponding to those of Table 2).

^b Chemical compound number is given in Table 3: values expressed as relative percentage.

^c Total peak area were expressed in arbitrary units.

(Guyot et al., 1999). Moreover, *p*-anisaldehyde **C37**, *p*-anisic acid and methyl vanillate, components of shikimate-pathway derivatives, were considered as ideal markers of *E. arborea* honey because of their absence in honeys of other botanical origins (Guyot et al., 1999). However, only *p*-anisaldehyde **C37** was detected in the HS-SPME volatile fraction of analysed Corsican honey samples.

Relative to the reported heather honey volatile compositions (botanical origin not indicated), *p*-anisaldehyde **C37** and 4-propylanisole **C40** were also identified as the main compounds in Spanish heather honey (Castro-Vazquez, Diaz-Maroto, Gonzalez-Vinas, & Perez-Coello, 2009); benzaldehyde **C10**, phenylacetaldehyde **C14**, *cis*-furanoid-linaloxide **C22**, isophorone **C27**, 4-oxoisophorone **C28** and lilac aldehyde isomers (**C29**, **C31** and **C33**) have been identified in most of the heather honey samples studied (Castro-Vazquez et al., 2009; De la Fuente, Martinez-Castro, & Sanz, 2005; Radovic et al., 2001; Soria, Martinez-Castro, & Sanz, 2003; Soria, Martinez-Castro, & Sanz, 2008; Wolski, Tambor, Rybak-Chmielewska, & Kedzia, 2006).

In addition, 4-(3-oxobut-1-enylidene)-3,5,5-trimethyl-cyclohex-2-enone, decanoic acid, benzoic acid and isophorone **C27** have

been suggested as markers of heather honey (Guyot et al. 1999). Among them, only isophorone **C27** was reported in low amount (0.3–2.8%) in the studied Corsican honey samples.

3.3.3. Volatile components of *E. arborea* flowers

The volatile fraction extracted from *E. arborea* flowers was dominated by linear compounds, which accounted for 72.4–89.4%. Octen-3-ol **C11** (20.6–53.5%), (*E*)- β -ocimene **C18** (10.0–46.0%) and (*Z*)- β -ocimene **C17** (1.0–4.7%) were identified as the main compounds. To our knowledge, the volatile composition of *E. arborea* flowers is reported here for the first time. As shown in Table 3, within the 19 identified compounds of *E. arborea* flower samples, only eight compounds were found in the honey samples. Octen-3-ol **C11**, amounting to 20.6–53.5% in the flower volatile fraction, was found in low proportion in honey (0.1–1.1%). The two other major compounds (**C17** and **C18**) of flowers were absent in honey samples. This result showed that a direct relationship between the volatile fractions of *E. arborea* flowers (dominant nectariferous resource) and corresponding Corsican “spring maquis” honeys could not be established using HS-SPME analysis.

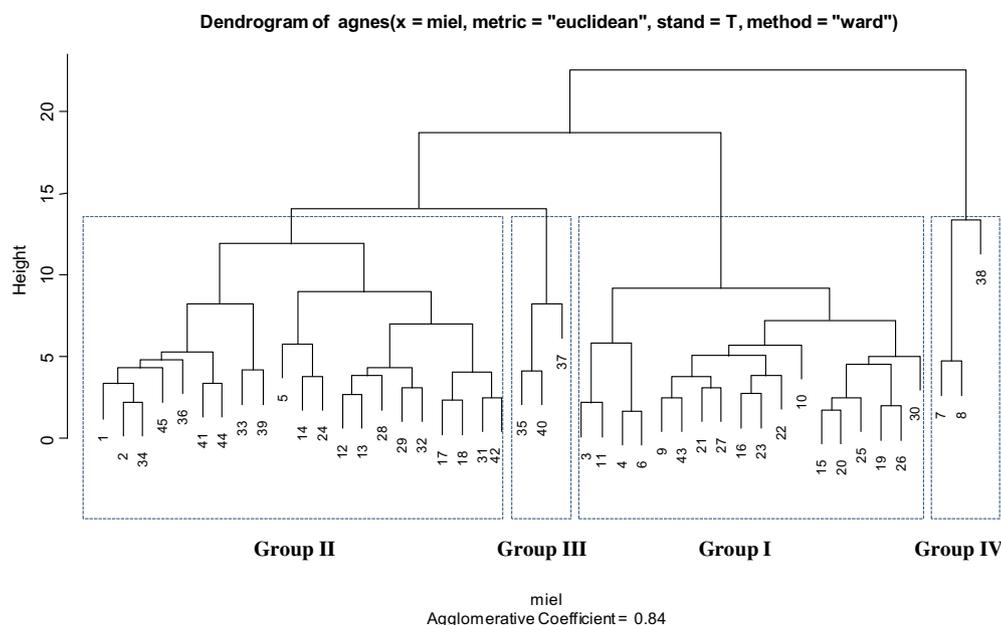


Fig. 2. Dendrogram of melissopalynological, physico-chemical and volatile data of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honey.

3.4. Statistical analysis

To identify a possible relationship between the melissopalynological, physicochemical and chemical volatile composition data of honey samples, CA (dendrograms) and PCA were applied to a matrix (Tables 2 and 4) with various parameters: the sum of the total peak areas measured by HS-SPME/GC–FID from the honey volatile fractions (aromatic intensity of honey); the amount of seven volatile compounds (Table 4) selected as discriminant variables by statistical analysis (benzaldehyde **C10**, nonanal **C24**, linalool **C25**, hotrienol **C26**, *p*-anisaldehyde **C37**, 4-propylanisol **C40** and 3,4,5-trimethylphenol **C41**); the physicochemical parameters (electrical conductivity and colouration); the relative frequency of *E. arborea*; the RF_N and the RF_p .

The general structure of the dendrogram (Fig. 2) produced by Ward’s method (CA) suggested the existence of four groups (group I: 18 samples, group II: 21 samples, group III: three samples and group IV: three samples) which reinforces the clustering observed using PCA (Fig. 2). Indeed, few differences were reported between PCA and dendrogram results: three samples (**12**, **14** and **33**) contained in group I with PCA were observed in the group II with CA and one sample (**36**) belonging to group III with PCA was present in group II using CA.

The two principal axes account for 50.97% of the entire variability of 45 honey samples, with these two PCA axes containing 30.34% and 20.63% of the variability. The distributions of the different parameters are shown in Fig. 3a, and the distribution of honey samples is presented in Fig. 3b. Dimension 1 (30.34%) correlated negatively with the total peak areas, *p*-anisaldehyde **C37**, 4-propylanisol **C40** and the RF_{Erica} ; and positively with the other parameters. Dimension 2 (20.63%) correlated negatively with the total peak areas, hotrienol **C26**, 3,4,5-trimethylphenol **C41** and RF_N .

The plot established using the first two axes (Fig. 3b) showed the occurrence of two main groups (groups I and II) that included 38 typical honey samples (84% of honey samples) and seven samples (16%) that could be considered as atypical (groups III and IV). Group I included 21 samples (**3**, **4**, **6**, **9–12**, **14–16**, **19–23**, **25–27**, **30**, **33** and **43**) and was characterised by the higher average of RF_{Erica} (57.1%), total peak area (1.23×10^7), *p*-anisaldehyde **C37** (13.9%) and 4-propylanisol **C40** (18.1%) (versus 39.2%, 8.81×10^6 , 10.8% and 12.1% for group II, respectively).

Group II (17 samples **1**, **2**, **5**, **13**, **17**, **18**, **24**, **28**, **29**, **31**, **32**, **34**, **39**, **41**, **42**, **44** and **45**) showed a higher RF_p average (44.0% versus 23.3% for group I). Its electrical conductivity- and colouration-average (0.68 mS/cm and 86.2 mm Pfund, respectively), were quite similar to group I values (0.58 mS/cm and 83.0 mm Pfund, respectively). Concerning the distribution of honeys according to the year of production, most of the samples of 2003 (**1–11**) and 2005 (**12–28**) were concentrated in groups I and II.

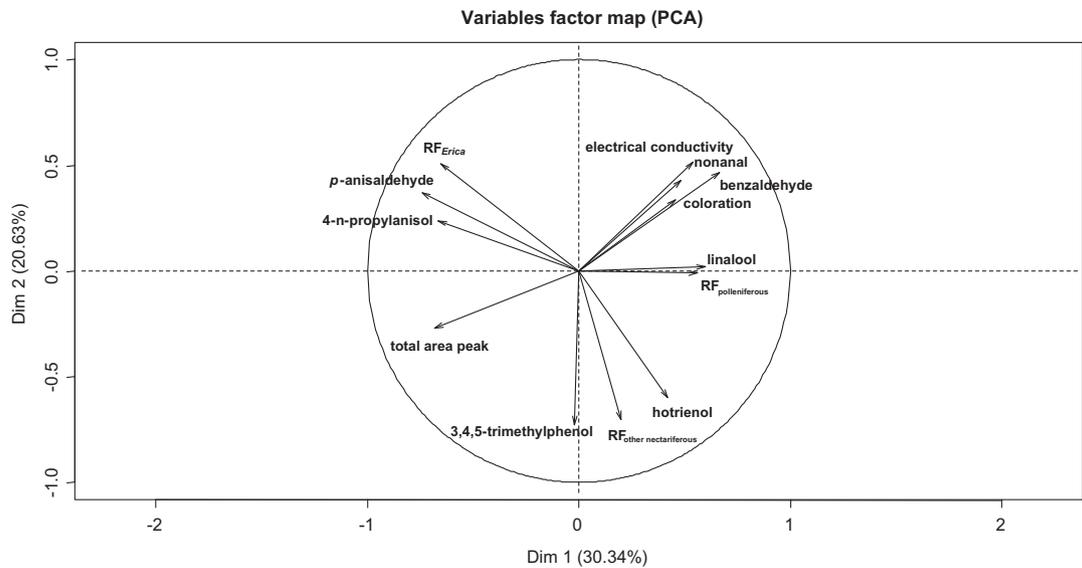
The four samples (**35–37** and **40**) of group III were characterised by a high value of colouration (>99.0 mm Pfund), electrical conductivity (>0.9 mS/cm) and aldehydes (>40%), especially benzaldehyde **C10** (12.8–20.2%), than the other samples. High values of colouration associated with electrical conductivity values were characteristic of honeys with honeydew contribution (Battesti, 1990). It should be mentioned that among the honey samples of 2007 (**35–43**), several samples (**35–37**, **40**) possessed a high value of electrical conductivity (most of them were higher than 0.9 mS/cm) and colouration (>90 mm Pfund).

The three samples (**7**, **8** and **38**) of group IV displayed the highest values of RF_N (31.8–56.7%) and high percentages of alcohols (>35%), especially hotrienol **C26** (11.4–24.2%) and 3,4,5-trimethylphenol **C41** (3.9–22.1%).

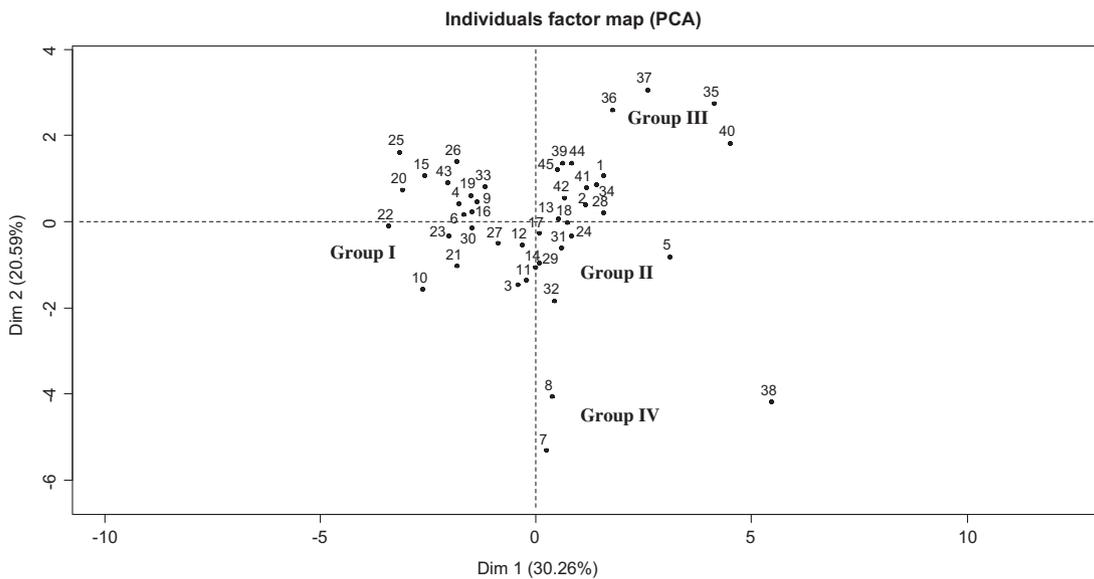
Finally, statistical analysis showed clearly that the amount of *E. arborea* pollens is correlated positively with the total peak areas and the amounts of *p*-anisaldehyde **C37** and 4-propylanisol **C40**. Thus, these latter two compounds could be employed as marker components of predominance of *E. arborea* in Corsican “spring maquis” honeys. The honeys dominated by *E. arborea* were generally characterised by higher total peak areas, medium colouration and electrical conductivity.

4. Conclusion

Corsican “*E. arborea* spring maquis” honey was characterised by pollen grains of *E. arborea* that belongs to the “normal” type. It was principally accompanied by *Quercus* sp., *Castanea sativa*, *Genista* forms and *Fraxinus ornus* with some variable contributions of other nectariferous species such as *Salix* sp., *L. stoechas*, *Prunus* sp., *C. monogyna* and *V. tinus*. The Corsican origin was certified by the occurrence of specific pollens provided from endemic taxa, the diversity of biogeographically specific species associations, and



(a) PCA distribution of variable



(b) PCA Distribution of samples

Fig. 3. PCA of melissopalynological, physico-chemical and volatile data of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honey.

the richness of spontaneous polleniferous and nectariferous resources.

The main compounds of the volatile fraction extracted from Corsican *E. arborea* flowers were octen-3-ol, (*E*)- β -ocimene and (*Z*)- β -ocimene, whereas 4-propylanisol, *p*-anisaldehyde, benzaldehyde and 3-furaldehyde were identified as the main volatile components of Corsican “*E. arborea* spring maquis” honey samples. There is not a direct relationship between *E. arborea* flower and honey volatile compositions. The chemical variability of analysed honeys was probably due to the presence of the other nectariferous species and/or polleniferous species that were influenced by bioclimatic factors and the geographical locality of the apiaries. Chemical transformations occurring during honeybee activities and during honey conservation in hives would be the subject of a further study.

For the first time, correlations have been demonstrated between the melissopalynological, physicochemical, and chemical

data of Corsican “*E. arborea* spring maquis” honeys. Statistical analysis highlighted a positive correlation between the total peak areas of spring maquis honeys, the FR of *E. arborea* pollens and the content of *p*-anisaldehyde and 4-propylanisol.

Acknowledgements

The authors are indebted to the Délégation Régionale à la Recherche et à la Technologie de Corse (DRRT), the Collectivité Territoriale de Corse (CTC) and European Community for partial financial support.

References

- Aubert, S., & Gonnet, M. (1983). Mesure de la couleur des miels. *Apidologie*, *14*, 105–118.
- Battesti, M. J. (1990). *Contribution à la melissopalynologie méditerranéenne: Les miels Corses*. PhD Thesis, University of Marseille St. Jérôme (Aix-Marseille III), France.

- Battesti, M. J., Gamisans, J., & Piana, L. (1997). *Définition du périmètre de production – Rapport des experts en vue de la mise à l'enquête*. Demande de reconnaissance en A.O.C. «Miel de Corse-Mele di Corsica».
- Battesti, M. J., & Goëury, C. (1992). Efficacité de l'analyse mélitopolynologique quantitative pour la certification des origines géographique et botanique des miels: Le modèle des miels corses. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 75(1–2), 77–102.
- Bogdanov, S. (1997). Charakterisierung von Schweizer Sortenhonigen. *Agrarforschung*, 4, 427–430.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys: A review. *Apidologie*, 35, 4–17.
- Castro-Vazquez, L., Diaz-Maroto, M. C., Gonzalez-Vinas, M. A., & Perez-Coello, M. S. (2009). Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme, and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. *Food Chemistry*, 112, 1022–1030.
- Cajka, T., Hajslova, J., Pudil, F., & Riddellova, K. (2009). Traceability of honey origin based on volatiles pattern processing by artificial neural networks. *Journal of Chromatography A*, 1216, 1458–1462.
- De la Fuente, E., Martinez-Castro, I., & Sanz, J. (2005). Characterization of Spanish unifloral honeys by solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 28, 1093–1100.
- Donarski, J. A., Jones, S. A., & Charlton, A. J. (2008). Application of cryoprobe ¹H Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy and multivariate analysis for the verification of Corsican honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5451–5456.
- Donarski, J. A., Jones, S. A., Harrison, M., Driffield, M., & Charlton, A. J. (2010). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, 118, 987–994.
- Gonnet, M., & Vache, G. (1985). *Le goût du miel*. Paris: U.N.A.F.
- Guyot, C., Scheirman, V., & Collin, S. (1999). Floral origin markers of heather honeys: *Calluna vulgaris* and *Erica arborea*. *Food Chemistry*, 64, 3–11.
- Hennessy, S., Downey, G., & O'Donnell, C. P. (2010). Attempted confirmation of the provenance of corsican PDO honey using FT-IR spectroscopy and multivariate data analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9401–9406.
- Jeanmonod, D., & Gamisans, J. (2007). *Flora Corsica*. Aix-en-Provence: Edisud.
- König, W. A., Hochmuth, D. H., & Joulain, D. (2001). *Terpenoids and related constituents of essential oils*. Hamburg: Library of Mass Finder 2.1, Institute of Organic Chemistry.
- Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. International commission for bee botany of I.U.B.S. *Bee World*, 59, 139–157.
- Maurizio, A., & Louveaux, J. (1965). *Pollens de plantes mellifères d'Europe*. Paris: Union des Groupements Apicoles Français.
- NIST (National Institute of Standards and Technology), (2008). *Spectral Database for Organic Compounds*. NIST WebBook: <http://webbook.nist.gov/chemistry>.
- Persano Oddo, L., Piazza, M. G., Sabatini, A. G., & Accorti, M. (1995). Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*, 26, 453–465.
- Persano Oddo, L., & Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35, 38–81.
- Radovic, B. S., Careri, M., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M., & Anklam, E. (2001). Contribution of dynamic headspace GC–MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry*, 72, 511–520.
- Ricciardelli d'Albore, G., & Persano Oddo, L. (1978). *Flora Apistica Italiana*. Roma: Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria.
- Stanimirova, I., Üstün, B., Cajka, T., Riddellova, K., Hajslova, J., Buydens, L. M. C., et al. (2010). Tracing the geographical origin of honeys based on volatile compounds profiles assessment using pattern recognition techniques. *Food Chemistry*, 118, 171–176.
- Soria, A. C., Martinez-Castro, I., & Sanz, J. (2003). Analysis of volatile composition of honey by solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 26, 793–801.
- Soria, A. C., Martinez-Castro, I., & Sanz, J. (2008). Some aspects of dynamic headspace analysis of volatile components in honey. *Food Research International*, 41, 838–848.
- Von Der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M. L., Morlot, M., & Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, 18–23.
- Wolski, T., Tambor, K., Rybak-Chmielewska, H., & Kedzia, B. (2006). Identification of honey volatile components by solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Journal of Apicultural Science*, 50, 115–125.
- Woodcock, T., Downey, G., & O'Donnell, C. (2009). Near infrared spectral fingerprinting for confirmation of claimed PDO provenance of honey. *Food Chemistry*, 114, 742–746.
- Yang, Y., Battesti, M. J., Djabou, N., Muselli, A., Paolini, J., Tomi, P., & Costa, J. (in press). Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican “chestnut grove” honeys. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.075.

Miels de «maquis d'automne»

Les spectres polliniques des miels de «maquis d'automne» - à dominante arbousier (*A. unedo*) - sont également caractérisés par la présence de pollen du lierre (*Hedera helix*). Afin de déterminer le rôle nectarifère d'*H. helix* dans cette gamme variétale, nous avons analysé un miel monofloral de lierre (prélevé directement sur le cadre dans les cellules operculées). L'analyse de la fraction volatile a permis d'identifier le phénylacétaldéhyde (25,3%), le benzyl-nitrile (15,8%), le nonanal (7,3%) et le 3-hydroxy-4-phényl-2-butanone (6,3%) comme composés majoritaires. Ces derniers sont absents (ou présents en très faibles proportions) dans les fractions volatiles des échantillons analysés. Par conséquent, nous pouvons affirmer que le lierre a un rôle uniquement pollenifère dans cette gamme variétale. Ces résultats indiquent que l'analyse de la composition volatile sert utilement pour préciser le rôle nectarifère (et/ou pollenifère) des taxons présents dans les échantillons à origine nectarifère de type «sous-représenté», tels que les miels d'arbousier.

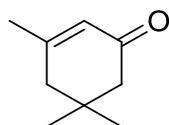
Melissopalynological and volatile analysis of honeys from Corsican *Arbutus unedo* L. habitat

Y. Yang, M.J. Battesti, J. Costa, J. Paolini

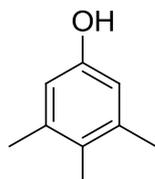
Natural Product Communications, 2014, 9 : 1523-1526



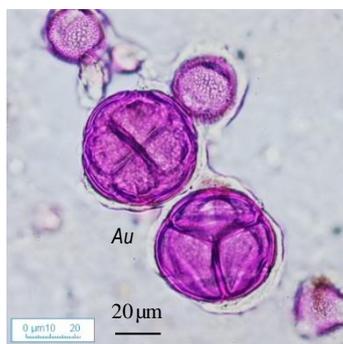
Arbutus unedo



Isophorone



3,4,5-Triméthylphénol



Pollen d'*Arbutus unedo* (Au)

Melissopalynological and Volatile Analysis of Honeys from Corsican *Arbutus unedo* Habitat

Yin Yang, Marie-José Battesti, Jean Costa and Julien Paolini*

Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, BP 52, 20250 Corte, France

paolini@univ-corse.fr

Received: May 15th, 2014; Accepted: July 20th, 2014

Thirty Corsican “autumn maquis” honeys were characterized by the typical combination of autumnal taxa: *Arbutus unedo*, *Hedera helix*, *Smilax aspera*, *Rosmarinus officinalis*, and two *Asteraceae* pollen forms. Corsican origin was characterized by the diversity of the taxa’s biogeographical origins and significant presence of *Castanea sativa* and *Quercus* sp. Volatile fractions of “autumn maquis” honeys were dominated by isophorone and 3,4,5-trimethylphenol. The latter is reported in *A. unedo* honey for the first time. Otherwise, both *A. unedo* flower and “autumn maquis” honeys exhibited high contents of isophorone derivatives. *H. helix* honey exhibited phenylacetaldehyde, benzyl nitrile, 3-hydroxy-4-phenylbutan-2-one and nonanal as major compounds, which were scarcely represented in the studied “autumn maquis” honey samples.

Keywords: *Arbutus unedo*, Corsican “autumn maquis” honey, Melissopalynological analysis, HS-SPME volatile fraction, GC & GC-MS, *Hedera helix*.

The strawberry tree (*Arbutus unedo* L., *Ericaceae* family) is an evergreen shrub (height 5–15 m) that flowers from October to January according to the altitude distribution of plants (meso- and supra-Mediterranean levels) [1]. It is used mainly for the production of jams, jellies and alcoholic beverages [2-3]. It is also used by honeybees for the production of typical honeys in various Mediterranean regions of Italy (Sardinia), France (Corsica), Albania, Croatia, Spain, and Greece [4]. The principal production is found in Sardinia and Corsica, where the quantity is strongly influenced by the climatic conditions [5]. The strawberry tree honey has a light amber color, with medium-to-high olfactory and aromatic intensities described as phenolic, coffee grounds, bitter and pungent [5-6]. The taste of the honey is characterized by a very pronounced bitterness and astringency [7]. The antioxidant and antiradical activities of *A. unedo* honeys have been demonstrated; they are attributed to homogentisic acid [8]. Homogentisic acid, unedone, and various abscisic acid isomers (2-*trans*, 4-*trans*, and 2-*cis*) have been identified in Sardinian *A. unedo* nectar and honey [9-10]. The Corsican “autumn maquis” honey also has homogentisic acid as the dominant component [11]. Various volatile compositions of strawberry tree honeys are also reported according to the geographical origins of samples, for example, Spain, Italy (Sardinia) and Greece [12-15].

According to the European Union decree of Protected Designation of Origin (PDO) of Corsican honey [16], the Corsican “autumn maquis” honeys are dominated by *A. unedo* nectar. In this study, the volatile compositions of Corsican “autumn maquis” certified by melissopalynological analysis (geographical and botanical origins) and *A. unedo* flowers were characterized, for the first time, in order to establish a chemical relationship between the nectariferous resource and the corresponding honey.

Melissopalynological analysis of honey samples: Sixty-three taxa were identified in the thirty “autumn maquis” honeys and classified according to their flowering periods (Table 1 - supplementary material). Table 1 (supplementary material) also shows the pollen spectrum and pollen density of each sample. The characteristic taxon of the honey flow period, *Arbutus unedo* T1, is known as an

underrepresented pollen type because of its flower form and its large pollen size [17]. It varies from 0.7% to 40.1%, with an average of 12.5%. Seven samples (7, 8, 13, 15, 23, 25, and 26) had a relative frequency (RF) $RF_{Arbutus} > 16\%$. Only two samples (20 and 22) displayed $RF_{Arbutus} < 3\%$. This species is associated with other autumnal nectariferous and/or polleniferous taxa, namely, *Hedera helix* (T2), *Smilax aspera* (T3), *Asteraceae* *Ditrichia* form (T4) and *fenestrated* form (T5), *Rosmarinus officinalis* (T6), *Odontites* sp. (T7), *Asparagus* sp. (T8), and *Cupressaceae* (T9). *H. helix* (T2) was reported in all the samples (0.3–50.5%) and appeared as the dominant taxon in two honey samples (2 and 3, RF > 45%).

To clarify the role of *H. helix* in these honeys, one *H. helix* honey sample was investigated. Pollen analysis showed that it exhibited very high values of RF_{Hedera} (94.6%) and pollen density (225×10^3 PG/10 g). This result suggests that *H. helix* displays an overrepresented pollen type and its RF in “autumn maquis” honey is not significant for the nectar contribution.

The taxa directory also shows a wide diversity of taxa that provide spring honey flows {*Erica arborea* (T10), *Echium* sp. (T11), *Quercus* sp. (T12), *Cistus* sp. (T13), *Fraxinus ornus* (T14)} and summer blooms {*Rubus* sp. (T15), *Jasione montana* (T16), *Anthyllis hermanniae* (T17), *Eucalyptus* sp. (T18), *Myrtus communis* (T19)}. An overrepresented taxon of summer blooms, *Castanea sativa* (T20), was also identified in all the honey samples; $RF_{Castanea}$ varied from 6.1% to 75.7% (three samples had $RF_{Castanea} > 70\%$). According to $RF_{Castanea}$ reported for Corsican “chestnut grove” honeys [18], no nectar contribution of this species is supposed in “autumn maquis” honey samples. The Corsican origin of samples was characterized by the diversity of the biogeographical origin of identified taxa [19-20], and significant presence of *Castanea sativa* (T20) and *Quercus* sp. (T11). Contrary to this, Sardinian strawberry tree honeys show the combination of *A. unedo*, *Eucalyptus* sp., *Echium* sp., *Cistus* sp., and *Citrus* sp. [21].

The pollen density of Corsican “autumn maquis” honey varies between 20.6 and 271.3×10^3 PG/10 g. This great variation was

Table 2: Volatile fraction of Corsican *A. unedo* flowers, "autumn maquis" honeys and *H. helix* honey.

No ^a	Components ^a	RI (Lit) ^b	RI ^c	<i>A. unedo</i> flowers			"autumn maquis" honey			<i>H. helix</i> honey	Identification ^d
				Mean ^d	Min	Max	Mean	Min	Max		
C1	2,5-Dimethylfuran	715	710	0.1±0.14	-	0.4	1.2±0.9	0.1	3.5	-	RI, MS
C2	2-Methylpentan-3-one	726	738	0.9±0.94	-	3.6	-	-	-	-	RI, MS, Ref
C3	Methyl-benzene	745	741	-	-	-	-	-	-	0.7	RI, MS
C4	Hexanal	770	767	5.9±2.50	3.1	11.1	-	-	-	-	RI, MS
C5	Octane	800	803	-	-	-	-	-	-	0.1	RI, MS
C6	3-Furaldehyde	812	813	-	-	-	0.7±0.5	0.1	2.0	0.1	RI, MS
C7	(E)-Hex-2-enal	832	821	1.0±1.62	-	7.1	-	-	-	-	RI, MS
C8	(Z)-Hex-3-en-1-ol	831	830	3.7±2.70	0.4	8.6	-	-	-	-	RI, MS
C9	Hexan-1-ol	837	841	2.3±1.84	0.6	7.8	-	-	-	-	RI, MS, Ref
C10	Heptan-2-one	871	859	8.0±3.98	2.0	14.7	-	-	-	-	RI, MS
C11	Heptanal	876	870	3.6±1.79	0.8	7.0	-	-	-	-	RI, MS
C12	2-Acetyl-furan	876	878	-	-	-	0.2±0.2	0.1	0.9	-	RI, MS, Ref
C13	Benzaldehyde	929	928	5.8±2.20	3.4	9.4	0.8±0.7	0.3	2.8	2.7	RI, MS
C14	Oct-1-en-3-one	956	948	0.8±0.43	-	1.6	-	-	-	-	RI, MS
C15	Octane-2,3-dione	964	955	0.1±0.16	-	0.5	-	-	-	-	RI, MS, Ref
C16	Oct-1-en-3-ol	959	956	2.3±1.22	0.5	5.6	-	-	-	-	RI, MS
C17	2-Pentylfuran	981	975	6.2±3.84	1.3	13.4	-	-	-	-	RI, MS
C18	Octanal	981	979	0.5±0.79	-	2.5	0.2±0.08	0.1	0.3	0.5	RI, MS
C19	(Z)-Hex-3-en-1-yl acetate	987	983	2.5±2.75	0.3	9.8	-	-	-	-	RI, MS
C20	Phenylacetaldehyde	1012	1008	0.8±1.14	-	4.7	0.4±0.3	0.1	1.3	25.3	RI, MS
C21	Dihydroisophorone	-	1013	-	-	-	0.6±0.3	0.1	1.4	0.5	RI, MS, Ref
C22	Limonene	1020	1015	0.2±0.47	-	1.5	-	-	-	-	RI, MS
C23	β-Isophorone	1027	1025	6.3±2.67	2.7	10.4	0.7±1.1	-	4.2	0.7	RI, MS, Ref
C24	(E)-Oct-2-enal	1034	1026	0.7±0.39	-	1.5	-	-	-	-	RI, MS
C25	Acetophenone	1044	1028	3.3±2.40	-	7.4	-	-	-	0.6	RI, MS
C26	trans-Furanoid-linaloxide	1058	1049	-	-	-	-	-	-	0.5	RI, MS
C27	cis-Furanoid-linaloxide	1072	1064	-	-	-	-	-	-	0.8	RI, MS
C28	Nonan-2-one	1070	1047	0.1±0.21	-	0.8	-	-	-	-	RI, MS
C29	Nonanal	1083	1076	5.2±2.37	1.3	8.8	-	-	-	7.3	RI, MS
C30	Linalool	1081	1078	2.7±3.31	-	9.2	-	-	-	-	RI, MS
C31	3-Acetyl-2,5-dimethylfuran	1084	1085	-	-	-	0.1±0.1	-	0.4	-	RI, MS, Ref
C32	Isophorone	1100	1089	1.0±0.74	-	2.2	34.8±5.4	20.0	42.0	1.2	RI, MS
C33	Benzyl nitrile	1103	1101	-	-	-	-	-	-	15.8	RI, MS, Ref
C34	4-Oxoisophorone	1111	1107	18.9±7.75	7.2	39.6	3.6±1.4	2.0	8.3	1.4	RI, MS
C35	2-Ethylbenzamine	1124	1118	-	-	-	-	-	-	0.4	RI, MS, Ref
C36	(E,Z)-Nona-2,6-dienal	1124	1119	0.5±0.80	-	2.1	-	-	-	-	RI, MS, Ref
C37	(E)-Non-2-enal	1136	1128	1.3±1.44	-	5.9	-	-	-	-	RI, MS
C38	2,2-Dimethyl-4-oxocyclohexane-1-carbaldehyde	1132	1130	-	-	-	2.9±0.9	1.1	5.2	-	RI, MS, Ref
C39	Octanoic acid	1164	1168	-	-	-	0.3±0.2	0.1	0.8	-	RI, MS
C40	Decanal	1180	1182	0.5±0.56	-	2.0	0.5±0.2	0.1	1.1	0.5	RI, MS
C41	3-Phenylfuran	1193	1185	-	-	-	-	-	-	0.3	RI, MS, Ref
C42	3-Phenylpropanol	1201	1211	-	-	-	-	-	-	0.9	RI, MS, Ref
C43	Hydrocinnamyl alcohol	1224	1227	-	-	-	-	-	-	1.1	RI, MS, Ref
C44	2,3,5-Trimethylphenol	1242	1250	-	-	-	4.6±2.5	1.3	13.2	-	RI, MS
C45	2-Aminoacetophenone	1261	1266	-	-	-	-	-	-	2.3	RI, MS
C46	Nonanoic acid	1263	1277	-	-	-	0.7±0.7	0.1	2.5	2.6	RI, MS
C47	Undecanal	1287	1286	-	-	-	0.3±0.5	-	1.6	-	RI, MS
C48	3,4,5-Trimethylphenol	-	1296	-	-	-	27.1±7.38	13.7	43.9	1.0	RI, MS
C49	3-Hydroxy-4-phenylbutan-2-one	1348	1341	-	-	-	-	-	-	6.3	RI, MS, Ref
C50	(E)-β-Damascenone	1363	1357	-	-	-	-	-	-	3.0	RI, MS
C51	Decanoic acid	1353	1360	-	-	-	0.3±0.13	0.1	0.7	1.3	RI, MS
C52	γ-Caryophellene	1407	1409	1.1±1.91	-	5.7	-	-	-	-	RI, MS
C53	(E)-β-Farnesene	1448	1439	1.8±4.29	-	15.0	-	-	-	-	RI, MS
C54	Heneicosane	2100	2096	-	-	-	0.1±0.06	-	0.2	0.2	RI, MS
C55	Tricosane	2300	2296	-	-	-	0.1±0.08	-	0.3	0.4	RI, MS
Total identification				87.9±6.7	71.2	96.7	79.9±3.64	72.9	85.4	78.5	
Hydrocarbons				3.1±5.8	-	20.7	0.2±0.1	-	0.5	1.4	
Oxygenated compounds				84.8±8.9	68.1	94.9	79.7±3.6	72.8	85.3	77.1	
Phenolic compounds				9.9±4.5	4.0	19.6	32.9±9.2	17.5	53.2	57.4	
Furan compounds				6.3±3.9	1.3	13.4	2.2±1.1	0.6	4.7	1.4	
Linear compounds				39.7±10.6	29.2	60.2	2.4±0.8	0.9	3.8	12.9	
Isophorone derivatives				26.2±7.6	12.6	42.7	42.5±7.4	24.6	54.3	3.8	
Terpenic compounds				5.7±6.13	-	22.2	-	-	-	3.0	
Ketones				39.4±8.3	25.5	55.9	39.6±6.7	23.5	50.4	16.0	
Aldehydes				25.6±5.1	16.9	34.1	5.8±1.9	3.6	10.0	36.2	
Alcohols				11.0±5.3	3.2	21.5	31.6±9.5	15.0	51.7	3.0	
Acids				-	-	-	1.3±0.8	0.3	3.1	3.9	
Oxides				6.2±3.8	1.3	13.4	1.4±0.9	0.2	3.7	1.3	
Esters				2.5±2.7	0.3	9.8	-	-	-	-	

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1). ^b Retention indices of literature on the apolar column reported from references [25-27]. ^c Retention indices on the Rtx-1 apolar column. ^d Means ± SD, Min and Max values expressed as percentages from the 30 honey samples and 17 *A. unedo* flowers evaluated. ^e RI, Retention index; MS, mass spectra in electronic impact mode; Ref., compounds identified from commercial data libraries: [25] (C31, C43, C49); [26] (C9, C23, C38, C41, C42); and [27] (C2, C12, C15, C21, C33, C35, C36).

also observed in Sardinian honeys from *A. unedo* [21]. These results could be attributed to the high pollen quantity of overrepresented taxa such as *Castanea sativa* for the Corsican honeys and *Eucalyptus* sp. for the Sardinian honeys.

Physicochemical analysis of honey samples: Corsican "autumn maquis" honeys exhibit light amber to amber colors. The coloration was 66.4 ± 9.0 mm Pfund; it varied from 46.0 to 83.0 mm Pfund (Table 1 - supplementary material). Four samples (1–3 and 13)

displayed coloration values ≤ 55.0 mm Pfund. Only two (20 and 27) displayed 83.0 mm Pfund. The average electrical conductivity was 0.8 ± 0.1 mS/cm (0.6–1.0 mS/cm). Twenty samples had high values of electrical conductivity (>0.8 mS/cm), while only one had a value lower than 0.7 mS/cm. The coloration was comparable with that of Sardinian strawberry tree honeys (70.1±10.0 mm Pfund), while the electrical conductivity value was slightly higher than that of Sardinian samples (0.7±0.1 mS/cm) [5].

Volatile analysis of honey samples: Analysis of volatile fractions of “autumn maquis” and *Hedera helix* honeys enabled the identification of 21 and 28 compounds, comprising 72.9–85.4% and 78.5% of the total composition, respectively (Table 2). The main compounds in “autumn maquis” honeys were isophorone (C32) (34.8%) and 3,4,5-trimethylphenol (C48) (27.1%). The volatile fractions of these samples showed high contents of isophorone derivatives (42.5%): isophorone (C32), 4-oxoisophorone (C34), and β -isophorone (C23). These three isophorone compounds were detected in low proportions in *H. helix* honey (3.8%). Conversely, the volatile fraction of *H. helix* honey was dominated by phenolic compounds (57.4%), followed by linear compounds (12.9%). Phenylacetaldehyde (C20) (25.3%), benzyl nitrile (C33) (15.8%), nonanal (C29) (7.3%), and 3-hydroxy-4-phenylbutan-2-one (C49) (6.3%) were identified as the major compounds of *H. helix* honey. These components (C20, C29, C33, and C49) were either absent or present in only low concentrations in “autumn maquis” honeys (0–1.3%). These results confirmed that the high content of *H. helix* pollen in some “autumn maquis” honey is not indicative for nectar contribution.

In this study, for the first time, 11 volatile components were reported in the *A. unedo* honeys. Furthermore, this is the first time that 3,4,5-trimethylphenol (C48) has been identified as a major compound of *A. unedo* honey. A high content of isophorone derivatives has been described in the volatile fractions of Sardinian and Spanish *A. unedo* honeys [13-15]. Conversely, the volatile composition of *A. unedo* honeys from Greece was characterized by a high content of phenolic compounds and the absence of isophorone components [12].

Volatile analysis of *A. unedo* flower: Thirty compounds were identified in the volatile fraction of *A. unedo* flower, accounting for 71.2–96.7% of the total composition (Table 2). Eight compounds were detected in both flower and honey volatile fractions: 2,5-dimethylfuran (C1), benzaldehyde (C13), octanal (C18), phenylacetaldehyde (C20), β -isophorone (C23), isophorone (C32), 4-oxoisophorone (C34), and decanal (C40). The main compounds of *A. unedo* flower were 4-oxoisophorone (C34) (18.9%), heptan-2-one (C10) (8.0%), β -isophorone (C23) (6.3%), and 2-pentylfuran (C17) (6.2%). It should be noted that volatile fractions of flower and honey showed high contents of isophorone derivatives (26.2% and 42.5%, respectively), such as isophorone (C32), 4-oxoisophorone (C34), and β -isophorone (C23). In addition, the *A. unedo* flower displayed a higher content of linear compounds (32.9%), while the honey was rich in phenolic compounds (39.7%).

This study is the first report on volatile fractions of *A. unedo* flowers, Corsican “autumn maquis” and *H. helix* honeys. Thirty Corsican “autumn maquis” honeys were characterized by the typical combination of *A. unedo* and other autumnal taxa such as *H. helix*, *S. aspera*, *R. officinalis*, and two *Asteraceae* pollen forms. The presence of *Castanea sativa* and *Quercus* sp. pollen in Corsican “autumn maquis” honeys could be used to distinguish these samples from Sardinian *A. unedo* honeys. Volatile fractions of “autumn maquis” honeys were characterized by high quantities of isophorone and 3,4,5-trimethylphenol. The latter is reported for the first time in *A. unedo* honey. Moreover, the *A. unedo* flower and “autumn maquis” honeys exhibit a high content of isophorone derivatives. Otherwise, the volatile composition of *H. helix* honey exhibited phenylacetaldehyde, benzyl nitrile, 3-hydroxy-4-phenylbutan-2-one, and nonanal as major compounds, whereas these components were scarcely represented in the studied “autumn maquis” honeys. Finally, analysis of the volatile composition appears to be a useful method to specify the nectar or pollen contribution of taxa in honey

(botanical origin), especially when nectariferous taxa display underrepresented pollen, as in the case of *A. unedo*.

Experimental

Honey and flower sampling: Thirty Corsican “autumn maquis” honeys, commercialized under PDO appellations, were selected from the honey reference bank of the laboratory. These honeys had been stored in a fridge below 14°C to ensure an optimal condition of honey conservation [22]. The honey samples were collected from September to January during three years (2005, 2006 and 2012). The apiaries location was from littoral to 1000 m and half of them were located above 400 m. During honey harvest, the extract frame had often white crystalized honey attributed to *Hedera helix* in honeycombs, which were difficult to extract. One frame honey sample was, therefore, collected directly from capped honeycombs in the laboratory in order to constitute a reference *H. helix* honey. This sample displayed light color; medium olfactory and aromatic intensity described as floral, which correspond to the description of *H. helix* honey by Persano Oddo *et al.* [5]. Seventeen *A. unedo* flower specimens were collected in full bloom in October and November 2009 from 8 Corsica localities. All these fresh flowers were analyzed within 48 h.

Melissopalynological analysis: Melissopalynological analysis was performed using the method described by Yang *et al.* [18]. Pollen identification was based on the comparison with reference pollen-slides available in our laboratory. Qualitative (total pollen spectrum) and quantitative (pollen density) analyses had been established for each sample. The identified taxa were expressed as relative frequency (RF) in the pollen spectrum while the pollen density was expressed as PG/10 g, which signified the absolute number of pollen grain in 10 g of honey. The melissopalynological expertise practice developed for the control of Corsican honey [19-20] has been applied to the geographical and botanical origin determination.

Physicochemical analysis: Two physicochemical parameter analyses were applied to the honey samples. Coloration was measured with a Lovibond Comparator apparatus according to Aubert and Gonnet [23], and expressed as mm Pfund. Electrical conductivity was performed with a conductivity meter micro CM2210 (CRISON, Spain) and expressed as milliSiemens per centimeter (mS/cm) [24].

Headspace – Solid phase microextraction (HS-SPME): The HS-SPME was carried out with a divinylbenzene / carboxen / polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, 30 μ m) fiber (Supelco Sigma Aldrich). The parameter optimization was performed with a honey sample and was based on the sum of total peak areas measured by a gas chromatography – flame ionization detection (GC – FID) system. The optimized parameters were: either 4 g of honey sample with 4 mL of water and 2 g of Na₂SO₄ or 3 g of flowers in a 20 mL vial at a temperature of 70°C, an equilibrium time of 90 min, and an extraction time of 45 min. For each analysis, the fiber was reconditioned for 5 min in the GC injection port at 280°C before sampling and consecutively inserted into the GC-FID and GC-MS injection ports for 5 min for desorption of volatile components after sampling. For each sample, analysis was performed in triplicate.

GC-FID and GC-MS analysis: Samples were injected in splitless injection mode (carrier gas: hydrogen 1 mL/min) with an SPME inlet liner (0.75 mm i.d.; Supelco). The injector temperatures were maintained at 280°C. Analysis of volatile fractions was carried out

using a PerkinElmer AutoSystem XL GC apparatus (Waltham, MA, USA) equipped with a FID system and a GC-MS apparatus PerkinElmer Clarus 500 gas chromatographic coupled to a Clarus 500 mass spectrometer. The two systems were equipped with a fused-silica Rtx-1 capillary column (30 m×0.25 mm, film thickness 1 µm). The oven temperature was programmed from 60 to 230°C at 2°C/min and then held isothermally at 230°C for 35 min. For GC-MS analysis, the temperature of the ion source was 150°C, and the ionization energy 70 eV. Electronic ionization (EI) mass spectra were acquired over the mass range of 35–350 Da (scan time 1 s).

Components identification was based on: i) comparison of their GC retention indices (RI) on a nonpolar column, determined relative to the retention time of a series of *n*-alkanes (C₅ – C₃₀; Restek, Lisses, France) with linear interpolation to the retention times of authentic compounds or data in the laboratory's library; ii) comparison of the

RI and spectra with commercial mass spectral libraries [25-27]. The relative concentrations of components were calculated from the GC peak areas without using correction factors.

Supplementary data: Table 1. Melissopalynological and physico-chemical characteristics of Corsican "autumn maquis" honeys. Details of the "autumn maquis" honey pollen spectrum, including relative frequency and biogeographical code of each taxon, pollen density and physico-chemical values (coloration and electrical conductivity) of each sample.

Acknowledgments - The authors are indebted to the Délégation Régionale à la Recherche et à la Technologie de Corse (DRRT), the Collectivité Territoriale de Corse (CTC) and European Community for partial financial support.

References

- [1] Jeanmonod D, Gamisans J. (2007) *Flora Corsica*. Edisud, Aix-en-Provence.
- [2] Pallauf K, Rivas-Gonzalo JC, del Castillo MD, Cano MP, de Pascual-Teresa S. (2008) Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**, 273-281.
- [3] Soufleros EH, Mygdalia SA, Natskoulis P. (2005) Production process and characterization of the traditional Greek fruit distillate "Koumaro" by aromatic and mineral composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, **18**, 699-716.
- [4] Persano Oddo L, Piana L, Bogdanov S, Bentabol A, Gotsiou P, Kerkvliet J, Martin P, Morlot M, Ortiz Valbuena A, Ruoff K, Von der Ohe K. (2004) Botanical species giving unifloral honey in Europe. *Apidologie*, **35**, S82-S93.
- [5] Persano Oddo L, Sabatini AG, Accorti M, Colombo R, Marcazzan GL, Piana L, Piazza MG, Pulcini P. (2000) *I mieli uniflorali Italiani- Nuove schede di caratterizzazione*. Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, Italy.
- [6] Cavazzoni L, Fantuzzi OG, Filippi OL, Lunati U, Naldi G, Panella F, Schipani P, Spreafico M, Todeschini G. (1994) *Valorizzazione dei mieli tipici e di alta qualità. Attestazione di specificità alimentare « Miele vergine integrale »*. Osservatorio Nazionale della Produzione e del Mercato del Miele.
- [7] Persano Oddo L, Piazza MG, Sabatini AG, Accorti M. (1995) Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*, **26**, 453-465.
- [8] Rosa A, Tuberoso CIG, Atzeri A, Melis MP, Bifulco E, Dessi MA. (2011) Antioxidant profile of strawberry tree honey and its marker homogentisic acid in several models of oxidative stress. *Food Chemistry*, **129**, 1045-1053.
- [9] Cabras P, Angioni A, Tuberoso C, Floris I, Reniero F, Cuillou C, Ghelli S. (1999) Homogentisic acid : a phenolic acid as a marker of strawberry-tree (*Arbutus unedo*) honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 4064-4067.
- [10] Tuberoso CIG, Bifulco E, Caboni P, Cottiglia F, Cabras P, Floris I. (2010) Floral markers of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 384-389.
- [11] Donarski JA, Jones SA, Harrison M, Driffield M, Charlton A. (2010) Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, **118**, 987-994.
- [12] Alissandrakis E, Kibaris AC, Tarantilis PA, Harizanis PC, Polissiou M. (2005) Flavour compounds of Greek cotton honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **85**, 1444-1452.
- [13] Bianchi F, Careri M, Musci M. (2005) Volatile norisoprenoids as markers of botanical origin of Sardinian strawberry-tree (*Arbutus unedo* L.) honey: Characterisation of aroma compounds by dynamic headspace extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, **89**, 527-532.
- [14] Dalla Serra A, Franco MA, Mattivi F, Ramponi M, Vacca V, Versini G. (1999). Aroma characterization of Sardinian strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey. *Italian Journal of Food Science*, **11**, 47-56.
- [15] De la Fuente E, Sanz ML, Martínez-Castro I, Sanz J, Ruiz-Matute AI. (2007) Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. *Food Chemistry*, **105**, 84-93.
- [16] Décret 2013-1057 (2013). Décret n°2013-1057 du 22 novembre 2013 relatif à l'appellation d'origine contrôlée « Miel de Corse – Mele di Corsica », NOR: AGRT1316797D. Available online : <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000028225091> (accessed on 02 May 2013).
- [17] Ricciardelli D'Albore G, Persano Oddo L. (1978) *Flora Apistica Italiana*. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Firenze.
- [18] Yang Y, Battesti MJ, Djabou N, Muselli A, Paolini J, Tomi P, Costa J. (2012) Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican "chestnut grove" honeys. *Food Chemistry*, **132**, 2144-2154.
- [19] Battesti MJ. (1990) *Contribution à la melissopalynologie méditerranéenne: les miels Corses*. PhD Thesis. University of Marseille St. Jérôme, Marseille.
- [20] Battesti MJ, Goeur C. (1992) Efficacité de l'analyse méliopalynologique quantitative pour la certification des origines géographique et botanique des miels: le modèle des miels corses. *Review of Palaeobotany and palynology*, **75**, 77-102.
- [21] Floris I, Palmieri N, Satta A. (2007) Caratteristiche melissopalynologiche dei mieli di Sardegna. In *I mieli regionali italiani – Caratterizzazione melissopalynologica*. Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali & C.R.A. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione di Apicoltura, Roma.
- [22] Gonnet M, Vache G. (1985) *Le goût du miel*. U.N.A.F, Paris.
- [23] Aubert S, Gonnet M. (1983) Mesure de la couleur des miels. *Apidologie*, **14**, 105-118.
- [24] Bogdanov S. (1997). Charakterisierung von Schweizer Sortenhonigen. *Agrarforschung*, **4**, 427-430.
- [25] Adams RP. (2009) *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (4th edition). Allured Business Media, USA.
- [26] König WA, Hochmuth DH, Joulain D. (2001) *Terpenoids and Related Constituents of Essential oils. Library of Mass Finder 2.1*. Institute of Organic Chemistry, Hamburg.
- [27] National Institute of Standards and Technology. *Spectral Database for Organic Compounds*. NIST WebBook available online: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (accessed on 01 May 2013)

Table 1 (Supplementary content) Melissopalynological and physico-chemical characteristics of Corsican "autumn maquis" honeys

Pollen spectrum				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
No ^a	Biogeographical code ^b	Type ^c	<u>Main taxa of autumn-winter honey flow period</u>	Relative Frequency (RF) [%] ^d															
T1	21	N,P	<i>Arbutus unedo</i>	11.6	6.4	3.3	7.5	5.9	13.6	19.6	16.0	12.1	13.2	7.3	8.6	32.4	11.3	25.2	
T2	65	N,P	<i>Hedera helix</i>	18.1	50.5	47.9	4.7	0.7	1.4	17.4	0.3	2.3	18.8	7.0	1.5	5.7	13.2	3.2	
T3	97	N,P	<i>Smilax aspera</i>	0.7		6.4	1.3	1.5	1.4	0.9	2.5	5.5	1.9	0.2	2.0	0.8	4.0	3.8	
T4	21-94	N,P	<i>Asteraceae</i> <i>Dittrichia</i> form			0.7	1.2	0.3	0.7	5.2	0.8	2.3	0.4		0.8	1.2	5.3	0.6	
T5		N,P	<i>Asteraceae</i> fenestrated form	0.4	0.3	0.8		2.5	0.7		5.1	0.8	1.1	0.5	0.2			0.6	
T6	21	N,P	<i>Rosmarinus officinalis</i>		0.2	0.3	0.3			0.4	0.3	6.6	0.4					0.7	
T7	31-51	N,P	<i>Odontites</i> sp.			0.2												2.0	
T8	21-25	N,P	<i>Asparagus</i> sp.				0.2	0.1							0.2				
T9		P	<i>Cupressaceae</i>				0.5		1.4					0.2		0.4	0.7		
<u>Taxa of spring honey flow</u>																			
T10	21	N,P	<i>Erica arborea</i>	0.4	1.5	2.3	0.7	4.6	1.0	0.4	4.3		4.5	0.7	0.3			0.6	
T11	31	N,P	<i>Echium</i> sp.					0.1						0.2		0.4			
T12	21-35-55-58	P	<i>Quercus</i> sp.	1.8	0.3	5.9	7.0	6.3	7.4	30.9	8.1	5.1	6.4	1.9	7.1	46.2	4.6	51.8	
T13	21-29	P	<i>Cistus</i> sp.			0.5	0.3	1.5	0.2			2.3		0.2	0.5		0.7		
T14	58	P	<i>Fraxinus ornus</i>		0.2				0.2		0.3				0.6	0.4		0.3	
<u>Taxa of summer honey flow</u>																			
T15	31-35	N,P	<i>Rubus</i> sp.	0.7	0.7	1.5	0.2	2.1	1.2	0.9	1.0	2.7	1.1	4.9	2.4	0.4		1.3	
T16	54	N,P	<i>Jasione montana</i>	1.1	0.2			1.5	0.2		0.5	0.4		1.2					
T17	28	N,P	<i>Anthyllis hermanniae</i>	0.4		1.1		0.7				0.4		0.2				0.7	
T18	99	P	<i>Eucalyptus</i> sp.	0.7			2.7	2.7	3.6	1.7	0.5	0.8		0.9	4.9	2.0	20.5	4.8	
T19	21	P	<i>Myrtus communis</i>				0.3	0.1	0.5	0.4	0.3	0.4		0.7	0.3		1.3	0.3	
T20	59		<i>Castanea sativa</i>	62.0	39.4	27.3	69.1	63.2	62.8	17.8	57.3	55.1	50.8	70.4	68.7	9.7	21.2	6.1	
Other nectariferous taxa				0.4	0.2	0.7	2.8	4.5	2.9	3.0	0.8	2.7	1.1	1.6	1.7	0.4	3.3	0.3	
Other only-polleniferous taxa				0.4		0.5	0.2	0.4			0.5	0.4	0.4					6.6	
Pollen density (10 ³ PG/10 g) ^e				29.2	62.1	101.4	65.6	71.4	106.8	24.9	41.6	38.1	35.9	46.0	146.5	26.1	28.0	55.7	
Physico-chemical data^f																			
Color				46.0	55.0	55.0	71.0	71.0	62.0	71.0	71.0	71.0	62.0	62.0	62.0	55.0	71.0	62.0	
Electrical conductivity				0.82	0.64	0.77	0.85	0.85	0.82	0.75	0.73	0.69	0.71	0.77	0.91	0.81	0.95	0.91	

Table 1 (Supplementary content) continued.

Pollen spectrum				16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
No ^a	Biogeographical code ^b	Type ^c	<u>Main taxa of autumn-winter honey flow period</u>															
T1	21	N,P	<i>Arbutus unedo</i>	12.6	6.7	6.8	12.0	0.7	8.6	1.4	16.9	5.4	36.8	40.1	11.0	5.2	10.4	6.2
T2	65	N,P	<i>Hedera helix</i>	5.1	3.3	11.6	34.4	11.7	28.8	35.5	8.1	1.4	5.3	5.6	9.3	4.7	24.9	18.1
T3	97	N,P	<i>Smilax aspera</i>	7.8	1.1	1.0	0.2			0.6	2.5	3.4	9.0	2.5	8.9	5.1	6.3	0.2
T4	21-94	N,P	<i>Asteraceae Dittrichia</i> form	0.6	0.1		0.2			0.7			0.8		1.1	0.2	1.4	0.2
T5		N,P	<i>Asteraceae</i> fenestrated form	5.4	1.3	1.4	0.2	0.3		0.9		0.2	1.5	2.0		0.2		
T6	21	N,P	<i>Rosmarinus officinalis</i>	0.3	0.1		0.2	0.1										
T7	31-51	N,P	<i>Odontites</i> sp.	0.6		2.4				0.1								
T8	21-25	N,P	<i>Asparagus</i> sp.															0.2
T9		P	<i>Cupressaceae</i>	0.9	0.1	0.3						1.0			5.3	0.4		
			<u>Taxa of spring honey flow</u>															
T10	21	N,P	<i>Erica arborea</i>		0.5	5.1	1.2	4.6	2.2	0.6	0.7	0.2		1.5	0.7	3.6		1.7
T11	31	N,P	<i>Echium</i> sp.								0.4	0.2				0.9	0.5	2.3
T12	21-35-55-58	P	<i>Quercus</i> sp.	41.4	6.2	7.2	0.7	3.2	0.4	3.7	2.1	0.3	6.8	1.0	7.8	1.0	20.8	4.2
T13	21-29	P	<i>Cistus</i> sp.		1.2	1.0				0.5		0.2	0.8	0.5	0.7	0.9		0.8
T14	58	P	<i>Fraxinus ornus</i>			0.7		0.2	0.4	0.1		0.2	1.5		0.4	0.7	0.5	
			<u>Taxa of summer honey flow</u>															
T15	31-35	N,P	<i>Rubus</i> sp.	3.3	1.8		1.7	1.3	1.8	1.4	3.2	15.8	7.5	4.6	3.2	5.3	3.6	4.8
T16	54	N,P	<i>Jasione montana</i>		0.1		0.2							0.5				0.2
T17	28	N,P	<i>Anthyllis hermanniae</i>		0.4	1.0		0.1			2.8							
T18	99	P	<i>Eucalyptus</i> sp.	3.9	0.4					0.7		0.3	1.5	2.5	0.7	2.7	1.4	0.2
T19	21	P	<i>Myrtus communis</i>		0.3					0.7	0.4					2.1	0.9	0.9
T20	59		<i>Castanea sativa</i>	17.1	73.9	58.2	48.4	75.7	56.5	51.7	60.6	70.5	24.1	35.5	48.0	63.5	27.6	59.0
			Other nectariferous taxa	0.3	1.8	2.1	0.2	2.1	1.2	0.5	1.4	0.3	1.5	1.0	1.4	2.2	0.9	0.6
			Other only-polleniferous taxa		0.1	1.0					0.4			1.5		0.4		
			Pollen density (10 ³ PG/10 g) ^e	41.6	102.1	96.0	77.0	29.1	49.1	271.3	36.0	60.9	20.6	28.3	30.5	99.3	23.6	96.8
			Physico-chemical data^f															
			Color	62.0	71.0	62.0	71.0	83.0	62.0	71.0	71.0	71.0	71.0	62.0	83.0	71.0	62.0	71.0
			Electrical conductivity	0.91	1.01	0.73	0.81	0.86	0.71	0.85	0.77	0.95	0.86	0.82	0.92	0.87	0.87	0.95

Table 1 (*Supplementary content*) continued.

Other determined taxa : *Lavandula stoechas*, *Salix* sp., *Pyrus/Malus* forme, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae* others, *Liliaceae* others, *Plantago* sp., *Genista* sp., *Lotus* sp., *Apiaceae* others, *Asteraceae* *Carduus/Galactites* form, *Stachys glutinosa*, *Teucrium* sp., *Asteraceae* *Tyrimnus* form, *Crataegus monogyna*, *Prunus* sp., *Acacia dealbata*, *Chamaerops humilis*, *Citrus* sp., *Lamiaceae* others, *Asteraceae* others, *Asteraceae* *Helichrysum* form, *Daphne gnidium*, *Oleaceae* others, *Pistacia lentiscus*, *Scrophulariaceae* others, *Campanula* sp., *Clematis* sp., *Cytisus/Calicotome* form, *Fabaceae* others, *Ilex aquifolium*, *Ranunculaceae* autres, *Rosaceae* others, *Silene gallica*, *Thymus herba-barona*, *Tilia* sp., *Viburnum tinus*, *Alnus* sp., *Corylus avellana*, *Cytinus hypocistis*, *Olea* sp., *Ostrya carpinifolia*, *Poaceae*

^a Order of taxa were classified according to the flowering period

^b Biogeographical Code, according to Gamisans (1985)

2- Steno-Mediterranean: 21 Wider stenomedit., 25 Western stenomedit., 28 North west stenomedit. 29 Western macaronesian

3- Eury-Mediterranean: 31 Wider euryedit., 35 Western euryedit.

5- Eurasian: 51 Wider eurAsian, 54 European-caucasian, 55 European, 58 South east european, 59 Southern european

6-Atlantic: 65 Atlantic mediterranean

94- sub-Cosmopolitan; 97 - Subtropical; 99- Cultivated plants; nd: not defined

^c N: Nectariferous taxa; P: Only-polleniferous taxa

^d **Relative frequency (RF): b Relative frequency (RF):** the respective percentage of taxa with respect to the total number of pollen grains counted in a honey sample

^e **Pollen density expressed as the absolute number of pollen grains in 10 g of honey (10³ PG/10 g)**

^f **Unity of parameters: colour (mm Pfund); electrical conductivity (mS/cm)**

Miels de « printemps »

Les miels de la gamme « printemps » se déclinent en deux sous-groupes principaux :

- s'agissant des miels récoltés sur les zones cultivées dont les principales ressources nectarifères sont les clémentiniers (*Citrus reticulata* : type « sous-représenté »), l'analyse pollinique a également permis de mettre en évidence la présence de pollen d'*Echium* sp. (vipérine) et de *Prunus* sp. (fruitiers) dans ces échantillons. Toutefois, la présence des isomères du lilac aldéhyde et du *p*-menthène-9-al - décrits précédemment comme marqueurs des miels d'agrumes - nous permet de confirmer les apports nectarifères des *Citrus* et de négliger ceux d'*Echium* sp. et *Trifolium* sp. (rôle uniquement pollinifère).
- les miels issus des zones rudérales dominées par des herbacées, notamment l'asphodèle (*Asphodelus* sp.), montrent des proportions élevées en phénylacétaldéhyde et en syringate de méthyle. Ces molécules sont décrites dans la littérature comme des marqueurs des miels monofloraux d'asphodèle. La variabilité de la composition volatile observée dans ces échantillons est probablement liée aux associations végétales complexes entre *Asphodelus* sp. et de nombreuses autres espèces nectarifères et/ou pollenifères comme *Lotus* sp., *Apiaceae* et *Salix* sp.

Pour conclure, l'analyse des fractions volatiles des miels de « printemps » peut être utilisée comme méthode pour spécifier l'origine botanique prédominante des productions, notamment les apports nectarifères des espèces à pollen de type "sous-représenté" comme *Citrus* sp. ou *Asphodelus* sp.

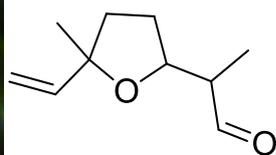
Characterization of botanical and geographical origin of Corsican "spring" honeys by melissopalynological and volatile analysis

Y. Yang, M.J. Battesti, J. Costa, J. Paolini

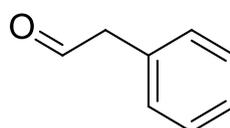
Foods, 2014, 3 : 128-148



Citrus sp.



Isomères de lilac aldéhyde



Phénylacétaldéhyde



Asphodelus ramosus

Article

Characterization of Botanical and Geographical Origin of Corsican “Spring” Honeys by Melissopalynological and Volatile Analysis

Yin Yang, Marie-José Battesti, Jean Costa and Julien Paolini *

Laboratory of Natural Product Chemistry, UMR CNRS 6134, Grimaldi Campus, Corsican University, BP 52, Corte 20250, France; E-Mails: yang@univ-corse.fr (Y.Y.); mjbattesti@univ-corse.fr (M.-J.B.); costa@univ-corse.fr (J.C.)

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: paolini@univ-corse.fr; Tel.: +33-495-450-187; Fax: +33-495-450-257.

Received: 30 September 2013; in revised form: 17 December 2013 / Accepted: 13 January 2014 / Published: 27 January 2014

Abstract: Pollen spectrum, physicochemical parameters and volatile fraction of Corsican “spring” honeys were investigated with the aim of developing a multidisciplinary method for the qualification of honeys in which nectar resources are under-represented in the pollen spectrum. Forty-one Corsican “spring” honeys were certified by melissopalynological analysis using directory and biogeographical origin of 50 representative taxa. Two groups of honeys were distinguished according to the botanical origin of samples: “clementine” honeys characterized by the association of cultivated species from oriental plain and other “spring” honeys dominated by wild herbaceous taxa from the ruderal and/or maquis area. The main compounds of the “spring” honey volatile fraction were phenylacetaldehyde, benzaldehyde and methyl-benzene. The volatile composition of “clementine” honeys was also characterized by three lilac aldehyde isomers. Statistical analysis of melissopalynological, physicochemical and volatile data showed that the presence of *Citrus* pollen in “clementine” honeys was positively correlated with the amount of linalool derivatives and methyl anthranilate. Otherwise, the other “spring” honeys were characterized by complex nectariferous species associations and the content of phenylacetaldehyde and methyl syringate.

Keywords: honey; clementine and asphodel; melissopalynological analysis; HS-SPME; GC

1. Introduction

The specificity of Corsican honeys is linked with the environmental characteristics of the island (biodiversity of flora, bioclimatic conditions and topography), the endemic black honeybee and typical hive management. Organoleptic and melissopalynological analysis have permitted Corsican honeys to be classified into six ranges: “spring”, “spring maquis”, “honeydew maquis”, “chestnut grove”, “summer maquis” and “autumn maquis”, according to the harvest season and the geographic location of the apiaries [1]. These honeys have been certified by two official designations of origin: the national Appellation d’Origine Contrôlée (AOC) and the European Protected Designation of Origin (PDO), both marketed as “Miel de Corse-Mele di Corsica” [2,3].

The organoleptic properties of the “spring” honey range are a light color (the lightest among the six ranges) associated with low-to-medium olfactory and aromatic intensities, sometimes with a slight acidity [1–3]. These honeys are described in terms such as floral, fresh fruit, or dry vegetal according to the vocabulary of odor and the aroma wheel [4]. Moreover, the physicochemical characteristics of “spring” honeys are low values of coloration and electrical conductivity. Finally, these honeys are harvested from April to May at low altitudes (below 400 m) on the coast, plains or valleys [1–3].

The Corsican “spring” honeys can be classified into two categories. First, honeys harvested in the oriental plain of the island. These cultivated zones are dominated by clementine orchards (*Citrus sinensis* × *reticulata*) associated with other *Citrus* species, *Actinidia sinensis* and various fruit trees. They are always surrounded by maquis; an evergreen scrub of vegetation from Mediterranean area. Second, honeys collected in ruderal and/or littoral maquis areas for their first flowering. Ruderal zones are characterized by herbaceous plants, especially *Asphodelus ramosus* subsp. *ramosus* (syn: *A. microcarpus* Salz et Viv.) associated with various species of *Fabaceae*, *Boraginaceae*, wild *Brassicaceae*, *Apiaceae* and *Asteraceae*. The coastal areas also showed a diversity of nectariferous and polleniferous resources [5].

Unifloral honeys from the *Citrus* genus, produced principally from oranges or lemons, are often found in the Mediterranean region (Italy, Spain, Greece, France and North Africa), but also in Israel, USA, Brazil and Mexico [6,7]. The nectar of *Asphodelus* species is frequently found in the composition of honeys from Mediterranean regions (Italy, Sicily, Corsica and Sardinia), but asphodel unifloral honey is produced mainly in Sardinia [8,9]. In Corsica, the *Asphodelus* genus is represented by three species: *A. ramosus* subsp. *ramosus*, *A. cerasiferus* and *A. fistulosus* [10]. *A. ramosus* subsp. *ramosus*, which flowers from March to May, was the more visited species.

The certification of geographical and botanical origins of Corsican honeys is conventionally based on the melissopalynological analysis of the entire pollen spectrum [5,11]. Furthermore, sensory characteristics and physicochemical parameters are also necessary to specify the botanical origin of honey [5,11,12]. However, this traditional approach is not precise enough to determine the predominant botanical origin exactly, especially when nectar resources are under-represented in the pollen spectrum. For this reason, the chemical composition of honeys has been used to complete the classical approaches of botanical origin determination. Thus, various extraction methods, such as headspace solid-phase microextraction (HS-SPME), simultaneous steam distillation-solvent extraction and ultrasound-assisted extraction associated with gas chromatography (GC) have been developed for the analysis of the volatile fraction of honeys [13]. Some volatile components, including methyl

anthranilate, lilac aldehyde and *p*-menth-1-en-9-al, were therefore suggested as the chemical markers of citrus (species not specified) unifloral honey [13–15]. Moreover, Alissandrakis *et al.* [16] showed that the volatile fractions of citrus flowers (four species) and the corresponding honeys were dominated by linalool derivatives. The phenolic compound hesperetin was also proposed as a botanical indicator of Spanish citrus honeys for its high levels in nectar and honey [17]. Methyl syringate and/or phenylacetaldehyde were identified as characteristic components of nectar from *A. microcarpus* Salz et Viv. and corresponding unifloral honeys [18,19].

Several techniques (HS-SPME, infrared spectroscopy and ¹H-nuclear magnetic resonance spectroscopy) have been used to distinguish Corsican and non-Corsican honeys, but these studies did not provide results for the differentiation of the botanical origin of different ranges of Corsican honey [20–22].

According to the geographical and botanical origins of Corsican “spring” honeys certified by melissopalynological analysis, the chemical composition of volatile fractions of honey samples was established using HS-SPME, GC and GC/mass spectrometry (MS). The aim of the study is to establish for the first time a multidisciplinary method for the qualification of Corsican “spring” honeys, based on relationships between the pollen spectrum, volatile chemical markers and some physicochemical parameters.

2. Experimental Section

2.1. Honey and Flower Sampling

In total, 41 Corsican “spring” honeys (samples 1–41) were selected from our reference bank of honey with AOC and PDO appellations. All these samples were directly packaged in a sealed pot and stored below 14 °C according to the optimal conditions of honey conservation indicated by Gonnet *et al.* [23]. The honey samples of three years of harvest (2004–2006) collected in April to June were provided from 12 Corsican producers. The apiaries were located from littoral to 400 m (principally under 100 m) in the oriental cultivated plain or in ruderal and/or maquis zone of thermo- and meso-Mediterranean levels. Clementine (*Citrus sinensis* × *reticulata*, six samples) and Asphodel (*Asphodelus ramosus* subsp. *ramosus*, six sample locations) flower specimens were collected in March–May 2009–2012. The nectar secretion during harvest period was ensured by the observation of foraging nectar by honeybees. Flowers samples were analyzed within 48 h.

2.2. Melissopalynological Analysis

In this study, melissopalynological analysis was performed using the method described by Yang *et al.* [24]. Identification of pollen in the “spring” honey was based on the comparison with laboratory’s own reference pollen-slides library and also carried out with the palynological expertise practice [5,11] developed for the characterization and the AOC and PDO control of Corsican honeys. Pollen analysis was allowed to establish a total pollen spectrum (qualitative analysis) and pollen density (quantitative analysis) for each honey sample. The identified taxa in the pollen spectrum were expressed in term of relative frequency (RF) and the pollen density was expressed as the absolute number of pollen grain in 10 g of honey (PG/10 g).

2.3. Physicochemical Analysis

According to the description of Corsican honeys [1,5], two physicochemical parameters, coloration and electrical conductivity were chosen to complete the botanical origin characterization of Corsican “spring” honey. The honey coloration was measured using a Lovibond Comparator apparatus [25]. Results were expressed as millimeters (mm) Pfund. Electrical conductivity was measured at 20 °C with a conductivity meter micro CM2210 (CRISON, Spain) following the method described by Bogdanov [26] and expressed as milliSiemens per centimeter (mS/cm).

2.4. HS-SPME Extraction

Volatile fractions of honey and flower samples were extracted by HS-SPME with a divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, 30 µm) fiber (Supelco Sigma Aldrich). The optimization of HS-SPME parameters was performed using two honey samples (9 and 24) and two flower samples (clementine and asphodel flowers). These samples and subsequent analyses (all honey and flower samples studies) were performed in triplicate to ensure that the coefficient of variation (CV: ratio of standard deviation to the mean) of the major compounds and the sum of the total peak areas were always <15%. The samples analyzed were placed in a 20 mL vial. The parameter optimization was based on the sum of the total peak areas measured using a gas chromatography-flame ionization detection (GC-FID) system. For each sample (both honeys and flowers): the temperatures (25 °C, 50 °C and 70 °C), the equilibration times (30, 60 and 90 min) and the extraction times (15, 30 and 45 min) were tested in various experiments. The honey concentration in distilled water was optimized after six different experiments (0.5 g/mL, 1 g/mL, 1.5 g/mL and 2 g/mL) with Na₂SO₄ addition (1 g and 2 g). The maximum sum of the total peak areas was obtained from 4 g of honey sample with 4 mL of water and 2 g of Na₂SO₄ at a temperature of 70 °C, an equilibrium time of 90 min, and an extraction time of 30 min. The flower weight was optimized after three different experiments (1 g, 3 g and 5 g). For the Asphodel flowers, the maximum sum of the total peak areas was obtained from 3 g of sample at a temperature of 70 °C, an equilibrium time of 90 min, and an extraction time of 30 min. Otherwise, the best sampling conditions of Clementine flowers were 1 g of sample at room temperature (25 °C) with an extraction time of 15 min. Before sampling, the fiber was reconditioned for 5 min in the GC injection port at 280 °C. After sampling, the SPME fiber was consecutively inserted into the GC-FID and GC-MS injection ports for 5 min for desorption of volatile components, both techniques using the splitless injection mode.

2.5. GC-FID and GC-MS Analysis

GC-FID analyses were performed using a PerkinElmer (Waltham, MA, USA) AutoSystem XL GC apparatus equipped with a FID system and a fused-silica capillary column (30 m × 0.25 mm, film thickness 1 µm) coated with Rtx-1 (PDMS). The oven temperature was programmed from 60 to 230 °C at 2 °C/min and then held isothermally at 230 °C for 35 min. The injector and detector temperatures were maintained at 280 °C. The samples were injected with an SPME inlet liner (0.75 mm i.d.; Supelco) using hydrogen as the carrier gas (1 mL/min). The retention indices of the compounds were determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes (C₅–C₃₀) with linear

interpolation. The relative concentrations of components were calculated from the GC peak areas without using correction factors. Samples were also analyzed with a PerkinElmer TurboMass detector (quadrupole), coupled to a GC PerkinElmer AutoSystem XL, equipped with a fused-silica Rtx-1 capillary column. The ion source temperature was 150 °C, and the ionization energy was 70 eV. Electronic ionisation (EI) mass spectra were acquired over the mass range of 35–350 Da (scan time 1 s). Other GC conditions were the same as described for the GC-FID analysis. Identification of the components was based on: (1) the comparison of their GC retention indices (RI) on a nonpolar column, determined relative to the retention time of a series of *n*-alkanes with linear interpolation to the retention times of authentic compounds or data with the laboratory's library; (2) the comparison of the RI and spectra with commercial mass spectra libraries [27,28].

2.6. Statistical Analysis

The statistical analysis of melissopalynological data was carrying out the methodology previously described by Battesti *et al.* [11]. In the case of “spring” honey, the inclusion of *Citrus* and *Asphodelus* pollen during the nectar foraging is low or very low because of pollen maturity or floral morphology. The “under-representation” of these pollen types and entire pollen spectrum were taken into account for the characterization and comparison of pollen spectrum from “spring” honeys. Principal component analysis (PCA) was carried out using the “PCA” function and canonical correspondence analysis (CCA) was performed with “CCA” function from R software (R Foundation—Institute for Statistics and Mathematics, Austria). CCA is a multidimensional exploratory statistical method in order to demonstrate the correlation between two sets of variables obtained from the same individual.

3. Results and Discussion

3.1. Determination of Geographical and Botanical Origins of Corsican “Spring” Honeys

The analysis of 41 Corsican “spring” honeys allowed the determination of 92 taxa, including 64 nectariferous taxa and 28 only-polleniferous taxa (Table 1). A biogeographical analysis (biogeographical code: BC [5]) showed the diversity of biogeographical origins of these taxa. Mediterranean species (28 taxa, BC 1–3) associated with Eurasian and Atlantic species (13 taxa, BC 5–6) were well represented in the pollen spectrum. Additionally, cultivated species (four taxa, BC 99) were reported in more than 40% of honey samples. This distribution was consistent with the database of the characterization of the Corsican honey taxa directory [5,11].

To define the most representative taxa of Corsican “spring” honey, the presence ratio (PR) and the relative frequency (RF) distributions (mean, minimum, maximum, standard deviation and coefficient variation) of each taxon were reported. The pollen directory showed that 50 taxa (**T1–T50**) could be considered as regionally characteristic species of Corsican “spring” honey for their significant PR (>10%) and/or RF_{max} (>3%). This distribution of taxa was characterized by a wide diversity of nectariferous taxa in variable proportions associated with several only-polleniferous species. Among these taxa, two main only-polleniferous taxa, *Quercus* sp. **T1** (*Qeurchus* sp. (deciduous), *Q. ilex* and *Q. suber*) and *Cistus* sp. **T2** (*C. creticus*, *C. monspeliensis* and *C. salviifolius*), were present in all the samples analyzed, followed by *Castanea sativa* **T3** and *Fraxinus ornus* **T4** (PR > 90%). Additionally,

we did not find a common predominant nectariferous taxon, unlike two previous studies [24,29]: “chestnut grove” honey predominated by *C. sativa* with PR = 100%, FR_{max} > 80% and FR_{mean} = 92.99% and “spring maquis” honey predominated by the “normal” pollen type of *Erica arborea* with PR = 100%, FR_{max} > 45% and FR_{mean} = 47.7%. Quite the contrary, this directly demonstrates a diversity of nectariferous taxa with various pollen representation types: for example, “over-represented” (T7 and T13), “normal” (T5, T6, T8, T9 and T14) and “under-represented” (T17, T18 and T22) pollen types [5].

Table 1. Statistical analysis and biogeographical characteristics of Corsican “spring” honeys’ taxa.*

No ^a	Type ^b	Taxa	PR ^c	Relative frequency (RF) ^d					BC ^g
				Mean	Min.	Max.	SD ^e	CV ^f	
T1	P	<i>Quercus</i> sp.	100	13.2	0.8	35.7	9.7	73.8	21-35-55-58
T2	P	<i>Cistus</i> sp.	100	8.5	0.3	33.3	6.3	74.4	21-29
T3	P	<i>Castanea sativa</i> ^h	90	10.3	0.3	33.8	8.7	84.2	59
T4	P	<i>Fraxinus ornus</i>	90	3.3	0.3	22.3	5.0	153.2	58
T5	N, P	<i>Erica arborea</i>	85	7.8	0.2	35.5	8.7	112.3	21
T6	N, P	<i>Genista</i> form ⁱ	83	6.0	0.3	31.5	8.0	134.8	14-21-29-51-62
T7	N, P	<i>Lotus</i> sp.	76	5.3	0.3	52.8	9.5	178.3	21-51
T8	N, P	<i>Salix</i> sp.	73	6.3	0.2	29.9	7.4	117.1	51-52
T9	N, P	<i>Trifolium</i> sp.	71	14.2	0.4	53.5	16.8	117.9	21-31-51
T10	N, P	<i>Rubus</i> sp.	71	3.6	0.4	11.7	3.4	94.6	31-35
T11	N, P	<i>Prunus</i> form ^j	66	3.0	0.2	24.1	4.7	155.6	99-54
T12	P	<i>Eucalyptus</i> sp.	63	2.1	0.3	15.5	3.1	148.4	99
T13	N, P	<i>Echium</i> sp.	59	10.5	0.6	71.1	15.6	148.2	31
T14	N, P	<i>Apiaceae</i>	59	4.0	0.2	17.5	4.4	109.6	nd
T15	P	<i>Actinidia sinensis</i>	49	4.2	0.3	16.1	4.5	107.7	99
T16	N, P	<i>Brassicaceae</i> others	49	2.8	0.3	14.7	3.3	118.6	nd
T17	N, P	<i>Lavandula stoechas</i>	49	1.8	0.4	10.1	2.2	124.1	21
T18	N, P	<i>Citrus</i> sp.	44	6.1	0.2	16.1	5.2	86.6	99
T19	N, P	<i>Vicia</i> form	44	3.0	0.3	11.8	3.2	107.1	nd
T20	P	<i>Pistacia lentiscus</i>	44	3.0	0.5	9.3	2.6	88.0	29
T21	N, P	<i>Asteraceae Galactites</i> form	44	1.9	0.2	5.2	1.7	93.6	21
T22	N, P	<i>Asphodelus ramosus</i> subsp. <i>ramosus</i>	44	0.7	0.2	2.9	0.7	96.5	21
T23	P	<i>Scrophulariaceae</i> others	39	0.9	0.3	4.5	1.0	114.4	nd
T24	P	<i>Phillyrea</i> sp.	37	3.0	0.3	13.3	3.8	125.5	25
T25	P	<i>Olea</i> sp.	37	1.0	0.4	3.6	0.8	74.3	21
T26	N, P	<i>Viburnum tinus</i>	34	1.9	0.3	16.2	4.2	225.9	21
T27	N, P	<i>Asteraceae</i> (fenestrated type)	29	1.1	0.3	3.2	1.0	94.0	21-94
T28	N, P	<i>Rosa</i> sp.	27	1.2	0.3	4.5	1.3	108.1	31-51
T29	P	<i>Myrtus communis</i>	24	0.9	0.3	1.6	0.5	52.0	21
T30	N, P	<i>Fabaceae</i> others/ <i>Dorycnopis</i> form	24	0.6	0.3	1.4	0.3	54.5	nd
T31	P	<i>Plantago</i> sp.	24	0.5	0.3	0.9	0.2	33.8	nd
T32	N, P	<i>Asteraceae Achillea</i> form	22	0.8	0.2	2.6	0.7	94.0	21-94
T33	P	<i>Poaceae</i>	22	0.6	0.2	1.2	0.3	54.0	nd
T34	N, P	<i>Crataegus monogyna</i>	20	2.1	0.3	7.9	2.7	130.8	51

Table 1. Cont.

No ^a	Type ^b	Taxa	PR ^c	Relative frequency (RF) ^d					BC ^g
				Mean	Min.	Max.	SD ^e	CV ^f	
T35	N, P	<i>Jasione montana</i>	17	2.0	0.3	10.0	3.5	176.0	54
T36	N, P	<i>Rosaceae</i> others	17	1.2	0.3	3.0	1.0	85.6	nd
T37	N, P	<i>Asteraceae</i> <i>Dittrichia</i> form	17	1.0	0.2	1.9	0.8	74.4	21-94
T38	N, P	<i>Rhamnus</i> sp.	15	1.0	0.3	3.3	1.1	117.6	21
T39	N, P	<i>Psoralea bituminosa</i>	15	0.7	0.3	1.6	0.5	75.6	31
T40	N, P	<i>Knautia</i> sp.	15	0.5	0.3	0.9	0.3	52.8	31
T41	N, P	<i>Lupinus angustifolius</i>	12	4.8	0.3	18.9	8.0	166.1	21
T42	P	<i>Cytinus hypocistis</i>	12	0.9	0.4	1.8	0.7	77.6	29
T43	N, P	<i>Hedera helix</i>	12	0.8	0.3	1.3	0.4	46.1	65
T44	N, P	<i>Liliaceae</i> others	12	0.4	0.3	0.6	0.2	45.8	nd
T45	N, P	<i>Allium</i> sp.	12	0.4	0.3	0.6	0.2	42.9	21-25
T46	N, P	<i>Acacia dealbata</i>	12	0.4	0.3	0.4	0	13.3	99
T47	P	<i>Alnus</i> sp.	7	2.3	0.3	6.1	3.3	146.5	51
T48	N, P	<i>Dorycnium</i> sp.	10	1.5	0.3	3.2	1.2	83.3	35
T49	N, P	<i>Rosmarinus officinalis</i>	10	1.7	0.4	3.0	1.3	77.9	21
T50	P	<i>Vitis vinifera</i>	7	1.5	0.4	3.0	1.3	89.4	99

^a Order of taxa were classified by decreasing presence ratio (PR). ^b Type of taxa: P, polleniferous taxa; N, nectariferous taxa [5]. ^c PR: presence ratio, number of honey samples presented/41 samples, expressed as %. ^d Mean, Min., Max. values expressed as relative frequency RF (number of specify pollen counted/total pollen counted). ^e SD: standard deviation. ^f CV: coefficient variation. ^g Biogeographical Code, according to Battesti [5]: 1—*Endemic*: 14 Mediterranean-montane origin; 2—*Steno-Mediterranean*: 21 Wider stenomedit., 25 Western stenomedit., 29 Western macaronesian stenomedit.; 3—*Eury-Mediterranean*: 31 Wider eurymedit., 35 Western eurymedit.; 5—*Eurasian*: 51 Wider eurasian, 52 Eurasian, 54 European-caucasian, 55 European, 58 South east european, 59 Southern European; 6—*Atlantic*: 62 Subatlantic, 65 Atlantic Mediterranean; 94 sub-Cosmopolitan; 99 Cultivated plants; nd: not defined. ^h *Castanea sativa*, taxa of “over-represented” type, could be considered as only-polleniferous taxon according to its RF (<40%) and lower pollen density taking into account its over-represented pollen type [6,24]. ⁱ *Genista* form contained essentially *Genista corsica*, and also *Cytisus villosus*, *Calicotome spinosa* and *Calicotome villosa*. ^j *Prunus* form contained *Prunus* sp. and other fruit tree. * Forty two other determined taxa (PR < 10%): *Populus* sp., *Boraginaceae* others, *Rumex* sp., *Ostrya carpinifolia*, *Ilex aquifolium*, *Platanus* sp., *Silene gallica*, *Stachys glutinosa*, *Anthyllis hermanniae*, *Papaver* sp., *Urticaceae*, *Reseda* sp., *Aesculus hippocastanum*, *Carpobrotus* sp., *Cercis siliquastrum*, *Potentilla* form, *Ranunculaceae*, *Corylus avellana*, *Asteraceae Helichrysum* form, *Arbutus unedo*, *Erica* others, *Cupressaceae*, *Sambucus ebulus*, *Anemone hortensis*, *Smilax aspera*, *Cynoglossum creticum* form, *Amaryllidaceae*, *Cyperaceae*, *Helleborus lividus* subsp. *corsicus*, *Mercurialis annua*, *Robinia pseudoacacia*, *Clematis* sp., *Chenopodiaceae*, *Caryophyllaceae* others, *Borago officinalis*, *Centaurea* sp., *Verbascum* sp., *Teucrium* sp., *Centaureum erythrae*, *Veronica* sp., *Asteraceae* others, *Buxus sempervirens* (according to decreasing PR).

According to these considerations, two groups of honeys could therefore be distinguished, based not by their FR distributions, but by characteristic associations of taxa (Table 2, Table S1-supplementary materials). The first group included 18 samples (group I: 1–18) and was characterized by the association of cultivated taxa: *Citrus* sp. **T18** and *A. sinensis* **T15** (PR 100% in 18 samples) followed by *Prunus* form **T11** and *Olea* sp. **T25**. *Citrus* sp. contained essentially *C. sinensis* × *reticulata*, which possessed an under-represented pollen type, principally due to nectar secretion of *Citrus* sp. flowers, often before the maturity of stamens. *Citrus* pollen varied between 0.2% and 16.1%, with an average

of 6.1%. The second group (group II: 23 samples, 19–41) was characterized by the absence of a *Citrus* sp./*A. sinensis* association and the significant presence of *A. ramosus* **T22** associated with *Pistacia lentiscus* **T20**, *Phillyrea* sp. **T24**, *Apiaceae* **T14** and *Brassicaceae* **T16**. *A. ramosus* displayed an extreme “under-represented” pollen type due to the flower form (nectar protected by a large base of long stamens that prevented contact with pollen during bee foraging) and the large pollen size. *Asphodelus* pollen was present in two samples of group I (0.5%–1.3%) and 16 samples of group II (0.2%–2.9%).

In the case of honey with the “under-represented” pollen type, the contribution of other nectariferous species could not be discounted. It had to note that some honeys samples possessed dominant nectariferous taxa (RF > 45%): *Trifolium* sp. **T9** for sample 2 and 3, *Echium* sp. **T13** for sample 4 and *Lotus* sp. **T7** for sample 38. The nectar contribution of these taxa could not be neglected. Otherwise, several taxa might take part in the honey composition for their high RF in the pollen spectrum: *Trifolium* sp. **T9** and *E. arborea* **T5** were characteristic for both groups (RF_{max} 53.5% and 35.5% for group I and 44.1% and 29.9% for group II, respectively); *Echium* sp. **T13**, *Prunus* form **T11** and *Viburnum tinus* **T26** possessed a higher RF_{max} in group I (71.1%, 24.1% and 16.2%, respectively) than in group II (30.1%, 3.3% and 3.7%, respectively), while *Lotus* sp. **T7**, *Genista* form **T6**, *Salix* sp. **T8**, *Lupinus angustifolius* **T41** and *Apiaceae* **T14** were higher in group II (FR_{max}: 52.8%, 31.5%, 29.9%, 18.9% and 17.5%, respectively) than in group I (FR_{max}: 8.7%, 11.8%, 12.9%, 3.5% and 4.5%, respectively).

A quantitative analysis showed that 32 samples possessed a pollen density between 20 and 100×10^3 PG/10 g, eight samples were between 100 and 300×10^3 PG/10 g and one sample (23) could be distinguished by high pollen density (600×10^3 PG/10 g). Compared with the previous studies of Corsican “chestnut grove” and “*Erica arborea* spring maquis” honey (636.6×10^3 PG/10 g and 177×10^3 PG/10 g, respectively), the “spring” honey displayed a lower pollen density (90×10^3 PG/10 g) [24,29]. Excluding sample 23, the average pollen density of “clementine” honeys (68×10^3 PG/10 g) was slightly lower than that of other Corsican “spring” honeys (84×10^3 PG/10 g) (Table 2). The decreasing pollen richness was in accordance with the pollen representation type in the spectrum of the predominant nectariferous taxa: “over-represented” (*C. sativa*), “normal” (*E. arborea*) and “under-represented” (*Citrus* sp.) types.

Table 2. Melissopalynological and physico-chemical characteristics of Corsican “clementine” honeys and other “spring” honeys.

Melissopalynological Data			Group I—“Clementine” Honeys						Group II—Other “Spring” Honeys					
			18 Samples (1–18)						23 Samples (19–41)					
No. ^a	Type ^b	Taxa	RF ^c						RF ^c					
			PR	Mean	Min.	Max.	SD	CV	PR	Mean	Min.	Max.	SD	CV
Main nectariferous taxa														
T18	N, P	<i>Citrus</i> sp.	100	6.1	0.2	16.1	5.2	86.6	-	-	-	-	-	-
T5	N, P	<i>Erica arborea</i>	89	7.5	0.3	35.5	10.2	135.4	83	8.0	0.2	29.7	7.6	94.9
T8	N, P	<i>Salix</i> sp.	78	5.8	0.6	12.9	4.5	77.7	70	6.7	0.2	29.9	9.3	139.4
T11	N, P	<i>Prunus</i> form	78	4.8	0.2	24.1	6.1	128.4	57	1.2	0.3	3.3	0.9	75.5
T7	N, P	<i>Lotus</i> sp.	72	2.7	0.4	8.7	2.5	91.9	78	7.2	0.3	52.8	12.1	167.5
T10	N, P	<i>Rubus</i> sp.	67	2.3	0.4	6.5	1.8	77.9	74	4.5	0.4	11.7	4.0	88.4
T9	N, P	<i>Trifolium</i> sp.	67	12.9	0.5	53.5	19.4	150.7	74	15.2	0.4	44.1	15.2	100.2
T6	N, P	<i>Genista</i> form	67	3.1	0.3	11.8	3.4	107.1	96	7.5	0.6	31.5	9.4	125.3
T13	N, P	<i>Echium</i> sp.	44	19.3	1.3	71.1	23.3	121.0	70	6.1	0.6	30.1	7.5	123.2
T26	N, P	<i>Viburnum tinus</i>	22	4.5	0.3	16.2	7.8	174.5	43	0.8	0.3	3.7	1.1	127.7
T14	N, P	<i>Apiaceae</i>	28	2.2	0.2	4.5	2.0	88.8	83	4.5	0.3	17.5	4.8	106.0
T22	N, P	<i>Asphodelus ramosus</i> subsp. <i>ramosus</i>	11	0.9	0.5	1.3	0.5	57.3	70	0.7	0.2	2.9	0.7	104.1
T16	N, P	<i>Brassicaceae</i> others	33	1.2	0.3	2.7	1.0	77.9	61	3.5	0.4	14.7	3.8	108.2
T17	N, P	<i>Lavandula stoechas</i>	39	1.7	0.5	4.4	1.4	81.9	57	1.8	0.4	10.1	2.6	142.4
T19	N, P	<i>Vicia</i> form	28	2.3	0.7	6.0	2.3	102.4	57	3.3	0.3	11.8	3.6	107.6
T41	N, P	<i>Lupinus angustifolius</i>	17	1.5	0.3	3.5	1.8	119.1	9	9.8	0.7	18.9	12.9	131.6
		Other nectariferous taxa	100	3.3	0.3	11.0	3.0	89.9	100	5.2	1.0	10.0	2.8	53.5
Main only-polleniferous taxa														
T15	P	<i>Actinidia sinensis</i>	100	4.6	0.3	16.1	4.6	99.7	9	0.5	0.3	0.7	0.3	55.3
T2	P	<i>Cistus</i> sp.	100	6.9	0.3	20.4	5.2	76.0	100	9.8	0.3	33.3	6.9	70.9
T1	P	<i>Quercus</i> sp.	100	16.5	0.8	35.7	10.7	64.9	100	10.6	1.3	29.0	8.1	77.2
T3	P	<i>Castanea sativa</i>	89	7.9	0.3	25.0	7.3	91.7	91	12.1	0.3	33.8	9.4	77.4
T4	P	<i>Fraxinus ornus</i>	89	6.1	0.5	22.3	6.6	108.4	91	1.1	0.3	3.3	1.0	87.6
T12	P	<i>Eucalyptus</i> sp.	72	3.3	0.4	15.5	4.1	125.9	57	1.0	0.3	3.4	1.0	99.3
T25	P	<i>Olea</i> sp.	50	0.8	0.4	1.3	0.3	38.9	26	1.3	0.6	3.6	1.1	84.3
T20	P	<i>Pistacia lentiscus</i>	11	0.6	0.6	0.6	0.0	8.2	70	3.3	0.5	9.3	2.7	80.4
T24	P	<i>Phillyrea</i> sp.	17	4.7	0.3	13.3	7.4	157.4	52	2.6	0.4	9.9	2.7	103.5
		Other only-polleniferous taxa	100	1.9	0.3	8.9	2.1	110.0	78	1.7	0.3	8.5	2.0	117.8
		Pollen density (10 ³ PG/10 g) ^d		68	20	202	52	77		107	22	603	126	118
Physico-chemical data ^e														
		Color		26.4	11.0	55.0	13.6	51.5		33.3	18.0	71.0	16.3	48.7
		Electrical conductivity		0.25	0.15	0.42	0.07	27.72		0.24	0.13	0.45	0.09	36.96

^a Taxa number is given in Table 1. ^b Type of taxa: P, polleniferous taxa; N, nectariferous taxa [5]. ^c Mean, Min., Max. values expressed as relative frequency RF (number of specify pollen counted/total pollen counted). ^d Pollen density expressed as the absolute number of pollen grains in 10 g of honey (10³ PG/10 g). ^e Unity of parameters: colour (mm Pfund); electrical conductivity (mS/cm).

3.2. Physicochemical Characteristics of Corsican “Spring” Honey

Corsican “spring” honeys possessed light to very light colors. The mean value of coloration was 30.0 ± 15.4 mm Pfund, with great variation between 11.0 and 71.0 mm Pfund (Table 2). The two groups exhibited quite similar coloration values: 26.4 ± 13.6 mm Pfund for “clementine” honeys and 33.3 ± 16.3 mm Pfund for the other “spring” honeys. For each group, nine samples possessed a very light coloration value (<20.0 mm Pfund). Only one sample (17) of “clementine” honeys had a coloration value >50.0 mm Pfund while five samples (23, 35, 38, 39 and 41) of other “spring” honeys possessed coloration values between 50.0 and 71.0 mm Pfund.

The average electrical conductivity value of the honey samples was 0.25 ± 0.08 mS/cm with a variation of 0.13–0.45 mS/cm (Table 2). The electrical conductivity of the two groups was also quite similar: 0.25 ± 0.07 mS/cm for “clementine” honeys (range: 0.15–0.42 mS/cm) and 0.24 ± 0.09 mS/cm for other “spring” honeys (range: 0.13–0.45 mS/cm). Only three samples (17, 34 and 41) of these honeys had medium electrical conductivity (>0.4 mS/cm).

The coloration and electrical conductivity values of Corsican “spring” honeys were lower than those of “chestnut grove” and “*Erica arborea* spring maquis” honey ranges [5,24,29].

3.3. Chemical Variability of Corsican “Spring” Honey

GC and GC/MS analysis of the headspaces of Corsican “spring” honeys allowed the identification of 43 compounds that accounted for 71.5%–96.8% of the total volatile composition (Table 3, Table S2-supplementary materials). It should be noted that the volatile fraction of “spring” honeys is rich in aldehyde (22.1%–63.1%) and alcohol (2.8%–40.2%) components.

To synthesize the chemical data, PCA was used to examine the relative distribution of the matrix of “spring” honey samples according to their volatile chemical compositions. The analyses included 17 compounds: two hydrocarbons (C2 and C12), eight aldehydes (C5, C9, C14, C25, C27, C28, C31 and C32), two ketones (C23 and C24), two esters (C38 and C41), two oxides (C39 and C42) and one alcohol (C37). As shown in Figure 1a, the principal factorial plane (axes 1 and 2) accounted for 58.91% of the entire variability of the honey samples. Dimension 1 (42.24%) correlated negatively C39 and negatively with other compounds. Dimension 2 (16.67%) correlated negatively with two hydrocarbons (C2 and C12), two aldehydes (C5 and C14) and one oxide C42 and positively with two ketones (C23 and C24), three aldehydes (C25, C27 and C28), one ester C38 and one oxide other compounds.

The plot established according to the first two principal components suggested the existence of two main groups (Figure 1b). Group I contained 17 samples (1–17), which corresponded to the group of “clementine” honeys (except sample 18). This group I was characterized by the presence of lilac aldehyde isomers (C25, C27 and C28), *p*-menth-1-en-9-al isomers (C31 and C32) and methyl anthranilate C38, which were absent in the other honey samples (group II). It was rich in furan compounds (group I: 26.2% versus group II: 7.6%), but not in phenolic components (group I: 29.4% versus group II: 40.0%). Aldehyde components were also higher in group I (49.1%) than in group II (39.7%). Group II could be divided into subgroups IIa (five samples: 20, 33, 36, 38 and 39) and IIb (18 samples: 18, 19, 21–32, 34, 37, 40 and 41). These two subgroups were characterized by a greater

abundance of phenolic compounds (group IIa: 39.9% and group IIb: 43.0%), but group IIa displayed a higher value for linear compounds (group IIa: 26.2% and group IIb: 19.2%). Additionally, subgroup IIa had a higher amount of aldehyde (group IIa: 40.7% and group IIb: 12.8%) and alcohol (group IIa: 35.6% and group IIb: 9.2%) compounds than subgroup IIb. This latter group displayed a greater abundance of ketones (group IIa: 4.3% and group IIb: 22.5%). Finally, sample 35 was characterized by 32.8% of hydrocarbons, whereas the abundance of hydrocarbons was not >25% in the other honey samples.

Table 3. Chemical composition of volatile fraction of Corsican “spring” honeys.

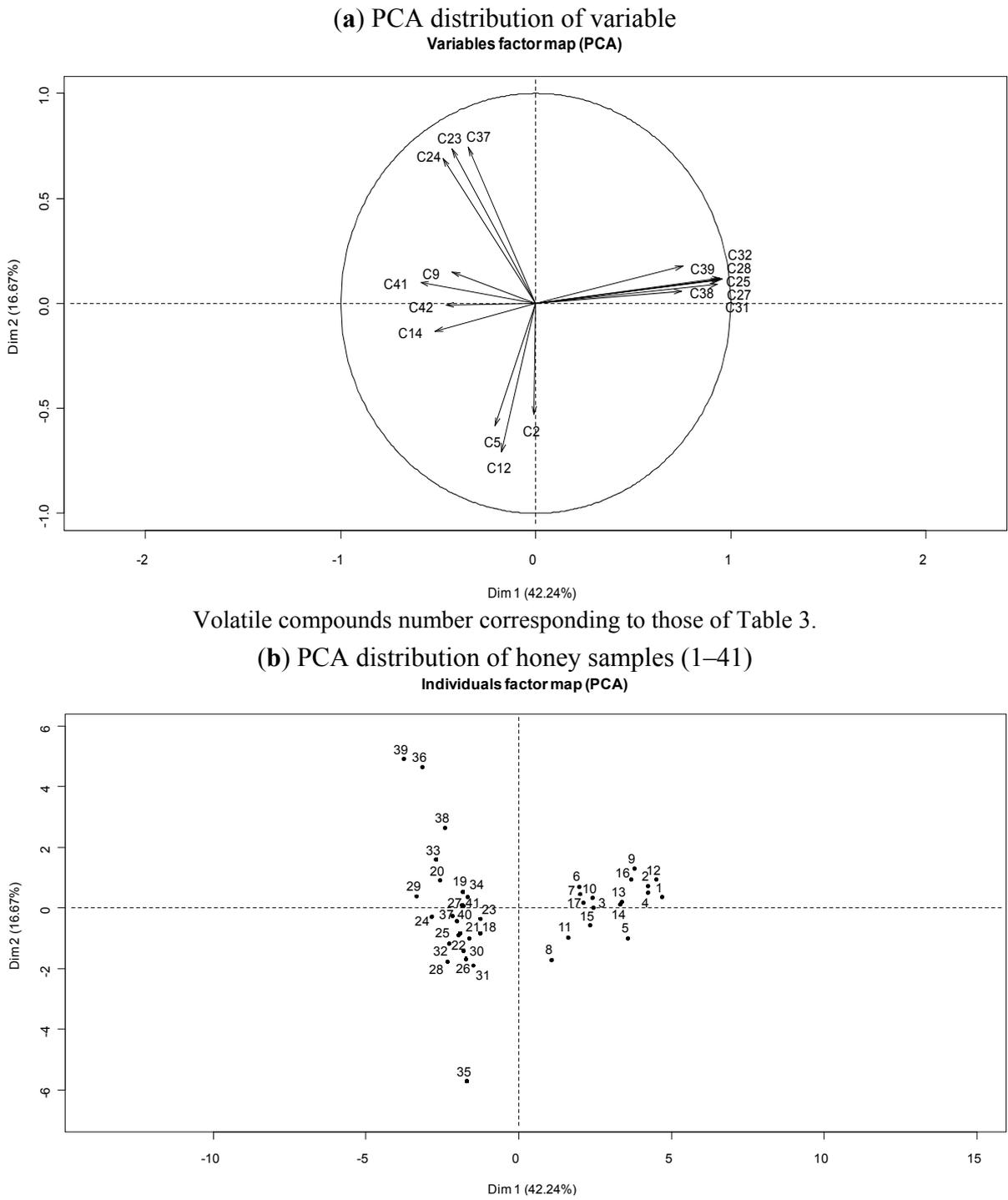
No ^a	Components	RI ^b	Group I “Clementine” Honeys ^c			Group II “Not-Clementine” Honeys ^c						Sample 35
			Mean ± SD ^d	Min.	Max.	IIa			IIb			
						Mean ± SD ^d	Min.	Max.	Mean ± SD ^d	Min.	Max.	
C1	3-Methyl-3-buten-1-ol	704	2.9 ± 2.76	0.3	11.3	1.8 ± 1.19	0.7	3.7	1.8 ± 1.44	0.4	6.0	2.8
C2	Methyl-benzene	741	6.5 ± 4.45	1.5	15.6	4.1 ± 2.08	2.4	7.1	6.2 ± 4.08	1.5	17.3	10.4
C3	Hexanal	773	1.1 ± 0.46	0.5	2.0	1.6 ± 2.62	0.1	6.3	1.6 ± 1.13	0.3	4.5	1.9
C4	Octane	790	1.4 ± 1.08	0.3	4.7	0.9 ± 0.77	0.3	2.2	2.6 ± 1.63	0.7	5.6	1.4
C5	3-Furaldehyde	800	2.8 ± 1.56	0.6	5.9	3.5 ± 1.37	2.5	5.9	3.5 ± 1.78	1.9	8.3	18.5
C6	2-Methyl butanoic acid	858	0.8 ± 0.91	0.1	3.3	4.6 ± 3.21	1.1	7.6	2.9 ± 4.59	0.1	20.4	2.4
C7	2-Methyl octane	873	0.4 ± 0.28	0.1	0.9	0.5 ± 0.44	0.1	1.2	0.7 ± 0.38	0.1	1.7	1.6
C8	Nonane	893	0.7 ± 0.65	0.2	2.5	1.2 ± 0.35	0.8	1.7	1.5 ± 0.92	0.2	3.5	3.8
C9	Benzaldehyde	924	5.5 ± 3.56	2.4	17.9	10.4 ± 3.85	5.4	14.8	8.8 ± 4.89	2.5	18.4	3.0
C10	Hexanoic acid	969	0.7 ± 0.25	0.4	1.4	1.7 ± 1.68	0.3	3.9	1.2 ± 0.75	0.4	3.3	-
C11	Octanal	982	1.0 ± 0.47	0.2	2.1	0.6 ± 0.12	0.5	0.7	1.6 ± 1.45	0.5	6.6	1.0
C12	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	992	1.1 ± 0.60	0.4	2.4	0.6 ± 0.53	0.1	1.3	2.3 ± 1.83	0.2	5.2	15.6
C13	<i>p</i> -Methylanisol	995	0.9 ± 1.13	0.1	4.9	1.1 ± 1.10	0.3	3.0	0.9 ± 1.48	0.1	6.1	-
C14	Phenylacetaldehyde	1006	10.1 ± 10.68	0.8	39.1	16.5 ± 6.93	7.2	25.7	21.2 ± 7.83	3.7	36.2	13.0
C15	<i>p</i> -Cymene	1008	0.7 ± 0.29	0.1	1.0	0.9 ± 0.42	0.6	1.2	-	-	-	-
C16	Acetophenone	1037	0.2 ± 0.08	0.1	0.4	0.4 ± 0.21	0.2	0.5	0.3 ± 0.10	0.2	0.4	-
C17	<i>trans</i> -Furanoid-linaloxide	1049	1.5 ± 1.00	0.8	4.0	1.3 ± 1.25	0.5	3.5	2.4 ± 1.20	1.0	6.3	-
C18	<i>cis</i> -Furanoid-linaloxide	1064	1.1 ± 0.40	0.7	2.0	1.0 ± 0.29	0.7	1.4	1.1 ± 0.26	0.5	1.6	-
C19	β -Phenylethanol	1077	4.2 ± 1.54	2.2	5.8	1.6 ± 0.00	1.6	1.6	3.3 ± 1.67	2.1	5.8	-
C20	Nonanal	1079	2.7 ± 1.73	0.9	7.6	1.8 ± 1.28	0.4	3.5	3.0 ± 2.29	0.5	7.2	2.9
C21	Linalol	1084	2.4 ± 1.82	0.2	6.6	1.3 ± 1.62	0.3	3.2	12.5 ± 10.42	2.1	32.3	tr
C22	Hotrienol	1085	4.1 ± 4.39	0.7	10.5	-	-	-	9.7 ± 0.00	9.7	9.7	-
C23	Isophorone	1087	2.8 ± 1.54	0.2	4.9	18.2 ± 8.02	8.8	29.3	3.3 ± 3.5	0.1	9.6	-
C24	4-Oxoisophorone	1102	0.9 ± 0.33	0.3	1.4	4.2 ± 1.87	2.3	6.4	1.5 ± 0.99	0.3	5.0	-
C25	(2 <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1112	5.4 ± 2.36	1.3	8.9	-	-	-	1.5 ± 0.00	1.5	1.5	-
C26	Dihydrolinalool	1116	1.2 ± 0.66	0.5	3.0	-	-	-	1.1 ± 0.00	1.1	1.1	-
C27	(2 <i>R</i> ,2' <i>S</i> ,5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1121	10.5 ± 3.66	4.9	16.5	-	-	-	2.4 ± 0.00	2.4	2.4	-
C28	(2 <i>R</i> ,2' <i>R</i> ,5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1134	4.8 ± 1.85	2.2	8.1	-	-	-	1.1 ± 0.00	1.1	1.1	-
C29	Octanoic acid	1167	1.7 ± 1.55	0.3	6.0	0.9 ± 0.38	0.3	1.3	1.6 ± 0.78	0.7	3.8	4.7
C30	Decanal	1174	1.2 ± 0.67	0.2	2.8	0.6 ± 0.25	0.2	0.8	1.5 ± 0.54	0.6	2.3	-
C31	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 1)	1184	1.9 ± 0.41	1.2	2.7	-	-	-	-	-	-	-
C32	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 2)	1186	1.7 ± 0.46	0.5	2.5	-	-	-	-	-	-	-
C33	<i>p</i> -Anisaldehyde	1208	0.7 ± 1.19	0.1	4.6	0.9 ± 0.37	0.3	1.1	0.4 ± 0.21	0.2	0.8	-
C34	2,3,5-Trimethylphenol	1248	0.4 ± 0.30	0.1	1.1	1.0 ± 0.69	0.4	2.0	0.8 ± 0.68	0.1	2.0	-

Table 3. Cont.

No ^a	Components	RI ^b	Group I “Clementine” Honeys ^c			Group II “Not-Clementine” Honeys ^c						Sample 35
			Mean ± SD ^d	Min	Max	IIa			IIb			
						Mean ± SD ^d	Min	Max	Mean ± SD ^d	Min	Max	
C35	4- <i>n</i> -Propylanisol	1264	1.6 ± 1.78	0.2	5.7	2.4 ± 1.29	0.8	4.3	3.8 ± 2.45	1.4	6.3	-
C36	Nonanoic acid	1271	2.7 ± 1.39	0.5	4.9	2.6 ± 0.94	1.4	3.7	3.1 ± 1.24	1.3	6.4	-
C37	3,4,5-Trimethylphenol	1290	0.5 ± 0.32	0.2	1.4	5.4 ± 2.71	2.9	9.4	0.5 ± 0.67	0.1	2.0	-
C38	Methyl anthranilate	1300	1.4 ± 0.96	0.2	3.5	-	-	-	-	-	-	-
C39	<i>cis-p</i> -Mentha-1(7),8-dien-1-hydroperoxide	1348	0.4 ± 0.14	0.2	0.7	-	-	-	-	-	-	-
C40	Decanoic acid	1362	1.2 ± 0.45	0.6	2.1	1.3 ± 0.75	0.1	1.9	1.7 ± 1.50	0.6	6.8	3.8
C41	Methyl 3,5-dimethoxybenzoate	1494	-	-	-	0.4 ± 0.26	0.2	0.7	0.5 ± 0.19	0.3	0.8	-
C42	Methyl syringate	1722	-	-	-	0.5 ± 0.50	0.1	1.4	0.9 ± 1.17	0.1	4.1	-
C43	Tricosane	2305	0.3 ± 0.17	0.1	0.5	0.5 ± 0.00	0.5	0.5	0.5 ± 0.22	0.2	0.7	-
<i>Total identification (%)</i>			84.2 ± 6.95	71.5	94.5	91.2 ± 5.43	84.2	96.8	86.3 ± 5.49	78.8	96.7	86.8
<i>Total peak area(10⁶)^e</i>			3.8 ± 1.96	1.3	7.4	2.9 ± 1.27	1.6	4.5	2.4 ± 1.08	0.8	4.4	0.3
	Hydrocarbons		10.6 ± 5.23	4.7	20.8	7.7 ± 3.59	4.8	13.5	13.3 ± 5.88	5.0	23.9	32.8
	Oxygenated compounds		73.6 ± 7.23	58.2	82.8	83.6 ± 4.11	79.2	90.3	73.7 ± 7.56	58.1	81.7	54.0
	Phenolic compounds		29.4 ± 12.3	12.6	59.3	43.0 ± 7.39	34.8	53.0	39.9 ± 11.22	23.2	60.4	26.4
	Furan compounds		26.2 ± 7.85	12.2	38.6	5.8 ± 2.83	3.9	10.8	7.5 ± 1.99	4.3	11.0	18.5
	Linear compounds		21.0 ± 7.08	11.3	36.6	19.2 ± 3.88	14.8	23.4	26.2 ± 9.63	11.3	53.4	41.9
	Terpenic compounds		31.0 ± 9.88	15.4	52.2	3.5 ± 2.64	1.7	8.1	13.6 ± 13.05	1.5	45.8	0
	Ketones		2.5 ± 2.14	0	6.0	22.5 ± 9.67	11.6	35.7	4.3 ± 3.77	0.8	11.6	0
	Aldehydes		49.1 ± 8.03	34.4	63.1	35.6 ± 9.73	26.1	47.7	40.7 ± 9.78	22.1	52.3	40.3
	Esters		1.4 ± 0.96	0.2	3.5	0.2 ± 0.29	0	0.7	0.3 ± 0.27	0	0.8	0
	Alcohols		9.7 ± 6.17	3.3	27.8	9.2 ± 3.3	4.9	12.7	12.8 ± 10.40	3.0	40.2	2.8
	Acids		6.8 ± 3.31	0.4	15.4	9.7 ± 5.23	3.0	15.1	10.2 ± 5.28	5.6	27.0	10.9
	Oxides		5.2 ± 2.76	2.5	12.6	6.3 ± 2.45	3.0	9.3	5.5 ± 2.64	3.3	14.3	0

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1). ^b Retention indice on the Rtx-1 apolar column. ^c Group number was given in “Chemical variability of Corsican “spring” honeys”. ^d Means ± SD, Min. and Max. values expressed as percentages. ^e Total peak area was expressed in arbitrary units.

Figure 1. Principal component analysis (PCA) of Corsican “spring” honey volatile data.



3.4. Botanical Origin and Volatile Composition of Corsican “Spring” Honey

The 17 samples of “clementine” honeys (group I: 1–17) could be distinguished from other “spring” honeys (group II) by the presence of three lilac aldehydes (**C25**, **C27** and **C28**) and two *p*-menth-1-en-9-al isomers (**C31** and **C32**) (Table 3, Table S2-supplementary materials). These honey samples were dominated by phenolic compounds (12.6%–59.3%), followed by furan compounds (12.2%–38.6%) and linear compounds (11.3%–36.6%). The main components were phenylacetaldehyde **C14** (0.8%–39.1%), methyl-benzene **C2** (1.5%–15.6%), (2*R*,2'*S*,5'*S*)-lilac aldehyde **C27** (4.9%–16.5%), (2*S*,2'*S*,5'*S*)-lilac aldehyde **C25** (1.3%–8.9%), benzaldehyde **C9** (2.4%–17.9%) and (2*R*,2'*R*,5'*S*)-lilac aldehyde **C28** (2.2%–8.1%). Low amounts of methyl anthranilate **C38** (0.2%–3.5%) were found in the volatile fraction of the “clementine” honeys analyzed. This component is a known chemical marker of *Citrus* (species not specified) unifloral honey [13]. Additionally, various linalool derivatives, such as linalool oxides, lilac aldehydes and/or *p*-menth-1-en-9-al isomers, have also been reported as characteristic compounds of citrus unifloral honeys from Spain and Greece [15,16,30–33]. These compounds were also identified in the volatile components of Corsican “clementine” honeys. Conversely, some other linalool derivatives, such as lilac alcohol isomers (previously reported in the Spanish and Greek citrus honeys), were not detected in our honey samples. Alissandrakis *et al.* [15] showed that methyl anthranilate and lilac aldehydes could be found in honeys of mixed botanical origin with the presence of citrus nectar. These volatile compounds were also detected in the honey samples 2–4 in which were found the RF_{max} of *Trifolium* sp. **T9** and *Echium* sp. **T13** taxa. Chemical investigation showed that these honey samples displayed the similar volatile composition of “clementine” honey. As these two taxa could provide great quantity of nectar and pollen [34], it appeared that they played only a polleniferous role in these honey samples.

The volatile composition of *C. sinensis* × *reticulata* flowers has not been reported previously. The HS-SPME fraction of clementine flowers is characterized by 29 compounds, which accounted for 75.5%–87.0% of the volatile composition (Table 4). Linalool (9.6%–22.6%), sabinene (13.4%–19.6%), dihydrolinalool (8.5%–14.8%) and myrcene (5.6%–6.5%) were identified as the main compounds. Linalool and dihydrolinalool were also found in low concentrations in the volatile fraction from “spring clementine” honey samples. Methyl anthranilate was detected in the volatile fraction of Corsican clementine flowers (0.1%–0.3%) and corresponding honeys.

The decrease in linalool amount and the occurrence of other linalool derivatives (hotrienol, linalool oxides, lilac aldehyde isomers and *p*-menth-1-en-9-al isomers) in honey samples could be explained by the enzymatic degradation of linalool by some pathways [15]: (1) linalool can be transformed to 8-hydroxylinalool isomers by enzymatic hydroxylation at the C8 position, and then hotrienol; (2) 8-hydroxylinalool can be transformed to lilac aldehyde via (*E*)-8-oxolinalool and lilac alcohols, or *p*-menth-1-en-9-al via 8-hydroxygeraniol and (3) linalool can also be transformed via 6,7-hydroxylinalool into furanoid linalool oxide isomers under acidic conditions or by heating. These results were in accordance with those previously reported on the volatile fraction of citrus flowers and corresponding honeys [16]. It demonstrated that the flowers from *Citrus* species (orange, tangerine and sour orange) had high amounts of linalool (51.6%–80.6%) and that the honeys consisted of more than 80% of linalool derivatives (lilac aldehydes and lilac alcohols).

Table 4. Chemical composition of volatile fraction of clementine and asphodel flowers.

Components ^a	RI(Lit) ^b	RI ^c	Clementine Flower ^d			Asphodel Flower ^e			Identification ^g
			Mean ± SD ^f	Min.	Max.	Mean ± SD ^f	Min.	Max.	
3-Furaldehyde	799	800	-	-	-	1.0 ± 0.87	0.5	2.7	RI, MS
Furfural	831	836	-	-	-	3.5 ± 1.26	1.7	5.2	RI, MS
2-Furanmethanol	839	842	-	-	-	2.1 ± 1.48	0.8	4.7	RI, MS, Ref
Heptanal	882	876	-	-	-	5.4 ± 2.46	3.1	9.5	RI, MS
α-Thujene	924	922	1.2 ± 0.21	1.0	1.4	-	-	-	RI, MS
α-Pinene	932	931	3.6 ± 2.46	2.0	6.4	-	-	-	RI, MS
Benzaldehyde	929	933	-	-	-	2.7 ± 0.78	1.4	3.7	RI, MS
Tetrahydro-citronellene	937	935	6.8 ± 4.90	3.3	12.4	-	-	-	RI, MS, Ref
β-Citronellene	943	940	2.2 ± 0.15	2.0	2.3	-	-	-	RI, MS
Octen-3-ol	962	955	-	-	-	0.2 ± 0.05	0.1	0.2	RI, MS
Furfuryl acetate	964	959	-	-	-	0.7 ± 0.31	0.5	1.3	RI, MS, Ref
Sabinene	973	958	16.8 ± 3.14	13.4	19.6	-	-	-	RI, MS
2-Pentylfuran	973	966	-	-	-	0.8 ± 1.00	0.2	2.8	RI, MS
β-Pinene	978	972	1.5 ± 1.36	0.4	3.0	-	-	-	RI, MS
Myrcene	987	979	6.1 ± 0.45	5.6	6.5	-	-	-	RI, MS
Octanal	981	980	-	-	-	7.0 ± 3.12	3.5	12.6	RI, MS
(Z)-3-Hexenyl acetate	989	984	-	-	-	21.6 ± 14.27	5.2	41.8	RI, MS
(E)-3-Hexenyl acetate	1002	994	-	-	-	0.8 ± 0.54	0.1	1.5	RI, MS
α-Phellandrene	1002	995	1.5 ± 0.23	1.4	1.8	0.3 ± 0.12	0.1	0.4	RI, MS
α-Terpinene	1013	1008	0.6 ± 0.44	0.3	1.1	-	-	-	RI, MS
Phenylacetaldehyde	1012	1009	-	-	-	0.9 ± 0.67	0.2	2.1	RI, MS
p-Cymene	1015	1011	0.6 ± 0.10	0.5	0.7	-	-	-	RI, MS
p-Menth-1-ene	1017	1018	0.5 ± 0.15	0.4	0.7	-	-	-	RI, MS
Limonene	1025	1020	1.5 ± 0.70	0.8	2.2	-	-	-	RI, MS
(Z)-β-Ocimene	1029	1024	0.1 ± 0.06	0.1	0.2	-	-	-	RI, MS
(E)-2-Octenal	1034	1034	-	-	-	0.4 ± 0.29	0.1	0.8	RI, MS
(E)-β-Ocimene	1041	1036	2.6 ± 2.21	0.9	5.1	-	-	-	RI, MS
γ-Terpinene	1051	1047	1.1 ± 0.51	0.5	1.5	-	-	-	RI, MS
trans-Sabinene hydrate	1053	1050	1.0 ± 0.36	0.7	1.4	-	-	-	RI, MS
1-Octanol	1063	1057	-	-	-	6.0 ± 1.93	2.8	8.8	RI, MS
Terpinolene	1082	1078	0.1 ± 0.06	0.1	0.2	-	-	-	RI, MS
Nonanal	1076	1081	-	-	-	25.8 ± 10.1	16.5	38.2	RI, MS
Linalool	1086	1086	17.8 ± 7.14	9.6	22.6	1.7 ± 0.21	1.5	1.8	RI, MS
Tetrahydrolinalool	1099	1095	4.1 ± 3.07	0.7	6.7	-	-	-	RI, MS, Ref
Dihydrolinalool	1118	1114	10.8 ± 3.50	8.5	14.8	-	-	-	RI, MS, Ref
(E)-2-Nonen-1-ol	1149	1153	-	-	-	2.2 ± 1.65	0.6	4.6	RI, MS
1-Phenylethyl acetate	1166	1163	-	-	-	0.1 ± 0.05	0.1	0.2	RI, MS
Terpinen-4-ol	1164	1164	0.3 ± 0.20	0.1	0.5	-	-	-	RI, MS
α-Terpineol	1176	1173	tr	tr	tr	-	-	-	RI, MS
Decanal	1180	1182	-	-	-	1.6 ± 0.74	0.7	2.5	RI, MS
Undecanal	1285	1285	-	-	-	1.0 ± 1.03	0.2	2.8	RI, MS
Methyl anthranilate	1308	1302	0.2 ± 0.10	0.1	0.3	-	-	-	RI, MS
(E)-Jasmone	1356	1360	tr	tr	tr	-	-	-	RI, MS
Isocaryophyllene	1409	1405	tr	tr	tr	-	-	-	RI, MS

Table 4. Cont.

Components ^a	RI(Lit) ^b	RI ^c	Clementine flower ^d			Asphodel Flower ^e			Identification ^g
			Mean ± SD ^f	Min.	Max.	Mean ± SD ^f	Min.	Max.	
(E)-β-Farnesene	1446	1442	tr	tr	tr	-	-	-	RI, MS
(E,E)-α-Farnesene	1498	1492	0.1 ± 0.00	0.1	0.1	-	-	-	RI, MS
(E)-Nerolidol	1553	1548	tr	tr	tr	-	-	-	RI, MS
Heptadecane	1700	1698	0.2 ± 0.10	0.1	0.3	-	-	-	RI, MS
Total identification (%)			81.2 ± 5.75	75.5	87.0	85.9 ± 2.66	82.4	90.1	
Hydrocarbons			48.0 ± 8.16	39.7	56.0	-	-	-	
Oxygenated compounds			33.1 ± 11.88	19.5	41.3	85.9 ± 2.66	82.4	90.1	
Phenolic compounds			0.2 ± 0.1	0.1	0.3	3.7 ± 0.99	1.8	4.5	
Furan compounds			-	-	-	8.2 ± 4.42	4.3	16.7	
Linear compounds			0.2 ± 0.1	0.1	0.3	73.9 ± 5.41	65.0	79.3	
Terpenic compounds			80.8 ± 5.75	75.1	86.6	0.8 ± 0.85	0.1	1.9	
Ketones			tr	-	tr	-	-	-	
Aldehydes			-	-	-	43.8 ± 13.47	31.2	62.8	
Esters			0.2 ± 0.1	0.1	0.3	23.2 ± 14.58	5.8	43.1	
Alcohols			32.9 ± 11.8	19.4	41.1	11 ± 4.13	4.3	17	

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1). ^b Retention indice of literature on the apolar column reported from references [27,28]. ^c Retention indice on the Rtx-1 apolar column. ^d Six clementine flower specimens were collected from Corsica oriental plain. ^e Six Asphodel flower specimens were collected from six localities of Corsica. ^f Means ± SD, Min. and Max. values expressed as percentages; tr trace (< 0.05%), ^g RI, Retention indice; MS, mass spectra in electronic impact mode. Ref., compounds identified from commercial data libraries: König *et al.* [27] (Samples 8, 34 and 35) and NIST [28] (Samples 3 and 11).

The 23 “not-clementine” honey samples (group II) were dominated by phenolic compounds (23.2%–60.4%) followed by linear compounds (11.3%–53.4%). The main compounds were phenylacetaldehyde **C14** (3.7%–36.2%), benzaldehyde **C9** (2.5%–18.4%) and methyl-benzene **C2** (1.5%–17.3%). Furanic compounds (average: 7.5%) were less abundant than in “clementine” honeys (average: 26.2%), and acid components (average: 10.3%) were more abundant than in the “clementine” honeys (average: 6.8%). To our knowledge, only one previous report focused on the volatile fraction of asphodel unifloral honeys from Sardinia [18]. Methyl syringate was detected in asphodel nectar in high concentrations and was therefore considered a marker of asphodel honeys [19]. A low content of this component (**C42**: 0.1%–4.1%) was reported in the volatile fraction of “spring” honey samples (18–21, 24–30, 32, 33 and 36–41). Additionally, the amount of methyl syringate was unrelated to the presence of *Asphodelus* pollen in the pollen spectrum. This result could be explained by the extreme “under-represented” type of *Asphodelus* pollen in Corsican “spring” honeys and/or by other nectar contributions in these honeys. The sample 18 exhibited the association of *Citrus* sp. and *A. sinensis*; it was grouped with the “not-clementine” honey. In this sample, the citrus nectar contribution was less important than in “clementine” honeys in accordance with the lower concentrations of lilac aldehyde isomers.

To our knowledge, the volatile composition of *A. ramosus* subsp. *ramosus* flowers is reported here for the first time (Table 4). The HS-SPME volatile fraction of asphodel flowers was dominated by oxygenated compounds, especially linear compounds. Nonanal (16.5%–38.2%), (*Z*)-3-hexenyl acetate (5.2%–41.8%), octanal (3.5%–12.6%), 1-octanol (5.7%–8.8%) and heptanal (3.1%–9.5%) were

identified as major compounds. The two main components of the honey volatile fraction (phenylacetaldehyde and benzaldehyde) were detected in low concentrations in the flowers. Moreover, methyl syringate (a marker of asphodel honey) was not detected in the flowers analyzed. This result showed that a direct relationship between the volatile fractions of asphodel flowers and the corresponding “spring” honeys could not be established using HS-SPME analysis.

Finally, the characteristic compounds of the volatile fraction of Corsican “chestnut grove” (acetophenone and 2-aminoacetophenone) [24] and “*Erica arborea* spring maquis” (*p*-anisaldehyde and 4-propylanisol) honeys [29] were found in low concentrations or not detected in the “spring” honeys studied.

3.5. Correlation of Melissopalynological and Chemical Data

To identify relationships between the melissopalynological analysis and volatile composition data of honey samples, CCA was applied on the matrix linked the relative amounts of the 17 volatile compounds (previously used in section “Chemical variability of Corsican “spring” honeys”) and the relative frequency (explanatory variables) of eight nectariferous taxa (**T7–T9**, **T11**, **T13**, **T14**, **T18** and **T22**).

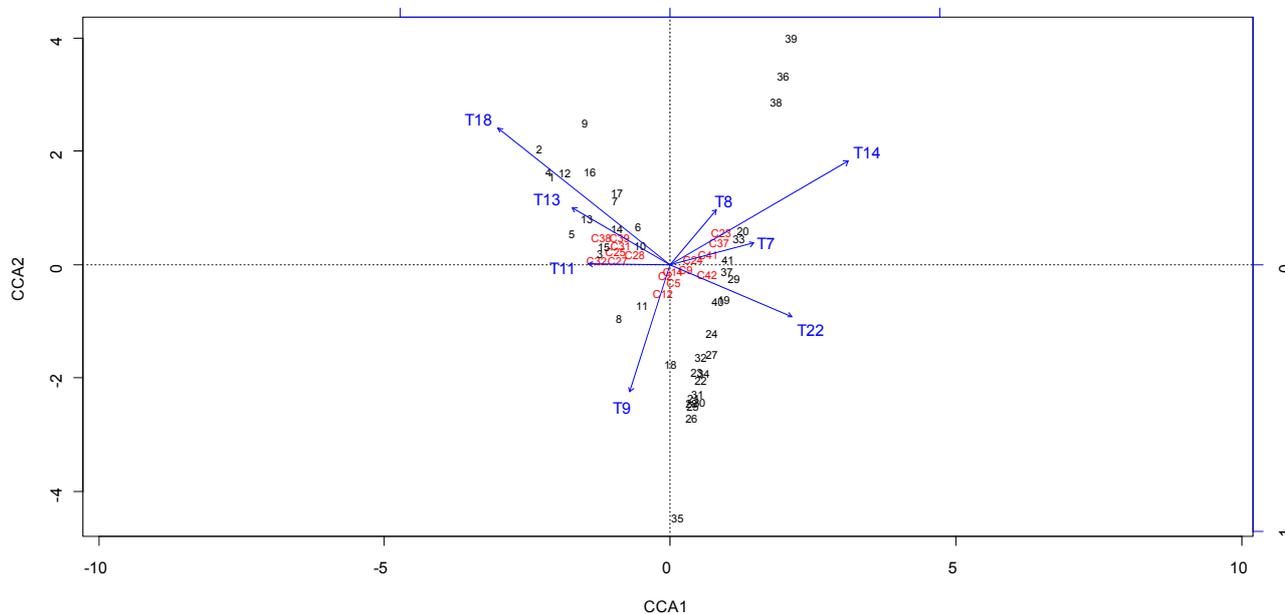
The correlations between the volatile composition and melissopalynological data were shown in Figure 2. The first CCA axis was negatively related *Trifolium* sp. **T9**, *Prunus* form **T11**, *Echium* sp. **T13** and *Citrus* sp. **T18** to methyl-benzene **C2**, 2,2,4,6,6-pentamethylheptane **C12**, three lilac aldehydes (**C25**, **C27** and **C28**), two *p*-menth-1-en-9-al isomers (**C31** and **C32**), methyl anthranilate **C38** and *cis-p*-mentha-1(7),8-dien-1-hydroperoxide **C39**. The second axis negatively related *Trifolium* sp. **T9** and *Asphodelus* **T22** to methyl-benzene **C2**, 3-furaldehyde **C5**, Benzaldehyde **C9**, 2,2,4,6,6-pentamethylheptane **C12**, phenylacetaldehyde **C14** and methyl syringate **C42**.

The sample distribution showed the occurrence of two main groups, group I (17 samples: 1–17) and group II (24 samples: 18–41), which correspond to the groups defined in “Determination of geographical and botanical origins of Corsican “spring” honeys” Group I was characterized not only by the significant presence of lilac aldehyde isomers (**C25**, **C27** and **C28**), *p*-menth-1-en-9-al isomers (**C31** and **C32**) and methyl anthranilate **C38**, but also by the high abundance of taxa: *Citrus* sp. **T18**, *Echium* sp. **T13** and *Prunus* form **T11** (group I: 6.3%, 9.5% and 3.8% versus group II: 0.1%, 4.9% and 0.8%, respectively). According to the literature [15,16,30–33], all these compounds had been considered as characteristic components of citrus honey. From these results, it appeared that the other nectariferous taxa *Echium* sp. and *Prunus* form displayed a polleniferous role in these honey samples.

Group II included 24 samples that had great diversity. According to the sample distribution, we could distinguish 20 honey samples (18–34, 37, 40 and 41), which had higher values of phenylacetaldehyde **C14** and methyl syringate **C38** (21.4% and 0.7%, respectively). These honeys were also characterized by numerous herbaceous taxa with potential for nectar contribution, such as *Lotus* sp. **T7**, *Salix* sp. **T8**, *Apiaceae* **T14** and *Asphodelus* **T22** (3.5%, 4.4%, 3.2% and 0.6% versus I: 2.0%, 4.6%, 0.4% and 0.03%, respectively). As previously reported in literature data [19], the nectar contribution of *Asphodelus* **T22** in these honey samples was characterized by the presence of methyl syringate **C38**. In the same way, phenylacetaldehyde **C14** was reported as main volatile compound of

Salix honeys [35] and *Asphodelus* honey [18]. For the other nectariferous species *Lotus* sp. T7 and *Apiaceae* T14, no chemical markers of nectar contribution was reported in previous studies.

Figure 2. Correlation between melissopalynological and volatile data of “spring” honey by canonical correspondence analysis (CCA).



Variables: taxa number corresponding to those of Tables 2 and 3; volatile components number corresponding to those of Table 3. In the CCA plot, location of each sample indicated its compositional similarity to each other; volatile components locations indicated the similarity of their distribution to each other; length of taxa indicated the importance to the ordination, and the direction of taxa vector indicated its correlation with each axes. The perpendiculars drawn from volatile components to taxa give approximate ranking of volatile components response to the taxa variables.

4. Conclusions

Corsican “spring” honeys can be classified into two categories according to melissopalynological analysis: (1) honeys characterized by the association of cultivated plants, especially *C. sinensis* × *reticulata* with other *Citrus* species, *A. sinensis* and other fruit trees; (2) honeys without cultivated taxa, but with herbaceous species (*A. ramosus* subsp. *ramosus*, *Trifolium* sp., *Echium* sp., *Apiaceae*, *Brassicaceae*, *Lotus* sp., etc.), low shrub species (*Rubus* sp. and *Lavandula stoechas*) and some polleniferous taxa with precocious flowering (*P. lentiscus* and *Phillyrea* sp.).

Analysis of the volatile fraction of “spring” honeys also demonstrated the existence of two main groups in this range. The volatile fractions were often characterized by high amounts of phenylacetaldehyde, benzaldehyde and methyl-benzene. However, the chemical composition of “clementine” honeys was dominated by three lilac aldehyde isomers that were absent in the “not-clementine” honeys. The statistical analysis showed clearly that the “clementine” honeys were characterized by high volatile content (total peak area), methyl anthranilate, lilac aldehydes, *p*-menth-1-en-9-al isomers and some cultivated taxa, while the “not-clementine” honeys were characterized by phenylacetaldehyde, methyl syringate and complex taxa associations. The richness of

linalool derivatives in the volatile fraction of clementine flowers suggested biochemical transformation occurring during honeybee activity or honey conservation in the hive.

Finally, it appeared that melissopalynological analysis was necessary for the certification of geographical origin and was useful for the determination of botanical origin. Moreover, analysis of the volatile composition could be used to specify the characteristics of volatile compounds in relation to the predominance and/or complexity of botanical origins of the product, especially when nectariferous species have an “under-represented” pollen type in the pollen spectrum, such as *Citrus* sp. or *Asphodelus* sp.

Acknowledgments

The authors are indebted to the Délégation Régionale à la Recherche et à la Technologie de Corse (DRRT), the Collectivité Territoriale de Corse (CTC) and European Community for partial financial support.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Battesti, M.J.; Gamisans, J.; Piana, L. *Définition du Périmètre de Production—Rapport des Experts en Vue de la Mise à l’Enquête. Demande de Reconnaissance en A.O.C. <Miel de Corse-Mele di Corsica>*; Institut National des Appellations d’Origine (INAO): Corte, France, 1997.
2. Décret n° 2010–1045 du 31 Août 2010 Relatif à l’Appellation d’Origine Contrôlée <Miel de Corse-Mele di Corsica>. Available online: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000022783277> (accessed on 1 September 2013).
3. Council Regulation (EC) No 510/2006 on the Protection of Geographical Indications and Designations of Origin for Agricultural Products and Foodstuffs. “Miel de Corse/Mele di Corsica”. EC No: FR-PDO-0105-0066-20.04.2011. Available online: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2013:134:0039:0048:EN:PDF> (accessed on 1 September 2013).
4. Piana, L.; Persano Oddo, L.; Bentabol, A.; Bruneau, E.; Bogdanov, S.; Guyot Declerck, C. Sensory analysis applied to honey: State of the art. *Apidologie* **2004**, *35*, 26–27.
5. Battesti, M.J. Contribution à la Melissopalynologie Méditerranéenne: Les Miels Corses. Ph.D. Thesis, University of Marseille St. Jérôme, Marseille, France, 1990.
6. Persano Oddo, L.; Piana, L.; Bogdanov, S.; Bentabol, A.; Gotsiou, P.; Kerkvliet, J. Botanical species giving unifloral honey in Europe. *Apidologie* **2004**, *26*, 82–93.
7. Persano Oddo, L.; Piro, R. Main European unifloral honeys: Descriptive sheets. *Apidologie* **2004**, *35*, 38–81.
8. Persano Oddo, L.; Sabatini, A.G.; Accorti, M.; Colombo, R.; Marcazzan, G.L.; Piana, L.; Piazza, M.G.; Pulcini, P. *I Mieli Uniflorali Italiani—Nuove Schede di Caratterizzazione*; Ministero delle Politiche Agricole e Forestali: Gradoli, Italy, 2000.

9. Floris, I.; Palmieri, N.; Satta, A. Caratteristiche Melissopalynologiche dei Mieli di Sardegna. In *I Mieli Regionali Italiani—Caratterizzazione Melissopalynologica*; Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali & C.R.A. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione di Apicoltura: Roma, Italy, 2007.
10. Jeanmonod, D.; Gamsans, J. *Flora Corsica*; Edisud: Aix-en-Provence, France, 2007.
11. Battesti, M.J.; Goeury, C. Efficacité de l'analyse mélitopalynologique quantitative pour la certification des origines géographique et botanique des miels: Le modèle des miels corses. *Rev. Palaeobot. Palynol.* **1992**, *75*, 77–102.
12. Von Der Ohe, W.; Persano Oddo, L.; Piana, M.L.; Morlot, M.; Martin, P. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* **2004**, *35*, 18–23.
13. Cuevas-Glory, L.F.; Pino, J.A.; Santiago, L.S.; Sauri-Duch, E. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chem.* **2007**, *103*, 1032–1043.
14. Sesta, G.; Piana, M.L.; Persano Oddo, L.; Lusco, L.; Belligoli, P. Methyl anthranilate in *Citrus* honey. Analytical methode and suitability as a chemical marker. *Apidologie* **2008**, *39*, 334–342.
15. Alissandrakis, E.; Tarantilis, P.A.; Harizanis, P.C.; Polissiou, M. Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled go gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Food Chem.* **2007**, *100*, 396–404.
16. Alissandrakis, E.; Daferera, D.; Tarantilis, P.A.; Polissiou, M.; Harizanis, P.C. Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chem.* **2003**, *82*, 575–582.
17. Ferreres F.; Giner, J.M., Tomas-Barberan, F.A. A comparative study of hesperetin and methyl anthranilate as markers of the floral origin of citrus honey. *J. Sci. Food Agric.* **1994**, *65*, 371–372.
18. Jerkovic, I.; Tuberoso, C.I.G.; Kasum, A.; Marijanovic, Z. Volatile compounds of *Asphodelus microcarpus* Salzm. et Viv. Honey obtained by HS-SPME and USE analyzed by GC/MS. *Chem. Biodivers.* **2011**, *8*, 587–598.
19. Tuberoso, C.I.G.; Bifulco, E.; Jerkovic, I.; Caboni, P.; Cabras, P.; Floris, I. Methyl syringate: A chemical marker of asphodel (*Asphodelus microcarpus* Salzm. et Viv.) monofloral honey. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 3895–3900.
20. Donarski, J.A.; Jones, S.A.; Charlton, A.J. Application of cryoprobe ¹H Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy and multivariate analysis for the verification of Corsican honey. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 5451–5456.
21. Woodcock, T.; Downey, G.; O'Donnell, C. Near infrared spectral fingerprinting for confirmation of claimed PDO provenance of honey. *Food Chem.* **2009**, *114*, 742–746.
22. Stanimirova, I.; Üstün, B.; Cajka, T.; Riddelova, K.; Hajslova, J.; Buydens, L.M.C. Tracing the geographical origin of honeys based on volatile compounds profiles assessment using pattern recognition techniques. *Food Chem.* **2010**, *118*, 171–176.
23. Gonnet, M., Vache, G. *Le Goût du Miel*; U.N.A.F.: Paris, France, 1985.
24. Yang, Y.; Battesti, M.J.; Djabou, N.; Muselli, A.; Paolini, J.; Tomi, P.; Costa, J. Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican “chestnut grove” honeys. *Food Chem.* **2012**, *132*, 2144–2154.
25. Aubert, S.; Gonnet, M. Mesure de la couleur des miels. *Apidologie* **1983**, *14*, 105–118.
26. Bogdanov, S. Charakterisierung von Schweizer Sortenhonigen. *Agrarforschung* **1997**, *4*, 427–430.

27. König, W.A.; Hochmuth, D.H.; Joulain, D. *Terpenoids and Related Constituents of Essential oils*; Library of Mass Finder 2.1, Institute of Organic Chemistry: Hamburg, Germany, 2001.
28. National Institute of Standards and Technology (NIST). Spectral Database for Organic Compounds. In *NIST Chemistry WebBook*; Available online: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (accessed on 1 September 2013).
29. Yang, Y.; Battesti, M.J.; Paolini, J.; Muselli, A.; Tomi, P.; Costa, J. Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican “*Erica arborea* spring maquis” honeys. *Food Chem.* **2012**, *134*, 37–47.
30. Perez, R.A.; Sanchez-Brunete, C.; Calvo, R.M.; Tadeo, J.L. Analysis of volatiles from Spanish honeys by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 2633–2637.
31. Castro-Vazquez, L.; Diaz-Maroto, M.C.; Perez-Coello, M.S. Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. *Food Chem.* **2007**, *103*, 601–606.
32. Castro-Vazquez, L.; Diaz-Maroto, M.C.; Gonzalez-Vinas, M.A.; Perez-Coello, M.S. Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme, and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. *Food Chem.* **2009**, *112*, 1022–1030.
33. Aliferis, K.A.; Tarantilis, P.A.; Harizanis, P.C.; Alissandrakis E. Botanical discrimination and classification of honey samples applying gas chromatography/mass spectrometry fingerprinting of headspace volatile compounds. *Food Chem.* **2010**, *121*, 856–862.
34. Maurizio, A.; Louveaux, J. *Pollens de Plantes Mellifères d’Europe*; Union des Groupements Apicoles Français: Paris, France, 1965.
35. De la Fuente, E.; Sanz, M.L.; Martinez-Castro, I.; Sanz, J.; Ruiz-Matute, A.I. Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. *Food Chem.* **2007**, *105*, 84–93.

© 2014 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

Table S1. (Supplementary content) Pollen spectra and physico-chemical data of Corsican "spring" honeys.

Melissopalynological data		1 ^b	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	PR	Mean	Min.	Max.	SD	CV
No. ^a	Taxa	Group I - "spring clementine" honeys - RF (%) ^c																							
T18	N,P <i>Citrus</i> sp.	7.8	0.9	0.5	0.2	3.2	2.7	3.7	1.8	15.2	14.2	12.3	4.0	7.2	16.1	3.8	9.2	4.2	1.9	100	6.1	0.2	16.1	5.2	86.6
T5	N,P <i>Erica arborea</i>	-	0.4	0.3	-	0.8	1.1	26.1	12.5	2.8	7.1	0.5	13.4	4.8	4.0	35.5	1.7	8.4	0.6	89	7.5	0.3	35.5	10.2	135.4
T8	N,P <i>Salix</i> sp.	-	1.3	-	-	-	12.0	4.6	6.6	1.7	12.4	1.1	12.9	0.6	10.1	1.6	5.7	7.8	3.2	78	5.8	0.6	12.9	4.5	77.7
T11	N,P <i>Prunus</i> form	7.1	-	0.3	0.2	6.3	-	-	0.4	0.3	2.2	24.1	-	7.8	3.4	4.4	2.9	4.8	2.6	78	4.8	0.2	24.1	6.1	128.4
T7	N,P <i>Lotus</i> sp.	4.5	1.8	1.6	0.7	5.6	8.7	1.7	-	-	3.1	4.8	0.4	-	0.7	-	-	0.6	1.3	72	2.7	0.4	8.7	2.5	91.9
T10	N,P <i>Rubus</i> sp.	6.5	1.3	2.1	4.4	-	1.6	1.1	0.4	3.8	-	1.1	-	-	0.7	-	2.9	1.8	-	67	2.3	0.4	6.5	1.8	77.9
T9	N,P <i>Trifolium</i> sp.	-	52.6	53.5	16.5	6.3	9.8	7.2	1.1	1.0	-	0.5	-	-	-	-	1.1	0.6	3.9	67	12.9	0.5	53.5	19.4	150.7
T6	N,P <i>Genista</i> form	2.6	-	-	-	-	-	0.6	11.8	0.3	4.4	3.2	0.4	2.4	-	1.1	1.1	2.4	7.1	67	3.1	0.3	11.8	3.4	107.1
T13	N,P <i>Echium</i> sp.	1.3	19.3	29.5	71.1	-	2.7	-	-	7.9	-	-	-	-	-	-	19.5	-	2.6	44	19.3	1.3	71.1	23.3	121.0
T26	N,P <i>Viburnum tinus</i>	-	-	-	-	-	-	0.3	16.2	-	0.9	-	-	-	-	0.5	-	-	-	22	4.5	0.3	16.2	7.8	174.5
T14	N,P <i>Apiaceae</i>	-	-	-	0.2	-	2.2	-	0.4	-	-	3.7	-	-	-	-	-	-	4.5	28	2.2	0.2	4.5	2.0	88.8
T22	N,P <i>Asphodelus ramosus</i> subsp. <i>ramosus</i>	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	11	0.9	0.5	1.3	0.5	57.3
T16	N,P <i>Brassicaceae</i> others	1.3	-	-	-	-	2.7	0.3	-	-	0.4	-	-	-	0.7	-	-	-	1.9	33	1.2	0.3	2.7	1.0	77.9
T17	N,P <i>Lavandula stoechas</i>	-	-	-	-	-	-	-	2.6	-	4.4	0.5	-	-	1.3	0.5	1.1	-	1.3	39	1.7	0.5	4.4	1.4	81.9
T19	N,P <i>Vicia</i> form	-	3.1	0.8	0.7	0.8	6.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28	2.3	0.7	6.0	2.3	102.4
T41	N,P <i>Lupinus angustifolius</i>	-	3.5	0.3	0.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	1.5	0.3	3.5	1.8	119.1
	Other nectariferous taxa	5.8	2.6	0.3	0.5	8.7	6.0	3.2	1.5	4.1	2.7	0.5	3.6	1.2	0.7	1.1	1.7	4.8	11.0	100	3.3	0.3	11.0	3.0	89.9
T15	P <i>Actinidia sinensis</i>	6.5	1.8	0.3	0.5	0.8	4.9	6.9	0.7	10.0	2.7	1.1	4.0	9.0	3.4	1.1	16.1	12.0	1.3	100	4.6	0.3	16.1	4.6	99.7
T2	P <i>Cistus</i> sp.	7.1	1.8	1.0	0.3	10.3	9.8	6.6	0.4	2.4	20.4	9.1	5.8	10.8	12.8	4.4	3.4	6.0	11.6	100	6.9	0.3	20.4	5.2	76.0
T1	P <i>Quercus</i> sp.	29.9	2.6	2.6	0.8	35.7	14.8	13.8	4.4	24.5	11.6	28.3	15.2	28.1	20.8	25.7	7.5	9.6	21.9	100	16.5	0.8	35.7	10.7	64.9
T3	P <i>Castanea sativa</i>	3.9	-	0.3	-	14.3	11.5	6.3	22.1	9.3	6.7	1.6	25.0	1.8	6.0	1.6	2.9	4.2	9.0	89	7.9	0.3	25.0	7.3	91.7
T4	P <i>Fraxinus ornus</i>	8.4	1.3	0.5	-	2.4	-	5.7	1.1	6.9	0.9	3.2	1.8	12.6	10.1	17.5	1.1	22.3	1.3	89	6.1	0.5	22.3	6.6	108.4
T12	P <i>Eucalyptus</i> sp.	1.9	0.9	2.1	1.0	0.8	-	4.3	-	1.4	1.8	1.1	0.4	-	4.7	-	15.5	-	6.5	72	3.3	0.4	15.5	4.1	125.9
T25	P <i>Olea</i> sp.	0.6	0.4	-	-	-	-	1.1	0.7	0.7	-	-	-	0.6	-	0.5	-	1.2	1.3	50	0.8	0.4	1.3	0.3	38.9
T20	P <i>Pistacia lentiscus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	0.6	11	0.6	0.6	0.6	0.0	8.2
T24	P <i>Phillyrea</i> sp.	-	-	-	-	-	-	0.3	13.3	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	17	4.7	0.3	13.3	7.4	157.4
	Other only-polleniferous taxa	1.3	0.4	0.3	0.5	0.8	1.6	1.7	0.7	2.8	2.7	0.5	8.9	4.8	2.7	0.5	2.3	1.2	0.6	100	1.9	0.3	8.9	2.1	110.0
	Indeterminate	3.2	3.9	3.9	1.7	3.2	1.1	4.6	1.1	4.8	1.3	2.7	4.0	8.4	2.0	-	2.9	7.8	2.6	94	3.5	1.1	8.4	2.1	59.9
	Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0						
	Pollen density (10 ³ PG/10 g) ^d	21	41	76	202	25	143	46	115	35	94	20	51	33	64	48	25	149	31		68	20	202	52	77
Physico-chemical data^e																									
	Color	18.0	11.0	18.0	18.0	18.0	35.0	41.0	11.0	11.0	27.0	11.0	35.0	35.0	27.0	41.0	18.0	55.0	46.0		26.4	11.0	55.0	13.6	51.5
	Electrical conductivity	0.24	0.20	0.23	0.25	0.20	0.22	0.31	0.19	0.22	0.20	0.15	0.26	0.27	0.21	0.28	0.21	0.42	0.39		0.2	0.2	0.4	0.1	27.7

Table S1. (Supplementary content) continued.

Melissopalynological data		19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
No. ^a	Taxa	Group II - other "spring" honeys - RF(%) ^c													
T18	N,P <i>Citrus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	N,P <i>Erica arborea</i>	1.3	1.6	0.3	-	-	3.6	-	5.1	0.2	1.0	5.9	11.3	14.6	4.4
T8	N,P <i>Salix</i> sp.	-	5.9	0.3	0.3	1.4	1.1	-	-	0.9	0.2	21.9	4.8	29.9	-
T11	N,P <i>Prunus</i> form	-	0.7	-	1.3	1.4	0.4	1.2	-	-	-	3.3	-	2.0	-
T7	N,P <i>Lotus</i> sp.	2.0	0.3	4.4	6.8	3.2	8.2	2.0	0.6	0.7	16.4	-	11.3	-	1.3
T10	N,P <i>Rubus</i> sp.	7.9	0.7	0.7	10.0	9.5	-	10.6	5.7	4.4	5.2	3.0	2.7	-	-
T9	N,P <i>Trifolium</i> sp.	19.3	4.9	44.1	39.4	37.6	3.2	8.1	15.9	22.2	16.6	0.7	1.7	-	-
T6	N,P <i>Genista</i> form	1.5	2.3	1.0	3.9	5.7	31.5	1.2	-	2.8	0.7	3.7	4.8	28.6	28.8
T13	N,P <i>Echium</i> sp.	12.4	-	3.7	2.3	4.1	2.9	30.1	8.9	3.5	1.7	6.7	-	-	0.6
T26	N,P <i>Viburnum tinus</i>	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	3.7	-
T14	N,P <i>Apiaceae</i>	8.4	2.6	0.3	0.6	0.5	7.5	4.9	0.6	11.0	1.0	0.4	1.4	-	-
T22	N,P <i>Asphodelus ramosus</i> subsp. <i>ramosus</i>	0.3	2.9	0.3	-	0.3	0.7	-	0.6	0.2	0.2	-	0.3	-	0.6
T16	N,P <i>Brassicaceae</i> others	1.5	14.7	1.7	4.2	1.6	5.4	-	-	6.8	1.7	5.2	-	0.7	-
T17	N,P <i>Lavandula stoechas</i>	0.8	0.7	-	-	-	-	-	-	1.6	-	0.7	1.7	2.0	0.6
T19	N,P <i>Vicia</i> form	2.0	0.3	1.7	1.6	2.2	3.6	11.8	7.6	2.6	7.9	0.7	-	-	-
T41	N,P <i>Lupinus angustifolius</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.9	-	-	-	-
	Other nectariferous taxa	3.6	6.2	6.8	8.4	8.6	2.2	8.1	8.9	6.5	5.5	1.9	1.0	1.7	10.0
T15	P <i>Actinidia sinensis</i>	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-	-
T2	P <i>Cistus</i> sp.	14.2	5.5	10.5	7.7	14.3	7.2	8.9	18.5	13.8	8.2	15.6	4.8	0.3	4.4
T1	P <i>Quercus</i> sp.	19.8	29.0	2.0	2.3	1.4	1.8	7.3	8.3	13.1	6.5	8.6	17.9	4.8	7.5
T3	P <i>Castanea sativa</i>	0.3	14.7	18.3	7.1	5.1	4.7	0.8	7.0	7.2	4.0	11.9	24.4	1.0	33.8
T4	P <i>Fraxinus ornus</i>	0.5	0.7	0.3	0.3	0.3	0.7	0.4	2.5	0.5	-	3.3	0.3	2.0	0.6
T12	P <i>Eucalyptus</i> sp.	-	0.3	-	0.3	-	-	0.4	-	0.5	0.7	-	0.7	3.4	-
T25	P <i>Olea</i> sp.	3.6	-	1.0	0.6	-	-	0.8	0.6	-	-	-	-	-	-
T20	P <i>Pistacia lentiscus</i>	0.5	2.3	-	-	-	9.3	-	0.6	0.7	-	4.5	1.0	4.1	4.4
T24	P <i>Phillyrea</i> sp.	-	0.7	-	-	-	2.9	-	-	-	-	0.4	2.1	-	1.9
	Other only-polleniferous taxa	-	0.3	0.3	1.0	-	0.4	0.8	1.3	-	0.7	1.1	4.5	0.3	-
	Indeterminate	0.3	2.3	2.0	1.9	3.0	2.9	2.4	7.0	0.7	2.0	0.4	2.1	0.7	1.3
	Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	Pollen density (10 ³ PG/10 g) ^d	235	36	219	254	603	60	54	63	78	66	146	60	57	32
Physico-chemical data^e															
	Color	18.0	27.0	41.0	41.0	62.0	18.0	18.0	18.0	35.0	18.0	35.0	18.0	41.0	18.0
	Electrical conductivity	0.16	0.17	0.23	0.22	0.34	0.16	0.21	0.20	0.29	0.17	0.25	0.18	0.20	0.18

Table S1. (Supplementary content) continued.

Melissopalynological data		33	34	35	36	37	38	39	40	41	PR	Mean	Min.	Max.	SD	CV
No. ^a	Taxa	Group II - other "spring" honeys - RF(%) ^c														
T18	N,P <i>Citrus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	N,P <i>Erica arborea</i>	21.3	-	8.1	11.9	8.8	5.6	29.7	10.9	6.1	83	8.0	0.2	29.7	7.6	94.9
T8	N,P <i>Salix</i> sp.	15.0	-	2.7	18.3	2.8	-	0.5	0.7	-	70	6.7	0.2	29.9	9.3	139.4
T11	N,P <i>Prunus</i> form	-	-	1.0	0.8	0.4	0.3	0.5	2.2	-	57	1.2	0.3	3.3	0.9	75.5
T7	N,P <i>Lotus</i> sp.	-	2.6	7.8	-	4.6	52.8	-	3.4	1.8	78	7.2	0.3	52.8	12.1	167.5
T10	N,P <i>Rubus</i> sp.	0.4	11.7	2.0	-	0.7	-	-	0.4	1.3	74	4.5	0.4	11.7	4.0	88.4
T9	N,P <i>Trifolium</i> sp.	0.4	33.8	8.1	-	1.1	-	-	0.7	-	74	15.2	0.4	44.1	15.2	100.2
T6	N,P <i>Genista</i> form	5.4	0.6	5.1	10.1	2.5	9.8	1.9	4.5	8.8	96	7.5	0.6	31.5	9.4	125.3
T13	N,P <i>Echium</i> sp.	-	2.6	-	2.1	1.8	0.7	-	-	14.0	70	6.1	0.6	30.1	7.5	123.2
T26	N,P <i>Viburnum tinus</i>	0.4	-	0.3	-	0.4	0.3	0.5	0.4	0.9	43	0.8	0.3	3.7	1.1	127.7
T14	N,P <i>Apiaceae</i>	-	1.9	-	1.0	2.8	7.5	17.5	11.2	4.8	83	4.5	0.3	17.5	4.8	106.0
T22	N,P <i>Asphodelus ramosus</i> subsp. <i>ramosus</i>	0.4	0.6	-	0.3	1.8	-	-	0.4	0.9	70	0.7	0.2	2.9	0.7	104.1
T16	N,P <i>Brassicaceae</i> others	-	1.9	-	-	1.8	-	-	1.1	0.4	61	3.5	0.4	14.7	3.8	108.2
T17	N,P <i>Lavandula stoechas</i>	0.4	-	3.0	0.5	1.1	-	0.5	10.1	-	57	1.8	0.4	10.1	2.6	142.4
T19	N,P <i>Vicia</i> form	-	0.6	0.3	-	-	-	-	-	-	57	3.3	0.3	11.8	3.6	107.6
T41	N,P <i>Lupinus angustifolius</i>	-	-	0.7	-	-	-	-	-	-	9	9.8	0.7	18.9	12.9	131.6
	Other nectariferous taxa	1.3	6.5	8.4	2.3	4.2	5.6	4.7	4.5	2.6	100	5.2	1.0	10.0	2.8	53.5
T15	P <i>Actinidia sinensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	0.5	0.3	0.7	0.3	55.3
T2	P <i>Cistus</i> sp.	4.2	9.7	8.4	4.9	2.1	5.2	8.5	13.9	33.3	100	9.8	0.3	33.3	6.9	70.9
T1	P <i>Quercus</i> sp.	20.0	1.3	8.1	23.3	24.7	9.2	11.8	3.7	10.5	100	10.6	1.3	29.0	8.1	77.2
T3	P <i>Castanea sativa</i>	14.2	17.5	20.9	10.6	29.0	-	-	16.1	5.7	91	12.1	0.3	33.8	9.4	77.4
T4	P <i>Fraxinus ornus</i>	1.3	0.6	-	3.1	1.8	0.3	1.9	1.1	0.4	91	1.1	0.3	3.3	1.0	87.6
T12	P <i>Eucalyptus</i> sp.	-	1.3	0.3	0.3	0.7	-	-	1.1	2.6	57	1.0	0.3	3.4	1.0	99.3
T25	P <i>Olea</i> sp.	-	1.3	-	-	-	-	-	-	-	26	1.3	0.6	3.6	1.1	84.3
T20	P <i>Pistacia lentiscus</i>	7.5	-	2.4	6.2	0.7	-	1.9	4.5	2.2	70	3.3	0.5	9.3	2.7	80.4
T24	P <i>Phillyrea</i> sp.	3.3	-	3.7	1.3	0.4	-	9.9	4.1	0.4	52	2.6	0.4	9.9	2.7	103.5
	Other only-polleniferous taxa	-	0.6	2.7	1.6	1.8	0.3	8.5	2.2	2.2	78	1.7	0.3	8.5	2.0	117.8
	Indeterminate	4.6	4.5	5.7	1.6	4.2	2.3	1.9	2.6	0.9	100	2.5	0.3	7.0	1.7	69.4
	Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0						
	Pollen density (10 ³ PG/10 g) ^d	65	60	101	69	39	26	22	66	46		107	22	603	126	118
Physico-chemical data^e																
	Color	27.0	41.0	27.0	71.0	18.0	55.0	51.0	18.0	51.0		33.3	18.0	71.0	16.3	48.7
	Electrical conductivity	0.23	0.45	0.22	0.38	0.18	0.32	0.29	0.13	0.44		0.2	0.1	0.5	0.1	37.0

^a Taxa number is given in Table 1

^d Pollen density expressed as the absolute number of pollen grains in 10 g of honey (10³ PG/10 g)

^b Sample number is given in Section 2

^e Unity of parameters: colour (mm Pfund); electrical conductivity (mS/cm)

^c RF expressed as percentage of the pollen counted in the pollen spectrum

Table S2. (Supplementary content) Chemical composition of volatile fraction of Corsican "spring" honeys.

No ^a	Components*	RI (Lit) ^b	RI ^c	Percentage (%) ^d													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
C1	3-Methyl-3-buten-1-ol	711	704	2.7	0.3	3.6	2.5	3.5	1.8	0.9	11.3	5.1	3.0	0.5	0.6	2.3	1.9
C2	Methyl-benzene	745	741	4.5	2.6	4.9	4.1	10.4	3.3	2.4	15.6	1.5	7.8	12.5	2.1	5.7	9.8
C3	Hexanal	777	773	0.6	0.5	2.0	1.3	0.8	0.7	1.2	1.6	1.1	1.0	1.5	0.5	1.7	1.1
C4	Octane	800	790	1.2	1.5	2.8	2.3	4.7	1.4	1.0	1.1	0.6	0.3	1.2	0.5	1.7	0.5
C5	3-Furaldehyde	799	800	4.2	2.2	3.5	2.9	4.8	3.1	4.4	3.7	0.7	1.3	1.1	0.9	2.0	2.4
C6	2-Methyl butanoic acid	860	858	0.2	0.1	1.5	0.9	0.3	3.3	1.2	0.4	0.3	0.2	-	2.4	0.2	0.2
C7	2-Methyl octane	868	873	0.1	tr	0.5	0.2	0.2	0.9	0.8	0.3	0.2	0.2	0.4	0.8	0.4	0.2
C8	Nonane	900	893	0.4	0.5	0.5	0.3	1.9	0.2	0.2	1.4	0.7	0.5	2.5	0.2	0.3	0.9
C9	Benzaldehyde	929	924	3.9	4.0	4.6	2.8	3.8	17.9	5.6	6.0	3.0	4.0	3.6	7.3	2.4	4.8
C10	Hexanoic acid	975	969	1.0	0.9	1.4	0.8	0.7	0.8	0.6	0.4	0.5	0.5	0.4	0.5	0.9	0.6
C11	Octanal	981	982	0.7	0.6	1.6	1.5	0.9	1.2	2.1	0.8	1.3	0.6	0.8	1.5	0.7	0.8
C12	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	995	992	1.3	0.4	1.1	0.9	2.2	0.6	1.7	2.4	0.6	1.6	0.7	0.9	1.0	1.6
C13	<i>p</i> -Methylanisol	1004	995	0.8	0.4	0.3	0.4	0.5	0.1	0.6	1.0	0.3	0.8	-	0.9	0.8	1.5
C14	Phenylacetaldehyde	1012	1006	2.7	3.2	4.5	3.0	6.4	5.5	6.1	4.3	9.8	32.1	39.1	8.1	10.0	19.7
C15	<i>p</i> -Cymene	1015	1008	-	0.5	1.0	0.7	-	-	0.8	-	0.9	-	-	0.5	-	-
C16	Acetophenone	1036	1037	0.2	0.4	0.1	0.2	-	0.3	0.3	-	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3
C17	<i>trans</i> -Furanoid-linaloxide	1058	1049	1.3	1.9	4.0	3.9	1.3	2.1	1.5	0.8	0.9	0.8	0.8	1.2	0.9	0.8
C18	<i>cis</i> -Furanoid-linaloxide	1072	1064	1.2	1.0	2.0	2.0	1.2	1.2	1.4	0.7	0.8	0.7	0.7	1.0	0.9	0.8
C19	β -Phenylethanol	1085	1077	5.8	-	-	-	-	5.6	2.6	-	5.3	-	-	5.7	3.1	-
C20	Nonanal	1076	1079	2.2	2.3	1.4	0.9	1.6	1.4	0.9	7.6	1.8	2.9	3.0	2.1	5.2	3.6
C21	Linalol	1086	1084	-	1.8	6.6	1.8	0.2	-	2.6	-	-	1.2	2.3	4.2	-	1.4
C22	Hotrienol	1083	1085	-	1.9	3.4	10.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C23	Isophorone	1100	1087	-	tr	tr	-	-	2.5	2.7	-	4.9	4.2	-	0.2	-	3.0
C24	4-Oxoisophorone	1111	1102	0.9	0.5	0.9	0.9	-	0.8	1.1	-	0.9	1.4	0.3	0.4	0.8	1.2
C25	(2 <i>S</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1124	1112	7.9	8.9	2.9	8.2	8.5	4.0	4.4	3.3	7.4	4.5	2.5	7.9	4.1	5.9
C26	Dihydrolinalool	1118	1116	tr	0.8	3.0	1.9	-	1.5	1.1	-	0.9	0.9	0.5	0.7	0.9	0.9
C27	(2 <i>R</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1133	1121	14.8	16.5	5.6	12.8	14.2	7.4	8.9	5.8	13.8	8.1	4.9	14.7	6.9	10.1
C28	(2 <i>R</i> , 2' <i>R</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1146	1134	7.3	8.1	2.4	5.9	6.7	3.3	4.1	2.8	6.6	3.9	2.2	6.5	3.1	4.6
C29	Octanoic acid	1156	1167	0.3	2.8	6.0	4.5	1.2	1.4	1.9	0.6	1.6	0.5	tr	0.9	1.6	1.5
C30	Decanal	1180	1174	2.8	0.9	1.1	1.1	-	2.2	1.0	1.3	1.3	1.0	tr	1.5	0.2	-
C31	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 1)	1188	1184	2.2	1.2	2.0	1.9	1.8	2.5	1.3	1.5	1.9	1.4	2.0	2.7	1.9	2.1
C32	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 2)	1190	1186	2.1	1.6	2.5	2.1	2.0	1.8	1.7	0.5	2.1	1.0	1.6	2.2	1.6	1.8
C33	<i>p</i> -Anisaldehyde	1218	1208	0.3	0.1	0.3	0.1	-	0.2	0.3	-	0.2	1.3	-	0.3	0.3	1.4

Table S2. (Supplementary content) continued.

No ^a	Components*	RI (Lit) ^b	RI ^c	Percentage (%) ^d													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
C34	2,3,5-Trimethylphenol	1242	1248	-	0.1	0.2	0.4	-	0.5	0.4	-	0.2	-	-	0.2	0.3	-
C35	4-n-Propylanisol	1254	1264	3.1	0.2	1.5	0.5	-	0.4	5.6	-	1.3	1.1	1.3	1.0	0.5	0.7
C36	Nonanoic acid	1263	1271	3.3	1.0	4.9	0.8	4.6	3.0	4.1	2.5	3.6	0.5	-	2.3	3.4	1.5
C37	3,4,5-Trimethylphenol	-	1290	0.4	0.3	0.2	0.2	-	0.4	1.4	-	0.7	-	-	0.3	0.4	0.4
C38	Methyl anthranilate	1308	1300	2.4	0.8	0.3	0.9	0.9	0.2	0.6	0.5	1.4	1.6	2.6	0.7	3.5	2.2
C39	<i>cis-p</i> -Mentha-1(7),8-dien-1-hydroperoxide	-	1348	0.3	0.4	0.4	0.5	-	0.3	0.2	-	0.2	0.7	-	0.5	0.4	0.4
C40	Decanoic acid	1353	1362	0.8	1.4	1.6	1.7	0.9	2.1	1.8	0.8	1.4	1.4	-	0.6	0.7	1.0
C41	Methyl 3,5-dimethoxybenzoate	-	1494	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C42	Methyl syringate	-	1722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C43	Tricosane	2300	2305	0.5	0.1	0.2	-	-	0.2	0.2	-	0.2	-	0.5	-	0.5	-
Total identification (%)				85.4	74.7	90.3	92.3	91.2	92.1	88.7	87.0	95.2	103.2	100.7	97.6	84.5	105.6
Total peak area^g				2.2E+06	5.5E+06	3.2E+06	3.6E+06	1.3E+06	4.8E+06	6.3E+06	1.4E+06	5.7E+06	2.7E+06	2.0E+06	6.3E+06	2.7E+06	2.4E+06
Hydrocarbons				8.0	5.6	11.0	8.5	19.4	6.6	7.1	20.8	4.7	10.4	17.8	5.0	9.6	13.0
Oxygenated compounds				76.4	67.1	76.3	79.8	66.8	79.5	74.6	58.2	81.5	82.8	71.9	80.6	61.9	78.6
Phenolic compounds				24.1	12.6	17.9	13.3	22.0	34.4	26.7	27.4	24.8	48.9	59.3	27.2	27.2	40.8
Furan compounds				36.7	38.6	20.4	35.7	36.7	21.1	24.7	17.1	30.2	19.3	12.2	32.2	17.9	24.6
Linear compounds				18.1	16.0	36.6	32.1	23.5	22.7	20.7	32.5	21.2	15.1	12.0	16.0	21.7	16.3
Terpenic compounds				37.1	44.6	35.8	52.2	35.9	24.1	28.0	15.4	35.5	23.2	17.5	42.1	20.7	28.8
Ketones				1.1	0.9	1.0	1.1	0.0	3.6	4.1	0.0	6.0	5.8	0.5	0.7	1.0	4.5
Aldehydes				51.7	50.1	34.4	44.5	51.5	51.2	42.0	39.2	51.0	63.1	62.3	56.2	40.1	58.3
Esters				2.4	0.8	0.3	0.9	0.9	0.2	0.6	0.5	1.4	1.6	2.6	0.7	3.5	2.2
Alcohols				8.9	7.1	20.4	27.8	3.7	9.8	9.0	11.3	12.2	5.1	3.3	11.7	7.0	4.6
Acids				5.6	6.2	15.4	8.7	7.7	10.6	9.6	4.7	7.4	3.1	0.4	6.7	6.8	4.8
Oxides				6.7	3.9	8.2	7.3	3.0	4.1	9.3	2.5	3.5	4.1	2.8	4.6	3.5	4.2

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1)

^b Retention indice of literature on the apolar column reported from references (Konig *et al.*, 2001 [1]; NIST, 2008 [2])

^c Retention indice on the Rtx-1 apolar column

^d Compound values expressed as percentages.

^g Total peak area was expressed in arbitrary units

References

[1] Konig, W.A.; Hochmuth, D.H.; Joulain, D. Terpenoids and Related Constituents of Essential oils; Library of Mass Finder 2.1, Institute of Organic Chemistry: Hamburg, Germany, 2001.

[2] National Institute of Standards and Technology (NIST). Spectral Database for Organic Compounds.

In NIST Chemistry WebBook; Available online: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (accessed on 01 September 2013).

Table S2. (Supplementary content) continued.

No ^a	Components*	RI (Lit) ^b	RI ^c	Percentage (%) ^d													
				15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
C1	3-Methyl-3-buten-1-ol	711	704	6.7	0.4	2.1	1.4	0.5	3.7	0.8	0.6	0.5	2.4	2.6	3.0	0.4	6.0
C2	Methyl-benzene	745	741	14.1	3.0	6.2	2.7	1.5	7.1	3.0	6.3	2.5	5.1	4.9	10.1	1.6	10.3
C3	Hexanal	777	773	0.8	0.5	1.3	1.5	2.1	6.3	0.4	1.1	0.3	2.0	1.0	0.6	1.1	2.8
C4	Octane	800	790	0.8	0.5	1.2	2.2	3.3	2.2	2.6	5.4	0.8	1.4	5.4	5.6	1.6	2.5
C5	3-Furaldehyde	799	800	3.2	0.6	5.9	3.0	2.9	5.9	4.5	1.9	3.2	2.5	2.4	3.3	2.8	2.8
C6	2-Methyl butanoic acid	860	858	0.3	0.7	0.4	0.1	0.9	1.1	0.5	0.3	0.4	2.3	3.7	2.1	3.8	0.4
C7	2-Methyl octane	868	873	0.2	0.5	0.9	0.5	0.9	0.7	-	0.2	0.1	0.7	0.9	0.9	0.5	0.4
C8	Nonane	900	893	0.6	0.3	0.3	1.0	0.6	1.7	2.3	1.9	0.4	0.2	1.1	2.1	1.9	1.6
C9	Benzaldehyde	929	924	6.5	5.3	8.0	5.5	14.5	10.2	5.1	18.4	2.5	7.0	3.8	7.2	15.5	6.0
C10	Hexanoic acid	975	969	0.7	0.7	0.9	0.5	3.3	0.8	1.1	1.0	1.6	0.8	1.3	1.4	0.8	0.9
C11	Octanal	981	982	0.8	0.9	0.2	1.7	0.5	0.5	0.9	0.8	0.5	1.8	1.4	1.6	3.8	0.8
C12	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	995	992	1.3	0.5	0.5	4.4	0.2	1.3	3.7	3.5	0.6	0.3	4.5	5.2	0.3	5.0
C13	<i>p</i> -Methylanisol	1004	995	4.9	0.3	0.5	0.2	0.2	0.7	-	0.4	0.3	0.9	0.1	0.6	0.1	1.8
C14	Phenylacetaldehyde	1012	1006	3.9	13.1	0.8	20.9	22.1	20.3	26.9	26.7	20.3	32.9	18.1	14.5	16.9	29.0
C15	<i>p</i> -Cymene	1015	1008	-	0.8	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C16	Acetophenone	1036	1037	-	0.2	0.2	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C17	<i>trans</i> -Furanoid-linaloxide	1058	1049	0.9	1.2	1.8	1.8	2.8	3.5	3.2	2.8	2.9	2.5	3.0	2.5	2.2	2.9
C18	<i>cis</i> -Furanoid-linaloxide	1072	1064	1.1	0.8	1.2	1.2	1.2	1.4	1.4	1.2	1.6	1.1	1.4	1.2	1.3	1.1
C19	β -Phenylethanol	1085	1077	-	3.3	2.2	-	-	-	-	-	-	2.7	2.7	-	-	-
C20	Nonanal	1076	1079	3.4	1.2	3.9	5.1	7.2	0.4	tr	-	-	2.1	0.9	5.3	2.0	2.6
C21	Linalol	1086	1084	1.5	-	-	17.8	3.7	3.2	23.7	12.9	32.3	-	-	6.2	14.2	7.6
C22	Hotrienol	1083	1085	-	0.7	-	-	-	-	-	-	-	-	9.7	-	-	-
C23	Isophorone	1100	1087	1.3	2.1	4.5	0.1	3.1	12.2	tr	-	0.2	2.4	-	0.2	0.1	-
C24	4-Oxoisophorone	1111	1102	1.4	0.8	1.2	1.3	1.2	2.3	2.0	1.3	1.7	0.6	1.7	1.1	1.2	0.8
C25	(2 <i>S</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1124	1112	4.4	6.1	1.3	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C26	Dihydrolinalool	1118	1116	tr	1.6	1.3	1.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C27	(2 <i>R</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1133	1121	10.7	11.9	11.8	2.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C28	(2 <i>R</i> , 2' <i>R</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1146	1134	3.3	5.3	5.8	1.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C29	Octanoic acid	1156	1167	2.0	0.3	0.8	2.5	1.1	1.0	2.2	1.6	1.1	2.5	1.7	1.3	1.1	1.3
C30	Decanal	1180	1174	-	0.5	0.9	2.3	1.9	0.8	1.8	0.7	0.6	1.0	1.6	2.1	1.4	2.0
C31	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 1)	1188	1184	1.9	2.2	2.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C32	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 2)	1190	1186	1.8	1.6	1.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C33	<i>p</i> -Anisaldehyde	1218	1208	4.6	0.2	0.3	-	-	-	-	-	-	0.6	0.4	0.2	0.3	-

Table S2. (Supplementary content) continued.

No ^a	Components*	RI (Lit) ^b	RI ^c	Percentage (%) ^d													
				15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
C34	2,3,5-Trimethylphenol	1242	1248	-	0.1	1.1	-	0.6	0.8	-	-	-	0.3	-	-	0.1	-
C35	4-n-Propylanisol	1254	1264	5.7	0.3	1.5	-	-	2.3	-	-	-	1.4	-	-	-	-
C36	Nonanoic acid	1263	1271	3.6	1.0	3.2	2.9	3.2	-	2.3	2.0	1.9	4.9	3.7	2.9	2.7	2.6
C37	3,4,5-Trimethylphenol	-	1290	-	0.5	0.5	0.1	2.0	4.1	-	-	-	0.7	-	-	0.3	-
C38	Methyl anthranilate	1308	1300	1.4	2.5	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C39	<i>cis-p</i> -Mentha-1(7),8-dien-1-hydroperoxide	-	1348	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C40	Decanoic acid	1353	1362	0.7	1.0	1.3	-	1.6	0.1	1.3	0.7	1.9	1.1	1.8	tr	1.1	1.9
C41	Methyl 3,5-dimethoxybenzoate	-	1494	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	0.8	0.7	0.3	0.3	0.6
C42	Methyl syringate	-	1722	-	-	-	0.2	0.1	1.4	0.1	-	-	2.5	0.1	0.5	0.1	1.2
C43	Tricosane	2300	2305	-	-	0.5	-	-	0.5	-	-	0.6	0.2	-	-	-	0.6
Total identification (%)				109.5	89.8	96.2	105.7	102.2	116.5	110.8	113.7	101.8	111.7	105.6	108.0	106.5	123.5
Total peak area^g				1.8E+06	7.4E+06	5.2E+06	2.8E+06	3.9E+06	2.2E+06	8.4E+05	1.1E+06	2.6E+06	3.2E+06	2.0E+06	2.8E+06	4.0E+06	1.4E+06
Hydrocarbons				17.0	5.6	9.7	10.8	6.5	13.5	11.6	17.3	5.0	7.9	16.8	23.9	5.9	20.4
Oxygenated compounds				77.5	68.2	69.5	76.9	76.6	83.0	78.1	74.4	73.8	79.8	63.7	58.1	76.6	75.1
Phenolic compounds				41.1	29.6	22.0	30.3	40.9	46.9	35.0	51.8	25.6	54.9	30.7	33.4	35.1	48.9
Furan compounds				23.6	25.9	27.8	11.0	6.9	10.8	9.1	5.9	7.7	6.1	6.8	7.0	9.4	6.8
Linear compounds				21.9	11.3	19.7	27.2	27.3	21.1	19.9	19.8	11.3	23.7	31.6	34.1	22.5	31.4
Terpenic compounds				25.6	32.5	27.3	26.9	7.7	8.1	28.3	16.9	36.8	3.6	4.4	9.9	20.8	11.6
Ketones				2.7	3.1	5.9	1.8	4.3	14.5	2.0	1.3	1.9	3.0	11.4	1.3	1.3	0.8
Aldehydes				45.3	49.4	44.2	45.0	51.2	44.4	39.6	49.6	27.4	49.9	29.6	34.8	46.9	46.0
Esters				1.4	2.5	0.6	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.7	0.3	0.3	0.6
Alcohols				8.2	7.3	7.2	20.4	6.8	11.8	24.5	13.5	32.8	6.1	5.3	9.2	15.0	13.6
Acids				7.3	3.7	6.6	6.0	10.1	3.0	7.4	5.6	6.9	11.6	12.2	7.7	9.5	7.1
Oxides				12.6	2.9	5.0	3.4	4.2	9.3	4.6	4.4	4.8	8.4	4.5	4.8	3.6	7.0

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1)

^b Retention indice of literature on the apolar column reported from references (Konig *et al.*, 2001 [1]; NIST, 2008 [2])

^c Retention indice on the Rtx-1 apolar column

^d Compound values expressed as percentages.

^g Total peak area was expressed in arbitrary units

Table S2. (Supplementary content) continued.

No ^a	Components*	RI (Lit) ^b	RI ^c	Percentage (%) ^d												
				29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
C1	3-Methyl-3-buten-1-ol	711	704	0.4	1.8	3.8	1.9	0.7	2.0	2.8	1.0	1.2	1.6	2.2	0.8	2.0
C2	Methyl-benzene	745	741	4.7	2.6	17.3	10.4	2.4	4.7	10.4	2.6	8.5	5.4	2.9	8.4	6.2
C3	Hexanal	777	773	0.5	4.5	0.9	1.7	0.8	-	1.9	0.1	2.0	0.4	0.6	3.4	1.2
C4	Octane	800	790	0.9	1.4	1.2	2.2	0.5	0.7	1.4	0.3	3.2	0.5	0.8	2.6	4.6
C5	3-Furaldehyde	799	800	2.8	8.0	8.3	3.4	3.3	2.4	18.5	2.5	3.1	3.0	2.8	2.6	3.1
C6	2-Methyl butanoic acid	860	858	2.8	1.4	2.5	1.9	2.6	0.3	2.4	-	3.3	7.0	7.6	20.4	4.2
C7	2-Methyl octane	868	873	0.8	0.7	0.7	0.8	1.2	-	1.6	0.3	1.7	0.3	0.1	0.5	1.2
C8	Nonane	900	893	0.2	3.5	1.6	0.9	0.8	1.1	3.8	1.1	3.1	1.4	1.0	1.7	1.6
C9	Benzaldehyde	929	924	17.5	9.8	13.3	7.6	14.8	6.6	3.0	8.1	7.6	13.5	5.4	4.9	5.1
C10	Hexanoic acid	975	969	0.4	1.4	0.5	0.7	0.3	2.7	-	0.5	1.0	3.2	3.9	1.1	1.7
C11	Octanal	981	982	0.8	1.0	1.3	1.2	0.7	1.2	1.0	0.5	1.4	0.7	-	6.6	1.3
C12	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	995	992	tr	2.8	1.4	0.2	0.1	2.4	15.6	-	2.9	0.3	0.5	1.7	0.4
C13	<i>p</i> -Methylanisol	1004	995	0.2	1.5	6.1	0.9	0.5	-	-	0.8	0.1	3.0	0.3	0.3	0.4
C14	Phenylacetaldehyde	1012	1006	25.7	24.2	3.7	36.2	25.7	11.9	13.0	14.3	18.9	7.2	15.1	14.6	17.7
C15	<i>p</i> -Cymene	1015	1008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	1.2	tr	-
C16	Acetophenone	1036	1037	0.3	-	0.2	-	0.5	-	-	0.2	-	-	-	-	-
C17	<i>trans</i> -Furanoid-linaloxide	1058	1049	1.0	1.3	1.1	1.7	1.2	6.3	-	0.5	2.6	0.6	0.8	1.2	1.8
C18	<i>cis</i> -Furanoid-linaloxide	1072	1064	0.5	0.9	0.8	0.9	0.8	1.3	-	0.9	0.8	1.2	0.7	1.1	1.2
C19	β -Phenylethanol	1085	1077	2.1	-	-	-	1.6	-	-	-	-	-	-	-	5.8
C20	Nonanal	1076	1079	1.4	3.4	0.5	0.8	1.3	tr	2.9	3.5	tr	2.7	1.0	6.6	1.4
C21	Linalol	1086	1084	-	2.1	-	4.3	-	29.6	tr	0.3	6.3	-	0.5	2.2	-
C22	Hotrienol	1083	1085	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C23	Isophorone	1100	1087	8.6	tr	1.3	1.7	8.8	-	-	19.8	9.6	20.9	29.3	5.3	7.3
C24	4-Oxoisophorone	1111	1102	1.2	0.8	1.6	0.3	2.3	5.0	-	5.6	2.0	4.3	6.4	1.4	1.6
C25	(2 <i>S</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1124	1112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C26	Dihydrolinalool	1118	1116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C27	(2 <i>R</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1133	1121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C28	(2 <i>R</i> , 2' <i>R</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1146	1134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C29	Octanoic acid	1156	1167	0.8	3.8	0.7	1.5	0.9	1.9	4.7	1.3	1.2	1.1	0.3	0.8	2.1
C30	Decanal	1180	1174	0.8	1.1	0.8	1.4	0.8	-	-	0.7	2.0	0.6	0.2	1.8	1.7
C31	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 1)	1188	1184	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C32	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al (isomer 2)	1190	1186	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C33	<i>p</i> -Anisaldehyde	1218	1208	0.5	-	0.8	-	0.3	-	-	1.0	-	1.1	1.0	-	0.3

Table S2. (Supplementary content) continued.

No ^a	Components*	RI (Lit) ^b	RI ^c	Percentage (%) ^d												
				29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
C34	2,3,5-Trimethylphenol	1242	1248	1.0	2.0	-	0.5	0.8	-	-	2.0	-	0.4	-	-	
C35	4-n-Propylanisol	1254	1264	3.8	-	6.3	-	1.9	-	-	4.3	-	2.9	0.8	-	
C36	Nonanoic acid	1263	1271	1.6	3.8	3.1	3.7	2.6	1.3	-	3.7	2.2	2.5	1.4	4.0	
C37	3,4,5-Trimethylphenol	-	1290	-	0.3	-	0.1	3.7	-	-	9.4	-	2.9	7.0	-	
C38	Methyl anthranilate	1308	1300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C39	<i>cis-p</i> -Mentha-1(7),8-dien-1-hydroperoxide	-	1348	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C40	Decanoic acid	1353	1362	2.1	6.8	1.0	1.0	1.5	0.6	3.8	1.9	-	1.1	1.9	0.7	
C41	Methyl 3,5-dimethoxybenzoate	-	1494	0.5	-	-	0.3	0.3	-	-	0.2	0.4	-	0.7	0.6	
C42	Methyl syringate	-	1722	4.1	0.7	-	1.9	0.5	-	-	0.3	0.4	0.1	0.4	0.7	
C43	Tricosane	2300	2305	0.3	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.7	
Total identification (%)				117.3	121.6	111.8	122.1	117.2	116.0	121.8	124.2	122.5	128.5	135.8	136.7	123.5
Total peak area^g				2.2E+06	1.2E+06	1.9E+06	4.4E+06	4.5E+06	1.6E+06	3.3E+05	4.0E+06	1.9E+06	1.6E+06	2.3E+06	1.4E+06	3.3E+06
Hydrocarbons				6.9	11.0	22.2	14.5	5.0	8.9	32.8	4.8	19.4	8.5	6.5	15.6	14.0
Oxygenated compounds				81.4	80.6	58.6	75.6	79.2	81.7	54.0	83.4	66.1	81.9	90.3	81.1	68.5
Phenolic compounds				60.4	41.1	47.7	57.9	53.0	23.2	26.4	43.2	35.9	37.0	34.8	29.5	36.4
Furan compounds				4.3	10.2	10.2	6.0	5.3	10.0	18.5	3.9	6.5	4.8	4.3	4.9	6.1
Linear compounds				13.8	37.4	20.0	19.9	14.8	22.8	41.9	15.4	25.2	23.4	21.5	53.4	31.1
Terpenic compounds				1.5	4.3	1.9	6.9	2.0	45.8	0.0	1.7	9.7	2.4	3.2	4.5	3.0
Ketones				10.1	0.8	3.1	2.0	11.6	5.0	0.0	25.6	11.6	25.2	35.7	6.7	8.9
Aldehydes				50.0	52.0	29.6	52.3	47.7	22.1	40.3	30.7	35.0	29.2	26.1	40.5	31.8
Esters				0.5	0.0	0.0	0.3	0.3	0.0	0.0	0.2	0.4	0.0	0.7	0.6	0.3
Alcohols				7.3	6.2	3.8	6.8	6.8	40.2	2.8	12.7	7.5	4.9	9.7	3.0	8.1
Acids				7.7	17.2	7.8	8.8	7.9	6.8	10.9	7.4	7.7	14.9	15.1	27.0	15.7
Oxides				5.8	4.4	14.3	5.4	4.9	7.6	0.0	6.8	3.9	7.7	3.0	3.3	3.7

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1)

^b Retention indice of literature on the apolar column reported from references (Konig *et al.*, 2001 [1]; NIST, 2008 [2])

^c Retention indice on the Rtx-1 apolar column

^d Compound values expressed as percentages.

^g Total peak area was expressed in arbitrary units

Miels de « maquis d'été »

D'un point de vue pollinique, les miels de « maquis d'été » présentent une forte complexité avec de nombreuses espèces végétales référencées ; cette diversité se retrouve au niveau de la composition chimique des fractions volatiles. Des corrélations ont été mises en évidence entre les apports nectarifères d'*Anthyllis hermanniae* et de *Rubus* sp. et la teneur en phénylacétaldéhyde. Ce dernier a été rapporté comme composé majoritaire des miels monofloraux d'*Anthyllis cytisoides* (De la Fuente *et al.*, 2007). Nous avons constaté des concentrations élevées en acétophénone et en 2-aminoacétophénone - composés caractéristiques des miels de châtaignier - dans certains échantillons de ces miels classés comme « maquis d'été ». Dans les spectres polliniques de ces miels, nous avons également relevé des FR élevées en pollen de *Castanea sativa* ; ces observations confirment la contribution nectarifère de *C. sativa* dans ces échantillons. Enfin, nous observons une teneur importante en acides linéaires (acide butanoïque, acide 3-méthylbutanoïque et acide hexanoïque). Ceux-ci ont été rapportés dans les miels de thym (*Thymus* sp.) de Grèce et d'Espagne (Alissandrakis *et al.*, 2007b, 2009 ; Castro-Vazquez *et al.*, 2009) ; ces résultats nous ont conduit à proposer ces acides linéaires comme indicateurs de la présence de nectar de *Thymus herba-barona*. Ainsi, l'analyse multifactorielle montre que la composition volatile des miels s'avère être un critère efficace pour détecter les contributions nectarifères dans les échantillons d'origine botanique complexe.

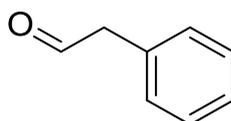
Pollen diversity and volatile variability of honey from Corsican *Anthyllis hermanniae* L. habitat

Y. Yang, M.J. Battesti, J. Paolini, J. Costa

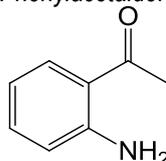
Chemistry & Biodiversity, 2014, 11 : 1900-1913



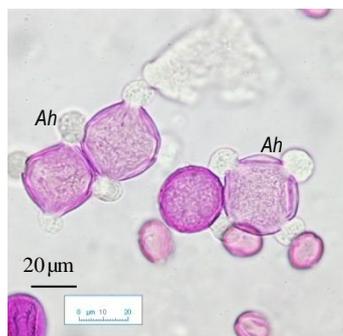
Anthyllis hermanniae



Phénylacétaldéhyde



2-aminoacétophénone



Pollen d'*Anthyllis hermanniae* (Ah)

Pollen Diversity and Volatile Variability of Honey from Corsican *Anthyllis hermanniae* L. Habitat

by Yin Yang, Marie-José Battesti, Julien Paolini*, and Jean Costa

Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, BP 52, F-20250 Corte (phone: +33-4-95450187; fax: +33-4-95450180; e-mail: paolini@univ-corse.fr)

Melissopalynological, physicochemical, and volatile analyses of 29 samples of Corsican ‘summer maquis’ honey were performed. The pollen spectrum was characterized by a wide diversity of nectariferous and/or polleniferous taxa. The most important were *Anthyllis hermanniae* and *Rubus* sp., associated with some endemic taxa. *Castanea sativa* was also determined in these honeys with a great variation. The volatile fraction was characterized by 37 compounds and dominated by phenolic aldehydes and linear acids. The major compounds were phenylacetaldehyde, benzaldehyde, and nonanoic acid. Statistical analysis of pollen and volatile data showed that 18 samples were characterized by a high abundance of phenylacetaldehyde, which might relate to the high amount of *A. hermanniae* and *Rubus* sp. Eleven other samples displayed a higher proportion of phenolic ketones and linear acids, which characterized the nectar contribution of *C. sativa* and *Thymus herba-barona*, respectively.

Introduction. – The specificity of Corsican beekeeping is founded on the environmental characteristics of the island (biodiversity of flora, bioclimatic conditions, and topography), the endemic black honeybee, and the typical hive management. Corsican honey, *i.e.*, ‘Miel de Corse-Mele di Corsica’, was certified by the *European Protected Designation of Origin* (PDO) and classified according to six designations: ‘spring’, ‘spring maquis’, ‘honeydew maquis’, ‘chestnut grove’, ‘summer maquis’, and ‘autumn maquis’, according to the harvest season and the geographic location of the apiaries [1–3]. According to *Decree No. 2010-1045* [2], the control of Corsican honey origin was carried out by melissopalynological analysis accompanied by organoleptic and physicochemical analyses. Recently, some chemical analytical methods such as headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) have also been developed for the determination of botanical origins of Corsican honey [4][5].

Anthyllis hermanniae L. grows wild in the eastern Mediterranean basin from the Balkan to Turkey; it is not found in France (except Corsica), Spain, or Italy (except Sardinia, Sicilia, Elba Island, Calabria, and the peninsula of Salento) [6–8]. Corsica and Sardinia are the limit of its western distribution. From a taxonomic viewpoint, *Brullo* and *Giusso del Galdo* [9] recently reported that Corsican *A. hermanniae* populations are quite different from those of other geographical areas; they were classified at the subspecies level as *A. hermanniae* ssp. *corsica*. *A. hermanniae* is very attractive and thus visited by honeybees, essentially for nectar in May and June [10]. Its particular pollen morphology, a tetracolporate grain, was mentioned for the first time in the pollen spectra of Corsican honeys; it is considered to be one of the characteristic taxa for geographical origin determination of honey from Corsica [10][11]. Only one

study has reported the presence of *A. hermanniae*, but as isolated pollen in pine and cotton honeys from Greece [12]. Only one paper reported the chemical composition of an *Anthyllis* honey sample (*A. cytisoides*) from Spain [13]. The HS-SPME volatile fraction of this Spanish honey was dominated by phenylacetaldehyde (80.7%) followed by benzaldehyde (6.9%).

The production areas of honeys with the contribution of *A. hermanniae* nectar were in the characteristic landscape of the Corsican mountains (> 600 m altitude) dominated by associations of subshrub plants (< 1 m high) such as endemic species (*Genista salzmannii*, *G. corsica*, *Thymus herba-barona*, and/or *Teucrium* sp.) associated with the specific eastern Mediterranean species (*A. hermanniae*), and several euri-Mediterranean species (especially *Rubus* sp.). As defined in *Decree No. 2010-1045* [2], the light honeys derived from these typical taxa associations are named ‘summer maquis’ honeys. The organoleptic characteristics of these honeys were described as vegetal, floral, and fruity, but aromatic for a light honey. However, the topography and landscape of Corsica offer other resources at the same period. For instance, *Castanea sativa* is also visited by honeybees for pollen and nectar in wood forests neighboring these subshrub associations.

To obtain an overview of the diversity of Corsican ‘summer maquis’ honey, a multidisciplinary approach was used in this work. It was based on the comparison of the results obtained by melissopalynological analysis (total pollen spectrum and pollen density) and physicochemical parameters (color and conductivity) with those of volatile-component analysis. For this purpose, the study of the volatile fraction of Corsican ‘summer maquis’ honey samples was carried out using HS-SPME, GC-FID, and GC/MS analyses. To our knowledge, no other study has focused on the volatile composition of honey obtained with the contribution of *A. hermanniae* nectar.

Results and Discussion. – *Geographical-Origin Determination of Corsican ‘Summer Maquis’ Honeys.* Melissopalynological analysis of 29 samples of Corsican ‘summer maquis’ honey (*Samples S1–S29*) allowed the determination of 83 taxa including 65 nectariferous taxa and 18 only-polleniferous taxa. Among them, 58 characteristic taxa of ‘summer maquis’ honey could be distinguished by a presence ratio (*PR*) higher than 10%. These taxa (*T1–T58*) are listed in *Table 1*, with their geographical origin, which was indicated by the biogeographical code (*BC*) according to *Gamisans* [6], the *PR*, and the vegetation level. The 25 taxa with a *PR* < 10% determined in the 29 honey samples were *Campanula* sp., *Citrus* sp., *Daphne gnidium*, *Erica terminalis*, *Pistacia lentiscus*, *Bituminaria bituminosa*, *Sedum* sp., *Silene gallica*, *Vitis vinifera*, *Actinidia sinensis*, *Aesculus hippocastanum*, *Anemone hortensis*, *Betula pendula*, *Centaurium erythrae*, *Helianthemum* sp., *Juglans regia*, *Knautia integrifolia*, *Papaver* sp., *Ranunculaceae* others, *Reseda* sp., *Rhamnus alaternus*, *Rosmarinus officinalis*, *Sherardia arvensis*, *Urticaceae*, and *Verbascum* sp.

The geographical-origin authentication was founded on the analysis of taxa directory and the characteristics of global distribution of identified taxa (biogeographical origin) [11]. The analysis of the biogeographical distribution showed the association of taxa from various biogeographical origins. Most of them were Mediterranean species (26 taxa of *BC 1–3*, containing essentially taxa of western Mediterranean origin), followed by Eurasian and Atlantic species (15 taxa of *BC 5*

Table 1. Geographical Origin of the Taxa Determined in Corsican 'Summer Maquis' Honey

Taxon ^{a)}	Taxon number	BC ^{b)}	N ^{c)}	P ^{d)}	PR [%] ^{e)}	Repartition of vegetation levels ^{f)}				
<i>Stachys glutinosa</i>	T1	12			14	TM	ME	sm	mo	
<i>Thymus herba-barona</i>	T2	14	*		79		me	sm	MO	OR
<i>Helleborus lividus</i>	T3	14			24		me	SM	MO	or sa
ssp. <i>corsicus</i>										
<i>Teucrium</i> sp.	T4	12, 25, 62	*		38	TM	ME	SM	mo	
<i>Genista</i> sp. ^{g)}	T5	14	*		90					
<i>G. salzmannii</i> var. <i>salzmannii</i>						tm	me	SM		
<i>G. salzmannii</i> var. <i>lobelioides</i>								sm	MO	OR
<i>G. corsica</i>						li	tm	ME	SM	
<i>Erica arborea</i>	T6	21			59	TM	ME	SM	mo	
<i>Myrtus communis</i>	T7	21		P	14	li	TM	ME		
<i>Lavandula stoechas</i>	T8	21			17	TM	ME			
<i>Asphodelus ramosus</i>	T9	21			17	TM	ME	sm		
ssp. <i>ramosus</i>										
<i>Lupinus angustifolius</i>	T10	21			14	li	TM	ME	sm	
Asteraceae <i>Carduus/ Galactites</i> form	T11	21			14	TM	ME	SM		
Asteraceae <i>Tyrinnus</i> form	T12	21			17	li	tm	ME		
<i>Olea</i> sp.	T13	21		P	14	li	TM	ME		
<i>Phillyrea</i> sp.	T14	25		P	10	TM	ME			
<i>Anthyllis hermanniae</i>	T15	28	*		100	tm	me	SM	MO	OR
<i>Cytisus/Calicotome</i> form	T16	21, 25			28	LI	ME	SM		
<i>Allium</i> sp.	T17	21, 25			14	TM	ME	sm		
<i>Cistus</i> sp. ^{h)}	T18	21, 29		P	79	TM	ME	sm		
<i>Trifolium</i> sp.	T19	21, 31, 51			45	LI	ME	SM	mo	
<i>Quercus</i> sp. ⁱ⁾	T20	21, 35, 55, 58		P	100	TM	ME	SM	mo	
<i>Lotus</i> sp.	T21	21, 51			41	LI	TM	ME	SM	MO
Asteraceae <i>Dittrichia</i> form	T22	21, 94			21	TM	ME	SM	mo	
Asteraceae <i>Achillea</i> form	T23	21, 94			10	TM	ME	SM	mo	
<i>Echium</i> sp.	T24	31			52	TM	ME	SM		
<i>Rubus</i> sp.	T25	31, 35	*		100	tm	ME	SM	mo	
<i>Rosa</i> sp.	T26	31, 51	*		34	RI 1	ME	SM	mo	
<i>Clematis</i> sp.	T27	31, 54			31	ri 1–2	TM	ME	SM	
<i>Crataegus monogyna</i>	T28	51			59	tm	ME	SM	mo	
<i>Jasione montana</i>	T29	54	*		48	li	tm	ME	SM	MO
<i>Fraxinus ornus</i>	T30	58		P	52	tm	ME	SM	mo	
<i>Castanea sativa</i>	T31	59			100	ME	SM			
Asteraceae <i>Helichrysum</i> form	T32	59	*		48	LI	TM	ME	SM	mo
<i>Salix</i> sp.	T33	51, 52			34	RI				
<i>Pyrus/Malus</i> form	T34	54, 99			21		ME	SM		
<i>Prunus</i> sp.	T35	54, 99	*		34		ME	SM		
<i>Tilia</i> sp.	T36	54, 99			21	ri 1–2	me	sm		
<i>Ilex aquifolium</i>	T37	65			28	ri		SM	MO	
<i>Hedera helix</i>	T38	65			10	tm	ME	SM	mo	

Table 1 (cont.)

Taxon ^{a)}	Taxon number	BC ^{b)}	N ^{c)}	P ^{d)}	PR [%] ^{e)}	Repartition of vegetation levels ^{f)}
<i>Eucalyptus</i> sp.	T39	99			21	ME
<i>Apiaceae</i>	T40	nd			48	nd
<i>Fabaceae</i> others	T41	nd			48	nd
<i>Rosaceae</i> others	T42	nd			38	nd
<i>Pinus</i> sp.	T43	nd		P	34	nd
<i>Brassicaceae</i>	T44	nd			31	nd
<i>Vicia</i> sp.	T45	nd			31	nd
<i>Asteraceae</i> fenestrated form	T46	nd			31	nd
<i>Rumex</i> sp.	T47	nd		P	28	nd
<i>Plantago</i> sp.	T48	nd		P	28	nd
<i>Scrophulariaceae</i> others	T49	nd		P	28	nd
<i>Caryophyllaceae</i>	T50	nd			17	nd
<i>Asteraceae</i> others	T51	nd			17	nd
<i>Centaurea</i> sp.	T52	nd			17	nd
<i>Liliaceae</i> others	T53	nd			14	nd
<i>Erica</i> others	T54	nd			14	nd
<i>Mentha</i> sp.	T55	nd			14	nd
<i>Boraginaceae</i>	T56	nd			10	nd
<i>Oleaceae</i> others	T57	nd			10	nd
<i>Poaceae</i>	T58	nd			10	nd

^{a)} Taxa are listed in order of their biogeographical code. ^{b)} Biogeographical code according to *Gamisans* [6]; 1, endemic; 12, steno-Mediterranean origin; 14, Mediterraneo-montane origin; 2, steno-Mediterranean; 21, wider steno-Medit.; 25, western steno-Medit.; 28, northwestern steno-Medit.; 29, western macaronesian steno-Medit.; 3, euri-Mediterranean; 31, wider euri-Medit.; 35, western euri-Medit.; 5, Eurasian; 51, wider Eurasian; 52, Eurasian; 54, European-caucasian; 55, European; 58, southeastern European; 59, southern European; 6, Atlantic; 62, Subatlantic; 65, Atlantic Mediterranean; 9, sub-Cosmopolitan; 99, cultivated plants; nd, not defined. ^{c)} Nectariferous taxa of the 'summer maquis' honey flow. ^{d)} Only-polleniferous taxa. ^{e)} Presence ratio, *i.e.*, ratio between the number of samples in which the taxon was present and the total number of analyzed samples, expressed as percentage. ^{f)} Repartition of vegetation levels indicated with the following abbreviations either in uppercase or lowercase letters (lowercase means rare or at least less common than uppercase): RI/ri 1–3, riparian forest of meso-Mediterranean, supra-Mediterranean, and mountain regions, respectively; LI/li, littoral and coastal lands (rock, salt land, or dune); TM/tm, thermo-Mediterranean; ME/me, meso-Mediterranean; SM/sm, supra-Mediterranean; MO/mo, Mountain; OR/or, oro-Mediterranean; SA/sa, subalpine; nd, not defined. ^{g)} According to the flowering period and plant association, *Genista* sp. contained essentially *G. salzmannii* var. *lobelioides*, *G. salzmannii* var. *salzmannii*, and *G. corsica*. ^{h)} *Cistus* sp. contained *C. creticus*, *C. monspeliensis*, and *C. salviifolius*. ⁱ⁾ *Quercus* sp. contained essentially *Q. ilex*, *Q. suber*, and deciduous *Q. eurcus* sp.

and 6). It should be noted that *A. hermanniae* (T15), with a presence ratio (PR) of 100%, is the only taxon with eastern steno-Mediterranean origin (BC 28). This species has been considered since 1990 as an indicator of Corsican origin, because of its absence from the pollen spectra of honeys from other French and west Mediterranean regions [10][11]. The originality of pollen directory was also founded on the presence of endemic taxa (BC 12 and 14) such as *Stachys glutinosa* (T1), *T. herba-barona* (T2), *Helleborus lividus* ssp. *corsicus* (T3), *Teucrium* sp. (T4; represented principally by *T. marum*), and *Genista* sp. (T5; essentially represented by *G. salzmannii* and *G. corsica*).

Table 2. *Melissopalynological* (pollen spectrum and density) and *Physicochemical Characteristics of Corsican*

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14
Pollen spectrum														
Taxon ^{a)}	Relative frequency (RF) [%] ^{b)}													
Main nectar and pollen taxa														
T15	33.8	13.8	20.6	18.4	7.2	10.9	15.2	7.3	14.7	7.1	6.4	5.7	6.3	3.4
T25	0.9	17.3	7.0	9.1	19.4	13.9	9.6	15.6	6.3	4.4	9.0	8.3	6.8	9.7
Sum of T15 and T25	34.6	31.2	27.6	27.5	26.6	24.8	24.8	22.8	20.9	11.4	15.3	14.0	13.1	13.1
T5	–	1.2	0.7	1.8	1.3	3.0	0.9	0.3	3.1	0.2	0.5	1.3	0.5	1.9
T2	0.4	0.1	0.2	0.3	–	–	0.2	–	–	–	0.1	0.1	0.1	–
T28	–	–	0.2	13.0	10.5	0.1	19.1	–	–	0.2	–	–	–	0.8
T19	–	1.3	–	–	13.5	0.9	–	–	7.3	–	0.1	1.2	1.0	–
T29	0.4	0.1	0.2	0.2	–	–	–	–	–	–	–	0.3	–	–
T24	–	–	–	–	3.8	0.1	–	0.1	–	0.2	–	0.0	0.1	–
T6	–	–	0.4	0.1	2.1	–	–	–	0.5	0.3	0.4	–	–	–
T31	43.0	63.2	65.8	51.1	6.8	64.7	50.0	67.6	34.6	83.9	79.4	79.8	78.3	78.3
Other nectariferous taxa	3.5	2.3	0.9	3.0	16.9	2.3	2.2	3.8	18.3	2.0	1.3	2.3	4.0	4.1
Main only-polleniferous taxa														
T20	15.8	0.3	0.9	2.3	10.5	0.8	2.5	2.7	9.4	0.6	1.0	0.1	0.5	0.1
T18	0.9	–	0.7	–	3.8	1.7	–	–	1.0	0.6	0.3	0.7	1.8	0.1
Other only-polleniferous taxa	0.9	0.2	0.9	0.3	2.5	1.2	0.3	1.5	0.5	0.2	0.3	–	0.4	–
Pollen density														
Pollen density expressed as the absolute number of pollen grains in 10 g of honey [$\times 10^3$ PG]														
	42.9	247.5	76.2	281.8	72.5	119.0	252.3	255.0	66.0	90.5	156.7	481.3	298.0	484.7
Physicochemical characteristics														
Coloration [mm Pfund]														
	11.0	11.0	27.0	18.0	18.0	27.0	18.0	11.0	11.0	18.0	27.0	41.0	41.0	35.0
Electrical conductivity [mS/cm]														
	0.20	0.19	0.36	0.20	0.19	0.22	0.19	0.18	0.18	0.38	0.33	0.36	0.34	0.27

^{a)} For the taxon number and details, cf. Table 1. ^{b)} Relative frequency (RF): number of pollen grains of a specific taxon with respect to the total number of pollen grains counted in a honey sample, expressed

Finally, the taxa directory showed the richness of natural meliferous resources. Indeed, only few taxa, i.e., *Pyrus* and *Malus* sp. (T34), *Prunus* sp. (T35), and *Eucalyptus* sp. (T39), were cultivated species (BC 99). These results certified the geographical origin of the 29 samples in agreement with the database of Corsican honey [1].

In Corsica, the association of *A. hermanniae* (T15) and endemic taxa, viz., *Genista* sp. (T5), *T. herba-barona* (T2), and *Teucrium* sp. (T4), was found the typical subshrub vegetation that was widespread in the superior meso-Mediterranean (>400 m) and supra-Mediterranean level (SM; >700 m). Otherwise, these vegetation levels exhibited also *Rubus* sp. (T25) as frequent species, various forest dwellers such as oak (*Quercus* sp. (T21)) and chestnut groves (*C. sativa* (T31)) associated with *Fraxinus*

'Summer Maquis' Honey Samples S1–S29

S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28	S29
1.3	1.9	3.4	3.9	8.2	7.8	9.6	11.9	3.3	2.6	3.5	1.4	2.7	2.0	0.6
14.5	13.0	7.8	11.4	5.8	2.4	5.0	7.3	6.2	6.1	4.5	4.7	3.3	2.8	1.6
15.8	14.9	11.2	15.3	14.0	10.2	14.6	19.2	9.5	8.7	8.0	6.1	6.0	4.8	2.2
0.5	2.3	0.8	7.2	0.6	0.1	1.7	2.5	0.2	0.1	0.4	0.7	–	0.0	–
0.2	0.4	0.1	0.7	0.6	0.5	1.7	1.7	0.2	1.2	0.5	0.1	0.6	0.2	0.1
0.3	1.0	0.1	1.9	–	–	0.1	0.1	–	0.3	0.1	0.2	–	0.4	–
0.9	–	0.2	0.1	–	–	–	–	0.1	–	–	0.2	0.1	–	–
–	0.4	–	0.3	12.3	0.2	0.7	8.1	–	–	–	–	0.6	0.0	0.4
0.2	0.2	0.9	–	–	0.9	–	0.3	0.1	–	0.1	–	0.2	0.1	–
–	1.9	–	3.0	3.2	0.7	0.3	0.1	0.3	0.4	0.3	0.2	–	0.1	–
67.0	68.3	82.6	56.5	65.3	75.4	77.6	59.8	86.1	85.4	87.9	89.2	88.6	92.0	95.4
7.0	4.0	0.8	8.1	0.4	4.4	1.1	0.5	0.4	0.8	0.9	1.4	1.5	0.5	0.5
2.1	5.6	0.6	5.2	1.4	5.2	0.9	6.5	2.0	2.3	0.9	1.1	1.6	0.7	0.3
3.5	0.1	2.3	–	1.1	0.5	0.3	1.1	0.3	0.3	0.4	0.3	–	0.1	0.1
1.3	0.6	0.2	0.8	0.8	1.2	0.2	0.1	0.4	0.1	0.3	0.4	0.1	0.1	0.9

/10 g]

133.6 125.1 188.4 236.4 214.5 226.1 166.2 471.0 701.2 1950.0 155.0 415.3 232.1 890.5 279.2

46.0 51.0 51.0 71.0 51.0 51.0 62.0 62.0 51.0 71.0 71.0 62.0 51.0 62.0 51.0

0.46 0.43 0.58 0.46 0.47 0.61 0.66 0.59 0.66 0.68 1.16 0.72 0.60 0.98 1.14

as percentage.

ornus (T30), and some *Erica arborea* (T6) shrublands with typical association of *Crataegus monogyna* (T28) [14].

Botanical-Origin Determination of Corsican 'Summer Maquis' Honey. Melissopalynological analysis and physicochemical parameters were used to determine the botanical origins of the honey samples. The results exhibited a considerable variability of the pollen data and physicochemical properties (Table 2). The relative frequency (RF) of the characteristic taxa showed great variation, and the pollen density varied from 42.9×10^3 to 1950.0×10^3 pollen grain (PG)/10 g. Minimum and maximum values of coloration and electrical conductivity were 11.0 and 71.0 mm Pfund as well as 0.18 and 1.16 mS/cm, respectively.

The most characteristic taxa were *A. hermanniae* (T15) and *Rubus* sp. (T25). They were present in all the honey samples, but their *RF* varied from 2.2 to 34.6%. The great variation in the *RF* distribution allowed some honey samples to be distinguished. Nine samples (S1–S9) had total amounts of T15 and T25 greater than 20%. These honeys displayed a lower RF_{Castanea} (6.8–67.6%) and pollen density (42.9×10^3 – 281.8×10^3 PG/10 g). In addition, lower values of coloration (≤ 27.0 mm Pfund) and electrical conductivity (< 0.4 mS/cm) were also characteristic of these honey samples. These results allow the conclusion that *A. hermanniae* and *Rubus* sp. are the most significant nectar contributors for these honeys. On the contrary, *C. sativa* did not contribute to their nectar composition. Seven samples (S23–S29) displayed lower total amounts of T15 and T25 ($< 10\%$) associated with higher values for the RF_{Castanea} (85.4–95.4%) and the pollen density (155.0×10^3 – 1950.0×10^3 PG/10 g). Moreover, they had higher values of coloration (> 51.0 mm Pfund) and electrical conductivity (> 0.60 mS/cm). Considering the higher values of RF_{Castanea} , coloration, and electrical conductivity, *C. sativa* was considered to significantly contribute to the nectar collected.

The other 13 samples (S10–S22) displayed amounts of *Anthyllis* and *Rubus* species between 10 and 20% and of *C. sativa* (T31) between 56.5 and 83.9%, with a great variability of the pollen density (90.5 – 484.7×10^3 PG/10 g). These samples also showed great variability of coloration (11–71 mm Pfund) and electrical conductivity (0.18–0.66 mS/cm). As an ‘under-represented’ taxon, *T. herba-barona* (essentially nectariferous) could have contributed to the nectar in some samples that had *RF* of *T. herba-barona* $> 0.5\%$ and higher coloration and electrical conductivity (> 51 mm Pfund and > 0.4 mS/cm, resp.).

The botanical diversity of the honey samples could be explained by the contribution of *A. hermanniae*, providing essentially nectar, but the hives also need important polleniferous resources such as *C. sativa*, *Rubus* sp., *Genista* sp., *Crataegus monogyna*, and *Jasione montana*, which bloom before or at the same time as *A. hermanniae* and could provide pollen and/or nectar.

Volatile Composition of Corsican ‘Summer Maquis’ Honeys. The volatile fraction of the ‘summer maquis’ honey samples was characterized by 37 compounds accounting for 80.0 to 98.5% of the total composition (Table 3). Among them, 16 compounds, viz., C1, C2, C7–C13, C16, C18, C19, C27, C28, C33, and C37, were detected in all the honey samples.

The volatile fraction was rich in phenolic compounds (31.2–72.5%), especially in phenolic aldehydes (20.8–65.2%). Phenylacetaldehyde (C16; 12.5–57.8%) and benzaldehyde (C12; 4.4–18.2%) were identified as the main components. The contents of phenolic ketones (0.0–17.5%) and phenolic alcohols (0.0–7.4%) also showed great variability. For instance, 2-aminoacetophenone (C32) showed a relatively high content (maximal value of 14.9%) in some honey samples. Indeed it was present at contents higher than 5% in eight samples (S21 and S23–S29) and absent in six samples (S1, S4, S5, S7, S9, and S18). Linear compounds (11.6–46.0%), in particular linear acids (5.5–36.9%), were also present at high and variable contents in the honey samples, and the major constituent of this chemical group was nonanoic acid (C33; 0.3–11.6%). The phenolic compounds methylbenzene (C2), benzaldehyde (C12), and phenylacetaldehyde (C16) as well as the linear compounds hexanal (C5), hexanoic acid (C13), nonanal (C21), octanoic acid (C27), decanal (C28), and nonanoic acid (C33) have

Table 3. Volatile Composition of Corsican 'Summer Maquis' Honey Samples S1–S29

Compound ^{a)} Code	Name and class	$R_{lit}^{b)}$	$R_{exp}^{c)}$	Content [%] ^{d)}						Identification ^{e)}						
				Total samples (S1–S29)			Group I (S1–S18)			Group II (S19–S29)			Min	Max	Ref	Ref
				Mean±SD	Min	Max	Mean±SD	Min	Max	Mean±SD	Min	Max				
C1	3-Methylbut-3-en-1-ol	711	704	1.3±1.03	0.2	5.0	1.5±1.14	0.2	5.0	0.9±0.71	0.2	2.3	RI, MS, Ref			
C2	Methylbenzene	745	741	4.2±2.35	0.7	8.3	5.7±1.71	2.2	8.3	1.9±0.91	0.7	4.0	RI, MS			
C3	3-Methylbut-2-enal	755	750	0.6±1.13	0.0	5.2	0.3±0.35	0.0	1.1	1.1±1.72	0.0	5.2	RI, MS, Ref			
C4	Butanoic acid	779	771	1.7±1.85	0.0	5.3	0.6±1.03	0.0	4.5	3.6±1.22	0.9	5.3	RI, MS, Ref			
C5	Hexanal	777	773	1.2±1.14	0.0	3.7	1.5±1.15	0.1	3.7	0.8±1.03	0.0	3.7	RI, MS			
C6	Octane	800	790	0.6±0.52	0.0	1.8	0.8±0.55	0.0	1.8	0.2±0.26	0.0	0.7	RI, MS			
C7	Furan-3-carbaldehyde	799	800	4.5±2.65	0.7	10.4	5.2±2.50	1.3	10.4	3.3±2.57	0.7	9.4	RI, MS			
C8	3-Methylbutanoic acid	830	831	1.8±1.82	0.1	6.2	0.6±0.55	0.1	2.2	3.7±1.55	1.3	6.2	RI, MS, Ref			
C9	2-Methylbutanoic acid	860	858	1.3±0.88	0.1	3.8	1.2±1.03	0.1	3.8	1.5±0.57	0.5	2.2	RI, MS, Ref			
C10	2-Methyloctane	868	873	0.3±0.18	0.1	0.7	0.3±0.18	0.1	0.7	0.3±0.18	0.1	0.6	RI, MS, Ref			
C11	Nonane	900	893	1.2±0.90	0.2	3.4	1.6±0.91	0.2	3.4	0.6±0.53	0.2	1.8	RI, MS			
C12	Benzaldehyde	929	924	9.1±3.33	4.4	18.2	9.1±3.80	5.5	18.2	9.0±2.54	4.4	12.0	RI, MS			
C13	Hexanoic acid	975	969	2.1±1.74	0.4	7.7	1.2±0.43	0.4	1.9	3.6±2.01	1.3	7.7	RI, MS			
C14	Octanal	981	982	0.9±0.92	0.1	5.2	0.6±0.22	0.1	0.9	1.5±1.34	0.3	5.2	RI, MS			
C15	p-Methylanisol	1004	995	0.4±0.48	0.0	1.7	0.5±0.47	0.0	1.7	0.2±0.45	0.0	1.5	RI, MS, Ref			
C16	Phenylacetaldehyde	1012	1006	33.6±12.53	12.5	57.8	41.0±9.15	18.7	57.8	21.6±6.3	12.5	31.9	RI, MS			
C17	Acetophenone	1036	1037	1.2±1.49	0.0	4.8	0.3±0.48	0.0	1.6	2.8±1.26	1.3	4.8	RI, MS			
C18	trans-Linaloxide (furan)	1058	1049	1.2±0.89	0.1	4.1	1.6±0.92	0.3	4.1	0.6±0.37	0.1	1.2	RI, MS			
C19	cis-Linaloxide (furan)	1072	1064	1.1±0.43	0.4	2.2	1.3±0.40	0.5	2.2	0.9±0.41	0.4	1.6	RI, MS			
C20	2-Phenylethanol	1085	1077	2.8±2.04	0.0	6.7	2.7±2.13	0.0	6.7	2.9±2.00	0.0	6.3	RI, MS			
C21	Nonanal	1076	1079	3.5±2.62	0.0	10.0	3.1±1.88	1.0	7.3	4.2±3.53	0.0	10.0	RI, MS			
C22	Isophorone	1100	1087	0.8±1.18	0.0	4.6	0.5±1.20	0.0	4.6	1.2±1.04	0.0	3.0	RI, MS			
C23	4-Oxoisophorone	1111	1102	0.4±0.27	0.0	0.9	0.4±0.29	0.0	0.9	0.5±0.23	0.0	0.8	RI, MS			
C24	(2S,2',5',5'')-Lilac aldehyde	1124	1112	0.4±0.50	0.0	2.6	0.4±0.29	0.0	1.2	0.5±0.74	0.0	2.6	RI, MS, Ref			
C25	(2R,2',5',5'')-Lilac aldehyde	1133	1121	0.4±1.02	0.0	5.1	0.3±0.58	0.0	2.3	0.6±1.52	0.0	5.1	RI, MS, Ref			
C26	(2R,2',5',5'')-Lilac aldehyde	1146	1134	0.1±0.42	0.0	2.2	0.0±0.16	0.0	0.7	0.2±0.66	0.0	2.2	RI, MS, Ref			
C27	Octanoic acid	1156	1167	2.9±1.43	0.5	7.0	2.8±1.35	0.5	5.4	3.1±1.59	1.4	7.0	RI, MS			
C28	Decanal	1180	1174	1.0±0.73	0.3	3.0	0.8±0.64	0.3	2.4	1.3±0.81	0.3	3.0	RI, MS			
C29	p-Anis aldehyde	1218	1208	0.2±0.46	0.0	1.9	0.1±0.39	0.0	1.2	0.3±0.56	0.0	1.9	RI, MS			

Table 3 (cont.)

Compound ^{a)} Code	Name and class	R_{lit}^b	R_{exp}^c	Content [%] ^{d)}						Identification ^{e)}								
				Total samples (S1–S29)			Group I (S1–S18)			Group II (S19–S29)			Group I (S1–S18)			Group II (S19–S29)		
				Mean ± SD	Min	Max	Mean ± SD	Min	Max	Mean ± SD	Min	Max	Mean ± SD	Min	Max	Mean ± SD	Min	Max
C30	2,3,5-Trimethylphenol	1242	1248	0.1 ± 0.17	0.0	0.6	0.0 ± 0.07	0.0	0.3	0.2 ± 0.22	0.0	0.6				RI, MS		
C31	4-Propylanisol	1254	1264	0.2 ± 0.89	0.0	4.8	0.3 ± 1.13	0.0	4.8	–	–	–				RI, MS		
C32	2-Aminoacetophenone	1261	1266	3.6 ± 3.85	0.0	14.9	1.4 ± 1.38	0.0	3.7	7.2 ± 3.88	1.2	14.9				RI, MS		
C33	Nonanoic acid	1263	1271	5.1 ± 2.42	0.3	10.6	4.5 ± 2.09	0.3	8.6	6.2 ± 2.59	3.1	10.6				RI, MS		
C34	3,4,5-Trimethylphenol	–	1290	0.2 ± 0.33	0.0	1.6	0.1 ± 0.15	0.0	0.4	0.5 ± 0.41	0.0	1.6				RI, MS		
C35	Decanoic acid	1353	1362	2.0 ± 1.34	0.0	6.7	1.4 ± 0.92	0.0	3.4	3.0 ± 1.40	1.6	6.7				RI, MS, Ref		
C36	4-Aminoacetophenone	1440	1446	0.1 ± 0.21	0.0	0.6	0.0 ± 0.12	0.0	0.5	0.2 ± 0.26	0.0	0.6				RI, MS		
C37	Tricosane	2300	2305	0.9 ± 0.35	0.3	1.7	1.0 ± 0.36	0.4	1.7	0.8 ± 0.28	0.3	1.2				RI, MS		
	Total identified [%]			93.1 ± 3.91	80.0	98.5	94.6 ± 1.80	90.4	97.4	91.0 ± 5.33	80.0	98.5						
	Total peak area (10 ⁶) ^{f)}			5.9 ± 5.34	1.3	15.3	3.9 ± 4.27	1.3	13.3	9.2 ± 5.45	2.1	15.3						
	Hydrocarbons			7.2 ± 3.29	2.1	13.6	9.3 ± 2.30	5.3	13.6	3.9 ± 1.05	2.1	5.5						
	Oxygenated compounds			86.0 ± 4.15	76.4	95.4	85.3 ± 2.88	79.9	90.1	87.1 ± 5.64	76.4	95.4						
	Phenolic compounds			56.4 ± 9.63	40.4	77.8	61.2 ± 7.91	47.4	77.8	48.5 ± 6.56	40.4	59.5						
	Furan compounds			7.7 ± 3.53	1.2	14.5	8.7 ± 3.05	3.6	14.5	6.0 ± 3.77	1.2	13.6						
	Linear compounds			28.6 ± 8.98	11.6	46.0	23.8 ± 6.14	11.6	34.3	36.4 ± 7.24	21.9	46.0						
	Ketones			6.2 ± 5.69	0.0	17.9	2.6 ± 2.51	0.0	7.4	11.9 ± 4.57	5.6	17.9						
	Aldehydes			55.9 ± 11.29	31.2	72.5	63.0 ± 4.96	52.8	72.5	44.4 ± 8.91	31.2	61.2						
	Alcohols			5.0 ± 2.47	1.0	10.8	4.3 ± 2.11	1.0	7.2	6.2 ± 2.68	3.5	10.8						
	Acids			17.0 ± 7.93	5.5	36.9	12.3 ± 3.65	5.5	19.2	24.7 ± 6.87	13.1	36.9						
	Oxides			2.5 ± 1.57	0.5	7.7	3.1 ± 1.67	1.0	7.7	1.5 ± 0.67	0.5	2.8						

^{a)} Compounds are listed in the order of their elution from a nonpolar *Rtx-I* capillary column. ^{b)} R_{lit} : Literature retention index determined on a nonpolar column [24][25]. ^{c)} R_{exp} : Retention index experimentally determined on a nonpolar *Rtx-I* capillary column. ^{d)} Contents expressed as percentages are given as means ± standard deviations as well as minimum and maximum values. ^{e)} Identification method: *RI*, comparison of retention indices; *MS*, comparison of mass spectra (*EI-MS*); *Ref*, comparison with values published by König *et al.* [24] for compounds *C16* and *C25–C27* and listed in the NIST commercial spectral library [25] for compounds *C1*, *C3*, *C4*, *C8–C10*, and *C36*. ^{f)} Total peak area expressed in arbitrary units.

previously been reported in honey volatile fractions from a wide range of floral sources such as rosemary, citrus, acacia, lavender, and eucalyptus [15–17].

Correlation between Chemical Data and Botanical Origin. Canonical correspondence analysis (CCA) was performed to identify the relationship between the melissopalynological, physicochemical, and volatile data of Corsican ‘summer maquis’ honeys. The CCA was applied to a matrix of six chemical compound groups (phenolic aldehydes, linear acids, phenolic ketones, phenolic alcohols, phenolic hydrocarbons, and furan oxides), with the *RF* of four taxa (sum of *T15* and *T25*, *T2*, and *T31*) and two physicochemical parameters (coloration and electrical conductivity) constituting the explanatory matrix (Table 4).

The correlation between these parameters is shown in the Figure. The plot established according to the two axes suggests the existence of two groups of honey samples. *Group I*, containing 18 samples (*S1–S18*), was characterized by honeys with high contents of phenolic aldehydes (50.7%), such as phenylacetaldehyde (*C16*; with an average content of 41.0% in *Group I* vs. 21.6% in *Group II*). In terms of melissopalynological and physicochemical data, nine samples of *Group I* (*S1–S9*) were characterized by lower values of coloration and electrical conductivity and higher values of the *RF* sum of *T15* and *T25*. In addition, this group included nine other samples (*S10–S18*). The results suggest that the high amount of phenylacetaldehyde in the honey samples might be related to the nectar contribution of *A. hermanniae* and *Rubus* sp. As previously reported in the literature [13], the nectar contribution of another *Anthyllis* species (*A. cytisoides*) in honey was also characterized by a high abundance of phenylacetaldehyde among the volatile compounds. However, no chemical markers of nectar contribution for *Rubus* species were reported in the literature.

Group II contained 11 samples (*S19–S29*). This group was characterized by honeys with high contents of phenolic ketones (10.3 vs. 1.7% for *Groups II* and *I*, resp.), in particular of acetophenone and 2-aminoacetophenone. This group included not only

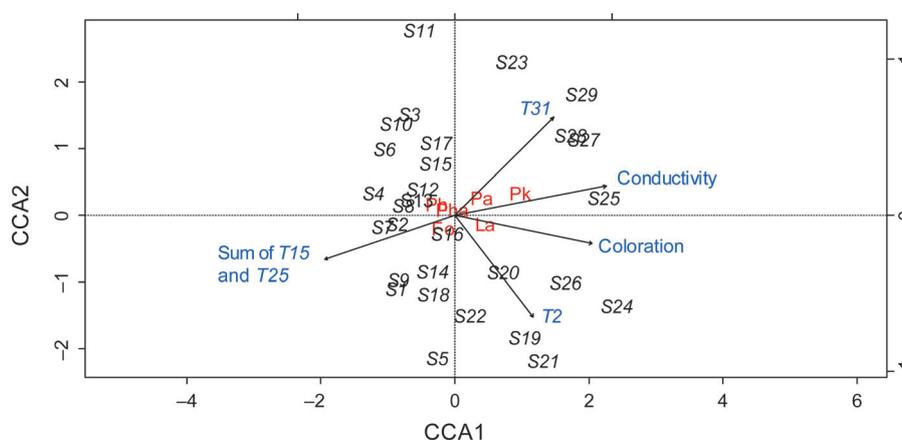


Figure. Correlation, obtained by canonical correspondence analysis (CCA), between melissopalynological, physicochemical, and volatile data of ‘summer maquis’ honey samples *S1–S29*. For the abbreviations of the variables (parameters), cf. Table 4.

Table 4. Parameters Used for the Statistical Analysis of the Honey Volatiles and the Melissopalynological and Physicochemical Data of Corsican 'Summer Maquis' Honey Samples S1–S29

Sample	Content of volatile compound classes [%] ^{a)}						Relative frequency (RF) [%] ^{b)}			Physicochemical parameters	
	Pha	La	Pk	Ph	Fo	Pa	T3I ^{b)}	T2	Sum of (T15 and T25)	Coloration [mm Pfund]	Electrical conductivity [mS/cm]
S1	54.8	15.2	0.0	4.8	3.8	0.0	43.0	0.4	26.6	11.0	0.20
S2	58.1	13.2	1.5	6.2	2.7	0.0	63.2	0.1	15.8	11.0	0.19
S3	53.5	7.7	3.9	5.6	1.9	2.6	65.8	0.2	20.9	27.0	0.36
S4	53.4	8.7	0.0	7.9	3.3	1.6	51.1	0.3	6.1	18.0	0.20
S5	40.9	19.2	0.0	2.2	6.0	4.3	6.8	0.0	8.7	18.0	0.19
S6	65.2	8.9	1.5	6.7	1.7	1.8	64.7	0.0	6.0	27.0	0.22
S7	55.4	11.1	0.0	6.9	4.1	1.7	50.0	0.2	34.6	18.0	0.19
S8	43.9	11.2	2.1	8.3	3.5	1.3	67.6	0.0	13.1	11.0	0.18
S9	45.5	14.5	0.0	6.7	2.6	0.0	34.6	0.0	14.0	11.0	0.18
S10	53.9	7.2	2.2	7.1	2.3	3.3	83.9	0.0	22.8	18.0	0.38
S11	59.0	5.5	5.0	6.8	1.0	7.0	79.4	0.1	31.2	27.0	0.33
S12	51.4	12.7	1.3	4.2	2.2	5.2	79.8	0.1	14.0	41.0	0.36
S13	48.9	13.6	0.5	6.4	2.6	5.7	78.3	0.1	14.9	41.0	0.34
S14	49.3	15.9	2.7	2.7	2.9	0.0	78.3	0.0	15.3	35.0	0.27
S15	50.9	12.5	4.5	5.3	2.3	2.7	67.0	0.2	24.8	46.0	0.46
S16	41.4	13.9	3.3	3.3	4.2	3.7	68.3	0.4	27.5	51.0	0.43
S17	49.1	12.4	2.9	5.1	1.0	5.6	82.6	0.1	13.1	51.0	0.58
S18	38.8	17.5	0	5.6	2.9	3.8	56.5	0.7	24.8	71.0	0.46
S19	31.2	26.7	5.1	1.3	2.8	4.4	65.3	0.6	11.4	51.0	0.47
S20	33.5	20.2	4.8	1.6	1.7	3.4	75.4	0.5	8.0	51.0	0.61
S21	30.9	31.2	7.4	2.2	1.3	0.4	77.6	1.7	14.6	62.0	0.66
S22	43.9	22.1	3.5	1.9	2.0	0.6	59.8	1.7	19.2	62.0	0.59
S23	35.7	13.1	9.1	4.0	1.0	7.4	86.1	0.2	11.2	51.0	0.66
S24	20.8	36.9	13.7	1.7	1.8	4.2	85.4	1.2	2.2	71.0	0.68
S25	24.1	29.6	14.1	2.6	0.5	5.4	87.9	0.5	10.2	71.0	1.16
S26	29.3	29.6	10.9	2.2	1.8	2.3	89.2	0.1	9.5	62.0	0.72
S27	35.2	24.4	17.5	0.8	1.3	2.2	88.6	0.6	4.8	51.0	0.60
S28	33.0	20.8	14.5	0.7	1.9	4.0	92.8	0.2	27.6	62.0	0.98
S29	24.6	17.5	12.2	1.8	0.6	5.3	95.4	0.1	15.3	51.0	1.14

^{a)} Abbreviations of the compound classes: Pha, phenolic aldehydes; La, linear acids; Pk, phenolic ketones; Ph, phenolic hydrocarbons; Fo, furan oxides; Pa, phenolic alcohols. ^{b)} For the taxon number and details, cf. Table 1.

the seven samples (*S23–S29*) that possessed higher *RF* values of *C. sativa* (*T31*), coloration, and electrical conductivity and lower *RF* values of *T15* and *T25*, but also four other samples (*S19–S22*). This suggests that the high contents of acetophenone and 2-aminoacetophenone, previously reported as characteristic compounds of Corsican ‘chestnut grove’ honey [4], might be explained by the influence of the chestnut-nectar contribution in these honey samples (mean RF_{Castanea} of 82.1 and 62.3% in *Groups II* and *I*, resp.). Otherwise, the honey samples of *Group II* possessed higher concentrations of linear acids, such as butanoic acid, 3-methylbutanoic acid, and hexanoic acid, than those of *Group I* (24.4 vs. 12.3%). These compounds have also been reported as volatile components of Greek and Spanish thyme honeys [18–20]. Hence, the higher values of linear acids of *Group II* might be related to the contribution of *T. herba-barona* (*T2*; 0.7 vs. 0.2% in *Groups II* and *I*, resp.). However, chemical markers of Greek thyme honey, such as 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde, phenylacetonitrile, 3-hydroxy-1-phenylbutan-2-one, or 1-phenylbutane-2,3-dione [18][19], were not found in these honey samples.

Conclusions. – The geographical and botanical origins of 29 Corsican ‘summer maquis’ honey samples were characterized by melissopalynological analysis. The results showed a great diversity of nectariferous taxa, in particular an association of *A. hermanniae* and *Rubus* sp. with some endemic taxa such as *S. glutinosa*, *Thymus herba-barona*, *Helleborus lividus* ssp. *corsicus*, *Teucrium* sp., and *Genista* sp. of high altitude. Moreover, *C. sativa* was present in the honey samples with a great variation of relative frequency.

The composition of the volatile compounds of Corsican ‘summer maquis’ honeys was reported for the first time here and showed a predominance of phenolic compounds, especially phenylacetaldehyde, followed by linear acids. Statistical analysis suggests the existence of two groups among the investigated honey samples. Indeed, 18 samples were characterized by a high content of phenolic aldehydes, in particular phenylacetaldehyde, which might relate to the high total amount of *A. hermanniae* and *Rubus* sp. On the other hand, 11 samples showed a higher concentration of phenolic ketones and linear acids, which might be due to the nectar contribution of *C. sativa* and *T. herba-barona*, respectively.

Finally, it was confirmed that melissopalynological analysis is a reliable method for the certification of honey origin, in particular the geographical origin. Moreover, for honey with complex botanical origins, like Corsican ‘summer maquis’ honey, the volatile composition proved to be useful for the detection of different nectar contributions.

The authors are indebted to the *Délégation Régionale à la Recherche et à la Technologie de Corse* (DRRT), the *Collectivité Territoriale de Corse* (CTC), and the *European Community* for partial financial support.

Experimental Part

Honey Sampling. In this study, 29 Corsican ‘summer maquis’ honeys (Samples *S1–S29*), commercialized with PDO appellation, were selected from the honey reference bank of the Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, Corte, France. These honey samples were stocked below 14° to ensure an optimal conservation [21]. The selection of the honey samples was performed by

sensory analysis to guarantee their best state. These honeys were harvested from June to the end of September between 2004 and 2012 from 17 beekeepers. The apiary locations were essentially in the region of Niolu, the high valley of Gravona, the high valley of Taravo, and the region of Quenza, with altitudes mainly above 800 m.

Melissopalynological Analysis. The melissopalynological analyses were performed using the method described by Yang *et al.* [4]. Pollen identification was based on *i*) the comparison with reference pollen-slides available in the Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, Corte, France, and *ii*) the melissopalynological expertise practice applied for the control of Corsican honey [10][11]. Qualitative (total pollen spectrum) and quantitative (pollen density) analyses were established for each sample. The occurrence of the characteristic taxa was expressed as relative frequency (*RF*) in the pollen spectrum, while the pollen density was expressed as the absolute number of pollen grains in 10 g of honey (PG/10 g).

The certification of the geographical origin of the Corsican honeys was based on melissopalynological analysis according to three criteria: *i*) the diversity of biogeographical origins of species in the pollen spectrum, *ii*) the presence of endemic or subendemic species, and *iii*) the absence of taxa which were frequent in the neighbor regions and/or countries [10][11]. The determination of the botanical origin took into account the beekeeping value of each taxon (nectariferous and/or polleniferous taxa and only-polleniferous taxa), the representation type of nectariferous taxa, and the characteristic species associations of the honey flow (flowering period).

Physicochemical Analysis. The honey coloration was measured with a Lovibond® Comparator apparatus [22] and expressed as mm Pfund. The electrical conductivity was determined with a conductivity meter Micro CM2210 (CRISON, Spain) and expressed as mS/cm [23].

Headspace Solid-Phase Microextraction (HS-SPME) Optimization. The honey volatile fraction was extracted by HS-SPME with a divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, 30 µm) fiber (Supelco, Sigma Aldrich). The parameter optimization was carried out with honey sample *S18* and was based on the sum of total peak areas measured by a GC-FID system. The following parameters were optimized: the honey concentration in dist. H₂O (0.5, 1.0, and 2.0 g/ml), the Na₂SO₄ content (1.0 and 2.0 g), the temp. (25, 50, and 70°), the equilibration time (30, 60, and 90 min), and the extraction time (15, 30, and 45 min).

HS-SPME. The honey volatiles were obtained by extraction of 4 g of honey sample with 4 ml of H₂O containing 2 g of Na₂SO₄ in a 20-ml vial at a temp. of 70° with an equilibration time of 90 min and an extraction time of 30 min. For each analysis, the fiber was reconditioned for 5 min in the GC injection port at 280° before sampling and consecutively inserted into the GC-FID and GC/MS injection ports for 5 min for the desorption of the volatile components after sampling. For each sample, the analyses were performed in triplicate, to ensure that the coefficients of variation of the major compounds and the sum of the total peak areas were always below 15%.

GC-FID Analysis. After sampling, the honey volatiles were injected with an SPME inlet liner (0.75 mm i.d.; Supelco) and analyzed with a PerkinElmer AutoSystem XL apparatus (Waltham, MA, USA) equipped with a flame-ionization detection (FID) system and an *Rtx-1* (PDMS) fused-silica cap. column (30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 1 µm). The oven temp. was programmed rising from 60 to 230° at 2°/min and then held isothermal at 230° for 35 min; injector and detector temp, 280°; carrier gas, H₂ (1.0 ml/min); injection mode, splitless. The relative contents of the components were calculated from the GC-FID peak areas without using correction factors.

GC/MS Analysis. The system used for the GC/MS analyses comprised a PerkinElmer Clarus 500 gas chromatograph coupled to a Clarus 500 mass spectrometer equipped with an *Rtx-1* fused-silica cap. column (30m × 0.25 mm, film thickness 1 µm). The GC analytical conditions were the same as indicated above (*cf. GC-FID Analysis*). The ion-source temp. was 150° and the ionization energy 70 eV. Electronic ionization (EI) mass spectra were acquired over the mass range of 35–350 Da (scan time, 1 s).

Compound Identification. The identification of the components was based on *i*) the comparison of their GC retention indices (*RI*s), determined on a nonpolar column rel. to the retention times (*t_R*) of a homologous series of *n*-alkanes (C₅–C₃₀; Restek, Lisses, France) with linear interpolation, with those of authentic compounds or those listed in a homemade MS library and *ii*) the comparison of their *RI* and mass spectra with those of commercial mass-spectral libraries [24][25].

Statistical Analysis. Canonical correspondence analysis (CCA) was performed by using the CCA function of the R software (R Foundation, Institute for Statistics and Mathematics, Wirtschaftsuniversität Wien, Austria).

REFERENCES

- [1] M. J. Battesti, J. Gamisans, L. Piana, 'Définition du Périmètre de Production – Rapport des Experts en Vue de la Mise à l'Enquête de la Demande de Reconnaissance en A.O.C. Miel de Corse – Mele di Corsica', 1997.
- [2] 'Décret No. 2010-1045 du 31 Août 2010, Relatif à l'Appellation d'Origine Contrôlée Miel de Corse – Mele di Corsica', 2010, <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORF-TEXT000022783277> (accessed December 10, 2013).
- [3] European Commission (EC), 'Council Regulation No. 510/2006 on the Protection of Geographical Indications and Designations of Origin for Agricultural Products and Foodstuffs – Amendment Application in Accordance with Article 9 Miel de Corse – Mele di Corsica (EC No: FR-PDO-0105-0066-20.04.2011)', *Off. J. Eur. Union* **2013**, 39.
- [4] Y. Yang, M. J. Battesti, N. Djabou, A. Muselli, J. Paolini, P. Tomi, J. Costa, *Food Chem.* **2012**, *132*, 2144.
- [5] Y. Yang, M. J. Battesti, J. Paolini, A. Muselli, P. Tomi, J. Costa, *Food Chem.* **2012**, *134*, 37.
- [6] J. Gamisans, 'Catalogue des Plantes Vasculaires de la Corse', Parc Naturel Régional de la Corse, Ajaccio, 1985.
- [7] S. Pignatti, 'Flora d'Italia', Edagricole, Italy, 1982, Vol. 1.
- [8] M. A. Cardona, J. Contandriopoulos, E. Sierra Rafols, *Orsis*, **1986**, *2*, 5.
- [9] S. Brullo, G. Giusso del Galdo, *Novon* **2006**, *16*, 304.
- [10] M. J. Battesti, Ph.D. Thesis, University of Marseille St. Jérôme (Aix-Marseille III) at Marseille, 1990.
- [11] M. J. Battesti, C. Goeury, *Rev. Palaeobot. Palynol.* **1992**, *75*, 77.
- [12] A. Tsigouri, M. Passaloglou-Katrali, O. Sabatakou, *Grana* **2004**, *43*, 122.
- [13] E. De la Fuente, M. L. Sanz, I. Martínez-Castro, J. Sanz, A. I. Ruiz-Matute, *Food Chem.* **2007**, *105*, 84.
- [14] J. Gamisans, in 'La Végétation de la Corse', Edisud, Aix-en Provence, 1999, pp. 211–215.
- [15] A. Verzera, C. Conurso, in 'Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering', Elsevier, Amsterdam, 2012, p. 87.
- [16] A. C. Soria, J. Sanz, I. Martínez-Castro, *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, *228*, 579.
- [17] L. F. Cuevas-Flory, J. A. Pino, L. S. Santiago, E. Sauri-Duch, *Food Chem.* **2007**, *103*, 1032.
- [18] E. Alissandrakis, P. A. Tarantilis, P. C. Harizanis, M. Polissiou, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 8152.
- [19] E. Alissandrakis, P. A. Tarantilis, C. Pappas, P. C. Harizanis, M. Polissiou, *Eur. Food Res. Technol.* **2009**, *229*, 365.
- [20] L. Castro-Vazquez, M. C. Diaz-Maroto, M. A. Gonzalez-Vinas, M. S. Perez-Coello, *Food Chem.* **2009**, *112*, 1022.
- [21] M. Gonnet, G. Vache, 'Le Goût du Miel'. U.N.A.F., Paris, 1985.
- [22] S. Aubert, M. Gonnet, *Apidologie* **1983**, *14*, 105.
- [23] S. Bogdanov, *Agrarforschung* **1997**, *4*, 427.
- [24] W. A. König, D. H. Hochmuth, D. Joulain, 'Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils, Library of Mass Finder 2.1', Institute of Organic Chemistry, University of Hamburg, Hamburg, 2001.
- [25] National Institute of Standards and Technology, Spectral Database for Organic Compounds, NIST Chemistry WebBook, 2008, <http://webbook.nist.gov/chemistry> (accessed December 10, 2013).

Received January 21, 2014

III.2. Les miels de miellats

En Corse, les miellats dits « *traditionnels* » sont des miellats de type méditerranéen. Généralement, ils sont produits de mai à juillet et originaires (Battesti *et al.*, 1997) :

- soit de zones à cistaies caractérisées par l'association de trois espèces de cistes et de calicotomes ;
- soit de zones forestières de type chênaie,
- soit de châtaigneraie et/ou forêts mixtes.

Or, avec l'apparition de *Metcalfa pruinosa*, insecte signalé pour la première fois sur l'île en 1995, une nouvelle miellée est apparue en Corse à partir de 1999 (Battesti *et al.*, 2007). Cette production de miellat présente la particularité de survenir entre juillet et août en basse altitude et dans les zones humides (ripisylves). Elle se distingue très nettement des précédents par une couleur très foncée et une viscosité très marquée. Depuis, la production de ces miels ne cesse de croître et augmente le tonnage des miels produits sous l'étiquette « *miellat du maquis* ».

Dans cette partie de la thèse, nous avons étudié les compositions volatiles de miels de la gamme « *miellat du maquis* », et de miels dits « *généralistes* », commercialisés sans mention particulière de la gamme, parce qu'ils présentent une origine complexe de type mélange « miel de nectar » et « miel de miellat ». Cette étude doit permettre d'une part d'identifier la diversité chimique propre à la fraction volatile de la catégorie « *miellat du maquis* », et d'autre part de la positionner par rapport aux variétés de miels de nectars. Les échantillons étudiés proviennent de 20 exploitations ; ils ont été récoltés entre 2004 et 2012 (**Tableau A.1-Annexe 2**).

III.2.1 Caractéristiques polliniques et physico-chimiques

A l'inverse des miels de nectar, il n'y a pas de marquage pollinique primaire dans les miels de miellats, mais ils possèdent les mêmes enrichissements secondaires et tertiaires. Leur spectre est caractérisé par l'absence de taxon nectarifère dominant ainsi que par une densité pollinique variable et généralement faible. De plus, il s'avère que des spores, des asques de champignons ou des algues microscopiques (**Figure**

A.3-Annexe 5) sont prélevés au moment de la collecte de la matière première «miellat » sur les végétaux piqués par les insectes. Ces micro-organismes sont appelés «indicateurs de miellat ». En règle générale, les miellats méditerranéens traditionnels contiennent peu de ces indicateurs, alors que les miellats de *Metcalfa* en sont très riches, souvent en plus grand nombre que les grains de pollen (Battesti *et al.*, 2007).

Ainsi, à partir des critères polliniques et physico-chimiques suivants, nous pouvons distinguer trois groupes principaux d'échantillons parmi les miels étudiés :

- 43 miellats de *Metcalfa* (MM01-MM43), caractérisés par une présence importante des indicateurs de miellat, une faible densité pollinique, l'association de taxons typiques de ces miellés (*Chenopodiaceae/Amaranthaceae*, *Artemisia* sp., *Myrtus communis*, *Eucalyptus* sp., *Plantago* sp. et *Asparagus* sp.) et l'absence de taxon nectarifère dominant. Leur teneur en eau est faible (14,6 g/100g) et leurs valeurs de coloration et de conductivité électrique sont très élevées (105,8 mm Pfund et 1,63 mS/cm, respectivement) (**Tableau 3**);
- 5 miellats de forêts mixtes ou de «cistaies littorales » (miellats traditionnels : MM44 – MM48) dont les spectres polliniques sont dépourvus d'indicateurs de miellat et de taxon nectarifère dominant, mais riches en espèces uniquement pollenifères tels que *Cistus* sp. et/ou *Quercus* sp. Ils ont une teneur en eau plus élevée que les miellats de *Metcalfa* (15,1 g/100g), alors que les valeurs de coloration et de conductivité électrique sont plus faibles (94,8 mm Pfund et 1,18 mS/cm, respectivement) (**Tableau 3**);
- 26 miels «généralistes » (MM49 – MM74) d'origine botanique complexe, leurs spectres présentent peu d'indicateurs usuels de miellats, contrairement aux miellats de *Metcalfa*. En revanche, ils possèdent une teneur en eau relativement élevée (16,2 g/100g) et des valeurs de coloration et de conductivité électrique plus faibles (89,7 mm Pfund et 1,11 mS/cm, respectivement) que celles des miellats de *Metcalfa* (**Tableau 3**). Les spectres sont très diversifiés au niveau pollinique aussi bien en proportion qu'en association. Ils présentent des caractéristiques de miellés précédents, souvent de «châtaigneraie » et/ou de «maquis de printemps », dont les contributions nectarifères restent difficiles à déterminer.

Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques des miels de « *miellats du maquis* » et « *généralistes* »

	Teneur en eau (%)			Coloration (mm Pfund)			Conductivité électrique (mS/cm)		
	Moyenne	Min.	Max.	Moyenne	Min.	Max.	Moyenne	Min.	Max.
Met	14,6±0,7	13,2	16,4	105,8±9,8	83,0	130,0	1,63±0,21	1,24	2,12
Mt	15,1±0,5	14,4	15,6	94,8±3,8	92,0	99,0	1,18±0,16	0,94	1,30
MC	16,2±0,9	14,6	18,0	89,7±7,0	71,0	110,0	1,11±0,28	0,73	1,88

Met : Miellat de *Metcalfa* (MM01-MM43); **Mt** : Miellat traditionnel (MM44-MM48);

MC : Miels de Corse « *généralistes* » (MM49-MM74)

III.2.2. Composition volatile

La composition chimique des fractions volatile des miels de miellats a fait l'objet de quelques publications mais la grande majorité des études n'indique pas l'origine botanique des échantillons. Parmi les principaux la spécifiant, nous pouvons citer ceux sur les miellats de chêne vert (*Quercus ilex*) d'Espagne (De la Fuente *et al.*, 2007), de sapin (*Abies alba*) de Croatie (Lusic *et al.*, 2007) et d'Espagne (De la Fuente *et al.*, 2007), de pin (*Pinus sp.*) de Turquie (Silici, 2011) et de Grèce (Tananaki *et al.*, 2007) et de saule (*Salix sp.*) de Croatie (Jerkovic *et al.*, 2010a). Des compositions chimiques très diverses ont été rapportées en fonction de l'origine botanique ou géographique des échantillons. Ainsi, divers composés ont été proposés comme des indicateurs de miellat : acide acétique (Campos *et al.*, 2000 ; Soria *et al.*, 2009), 2,3-butanediol (Plutowaska *et al.*, 2011), bornéol (Soria *et al.*, 2004) et oak-lactone (Castro-Vazquez *et al.*, 2006). A notre connaissance, il n'y a aucune étude consacrée à la composition volatile des miels de miellat de *Metcalfa*.

L'analyse de la fraction volatile des miellats et miels « *généralistes* » par CPG et CPG/SM a permis d'identifier 61 composés représentant 80,9 à 98,5% de la composition totale (**Tableau 4**). Les composés oxygénés sont largement prédominants (74,6 à 96,5%) avec une richesse marquée en composés aromatiques (30,6%) tels que le benzaldéhyde **C9**, le benzyl alcool **C14**, le phénylacétaldéhyde **C15**, le *p*-anisaldéhyde **C39** et le 4-n-propylanisol **C42**. Au niveau quantitatif, nous constatons des variations importantes dans les abondances des composés majoritaires : 3-furaldéhyde **C2** (3,9 - 40,4%), benzaldéhyde **C9** (0,3 - 14,3%), acide nonanoïque **C44** (0,2 - 13,8%), β -phényléthanol **C23** (0,2 - 19,2%) et 2-aminoacétophénone **C46** (0,2 - 38,3%). Par ailleurs, nous observons également une variabilité chimique au niveau

qualitatif sur la base des constituants tels que le *p*-anisaldéhyde **C39** (0 - 17,9%), le 4-n-propylanisol **C42** (0 - 31,0%), le 3,4,5-triméthylphénol (0 - 38,6%) **C47** et le 4-méthoxypropionophénone **C51** (0 - 9,8%).

De façon analogue aux miels de nectars, nous constatons que le 3-furaldéhyde **C2**, le benzaldéhyde **C9** et le phénylacétaldéhyde **C15** sont présents dans tous les échantillons de miels de miellats (et « *généralistes* ») avec, pour le premier, une teneur (**C2** : 21,1%) plus élevée que celle rapportée dans les miels de nectars (4,1%).

De multiples composés sont présents simultanément dans les échantillons de miels de nectars et de miel de miellats (et « *généralistes* »). Exemples : les oxydes de linalol (squelette furanoïde : **C20** et **C22**), et les acides linéaires comme l'acide octanoïque **C36** et l'acide nonanoïque **C44**. Ces constituants ont été détectés comme majoritaires dans les fractions volatiles des miellats de chêne (*Quercus frainetto*) de Croatie (Jerkovic *et al.*, 2010b).

A contrario, quatre constituants - 2-furanméthanol **C3** (0,8%), anisol **C8** (0,4%), 5-hydroxyméthylfurfural **C37** (0,2%) et 4-éthylguaïacol **C41** (1,3%) - sont présents dans la plupart des 74 échantillons étudiés alors qu'ils sont absents des miels de nectar.

Afin de mieux cerner la diversité chimique des miellats et miels « *généralistes* » de Corse, nous avons mené une analyse statistique sur les 74 échantillons étudiés. L'ACP (**Figures 4 & 5**) a été réalisée en utilisant les teneurs de 14 composés (variables) : le 3-furaldéhyde **C2**, le benzaldéhyde **C9**, le β -phényléthanol **C23**, l'isophorone **C25**, le nonanol **C32**, le *p*-anisaldéhyde **C39**, le 4-éthylguaïacol **C41**, le 4-n-propylanisol **C42**, la 4-hydroxy-2-méthylacétophénone **C43**, l'acide nonanoïque **C44**, la 2-aminoacétophénone **C46**, le 3,4,5-triméthylphénol **C47**, l'acide decanoïque **C49** et la 4-méthoxypropionophénone **C51**. Les deux axes de l'ACP expliquent 42,58% de la variance de la composition chimique :

- l'axe 1 (28,66%) est corrélé positivement avec le benzaldéhyde **C9**, l'isophorone **C25**, le *p*-anisaldéhyde **C39**, le 4-n-propylanisol **C42**, la 2-aminoacétophénone **C46**, le 3,4,5-triméthylphénol **C47** et la 4-méthoxypropionophénone **C51** ;
- l'axe 2 (13,92%) est corrélé positivement avec le 3-furaldéhyde **C2**, le

benzaldehyde **C9**, l'isophorone **C25**, le 4-éthyl-guaiacol **C41**, la 4-hydroxy-2-méthylacétophénone **C43** et le 3,4,5-triméthylphénol **C47**.

Les résultats obtenus permettent de différencier trois groupes principaux :

- Le premier groupe est composé de 50 échantillons dont tous les miellats de *Metcalfa* (MM01 – MM43), deux échantillons de miellats « *traditionnels* » (MM47 et MM48) et cinq échantillons « *généralistes* » (MM49 – MM53). Ces miels sont particulièrement riches en 3-furaldéhyde **C2** (24,2%). Ce groupe présente également des proportions relativement élevées en acides : acide nonanoïque **C44** (6,9%), acide décanoïque **C49** (5,5%) et en alcools : β -phényléthanol **C23** (4,3%), nonanol **C32** (2,7%), 4-éthylguaiacol **C41**: (1,6%). En revanche, ils ont des abondances relativement faibles en cétones et oxides (7,7% et 4,3%, respectivement).
- Le deuxième groupe est constitué de 20 échantillons de miels « *généralistes* » (MM55 – MM74) présentant une composition volatile plus diversifiée. D'un point de vue général, ces échantillons sont moins riches en 3-furaldéhyde **C2** (13,4%) que les miellats de *Melcalfa*. Au sein de ce groupe, les miels se distinguent par la teneur en 2-aminoacétophénone (**C46**) particulièrement importante pour sept d'entre eux (21,3% : MM55 – MM61) alors qu'elle est faible pour sept autres échantillons (4,1% : MM68 – MM74). Ces derniers sont marqués par des concentrations élevées en *p*-anisaldéhyde **C39** (12,5%), 4-n-propylanisol **C42** (16,1%) et 4-méthoxypropiphénone **C51** (6,4%). En outre, nous avons constaté que six échantillons (MM62 – MM67) présentent une valeur intermédiaire de 2-aminoacétophénone **C46** (8,2%), *p*-anisaldéhyde **C39** (6,6%), 4-n-propylanisol **C42** (7,5%) et 4-méthoxypropiphénone **C51** (2,8%).
- Le troisième groupe est composé de quatre échantillons (MM44 – MM46 et MM54) ayant une composition volatile « atypique ». Trois d'entre eux sont des miellats « *traditionnels* » de type méditerranéen (MM44 – MM46) caractérisés par une teneur en benzaldéhyde **C9** plus élevée (10,2 – 14,3%) que celle mesurée dans les autres miels de miellats (0,3 – 8,7%). L'échantillon MM44 se distingue par sa richesse en aldéhydes linéaires (62,2%) tels que l'octanal **C12** (4,5%), le nonanal **C24** (10,3%) et le décane **C38** (5,4%) et par la présence d'octanol **C21** et de 4-hydroxy-2-méthylacétophénone **C43** (absent dans les autres échantillons) ; alors

que les miels MM45 et MM46 sont marqués par une forte abondance en isophorone **C25** (9,4%). Pour ce qui est de MM54, quatrième échantillon du groupe, sa fraction volatile est dominée par l'isophorone **C25** (15,1%), le 2,3,4-triméthylphénol **C40** (9,8%) et le 3,4,5-triméthylphénol **C47** (38,6%).

Ces résultats montrent que l'analyse de la fraction volatile permet de détecter les apports nectarifères de certaines espèces végétales dans les miels de miellats ou les miels d'origine complexe (mélange de miel de miellat et miel de nectar). Ainsi, nous pouvons supposer que les échantillons ayant une forte proportion en 2-aminoacétophénone (composé marqueur des miels de « *châtaigneraie* ») sont des mélanges de miellat et de miel de « *châtaigneraie* ». De façon analogue, le nectar d'*E. arborea* participe à la fraction volatile des échantillons ayant des teneurs élevées en *p*-anisaldéhyde, 4-*n*-propylanisol et 4-méthoxypropionophénone (composés caractéristiques des miels de « *maquis de printemps* »). Enfin, la présence de dérivés de l'isophorone et de triméthylphénol (composés caractéristiques des miels de « *maquis d'automne* ») nous permet de supposer un apport nectarifère d'*A. unedo* dans un échantillon (MM54).

Lors de l'étude des miels de nectar, nous avons supposé des apports de miellats dans certains échantillons des gammes « *chataigneraie* » et « *maquis de printemps* » par l'observation de valeurs importantes de la coloration et de la conductivité électrique ; ces hypothèses sont confirmées par la période de miellée qui est commune aux nectars (chataîgnier et bruyère) et aux miellats de *Melcalfa*. La composition chimique contribue donc à mieux caractériser les miels dits « *généralistes* » issus d'apports combinés de miellats et de nectars. En outre, l'étude des fractions volatiles peut permettre d'identifier les spécificités des miels commercialisés sous l'appellation « *miellat du maquis* » en différenciant les miellats de *Melcalfa* et les miellats dits « *traditionnels* » (miels des cistaies et forêts mixtes).

Tableau 4. Composition chimique des fractions volatiles des 74 miels de «miellats du maquis » et «g ériques »

No ^a	Components	RI (Lit) ^b	RI ^c	Groupe I			Groupe II			Groupe III				Identification ^e
				Moyenne ^d	Min	Max	Moyenne	Min	Max	MM44	MM45	MM46	MM54	
C1	Octane	800	800	1,3±0,7	0,2	3,8	0,5±0,6	0,1	2,6	0,4	0,1	0,1	0,2	IR, SM
C2	3-Furald éhyde	799	804	24,3±8,3	10	40,4	13,4±6,9	4,8	29,2	18,6	17	22,8	3,9	IR, SM
C3	2-Furanm éhanol	825	834	0,8±0,5	0,1	2,5	0,6±0,5	0,1	1,7	-	-	-	0,1	IR, SM, Ref
C4	Acide de 2-m éhyl butano ùque	860	858	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	IR, SM, Ref
C5	Heptanal	884	876	-	-	-	-	-	-	1,1	0,1	0,3	-	IR, SM
C6	2-Ac étylfurane	878	879	0,6±0,3	0,1	1,4	0,4±0,2	0,2	0,8	-	-	-	0,1	IR, SM, Ref
C7	Nonane	900	899	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	0,4	-	IR, SM
C8	Anisol	913	910	0,4±0,2	0,1	0,9	0,5±0,3	0,1	1,1	-	-	-	0,2	IR, SM
C9	Benzald éhyde	929	930	3,9±1,6	0,3	8,7	4,0±1,5	1,8	6,8	14,3	10,7	10,2	1,5	IR, SM
C10	Heptanol	957	952	0,2±0,3	0,1	1,4	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-	IR, SM
C11	Acide hexano ùque	973	970	1,2±1,0	0,2	4,8	0,7±0,5	0,1	1,9	0,5	-	-	-	IR, SM, Ref
C12	Octanal	981	980	0,8±0,6	0,1	2,1	0,3±0,2	0,1	0,7	4,5	0,5	0,5	-	IR, SM
C13	<i>p</i> -M éhylanisol	1004	995	0,6±0,63	0,1	2,4	3,1±2,0	0,4	7,7	-	0,5	1	-	IR, SM
C14	Benzyl alcool	1006	1009	1,8±1,5	0,2	7,6	1,6±2,4	0,1	7,0	-	-	-	-	IR, SM
C15	Ph énylac éald éhyde	1012	1010	3,9±2,1	0,2	9,2	4,9±3,7	1,3	16,2	5	5,1	11,2	0,9	IR, SM
C16	β -Isophorone	1027	1026	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	IR, SM
C17	Ac étoph énone	1036	1035	0,6±0,6	0,1	3,1	0,9±0,8	0,1	3,0	0,2	0,6	0,9	0,2	IR, SM
C18	1-Ph ényl éhanol	1037	1046	0,4±0,3	0,1	1,1	0,5±0,3	0,1	1,0	-	-	-	0,1	IR, SM, Ref
C19	(<i>E</i>)-2-Oct-2- èn-1-ol	1052	1050	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	IR, SM
C20	<i>trans</i> -Oxyde de linalol (furano ùle)	1058	1058	1,3±0,6	0,4	3,0	0,9±0,6	0,1	2,6	0,7	1,2	3,6	0,1	IR, SM
C21	Octanol	1063	1065	-	-	-	-	-	-	2,1	-	-	-	IR, SM
C22	<i>cis</i> -Oxyde de linalol (furano ùle)	1072	1073	1,3±0,6	0,2	2,9	1,1±0,4	0,2	1,9	-	1,0	2,2	-	IR, SM
C23	β -Ph ényl éhanol	1085	1077	4,3±3,2	0,4	19,2	2,2±1,8	0,2	6,8	8,4	2,5	2,3	-	IR, SM
C24	Nonanal	1076	1082	1,0±1,3	0,2	6,7	0,4±0,3	0,1	1,4	10,3	3,2	3,2	-	IR, SM
C25	Isophorone	1100	1092	2,8±1,9	0,4	9,2	1,6±1,7	0,1	6,2	2	9,4	13,5	15,1	IR, SM
C26	4-Oxo-isophorone	1122	1123	0,7±0,8	0,2	4,9	0,7±0,5	0,1	2,2	0,6	0,3	1,0	2,3	IR, SM
C27	(2 <i>S</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1124	1123	0,4±0,5	0,1	2,1	0,5±0,4	0,2	1,5	0,6	0,6	0,7	-	IR, SM, Ref
C28	Dihydrolinalool	1118	1125	0,5±0,4	0,2	1,7	0,6±0,3	0,3	1,4	0,5	0,5	0,9	-	IR, SM, Ref
C29	4-Vinylnisol	1150	1126	1,1±1,1	0,2	4,0	0,9±1,0	0,2	4,0	-	-	-	-	IR, SM, Ref

Tableau 4. (suite)

No ^a	Components	RI (Lit) ^b	RI ^c	Groupe I			Groupe II			Groupe III				Identification ^e
				Moyenne ^d	Min	Max	Moyenne	Min	Max	MM44	MM45	MM46	MM54	
C30	(2 <i>R</i> , 2' <i>S</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1133	1138	0,5±0,5	0,1	1,8	0,5±0,5	0,1	1,4	1,5	1,4	1,8	-	IR, SM, Ref
C31	(2 <i>R</i> , 2' <i>R</i> , 5' <i>S</i>)-Lilac aldehyde	1146	1147	0,4±0,3	0,1	1,4	0,3±0,1	0,1	0,5	0,4	0,8	1	-	IR, SM, Ref
C32	Nonanol	1149	1150	2,7±2,3	0,5	9,7	0,7±0,7	0,1	2,9	2,8	-	-	-	IR, SM
C33	Acide benzoïque	1163	1160	-	-	-	0,3±0,2	0,1	0,6	-	-	-	-	IR, SM, Ref
C34	Salicylate de méthyle	1171	1165	0,5±0,3	0,1	1,1	-	0,4	0,4	-	-	-	-	IR, SM
C35	α-Terpinol	1176	1170	0,7±0,3	0,1	1,5	0,5±0,5	0,1	1,5	0,4	-	-	-	IR, SM
C36	Acide octanoïque	1167	1172	2,0±1,7	0,3	7,7	1,3±1,0	0,1	4,2	0,6	0,2	0,3	-	IR, SM
C37	5-Hydroxyméthylfurfural	1176	1173	0,2±0,1	0,1	0,8	0,2±0,1	0,1	0,5	0,2	0,3	0,1	-	IR, SM
C38	Décanal	1180	1184	0,7±0,5	0,2	3,0	0,9±0,9	0,1	4,4	5,4	1,9	1,6	-	IR, SM
C39	<i>p</i> -Anisaldehyde	1218	1215	1,4±0,5	1,0	2,0	8,4±4,8	1,3	17,9	0,2	4,1	1,8	0,9	IR, SM
C40	2,3,5-Triméthylphénol	1260	1251	0,3±0,4	0,1	1,7	0,6±0,6	0,1	2,1	-	-	-	9,8	IR, SM
C41	4-Ethylguaïacol	1257	1251	1,6±1,5	0,3	9,3	0,7±0,5	0,1	2,0	0,3	0,4	-	-	IR, SM
C42	4- <i>n</i> -Propylanisol	1254	1257	1,4±0,6	1,0	1,8	12,1±7,3	4,8	31,0	-	3,3	1,8	2,2	IR, SM, Ref
C43	4-Hydroxy-2-méthylacétophénone	1254	1257	-	-	-	-	-	-	1,9	-	-	-	IR, SM
C44	Acide nonanoïque	1263	1260	6,8±3,3	0,6	13,8	2,1±1,6	0,2	6,1	3,2	1,9	0,5	-	IR, SM
C45	Décanol	1264	1265	1,0±0,6	0,3	2,1	0,5±0,2	0,2	0,7	-	-	-	-	IR, SM
C46	2-Aminoacétophénone	1261	1266	3,6±2,7	0,4	13,4	11,4±9,7	0,5	38,3	0,2	2,5	1,3	2,4	IR, SM
C47	3,4,5-Triméthylphénol	-	1290	1,1±1,8	0,2	8,1	2,4±3,2	0,2	10,6	1	-	-	38,6	IR, SM
C48	<i>p</i> -Acétanisol	1310	1306	-	0,5	0,5	0,4±0,2	0,1	0,9	-	-	-	-	IR, SM, Ref
C49	Acide decanoïque	1353	1362	5,4±4,2	1,0	18,6	1,3±1,0	0,5	4,4	3,5	0,4	0,5	-	IR, SM
C50	Dodécanal	1389	1385	1,0±0,5	0,2	2,2	0,6±0,2	0,4	1,0	0,1	0,4	0,2	-	IR, SM, Ref
C51	4-Méthoxypropionophénone	1415	1420	-	-	-	3,8±3,0	0,2	9,8	1	1,9	0,3	0,2	IR, SM
C52	Vanillate de méthyle	1516	1520	-	-	-	1,1±0,8	0,3	3,1	-	0,5	0,2	0,5	IR, SM, Ref
C53	Acide dodécanoïque	1556	1554	1,6±0,9	0,3	6,0	0,7±0,6	0,3	2,3	1,8	3,0	0,3	0,3	IR, SM, Ref
C54	Syringate de méthyle	-	1722	0,4±0,1	0,3	0,6	1,1±0,7	0,5	1,8	-	0,3	0,1	-	IR, SM
C55	Acide tétradécanoïque	1748	1746	1,5±0,8	0,3	5,0	0,9±0,9	0,2	3,8	0,5	0,9	0,4	-	IR, SM, Ref
C56	Nonadécane	1900	1898	0,9±0,7	0,2	3,1	0,7±0,3	0,2	1,1	-	-	-	-	IR, SM
C57	Acide hexadécanoïque	1959	1960	3,7±1,7	0,6	8,5	2,7±1,1	0,9	5,7	1	1,9	0,2	0,7	IR, SM
C58	Heneicosane	2100	2096	1,3±1,2	0,2	7,0	1,0±0,5	0,2	1,8	-	0,5	-	0,1	IR, SM

Tableau 4. (suite)

No ^a	Components	RI (Lit) ^b	RI ^c	Groupe I			Groupe II			Groupe III				Identification ^e
				Moyenne ^d	Min	Max	Moyenne	Min	Max	MM44	MM45	MM46	MM54	
C59	Acide nonadécanoïque		2160	1,9±1,3	0,2	7,0	1,7±0,9	0,6	3,8	-	0,6	-	0,3	IR, SM, Ref
C60	Tricosane	2300	2305	2,3±1,2	0,7	5,7	2,4±1,0	0,7	4,6	0,5	1,1	2,0	0,8	IR, SM
C61	Tetracosane	2400	2396	1,2±0,7	0,3	3,4	1,3±0,5	0,5	2,2	-	0,4	0,5	0,5	IR, SM
Total identification (%)				90,6±3,5	80,9	97,9	89,9±4,9	82,9	98,5	97,5	82,3	89,7	82,4	
Composés hydrocarbonés				6,1±3,2	1,5	13,7	5,3±1,8	2,4	8,9	1,0	2,4	3,0	1,6	
Composés oxygénés				84,5±4,1	74,6	92,1	84,6±4,9	77,2	93,3	96,5	79,9	86,7	80,8	
Composés aromatiques				22±6,7	9,8	43,2	51,1±10,2	31,6	67,8	32,5	32,4	31,1	57,5	
Composés furaniques				28,9±8,6	11,9	46,5	17,2±7,4	5,5	34,8	22	22,3	32,2	4,2	
Composés linéaires				16,3±5,6	6,4	31,5	6,6±2,8	2,1	12,0	32,1	8,2	6,9	0,2	
Composés terpéniques				0,8±0,6	0	2,1	0,5±0,6	0	1,8	0,9	0,5	0,9	0	
Dérivés d'isophorone				3,4±2,3	0	12,0	2,2±1,9	0,2	7,2	2,6	9,7	14,5	17,8	
Cétones				7,4±3,8	1,8	18,8	17,7±9,1	6,3	42,6	5,9	14,7	17,0	20,6	
Aldéhydes				35,6±9,9	15,1	56,9	31,7±8,2	14,8	50,2	62,2	46,1	55,4	7,2	
Acides				23,6±8,6	8,8	52,5	11,3±4,9	5,9	26,2	11,5	8,9	2,2	1,3	
Esters				0,3±0,3	0	1,1	0,9±0,8	0	3,1	0	0,5	0,2	0,5	
Alcools				13,3±5,6	5,2	34,7	8,0±4,2	1,2	17,7	16,2	3,4	3,2	48,6	
Oxydes				4,3±1,7	1,2	10,5	15,0±9,5	2,5	37,5	0,7	6,3	8,7	2,6	

^a : Ordre d'élué sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b : Indice de rétention provenant de la littérature

^c : Indice de rétention sur colonne apolaire (Rtx-1)

^d : abondance relative des composés des miels mesuré sur colonne apolaire (Rtx-1)

^e : IR : Indice de rétention, SM : Spectrométrie de masse en impact électronique

R# : Composés identifiés à partir de la littérature : König *et al.*, 2001 (C18, C27, C28, C30, C31, C42, C50); Nist (C3, C4, C6, C29, C33, C48, C52, C53, C55, C59)

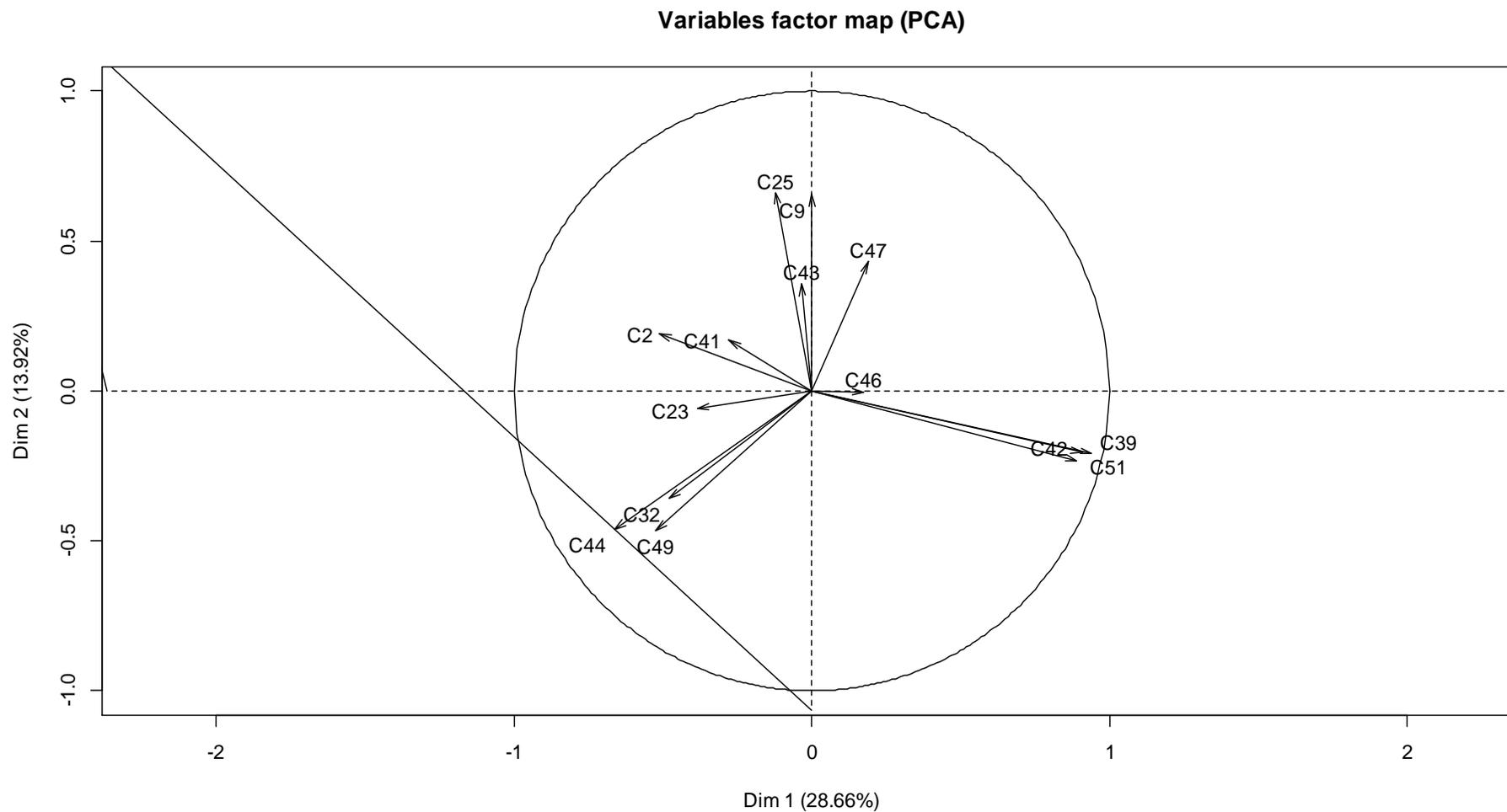


Figure 4. Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des principaux composés volatils (variables) des 74 miels

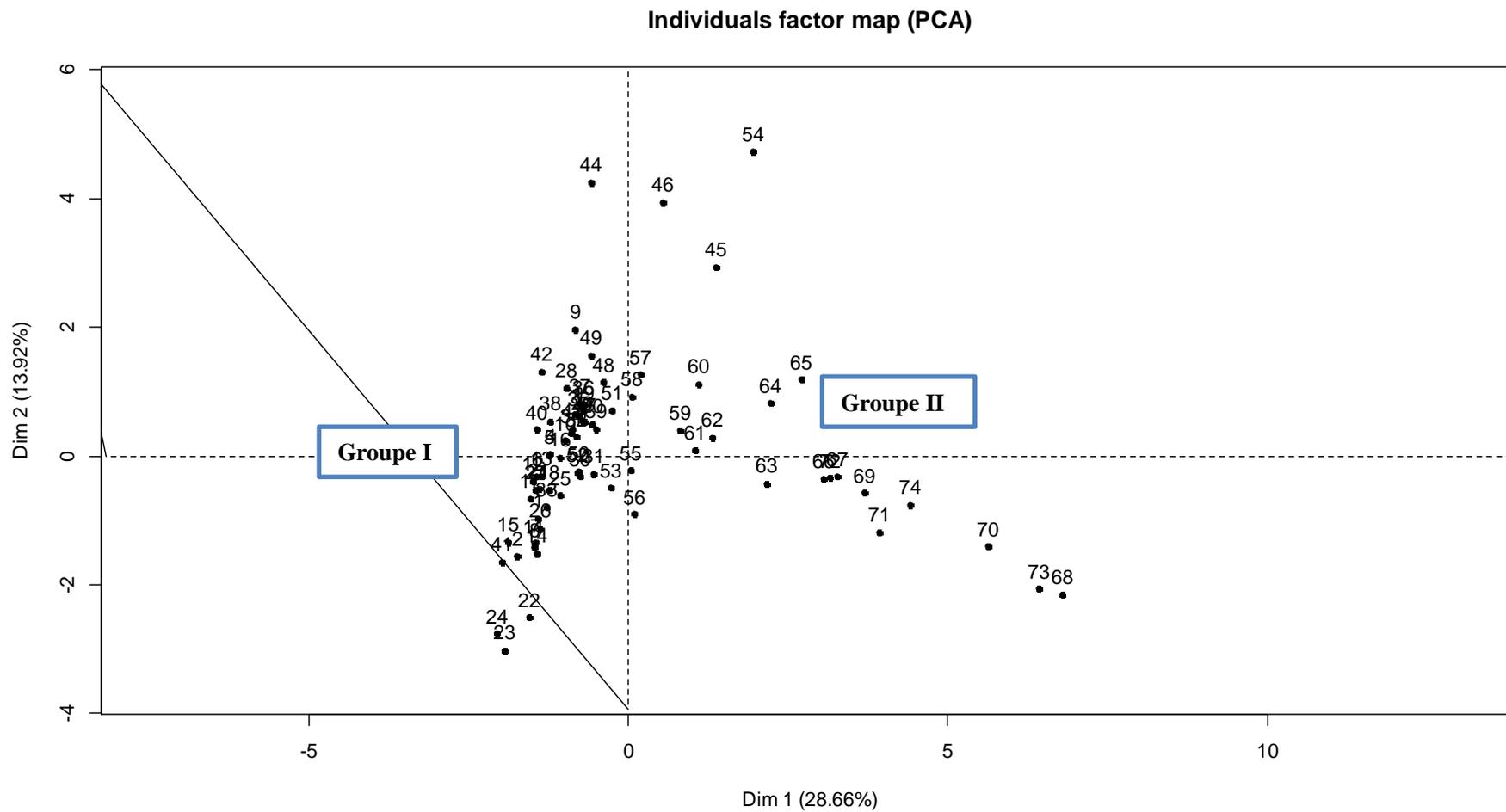


Figure 5. Analyse en Composante Principale (ACP) de la distribution des 74 miels en fonction de la composition volatile

V- Conclusion

Nos travaux ont été réalisés au Laboratoire de Chimie des Produits Naturels (UMR CNRS 6134) et ont fait l'objet d'un contrat de recherche financé par la Collectivité Territoriale de Corse. A notre connaissance, cette étude est la première relative à la composition volatile des miels de Corse sous Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) et Appellation d'Origine Protégée (AOP) : « Miel de Corse-Mele di Corsica ». Sur la base des analyses polliniques et physico-chimiques, ces derniers ont été classés en six catégories variétales « *maquis de printemps* », « *printemps* », « *maquis d'été* », « *châtaigneraie* », « *maquis d'automne* » et « *miellat du maquis* » qui traduisent la diversité des productions (spécificité milieu naturel et pratique apicole).

Notre objectif principal était de développer une approche interdisciplinaire en vue de compléter la caractérisation des miels de Corse par la recherche de nouveaux critères pour la qualification de l'origine botanique et/ou géographique. Les travaux ont donc consisté à croiser les données obtenues par la méthode conventionnelle basée sur les analyses polliniques (spectre pollinique) et physico-chimiques (teneur en eau, coloration et conductivité électrique) avec celles issues de l'étude de la fraction volatile des miels. Ce travail de thèse a permis de constituer une banque de données (référentiel) portant sur 269 échantillons de miels, correspondant aux six gammes de l'AOP. Ces échantillons ont été préalablement sélectionnés afin d'être représentatifs de la diversité des productions insulaires en tenant compte des variations bioclimatiques interannuelles.

Dans une première partie, 195 miels de nectar, à savoir les miels de « *châtaigneraie* » (50 échantillons), de « *maquis de printemps* » (45 échantillons), de « *maquis d'automne* » (30 échantillons), de « *printemps* » (41 échantillons), et de « *maquis d'été* » (29 échantillons) ont été caractérisés au niveau méssopalynologique et physico-chimique. L'analyse pollinique des miels a permis de répertorier 131 taxons. Ainsi, l'origine géographique de ces miels a été certifiée à partir des critères suivants : - diversité des types biogéographiques des taxons rencontrés ; - présence

des taxons « marqueurs » tels que les espèces endémiques et *Anthyllis hermanniae* ; - absence de certaines espèces caractéristiques d'autres régions ou pays méditerranéens ; - présence constante de *Castanea sativa* et *Quercus sp.* dans les spectres polliniques.

La détermination de l'origine botanique des échantillons a consisté à prendre en considération l'ensemble des données qualitatives et quantitatives (densité pollinique et fréquence relative), la valeur apicole des taxons (nectarifères et/ou pollinifères) et le type de représentation (sous-représenté, normal, sur-représenté). Ces analyses ont permis de mettre en évidence les principales espèces nectarifères de chaque gamme variétale et/ou les associations végétales caractéristiques des miellés : - *Castanea sativa* et *Erica arborea* pour les miels de la « châtaigneraie » et de « maquis de printemps » (typé bruyère), respectivement ; - *Arbutus unedo*, *Hedera helix*, *Smilax aspera*, *Rosmarinus sp.* et *Asteraceae* *Dittrichia* pour les miels de « maquis d'automne » (typé arbousier) ; - les associations de *Citrus sp.*, *Actinidia sinensis* et *Prunus sp.* pour les miels de « printemps typé clémentinier » ; - *Asphodelus sp.*, *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea sp.*, *Apiaceae* et *Brassicaceae* pour les miels de « printemps autres » ; - *A. hermanniae*, *Rubus sp.* et d'autres espèces des fruticées basses pour les miels de « maquis d'été » (origine botanique complexe).

Ensuite, la fraction volatile de ces 195 miels de nectars a été pré-concentrée par MEPS puis analysée par CPG-FID et CPG/SM. Cette étude, première du genre sur les miels de Corse, a permis de constituer le répertoire des constituants volatils. Au total, 80 composés ont été identifiés représentant entre 60,7 et 99,7% de la fraction volatile des échantillons. L'analyse statistique appliquée à ces résultats, a permis d'établir une classification corrélée à la gamme variétale des miels de Corse. Sur la base des volatils, nous distinguons sans ambiguïté les miels de « châtaigneraie » (marqueur : 2-aminoacétophénone), de « maquis de printemps » (marqueurs : *p*-anisaldéhyde et 4-*n*-propylanisole) et de « maquis d'automne » (marqueurs : isophorones et 3,4,5-triméthylphénols). Pour ce qui est des miels de « printemps », l'analyse de la fraction volatile, nous permet de distinguer une sous-variété « printemps typé clémentinier » par la présence des isomères du lilacaldéhyde, de ceux du *p*-menthène-9-al et de l'antranilate de méthyle ; alors que les miels de « printemps autres » et de « maquis d'été » se regroupent du fait des fortes teneurs en toluène et en phénylacétaldéhyde.

Par ailleurs, la fraction volatile des espèces nectarifères dominantes a également été analysée par CPG et CPG/SM afin d'établir le lien chimique entre les miels et les fleurs butinées. Pour les fleurs de châtaignier, de clémentinier et d'arbousier, des composés communs et/ou des motifs moléculaires analogues ont été identifiés dans les miels tandis que les profils chromatographiques de la bruyère et de l'asphodèle ne peuvent pas être corrélés à ceux des miels correspondants.

Enfin, dans le but de développer une méthode complémentaire pour la certification de l'origine botanique des miels de nectar, une étude interdisciplinaire (analyse méssopalynologique, physico-chimique et fraction volatile) basée sur l'utilisation de traitements statistiques des données multifactorielles (Classification Ascendante Hierarchique, Analyse en Composantes Principales, Analyse Canonique des Correspondances) a été menée sur chacune des catégories variétales. Les résultats obtenus ont permis :

- de mieux cerner l'origine botanique des miels «quasi-monofloraux »;
- de proposer des hypothèses sur les autres apports nectarifères et/ou miellatifères dans les miels à taxon dominant de type sur-représenté (« *châtaigneraie* ») et normal (« *maquis de printemps* ») ;
- de déterminer les différentes contributions nectarifères dans les miels à taxon dominant de type sous-représenté (« *printemps* » et « *maquis d'automne* ») et dans ceux ayant une origine botanique complexe (« *maquis d'été* »).

Dans la seconde partie de nos travaux, nous avons caractérisé la fraction volatile de 74 miels de « *miellat du maquis* » et « *génériques* » par l'identification de 61 composés représentant 80,9 - 98,5% de la composition chimique. Ainsi, nous avons observé des constituants communs aux miels de nectar et de miellat, notamment le 3-furaldéhyde, le benzaldéhyde et le phénylacétaldéhyde (présents dans l'ensemble des échantillons) ainsi que les oxydes de linalol, l'acide octanoïque et l'acide nonanoïque (présents dans la majorité des miels). L'analyse statistique de la variabilité chimique a permis de distinguer 50 échantillons de miellat (en majorité les miellats de *Metcalfa*) par une forte abondance en 3-furaldéhyde. À côté de cela, 20 échantillons « *génériques* » se caractérisent par une forte abondance en 2-aminoacétophénone (molécule marqueur de la gamme « *châtaigneraie* ») et/ou en *p*-anisaldéhyde et 4-n-propylanisol (composés caractéristiques de la catégorie « *maquis de printemps* ») ; ces

observations supposent une contribution nectarifère de *C. sativa* et *E. arborea* dans ces miellats.

Cette première caractérisation multifactorielle des miels de Corse est d'un grand intérêt pour les apiculteurs dans le cadre du suivi des productions en fonction de l'évolution des conditions du milieu (variations bioclimatiques, nouvelles miellées et conduites apicoles). En effet, depuis l'arrivée du cynips (*Dryocosmus kuriphilus*) - parasite du châtaignier - en 2010 en Corse ; les quantités de la catégorie « *chataigneraie* » ne cessent de diminuer au profit de celles des « *miellats du maquis* », notamment des miellats de *Metcalfa*. Par ailleurs, les miellats dits « *traditionnels* », en particulier ceux des cistaies littorales (ou même des forêts mixtes) semblent revenir en tonnage. De plus, la diversité des habitats (juxtaposition des forêts mixtes et des maquis) conduit à des productions de mélange entre « *miels de nectar* » et « *miels de miellat* ». L'identification des contributions miellatifères (constituants marqueurs) dans les miels de nectars est donc indispensable pour suivre la qualité des productions mellifères insulaires.

Pendant de nombreuses années, l'analyse méliissopalynologique était considérée comme la seule technique réellement pertinente pour la certification de l'origine géographique et/ou botanique des miels. Ces travaux de doctorat ont permis de développer une approche innovante basée sur l'analyse de la fraction volatile des miels et sur l'utilisation combinée des données multifactorielles (polliniques, physico-chimiques et volatiles). Cette méthodologie interdisciplinaire a permis d'obtenir des informations discriminantes pour la détermination de l'origine florale des miels sous AOC et AOP « Miel de Corse-Mele di Corsica ». Ces travaux ont été valorisés à travers cinq publications : deux dans *Food Chemistry* (IF 3,259) en 2012, une dans *Foods* (IF non attribué) en 2014, une dans *Chemistry and Biodiversity* (IF 1,808) en 2014 et une dans *Natural Product Communications* (IF 0,956) en 2014. Par ailleurs, deux articles relatifs aux résultats obtenus sur la diversité intergamme des miels de nectars et celle des miels de miellats sont en cours de rédaction.

A l'issue de nos travaux, de nouvelles perspectives s'offrent à nous. En l'état actuel des connaissances, les miels et les autres produits de la ruche (notamment le pollen et la propolis) représentent une source importante de polyphénols, et notamment

de flavonoïdes. La composition polyphénolique des miels, de la propolis et des pollens peut fortement varier en relation directe avec la source butinée ainsi qu'avec les conditions géographiques et climatiques. En février 2014, nous avons débuté un projet de recherche sur cette thématique « *Les Principes Actifs des Produits de la Ruche insulaires* » grâce à un financement de la Collectivité Territoriale de Corse. Il vise à établir les compositions phénoliques des matières premières végétales récoltées par l'abeille (nectar, pollen et résine végétale) et celles des différentes productions de la ruche qui en résultent (miels, pollens et propolis, respectivement). Ainsi, nous souhaitons identifier les constituants (flavonoïdes) responsables des propriétés biologiques - notamment anti-oxydantes et anti-inflammatoires - des produits de la ruche (notamment la propolis et le pollen) en vue d'une valorisation en cosmétique et aromathérapie. Le laboratoire CPN attache un grand prix à une collaboration privilégiée, à travers l'axe de recherche « Miels et Produits de la Ruche » avec les professionnels œuvrant au développement de l'apiculture. A moyen terme, l'objectif de notre équipe est de créer un pôle de compétences spécialisées et appliquées à la connaissance des ressources apicoles, mellifères et pollenifères euro-méditerranéennes.

Partie Expérimentale

▪ Analyse mélassopalynologique des miels

La mélassopalynologie est l'analyse des grains de pollen et autres éléments figurés (spores et algues microscopiques) contenus dans les miels. Elle comporte trois étapes : (i) une étape technique qui consiste à extraire ces différentes particules du miel et à confectionner des préparations pour analyse par microscopie ; (ii) la lecture des préparations permettant d'identifier et de dénombrer les grains de chaque espèce afin d'établir le spectre pollinique (analyse qualitative) et d'estimer la densité pollinique de l'échantillon (analyse quantitative) ; (iii) l'interprétation des résultats conduisant à la détermination des origines géographique et botanique des échantillons.

Confection des préparations

La méthode d'extraction, de recueil et de confection des lames du pollen (et autres éléments figurés) du miel, est celle décrite par Louveaux *et al.* (1970, 1978) et adaptée par Battesti (1990). Il s'agit de préparations dites en « pollen frais » : les grains étant conservés dans leur intégralité avec enveloppe et contenu cellulaire.

Pour chaque échantillon étudié, une prise d'essai de 10 g est effectuée, voire 20 g lorsque la densité pollinique est faible. En raison de la teneur élevée en sucres et de la viscosité des miels, le miel doit être dilué et l'extraction est réalisée par deux centrifugations successives à 3000 tours/min (soit 1800 g) pendant 10 mn dans des tubes à fond conique. Pour la première centrifugation, la prise d'essai est dissoute dans 40 ml d'eau en milieu acide (5 ml H₂SO₄ / 1 l d'eau distillé), afin de prévenir la précipitation des colloïdes. Les éléments figurés sont rassemblés en un culot précipité et « accroché » en fond de tube, surmonté par le miel dilué ou surnageant. Le surnageant est éliminé et le culot est repris et rincé à l'eau distillée (40 ml) pour une deuxième centrifugation. On procède à nouveau à l'élimination du surnageant et la totalité des éléments figurés est rassemblée en fond de tube.

Le culot est entièrement repris à l'aide d'une micropipette dans 40 à 80 µl d'eau distillé, puis recueilli et déposé en un ou plusieurs dépôts (en fonction de sa densité) sur lame(s) porte objet(s). Après l'évaporation de l'eau sur une platine histologique

chauffante, un dégraissage avec du diéthoxyde est effectué afin d'éliminer le manteau lipidique de l'enveloppe des grains de pollen et rendre bien lisible ses détails de structure.

Chaque dépôt est ensuite inclus sous lamelle, dans une goutte de glycérol gélatiné selon Kaiser, préalablement liquéfié et coloré avec de la fuchsine de Ziehl, colorant préférentiel de l'exine, enveloppe extérieure et spécifique du pollen.

Analyse microscopique des préparations

Les préparations sont observées avec un microscope Zeiss de recherche (type Axioscope) permettant la pratique du réglage du fond clair en lumière transmise selon Köhler, avec utilisation des objectifs de 20× à 40× pour les inventaires des espèces présentes, de 50× pour les comptages et de 100× pour les études de la stratification et de la structure de l'exine. La reconnaissance et l'identification des grains de pollens ont été réalisées en se fondant sur l'expertise palynologique acquise dans le cadre de l'AOC-AOP de miels corses (Battesti, 1990; Battesti *et al.*, 1992 ; Battesti *et al.*, 1997). La détermination pollinique a été pratiquée en utilisant :

- la palynothèque ou collection de lames de référence, préparations en « pollen frais » du laboratoire qui compte les 400 principales espèces mellifères et ou pollenifères de Corse appartenant à 265 genres et 65 familles de la flore Corse (Battesti *et al.*, 1997). Ce travail de thèse a également contribué à l'entretien de cette palynothèque et a permis de renouveler et compléter les références. Cela a nécessité un travail de collecte et détermination des échantillons botaniques, de recueil du pollen à partir de fleurs fraîches et de confection de préparations pour la microscopie selon le protocole décrit précédemment.
- les informations fournies par la littérature (Louveaux, 1970 ; Ricciardelli d'Albore *et al.*, 1978, 1998; Reille, 1990 ; Von der Ohe *et al.*, 2000).

Le comptage des grains de pollen a été réalisé en utilisant un oculaire équipé d'un champ microscopique quadrillé afin d'obtenir pour chaque échantillon : i) le spectre pollinique brut chiffré total (analyse qualitative) exprimé en fréquence relative (FR) pour chaque taxon identifié et ii) la densité pollinique (analyse quantitative) exprimé en nombre absolu de grains de pollen dans 10 g de miel (PK/10 g). La description détaillée de la méthode est celle décrite par Battesti (1990), conformément

à la méthode référentielle de la commission internationale de botanique apicole (Louveaux *et al.*, 1978).

Traitement des données

L'analyse des données prend en considération la structure totale du spectre pollinique (les proportions et les associations de toutes les espèces inventoriées) et la densité pollinique. Elle est conduite selon la méthode décrite par Battesti *et al.* (1992), retenue comme méthode de contrôle de l'origine géographique et de qualification des miels de Corse en AOC et AOP.

▪ **Analyses physico-chimiques des miels**

Coloration

La coloration des miels a été mesurée selon la méthode de Pfund décrite par Aubert *et al.* (1983). Les mesures sont effectuées avec des miels à l'état liquide, à l'aide d'un comparateur de type Lovibond équipé de deux disques chromatiques : l'un pour les miels clairs, et l'autre pour les miels foncés. Chaque disque comporte neuf pastilles de verre colorées d'intensité croissante étalonnées sur les références de Pfund. Le miel liquide est disposé dans une cuve et placé dans l'appareil afin de comparer sa coloration avec celle des pastilles de référence. Les résultats sont exprimés en « indice de Pfund » allant de 11 mm Pfund (miel très clair) à 140 mm Pfund (miel très foncé).

Teneur en eau

La teneur en eau des miels a été mesurée à 20 °C en utilisant un réfractomètre PAL-225 (Atago, Japon). L'analyse est effectuée avec une goutte de miel parfaitement liquide déposée sur la cellule du réfractomètre.

Conductivité électrique

La conductivité électrique des miels a été mesurée à 20 °C, à l'aide d'un conductimètre Micro CM2210 (CRISON, Espagne) selon la méthode décrite par

Bogdanov (2009). Les analyses sont effectuées avec une solution de miel sec à 20%. La conductivité électrique est exprimée en milliSiemens $\times \text{cm}^{-1}$ (mS/cm). Le domaine de validité de la méthode pour la détermination des miels s'étend de 0.1 à 3 mS/cm.

▪ Analyse de la fraction volatile des plantes et des miels

Extraction de la fraction volatile par MEPS

Le processus d'extraction se déroule en trois étapes. L'échantillon est placé dans un pilulier qui, dans le cas de l'analyse des miels, est équipé d'un barreau aimanté. Le flacon est bouché et serti. Après un temps d'équilibre déterminé, l'aiguille renfermant la fibre perce le septum. Par pression sur le piston, la fibre est exposée dans l'espace de tête pendant un temps d'extraction défini. Enfin, la fibre est rétractée dans l'aiguille, laquelle est retirée du flacon et ensuite introduite dans l'injecteur du chromatographe.

Pour chacune des analyses, les paramètres suivants ont été fixés :

- Nature de la fibre : Fibre triple de marque Supelco™ (Bellefonte, PA, USA), recouverte de divinylbenzène / carboxen / polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) ;
- Température et temps de désorption dans l'injecteur de la CPG : 250 °C ; 5 mn.

L'optimisation a été réalisée en combinant les divers paramètres ci-après :

- Masse de fleurs : 1 g ; 3 g ; 4g ; 5 g.
- Masse de miel/volume d'eau : 2 g / 4 ml ; 4 g / 4 ml ; 7 g / 5 ml ; 8 g / 4 ml.
- Ajout de Na_2SO_4 : 1g ; 2g.
- Température d'équilibre et d'extraction : 25 °C ; 50 °C ; 70 °C ; 90 °C.
- Temps d'équilibre : 30 mn ; 60 mn ; 90 mn.
- Temps d'extraction : 15 mn ; 30 mn ; 45 mn ; 60 mn.

Pour chaque matrice (fleurs et miels) et pour chacune des quantités indiquées, l'extraction a été réalisée à chacune des températures pendant chacune des trois durées indiquées. Les conditions ont été considérées comme optimales lorsque le signal réponse en CPG-DIF est le plus intense et comportant le plus grand nombre de pics sur le chromatogramme sans qu'il y ait saturation. Enfin, compte tenu des valeurs

déterminés ci-dessus, un essai a été conduit pour chacun des temps d'équilibre indiqués. Tous les essais ont été réalisés en triplicate.

Les conditions optimales des paramètres de MEPS sont reprises dans le **Tableau 5**.

Tableau 5. Conditions optimales par MEPS des composés volatils des miels et des fleurs

Matrice	Quantité : Miel/Eau/Na ₂ SO ₄ ou Fleurs	Température d'équilibre et d'extraction	Temps d'équilibre / Temps d'extraction
<i>Miels</i>			
<i>Printemps</i>	4 g / 4 ml / 2 g	70 °C	90 mn / 30 mn
<i>Maquis de printemps</i>	4 g / 4 ml / 2 g	70 °C	90 mn / 30 mn
<i>Châtaigneraie</i>	7 g / 5 ml / 2 g	70 °C	90 mn / 30 mn
<i>Maquis d'été</i>	4 g / 4 ml / 2 g	70 °C	90 mn / 30 mn
<i>Maquis d'automne</i>	4 g / 4 ml / 2 g	70 °C	90 mn / 45 mn
<i>Miellat du maquis (ou « gérique »)</i>	4 g / 4 ml / 2 g	90 °C	90 mn / 30 mn
<i>Fleurs</i>			
<i>Citrus sinensis × reticulata</i>	1 g	25 °C	0 mn / 15 mn
<i>Asphodelus ramosus</i>	3 g	70 °C	90 mn / 30 mn
<i>Erica arborea</i>	3 g	70 °C	90 mn / 30 mn
<i>Castanea sativa</i>	4 g	70 °C	90 mn / 30 mn
<i>Arbutus unedo</i>	3 g	70 °C	90 mn / 30 mn

Analyses des constituants volatils par CPG-FID et CPG/SM

Les fractions volatiles préconcentrées par MEPS ont été analysées à l'aide d'un chromatographe *Perkin Elmer Autosystem XL*, équipé une colonne capillaires Rtx-1 (polydiméthyl-siloxane, 60 m x 0,22 mm d.i) couplés à un détecteur à ionisation de flamme (FID).

Les analyses par CPG-SM ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe *Perkin Elmer Autosystem XL*, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film : 0,25 µm) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplé à un détecteur de masse *Perkin Elmer TurboMass*. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV, la détection se fait par un analyseur quadripolaire constitué d'un assemblage de quatre électrodes parallèles de

section cylindrique. La température de la source est de 150 °C. Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da.

Le gaz vecteur utilisé est l'hydrogène, la pression en tête de colonne est de 20 psi avec un débit d'1 ml/mn, la température de l'injecteur et des détecteurs est de 250°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230 °C à 2°C/mn puis en un palier de 30 mn à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. Les composés volatils ont été désorbés à 250 °C, durant 5 mn en mode splitless avec un liner SPME Intel (0,75 mm Id : Supelco). Pour chacun des composés, les indices de rétention polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.

Méthodologie d'analyse

L'analyse des constituants de la fraction volatile est basée sur l'utilisation conjointe (i) de la CPG permettant le calcul des indices de rétention sur colonne apolaire ainsi que la quantification des composés et (ii) du couplage en ligne CPG/SM qui permet d'obtenir le spectre de masse des composés individualisés. Les indices de rétention et les spectres ainsi obtenus sont comparés avec les données contenues dans une bibliothèque « Arômes » élaborée au laboratoire et/ou dans des bibliothèques commerciales informatisées ou encore littérature (Konig *et al.*, 2001 ; Adams 2009 ; NIST WebBook). Si le composé est présent parmi les références de la bibliothèque du laboratoire, l'identification est immédiate et peut être considérée comme acquise. Dans le cas contraire, si le composé est présent dans une bibliothèque commerciale spécifique aux composés volatils et une structure, au moins, est proposée. Nous pouvons conclure de façon raisonnable quant à son identification après un examen détaillé des propositions, étude mécanistique des fragmentations, absence de coélution, etc.

▪ Etudes statistiques

Les études statistiques ont été menées avec le logiciel R (R Foundation – Institute for Statistics and Mathematics, Autriche). Les Analyses en Composante Principale (ACP) ont été réalisées avec des matrices de type Pearson en utilisant la fonction «*PCA* ». Les Classifications Ascendante Hierarchique (CAH) et dendrogrammes ont été réalisés avec des matrices de dissimilarités calculées en distance euclidienne et la méthode d'agrégation choisie systématiquement est le lien moyen (package «*classif* »). Les Analyses Canoniques des Corrélations (ACC) ont été effectuées avec la fonction «*CCA* ». Cette méthode factorielle de réduction de dimension permet l'exploration statistique de deux ensembles de données quantitatives et la détermination des corrélations entre les variables obtenues à partir du même échantillon.

Références

- Accorti, M., Piazza, M. G., & Persano Oddo, L. (1987). La conductivité électrique et le contenu en cendre du miel. *Apiacta*, 22, 19–20.
- Adams R. P. (2009). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (4th edition). USA: Allured Business Media.
- Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., & Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22(9), 1041-1047.
- Aliferis, K. A., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Alissandrakis, E. (2010). Botanical discrimination and classification of honey samples applying gas chromatography/mass spectrometry fingerprinting of headspace volatile compounds. *Food Chemistry*, 121, 856–862.
- Alissandrakis, E., Daferera, D., Tarantilis, P. A., Polissiou, M., & Harizanis, P. C. (2003). Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chemistry*, 82(4), 575-582.
- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2005). Evaluation of four isolation techniques for honey aroma compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 91-97.
- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2007). Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Food Chemistry*, 100, 396–404.
- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2007b). Comparison of the volatile composition in thyme honeys from several origins in Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8152-8157.
- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Pappas, C., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2009). Ultrasound-assisted extraction gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile compounds in unifloral thyme honey from Greece. *European Food Research and Technology*, 229, 365-373.
- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Pappas, C., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2011). Investigation of organic extractives from unifloral chestnut (*Castanea sativa* L.) and eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) honeys and flowers to identification of botanical markers compounds. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1042-1051.
- Amiot, M. J., Aubert, S., Gonnet, M., & Tacchini, M. (1989). Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*, 20(2), 115-125.
- Ampuero, S., Bodganov, S., & Bosset, J. O. (2004). Classification of unifloral honeys with an MS-based electronic nose using different sampling modes SHS SPME and INDEX. *European Food Research Technology*, 218, 194–207.
- Amtmann, M. (2010). The chemical relationship between the scent features of

goldenrod (*Solidago canadensis* L.) flower and its unifloral honey, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 122-129.

Andrade, P., Ferreres, F., & Amaral, M. T. (1997a). Analysis of honey phenolic acids by HPLC, its application to honey botanical characterization, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 20(14), 2281-2288.

Andrade, P., Ferreres, F., Gil, M. I., & Tomas-Barberan, F. A. (1997b). Determination of phenolic compounds in honey with different floral origin by capillary zone electrophoresis, *Food Chemistry*, 60, 79-84.

Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63(4), 549-562.

Aubert, S., & Gonnet M. (1983). Mesure de la couleur des miels. *Apidologie*, 14(2), 105-118.

Battesti, M. J. (1990). *Contribution à la melissopalynologie méditerranéenne. Les miels corses*. Thèse de Doctorat d'Université en Sciences (Spécialité Palynologie). Marseille : Faculté des Sciences et Techniques de Marseille St Jérôme (Aix-Marseille III), 261 pages.

Battesti, M. J., Boulay, A. F., & Naftoux, C. (2007). *Rapport d'activités 2006 – 2^{ème} partie : conseil scientifique et technique, expertise réalisé dans le cadre du programme d'activité déposé par le syndicat AOC « Miel de Corse – Mele di Corsica »*, Association « Miel et Pollen », Corte.

Battesti, M. J., Gamisans, J., & Piana, L. (1997). *Définition du périmètre de production – Rapport des experts en vue de la mise à l'enquête*. Institut National des Appellations d'Origine (INAO): Corte.

Battesti, M. J., & Goeury, C. (1992). Efficacité de l'analyse méliopalynologique quantitative pour la certification des origines géographique et botanique des miels: Le modèle des miels corses. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 75, 77-102.

Benedetti, S., Mannino, S., Sabatini, A. G., & Marcazzan, G. L. (2004). Electronic nose and neural network use for the classification of honey. *Apidologie*, 35, 1-6.

Beretta, G., Caneva, E., Regazzoni, L., Bakhtyari, N. G., & Facino, R. M. (2008). A solid-phase extraction procedure coupled to ¹H NMR, with chemometric analysis, to seek reliable markers of the botanical origin of honey. *Analytica Chimica Acta*, 620, 176-182.

Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino R. M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 53, 185-191.

Bianchi, F, Careri, M, & Musci, M. (2005) Volatile norisoprenoids as markers of botanical origin of Sardinian strawberry-tree (*Arbutus unedo* L.) honey: characterization of aroma compounds by dynamic headspace extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 89, 527-532.

Bogdanov, S. (2008) Storage, crystallisation and liquefaction of honey. *Bee Product Science*, www.bee-hexagon.net

- Bogdanov, S. (2011). Honey composition. In *The honey book*, (Chapter 5). Bee Product Science, www.bee-hexagon.net
- Bogdanov, S., & Baumann, E. (1988). Determination of sugar composition of honeys by HPLC. *Mitteilungen aus dem Gebiete dour Lebensmittel-Untersuchung und-Hygiene*, 79, 198–206.
- Bogdanov, S. (2009). Harmonised methods of the International Honey Commission. <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys : a review, *Apidologie*, 35, S4-S17.
- Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., Von Der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Persano Oddo, L., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Piro, R., Flamini, C., Morlot, M., Lheretier, J., Borneck, R., Marioleas, P., Tsigouri, A., Kerkvliet, J., Ortiz, A., Ivanov, T., D'Arcy, B., Mossel, B., & Vit, P. (2000). Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: review of the work of the International Honey Commission. *Swiss Bee Research Centre*.
- Bonaga, G., & Giumanini, A. G. (1986). The volatile fraction of chestnut honey. *Journal of Apicultural Research*, 25(2), 113–120.
- Bonvehi, J. S., & Coll, F. V. (2003). Flavour index and aroma profiles of fresh and rocessed honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 275–282.
- Bouseta, A., Scheirman, V., & Collin S. (1996). Flavor and free amino acid composition of lavender and eucalyptus honey. *Journal of Food Science*, 61, 683-687.
- Bruneau, E., Barbier, E., Gallez, L. M., & Guyot-Declerck C. (2000). La roue des arômes des miels. *Abeilles & Cie*, 77, 16–23.
- Cabras, P., Angioni, A., Tuberoso, C., Floris, I., Reniero, F., Guillou, C., & Ghelli, S. (1999). Homogentisic Acid: A Phenolic ccid as a marker of Strawberry-tree (*Arbutus unedo*) honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4064-4067.
- Cajka, T., Hajslova, J., Pudil, F., & Riddelova, K. (2009). Traceability of honey origin based on volatiles pattern processing by artificial neutral networks. *Journal of Chromatography A*, 1216, 1458-1462.
- Campos, G., Nappi, G. U., Raslan, D. S., & Augusti, R. (2000). Substancias volateis em mel floral e mel de melato. *Food Science and Technology*, 20, 18-22.
- Campus, R., Madau, G., & Solinas, B. (1983). La composizione dei mieli sardi : nota sul contenuto in sostanze azotate e polifenoliche. *Tecnologie Alimentari*, 6, 10-15.
- Castro-Vazquez, L., Diaz-Maroto, M. C., Gonzalez-Vinas, M. A., & Perez-Coello, M. S. (2009). Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme, and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. *Food Chemistry*, 112, 1022–1030.
- Castro-Vazquez, L., Diaz-Maroto, M. C., & Pérez-Coello, M. S. (2006). Volatile composition and contribution to the aroma of Spanish honeydew honeys. Identification of a new chemical marker. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4809–4813.

- Castro-Vazquez, L.; Diaz-Maroto, M. C.; Perez-Coello, M. S. (2007). Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. *Food Chemistry*, *103*, 601–606.
- Castro-Vazquez, L., Leon-Ruiz, V., Alanon, M. E., Pérez-Coello, M. S., & Gonzalez-Porto, A. V. (2014). Floral origin markers for authenticating lavandin honey (*Lavandula angustifolia x latifolia*). Discrimination from lavender honey (*Lavandula latifolia*). *Food Control*, *37*, 362-370.
- Castro-Vazquez, L., Pérez-Coello, M. S., & Cabezudo, M. D. (2002). Simultaneous distillation extraction for the analysis of volatile honey compounds. *G.I.T. Laboratory journal*, *29*(5), 228-230.
- Castro-Vazquez, L., Pérez-Coello, M. S., & Cabezudo, M. D. (2003). Analysis of volatile compounds of rosemary honey - Comparison of different extraction techniques. *Chromatographia*, *57*, 227-233.
- Chambre d'agriculture. *L'apiculture, une branche à part entière de l'agriculture*. <http://www.chambres-agriculture.fr/thematiques/productions/elevage/apiculture/>
- Codex Stan 12-1981 (2001). *Codex norm é pour le miel*. Norme adopt ée en 1981. Révisions en 1987 et 2001. http://www.codexalimentarius.org/download/standards/310/cxs_012f.pdf
- Cometto, P. M., Faye, P. F., Naranjo, R. D. D., Rubio, M. A., & Aldao, M. A. J. (2003). Comparison of free amino acids profile in honey from three Argentinian regions. *Journal of Agricultural and Food Science*, *51*, 5079-5087.
- Cotte, J. F., Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., & Grenier-Loustalot, M. F. (2003). Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity. *Journal of Chromatographie A*, *1021*, 145-155.
- Cotte, J. F., Casabianca, H., Giroud, B., Albert, M., Lheritier, J., & Grenier-Loustalot, M. F. (2004). Characterization of honey amino acid profiles using high-pressure liquid chromatography to control authenticity. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *378*(5), 1342-1350.
- Conte, L. S., Miorini, M., Giomo, A., Bertacco, G., & Zironi R. (1998). Evaluation of some fixed components for unifloral honey characterization. *Journal of Agricultural and Food Science*, *46*(5), 1844-1849.
- Cuevas-Glory, L. F., Pino, J. A., Santiago, L. S., & Sauri-Duch, E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, *103*, 1032-1043.
- Da Costa Leite, J. M., Trugo, L. C., Costa, L. S. M., Quinteiro, L. M. C., Barth, O. M., Dutra, V. M. L., & De Maria, C. A. B. (2000). Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. *Food Chemistry*, *70*(1), 93-98.
- Dalla Serra, A., Franco, M. A., Mattivi, F., Ramponi, M., Vacca, V., & Versini, G. (1999). Aroma characterization of Sardinian strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey. *Italian Journal of Food Science*, *11*, 47-56.
- Davies, A. M. C., & Harris, R .G. (1982). Free amino acid analysis of honeys from England and Wales: application to the determination of the geographical origin of

honeys. *Journal of Apicultural Research*, 21, 168-173.

De la Fuente, E., Martínez-Castro, I., & Sanz, J. (2005). Characterization of Spanish unifloral honeys by solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 28, 1093–1100.

De la Fuente, E., Sanz, M. L., Martínez-Castro, I., Sanz, J., & Ruiz-Matute, A. I. (2007). Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. *Food Chemistry*, 105, 84–93.

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.

<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000785228&dateTexte=>

Décret n°2010-1046 du 31 août 2010 relatif à l'appellation d'origine contrôlée « Miel de sapin des Vosges ».

<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000022783288>

Décret n°2013-1057 du 22 novembre 2013 relatif à l'appellation d'origine contrôlée « Miel de Corse - Mele di Corsica ».

<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000028225091>

Devon, T. K., & Scott, A. I. (1975). *Handbook of naturally occurring compounds. Acetogenins, shikimates and carbohydrates* (Vol. I). New York: Academic Press.

Dimou, M., & Thrasyvoulou, A. (2009). Pollen analysis of honeybee rectum as a method to record the bee pollen flora of an area. *Apidologie*, 40, 124-133.

Directive 2001/110/CE du 20/12/2001 relative au miel. Journal officiel des Communautés européennes, L010 du 12/01/2002, 47-52. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0110:FR:HTML>.

Donarski, J. A., Jones, S. A., Harrison, M., Driffield, M., & Charlton A. J. (2010). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, 118, 987–994.

Dong, R., Zheng, Y., & Xu, B. (2013). Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 762-770.

Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey, *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3774-3779.

Eteraf-Oskouei, T., & Najafi, M. (2013). Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(6), 731-742.

Feller-Demalsy, M. J., Vincent, B., & Beaulieu, F. (1989). Teneur en minéraux et origine géographique des miels du Canada. *Apidologie*, 20, 77-91.

Fernandez-Torres, R., Perez-Bernal, J. L., Bello-Lopez, M. A., Callejon-Mochon, M., Jimenez-Sanchez, J. C., & Guiraum-Perez, A. (2005). Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta*, 65, 686–691.

- Ferreres, F., Andrade, P., Gil, M. I., & Tomas-Barberan, F. A. (1996a). Floral nectar phenolics as biochemical markers for the botanical origin in heather honey. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, *202*, 40-44.
- Ferreres, F., Andrade, P., & Tomas-Barberan, F. A. (1996b). Natural occurrence of abscisic acid in heather honey and floral nectar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *44*, 2053-2056.
- Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Tomas-Lorente, F., & Tomas-Barberan, F. A. (1993). Hesperitin : A marker of the floral origin of citrus honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *61*, 121-123.
- Ferreres, F., Blazquez, M. A., Gil, M. I., & Tomas-Barberan, F. A. (1994a). Separation of honey flavonoids by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography A*, *669*, 268, 274.
- Ferreres, F., Giner, J. M., & Tomas-Barberan, F. A. (1994b). A comparative study of hesperetin and methyl anthranilate as markers of the floral origin of citrus honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *65*, 371-372.
- Ferreres, F., Juan, T., Pérez-Arquillue, C., Herrera-Martache, A., Garcia-Viguera, C., & Tomas-Barberan, F. A. (1998). Evaluation of pollen as a source of kaempferol in rosemary honey. *Journal of Science of Food and Agriculture*, *77*, 506-510.
- Floris, I., Palmieri, N., & Satta, A. (2007). Caratteristiche Melissopalinoologiche dei Mieli di Sardegna. In Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali & C.R.A, *I Mieli Regionali Italiani—Caratterizzazione Melissopalinoologica*. Roma : Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione di Apicoltura.
- Fodor, P., & Molnar, E. (1993). Honey as an environmental indicator : effect of sample preparation on trace element determination by ICP-AES. *Microchimica Acta*, *112*, 113-118.
- Foldhazi, G. (1994). Analysis and quantitation of sugars in honey of different botanical origin using high performance liquid chromatography. *Acta Alimentaria*, *23*, 299–311.
- FranceAgriMer (2012). Audit économique de la filière apicole française. septembre 2012, numéro 1. www.franceagremer.fr
- Gadbin, C. (1979). L'intérêt de l'acétolyse en méliissopalynologie. *Apidologie*, *10(1)*, 23-28.
- Gadbin, C. (1980). Les plantes utilisées par les abeilles au Tchad Méridional. *Apidologie*, *11(2)*, 217-254.
- Gamisans, J. (1985). *Catalogue des plantes vasculaires de la Corse*. Ajaccio : Parc naturel régional de la Corse.
- Gheldof, N., & Engeseth, N. J. (2002a). Antioxydant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50(10)*, 3050-3055.
- Gheldof, N., Wang, X. H., & Engeseth, N. J. (2002b). Identification and quantification

of antioxydant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5870-5877.

Gilbert, J., Shepherd, M. J., Wallwork, M. A., & Harris, R. G. (1981). Determination of the geographical origin of honeys by multivariate analysis of gas chromatographic data on their free amino acid content. *Journal of Apicultural Research*, 20, 125-135.

Gomez-Caravaca, A. M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220-1234.

Gonnet, M. (1982). *Le miel : composition, propriétés, conservation*. OPIDA.

Gonnet, M., & Vache G. (1979). Technique de dégustation des miels et recherche d'un système de notation et de classification objectif pour apprécier leur qualité par l'analyse sensorielle. Athènes : 27th Apimondia International Apicultural Congress, 499-506.

Gonnet M., & Vache G. (1985). *Le goût du miel*. Paris : éd. UNAF.

Gonnet M., & Vache G. (1992). *The taste of honey*. Bucarest : Apimondia.

Gonnet M., & Vache G. (1998). *Analyse sensorielle descriptive de quelques miels monofloraux de France et d'Europe*. Paris : éd. Abeille de France.

Guyot, C., Bouseta, A., Scheirman, V., & Collin, S. (1998). Floral origin markers of chestnut and lime tree honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2), 625-633.

Guyot C., Scheirman V., & Collin S. (1999). Floral origin markers of heather honeys: *Calluna vulgaris* and *Erica arborea*. *Food Chemistry*, 64, 3-11.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxydants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.

Hermosin, I., Chicon, R. M., & Cabezudo, M. D. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83, 263-268.

Hernandez, O. M., Fraga, J. M. G., Jiménez, A. I., Jiménez, F., & Arias, J. J. (2005). Characterization of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chemistry*, 93, 449-458.

Hollman, P. C. H., Hertog, M. G. L., Katan, M. B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 57(1), 43-46.

Huchet, E., Coustel, J., & Guinot, L. (1996). *Les constituants chimiques du miel : méthode d'analyses chimiques* (2ème édition). Département Science de l'Aliment, OPIDA.

Horvath, K., & Molnar-Perl, I. (1997). Simultaneous quantification of mono-, di-, and trisaccharides by GC-MS of their TMS ether oxime derivatives: II. In honey. *Chromatographia*, 45, 328-335.

- Iglesias, M. T., de Lorenzo, C., Polo, M. D., Martin-Alvarez, P. J., & Pueyo, E. (2004). Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*, 84-89.
- Jeanmonod, D., & Gamisans J. (2007). *Flora corsica*. Aix-en-Provence : Edisud.
- Jean-Prost, P. (1987). *L'Apiculture : Connaître l'abeille, conduire le rucher* (6^{ème} édition). France : Tec & Doc Lavoisier.
- Jerkovic, I., & Marijanovic, Z. (2010b). Oak (*Quercus frainetto* Ten.) honeydew honey – approach to screening of volatile organic composition and antioxidant capacity (DPPH and FRAP assay). *Molecules*, *15*, 3744-3756.
- Jerkovic, I., Marijanovic, Z., Tuberoso, C. I. G., Bubalo, D., & Kezic, N. (2010a). Molecular diversity of volatile compounds in rare willow (*Salix* spp.) honeydew honey: identification of chemical biomarkers. *Molecular Diversity*, *14*, 237-248.
- Jerković, I., Mastelić, J., Marijanović, Z., Klein, Ž., Jelić, M. (2007). Comparison of hydrodistillation and ultrasonic solvent extraction for the isolation of volatile compounds from two unifloral honeys of *Robinia pseudoacacia* L. and *Castanea sativa* L. *Ultrasonics Sonochemistry*, *14*, 750–756.
- Jerković, I., Tuberoso, C. I. G., Kasum, A., Marijanović, Z. (2011). Volatile Composition of *Asphodelus Microcarpus* Salzm. et Viv. honey obtained by HS-SPME and USE analysed by GC-MS. *Chemistry & Biodiversity*, *8*, 587–598.
- Jerković, I., Tuberoso, C. I. G., Marijanović, Z., Jelic, M., Kasum, A. (2009). Headspace, volatile and semi-volatiles patterns of *Paliurus spina-christi* unifloral honey as markers of botanical origin. *Food Chemistry*, *112*(1), 239-245.
- Kaskonienė V., & Venskutonis, P. R. (2010a). Floral markers in honey of various botanical and geographic origins : a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *9*, 620-634.
- Kaskonienė V., Venskutonis, P., Ceksteryte, V. (2008). Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. *Food Chemistry*, *111*, 988-997.
- Kaskonienė V., Venskutonis, P. R., & Ceksteryte V. (2010b). Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *LWT – Food Science and Technology*, *43*(5), 801-807.
- Kerkvliet, J. D., Shrestha, M., Tuladhar K., & Manandhar, H. (1995). Microscopic detection of adulteration of honey with cane sugar and cane sugar products. *Apidologie*, *26*, 131-139.
- Kerkvliet, J. D., & Meijer H. A. J. (2000). Adulteration of honey: relation between microscopic analysis and delta C-13 measurements. *Apidologie*, *31*, 717-726.
- Kloft, W. (1968). Les insectes producteurs de miel. In Chauvin, R., *Traité de biologie de l'abeille, Tome III : les produits de la ruche* (pp 249-263). Paris : Masson et Cie.

- Konig, W. A., Hochmuth, D. H., & Joulain, D. (2001). Terpenoids and Related Constituents of Essential oils. Library of Mass Finder 2.1. Hamburg: Institute of Organic Chemistry.
- Lapadatescu, C., Ginies, C., Le Quere, J. L., & Bonnarme, P. (2000). Novel scheme for biosynthesis of aryl metabolites from L-phenylalanine in the fungus *Bjerkandera adusta*. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*, 1517–1522.
- Lee, H. I., Leon, J., & Raskin, I. (1995). Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *92*, 4076–4079.
- Lee, C. Y., Smith, N. L., Kime, R. W., & Morse, R. A. (1985). Source of the honey protein responsible for apple juice clarification. *Journal of Apicultural Research*, *24*, 190-194.
- Lobreau-Callen, D., Darchen, R., & Le Thomas, A. (1986). Apport de la palynologie à la connaissance des relations abeilles/plantes en Savanes Arborées du Togo et du Bénin. *Apidologie*, *17*(4), 279-306.
- Louveaux, J. (1958). Recherches sur la récolte du pollen par les abeilles (*Apis mellifica* L). *Annales de l'Abeille*, *1*, 113-188.
- Louveaux, J. (1959). Recherches sur la récolte du pollen par les abeilles (*Apis mellifica* L) (Fin). *Annales de l'Abeille*, *2*, 13-111.
- Louveaux, J. (1968a) Composition, propriétés et technologie du miel. In: *Traité de biologie de l'abeille, Tome III : les produits de la ruche*. Paris : Masson et Cie.
- Louveaux, J. (1968b). L'analyse pollinique des miels. In: Chauvin R., *Traité de biologie de l'abeille, Tome III : les produits de la ruche* (pp 323-362). Paris : Masson et Cie.
- Louveaux, J. (1970). *Annexes microphotographiques aux méthodes officielles d'analyse. Tome III Atlas photographique d'analyse pollinique des miels*. Paris : Service de la répression des fraudes et du contrôle de la qualité
- Louveaux, J. (1980). *Les abeilles et leur élevage*. Paris : Librairie Hachette.
- Louveaux, J. (1992). Présentation de thèse : Contribution à la melissopalynologie méditerranéenne : Les miels corses. *Comptes rendus de l'Académie d'agriculture de France*, *78*(1), 93-94.
- Louveaux, J., & Maurizio, A. (1963). Méthodes d'analyse pollinique des miels. Commission Internationale de Botanique Apicole. *Annales de l'Abeille*, *6*, 75-76.
- Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1970). Les méthodes de la melissopalynologie. Commission Internationale de Botanique Apicole de l'U.I.S.B. *Apidologie*, *1* (2), 211-227.
- Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. International Commission for Bee Botany of I.U.S.B. *Bee World*, *59* (4), 139-157.
- Louveaux, J., & Vergeron, P. (1964). Étude du spectre pollinique de quelques miels espagnols. *Annales de l'Abeille*, *7*(4), 329-347.

- Lusic, D., Koprivnjak, O., Curic, D., Sabatini, A. G., & Conte, L. S. (2007). Volatile profile of Croatian lime tree (*Tilia* sp.), Fir honeydew (*Abies alba*) and sage (*Salvia officinalis*) honey. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2), 156-165.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.
- Manyi-Loh, C. E., Ndip, R. N., & Clarke, A. M. (2011). Volatile compounds in honey: a review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 9514-9532.
- Marchenay, P., & Bérard, L. (2007). *L'homme, l'abeille et le miel*. Romagnat : De Borée.
- Marshall, T., Williams, K. M. (1987). Electrophoresis of honey: Characterization of trace proteins from a complex biological matrix by silver staining. *Analytical Biochemistry*, 167, 301-303.
- Martos, I., Ferreres, F., & Tomas-Barberan, F. A. (2000a). Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1498-1502.
- Martos, I., Ferreres, F., Yao, L. H., D'Arcy, B., Caffin, N., & Tomas-Barberan, F. A. (2000b). Flavonoids in monospecific Eucalyptus honeys from Australia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4744-4748.
- Massaux, C. (2012). Polyphénols : des alliés pour la santé *Abeilles & Cie*, N°149.
- Mateo, R., Bosch, F., Pastor, A., & Jimenez, M. (1987). Capillary column gas chromatographie identification of sugars in honey as trimethylsilyl derivatives. *Journal of Chromatography*, 410, 319-328.
- Maurizio, A. (1968). La formation du miel. In Chauvin, R., *Traité de biologie de l'abeille, Tome III : les produits de la ruche* (pp 264-275). Paris : Masson et Cie.
- Maurizio, A. (1975a). How bees make honey. In Crane, E., *Honey, a comprehensive survey* (pp 77-105). London : Heinemann.
- Maurizio, A. (1975b). Microscopy of honey. In Crane, E., *Honey, a comprehensive survey* (pp 240-257). London : Heinemann.
- Maurizio, A., & Louveaux, J. (1965). L'analyse pollinique des miels. In *Pollen de plantes mellifères d'Europe* (pp 10-20). Paris : Union des Groupements Apicoles Français.
- Maurizio, A., Louveaux, J. (1967). Les méthodes et la terminologie en méso-palynologie. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 3, 291-295.
- Ministère de la culture (1981). *L'abeille, l'homme, le miel et la cire : Catalogue de l'exposition du Musée national des arts et traditions populaires*. Editions de la Réunion des musées nationaux.
- Moar, N. T. (1985). Pollen analysis of New Zealand honey. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 28, 39-70.

- Molan, P. C. (1998). The limitations of the methods of identifying the floral source of honeys. *Bee World*, 79, 59–68.
- Moreira, R. F. A., De Maria, C. A. B. (2005). Investigation of the aroma compounds from headspace and aqueous solution from the cambara (*Gochnatia velutina*) honey, *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 13-17.
- National Institute of Standards and Technology (NIST). Spectral Database for Organic Compounds. NIST WebBook. <http://webbook.nist.gov/chemistry>
- Nisbet, C., Guler, A., Ciftci, G., & Yarim, G. F. (2009). The investigation of protein profile of different botanic origin honey and density saccharose- adulterated honey by SDS-PAGE method. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 15(3), 443-446.
- Percie du Sert, P. (2009). Les pollens apicoles. *Phytothérapie*, 7(2), 75-82.
- Perez, R. A., Sanchez-Brunete, C., Calvo, R. M., Tadeo, J. L. (2002). Analysis of volatiles from Spanish honeys by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2633–2637.
- Persano Oddo, L., Baldi, E., & Accorti, M. (1990). Diastatic activity in some unifloral honeys, *Apidologie*, 21, 17-24.
- Persano Oddo, L., Piana, M. L. (2007). Melissopalinoologia principi generali applicazioni e problematiche. In Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali & C.R.A., *I Mieli Regionali Italiani—Caratterizzazione Melissopalinoologica*. Roma : Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione di Apicoltura.
- Persano Oddo, L., Piana, L., Bogdanov, S., Bentabol, A., Gotsiou, P., Kerkvliet, J., Martin, P., Morlot, M., Ortiz Valbuena, A., Ruoff, K., & Von Der Ohe, K. (2004a). Botanical species giving unifloral honey in Europe. *Apidologie*, 35, S82–S93.
- Persano Oddo, L., Piana, L., & Sabatini, A. G. (1995). *Conoscere il miele. Guida all'analisi sensoriale*. Bologna: éd. Avenue Media.
- Persano Oddo, L., Piazza, M. G., & Pulcini, P. (1999). Invertase activity in honey. *Apidologie*, 30, 57-65.
- Persano Oddo, L., Piazza, M. G., Sabatini, A. G., & Accorti, M. (1995). Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*, 26, 453-465.
- Persano Oddo, L., Piro, R., with the collaboration of: Bruneau, E., Guyot-Declerck, C., Ivanov, T., Piskulova, J., Flamini, C., Lheritier, J., Morlot, M., Russmann, H., Von der Ohe, W., Von der Ohe, K., Gotsiou, P., Karabournioti, S., Kefalas, P., Passaloglou-Katrali, M., Thrasyvoulou, A., Tsigouri, A., Marcazzan, G. L., Piana, M. L., Piazza, M. G., Sabatini, A. G., Kerkvliet, J., Godinho, J., Bentabol, A., Ortiz Valbuena, A., Bogdanov, S., & Ruoff K. (2004b). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35, S38-S81.
- Persano Oddo, L., Sabatini, A. G., Accorti, M., Colombo, R., Marcazzan, G. L., Piana, M. L., Piazza, M. G., & Pulcini, P. (2000). *I mieli uniflorali - Nuove schede di caratterizzazione*. Roma : Ministero delle politiche Agricole e Forestali.

- Pfister, R. (1895). Den versuch einer Mikroskopie des Honigs. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 34, 479.
- Piana, M. L., Persano Oddo, L., Bentabol, A., Bruneau, E., Bogdanov, S., & Guyot-Declerck, C. (2004). Sensory analysis applied to honey: state of the art. *Apidologie*, 35, S26-S27.
- Piazza, M. G., & Persano, Oddo L. (2004). Bibliographical review of the main European unifloral honeys. *Apidologie*, 35, S94-S111.
- Pirini, A., Conte, L., Francioso, O., & Lercker, G. (1992). Capillary gas chromatographic determination of free amino acids in honey as means of discrimination between botanical sources. *Journal of High Resolution Chromatography*, 15, 165-170.
- Plutowska, B., Chmiel, T., Dymerski, T., & Wardencki, W. (2011). A headspace solid-phase microextraction method development and its application in the determination of volatiles in honeys by gas chromatography. *Food Chemistry*, 126, 1288-1298.
- Pohl, P. (2009). Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. *Trends in Analytical Chemistry*, 28(1), 117-128.
- Pontes, M., Marques, J. C., & Camara, J. S. (2007). Screening of volatile composition from Portuguese multifloral honeys using headspaces solid-phase microextraction-gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. *Talanta*, 74, 91-103.
- Pyrzynska, K., & Biesaga, M. (2009). Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trends in Analytical Chemistry*, 28(7), 893-902.
- Radovic, B. S., Careri, M., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M., & Anklam, E. (2001). Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry*, 72, 511-520.
- Rapp, A., Versini, G., & Engel, L. (1995). Determination of 2-aminoacetophenone in fermented model wine solutions. *Vitis*, 34, 193-194.
- Reille, M. (1990). *Leçons de palynologie et d'analyse pollinique*. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique.
- Ricciardelli d'Albore, G. (1998). *Mediterranean Melissopalynology*. Perugia: Università Degli Studi di Perugia.
- Ricciardelli D'Albore, G., & Persano Oddo, L. (1978). *Flora Apistica Italiana*. Firenze: Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria.
- Rowland, C. Y., Blackman, A. J., D'Arcy, B. R., & Rintoul, G. B. (1995). Comparison of organic extractives found in leatherwood (*Eucryphia lucida*) honey and leatherwood flowers and leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 753-763.
- Sabatini, A. G., Persano Oddo, L., Piazza, M. G., Accorti, M., & Marcazzan, G. (1990). Glucide spectrum in the main Italian unifloral honeys. II. Di- and trisaccharides. *Apicoltura*, 6, 63-70.

- Sevlimli, H., Bayulgen, N., & Varinioglu, H. (1992). Determination of trace elements in honey by INAA in Turkey. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, *165*, 319-325.
- Shimoda, M., Wu, Y., & Osajima, Y. (1996). Aroma compounds from aqueous solution of haze (*Rhus succedanea*) honey determined by adsorptive column chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *44*, 3913-3918.
- Siess, M. H., Le Bon, A. M., Canivenc-Lavier, M. C., Amiot, M. J., Sabatier, S., Aubert, S. Y., & Suschetet M. (1996). Flavonoids of honey and propolis: characterization and effects on hepatic drug-metabolizing enzymes and benzo[a]pyrene-DNA binding in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *44*, 2297-2301.
- Silici, S. (2011). Determination of volatile compounds of pine honeys. *Turkish Journal of Biology*, *35*, 641-645.
- Soler, C., Gil, M. I., Garc ía-Viguera, C., & Tom ás-Barber án, F. A. (1995). Flavonoid patterns of French honeys with different floral origin. *Apidologie*, *26*, 53-60.
- Soria, A. C., Gonzalez, M., De Lorenzo, C., Martinez-Castro, I., & Sanz, J. (2004). Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. *Food Chemistry*, *85*, 121-130.
- Soria, A. C., Martinez-Castro, I., & Sanz, J. (2003). Analysis of volatile composition of honey by solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, *26*, 793–801.
- Soria, A. C., Martinez-Castro, I., & Sanz, J. (2008). Some aspects of dynamic headspace analysis of volatile components in honey. *Food Research International*, *41*, 838–848.
- Soria A. C., Sanz J., & Mart ínez-Castro I. (2009). SPME followed by GC–MS: a powerful technique for qualitative analysis of honey volatiles. *European Food Research and Technology*, *228(4)*, 579-590.
- Stadelmeier, M., & Bergner, K. G. (1986). The proteins of honey. 7. Behaviour and origin of honey amylase. *Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und –forschung*, *182*, 196-199.
- Stanimirova, I., Ustun, B., Cajka, T., Riddelova, K., Hajslova, J., Buydens, L. M. S., & Walczak, B. (2010). Tracing the geographical origin of honeys based on volatile compounds profiles assessment using pattern recognition techniques. *Food Chemistry*, *118*, 171-176.
- Stephens, J. M., Schlothauer, R., C., Morris, B. D., Yang, D., Fearnley, L., Greenwood, D. R., & Loomes, K. M. (2010). Phenolic compounds and methylglyoxal in some New Zealand manuka and kanuka honeys. *Food Chemistry*, *120*, 78-86.
- Swallow, K. W., & Low, N. H. (1994). Determination of honey authenticity by anion-exchange liquid chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, *77*, 695-702.

- Tabouret, T. (1979). Rôle de l'activité de l'eau dans la cristallisation du miel. *Apidologie*, 10(4), 341-358.
- Tananaki, C., Thrasyvoulou, A., Giraudel, J. L., & Montury, M. (2007). Determination of volatile characteristics of Greek and Turkish pine honey samples and their classification by using Kohonen self organizing maps. *Food Chemistry*, 101, 1687-1693.
- Terrab, A., Diez, M. J., & Heredia, F. J. (2002). Chromatic characterisation of Moroccan honeys by diffuse reflectance and tristimulus colorimetry – Non-uniform and uniform colour spaces. *Food Science and Technology International*, 8, 189-195.
- Terrab, A., Gonzalez, A. G., Diez, M. J., & Heredia, F. J. (2003). Mineral content and electrical conductivity of the honeys produced in Northwest Morocco and their contribution to the characterisation of unifloral honeys. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 83, 637-643.
- Tomas-Barberan, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., & Anklam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 485-496.
- Truchado, P., Martos, I., Bortolotti, L., Sabatini, A. G., Ferreres, F., & Tomas-Barberan, F. A. (2009). Use of quinoline alkaloids as markers of the floral origin of chestnut honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5680–5686.
- Tuberoso, C. I. G., Bifulco E., Caboni P., Cottiglia F., & Cabras P. (2010). Floral markers of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 384-389.
- Tuberoso, C. I. G., Bifulco, E., Jerkovic, I., Caboni, P., Cabras, P., Floris, I. (2009). Methyl syringate: A chemical marker of asphodel (*Asphodelus microcarpus* Salzm. et Viv.) monofloral honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3895–3900.
- Uthurry, C. A., Hevia, D., & Gomez-Cordoves, C. (2011). Role of honey polyphenols in health. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(4), 141-159.
- Vela, L., De Lorenzo, C., & Perez, R. A. (2007). Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1069-1075.
- Vergeron, P. (1964). Interprétation statistique des résultats en matière d'analyse pollinique des miels. *Annales de l'Abeille*, 7(4), 349-364.
- Verzera, A., Campisi, S., Zappalà M., & Bonaccorsi, I. (2001). SPME–GC–MS analysis of honey volatile components for the characterization of different floral origin. *American Laboratory*, 33(15), 18–21.
- Verzera, A., & Conurso, C. (2012). Sampling techniques for the determination of the volatile fraction of honey. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering in *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, 4, 87-117.
- Von der Ohe, K., & Von der Ohe, W. (2000). *Celle's melissopalynological collection*. Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde Wehlstrasse 4a D-29221 Cell.

- Von der Ohe, W., Dustmann, J. H., & Von der Ohe, K. (1991). Prolin als Kriterium der Reife des Honigs. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 87, 383–386.
- Von der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M. L., Morlot, M., & Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, S18-S25.
- Vorlova, L., & Celechovska, O. (2002). Activity of enzymes and trace element content in bee honey. *Acta Veterinaria Brno*, 71, 375-378.
- Wang, J., Kliks, M. M., Qu, W. Y., Jun, S. J., Shi, G. Y., & Li, Q. X. (2009). Rapid determination of the geographical origin of honey based on protein fingerprinting and barcoding using MALDI TOF MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10081-10088.
- Wang, J., & Li, Q. X. (2011). Chapter 3 – Chemical composition, characterization, and differentiation of honey botanical and geographical origins. *Advances in Food and Nutrition Research*, 62, 89-137.
- White, J. W. (1966). Methyl anthranilate content of citrus honey. *Journal of Food Science*, 31, 102-104.
- White, J. W. (1978). The protein content of honey. *Journal of Apicultural Research*, 17, 234-238.
- White, J. W. (1975). Composition of honey. In Crane, E., *Honey, a comprehensive survey* (pp 240-257). London: Heinemann.
- White, J. W., & Landis, W. D. (1980). Honey composition and properties, Beekeeping in the United States. *Agriculture handbook, Number 335*, 82-91.
- White, J. W., Riethof, M. L., Subers, M. H., & Kushnir, I. (1962). *Composition of American honey*. Technical Bulletin No. 1261. Washington D. C.: Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture.
- Wolski, T., Tambor, K., Rybak-Chmielewska, H., & Kedzia, B. (2006). Identification of honey volatile components by solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Journal of Apicultural Science*, 50, 115–125.
- Yao, L., Datta, N., Tomas-Barberan, F. A., Ferreres, F., Martos, I., & Singanusong, R. (2003). Flavonoid, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chemistry*, 81(2), 159-168.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Singanusong, R., Datta, N., & Raymont, K. (2004). Phenolic acids and abscisic acid in Australian *Eucalyptus* honeys and their potential for floral authentication. *Food Chemistry*, 86, 169-177.
- Yazgan, S., Horn, H., & Isengard, H. D. (2006). Honey as bio indicator by screening the heavy metal content of the environment. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 102, 192-194.
- Zander, E. (1935, 1937, 1941, 1949, 1951). *Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig. Pollengestaltung und Herkunftsbestimmung bei Blütenhonig (Vol I – V)*. Vol. I: Berlin, Verlag der Reichsfachgruppe Imker; Vol. II: Leipzig, Liedloff, Loth u. Michaelis; Vol. III: Leipzig, Liedloff, Loth u. Michaelis; Vol. IV: München,

Ehrenwirth; Vol. V: Leipzig, Liedloff, Loth u. Michaelis.

Zhou, Q. X., Wintersteen, C. L., & Cadwallader, K. R. (2002). Identification and quantification of aroma-active components that contribute to the distinct malty flavor of buckwheat honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 2016-2021.

Crédit photo: Marie-José Battesti

Annexes

Annexe 1

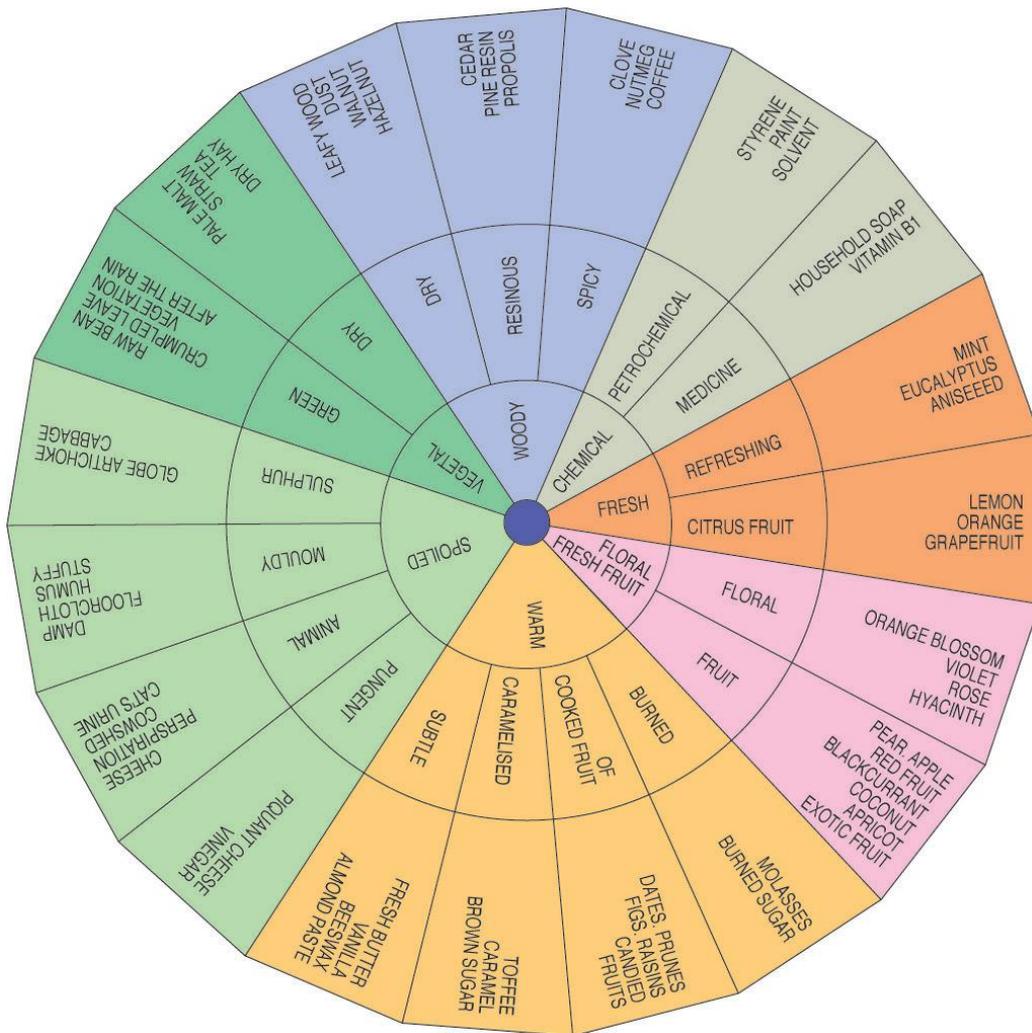


Figure A.1 Roue des odeurs et des arômes (Piana et al., 2004)

Annexe 2

Tableau A.1 Origine variétale et répartition des 269 miels de Corse

N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte	N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte
<i>Châaigneraie</i>									
CH01	1	Canale di Verde	100	2003/07/14	CH26	7	Cuttoli Corticchiato	850	2006/07/17-23
CH02	2	Calenzana	300	2003/07/01	CH27	16	Vezzani	500	2006/07/10-16
CH03	3	Evisa	550	2003/07/07	CH28	1	Canale di Verde	20	2006/07/10-16
CH04	4	Evisa	850	2004/07/26	CH29	17	La Porta	400	2006/07/26
CH05	5	Silvareccio	700	2004/07/26	CH30	5	Silvareccio	700	2006/08/02
CH06	6	Serra-di-Scopamène	800	2004/08/10	CH31	18	Vescovato	350	2006/07/17-23
CH07	7	Cuttoli Corticchiato	900	2004/08/01	CH32	19	Vezzani	400	2006/07/10-16
CH08	8	Sartène	1000	2004/08/01	CH33	11	Ortiporio	600	2006/08/20
CH09	8	Sartène	1000	2004/08/08	CH34	20	Moltifao	300	2006/07/24-30
CH10	9	Prunelli di Fiumorbu	300	2004/07/20	CH35	13	Sartène	1000	2008/07/14-20
CH11	10	Calenzana	500	2004/07/05	CH36	21	Canavaghja	700	2008/07/14-20
CH12	2	Calenzana	500	2004/07/26	CH37	10	Calenzana	550	2008/07/21-17
CH13	11	Ortiporio	550	2004/08/21	CH38	22	Zevaco	650	2008/08/04-10
CH14	12	Piguignule	220	2004/07/26	CH39	23	Montegrosso	400	2008/08/04-10
CH15	13	Sartène	1000	2005/07/11	CH40	24	Quenza	800	2008/09/10
CH16	5	Silvareccio	600	2005/07/22	CH41	25	Croce	800	2008/07/21-17
CH17	10	Calenzana	400	2005/07/04	CH42	26	Bastelicaccia	850	2008/07/14-20
CH18	7	Cuttoli Corticchiato	850	2005/08/01	CH43	27	Auddè	850	2008/07/21-17
CH19	9	Prunelli di Fiumorbu	700	2005/07/25	CH44	28	Lozzi	800	-
CH20	14	Santa Maria Poggio	100	2005/09/12	CH45	16	Vezzani	200	2009/07/06-12
CH21	2	Calenzana	900	2005/07/04	CH46	2	Calenzana	450	2009/07/27-08/02
CH22	2	Calenzana	400	2005/07/11	CH47	29	Oletta	300	-
CH23	15	Ste Lucie de Moriani	50	2006/07/10-16	CH48	16	Vezzani	200	2009/07/06-12
CH24	10	Calenzana	950	2006/07/15	CH49	30	Vescovato	450	2009/07/27-08/02
CH25	2	Calenzana	700	2006/07/24-30	CH50	31	-	-	-

Tableau A.1 (suite)

N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte	N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte
<i>Maquis de printemps</i>									
MP01	32	Vero	150	2003/06/16	MP24	5	Silvareccio	300	2005/05/30
MP02	33	Bastelicaccia	50	2003/05/12	MP25	7	Cuttoli Corticchiato	400	2005/05/23
MP03	16	Vezzani	600	2003/06/09	MP26	17	La Porta	400	2005/06/13
MP04	9	Prunelli di Fiumorbu	300	2003/05/17	MP27	44	Quenza	850	2005/07/25
MP05	34	-	150	2003/06/23	MP28	16	Vezzani	400	2005/06/06
MP06	35	-	400	2003/07/21	MP29	33	Bastelicaccia	100	2006/05/01
MP07	36	Serra di Ferro	400	2003/05/15	MP30	40	Petreto	20	2006/05/22
MP08	37	Lieu dit Funtanella	550	2003/08/04	MP31	7	Cuttoli Corticchiato	400	2006/06/19-25
MP09	7	Cuttoli Corticchiato	300	2003/06/02	MP32	45	Travo	300	2006/05/22-28
MP10	4	Evisa	800	2003/06/05	MP33	3	Evisa	550	2006/06/05-11
MP11	16	Vezzani	400	2003/05/26	MP34	46	Corte	450	2006/08/21-27
MP12	9	Prunelli di Fiumorbu	200	2005/06/08	MP35	15	Moltifao	300	2007/06/12
MP13	1	Canale di Verde	10	2005/05/30	MP36	20	Moltifao	300	2007/06/12
MP14	38	Valle di Campuloru	100	2005/06/10	MP37	17	La Porta	150	2007/06/05
MP15	7	Cuttoli Corticchiato	300	2005/06/20	MP38	17	La Porta	100	2007/06/03
MP16	7	Cuttoli Corticchiato	300	2005/06/27	MP39	47	Sermanu	800	2007/06/06
MP17	39	Zevaco	860	2005/05/23	MP40	16	Vezzani	600	2007/06/29
MP18	37	Lieu dit Funtanella	550	2005/06/18	MP41	9	Prunelli di Fiumorbu	300	2007/06/07
MP19	36	Serra di Ferro	400	2005/05/30	MP42	7	Cuttoli Corticchiato	300	2007/06/10
MP20	40	Petreto	500	2005/06/13	MP43	48	-	100 à 250	2007/05/07-13
MP21	41	Vero	250	2005/06/27	MP44	16	Vezzani	500	2010/06/14-20
MP22	42	Pastricciola	450	2005/05/16	MP45	9	Prunelli di Fiumorbu	700	2010/06/14-20
MP23	43	Salice	650	2005/07/25					
<i>Maquis d'automne</i>									
MA01	13	Sartène	1000	2005/11/15	MA16	50	Piscia	300	2006/12/15
MA02	49	Frassetu	900	2005/11/01	MA17	7	Cuttoli Corticchiato	400	2007/01/22-28
MA03	36	Serra di Ferro	400	2005/10/03	MA18	43	Salice	650	2006/12/04-10
MA04	16	Vezzani	400	2005/01/01	MA19	51	Casanili	700	2006/10/01

Tableau A.1 (suite)

N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte	N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte
<i>Maquis d'automne</i>									
MA07	9	Prunelli di Fiumorbu	200	2005/12/02	MA22	52	St Georges	450	2006/09/16-22
MA08	7	Cuttoli Corticchiato	400	2006/02/20	MA23	53	Forciolo	400	2012/12/10-16
MA09	11	Ortiporio	500	2005/12/15	MA24	54	Lopigna	700	2012/11/12-18
MA10	22	Zevaco	650	2005/10/24-29	MA25	32	Vero	100	2013/01/14-20
MA11	8	Sartène	800	2005/11/7-13	MA26	55	Carbuccia	400	2012/12/24-30
MA12	2	Calenzana	150	2006/11-12/27-03	MA27	16	Vezzani	300	2012/12/03-09
MA13	9	Prunelli di Fiumorbu	200	2006/11/30	MA28	2	Calenzana	100	2013/11/18-24
MA14	16	Vezzani	600	2006/11-12/27-03	MA29	9	Prunelli di Fiumorbu	300	2013/12/02-08
MA15	45	Travo	500	2006/11/13-19	MA30	8	Sartène	800	2013/11/25-12/01
<i>Printemps</i>									
PR01	1	Canale di Verde	80	2004/06/24	PR22	11	Ortiporio	350	2004/06/03
PR02	9	Prunelli di Fiumorbu	80	2004/06/05	PR23	11	Ortiporio	100	2004/06/08
PR03	9	Prunelli di Fiumorbu	50	2004/06/21	PR24	7	Cuttoli Corticchiato	50	2004/06/01
PR04	9	Prunelli di Fiumorbu	80	2004/06/22	PR25	7	Cuttoli Corticchiato	50	2004/06/28
PR05	16	Vezzani	100	2004/05/21	PR26	7	Cuttoli Corticchiato	200	2004/06/28
PR06	56	Ste Lucie de Moriani	50	2004/06/07	PR27	41	Vero	250	2004/06/01
PR07	9	Prunelli di Fiumorbu	50	2004/06/05	PR28	17	La Porta	50	2004/06/14
PR08	16	Vezzani	100	2005/05/30	PR29	36	Serra di Ferro	80	2004/05/10
PR09	9	Prunelli di Fiumorbu	100	2006/05/20	PR30	2	Calenzana	80	2005/05/30
PR10	16	Vezzani	100	2006/05/22	PR31	16	Vezzani	100	2005/05/09
PR11	2	Calenzana	100	2006/05/22	PR32	7	Cuttoli Corticchiato	50	2005/05/30
PR12	56	Ste Lucie de Moriani	50	2006/05/29	PR33	36	Serra di Ferro	100	2005/05/02
PR13	1	Canale di Verde	150	2006/05/29	PR34	11	Ortiporio	50	2004/06/10
PR14	16	Vezzani	50	2006/05-06/29-04	PR35	11	Ortiporio	50	2005/04/25
PR15	16	Vezzani	400	2006/06/12-18	PR36	36	Serra di Ferro	100	2006/05/15
PR16	9	Prunelli di Fiumorbu	50	2006/06/05	PR37	2	Calenzana	200	2006/04/24
PR17	1	Canale di Verde	100	2006/05/22-28	PR38	21	Canavaghja	50	2006/05/22
PR18	2	Calenzana	70	2006/05/29	PR39	58	Urtaca	320	2006/06/05

Tableau A.1 (suite)

N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte	N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte
<i>Printemps</i>									
PR19	57	Campo	100	2004/06/01	PR40	11	Ortiporio	150	2006/05/15
PR20	2	Calenzana	100	2004/04/26	PR41	7	Cuttoli Corticchiato	50	2006/06/19-25
PR21	11	Ortiporio	50	2004/05/28					
<i>Maquis d'été</i>									
ME01	59	Vizzavona	1000	2004/07/05	ME16	28	Lozzi	950	2005/09/12
ME02	28	Lozzi	1200	2004/09/10	ME17	61	Albertacce	900	2012/08/08
ME03	60	Tolla	600	2012/06/21	ME18	28	Lozzi	1200	2005/09/19
ME04	28	Lozzi	900	2006/07/24-30	ME19	7	Cuttoli Corticchiato	950	2005/06/18
ME05	2	Calenzana	900	2004/06/28	ME20	7	Cuttoli Corticchiato	900	2012/06/25-07/01
ME06	2	Ortiporio	1000	2006/07/12	ME21	62	Sartène	870	2012/07/23-29
ME07	28	Lozzi	800	2006/07/10-16	ME22	8	Quenza	1200	2012/07/30-08/05
ME08	28	Lozzi	900	2004/09/03	ME23	36	Serra di Ferro	700	2012/06/11-17
ME09	28	Lozzi	650	2004/07/20	ME24	44	Quenza	850	2004/07/26
ME10	20	Lozzi	1100	2012/07/23-29	ME25	13	Quenza	800	2012/07/29
ME11	23	Lozzi	1000	2012/07/02-08	ME26	62	Sartène	900	2004/08/07
ME12	11	Ortiporio	800	2004/08/21	ME27	63	Bocognano	800	2004/07/26
ME13	11	Ortiporio	800	2004/07/31	ME28	64	Vizzavona	800	2012/07/09-15
ME14	28	Lozzi	1200	2006/08/07-13	ME29	65	Bocognano	550	2012/06/18-24
ME15	20	Moltifao	950	2004/07/19					
<i>Miellat du maquis</i>									
MM01	48	Bastelicaccia	50	2004/09/06	MM38	44	Quenza	150	2005/08/22
MM02	45	Travo	50	2004/09/05	MM39	18	Vescovato	150	2005/07/18
MM03	41	Vero	75	2004/08/29	MM40	44	Quenza	150	2006/08/21-27
MM04	1	Canale di Verde	350	2005/09/15	MM41	5	Vignale	100	2006/08/21
MM05	63	Bocognano	200	2004/09/20	MM42	57	Campo	100	2006/10-11/30-05
MM06	66	Sorbo	200	2005/08/22	MM43	20	Moltifao	50	2006/09/18-24
MM07	17	La Porta	150	03/09/05	MM44	68	Ostriconi	10	2012/06/14
MM08	19	Vezzani	100	2005/09/19	MM45	46	Corte	400	-

Tableau A.1 (suite)

N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte	N°	Code producteur	Commune/Lieu dit	Altitude	Date de récolte
<i>Miellat du maquis</i>									
MM09	56	Ste Lucie de Moriani	50	2005/09/19	MM46	46	Corte	400	-
MM10	14	Santa Maria Poggio	60	2005/09/05	MM47	2	Calenzana	80	05/06/13
MM11	1	Canale di Verde	150	2005/09/19	MM48	8	Sartène	0	05/06/13
MM12	2	Calenzana	250	2005/08/01	MM49	17	La Porta	100	2004/09/01
MM13	10	Calenzana	50	2006/08/21-27	MM50	11	Ostriconi	100	2005/06/20
MM14	16	Vezzani	50	2006/09/18-24	MM51	53	Forciolo	350	2004/09/30
MM15	17	La Porta	100	2006/08/21	MM52	5	Vignale	100	2006/05/24
MM16	16	Vezzani	50	2005/08/22	MM53	34	Mignatija	50	2005/06/20
MM17	38	Valle di Campuloru	100	2006/08/20	MM54	69	Mura	500	2006/08/01
MM18	9	Prunelli di Fiumorbu	100	2006/08/30	MM55	5	Vignale	100	2005/08/05
MM19	7	Cuttoli Corticchiato	50	2006/09/18-24	MM56	5	Vignale	100	2006/09/18
MM20	48	Bastelicaccia	50	2006/09/18-24	MM57	17	La Porta	100	2004/07/19
MM21	14	Santa Maria Poggio	50	2006/08/21-27	MM58	5	Vignale	200	2004/08/07
MM22	16	Vezzani	50	-	MM59	70	Moriani	550	2006/07/24-30
MM23	67	Corbara	250	-	MM60	13	Sartène	900	2006/08/14-20
MM24	16	Vezzani	50	-	MM61	71	Quenza	801	2005/08/01
MM25	2	Calenzana	50	2006/08/14-20	MM62	59	Vizzavona	200	2005/09/12
MM26	1	Canale di Verde	200	2004/07/19	MM63	71	Quenza	400	2006/05/29
MM27	56	Ste Lucie de Moriani	100	2004/08/16	MM64	72	Felce	900	2006/08/14-20
MM28	38	Valle di Campuloru	100	2004/08/29	MM65	44	Quenza	900	2006/07/24-30
MM29	45	Travo	20	2005/08/29	MM66	5	Vignale	200	2005/07/28
MM30	18	Vescovato	350	2005/08/08	MM67	73	Castellare	500	2005/09/12
MM31	7	Cuttoli Corticchiato	10	2005/10/24	MM68	36	Serra di Ferro	850	2005/07/18
MM32	44	Quenza	150	2004/08/24	MM69	62	Quenza	900	2005/07/23
MM33	2	Calenzana	20	2004/08/23	MM70	74	Casalta	300	2005/07/25
MM34	36	Serra di Ferro	20	2004/08/16	MM71	74	Casalta	300	2005/08/01
MM35	16	Vezzani	100	2004/10/07	MM72	5	Vignale	200	2005/07/22
MM36	5	Vignale	300	2005/09/14	MM73	3	Evisa	550	2005/08/08
MM37	10	Calenzana	400	2005/08/22	MM74	71	Quenza	850	2005/07/25

Annexe 3

Tableau A.2. Caractérisation biogéographiques et analyse statistique des taxons représentés dans les miels

N°	Valeur apicole ^a	Code biogéographique ^b	Taxons	Fréquence relative (FR) ^c					Taux de présence ^d	Repartition en Corse par rapport aux étages de végétation ^e					
				Moyenne	Min.	Max.	Ecart	CV							
1	N, P	14	<i>Genista</i> sp.	1,61	0,03	25,87	2,99	185,45	63	li	tm	me	SM	MO	OR
2	N, P	14	<i>Thymus herba-barona</i>	0,34	0,03	1,74	0,41	122,71	19			me	sm	MO	OR
3	N, P	12-25-62	<i>Teucrium</i> sp.	0,22	0,02	1,05	0,25	112,5	13		TM	ME	SM	mo	
4	N, P	21	<i>Erica arborea</i>	16,21	0,03	77,88	22,3	137,6	79		TM	ME	SM	mo	
5	N, P	21	<i>Lavandula stoechas</i>	1,34	0,03	11,69	1,98	148,02	38		TM	ME			
6	P	21	<i>Myrtus communis</i>	0,74	0,03	4,56	0,85	114,56	34	li	TM	ME			
7	P	21	<i>Olea</i> sp.	0,52	0,02	3,55	0,6	115,13	25	li	TM	ME			
8	N, P	21	<i>Viburnum tinus</i>	1,45	0,05	16,24	2,97	204,42	22		TM	ME			
9	N, P	21	<i>Arbutus unedo</i>	10,76	0,11	40,1	9,94	92,37	18		TM	ME	sm		
10	N, P	21	<i>Asteraceae Carduus/Galactites</i> forme	1,11	0,05	5,19	1,47	132,33	18		TM	ME	SM		
11	N, P	21	<i>Asphodelus</i> sp.	0,58	0,06	2,93	0,6	103,54	14		TM	ME	sm		
12	N, P	21	<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,89	0,11	6,64	1,57	177,05	10		TM	ME			
13	P	25	<i>Phillyrea</i> sp.	1,99	0,03	13,28	2,64	132,81	25		TM	ME			
14	N, P	28	<i>Anthyllis hermanniae</i>	2,85	0,05	33,77	5,15	180,37	51		tm	me	SM	MO	OR
15	P	29	<i>Pistacia lentiscus</i>	1,68	0,1	9,32	2,08	124,01	23	LI	TM	ME			
16	N, P	21-25	<i>Cytisus/Calicotome</i> forme	3,32	0,04	31,18	5,5	165,77	41	LI		ME	SM		
17	N, P	21-25	<i>Allium</i> sp.	0,58	0,09	2,2	0,51	88,82	12		TM	ME	sm		
18	P	21-29	<i>Cistus</i> sp.	3,52	0,05	33,33	4,84	137,55	81		TM	ME	sm		
19	N, P	21-31-51	<i>Trifolium</i> sp.	5,55	0,05	53,52	11,81	212,6	43	LI		ME	SM	mo	
20	P	21-35-55-58	<i>Quercus</i> sp.	8,06	0,07	51,76	9,87	122,49	98		TM	ME	SM	mo	
21	N, P	21-51	<i>Lotus</i> sp.	2,35	0,03	52,79	6,44	273,75	40	LI	TM	ME	SM	MO	
22	N, P	21-94	<i>Asteraceae Dittrichia</i> forme	0,95	0,03	5,3	1,22	127,99	18		TM	ME	SM	mo	
23	N, P	31	<i>Echium</i> sp.	3,96	0,02	71,14	9,97	251,66	37		TM	ME	SM		
24	P	31-35	<i>Rubus</i> sp.	3,69	0,07	19,41	3,89	105,48	84		tm	ME	SM	mo	
25	N, P	31-51	<i>Rosa</i> sp.	0,63	0,03	4,55	0,92	145,63	17	RII		ME	SM	mo	
26	N, P	31-54	<i>Clematis</i> sp.	0,18	0,02	0,54	0,13	71,41	17	ri1-2	TM	ME	SM		
27	N, P	51	<i>Crataegus monogyna</i>	1,82	0,02	19,1	3,41	186,89	32		tm	ME	SM	mo	
28	N, P	54	<i>Jasione Montana</i>	1,01	0	12,27	2,3	227,02	28	li	tm	ME	SM	MO	

Tableau A.2. (suite)

N°	Valeur apicole ^a	Code biogéographique ^b	Taxons	Fréquence relative (FR) ^c					Taux de présence ^d	Repartition en Corse par rapport aux étages de végétation ^e				
				Moyenne	Min.	Max.	Ecart	CV						
29	P	58	<i>Fraxinus ornus</i>	2	0,03	25,95	3,95	197,75	66		tm	ME	SM	mo
30	N, P	59	<i>Castanea sativa</i>	47,58	0,25	98,04	37,17	78,12	96			ME	SM	
31	N, P	51-52	<i>Salix</i> sp.	3,25	0,03	29,93	4,96	152,76	52	RI				
32	N, P	54-99	<i>Prunus</i> sp.	1,66	0,03	24,06	3,2	192,59	38			ME	SM	
33	N, P	54-99	<i>Pyrus/Malus</i> forme	0,89	0,05	6,35	1,04	116,42	33			ME	SM	
34	N, P	65	<i>Hedera helix</i>	7,34	0,05	50,51	11,97	162,99	29		tm	ME	SM	mo
35	N, P	65	<i>Ilex aquifolium</i>	0,82	0	4,09	0,97	117,84	20	ri			SM	MO
36	N, P	97	<i>Smilax aspera</i>	2,69	0,1	9,02	2,67	99,46	16		TM	ME		
37	P	99	<i>Eucalyptus</i> sp.	1,58	0,05	20,53	2,79	175,99	49			ME		
38	N, P	99	<i>Citrus</i> sp.	3,08	0,02	16,11	4,44	144,5	21			ME		
39	P	99	<i>Actinidia sinensis</i>	2,75	0,07	16,09	3,71	134,93	20			ME		
40	N, P	Nd	<i>Asteraceae</i> fenestréforme	0,71	0	5,41	1,07	150,73	33				nd	
41	N, P	Nd	<i>Apiaceae</i>	1,81	0,02	17,45	3,28	181,47	32				nd	
42	N, P	Nd	<i>Brassicaceae</i>	1,37	0,05	14,66	2,35	171,72	31				nd	
43	P	Nd	<i>Scrophulariaceae</i> autres	0,54	0,05	4,46	0,72	133,09	22				nd	
44	N, P	Nd	<i>Fabaceae</i> autres	0,31	0,05	1,57	0,33	105,9	21				nd	
45	P	Nd	<i>Plantago</i> sp.	0,34	0,02	1,52	0,3	87,01	20				nd	
46	N, P	Nd	<i>Rosaceae</i> autres	0,78	0,06	5,24	1,04	134,14	18				nd	
47	N, P	Nd	<i>Vicia</i> sp.	1,84	0,02	11,79	2,72	148,09	17				nd	
48	P	Nd	<i>Poaceae</i>	0,35	0,03	1,2	0,27	76,24	12				nd	
49	N, P	Nd	<i>Liliaceae</i> autres	0,58	0,13	3,04	0,72	125	11				nd	
50	N, P	Nd	<i>Asteraceae</i> autres	0,22	0,03	0,84	0,2	92,35	11				nd	
51	P	Nd	<i>Pinus</i> sp.	0,13	0,02	0,53	0,12	91,94	10				nd	
52	P	Nd	<i>Cupressaceae</i>	0,7	0,07	5,34	1,17	166,34	10				nd	

Autres taxons identifiés (taux de présence < 10%): *Populus* sp., *Helleborus lividus* subsp. *corsicus*, *Asteraceae Helicrysum* forme, *Asteraceae Achillea* forme, *Rumex* sp., *Acacia dealbata*, *Platanus* sp., *Caryophyllaceae* autres, *Tilia* sp., *Stachys glutinosa*, *Lamiaceae* autres, *Boraginaceae* autres, *Papaver rhoeas*, *Silene gallica*, *Cytinus hypocistis*, *Knautia integrifolia*, *Ranunculaceae* autres, *Corylus avellana*, *Bituminaria bituminosa*, *Asparagus* sp., *Robinia pseudoacacia*, *Asteraceae Tyrimmus* forme, *Vitis vinifera*, *Odontites* sp., *Sambucus ebulus*, *Chamaerops humilis*, *Cercis siliquastrum*, *Urticaceae*, *Chenopodiaceae*, *Erica terminalis*, *Centaurea* sp., *Oleaceae* autre, *Centaureum erythraea*, *Daphne gnidium*, *Mercurialis annua*, *Mentha* sp., *Reseda* sp., *Anemone hortensis*, *Cynoglossum creticum* forme, *Veronica* sp., *Erica* autres, *Verbascum* sp., *Sedum* sp., *Aesculus hippocastanum*, *Carpobrotus* sp., *Potentilla* sp., *Artemisia* sp., *Laurus nobilis*, *Carex* sp., *Campanula* sp., *Helianthemum* sp., *Oxalis* sp., *Melilotus* sp., *Syringa vulgaris*, *Zea mays*, *Borago officinalis*, *Betula pendula*, *Sherardia avensis*, *Ulmus* sp., *Amaryllidaceae*, *Cyperaceae*, *Hypericum* sp., *Epilobium* sp., *Erodium* sp., *Juglans regia*, *Convolvulus* sp., *Ailanthus altissima*, *Mimosaceae* autres, *Pancreatium* sp., *Sisylx atropurpurea*, *Ruta* sp., *Cerinth* sp., *Lupinus angustifolius*, *Rhamnus* sp., *Acer* sp., *Dorycnium* sp., *Alnus* sp., *Ostrya carpinifolia*, *Buxus sempervirens*

Tableau A.2. (suite)

^a N, P: espèce nectarifère et pollenifère; P: espèce uniquement pollenifère

^b code biogéographique des taxons d'après Gamisans (1985):

1 - Endémiques: 12 - End. d'origine sténo-méditerranéenne; 14 - End. d'origine méditerranéo-montagnarde

2 - Sténo-méditerranéennes: 21 - Sténo-médit. au sens large; 25 - Sténo-médit.-occidentales; 28 - Sténo-médit.-nord-orientales; 29 - Sténo-médit.-occidentales-macaronésiennes

3 - Euryméditerranéennes: 31 - Eurymédit. au sens large; 35 - Eurymédit.-occidentales

5 - Eurasiatiques: 51 - Paléotempérées; 52 - Eurasiat.; 54 - Euro-paléocasiennes; 55 - Europ.; 58 - SE-europ.; 59 - S-europ.

6 - Atlantiques: 65 - Médit.-atlantiques

9 - Groupes d'espèces de vaste répartition: 94 - Subcosmopolites; 97 - Subtropicales et paléosubtropicales; 99 - Plantes cultivées

^c fréquence relative: le pourcentage respectif d'un taxon par rapport au nombre total de grains de pollen comptés dans un échantillon de miel

^d taux de présence : nombre d'échantillons dans lesquels le taxon est présent par rapport à la totalité des échantillons étudiés

^e répartition des étages de végétation d'après Jeanmonod *et al.* (2007)

LI ou li: Milieux littoraux (rochers, terrains salés, dunes)

RI1 ou ri1: Ripisylves au niveau de l'étage méditerranéen, et terrains marécageux non salés, jusqu'à la mer

RI2 ou ri2: Ripisylves au niveau de l'étage supraméditerranéen

TM ou tm: Etage thermoméditerranéen

ME ou me: Etage méditerranéen

SM ou sm: Etage supraméditerranéen

MO ou mo: Etage montagnard

OR ou or: Etage cryo-oroméditerranéen

Annexe 4

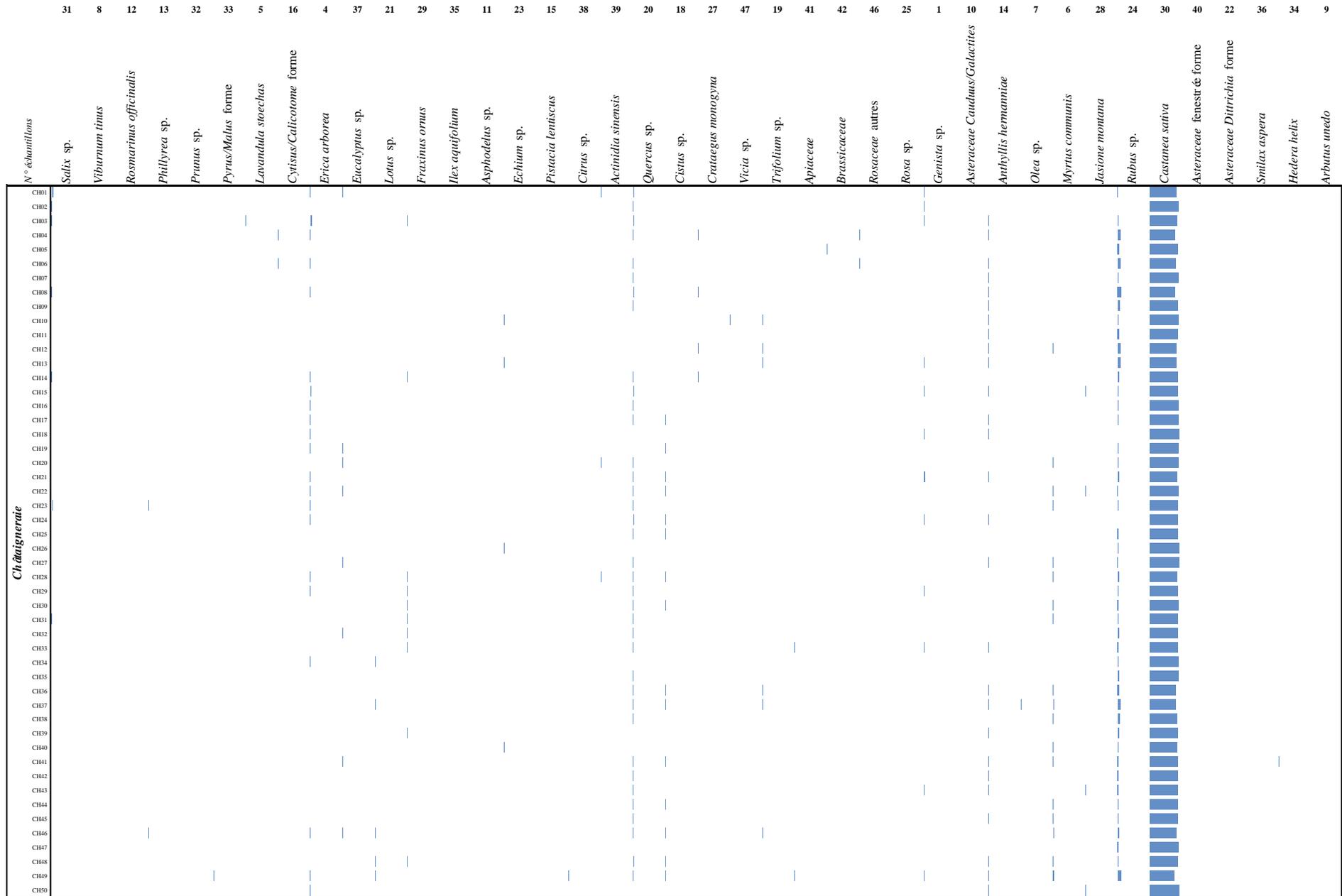


Figure A.2 Diagramme des spectres polliniques : caractérisation de l'origine botanique
 (Les taxons (TP > 10% et FRMax > 3%) sont classés en fonction de la chronologie de floraison des espèces)

100%

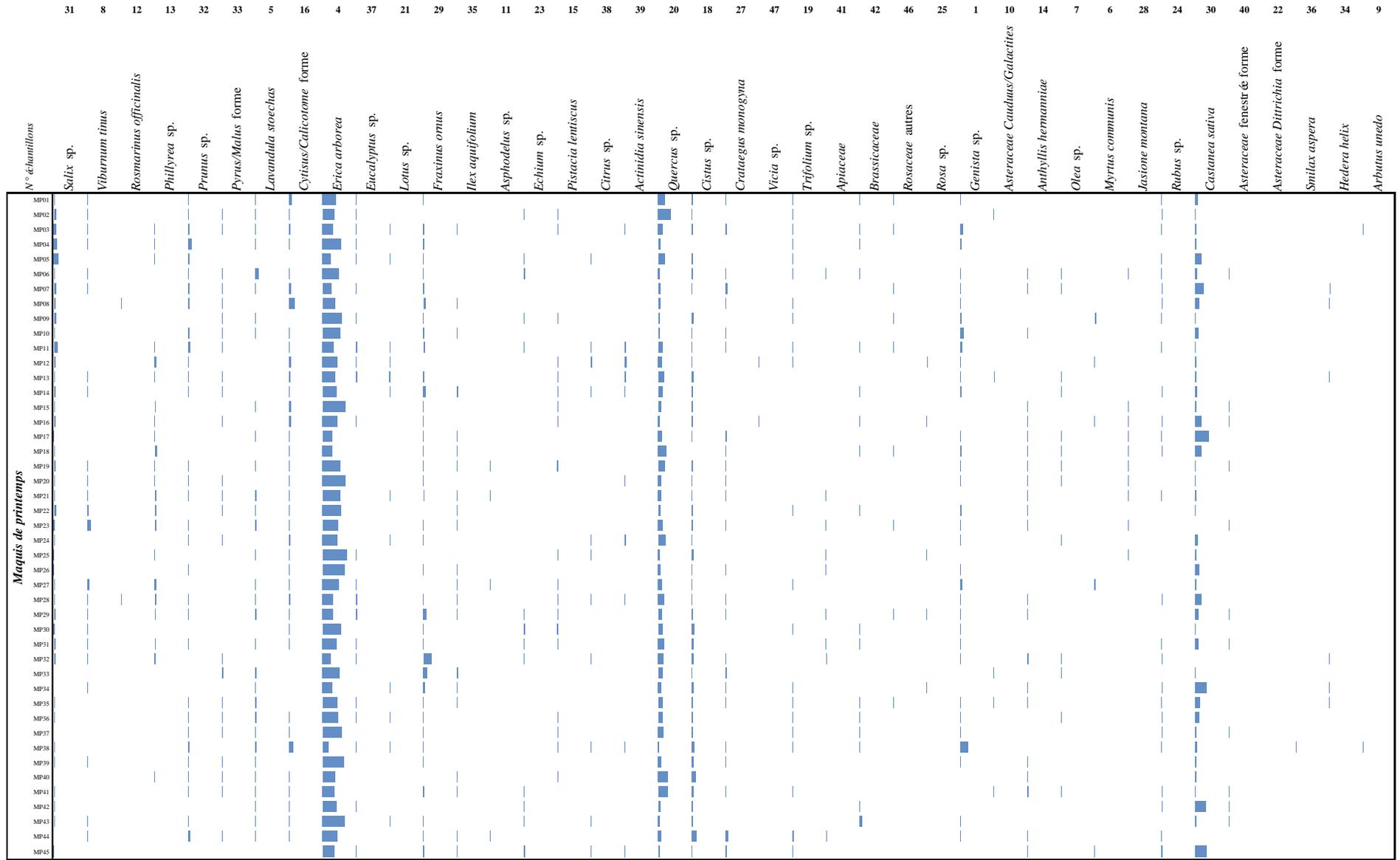


Figure A.2 (suite)

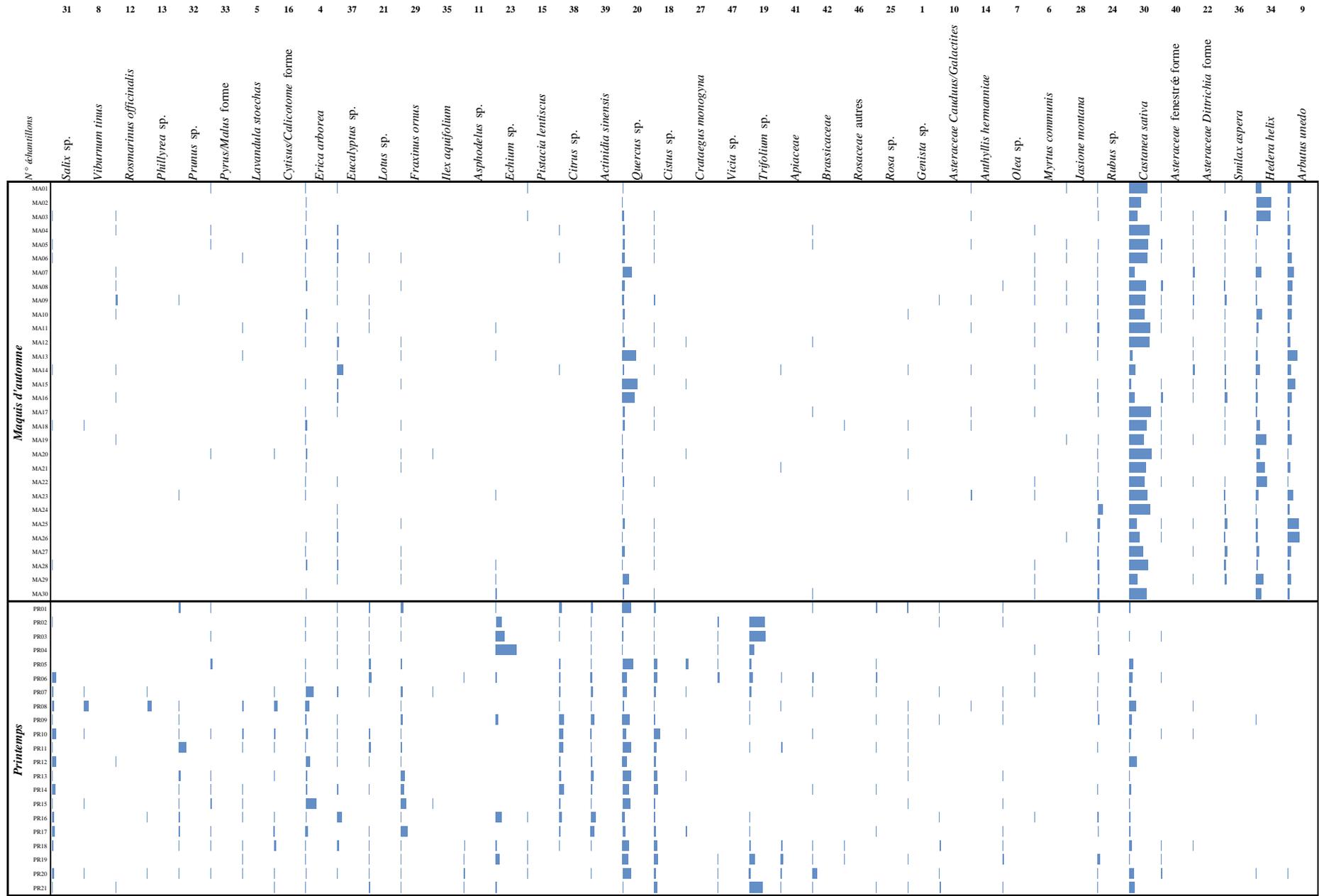


Figure A.2 (suite)

100%



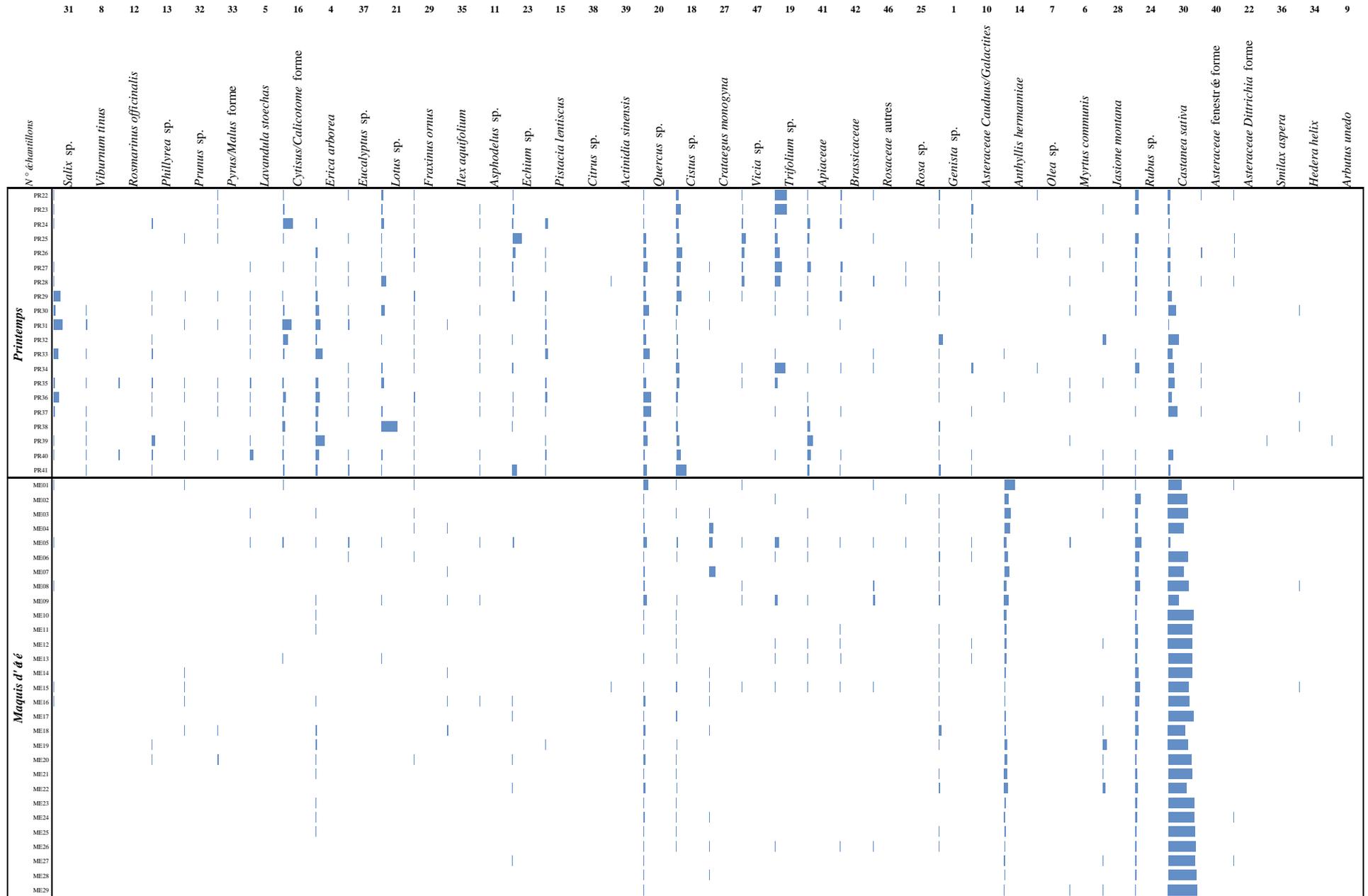


Figure A.2 (suite)

Annexe 5

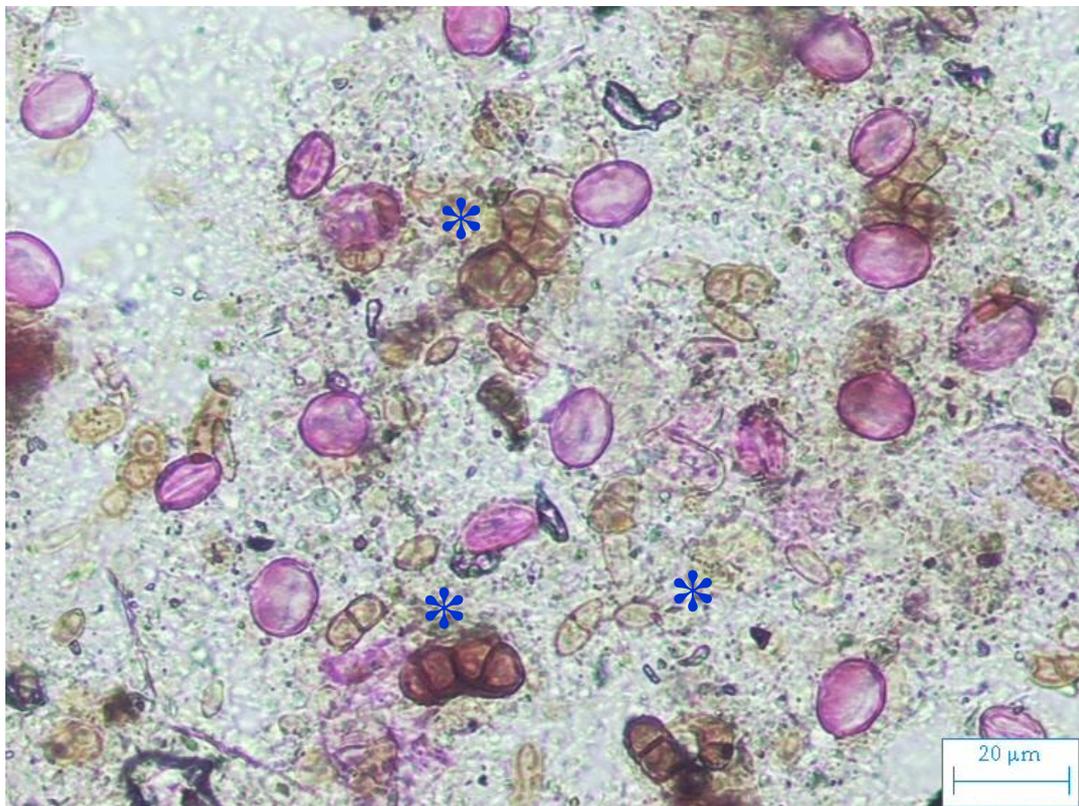
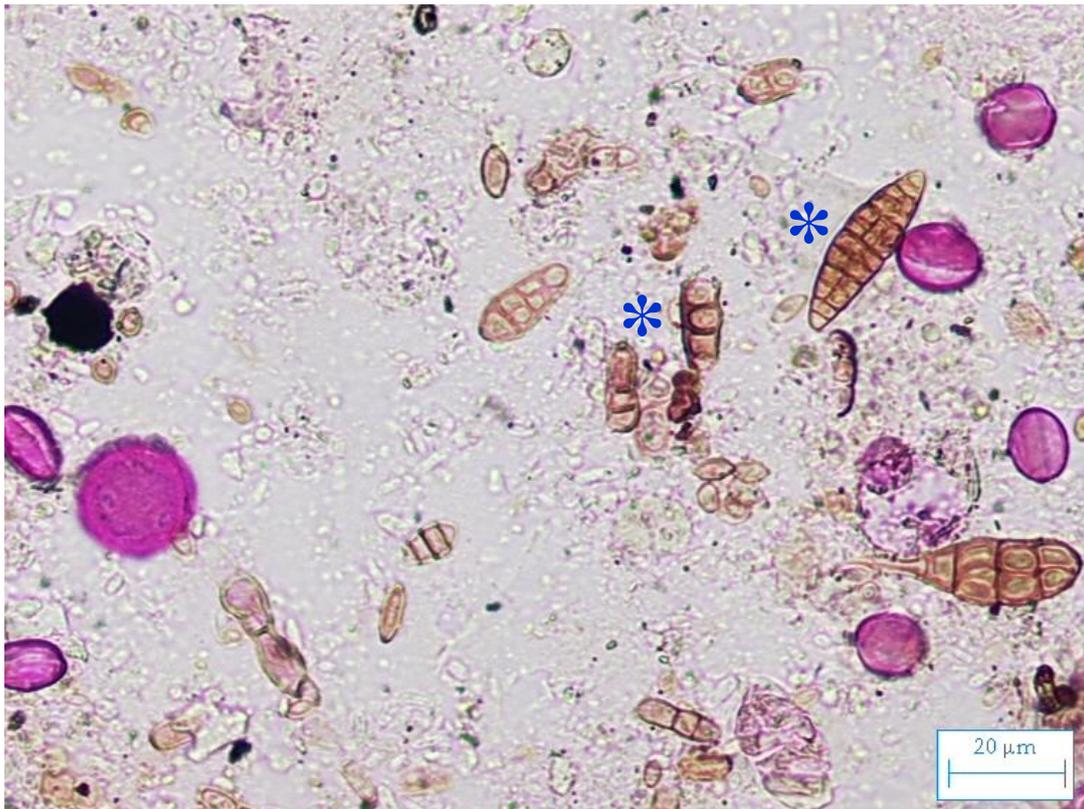


Figure A.3 Miellat de *Metcalfa* : richesse des indicateurs de miellat
(* : spores et asques de champignons microscopiques)

Résumé vulgarisé

Qualification des miels de Corse par une approche multifactorielle : diversité pollinique & variabilité chimique

Le Miel de Corse est un produit typique du territoire insulaire. Même si les premières traces d'apiculture en Corse remontent à l'antiquité, la filière apicole est presque abandonnée à la sortie de la Seconde Guerre mondiale. Les professionnels s'organisent à partir de 1976, jusqu'à obtenir une Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) en 1998 puis une Appellation d'Origine Protégée (AOP) en 2000. Ainsi, la production actuelle (300 à 350 tonnes/an) commercialisée sous l'étiquetage « Miel de Corse-Mele di Corsica » se décline en six catégories variétales : « printemps », « maquis de printemps », « miellat du maquis », « maquis d'été », « châtaigneraie » et « maquis d'automne ». Ces dernières traduisent la diversité des produits mellifères locaux ainsi que leurs relations avec la végétation de l'île.

Dans le cadre des normes nationales (AOC) et européennes (AOP), la méthode dite « conventionnelle » pour la certification de l'origine géographique et botanique est basée sur les caractéristiques polliniques, physico-chimiques et organoleptiques des miels de Corse. L'objectif principal de cette thèse de doctorat était de caractériser la variabilité chimique de ces productions afin de proposer de nouveaux critères de qualification.

L'étude de la fraction volatile de 269 échantillons de miels (incluant les six gammes variétales), a permis d'inventorier, pour la première fois, la composition volatile des miels de Corse. Nos travaux ont également conduit à l'identification de marqueurs chimiques pour chaque catégorie en relation directe avec les spécificités des terroirs de production. Pour cela, une approche interdisciplinaire - alliant les données des méthodes conventionnelles et celles de la typologie volatile - a été proposée pour la détermination de l'origine florale.

Cette première caractérisation multifactorielle des miels de Corse est d'un intérêt fondamental pour les apiculteurs dans le cadre de l'évolution spatio-temporelle des productions insulaires en fonction des conditions du milieu (variations bioclimatiques, modifications des processus de miellés, conduites apicoles).

Qualifichera di i meli di Corsica cù un accostu multifattoriale : diversità pullinica è variabilità chimica

U Mele di Corsica hè un pruduttu sputicu di l'isula. E prime vistighe di l'apicoltura in Corsica si ritrovanu in l'Antichità più anziana ma l'arte di a bugna è di u mele vene tralasciata dopu a Sigonda guerra mondiale. Cù a mossa idintitaria di l'anni sittanta (XXu seculu), s'organizeghjanu i prufiziunali ed ottenenu una Appillazione d'Origine Cuntrullata (AOC) in lu 1998 po una Appillazione d'Origine Prutetta (AOP) in lu 2000. Fatta fine chì a pruduzione oghjinca (300 à 350 tunnillate/annu), cummercializata c'è a sugillata « Miel de Corse-Mele di Corsica » si spachja sigondu sei catigorie variatesche : « veranu », « machja viraninca », « milata di u machjetu », « machja d'istate », « castagnetu » è « machja auturnale ».

In lu quattru di e norme naziunale (AOC) ed europe (AOP), u metudu cunvinziunale da cirtificà l'origine geugrafica è butanica s'arremba à e caratteristiche pulliniche, fisicu-chimiche è organulettiche di i meli. U fine principale di sta tesi dutturale h'è di caratterizà a variabilità chimica di ste pruduzione di modu à prupone criterii novi di qualifichera.

U studiu di a frazzione volatile di 269 campioni di meli (inclusuci e sei catigorie variatesche), hà permessu d'invinturià, pè a prima volta, a custituzione in cumposti volatili di i meli di Corsica. I nostri travagli sò sbuccati dinò nantu à l'idintificazione di i marcadori chimichi in leia diretta c'è e spificità di i rughjoni di pruduzione. Per quessa, un accostu interdisciplinariu – appaghjendusi i dati di i metudi cunvinziunali cun quelli di a tippulugia volatile- hè statu prupostu da pudè d'isturnà l'origine fiurale.

Cus ì s'ò stati idintificati i marcadori chimichi di parechje variatà di mele, vene à d'isturnà u 2-aminoacetofenone (« castagnetu ») ; u p-anisaldeide è u 4-n-propilanisole (« machja viraninca ») ; l'isoforone è u 3,4,5-trimetilfenole (« machja auturnale ») ; l'isomeri di lilace aldeide è di u p-menten-9-al (« veranu tippu clementinu »).

Sta prima caratterizzazione multifattoriale di i meli di Corsica hè propiu d'opu pè l'apicultori in lu quattru di l'evuluzione spaziu-tempurale di e pruduzione isulane in funzione di e cundizione di u mezu (variazione bioclimatiche, mudifica di u prucessu di e milate, rigiru apaghju).

Abstract

This thesis was focused on the Corsican honeys under the AOC and AOP appellation “Miel de Corse-Mele di Corsica”. The Corsican honey was classified in six varietal categories: “spring”, “spring maquis”, “honeydew”, “summer maquis”, “chestnut grove” and “automne maquis”. The aim of this work was to characterize the volatile composition of Corsica honey and to develop an interdisciplinary approach to complete the characterization of Corsican honey and the qualification of the botanical and/or geographical origin.

In the first part, 195 nectar honeys were characterized by melissopalynological, physico-chemical and volatile analyses. Pollen analysis allowed the certification of Corsican origin and highlights the main nectariferous species and/or characteristic plant associations of each varietal range. Thus, the volatile analysis by SPME, GC and GC/MS allowed the identification of some chemical markers of honey, namely 2-aminoacetophenone (“*chestnut grove*”); *p*-anisaldehyde and 4-n-propylanisole (“*spring maquis*”); isophorone and 3,4,5-trimethylphenol (“*automne maquis*”); isomers of lilac aldehydes and *p*-menth-1-en-9-al (“*spring clementine*”).

For each honey range, an interdisciplinary study was carried out by using statistical analysis of multifactorial data (melissopalynological, physico-chemical and volatile data). These results allowed us to identify the “monofloral” honey samples; to propose some hypotheses about the nectar and/or honeydew contribution in honeys with dominant over-represented (“*chestnut grove*”) and normal taxon (“*spring maquis*”); and to determine the role of different nectariferous and/or polleniferous species in honeys with underrepresented taxon (“*spring*” and “*autumn maquis*”) and those with complex botanical origin (“*summer maquis*”).

In the second part of our work, the volatile fraction of 74 Corsican honeydews and blend honeys has also been investigated. Statistical analysis of the volatile composition has distinguished *Metcalfa* honeydew by a high abundance of 3-furaldehyde. Otherwise, the other honey samples were characterized by a high abundance of 2-aminoacetophenone (marker of “chestnut grove” honey) and/or *p*-anisaldehyde and 4-n-propylanisol (characteristic compounds of “spring maquis” honey). These observations could be explained by the nectar contribution of *Castanea sativa* and/or *Erica arborea* in the honeydew samples.

Finally, this work has allowed us to develop an innovative approach based on multifactorial approach (pollen analysis, physico-chemical parameters, volatile composition) to obtain discriminant information for the determination of the floral origin from Corsican honeys.

DISCIPLINE:

Organic and Analytic Chemistry

KEY WORDS

AOP-AOC «*Miel de Corse – Mele di Corsica* », melissopalynological analysis, volatile composition, GC, GC/MS, SPME, chemical variability.

Résumé

Ce travail de thèse porte sur les miels de Corse commercialisés sous l'AOC et l'AOP « Miel de Corse-Mele di Corsica » et classés en six catégories variétales : « *printemps* », « *maquis de printemps* », « *miellat du maquis* », « *maquis d'été* », « *châtaigneraie* » et « *maquis d'automne* ». Notre objectif principal était de caractériser la composition volatile des miels de Corse et de développer une approche interdisciplinaire en vue de compléter la caractérisation de ces productions par la recherche de nouveaux critères pour la qualification de l'origine botanique et/ou géographique. Les travaux ont donc consisté à croiser les données obtenues par la méthode conventionnelle basée sur les analyses polliniques, sensorielles et physico-chimiques avec celles issues de l'analyse chimique de la fraction volatile des miels.

Dans une première partie, 195 miels de nectar ont été caractérisés au niveau pollinique, physico-chimique ainsi que par leurs compositions volatiles. L'analyse pollinique a permis de certifier l'origine Corse et de mettre en évidence les principales espèces nectarifères de chaque gamme variétale et/ou les associations végétales caractéristiques des miellés. L'analyse de la fraction volatile par MEPS, CPG et CPG/SM a conduit à l'identification des marqueurs chimiques des diverses variétés de miels, à savoir la 2-aminoacétophénone (« *châtaigneraie* »); le *p*-anisaldéhyde et le 4-*n*-propylanisol (« *maquis de printemps* »); l'isophorone et le 3,4,5-triméthylphénol (« *maquis d'automne* »); les isomères de lilacaldéhyde et du *p*-menthène-9-al (« *printemps typé éminentinier* »).

De plus, une étude interdisciplinaire (analyse méssopalynologique, physico-chimique et fraction volatile) basée sur l'utilisation de traitements statistiques des données multifactorielles a été menée sur chacune des catégories variétales. Les résultats obtenus ont permis de mieux cerner l'origine botanique des miels « quasi-monofloraux »; de proposer des hypothèses sur les autres apports nectarifères et/ou miellatifiés dans les miels à taxon dominant de type sur-représenté (« *châtaigneraie* ») et normal (« *maquis de printemps* »); de déterminer les différentes contributions nectarifères dans les miels dont l'espèce dominante à un taxon de type sous-représenté (« *printemps* » et « *maquis d'automne* ») et dans ceux ayant une origine botanique complexe (« *maquis d'été* »).

Dans la seconde partie de nos travaux, nous avons caractérisé la fraction volatile de 74 miels des gammes « *miellat du maquis* » et « *miel de Corse* ». L'analyse statistique de la variabilité chimique a permis de distinguer les miellats de *Metcalfa* par la teneur en 3-furaldéhyde. Par ailleurs, nous avons pu qualifier l'origine botanique des miels dit « *génériques* » (mélange « miel de miellat »/« miel de nectar »), notamment les apports significatifs de « *châtaigneraie* » (molécule marqueur : 2-aminoacétophénone) et/ou de « *maquis de printemps* » (*p*-anisaldéhyde et 4-*n*-propylanisol).

Enfin, ces travaux ont permis de développer une approche innovante basée sur une approche multifactorielle (polliniques, physico-chimiques et volatils) afin de mieux qualifier la complexité des origines botaniques des miels de Corse.

DISCIPLINE :

Chimie Organique et Analytique

MOTS CLES

AOP – AOC « *Miel de Corse – Mele di Corsica* », analyse méssopalynologique, fraction volatile, CPG, CPG/SM, MEPS, variabilité chimique.
