

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Microbiologie Appliquée

Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

THÈME

Etude comparative de la qualité microbiologique et physico-chimique du pollen issu de l'université et celui de marché

Présenté par :

➤ BOUTARFA Yousra

➤ DERGHOUIM Ines

Devant le jury composé de :

Pr. LAOUABDIA Selami Nadjette

Président

Université 8 Mai 1945 Guelma

Dr. ROUABHIA Kamel (M.A.A)

Examineur

Université 8 Mai 1945 Guelma

Dr. TOUATI Hassen (M.C.B)

Encadrant

Université 8 Mai 1945 Guelma

Juin 2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

" وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ
وَمِمَّا يَعْرِشُونَ (68) ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ
ذُلًّا ۖ يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ ۚ إِنَّ
فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (69) "

الآيتان 68-69 من سورة النحل



*Si l'abeille disparaissait de la surface du globe,
l'homme n'aurait plus que quatre années à vivre,
plus de pollinisation, plus d'herbes, plus
d'animaux, plus d'HOMMES*

Albert Einstein





Remerciements

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ والصلاة والسلام على سيد الخلق وإمام المرسلين وعلي آل بيته وصحبه الكرام ومن أتبع نهجه إلى يوم الدين

*Nous remercions tout d'abord le **DIEU** tout puissant pour nous avoir donné force et courage d'avancer le long de notre cursus.*

Merci à nos parents, pour leurs soutiens et leurs encouragements tout au long de nos années d'étude et de nos vies.

Nous souhaitons également adresser nos remerciements les plus sincères aux membres de notre jury.

*À notre Président de mémoire, la **Pr. LAOUABDIA Selami Nadjette***

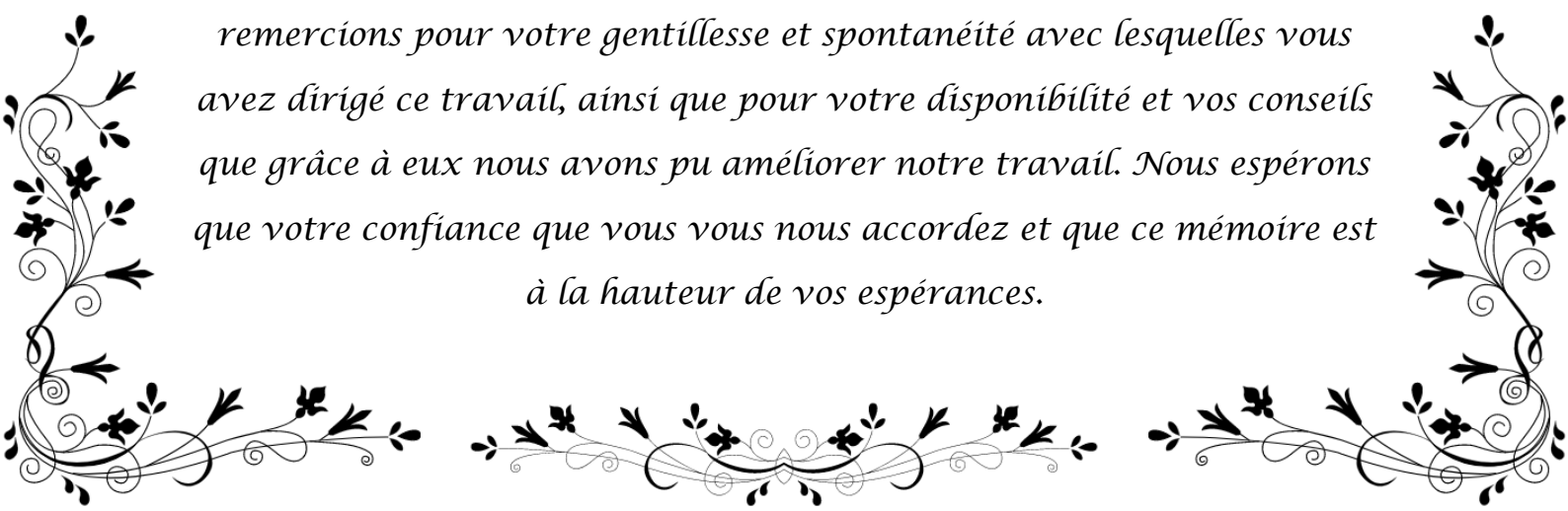
Nous vous adressons nos plus sincères remerciements pour avoir accepté de présider notre jury de mémoire. Votre engagement et votre expertise ont été des piliers essentiels dans le processus d'évaluation de notre travail. Nous tenons également à souligner votre gentillesse.

*Je tiens également à remercier chaleureusement **Dr. ROUABHIA Kamel** pour son rôle essentiel dans le processus d'évaluation. Son expertise et ses conseils ont été d'une valeur inestimable, et j'apprécie profondément le temps et l'attention qu'il a consacrés à examiner notre mémoire.*

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à

***Dr. TOUATI Hassen** pour avoir dirigé ce mémoire.*

Nous avons eu le plaisir de travailler sous votre direction. Nous remercions pour votre gentillesse et spontanéité avec lesquelles vous avez dirigé ce travail, ainsi que pour votre disponibilité et vos conseils que grâce à eux nous avons pu améliorer notre travail. Nous espérons que votre confiance que vous nous accordez et que ce mémoire est à la hauteur de vos espérances.



Nous tenons à adresser nos sincères remerciements au
Pr. HOUHAMD I Moussa
Pour son soutien, ses conseils précieux et sa bienveillance tout au long
de notre parcours universitaire.

Sa disponibilité, son professionnalisme et sa générosité intellectuelle
ont été d'une grande aide pour nous.

Nous lui exprimons toute notre gratitude pour sa contribution à la
réussite de notre formation.

*Nous remercions également **Pr. GUEROU I Y, Pr. BOUSBIA A,***
***Pr. BOUDALIA S** pour votre patience, votre gentillesse, votre*
disponibilité, de vos encouragements, vos précieux conseils dans la
réalisation de ce travail.

Nous tenons aussi à remercier du fond de cœur les techniciennes du
*laboratoire de microbiologie de l'université de Guelma **Amīna** et*
***Hayet** pour leurs précieux conseils, explications pertinentes et leurs*
services.

*J'adresse ma reconnaissance particulière à **SOUDANI Sofia** pour son*
soutien, ses efforts et son aide quotidienne.

Enfin, je tenais à exprimer sincèrement toute ma reconnaissance, à
toutes les autres personnes qui, même sans être citées distinctement
dans ce présent mémoire, ont contribué de près ou de loin, à en
garantir son aboutissement et sa réussite.

Mercie





Dédicaces

(وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

Je dédie ce modeste travail

*À la mémoire de mon père Hocine, que je n'oublierai jamais,
Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et vos encouragements sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain.*

À la plus douce des mamans

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'une grande aide pour mener à bien mes études. Tu as été très patiente, tu as passé de longues nuits et vécu des moments d'angoisse pendant toutes mes années d'études, tu m'as comblée avec ta tendresse et tes sacrifices.

Puisse Dieu t'accorder santé et longue vie.

À mon cher frère Dr. Mohammed Amin mon attachement et ma gratitude envers toi ne peuvent être exprimés ni traduits par ces quelques mots imparfaits.

À ma chère sœur

Ibtissam Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement et l'amour que je te porte. Qui m'ont accompagné durant cette vie pénible, Je vous souhaite, à toi et à ton mari *Ali*, beaucoup de joie et de réussite.

À ma belle-sœur Imen Je tiens sincèrement à te remercier pour ton affection, ton soutien, et pour tes encouragements.

À mes princesses Ilène, Ilef et mon prince Amir

À toute ma famille Boutarfa et Bouchehad loin et près, petit et grand pour leurs appuis et leurs encouragements.

À ma binôme Ines et sa famille

Merci pour cette merveilleuse aventure et cette incroyable expérience je vous souhaite le meilleur et le succès que tu mérites.

À tous mes chères copines Amina, Nousa, Aridj, merci pour leurs amitiés, leurs soutiens inconditionnels et leurs encouragements et surtout votre folie qui m'ont beaucoup aidé que dieu préserve cette amitié.

À tous mes collègues de la promo de Microbiologie appliquée.

À toutes les personnes merveilleuses de ma vie.

À tous ceux qui m'ont aidé afin de réaliser ce travail, et à tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Yousra



2025



Dédicaces

(وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

Je dédie ce travail

À mon père,

*Modèle de sagesse tranquille et de droiture silencieuse,
Tu m'as enseigné, sans jamais forcer, la valeur de l'effort, le
sens du devoir, et la dignité dans le silence.
Ton regard m'a toujours guidé, ta présence m'a rassuré bien
plus que mille mots.*

*Ce travail, fruit de longues heures de persévérance, t'est
dédié avec le respect profond et l'admiration d'un enfant
reconnaisant.*

À la plus tendre des mères,

*À celle dont les prières m'ont protégé, dont le sourire m'a
consolé, et dont la patience a éclairé mes chemins les plus
sombres.*

*À toi, maman, source infinie d'amour, qui as veillé, sacrifié
et soutenu sans jamais faillir, je dédie ce travail avec tout
mon amour et ma reconnaissance.*

Que Dieu te préserve et t'accorde santé et longue vie.

*À ce pont d'amour, de générosité et source de ma force mes
chères frères, Zakaria et Marouan,*

*Merci pour votre présence constante, vos encouragements
sincères et votre soutien silencieux qui ont été pour moi une
force précieuse.*

*À ma chère sœur Asma, et à son époux Anis,
Merci pour votre chaleur, votre confiance et vos mots
simples mais toujours porteurs d'espoir. Votre affection a
souvent été un baume dans mes moments d'incertitude.*

A ma belle-sœur Amina

*À mes trois petits princes : Mouadh, Djawad et Abdellah,
Votre innocence joyeuse, vos rires spontanés et votre amour
sans attente ont été mon oxygène, mon sourire quotidien.*

*Ce mémoire vous est aussi un message : les rêves se
construisent, lentement, mais sûrement.*

A toute ma famille Derghoum

A ma bînôme Yousra et sa famille

*Merci pour ton soutien, ta patience et ton sérieux tout au
long de cette aventure. On l'a fait ensemble et Je suis
reconnaissante pour ce travail en commun.*

*À ces anges que Dieu m'a donnés pour découvrir, à travers
elles, le vrai goût de la belle vie, ces anges qui ont changé ma
perception de l'amour, de l'amitié et du soutien dans la vie
mes amies et mes chères (Amina, Youya, Amira, jiji, R,A,I,N).
A tous mes collègues de la promo de Microbiologie appliquée.*

*À tous ceux qui ont contribué à mon apprentissage depuis
le début de mon parcours jusqu'à la fin.*

*À tous mes proches, mentionnés ou non, et à tous ceux qui
m'ont soutenue pour la réussite de ce travail*

Ines



2025

Résumé

Le pollen est un produit apicole de grande valeur nutritionnelle, économique et thérapeutique, dont la qualité est influencée par des facteurs environnementaux et anthropiques. Cette étude vise à évaluer la qualité physico-chimique et microbiologique de quatre échantillons de pollen collectés dans l'est algérien (Guelma), en distinguant ceux issus de l'environnement universitaire et ceux commercialisés sur le marché.

Les analyses ont porté sur des paramètres clés tels que le pH, la teneur en eau, le taux de Brix, le taux de cendres, ainsi que la charge microbienne (Flore mésophile aérobie totale, coliformes totaux et fécaux, levures et moisissures, staphylocoques, spores d'anaérobies sulfito-réducteurs et Salmonelles). Les familles botaniques dominantes identifiées sont les *Fabaceae*, *Myrtaceae* et *Anacardiaceae*.

Les résultats ont révélé une variabilité importante : humidité comprise entre 5,35 % et 10,45 %, cendres entre 1,00 % et 2,69 %, pH entre 4,26 et 5,6, et taux de Brix entre 4,6 % et 9,2 %. Des différences significatives ont été observées entre les échantillons : les deuxième et troisième échantillons (issus du marché) ont présenté une qualité microbiologique satisfaisante et conforme aux normes, tandis que le quatrième échantillon (issu d'un salon) a affiché une qualité intermédiaire. Le premier échantillon (universitaire) a montré une forte contamination.

L'origine botanique, les conditions de récolte et de conservation, ainsi que les effets du changement climatique (élévation des températures, déséquilibres hydriques) semblent jouer un rôle important dans la stabilité et la qualité du pollen.

Ces variations impactent potentiellement la valeur nutritionnelle du produit et, indirectement, la santé des colonies d'abeilles, leur productivité et la durabilité de l'apiculture locale. Cette recherche vise à structurer la filière apicole, à répondre aux exigences des marchés et à renforcer le rôle de l'université dans le développement territorial et la sécurité alimentaire.

Mots-clés : pollen apicole, qualité microbiologique, facteurs environnementaux, sécurité alimentaire, bonnes pratiques apicoles, Guelma, Algérie.

Abstract

Pollen is a highly nutritious, economic and therapeutic bee product whose quality is influenced by environmental and anthropogenic factors. This study aims to evaluate the physico-chemical and microbiological quality of four pollen samples collected in eastern Algeria (Guelma), distinguishing those from the university environment and those marketed on the market.

The analyses covered key parameters such as pH, water content, Brix, ash content and microbial load (Total aerobic mesophilic flora, total and fecal coliforms, yeasts and molds, staphylococci, spores of sulfite-reducing anaerobes and *Salmonella*). The dominant botanical families identified are *Fabaceae*, *Myrtaceae* and *Anacardiaceae*.

The results showed significant variability: humidity between 5.35% and 10.45%, ash between 1.00% and 2.69%, pH between 4.26 and 5.6, and Brix rate between 4.6% and 9.2%. Significant differences were observed between samples: The second and third samples (from the market) were of satisfactory microbiological quality and compliant with standards, while the fourth sample (from a trade show) was of intermediate quality. The first (academic) sample showed high contamination.

The botanical origin, harvesting and storage conditions, as well as the effects of climate change (higher temperatures, water imbalances) seem to play an important role in pollen stability and quality.

These variations potentially impact the nutritional value of the product and, indirectly, the health of bee colonies, their productivity and the sustainability of local beekeeping. This research aims to structure the beekeeping sector, meet market requirements and strengthen the role of the university in territorial development and food security.

Keywords: bee pollen, microbiological quality, environmental factors, food safety, good beekeeping practices, Guelma, Algeria.

ملخص

حبوب اللقاح هي منتج نحل ذو قيمة غذائية واقتصادية وعلاجية عالية وتتأثر جودته بالعوامل البيئية والبشرية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الجودة الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لأربع عينات من حبوب اللقاح تم جمعها في شرق الجزائر (قالمة)، مع المقارنة بين تلك الموجودة في البيئة الجامعية وتلك التي يتم تسويقها في السوق.

غطت التحليلات المعلومات الرئيسية مثل الرقم الهيدروجيني ومحتوى الماء والبريكس ومحتوى الرماد والحمل الميكروبي (إجمالي النباتات الهوائية المتوسطة، والقولونيات الكلية والبرازية، والخمائر والعفن، والمكورات العنقودية، وجراثيم اللاهوائيات المختزلة للكبريتيت والسالمونيلا). الفصائل النباتية السائدة التي تم تحديدها هي *Fabaceae* و *Myrtaceae* و *Anacardiaceae*.

وأظهرت النتائج تبايناً كبيراً: الرطوبة بين 5.35% و 10.45%، والرماد بين 1.00% و 2.69%، ودرجة الحموضة بين 4.26 و 5.6%، ومعدل البريكس بين 4.6% و 9.2%. ولوحظت فروق ذات دلالة إحصائية بين العينات: كانت العينتان الثانية والثالثة (من السوق) ذات جودة ميكروبيولوجية مرضية ومتوافقة مع المعايير، في حين كانت العينة الرابعة (من معرض تجاري) ذات جودة متوسطة. وأظهرت العينة الأولى (الأكاديمية) نسبة تلوث عالية.

ويبدو أن الأصل النباتي وظروف الحصاد والتخزين، فضلاً عن آثار تغير المناخ (ارتفاع درجات الحرارة، واختلال توازن المياه) تلعب دوراً هاماً في استقرار حبوب اللقاح وجودتها.

ومن المحتمل أن تؤثر هذه الاختلافات على القيمة الغذائية للمنتج، وبشكل غير مباشر على صحة مستعمرات النحل وإنتاجيتها واستدامة تربية النحل المحلية. يهدف هذا البحث إلى هيكلة قطاع تربية النحل وتلبية متطلبات السوق وتعزيز دور الجامعة في التنمية الإقليمية والأمن الغذائي.

الكلمات المفتاحية: حبوب لقاح النحل، الجودة الميكروبيولوجية، العوامل البيئية، سلامة الغذاء، ممارسات تربية النحل الجيدة، قالمة، الجزائر.

Liste des figures

Figure 1. L'abeille <i>Apis mellifera</i>	3
Figure 2. L'anatomie de l'abeille	4
Figure 3. Les castes de la ruche.....	6
Figure 4. Origine du pollen	8
Figure 5. Différentes granules du pollen d'abeille	9
Figure 6. La structure du grain de pollen	10
Figure 7. Pelote de pollen d'abeille.....	11
Figure 8. Le processus de la pollinisation	12
Figure 9. Composition moyenne des pelotes de pollen.....	14
Figure 10. L'abeille récolte le pollen.....	18
Figure 11. La collecte du pollen	19
Figure 12. Une trappe à pollen	19
Figure 13. Trappe d'entrée	20
Figure 14. Différentes sources de contamination de la colonie d'abeilles	28
Figure 15. Echantillon 01	30
Figure 16. Echantillon 02	30
Figure 17. Echantillon 03	30
Figure 18. Echantillon 04	31
Figure 19. La mesure de teneur en eau par un analyseur d'humidité.....	32
Figure 20. La mesure de pH par un pH-mètre.....	33
Figure 21. La mesure de taux de cendre par un Four à moufle réglé à 600	34
Figure 22. La mesure de taux de Brix par une Réfractométrie	35
Figure 23. Protocole classique d'une dilution en série de l'ordre de (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}).....	36
Figure 24. Recherche et dénombrement de la flore totale.....	38
Figure 25. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	40
Figure 26. Recherche et dénombrement des staphylocoques.....	41
Figure 27. Recherche et dénombrement des salmonelles.....	42
Figure 28. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.	43
Figure 29. Recherche et dénombrement des spores d'anaérobies sulfite-réductrices (ASR) ..	45
Figure 30. Les étapes de la technique de coloration de Gram.....	47
Figure 31. Les étapes de la technique de coloration au Bleu de Méthylène	48

Figure 32. Les étapes de test catalase.....	49
Figure 33. Les étapes de test d'oxydase.....	50
Figure 34. Profil biochimique des staphylocoques avant inoculation.....	51
Figure 35. Teneur en eau (%) des quatre échantillons du pollen.....	53
Figure 36. Les valeurs moyennes du pH de quatre échantillons du pollen.	55
Figure 37. Taux de Cendre (%) de quatre échantillons du pollen.	56
Figure 38. Taux de Brix (%) des quatre échantillons du pollen.	57
Figure 39. Variation de la flore totale des quatre échantillons du pollen.	59
Figure 40. Variation des coliformes totaux des quatre échantillons du pollen.	60
Figure 41. Observation microscopique après coloration de Gram des Staphylocoques (x100)	62
Figure 42. Test catalase et oxydase positif.....	62
Figure 43. Profil biochimique des staphylocoques après incubation et addition des réactifs..	63
Figure 44. Variation des Staphylocoques des quatre échantillons du pollen.....	63
Figure 45. Observation microscopique des levures à l'état frais l'objectif x40.....	65
Figure 46. Observation microscopique des levures à Coloration au bleu de méthylène l'objectif x100	65
Figure 47. Observation microscopique des moisissures à l'état frais à l'objectif x40.....	65
Figure 48. Observation microscopique des moisissures à Coloration au bleu de méthylène l'objectif x100	66
Figure 49. Variation de levures et moisissures des quatre échantillons du pollen.	66
Figure 50. Variation des spores d'anaérobies sulfito-réductrices (ASR) des quatre échantillons du pollen.	68

Liste des tableaux

Tableau 1. Critiques de qualité du pollen récolté par l'abeille.....	25
Tableau 2. Contaminants microbiologiques du pollen récolté par l'abeille.....	26
Tableau 3. Présentation des sites et période de prélèvement.....	29
Tableau 4. Synthèse des paramètres microbiologiques et des milieux de culture employés. ..	37

Liste des abréviations

°Bx : Degrés Brix

AFNOR : Association Françaises de Normalisation

AOAC : Association de la Collaboration Officielle des Chimistes Analytiques Internationaux

API : Analytical Profile Index

ASR : Anaérobie sulfito-réducteur

BPH : Bonne pratique d'hygiène

BPL : Bonne pratique de laboratoire

CF : Coliformes fécaux

Cn : cendre

CT : Coliformes totaux

E. coli : *Escherichia coli*

E01 : Echantillon 01

E02 : Echantillon 02

E03 : Echantillon 03

E04 : Echantillon 04

FAO : Food Agricultural Organisation

FeS : Sulfure de Fer

FMAT : Flore mésophile aérobie totale

IHC : International honey commission

Na₂SO₃ : Sulfite de Sodium

NIT : Nitrate (réduction des nitrates) C'est un test biochimique qui détecte la capacité de la bactérie à réduire les nitrates (NO₃⁻) en nitrites (NO₂⁻) ou d'autres composés azotés comme l'azote gazeux.

OGA : Oxytétracycline glucose Agar

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCA : Plate Count Agar

pH : Potentiel d'hydrogène

SFB : Bouillon au Sélénite

SM : Solution mère

SNV : Science de la Terre de de L'univers

Staph : Staphylocoques

UFC : Unité formant colonie

VF : Viande foie

VP : le test de Voges-Proskauer pour la détection de l'acétoïne (acétylméthylcarbinol) produite par fermentation du glucose par des bactéries utilisant la voie du butylène glycol

VRBL : Violet Red Bile Lactose Agar

ZYM : Zymogramme (ou Zymogram Test) Dans le test API Staph, ZYM désigne une épreuve enzymatique qui détecte l'activité de certaines enzymes hydrolytiques produites par les staphylocoques

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
Première partie :_Étude bibliographique.....	1
Chapitre 1 :_Généralité sur l’abeille_et les grains du pollen	2
1. L’abeille : Biologie et diversité	3
1.1. Définition de l’abeille.....	3
1.2. Anatomie de l’abeille	3
1.3. Habitants de la ruche	5
1.4. Le rôle d’abeille	6
1.5. Les produits de la ruche	6
2. Le pollen et son importance	8
2.1. Définition et origine	8
2.2. Présentation du pollen	9
2.3. Structure du pollen	9
2.4. Les types du pollen.....	10
2.5. Pelotes du pollen	11
2.6. La pollinisation.....	12
2.7. L’importance du pollen pour les abeilles	13
2.8. Composition chimique du grain de pollen	13
2.9. Valeur nutritionnelle et thérapeutique du pollen d’abeille	15

2.9.1. Valeur nutritionnelle	15
2.9.2. Propriétés thérapeutiques et pharmaceutique	15
2.9.3. Autres utilisations du pollen	17
Chapitre 2 : Production, conservation et qualité du pollen	18
1. Production et récolte du pollen.....	18
1.1. La récolte du pollen par l'abeille.....	18
1.2. La Récolte par l'apiculteur	19
1.3. Trappe à pollen : description et fonctionnement	19
1.4. Facteurs influençant la collecte du pollen	22
2.1. La conservation par déshydratation.....	23
2.2. Conservation par congélation.....	24
3. Qualité et contamination du pollen récolté par les abeilles.....	24
3.1. Critères de la qualité du pollen.....	25
3.2. Contamination du pollen	26
Le pollen peut présenter trois principaux types de dangers (physiques, chimiques,	26
4. Aspects économiques et commercialisation	28
4.1. Marché et commercialisation	28
Deuxième partie : Étude expérimentale	19
Chapitre 3 : Matériel et méthodes	29
1. Prélèvements et choix des stations	29
1.1. Choix des stations.....	29
1.2. Les prélèvements.....	29
2. Analyses physicochimiques.....	31
2.1. La teneur en eau	31
2.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)	32
2.3. Le taux de Cendre	33
2.4. Le taux de Brix.....	34
3. Analyses microbiologiques	35
3.1. Préparation des échantillons.....	35
3.2. Dénombrement et identification des micro-organismes.....	37

1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)	37
2. Coliformes totaux et fécaux	39
3. Staphylocoques.....	40
4. Salmonelles	41
5. Levures et moisissures	42
6. Spores d’Anaérobies Sulfito-réductrices (ASR)	44
4. Identifications microscopiques.....	45
4.1. Tests d’identification complémentaires	48
4.2. Identification biochimique	50
Chapitre 4 : Résultats et discussion.....	53
1. Résultats des analyses physicochimiques	53
1.1. La teneur en eau	53
1.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)	54
1.3. Le taux de Cendre	55
1.4. Le taux de Brix	57
2. Résultats des analyses microbiologiques	58
2.1. Flore Aérobie Mésophiles totale (FMAT)	58
2.2. Coliformes totaux et fécaux	59
2.3. Staphylocoques.....	61
2.4. Salmonelles	64
2.5. Levures et moisissures	64
2.6. Spores d’Anaérobies Sulfito-réductrices (ASR)	67
Conclusion Et perspectives	54
Conclusion.....	70
Annexe	93

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, l'être humain a su exploiter les produits de la ruche en raison de leurs multiples vertus nutritionnelles, thérapeutiques et médicinales. Aujourd'hui, les produits apicoles tels que le miel, la propolis, la gelée royale, la cire et le pollen suscitent un intérêt croissant dans divers domaines d'application : alimentation fonctionnelle, compléments nutritionnels, cosmétologie et médecine alternative, notamment à travers l'apithérapie (**Pasupuleti et al., 2017 ; Silva et al., 2020**). Parmi ces produits, le pollen occupe une place centrale en raison de sa composition nutritionnelle exceptionnelle et de son rôle crucial dans le développement et la santé des colonies d'abeilles.

Le pollen est la cellule reproductrice mâle des plantes à fleurs. Produits par les anthères des étamines, les grains de pollen sont récoltés par les abeilles mellifères (*Apis mellifera*), qui les mélangent à des sécrétions salivaires et à du nectar pour former des pelotes. Celles-ci sont ensuite transportées à la ruche, où elles subissent un processus de fermentation lactique pour devenir du "pain d'abeilles", source alimentaire essentielle pour les jeunes larves et les nourrices (**Campos et al., 2010 ; Zuluaga et al., 2015**).

Riche en protéines, acides aminés essentiels, vitamines, minéraux, fibres et composés antioxydants, le pollen est aujourd'hui reconnu comme un superaliment naturel doté de propriétés biologiques intéressantes, telles que des effets immunomodulateurs, antimicrobiens, anti-inflammatoires et antioxydants (**Komosinska-Vassev et al., 2015 ; Morais et al., 2021**). Cependant, sa composition physicochimique et sa qualité microbiologique varient considérablement en fonction de l'origine botanique, de la localisation géographique, des conditions climatiques, ainsi que des pratiques de récolte et de stockage (**Barros et al., 2020 ; Giraldo et al., 2022**). Ces facteurs peuvent influencer ses propriétés nutritionnelles, sa stabilité et, surtout, sa sécurité sanitaire, d'autant plus que le pollen peut être un vecteur potentiel de contaminants microbiens ou de spores pathogènes (**Carpes et al., 2013 ; Fuenmayor et al., 2014**).

Dans ce contexte, il est fondamental de mieux caractériser les propriétés du pollen afin d'assurer sa valorisation dans les domaines de l'agroalimentaire et de la santé, tout en garantissant sa qualité et son innocuité. C'est dans cette perspective que s'inscrit le présent travail, dont l'objectif principal est de réaliser une analyse comparative de plusieurs échantillons de pollen collectés à partir de sources diverses. L'étude porte notamment sur leurs

Introduction

caractéristiques physicochimiques (pH, humidité, Taux de cendres, indice de Brix, etc.) ainsi que sur leur profil microbiologique, en évaluant la flore mésophile aérobie totale (FMAT) et la présence éventuelle de microorganismes spécifiques ou pathogènes.

Ce mémoire est structuré en quatre chapitres. Les deux premiers présentent les fondements théoriques du sujet, en explorant les aspects biologiques et écologiques de l'abeille et du pollen, ainsi que les principales données sur leur composition et leurs applications.

Le troisième chapitre décrit les protocoles expérimentaux utilisés pour le prélèvement, la préparation et l'analyse des échantillons.

Le quatrième chapitre expose et interprète les résultats obtenus, à la lumière de la littérature scientifique récente.

Enfin, une conclusion générale synthétise les principaux enseignements de l'étude et suggère des perspectives pour des recherches futures ou des applications industrielles

Première partie :

Étude bibliographique

Chapitre 1 :

Généralité sur l'abeille

et les grains du pollen

Chapitre 1 : Généralité sur l'abeille et les grains du pollen**1. L'abeille : Biologie et diversité****1.1. Définition de l'abeille**

L'abeille, qui a fait son apparition sur notre planète il y a approximativement 100 millions d'années, est un insecte classé dans l'ordre des hyménoptères. Elle se trouve actuellement sur toute la planète dans les régions tempérées tropicales. Selon **Djamai (2018)**, une colonie d'abeilles peut contenir jusqu'à 50000 abeilles. Le nom scientifique de l'abeille domestique est *Apis mellifera*. L'abeille domestique est l'insecte qui pollinise le plus. Elle s'alimente de nectar, de pollen et de propolis, transformant une partie de sa collecte en produits dérivés tels que le miel, la cire et la gelée royale. Ils sont conservés dans la ruche (**Paul, 2011**).

- **La race d'abeille en Algérie**

Normalement associée à la race africaine, l'abeille Algérienne est représentée en Algérie par deux sous-races : *Apis mellifera inter missa*, décrite par Buttel-Reepen en 1906 (**Ruttner, 1968**), et *Apis mellifera saharien* (**Haccour, 1960**).



Figure 1. L'abeille *Apis mellifera* (**Mallick, 2013**)

1.2. Anatomie de l'abeille

Le corps d'une abeille se divise en trois sections : la tête, le thorax et l'abdomen. Chacun joue un rôle et poursuit des objectifs précis et rigoureux (**Paul, 2011**).

A) Tête

Il est bien évident que sa forme triangulaire contient deux grands yeux. Des milliers de visages vous offrent une vue panoramique à presque 360° ; Ocelles (trois petits yeux simples

situés au sommet de la tête) ; Grâce à leurs sens, les abeilles sont capables d'identifier les odeurs, de communiquer entre elles et Menant dans l'obscurité de la ruche ; organe oral avec mandibules et trompe ; Rétractable, offrant aux abeilles la possibilité d'absorber du nectar, du miel et de l'eau (Djamai, 2018).

B) Thorax

C'est la portion la plus dure du corps de l'abeille, qui possède trois segments fusionnés et deux paires d'ailes. Cela permet à l'abeille de s'envoler à une hauteur comprise entre 10 et 30 mètres et à une vitesse approximative de 30 kilomètres par heure sur une distance allant de 2 à 3 kilomètres. Le thorax est également doté de trois paires de pattes équipées de petites ventouses et crochets, non seulement pour s'attacher à divers supports, mais aussi pour récolter les grains de pollen et former une pelote perceptible à l'œil nu (Djamai, 2018).

C) L'abdomen

La section la plus délicate, qui comprend sept anneaux souples et abrite le tube digestif, ainsi que les systèmes circulatoire et respiratoire. L'abdomen de l'abeille abrite divers organes en fonction de son rôle, que ce soit ouvrière, reine ou mâle. Il renferme des glandes cirières et la glande Nasanov. Les ouvrières possèdent également un appareil à venin et aiguillon, tandis que la reine et les mâles présentent un appareil sexuel bien développé (Djamai, 2018).

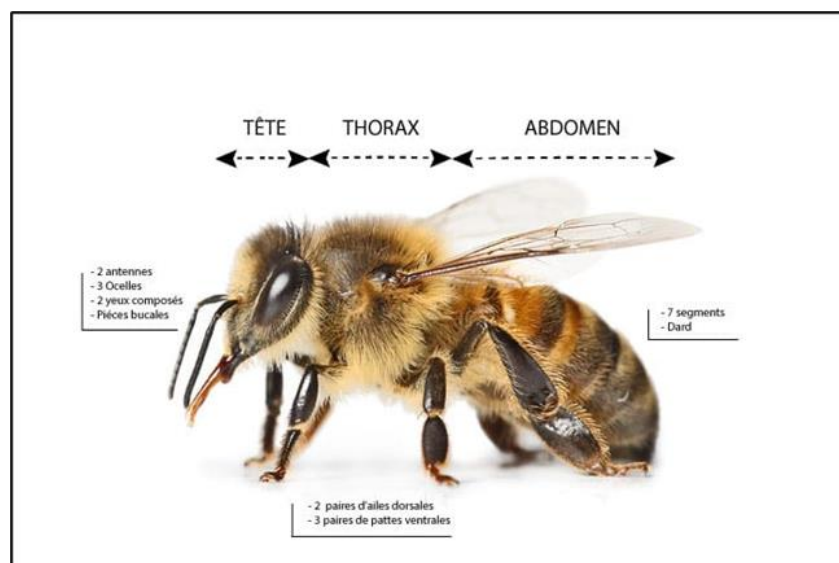


Figure 2. L'anatomie de l'abeille (référence électronique)

1.3. Habitants de la ruche

A) La reine

C'est la seule femelle reproductrice qui occupe une place centrale dans l'existence de la colonie, elle garantit un renouvellement continu de la population et un épanouissement optimal de la ruche. Selon **Ravazzi (2007)**, elle a une longueur de 18 à 22 mm et son thorax a un diamètre approximatif de 4,2 mm. Elle est plus volumineuse et principalement beaucoup plus grande que les autres abeilles (figure 02), ayant une couleur brune profonde (**Bellerose, 1883**). Son poids varie entre 178 et 298 mg (**Winston, 1993 ; Wendling, 2012**). Comparée à l'ouvrière, la reine possède une longévité remarquable, s'étalant de quatre à cinq ans (**Frères et Guillaume., 2011 ; Fluri., 1994**).

B) Les faux bourdons (mâles)

Ils se distinguent par leur corpulence (diamètre du thorax de 5,5 mm) et peuvent avoir une longueur allant jusqu'à 12 à 14 mm (**Biri., 2010**). Ils ont un poids variant de 196 à 225 mg (**Wendling, 2012 ; Winston, 1993**). Le faux bourdon décède peu après avoir copulé avec une reine (1).

C) Les ouvrières

L'abeille la plus petite de la ruche, sont des femelles, une ouvrière, mesure généralement entre 10 et 12 mm de longueur pour un thorax d'un diamètre de 4 mm (**Biri., 2010 ; Ravazzi., 2007**). Elle a un poids variant de 81 à 151 mg (**Wendling, 2012**), et son corps est moins allongé que celui de la reine (**Frères et Guillaume, 2011**). Ces abeilles sont essentielles pour la ruche, en garantissant son fonctionnement complet. Elles s'activent sans relâche pour maintenir la température, protéger et nettoyer la ruche. De plus, elles fournissent de la nourriture aux jeunes larves et à la reine (**Djamai, 2018**). Selon la saison, sa longévité peut varier considérablement. C'est une variation importante selon si c'est l'hiver ou l'été (**Frères et Guillaume, 2011**).

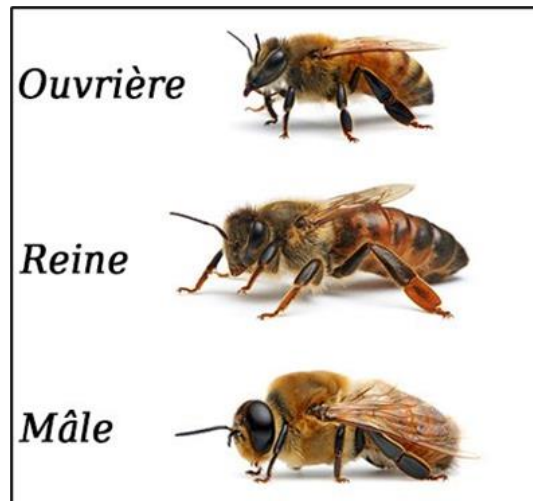


Figure 3. Les castes de la ruche (référence électronique)

1.4. Le rôle d'abeille

Les abeilles, présentes sur Terre depuis 65 millions d'années, ont progressivement pris une place cruciale dans l'équilibre des écosystèmes. Elles constituent un élément vital de la biodiversité **(2)**. Grâce à leur structure naturelle, les abeilles nous fournissent des produits exquis tels que le miel, la gelée royale, la propolis et le pollen. En collaboration avec d'autres insectes non domestiques, elles jouent un rôle primordial dans la pollinisation des fleurs, contribuant de ce fait à la pérennité de nombreuses espèces végétales et animales **(3)**.

1.5. Les produits de la ruche

A) La gelée royale

Issue de la sécrétion des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles ouvrières âgées de 5 à 14 jours, la gelée royale se caractérise par une substance visqueuse, blanchâtre, dégageant une odeur phénolique et acide **(Khenfer et al.,2001 cité in Amirat, 2014)**.

Elle sert de régime à toutes les larves jusqu'au troisième jour et à la reine tout au long de sa vie. Elle contient 12% de protéines, 12% de glucides, 5% de graisses et 65% d'eau, offrant 140 calories pour chaque 100g.

B) La cire

Qui est sécrétée par les glandes cirières de l'abeille ouvrière entre le 13ème et le 18ème jour de sa vie, est une substance grasse qui se transforme en fines couches quasi transparentes **(Khenfer et al., 2001 cités dans Amirat, 2014)**. Les cellules ou alvéoles hexagonales, qui constituent les rayons de la ruche, sont fabriquées à partir de matériaux de construction appropriés.

C) La propolis

C'est une matière collante et visqueuse, dont la teinte peut aller du jaune clair au noir en passant par le vert et le brun. Fabriquée par les abeilles à partir de résines naturelles **(Philippe, 1993)**, elle est utilisée pour créer une défense contre les intrusions indésirables derrière l'entrée de la ruche **(Larousse, 1971)**.

La propolis possède une double provenance :

- ✓ Selon les chercheurs allemands Kustenmacher et Philippe Weck in **(Caillas, 1969)**, la propolis serait le produit résineux issu de la première étape de la digestion du pollen, ce qui représente une origine interne.
- ✓ La seconde source de la propolis est externe, on croyait que les abeilles la collectaient uniquement sur les bourgeons des arbres **(Caillas, 1969)**.

D) Le venin

Deux glandes situées dans l'abdomen sécrètent le venin, qui est stocké dans un réservoir dédié. Quand une abeille pique, elle injecte son venin dans la victime à l'aide de son aiguillon **(Leven et al., 2005 cités dans Amirat, 2014)**.

E) Le nectar

Les nectars représentent les sources les plus « naturelles » car ils sont le produit de la coévolution étroite entre les angiospermes et les insectes pollinisateurs **(BESSAS, 2008)**.

Le nectar doux et odorant produit par les plantes nectarifères, qui attire les insectes, est la clé de la production du miel. Celui-ci est fabriqué à partir des nectaires localisés à la base de la corolle. L'eau constitue entre 40 et 80 % de sa composition. La proportion de sucre (variant de 7% à 60%) influence l'attractivité du nectar **(LESHAF et ALAHOUM, 2018)**.

F) Le miel

Le miel est un produit naturel par définition, extrêmement riche en divers sucramts assimilables. Il est composé d'eau et de sucres, ainsi que de quelques minéraux et enzymes. Sa constitution chimique peut varier considérablement selon la source florale (**PHILIPPE, 1993**).

G) Le pollen

Sont de minuscules particules (entre 20 et 30 microns), émis par les plantes à fleurs, jouent un rôle crucial dans leur processus de reproduction. La diversité des pollens reflète la biodiversité. Les étamines de la fleur, qui sont les organes reproducteurs mâles, produisent les grains de pollen. Ils renferment les gamètes (deux par grain), qui constituent les cellules reproductrices de la fleur. Après avoir été dispersés par le vent ou les insectes jusqu'au pistil de la fleur (organe femelle), les grains de pollen fertilisent l'oosphère de la fleur afin de garantir la production de graines. Le processus de pollinisation se réfère à la fécondation des plantes à fleurs (4).

2. Le pollen et son importance

2.1. Définition et origine

Le mot pollen trouve son origine dans le grec « Palé », qui se traduit par « farine ou poussière » (**Amigou, 2016**). Les grains de pollen proviennent du tissu sporogène des sacs polliniques des végétaux (**Gharbi, 2011**). Il s'agit d'un gamétophyte, donc un générateur de gamètes, qui se trouve à l'intérieur de l'anthère de la plante à l'extrémité des étamines (**Nicolson, 2011**).

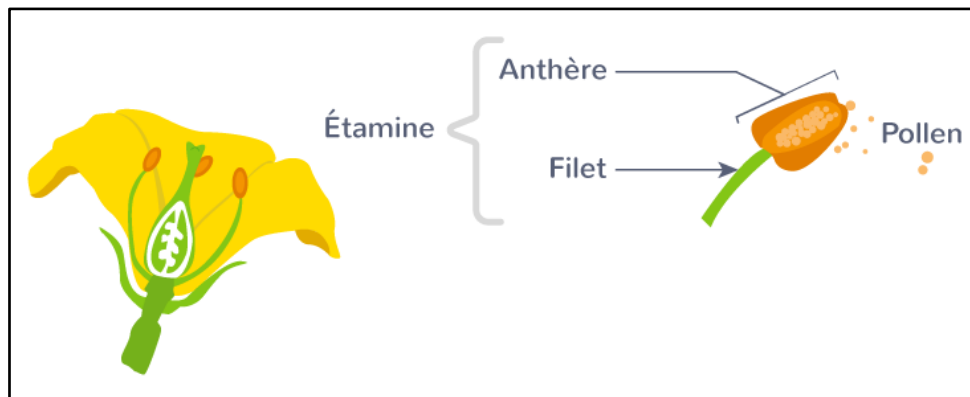


Figure 4. Origine du pollen (référence électronique)

2.2. Présentation du pollen

Il se manifeste sous forme de poudre fine dont la couleur varie en fonction de la plante d'origine, allant du blanchâtre au rose, du jaune au vert et du rouge au brun foncé (**Ravazzi, 2003**). Le pollen, de minuscules particules sphériques ou ovales, a une taille variant de 2,5 à 220 microns. C'est « l'empreinte digitale » de la fleur, chaque plante à fleurs générant une sorte particulière (**Donnadieu, 1983 ; Blanc, 2010**).

Les grains de pollen se composent de deux noyaux et de cytoplasme, le tout enveloppé par une mince couche interne nommée intine et une structure plus solide et/ou plus épaisse appelée exine (**Nicolson et al., 2011**). Il s'agit de minuscules particules que l'abeille collecte en se frottant contre les fleurs, leur forme varie selon les espèces végétales (**Cherbuliez, 2001**). D'ailleurs, la même fleur est explorée à plusieurs reprises (**Roulston, 2000**). Chaque minuscule graine est une unité biologique idéale et intégrale contenant tout ce qui est indispensable à l'existence : protéines, vitamines, sucres, les vingt et un des vingt-trois acides aminés identifiés, lipides, glucides, enzymes, coenzymes, hormones de croissance et les sels minéraux (**Ravazzi, 2003**).



Figure 5. Différents granules du pollen d'abeille (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)

2.3. Structure du pollen

Leur diamètre est approximativement d'un millième de millimètre (**Ravazzi, 2007**). En général, ce grain comprend deux ou trois cellules non séparées qui constituent deux noyaux haploïdes, le plus important étant le noyau végétatif tandis que l'autre est le noyau reproductif. Le grain de pollen est également formé d'une enveloppe structurée en deux couches interne et externe (**Macaluso-Galletta, 2004**).

- **L'intine (la couche interne) :** est une fine membrane semi-perméable qui entoure le cytoplasme (**Dajoz, 1993**). L'intine, qui constitue la partie interne de la paroi, semble

renfermer les enzymes indispensables pour le développement du tube pollinique, l'invasion de la cuticule du stigmate et l'expansion ultérieure à travers le stigmate (**Laurian et al., 2004**). Quant à elle, l'intine est beaucoup plus délicate. Elle est à l'origine de la plupart des caractéristiques du pollen, car elle est composée de substances gélifiées grasses et colorées hautement concentrées et vitamines liposolubles antioxydantes. Elle est pectocellulosique et entoure la cellule végétative (**Thibault, 2017**).

- **L'exine (la couche externe) :** joue un rôle protecteur (**Thibault, 2017**), constituée de sporopollénine, une substance extrêmement résistante aux impacts exogènes qui permet au pollen de persister pendant des siècles (**Macaluso-Galletta, 2004**).

Remarque : Elle est constituée de deux strates superposées : l'endexine et l'ectexine. (**PONS, 1970**).

- ✓ **L'endexine :** représente une couche lisse et homogène située en dessous.
- ✓ **L'ectexine :** c'est une couche externe qui présente généralement une structure complexe. et selon **Renault-Miskovsky, 2015**.

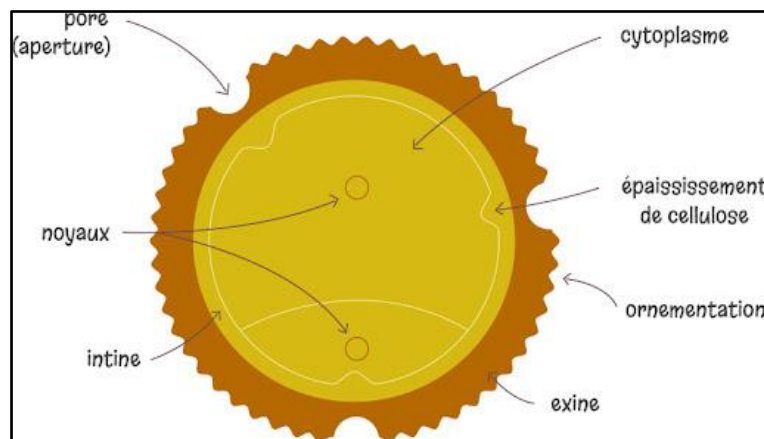


Figure 6. La structure du grain de pollen (**Girard.,2014**)

2.4. Les types du pollen

A) Les pollens anémophiles

Le pollen pollinisé par le vent est produit par des plantes aux fleurs inodores. Se

propage dans l'atmosphère et entre donc facilement en contact avec les muqueuses inhalé par les voies respiratoires, les yeux et le nez. Ces pollens sont abondants et origine des réactions allergiques (**Darrigol, 1979**).

B) Les pollens entomophiles

Ces types de pollen, principalement issus de plantes à fleurs colorées et odorantes, ne se dispersent que faiblement dans l'atmosphère, car ils sont majoritairement véhiculés par les insectes, et en particulier par les abeilles (**Darrigol, 1979**).

2.5. Pelotes du pollen

Une pelote a un poids variant entre 20 et 25mg, renfermant de 3 à 4 millions de grains de pollen (**Roulston, 2000**). D'après **Biri (2002)**, la teinte, l'aspect, l'odeur et la saveur du pollen diffèrent considérablement en fonction des plantes sur lesquelles il est collecté.

Couleur : généralement jaune ; on trouve également des pollens dans une variété de teintes (par exemple : orange, rouge, bleu, violet).

Aspect : gros grains (agrégats de pollen).

Odeur : comparable à celui du foin.

Saveur : douce, acidulé, amer, corsé.

Il est essentiel de surveiller les défauts habituels, tels que les arômes et saveurs inhabituels causés par la fermentation ou des moisissures, par exemple. Moisi, fermenté, rance et les contaminants (**Compos et al., 2008**).



Figure 7. Pelote de pollen d'abeille (référence électronique)

2.6. La pollinisation

A) Définition

Les abeilles jouent un rôle primordial en tant que pollinisatrices pour les cultures à travers le monde, leur activité contribue à une augmentation de 30% de la production agricole. **Selon Paul (2011)**, l'absence d'abeilles dans une région a des conséquences désastreuses pour son agriculture.

La pollinisation représente le déplacement des grains de pollen depuis les anthères vers le stigmate, ce qui en fait un processus physique de déplacement de particules. Il s'agit également d'un processus biologique puisque l'objectif ultime est la fécondation. Pour ce faire, le grain de pollen doit atteindre un stigmate approprié et réceptif, appartenant à la même espèce que lui, et présentant une compatibilité génétique (**Djamai, 2018**).

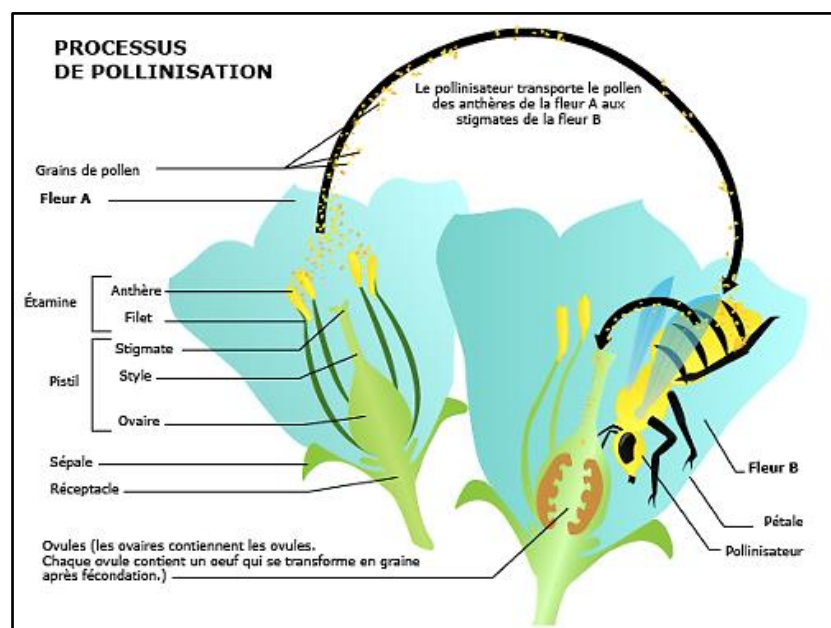


Figure 8. Le processus de la pollinisation (**Djamai, 2018**)

B) Le mode de pollinisation

On distingue trois types de pollinisation : l'anémogamie, la zoogamie et la hiérogamie.

- **Anémogamie** : fait référence au processus de dispersion par le vent, qui peut transporter le pollen d'une plante à une autre. Dans 20% des cas, la fécondation se produit par ce moyen.

- **Hydrogamie** : fait référence au transport du pollen par l'eau. Ce processus est uniquement associé à certaines plantes dont le pollen possède une forme particulièrement allongée.
- **Zoogamie** : il s'agit du transport de pollen effectué par les animaux, c'est le type de pollinisation le plus répandu (**Paul, 2011**).

2.7. L'importance du pollen pour les abeilles

Le pollen, unique source de protéines pour les abeilles, est ingéré sous forme de pain d'abeille par les larves destinées à devenir des ouvrières ou des mâles, ainsi que par les abeilles en maturation. Il est crucial pour la survie de la colonie, car il joue un rôle clé dans le fonctionnement des glandes hypopharyngiennes qui produisent de la gelée royale sans pollen. Par conséquent, l'absence de pollen signifie qu'il n'y a pas de gelée royale, rendant impossible la ponte de la reine et donc l'élevage des larves (**Bruneau, 2006 ; Gharbi, 2006**).

On estime que pour l'élevage du couvain, une colonie nécessite entre 35 et 40 kg de pollen par an, considérant qu'une abeille rapporte entre 20 et 30 mg de pollen à chaque voyage (**Bruneau, 2006 ; Ravazzi, 2003**).

2.8. Composition chimique du grain de pollen

Après sa collecte par les abeilles butineuses, le pollen subit divers ajouts, comme de la salive, du miel ou du nectar pour former des pelotes. Par la suite, nous examinerons la composition de ces pelotes de pollen telles qu'elles sont élaborées par les abeilles. Le pollen comprend un grand nombre de petits grains, chacun étant une unité biologique complète et parfaite (**Ravazzi, 2003**). Cela englobe une variété de nutriments (glucides, lipides, protéines, acides aminés). On le considère comme une source significative de métabolites secondaires, tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes (**Arràez-Romàn et al., 2007**). Il renferme aussi des vitamines, de l'eau, des minéraux et des enzymes. Selon **Donadieu (1983)**, on observe des disparités quantitatives notables selon la provenance botanique.

La composition chimique de pollen varie en fonction de leur origine botanique et géographique indiqué dans la figure 09 (**Campos et al., 2008**).

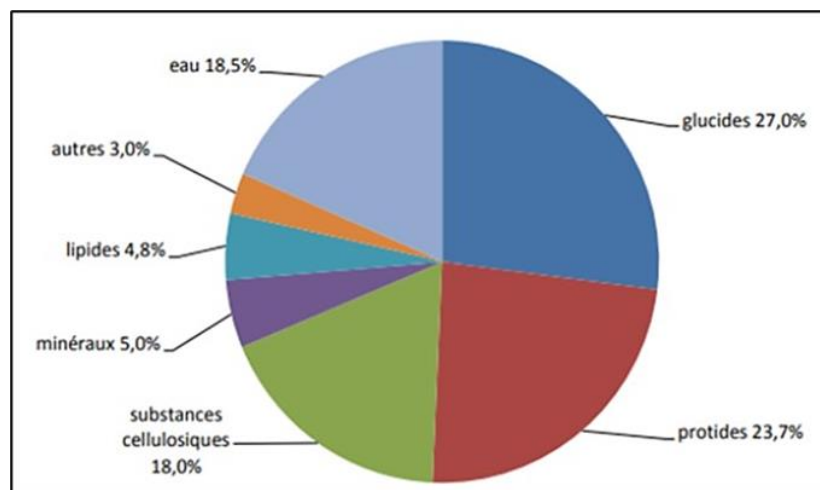


Figure 9. Composition moyenne des pelotes de pollen (Clément et *al.*, 2011)

✚ Eau

La teneur en eau varie en fonction de l'analyse effectuée avant ou après le séchage, en perspective de sa bonne conservation (Donadieu, 1987).

✚ Lipides

Selon Campos et *al.*, (2008), la majorité des pollens collectés par les abeilles renferment du cholestérol ainsi que du 2,4-méthylènecholestérol.

✚ Glucides

Le glucose et le fructose, dérivés du nectar utilisé pour confectionner les pelotes, constituent la majorité des glucides, tandis que d'autres sucres et l'amidon en forment une minorité (Blanc., 2010).

✚ Protéines

On les identifie principalement par des acides aminés, tels que la proline ou les acides aminés essentiels, des enzymes comme l'amylase, certaines phosphatases, des transférases et l'invertase. On note également la présence de cofacteurs enzymatiques tels que le NAD, le glutathion, la biotine et divers nucléosides (Blanc, 2010).

✚ Vitamines

Dans le pollen, c'est le groupe de vitamines B qui prédomine, suivi par la vitamine C, la vitamine E (tocophérol) et la provitamine A (β carotène) (Donadieu, 1987).

Composés phénoliques

Le pollen présente une concentration particulièrement élevée en polyphénols. Il s'agit de polyphénols à chaîne courte, comme les flavonoïdes (**Arràez-Romàn et al., 2007**).

Autres éléments

Calcium, chlore, cuivre, fer, magnésium et manganèse. Il comprend aussi des éléments antibiotiques, bactériostatiques et des hormones de croissance (gibbérélines) **selon Donadieu (1987)**.

2.9. Valeur nutritionnelle et thérapeutique du pollen d'abeille

2.9.1. Valeur nutritionnelle

Le pollen est un aliment riche en protéines, avec une concentration moyenne de 20% de protéines. Il contient plus de protides et d'acides aminés que la majorité des aliments généralement considérés comme riches, tels que la viande, les œufs, le poisson, les fromages, etc.

Une centaine de grammes de pollen renferme l'équivalent en acides aminés d'un demi-kilo de viande bovine. Il n'est pas conseillé de remplacer totalement ces aliments par du pollen, mais plutôt de les intégrer partiellement en ajoutant une ou deux cuillères à café de pollen quotidiennement. En effet, lorsqu'il est issu de plusieurs variétés de plantes, le pollen renferme tous les acides aminés essentiels, c'est-à-dire ceux que l'organisme ne peut pas produire lui-même (**Jean Marie Philipe.2007**).

2.9.2. Propriétés thérapeutiques et pharmaceutique

A) Action sur la voie respiratoire

Le pollen constitue la source la plus abondante en sélénium, sa concentration en antioxydants engendrant un effet anti-inflammatoire sur les tissus pulmonaires, garantissant de ce fait la protection des voies respiratoires. Il est donc conseillé de combattre l'asthme (**Marcucci, 1995**).

B) Propriété anticancéreuse

Selon une étude de 2017 (Baudel), le pollen d'abeille soutiendrait le système immunitaire en stimulant les cellules combattant le cancer et la production d'anticorps et de

globules rouges oxygénateurs. Il pourrait également atténuer les effets secondaires de la chimiothérapie, tels que les nausées, la perte de cheveux et la fatigue, tout en favorisant un meilleur sommeil chez les patients atteints de cancer.

C) Effet sur le diabète

Les personnes atteintes de diabète de type 1 et 2 devraient avoir une alimentation très limitée, mais cette limitation peut causer une carence en nutriments pour ces individus. Le pollen d'abeille est donc l'aliment idéal pour eux, grâce aux nutriments qu'il renferme. De plus, s'ils supportent le fructose, ils supporteront également les glucosides présents dans le pollen. Ce dernier est un meilleur apport nutritionnel puisqu'il contient de nombreux autres éléments qui aident à réguler la glycémie en raison de sa faible teneur en sucres **(Luis, 2018)**.

D) Action sur la peau

Le pollen d'abeille est employé dans des applications topiques pour traiter diverses affections cutanées inflammatoires et irritantes telles que le psoriasis, l'eczéma et l'acné. Ses acides aminés et vitamines offrent une protection à la peau et maintiennent le renouvellement cellulaire. Pour maximiser ses bienfaits et cibler toutes les couches de la peau (épiderme, derme et hypoderme), une approche combinée d'utilisation interne et externe est recommandée **(Thibault, 2017)**.

Il existe d'auteur bénéfice de pollen comme :

- Action digestive et anti-inflammatoire du pollen
- Action sur le système immunitaire
- Action sur la concentration et la mémoire
- Action cardiovasculaire
- Action anti-ostéoporose
- L'effet bénéfique sur les cheveux
- Action protectrice sur les ongles
- Action antibactérienne du pollen
- Effets antianémiques

2.9.3. Autres utilisations du pollen

Le pollen est employé dans les programmes de sélection végétale, pour la pollinisation. Il peut être conservé afin d'alimenter les abeilles lors des périodes de manque et sert également à l'analyse des réactions allergiques comme le rhume.

Par ailleurs, il est utilisé pour surveiller la pollution environnementale grâce à la mesure des métaux lourds (**Bradbear, 2010**)

Chapitre 2 :

Production, conservation et qualité du pollen

Chapitre 2 : Production, conservation et qualité du pollen**1. Production et récolte du pollen****1.1. La récolte du pollen par l'abeille**

La quantité et la qualité du pollen récolté par les abeilles sont fortement influencées par divers facteurs. Les conditions climatiques doivent permettre le vol, et chaque colonie présente un comportement unique en termes de fleurs butinées et de production quotidienne. Ces variations importantes d'une ruche à l'autre dépendent de la période de l'année, de la localisation géographique et de l'état sanitaire de la colonie. La période principale de récolte se situe à la fin de l'hiver et au printemps, avec une moyenne de production estimée entre 2 et 3 kg de pollen par mois et par ruche **(Jean-Prost 2005)**.

La récolte de pollen par les abeilles butineuses a lieu principalement le matin, avant 10h ou 11h. Ces vols de collecte ont une durée de 3 à 15 minutes **(Jean-Prost, 2005)**.

Les abeilles ouvrières, dès l'âge de trois semaines, deviennent butineuses et jouent un rôle crucial en collectant le nectar, le pollen et l'eau nécessaires à la colonie. La récolte de pollen s'intensifie particulièrement à la fin de l'hiver et au printemps.

L'abeille mellifère récupère le pollen des étamines des fleurs pendant qu'elle butine le nectar. Le pollen se fixe à ses poils, et lorsqu'elle en est recouverte, elle le brosse avec ses pattes antérieures. En le triturant avec sa salive, elle en fait des pelotes qu'elle transporte dans les corbeilles de ses pattes postérieures jusqu'à la ruche. Une fois arrivées, ces pelotes sont distribuées aux ouvrières qui les tassent dans les alvéoles en utilisant leur tête. Elles y incorporent un peu de miel et de salive, mélangeant le tout pour créer le pain d'abeille **(Djamai, 2018)**.



Figure 10. L'abeille récolte le pollen **(Blanc ,2010)**

1.2. La Récolte par l'apiculteur

La récolte de pollen par les apiculteurs a lieu au printemps, période où la végétation offre une abondance de fleurs riches en pollen. Cette opération nécessite l'utilisation de trappes à pollen, des équipements en bois, en plastique ou en acier inoxydable, fixés à l'entrée des ruches (Djamai, 2018).



Figure 11. La collecte du pollen (Djamai, 2018)

1.3. Trappe à pollen : description et fonctionnement

A) La trappe à pollen

Une trappe à pollen est un dispositif grillagé installé à l'entrée de la ruche. Les trous, de forme arrondie ou lobée et de petite dimension, contraignent les abeilles à perdre leurs pelotes de pollen en les traversant. Ces pelotes tombent à travers un fond grillagé qui empêche les abeilles de les récupérer. Il est important de noter que les pelotes de pollen de diverses couleurs, collectées dans le tiroir situé sous la ruche, doivent être récupérées le soir même de la récolte. En effet, ce produit fragile et vital pour la colonie est susceptible de s'altérer rapidement et de développer des moisissures (Djamai, 2018).

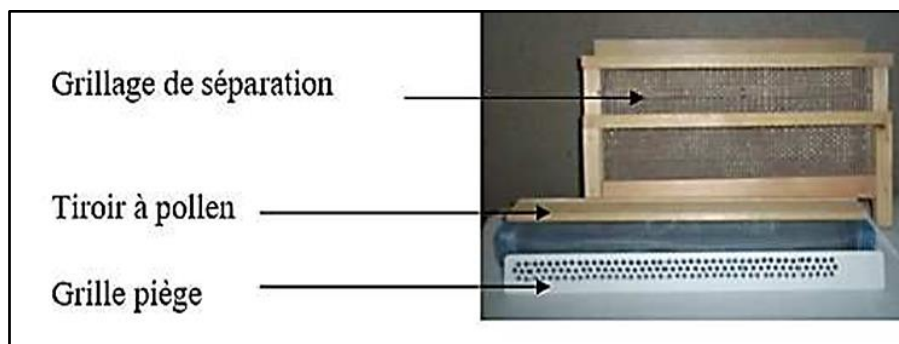


Figure 12. Une trappe à pollen (référence électronique)

B) Les types de trappe à pollen

On trouve plusieurs modèles de trappes à pollen, qui se différencient par l'emplacement de leur grille sur la ruche. On identifie trois catégories principales :

- **Les trappes d'entrée** : qui se situent devant l'ouverture habituelle pour l'envol des abeilles.
- **Les trappes de dessous (ou inférieures)** : qui sont positionnées sous le corps de la ruche, en remplacement de son fond.
- **Les trappes de dessus (ou supérieures)** : qui sont installées à la place du couvre-cadres, que ce soit sur le corps principal ou sur la hausse (**Prost, 2005**).

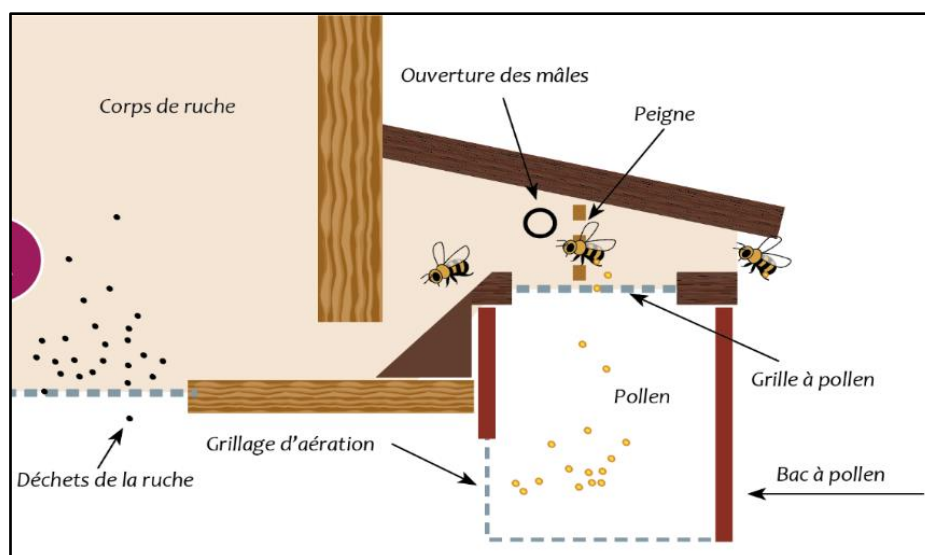


Figure 13. Trappe d'entrée (Etienne, 2011)

C) Description d'une trappe à pollen

Une trappe à pollen, quel que soit son type, est constituée de trois parties fondamentales :

- **Grillage piège vertical** : en plastique perforé, dont les trous de 4,5 à 5 mm de diamètre correspondent à la taille de l'abdomen d'une abeille butineuse, forçant ainsi la perte des pelotes.
- **Un grillage de séparation horizontal** : en acier inoxydable avec des mailles de 3 mm, permettant au pollen de tomber dans le tiroir tout en empêchant le contact entre les abeilles et le pollen récolté.
- **Un tiroir** : situé sous le grillage, fabriqué en bois ou en métal avec un fond plat ou concave, destiné à recueillir les pelotes de pollen détachées des pattes des abeilles (**Prost, 2005**).

D) Le choix des colonies de récolte

Conditions essentielles pour la récolte de pollen

➤ Sélection rigoureuse des colonies

- Seules les colonies parfaitement saines, exemptes de toute maladie, sont éligibles à la récolte de pollen.
- Il est impératif d'éviter les lignées d'abeilles sensibles au couvain plâtré, car cette maladie rend le pollen impropre à la consommation.
- Les colonies doivent être fortes et maintenues dans cet état, si nécessaire, en retirant des cadres de couvain pendant la saison.

➤ Gestion du rucher

- Les colonies équipées de trappes à pollen doivent être regroupées dans des ruchers spécifiques. Cela permet de minimiser la dérive des abeilles vers les colonies non équipées, surtout en début de récolte.
- Toute colonie présentant des signes de maladie doit être immédiatement isolée. Les larves momifiées, en particulier celles atteintes de couvain plâtré, sont extrêmement difficiles à éliminer du pollen.

➤ Hygiène et prévention

- Les peignes à pollen peuvent être vecteurs de bactéries et de virus. Il est donc crucial de les trier régulièrement afin de prévenir la propagation de maladies au sein de la ruche.
- La propreté est un facteur important pour la santé des abeilles (**Bruneau, 2012**).

E) Efficacité des trappes

Pour déterminer ce que retient une trappe en matière de pollen

- Positionnez-vous près de l'ouverture de la ruche, légèrement décalé pour ne pas entraver le travail des abeilles pollinisatrices.
- Retirez le tiroir puis remettez-le en place.
- Estimez le nombre d'abeilles portant des pelotes qui entreront dans la ruche (**Prost, 2005**).

F) Les plantes utiles pour l'apiculture (plantes mellifère)

Il existe un vaste choix de plus de 700 plantes dites mellifères, qui présentent un intérêt majeur pour les abeilles grâce à leur richesse en nectar et en pollen. Pour assurer la santé et la productivité de ses colonies, un apiculteur doit veiller à son environnement végétal. Il est donc crucial de privilégier les plantes rustiques et vivaces, qui s'épanouissent dans le sol et le climat spécifique de sa région (**Djamai, 2018**).

Par ailleurs, l'apiculteur est encouragé à éviter les plantes à fleurs doubles. Ces dernières produisent généralement moins de nectar que les plantes à fleurs simples et peuvent même perturber le travail des abeilles et des autres insectes pollinisateurs (**Paul, 2011**).

➤ Définition des plantes mellifère

Le mot "mellifère" trouve son étymologie dans le latin "*mellis*", dont la signification est miel. Au cours de leur évolution, les plantes mellifères ont développé des systèmes de reproduction très performants, notamment en produisant des substances spécifiques. Ces substances sont ensuite réalisées par les insectes butineurs et constituent la matière première à partir de laquelle ils élaborent le miel (**Louveaux, 1985**).

➤ Types des plantes mellifères

- **Plantes mixtes**
- **Plantes pollinifères**
- **Plantes nectarifères (**Louveaux, 1985**).**

1.4. Facteurs influençant la collecte du pollen**A) La structure de la fleur**

La durée nécessaire à une abeille butineuse pour former une pelote de pollen est étroitement liée à la morphologie de la fleur qu'elle butine, qu'il s'agisse de fleurs ouvertes, tubulaires ou fermées. Les poils qui recouvrent le corps de l'insecte jouent un rôle fondamental dans l'adhérence du pollen, et plus les grains de pollen sont fins, plus leur fixation sur le corps de l'abeille est facilitée. Une seule abeille peut transporter une quantité considérable de pollen, allant de 250 000 à 6 000 000 de grains, cette variation dépendant de l'origine végétale du pollen. Ainsi, la structure de la fleur et la taille des grains de pollen sont des facteurs déterminants dans l'efficacité de la collecte de pollen par les abeilles **Abbas Abdellatif (1994)**.

B) Les conditions climatiques

Abbas Abdellatif (1994) a mis en évidence plusieurs facteurs influençant la récolte de pollen par les abeilles. La température est cruciale, avec un seuil d'inactivité en dessous de 10°C et une reprise entre 12 et 13°C. De plus, la densité de la colonie, l'activité de la reine et la surface du couvain stimulent cette activité. Enfin, la luminosité est identifiée comme le facteur ayant l'impact le plus significatif sur l'ensemble de l'activité des abeilles.

2. Conservation du pollen

La forte humidité du pollen frais produite par les abeilles, comprise entre 20 et 30 % (**Bogdanov, 2004 ; Campos et al., 2008**), favorise la prolifération de micro-organismes comme les bactéries et les levures. Il est donc impératif de le conserver adéquatement pour maintenir sa qualité. La congélation et le séchage sont les techniques de conservation les plus répandues. Pour une protection optimale de la qualité du pollen, **Bogdanov (2004)** suggère une récolte journalière et une mise en congélation immédiate afin d'éliminer les insectes présents.

2.1. La conservation par déshydratation

La conservation du pollen par déshydratation nécessite trois étapes consécutives : le séchage, le triage et le stockage.

A) Le séchage

Le pollen est généralement séché à des températures comprises entre 40 et 42°C jusqu'à atteindre une humidité inférieure à 6% (**Bogdanov, 2004 ; Campos et al., 2008**). Selon **Bogdanov (2004)**, une humidité excédant ce seuil peut favoriser la fermentation du pollen durant le stockage. Par ailleurs, il est essentiel d'écourter au maximum le temps de séchage afin de prévenir la déperdition des composés volatils (**Bogdanov, 2004**).

B) Le triage

Les pelotes de pollen butiné par les abeilles sont souvent contaminées par diverses impuretés telles que (des débris d'insectes, poussière, morceaux de bois, de plantes...). Pour assurer un produit final de haute qualité, ces contaminants doivent être retirés par un flux d'air produit par un purificateur spécifique. Selon **Bogdanov (2004)**, l'air utilisé dans ce processus doit être exempt de bactéries et de poussières.

C) Le stockage

L'emballage du pollen pur est crucial pour le préserver des agressions externes, notamment de l'humidité atmosphérique (**Campos et al., 2008**). Il est recommandé d'utiliser des contenants en verre ou en plastique (**Bogdanov, 2004**), et le pollen doit être conservé dans un endroit frais, sec et sombre. Un pollen dont la teneur en eau se situe entre 4 et 8% peut être stocké pendant deux ans tout en conservant sa qualité (**Campos et al., 2008**).

2.2. Conservation par congélation

Congeler simplement le pollen pourrait suffire à maintenir son activité. L'utilisation d'azote pendant le transport empêche sa fermentation, et le client peut ensuite le recongeler pour le consommer progressivement (**Prost et le Conte, 2005**).

Pour une excellente préservation de la qualité biologique du pollen jusqu'à 6 mois, une congélation suivie d'un stockage sous azote pur à -20°C est efficace. De plus, la lyophilisation combinée à un stockage identique permet de maintenir des activités biologiques élevées (**Campos et al., 2008**).

Ces techniques de traitement maintiennent le pollen dans un état très similaire à son état naturel, conservant ainsi sa valeur nutritive exceptionnelle (**Cherbuliez, 2001**).

Toutefois, la congélation a pour inconvénient de nécessiter un nettoyage manuel du pollen. Cette étape est cruciale pour éviter l'écrasement des pelotes, qui sont particulièrement délicates lorsqu'elles sont fraîches. De plus, le maintien constant d'une température froide durant toute la période de stockage rend cette méthode économiquement coûteux (**Cherbuliez, 2001**).

3. Qualité et contamination du pollen récolté par les abeilles

La qualité du pollen d'abeilles (en pelotes) n'est pas encore normalisée en tant que produit alimentaire dans la plupart des pays, même s'il est utilisé comme additif dans certaines conserves aux États-Unis (**Almeida-Muradian et al., 2005**).

Bien que certains pays (Bulgarie, Brésil, Pologne, Argentine et Suisse) aient normalisé la qualité du pollen récolté par les abeilles (**Almeida-Muradian et al., 2005**), il n'existe aucune norme internationale officielle à l'échelle mondiale (**Bogdanov, 2004**).

Campos et al., (2008) ont formulé une proposition de critères et de méthodes en vue de standardiser l'évaluation de la qualité du pollen récolté par les abeilles, en se basant sur les

résultats d'analyses de sa composition chimique obtenues à travers des expériences internationales et des publications scientifiques récentes.

3.1. Critères de la qualité du pollen

Les critères de qualité sont chimiques, microbiologiques et sensoriels.

➤ Critères chimiques

Les critères chimiques de qualité suggérés par **Bogdanov (2004)** incluent la quantité de protéines, lipides, minéraux, fibres, hydrates de carbone et vitamines (voir **Tableau 01**).

Tableau 1. Critiques de qualité du pollen récolté par l'abeille (**Manuel Suisse des Denrées Alimentaires (MSDA), 2004**).

Composant	Quantité Min - Max
Principaux Eléments Hydrates de carbone	g /100g 13-55
Protéines	10-40
Lipides	1-10
Fibres	0,3-20
Composants mineurs Minéraux	mg /100g 500-3000
Vitamines	20-100
Flavonoïdes	40-3000

➤ Critères microbiologiques et hygiéniques

L'absence de germes pathogènes et fongiques est le critère de qualité hygiénique principal du pollen, nécessitant un contrôle microbiologique (**Bogdanov, 2004**). La charge bactérienne doit respecter les limites légales (**Tableau 02**).

La préparation du produit doit suivre les règles sanitaires GPM de l'industrie alimentaire (**Campos et al., 2008**).

Tableau 2. Contaminants microbiologiques du pollen récolté par l'abeille
Selon (Amrani et Aliouat. 2017).

<i>Salmonella</i>	Absent / 10 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absent / 1 g
Enterobacteriaceae	Max.100/g
<i>Escherichia coli</i>	Absent. / g
Germes aérobies totaux	<100 000/g
Levures et moisissures	< 50 000/g

Du point de vue macroscopique et microscopique, le pollen doit être exempt de toute substance étrangère, avec pour seule tolérance la présence accidentelle de fragments d'abeilles, de bois, de plantes et d'autres matières naturellement liées à la récolte par les abeilles (**Campos et al., 2008**).

➤ Critères sensoriels

La couleur, l'aspect, l'odeur et le goût du pollen sont variables en fonction de sa source botanique, la couleur allant du blanc au noir mais étant majoritairement jaune, orange ou jaune-brun. Le pollen a un goût caractéristique (doux, aigre, amer ou épicé), et tout signe de mauvaise odeur ou goût (fermentation), de moisissures ou d'impuretés visibles est considéré comme un défaut Selon (**Amrani et Aliouat. 2017**).

3.2. Contamination du pollen

Le pollen peut présenter trois principaux types de dangers (physiques, chimiques, biologiques et allergènes) provenant de diverses sources de contamination Selon (**KACER et NAIB, 2023**).

A) Contaminants physiques

Il est possible de trouver des insectes, des filaments de plastique ou des éléments provenant de la ruche.

• Mesures préventives

Il est important de sélectionner du matériel de bonne qualité et facile à nettoyer. De plus, l'utilisation d'une trappe à pollen solide et efficace est recommandée pour une récolte optimale.

B) Contaminants chimiques

L'absence de contaminants chimiques, en particulier de résidus de pesticides, est essentielle dans le pollen. En effet, certains produits phytosanitaires utilisés en apiculture peuvent s'accumuler dans le pollen et présenter un risque toxique pour les consommateurs.

- **Mesures préventives**

Éloigner les ruches des zones polluées ; éviter les produits chimiques et peintures toxiques pour les ruches ; utiliser l'enfumoir avec ménagement pour le bien-être des abeilles ; n'employer que des médicaments apicoles homologués, en respectant les instructions.

C) Contaminants Biologiques

La contamination microbienne du pollen, pouvant provenir des abeilles, du miel, du nectar ou de l'environnement, inclut bactéries, champignons, levures, virus et protozoaires. Des méthodes de collecte, de stockage et de commercialisation inadéquates représentent un risque de développement de bactéries pathogènes.

- **Mesures préventives**

Sélectionner des zones de rucher sèches, abritées et sans pollution ; surveiller la santé des abeilles (essaims, colonies, reines) ; éviter le séjour nocturne du pollen dans les trappes pour prévenir contamination et altération ; nettoyer les trappes après chaque récolte et assurer l'hygiène du personnel et du matériel ; nettoyer et conserver le pollen immédiatement après récolte ; maintenir l'hygiène des matériaux et locaux durant ces étapes pour éviter toute contamination ; choisir un emballage adapté à la conservation ; conditionner en milieu aseptique ; respecter les conditions de stockage (température, aération, humidité) ; respecter la date limite de consommation du pollen.

La présence de certains composants dans le pollen, tels que des glycoprotéines solubles dans l'eau, des acides et des protéases, confère à ce produit un potentiel allergénique pour certains individus qui le consomment.

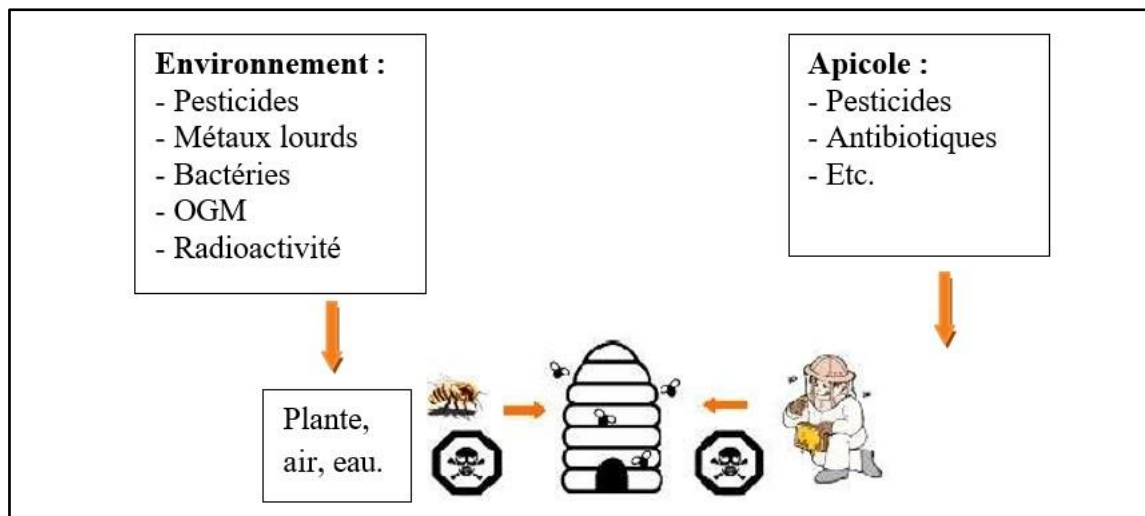


Figure 14. Différentes sources de contamination de la colonie d'abeilles
(Bogdanov.2006)

4. Aspects économiques et commercialisation

4.1. Marché et commercialisation

Les facteurs déterminants pour la commercialisation des produits apicoles sont la qualité, la continuité et la pérennité, la qualité constituant une exigence fondamentale. Un produit de qualité supérieure est susceptible d'assurer la fidélisation de la clientèle, indépendamment des variations tarifaires du marché. L'optimisation de la production est intrinsèquement liée aux conditions de récolte, de transport, de stockage, de transformation et de conditionnement Selon (Amrani et Aliouat. 2017).

Deuxième partie :

Étude expérimentale

Chapitre 3 :

Matériel et méthodes

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

1. Prélèvements et choix des stations

L'objectif principal de ce travail est d'étudier les caractéristiques physicochimiques et Microbiologiques des grains de pollen récoltés par les abeilles ont été réalisés au niveau des laboratoires pédagogiques de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers (SNVSTU) de l'Université du 08 Mai 1945 Guelma durant les mois de juin, juillet 2024 et février 2025.

1.1. Choix des stations

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité microbiologique et physicochimiques des grains de pollen nous avons utilisé 04 échantillons. L'échantillon (01) ont été collectés à la Rucher de l'Université du 08 Mai 1945, Les échantillons (02 ,03) achetés de marché à des stations déferents et L'échantillon (04) achetés d'un Salon national des produits apicoles. Les échantillons ont été collectés et achetés exclusivement à la Wilaya de Guelma à l'Est Algérien (Tableau 03).

Tableau 3. Présentation des sites et période de prélèvement.

Echantillons des grains de pollen	Points de prélèvement	Date de prélèvement	Heure de prélèvement
E01	L'Université	09/06/2024	10h00
E02	Marché	09/06/2024	15h30
E03	Marché	09/06/2024	15h30
E04	Salon national des produits apicoles	04/02/2025	13h07

1.2. Les prélèvements

Notre étude portait sur 4 échantillons de pollen, Les échantillons ont été prélevés durant les mois de juin, juillet 2024 et février 2025.

La collecte des échantillons a été réalisée en respectant les Bonnes Pratiques du Laboratoire (BPL), et les règles d'asepsie (désinfection des mains). Chaque échantillon de pollen pèse 40 à 50g. Ils sont analysés de point de vue physico-chimique (teneur en eau, degré de Brix, pH, taux de cendre) et microbiologiques la recherche des flores et des germes suivants : La flore aérobie mésophile totale (FMAT), les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les staphylocoques, les salmonelles et les levures et les moisissures, Spores d'Anaérobies Sulfito-réductrices (ASR).

Notre étude s'intéresse à une comparaison entre les caractéristiques microbiologiques et physico-chimique du pollen issu de l'université et celui de marché dans le but d'évaluer la qualité microbiologique et physico-chimique du pollen.



Figure 15. Echantillon 01 (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)



Figure 16. Echantillon 02 (Photo prise par DERGHOUM.I.2024)



Figure 17. Echantillon 03 (Photo prise par DERGHOUM.I.2024)



Figure 18. Echantillon 04 (Photo prise par BOUTARFA.Y.2025)

2. Analyses physicochimiques

Les méthodes utilisées pour la caractérisation des pollens étudiés sont les suivantes :

2.1. La teneur en eau

➤ Le Principe

La mesure de teneur en eau permet d'estimer l'humidité du pollen consiste en un étuvage d'un échantillon à 105 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Human et al., 2006**).

❖ Mode opératoire

- Appuyez sur le bouton Tare (→T←) pour remettre le poids à zéro avec plateau d'aluminium vide de l'analyseur d'humidité.
- Ouvrez le couvercle et Ajoutez une quantité de 2,5g du pollen et Placez dans un plateau d'aluminium sur le support de pesée (sans le faire déborder, de manière uniforme).
- Refermez doucement le couvercle.
- Réglage du programme Température de séchage : 105 °C (visible sur l'écran), Durée du test 10 minutes Vous pouvez ajuster ces paramètres avec les flèches et le bouton « Print/Menu».
- Après appuyez sur START pour commencer le test, L'appareil chauffe l'échantillon et suit la perte de masse.
- Le test se termine automatiquement après la durée définie.

❖ Expression des résultats

Déterminer la teneur en eau par un analyseur d'humidité (OHAUS MB35), les valeurs s'affichent directement sur l'écran de l'appareil.



Figure 19. La mesure de teneur en eau par un analyseur d'humidité (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)

2.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)

❖ Le Principe

Détermination du pH est la mesure du potentiel d'hydrogène d'une solution de pollen a été faite selon la méthode NF V 05-108 (1970) décrite par AFNOR (1982).

❖ Mode opératoire

- Avant de commencer l'expérience, nous avons préparé des échantillons et les outils.
- Puis nous avons Pesé dans chaque creuset 2 g d'échantillon de pollen par une balance Analytique.
- Nous avons placé le produit dans un bécher et y ajouté 20ml d'eau distillée à l'aide d'une Pipette graduée.
- Nous avons mélangé bien la solution pendant 5 min jusqu'à l'obtention d'un mélange Homogène.
- La détermination du pH en prenant soins que l'électrode soit complètement immergée dans La solution (Bogdanov, 1999).

❖ Expression des résultats

Le pH est mesuré par un pH-mètre (HANNA Instruments HI 2210) après étalonnage.

Car la valeur de pH s'affiche directement sur l'écran de pH-mètre lorsqu'on plonge l'électrode dans la solution de Pollen.



Figure 20. La mesure de pH par un pH-mètre (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)

2.3. Le taux de Cendre

Le taux de cendre est déterminé selon la méthode AOAC (2000).

❖ Le principe

Le principe de la méthode est basé sur la calcination du pollen à 600°C dans un four à moufle de type NABERTHERM Jusqu'à obtention de cendres blanchâtres de poids constant.

❖ Mode opératoire

- 1g d'échantillon de pollen est placé dans une capsule en porcelaine mise par la suite dans un four réglé à 600±15°C durant 2 heures jusqu'à l'obtention d'une
- Couleur gris clair ou blanchâtre.
- La capsule est ensuite retirée du four
- Et refroidie dans un dessiccateur
- Puis pesée.

❖ Expression des résultats

Le taux de cendre (Cn) est alors déterminé par la formule suivante :

$$Cn\% = [M2 - (M1 - M0)] * 100 / M0$$

Où :

Cn% : le taux de cendre ;

M1 : Masse de la capsule + la prise d'essai (g) ;

M2 : Masse de la capsule + cendres (g) ;

M0 : Masse de la prise d'essai (g).



Figure 21. La mesure de taux de cendre par un Four à moufle réglé à 600 (Photo prise par DERGHOUM.I.2024)

2.4. Le taux de Brix

La méthode de réfractométrie permet d'évaluer le taux de matière sèche.

➤ Le principe

Le Brix exprime le pourcentage des solides solubles contenus dans un échantillon en solution, Le total de tous les solides dissous dans l'eau, incluant les sucres, sels, protéines et les acides (Messaid, 2008). Donc l'objectif de taux de Brix est de Déterminer la teneur en matière sèche (Les sucres totaux).

➤ Mode opératoire

- 2g de pollen dans 20ml d'eau distillée.

- Agitation pendant 20min.
- Après faire la filtration.
- Une goutte de la solution aqueuse du pollen préparée est placée sur la surface du prisme du Refractomètre afin de déterminer le Brix.
- L'appareil Refractomètre utilisée pour la lecture.

➤ Expressions des résultats

Le taux de Brix est mesuré par un refractomètre (Bellingham Stanley™) et les valeurs s'affichent directement sur L'écran quand on met une goutte de la solution de pollen.



Figure 22. La mesure de taux de Brix par une Réfractométrie (Photo prise par DERGHOUM.I.2024)

3. Analyses microbiologiques

3.1. Préparation des échantillons

• Préparation de la suspension mère (SM)

Pour l'analyse microbiologique, une quantité de 25g de pollen est mélangée dans un bécher avec 225ml de diluant à savoir l'eau physiologique stérile. La solution obtenue est appelée solution mère (SM).

Une série de dilutions décimales est réalisée à partir de la solution mère afin de diminuer la charge bactérienne jusqu'à l'obtention des dilutions de l'ordre de (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}).

➤ **Technique des dilutions**

Les dilutions décimales sont réalisées pour les milieux qui sont très riches en microorganismes. Pour faciliter le dénombrement, on utilise un diluant : l'eau physiologique stérile comme suit (BONNEFOY *et al.*, 2002) :

- Les dilutions 10^{-1} ; 10^{-2} et 10^{-3} sont réalisées dans un volume de 9 ml de diluant en tubes à essais.
- 1 ml de la suspension mère est transféré aseptiquement dans le premier tube 10^{-1} , la pipette ne devant pas pénétrer dans le diluant.
- À l'aide d'une deuxième pipette stérile de 1 ml, à partir du tube à la dilution 10^{-1} est prélevé puis transféré 1 ml dans un tube contenant 9 ml de diluant.
- Il est procédé de la même façon pour le dernier tubes, en utilisant à chaque prélèvement une pipette nouvelle.

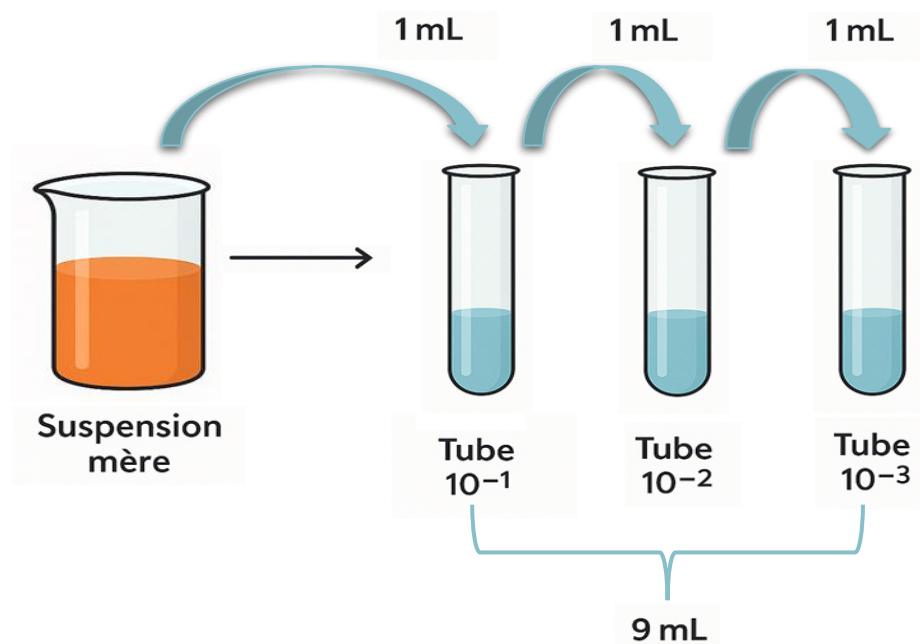


Figure 23. Protocole classique d'une dilution en série de l'ordre de (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3})
(Schéma personnelle).

➤ **Milieux de culture employés et les conditions d'incubation**

Tableau 4. Synthèse des paramètres microbiologiques et des milieux de culture employés.

Paramètres Microbiologiques	Milieu D'ensemencement	Température D'incubation	Temps D'incubation
Flore mésophile aérobie totale (FMAT)	PCA	30°C	72 heures
Coliformes totaux et fécaux	VRBL	30°C pour CT 44°C pour CF	48 heures
Staphylocoques	Chapman	37°C	48 heures
Salmonelles	Hektoen	37°C Enrichissement 37°C Isolement	24 heures 24 heures
Levures et moisissures	OGA	25° C	3 à 5 jours
Spoires d'Anaérobies Sulfito-réductrices (ASR)	Viande Foie	37°C	24 heures

3.2. Dénombrement et identification des micro-organismes

1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

La Flore Aérobie Mésophile Totale (FMAT) est la totalité des bactéries, levures et Moisissures aéro-anaérobies, capables de former des colonies dans ou sur un milieu de Culture.

➤ **Mode opératoire**

- À partir de la solution mère à analyser ou ses dilutions, porter aseptiquement 1 ml (2 boîtes pour la solution mère et pour chaque dilution) dans une Boîte de pétri vides, numérotées.
- Compléter ensuite avec environ 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sur une surface fraîche et horizontale.
- Laisser solidifier les boîtes sur paillasse dans la zone stérile.
- L'incubation se fait à 30°C pendant 72 heures.

Après l'incubation, toutes les colonies sont dénombrées sur les boîtes qui contiennent de 30 à 300 colonies et les résultats par dilution dénombrée sont reportés.

La formule suivante permet le calcul des microorganismes par millilitre (BONNEFOY *et al.*, 2002) :

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,2 n_2) d} \cdot \frac{1}{V}$$

$\sum c$ = nombre total de colonies dénombrées arrondi à 2 chiffres significatifs.

n_1 = nombre de boîtes utilisées à la première dilution retenue.

n_2 = nombre de boîtes utilisées à la deuxième dilution retenue.

d = dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été réalisés (dilution la plus faible).

V = volumeensemencé en ml.

➤ Lecture et interprétation

Les colonies des FMAT apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien Distinctes.

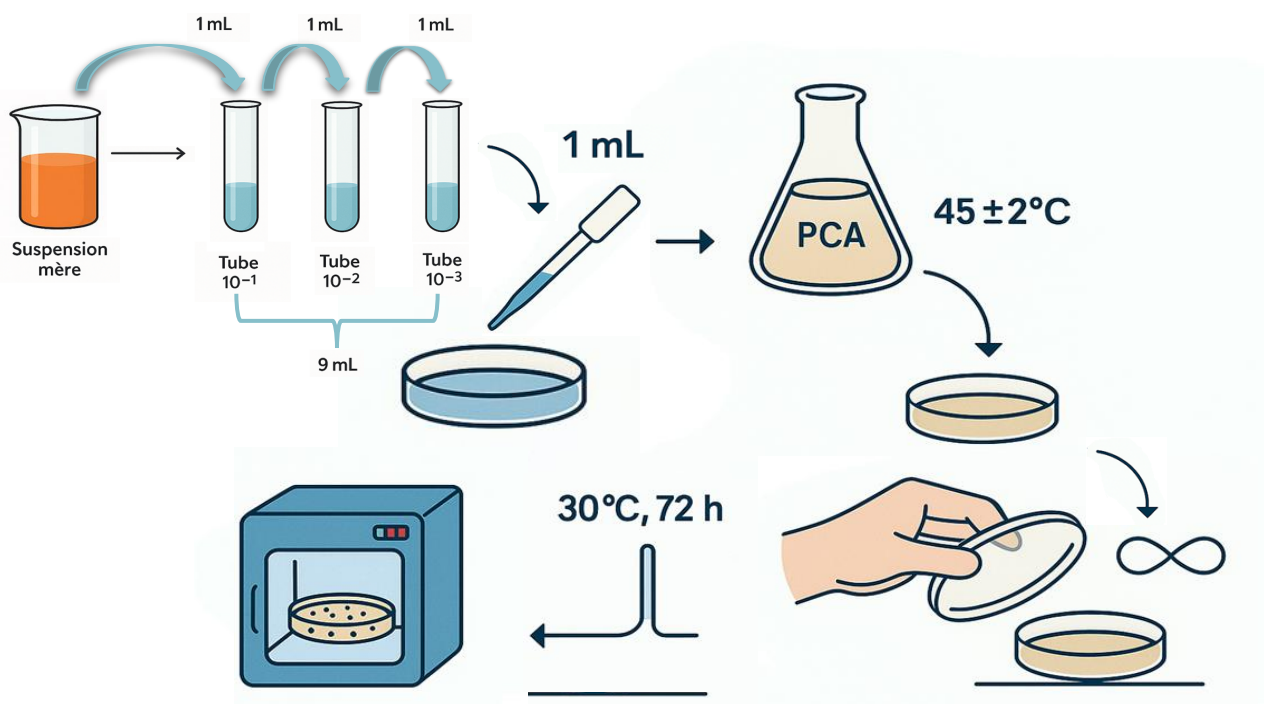


Figure 24. Recherche et dénombrement de la flore totale (Schéma personnelle).

2. Coliformes totaux et fécaux

Les coliformes totaux sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, Non sporules, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels Biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 h à Une température comprise entre 36 et 37 °C. Les coliformes fécaux ont les mêmes caractères Des coliformes totaux, mais ils sont capables de fermenter le lactose avec production de gaz En 24 h à une température de l'ordre de 44 °C. Rappelons également qu'*Escherichia coli* est Un coliforme thermo-tolérant qui produit en plus, de l'indole à 44 °C (Guiraud, 2003).

➤ Mode opératoire

- Préparer les boîtes de pétrie stériles.
- A partir de la solution mère et les dilutions réalisées, porter aseptiquement 1 ml dans deux boîtes de Pétri vides.
- Ajouter la gélose VRBL.
- Homogénéiser avec des mouvements circulaires sous forme 8.
- Après la solidification, recouvrir la surface avec une deuxième couche mince du même milieu et laisser gélifier à température ambiante.
- L'incubation a lieu pendant 48 heures, à 30°C pour les coliformes « totaux » et À 44°C pour les coliformes « fécaux ».

➤ Lecture et interprétation

Les colonies apparaissent en couleur rouge foncé de 0.5 mm de diamètre.

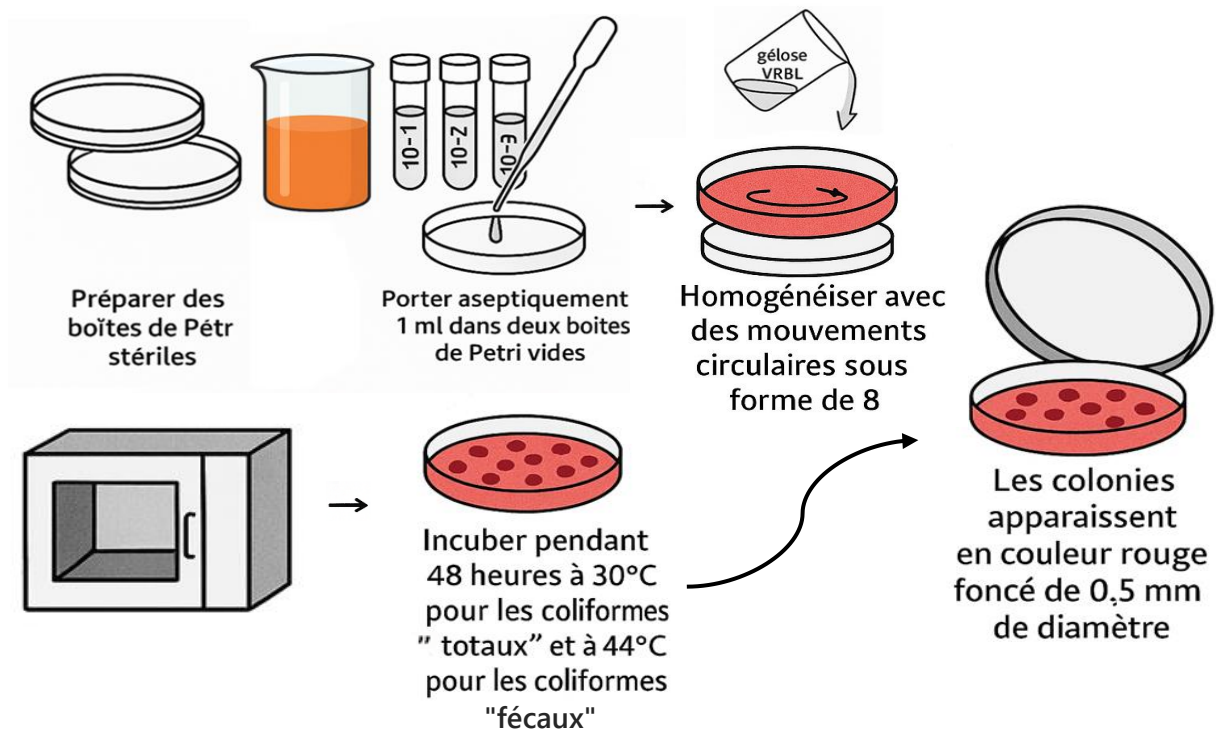


Figure 25. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux (Schéma personnelle).

3. Staphylocoques

Ce sont des cocci à Gram positif, immobiles, résistantes, regroupés en amas, en tétrade ou en diplocoques. Sont aéro-anaérobie facultatifs, fermentent le glucose et le glycérol et possédant la catalase (**Werckenthin et al., 2001**). Les Staphylocoques poussent aisément sur les milieux usuels, donnant sur gélose des colonies rondes, lisses, blanches ou dorées (**Franco et Landgraf, 2005**). Il comporte deux espèces : les staphylocoques à coagulase positive *Staphylococcus aureus* qui possède une capacité de pathogénicité importante, impliqué dans les infections communautaires et nosocomiales et les Staphylocoques à coagulase négative qui provoquent les infections hospitaliers (**Werckenthin et al., 2001**).

➤ Mode opératoire

- On dépose 0,1 ml de la suspension à analyser (suspension mère et les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}) Sur le milieu de culture Chapman préalablement coulé et solidifié.
- On étale de façon uniforme à l'aide d'un étaler stérile jusqu'à ce qu'il ne reste plus de liquide visible à la surface du milieu.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 48h.

➤ Lecture et interprétation

Seules colonies de couleur jaune ou entourées d'une zone jaune sont dénombrées.

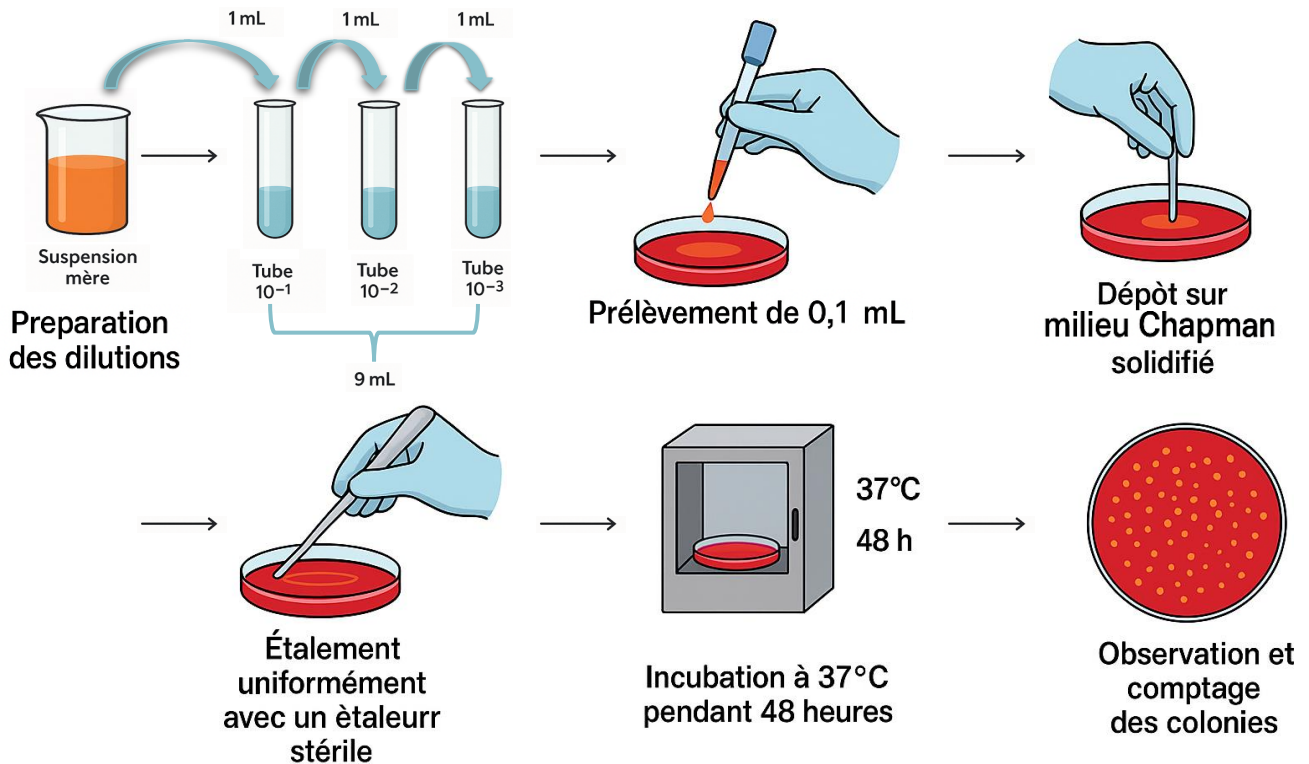


Figure 26. Recherche et dénombrement des staphylocoques (Schéma personnelle).

4. Salmonelles

Les salmonelles se divisent en deux catégories : les salmonelles majeures, qui ne touchent que l'homme et sont à l'origine de graves maladies comme la fièvre typhoïde (*Salmonella typhi*) et la fièvre paratyphoïde (*S. paratyphi*), et les salmonelles mineures, que l'on retrouve partout. Ces dernières provoquent des gastroentérites et sont portées à la fois par les humains et les animaux, étant impliquées dans les infections alimentaires (Baumont et al., 2004).

➤ Mode opératoire

a. Enrichissement

- Effectuer un enrichissement dans des tubes contenant 9 ml du milieu SFB.
- Ajouter 1 ml de la solution mère.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures (Rodier et al., 1996).

b. Isolement

- À partir du bouillon d'enrichissement, effectuer des isollements sur le milieu Hektoen. En dépose 0,1ml de la solution enrichie sur le milieu Hektoen et en faire des stries.
- Incuber à 37°C pendant 24 heure.

➤ Lecture et interprétation

Après 24 heures, les colonies isolées sur les géloses présentant les caractéristiques macroscopiques des salmonelles (colonies incolores à centre noir).

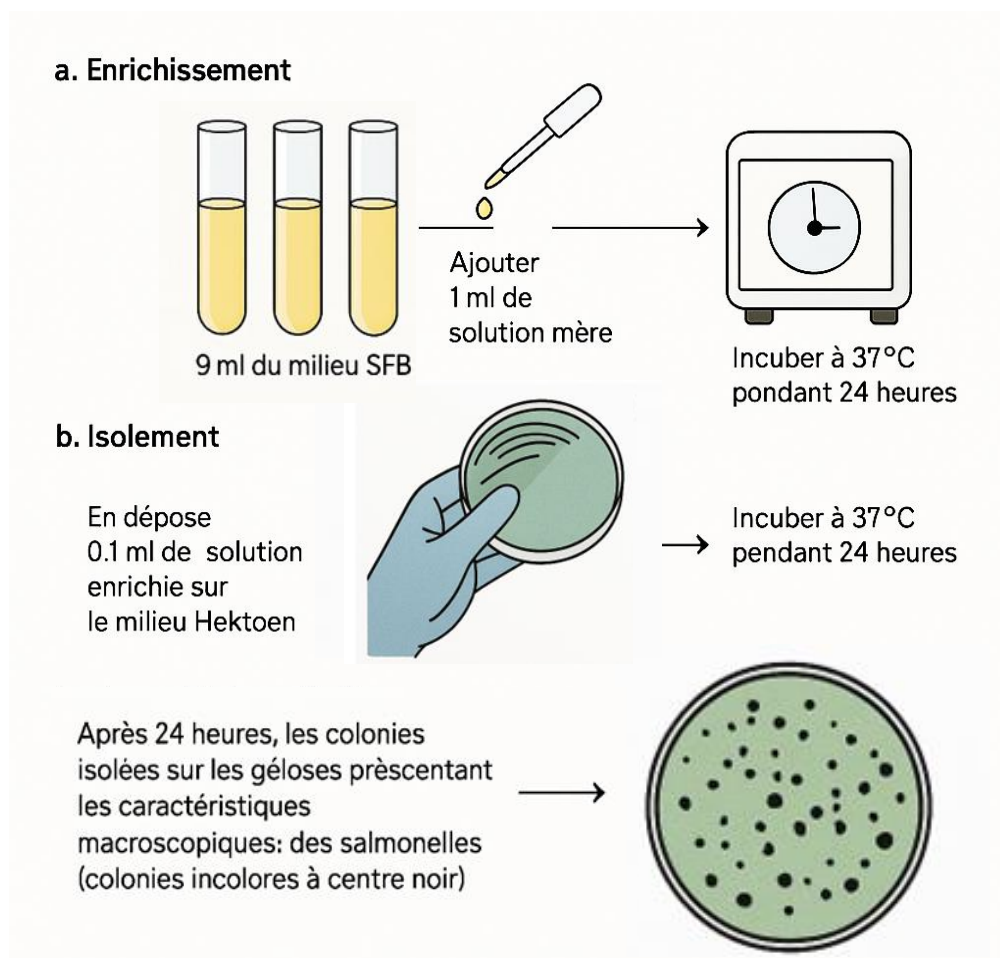


Figure 27. Recherche et dénombrement des salmonelles (Schéma personnelle).

5. Levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont des champignons microscopiques (micromycètes). Ce sont des organismes eucaryotes constitués soit d'éléments unicellulaires, soit de filaments isolés ou agrégés et se reproduisent par l'intermédiaire de spores.

Ces organismes sont hétérotrophes : ils vivent donc aux dépens de matières organiques préformées (Afssa, 2009).

➤ **Mode opératoire**

- On dépose 0,1 ml de la suspension à analyser (suspension mère et les dilutions) sur le milieu de culture OGA préalablement coulé et solidifié.
- On étale de façon uniforme à l'aide d'un râteau stérile jusqu'à ce qu'il ne reste plus de liquide visible à la surface du milieu.
- La solution mère et Chaque dilution est étalée sur deux boîtes de milieu de culture.
- L'incubation se fait à 25° C pendant 3 à 5 jours.

➤ **Lecture et interprétation**

La lecture s'effectue sur les boîtes dans lesquelles le nombre des colonies compris entre 15 et 300, on distingue les levures des moisissures par leur forme et leur couleur.

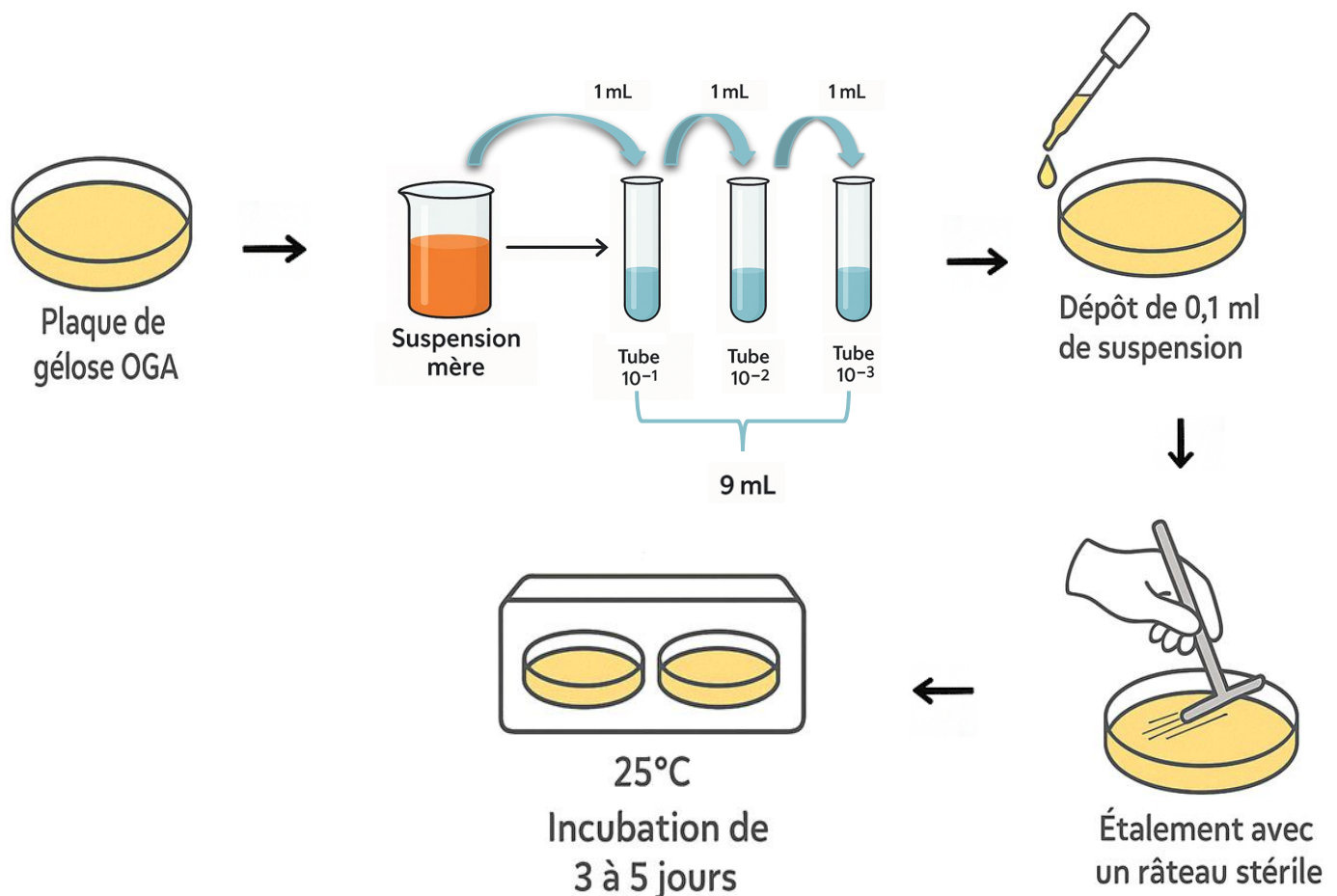


Figure 28. Recherche et dénombrement des levures et moisissures (Schéma personnelle).

6. Spores d'Anaérobies Sulfito-réductrices (ASR)

Les bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) présentent sous forme de gram Positif, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie (VF) en donnant des Colonies typiques réduisant du sulfite de sodium (Na_2SO_3), qui se trouve dans le milieu, en Sulfure qui en présence de Fe^{+2} qui donne FeS (sulfure de fer) de couleur noir. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (**Labres et al., 2006**).

➤ Mode opératoire

- Dans quatre tubes stériles répartir 5ml de la solution mère dont ils subiront un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 10 minutes, dans le but de détruire la flore végétative présentes.
- Une fois le chauffage est terminé, refroidir les tubes sous l'eau du robinet.
- Remplir les tubes avec environ 18 à 20 ml de gélose Viande foie ; fondue et refroidie à 45°C , additionnée de leurs additifs spécifiques (Alune de fer et Sulfite de sodium).
- Bien homogénéiser le milieu avec l'inoculum, tout en évitant d'introduire des bulles D'air et de l'oxygène.
- Laisser les tubes se solidifier sur la paillasse pendant une demi-heure, puis en ajoute une 2eme couche de Viande foie pour crée les conditions d'anaérobiose.
- Incuber à 37°C durant 24 heures.

➤ Lecture et interprétation

Dénombrer toute colonie noire de 0.5 mm de diamètre sur chaque tube.

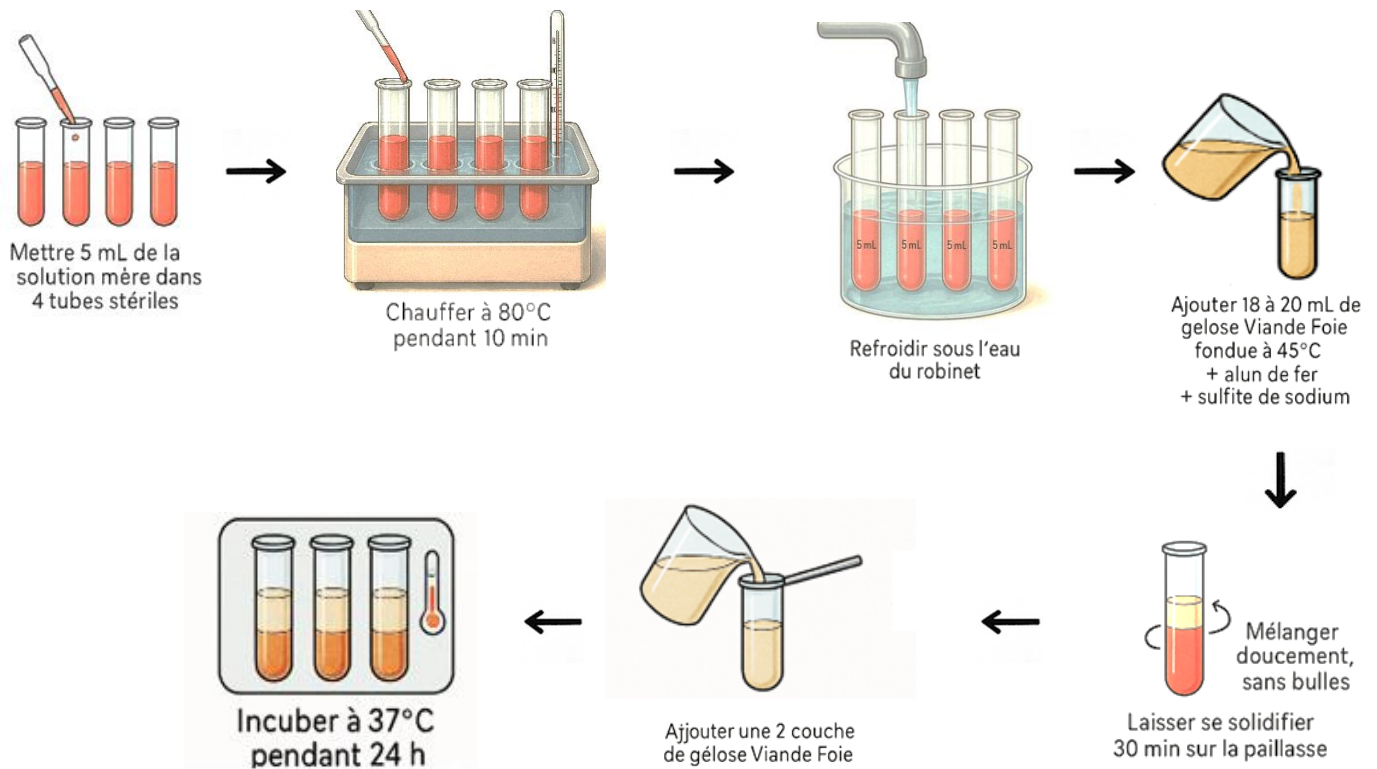


Figure 29. Recherche et dénombrement des spores d'anaérobies sulfito-réductrices (ASR)
(Schéma personnelle).

4. Identifications microscopiques

L'examen microscopique peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais) ou bien après coloration de l'échantillon. L'observation microscopique consiste à observer les cellules bactériennes au microscope optique. Cette observation permet de connaître la forme, la mobilité, vérifier la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées.

A) Examen direct à l'état frais

Les méthodes fondées sur la technique de l'état frais correspondent à l'observation d'un matériel biologique ou d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle sans fixation préalable du matériel par la chaleur. Cet examen concerne une observation au microscope optique à l'objectif 40 de l'état frais des colonies après obtention d'une culture bactérienne issue de n'importe quel prélèvement.

➤ **Technique de l'état frais**

- C'est une méthode rapide qui consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif x40.
- Les renseignements obtenus par cette technique concernent principalement la mobilité des bactéries.

➤ **Lecture**

- Distinguer les cellules d'accompagnement : soit des polynucléaires neutrophiles ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative).
- Constater l'état des cellules (intactes ou altérées).
- Observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.

B) Examen microscopique après coloration

❖ **Coloration différentielle (coloration de Gram)**

L'examen microscopique après une coloration de Gram nécessite au départ une préparation d'un frotti bactérien. Une colonie bien isolée d'une culture en milieu solide est prélevée et mise en suspension dans une goutte d'eau distillée stérile et séchée par passage sur la flamme du bec Bunsen. L'observation se fait à l'objectif (x100). Cette coloration permet de différencier les bactéries selon deux critères :

- ✓ Leur forme (bacille, Cocci...etc.).
- ✓ Leur affinité pour les colorants, en Gram positif et Gram négatif. Elle se déroule en plusieurs.

➤ **Les étapes qui se succèdent et consiste à :**

- Recouvrir le frottis séché de quelques gouttes de **violet de gentiane** pendant 1 min, Rincer à l'eau.
- Recouvrir de **lugol** pendant 1 min, rincer la lame rapidement à l'eau.
- Recouvrir de quelques gouttes d'**alcool** pendant 10 secondes, rincer rapidement à l'eau.
- Recouvrir de quelques gouttes de **fuchsine** pendant 30 secondes, rincer à l'eau.
- Laisser sécher la lame doucement avec un papier.

Observation

- Examiner à l'objectif x100.
- Noter : la morphologie, la taille, le mode de groupement et le Gram des cellules.

➤ Résultats

Après ce traitement, les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet et les bactéries Gram négatif sont colorées en rose (**Boukrouma, 2008**).

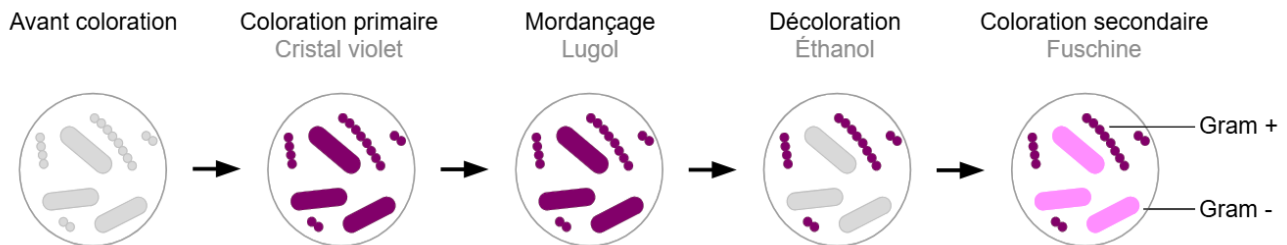


Figure 30. Les étapes de la technique de coloration de Gram (**référence électronique**)

❖ Coloration non différentielle (Coloration au bleu de méthylène)

La coloration au bleu de méthylène est une coloration simple et rapide, économique et d'usage courant où un seul colorant est utilisé pour souligner des structures particulières dans l'échantillon, la forme (la taille et la disposition des bactéries). Les microorganismes d'un échantillon seront de la même couleur, même si l'échantillon contient plus d'un type de microorganisme.

➤ Préparation du frottis

- À l'aide d'une anse de platine, une colonie avec une goutte de l'eau distillée
- Sont ajouté dans une lame.
- Étaler bien le mélange et fixer sur le bec bunsen
- Mettre le bleu de méthylène sur le frottis et attendre 1 à 2 minute.
- Rincer la lame par l'eau distillée et sécher la lame doucement avec un papier.

Observation

- Au microscope par l'objectif x100 avec l'utilisation d'huile d'immersion.



Figure 31. Les étapes de la technique de coloration au Bleu de Méthylène (**référence électronique**)

4.1. Tests d'identification complémentaires

A) Test catalase

La catalase est une enzyme qui permet à la bactérie de dégrader l' H_2O_2 toxique par la Réaction suivante :



Les staphylocoques (catalase positive) et les streptocoques (catalase négative) peuvent être différenciés par ce test. Les germes producteurs de catalase peuvent dissocier le peroxyde D'hydrogène en oxygène et en eau (**Bendimerad, 2010**).

➤ Mode opératoire

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte eau oxygénée à 10 volumes à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile. Prélever une colonie bactérienne.
- Mélanger la colonie avec la goutte de H_2O_2 .
- Observer immédiatement.

➤ Lecture et interprétation

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase (+)
- Pas de bulles : catalase (-) (**Bendimerad, 2010**).

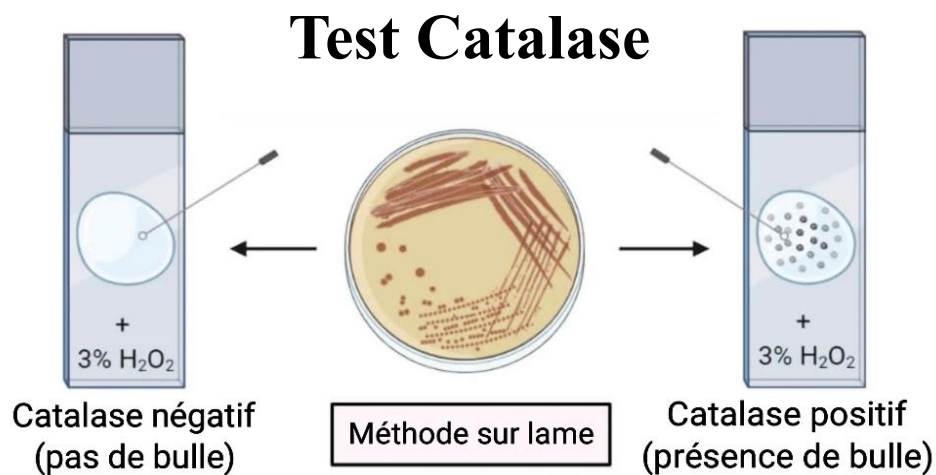


Figure 32. Les étapes de test catalase (référence électronique)

B) Test oxydase

Le test oxydase est un test biochimique rapide utilisé en microbiologie pour déterminer si une bactérie produit une enzyme appelée cytochrome c oxydase. Cette enzyme est un composant de la chaîne de transport d'électrons chez certaines bactéries **MacFaddin, J. F. (2000).**

➤ Mode opératoire

- Placez un disque oxydase sur une lame propre et sèche.
- Humidifiez légèrement le disque avec une goutte d'eau distillée stérile.
- Prélevez une colonie bactérienne fraîche (18-24h) avec une anse en platine ou en plastique.
- Frottez délicatement la colonie sur le disque humidifié.
- Observez l'apparition d'une couleur violette ou bleu foncé dans les 30 secondes.

➤ Lecture et interprétation

- Résultat positif : L'apparition rapide (dans les 10 à 30 secondes) d'une coloration violette ou bleu foncé indique que la bactérie possède la cytochrome c oxydase.
- Résultat négatif : L'absence de changement de couleur signifie que la bactérie ne produit pas cette enzyme.

Test Oxydase

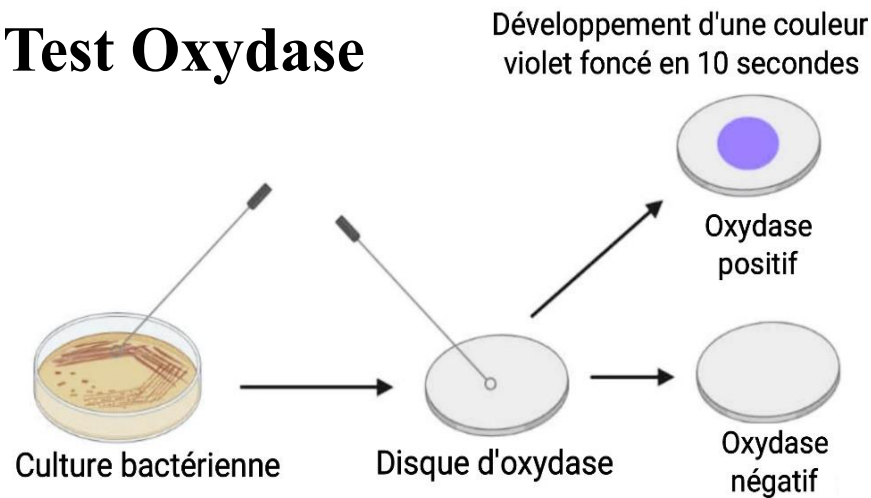


Figure 33. Les étapes de test oxydase (référence électronique)

4.2. Identification biochimique

A) Galerie API Staph

L'API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données (5).

➤ Principe

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

➤ Mode opératoire

- Préparer une suspension bactérienne homogène dans une ampoule de l'API Staph Medium d'opacité égale à 0,5 de Mac Farland, Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile remplir les tubes de la galerie avec API Staph Medium ensemencé.

- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incuber à $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 18-24 heures.

➤ **Lecture de la galerie**

Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant une goutte de chacun des réactifs suivants :

- Test VP : VP 1 et VP 2. Attendre 10 minutes. Une couleur rose franche ou violette indique une réaction positive. Une couleur rose pâle ou rose claire obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.
- Test NIT : NIT 1 et NIT 2. Attendre 10 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive.
- Test PAL : ZYM A et ZYM B. Attendre 10 minutes. Une coloration violette indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API Staph (6).

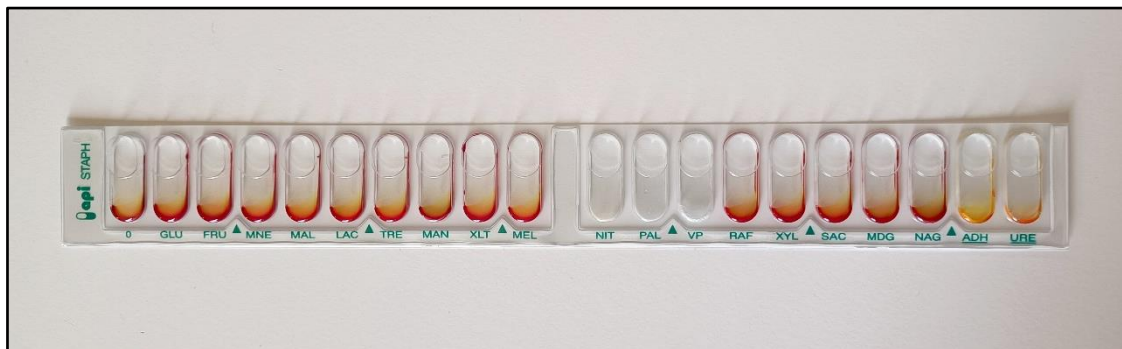


Figure 34. Profil biochimique des staphylocoques avant inoculation (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)

Chapitre 4 :

Résultats et discussion

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physicochimiques

1.1. La teneur en eau

L'analyse des teneurs en eau des quatre échantillons de pollen révèle une variabilité importante, avec des valeurs comprises entre 5,35% et 10,45%. L'échantillon 2 présente la teneur en eau la plus faible (5,35%), tandis que l'échantillon 4 atteint la plus élevée (10,45%), suivi des échantillons 1 (9,31%) et 3 (6,72%).

D'un point de vue technologique, plusieurs sources recommandent que l'humidité du pollen sec destiné à la consommation humaine ne dépasse pas 6% afin de prévenir les risques de fermentation, de rancissement lipidique ou de croissance microbienne durant le stockage (**Campos et al., 2008 ; Bogdanov, 2004**). Cette limite est également évoquée dans certaines normes nationales comme la norme espagnole **UNE 23721 :2013**, qui fixe un seuil maximal de 6% pour le pollen séché.

À ce titre, seul l'échantillon 2 est conforme aux exigences de qualité liées à la teneur en eau. L'échantillon 3, bien qu'ayant une humidité modérée (6,72%), se situe légèrement au-dessus de la norme, ce qui pourrait encore être toléré à court terme, mais nécessite une attention particulière lors du stockage (atmosphère sèche, contenant hermétique).

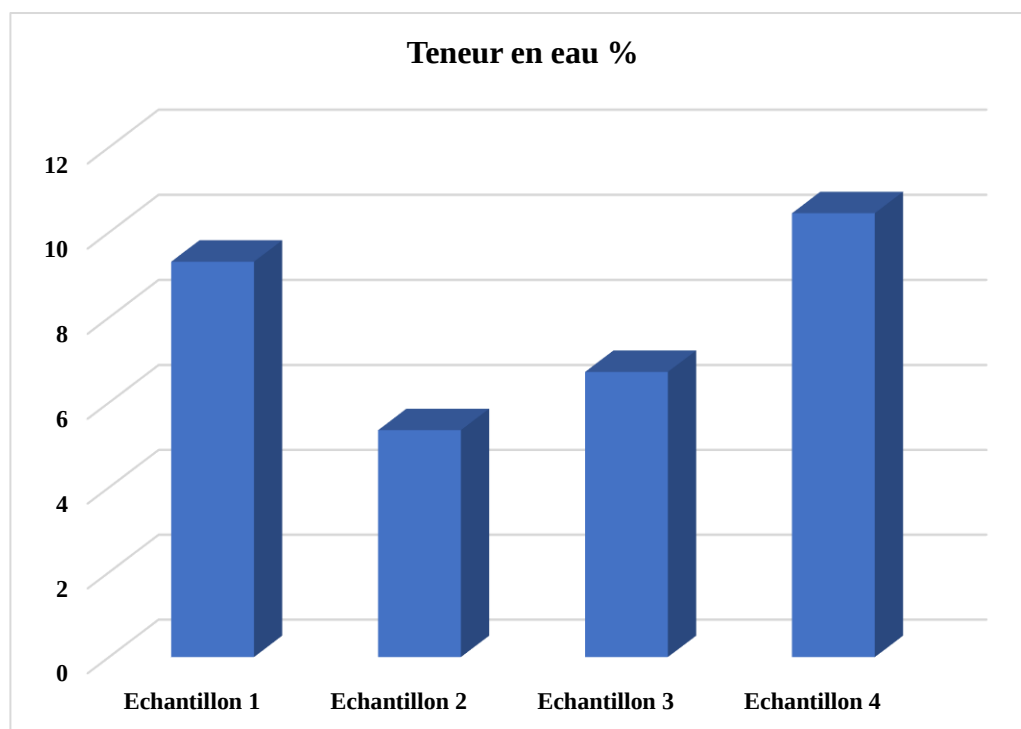


Figure 35. Teneur en eau (%) des quatre échantillons du pollen.

En revanche, les échantillons 1 et 4 présentent des teneurs significativement supérieures aux seuils recommandés (9,31% et 10,45% respectivement). Ces niveaux d'humidité indiquent probablement soit un séchage incomplet, soit une réabsorption d'eau liée à un conditionnement ou à un stockage inadapté, deux facteurs susceptibles d'altérer rapidement la qualité microbiologique et nutritionnelle du produit (**Carpes et al., 2009 ; Szczêsna et al., 2010**).

Pour préserver les qualités fonctionnelles, sensorielles et sanitaires du pollen, il est donc impératif de maîtriser les paramètres de déshydratation (température, durée, flux d'air), en privilégiant des températures inférieures à 42 °C pour éviter la dégradation des composés bioactifs (**Komosinska-Vassev et al., 2015**). De plus, un stockage dans des conditions d'humidité relative contrôlée (< 40%) et dans des emballages hermétiques est fortement recommandé.

1.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)

Le potentiel d'hydrogène (ou pH) est défini comme cologarithme de la concentration en ions H⁺ dans une solution. C'est l'un des facteurs qui va contribuer à renforcer ou à ralentir la dégradation naturelle du pollen car il influence sur sa texture et sa stabilité pendant le stockage **Issaoun et Kacel, (2019)**.

L'analyse du pH des quatre échantillons de pollen révèle une variabilité importante, Nous avons remarqué que les valeurs du pH obtenues de pollen que nous avons analysés de nature acide. Elles varient entre 4,26 et 5,6. L'échantillon 2 présente le pH la plus faible (4,26), tandis que l'échantillon 1 atteint la plus élevée (5,6), suivi des échantillons 3 (4,97) et 4 (4,8).

Les valeurs du pH des échantillons de pollen étudié sont dans l'intervalle des valeurs fixées par la législation brésilienne où les valeurs du pH doivent être inférieures à 6 (de 4 à 6) (**commission brésilien 2000**). Et selon certaines études bibliographiques, les valeurs que nous avons obtenues s'approchent de celles trouvées par (**X.Feás et al., 2012**) qui sont respectivement 4.3 et 5.2

Seul l'échantillon 2 de valeurs enregistrées (4,26) est conformes à la norme fixée par la législation brésilienne pour le pH qui varie de 4 à 6. Les échantillons 3 et 4, bien qu'ayant un pH moyen (4,97) et (4,8), Les valeurs relativement faibles enregistrées dans le pollen peuvent s'expliquer par la fermentation des sucres par les micro-organismes survivants dans le pollen, particulièrement les levures, L'échantillon 1 représente un pH le plus élevé avec une valeur de (5,6), Cette variation entre échantillons peut être due à leurs origines botaniques, les conditions environnementales et les conditions de stockage.

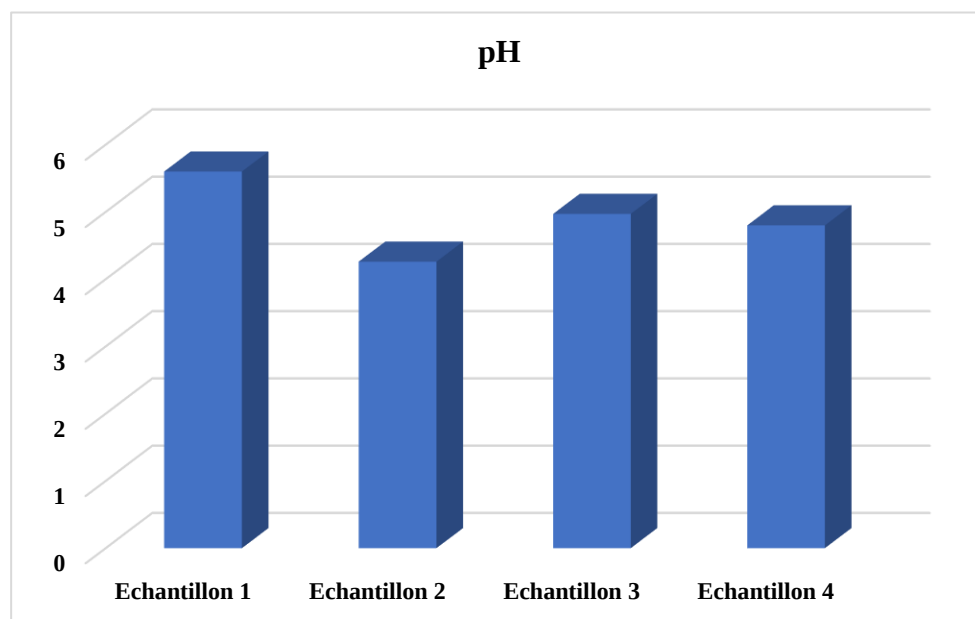


Figure 36. Les valeurs moyennes du pH de quatre échantillons du pollen.

Les valeurs basses du pH pourraient être dues à une fermentation par les levures et moisissures (on peut estimer qu'une partie de ces dernières ont pu survivre après le séchage. La fermentation est favorisée par l'humidité (l'activité de l'eau) ainsi que la température et comme résultat de cette fermentation il y a l'acide lactique qui fait baisser le pH du milieu (**Jeantet et al., 2006**). L'acidification du pollen est une technique de conservation efficace qui permet de réduire de façon considérable sa charge bactérienne (**Cherbulliez, 2001**).

1.3. Le taux de Cendre

L'expression cendres totales désigne la fraction inorganique d'un échantillon alimentaire, obtenue après incinération à haute température, généralement autour de 600 °C. Ce résidu minéral contient des oligo-éléments essentiels tels que le calcium, le phosphore, le sodium, le potassium, le magnésium et le manganèse (**Serra Bonvehí et al., 1986**).

Dans le pollen, le taux de cendres représente un indicateur clé de qualité, reflétant à la fois sa valeur nutritionnelle, sa pureté et la possible présence de contaminants minéraux. Cette teneur est fortement influencée par des facteurs tels que l'origine botanique, les conditions pédoclimatiques, la géolocalisation, la nature du sol ainsi que la capacité d'accumulation minérale des plantes mellifères (**Campos et al., 2008 ; Almeida-Muradian et al., 2005**).

Dans le cadre de cette étude, les taux mesurés de cendres varient entre 1,00 % et 2,69 %. L'échantillon 3 présente la valeur la plus élevée (2,69 %), suivi de l'échantillon 2 (2,4 %), tandis que les échantillons 1 et 4 affichent les plus faibles taux (1,00 % chacun).

Comparativement à d'autres travaux, nos résultats restent inférieurs aux valeurs rapportées par **Human et al., (2006)** (3,6 %) et **Feás et al., (2012)** (2,9 %). Ces différences peuvent s'expliquer par les méthodes de récolte, le niveau de tri ou encore la présence éventuelle de résidus dans les échantillons de ces études.

Les faibles taux de cendres observées dans les échantillons 1 et 4 peuvent être interprétées comme des indicateurs de bonne qualité. Elles suggèrent une récolte hygiénique, exempte de contamination par des particules minérales (sable, poussière, résidus de sol), traduisant ainsi l'application rigoureuse des bonnes pratiques apicoles (BPA), incluant un séchage contrôlé, un tri adéquat et un conditionnement propre.

En revanche, les taux plus élevées observées dans les échantillons 2 et 3 pourraient refléter une contamination exogène, probablement liée à une manipulation post-récolte inadéquate, un manque de tamisage, ou encore une cueillette au sol. Ces observations rejoignent celles de **Serra Bonvehí & Orantes-Bermejo (2012)**, qui soulignent que les taux de cendres est souvent corrélée à la qualité des pratiques de récolte et de transformation.

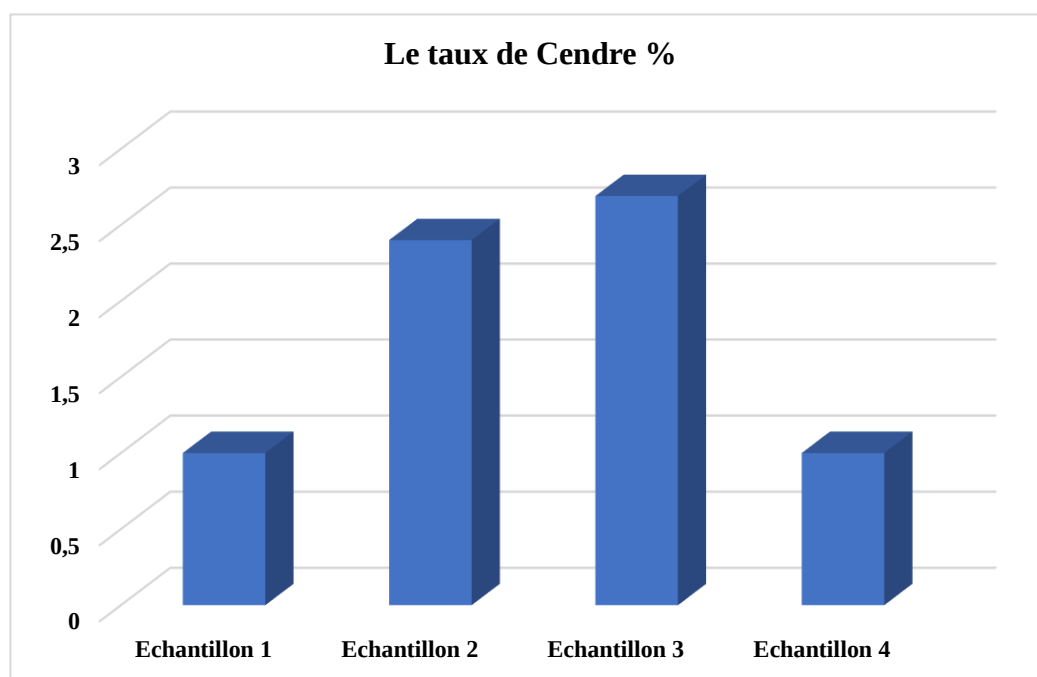


Figure 37. Taux de Cendre (%) de quatre échantillons du pollen.

Il convient de noter que des taux anormalement élevés de cendres peuvent non seulement réduire la valeur nutritionnelle globale du pollen, en diluant ses composants bioactifs tels que les protéines, acides aminés et lipides, mais également affecter ses caractéristiques organoleptiques et sa sécurité sanitaire.

Ainsi, pour garantir un produit apicole de qualité, destiné à la consommation humaine ou à des applications nutritionnelles spécifiques, il est impératif de respecter des procédures strictes de récolte, de séchage, de nettoyage et de stockage.

1.4. Le taux de Brix

Le degré de Brix ($^{\circ}\text{Bx}$) correspond à la teneur en matières solubles totales, exprimée en grammes de solutés (principalement des sucres) pour 100 grammes de solution. Cette mesure, traditionnellement utilisée pour les liquides tels que les jus, le miel ou les sirops, peut également s'appliquer aux extraits aqueux de pollen, permettant ainsi d'estimer indirectement sa richesse en sucres solubles (Barth *et al.*, 2004).

Dans cette étude, les valeurs de Brix des extraits de pollen analysés ont montré une variabilité significative, allant de 4,6 % à 9,2 %. L'échantillon 3 présente la valeur la plus faible (4,6 %), suivi de l'échantillon 4 (4,7 %), tandis que l'échantillon 1 affiche une valeur intermédiaire (6,0 %). L'échantillon 2, quant à lui, se distingue par la teneur en Brix la plus élevée, atteignant (9,2 %). Cette hétérogénéité entre les échantillons pourrait être attribuée à plusieurs facteurs, notamment l'origine florale, les conditions environnementales de récolte, ainsi que les pratiques post-récolte, comme l'ajout éventuel de nectar ou de miel par les abeilles (Amigon *et al.*, 2016 ; Philippe, 1999).

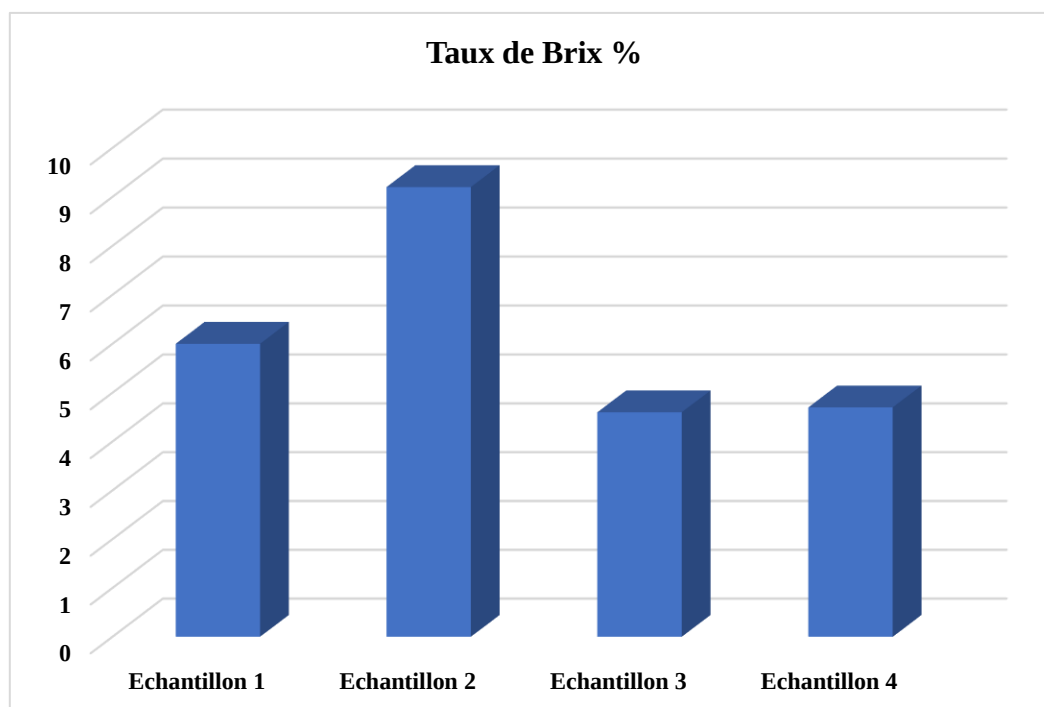


Figure 38. Taux de Brix (%) des quatre échantillons du pollen.

Les valeurs observées dans notre étude sont relativement inférieures à celles rapportées par (Amigon *et al.*, 2016 ; Philippe, 1999), Cette différence peut s'expliquer par la nature du pollen analysé (frais ou séché), sa composition florale, ainsi que par les méthodes d'extraction appliquées. De manière générale, le pollen présente une teneur en sucres bien plus faible que le nectar floral, dont le taux de Brix peut atteindre entre 20 et 70 %, ou que le miel, qui oscille en moyenne autour de 80 % (Bay *et al.*, 2021).

Il est important de rappeler que la composition chimique du pollen est dominée par des macronutriments tels que les protéines, les lipides et les minéraux, et non par les sucres, ce qui explique les faibles valeurs de Brix mesurées. Toutefois, un taux de Brix relativement élevé, comme celui observé dans l'échantillon 2, peut indiquer une origine florale riche en glucides ou une manipulation apicole particulière ayant entraîné une concentration en sucres solubles (Kostić *et al.*, 2015).

2. Résultats des analyses microbiologiques

2.1. Flore Aérobie Mésophile totale (FMAT)

La flore aérobie mésophile totale (FAMT), également appelée flore totale aérobie, constitue un indicateur général de la qualité hygiénique des denrées alimentaires. Elle regroupe les bactéries capables de se développer en présence d'oxygène à des températures modérées, généralement autour de 30 °C. Ce paramètre microbiologique est couramment utilisé comme critère d'acceptabilité, car il reflète les conditions de manipulation, de transformation et de conservation des aliments (Pilet & Gontard, 2000 ; FAO, 2004).

Dans les échantillons de pollen analysés, l'examen de la FAMT a révélé une variabilité notable entre les échantillons. L'échantillon 2 s'est distingué par une absence totale de contamination (0 UFC/g), témoignant d'un traitement optimal, notamment un séchage efficace, une bonne maîtrise de l'humidité résiduelle et une conservation adéquate. Cette qualité microbiologique traduit généralement une application rigoureuse des bonnes pratiques d'hygiène (BPH) au cours de la chaîne de production (ICMSF, 2005).

À l'opposé, les échantillons 1 et 4 ont présenté des charges élevées, respectivement de 16 700 UFC/g et 22 900 UFC/g. Bien que ces niveaux demeurent inférieurs au seuil de 10^5 UFC/g proposé par certains référentiels pour le pollen sec (Coronel *et al.*, 2004), ils indiquent néanmoins une contamination notable. Ces valeurs peuvent s'expliquer par un séchage incomplet, une exposition à des environnements humides, ou des pratiques de manipulation non

conformes aux standards d'hygiène, favorisant ainsi le développement de flores aérobies saprophytes (Bourgeois & Mescle, 1995 ; Belhadj *et al.*, 2012).

L'échantillon 3, avec 1 800 UFC/g, présente une charge modérée, compatible avec une qualité acceptable. Toutefois, cette valeur mérite d'être surveillée, car une élévation du taux de FAMT pourrait indiquer une dégradation progressive du produit en raison d'un stockage prolongé ou inadéquat (Pitt & Hocking, 2009).

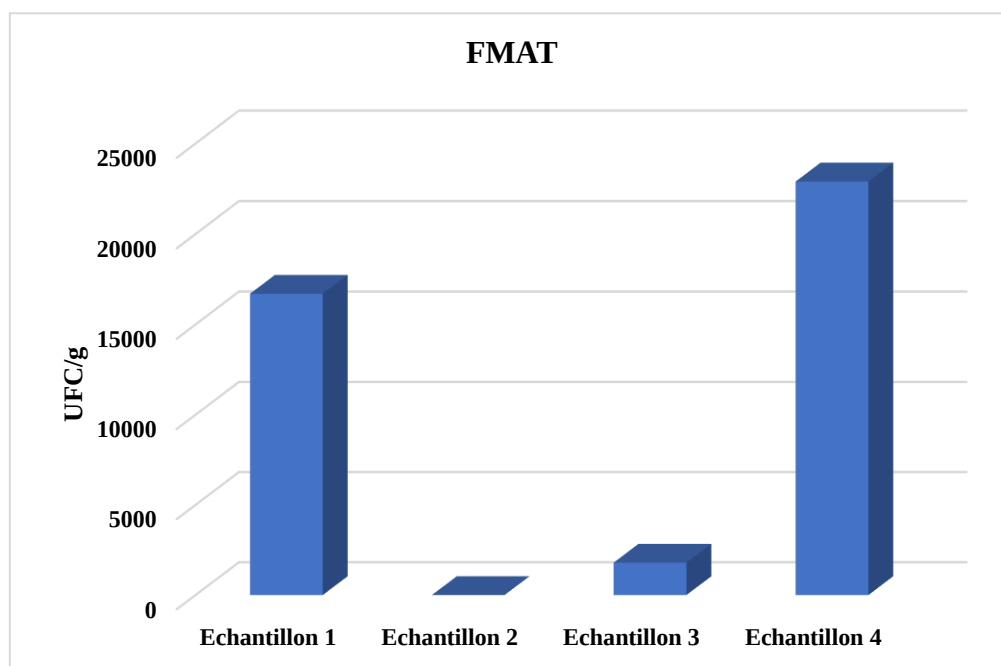


Figure 39. Variations de la flore totale des quatre échantillons du pollen.

Ces résultats soulignent l'importance de la standardisation des pratiques post-récolte, incluant le séchage rapide à température contrôlée, le stockage dans des contenants hermétiques, et l'application stricte des BPH tout au long de la chaîne de production. La maîtrise de la FAMT est donc essentielle pour assurer la stabilité microbiologique du pollen et protéger la santé du consommateur (FAO, 2009).

2.2. Coliformes totaux et fécaux

2.2.1. Coliformes totaux

Les coliformes sont des entérobactéries GRAM-, anaérobies facultatifs, regroupent les souches d'origine intestinale et celle de l'environnement.

Les coliformes totaux sont des indicateurs de contamination au cours de la production, ainsi que la collecte et la transformation des aliments (Belhadj *et al.*, 2012). Mais il s'agit également d'un groupe diversifié de microorganismes présents dans l'environnement naturel

(Martin et al., 2016). Les principaux genres bactériens inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* (Santé canada, 2012).

L'analyse de Les coliformes totaux dans les quatre échantillons de pollen révèle une variabilité de la charge microbienne. L'échantillon 2 et 3 présente une absence totale de contamination (0 UFC/g), ce qui reflète une excellente qualité microbiologique, probablement liée à un bon séchage et à des conditions de stockage optimales.

En effet, La charge microbienne en coliformes totaux dans les échantillons 1 et 4 montrent des niveaux de contaminations élevés, respectivement 173 UFC/g et 47 UFC/g. La présence des coliformes à des niveaux insatisfaisants dans les aliments traités est un indicateur fort d'une mauvaise hygiène adoptée par les manipulateurs d'aliments (Nkere et al., 2011 ; Kornacki, 2014), qui dépassant de loin les valeurs fixées par la norme enregistrée par IHC qui est 100 UFC/g. Par contre ces valeurs sont inférieures à celles obtenues par Adjlane et al., (2017) : 65.10^3 UFC/g et par De-Melo et al., (2015) : 280.10^3 UFC/g.

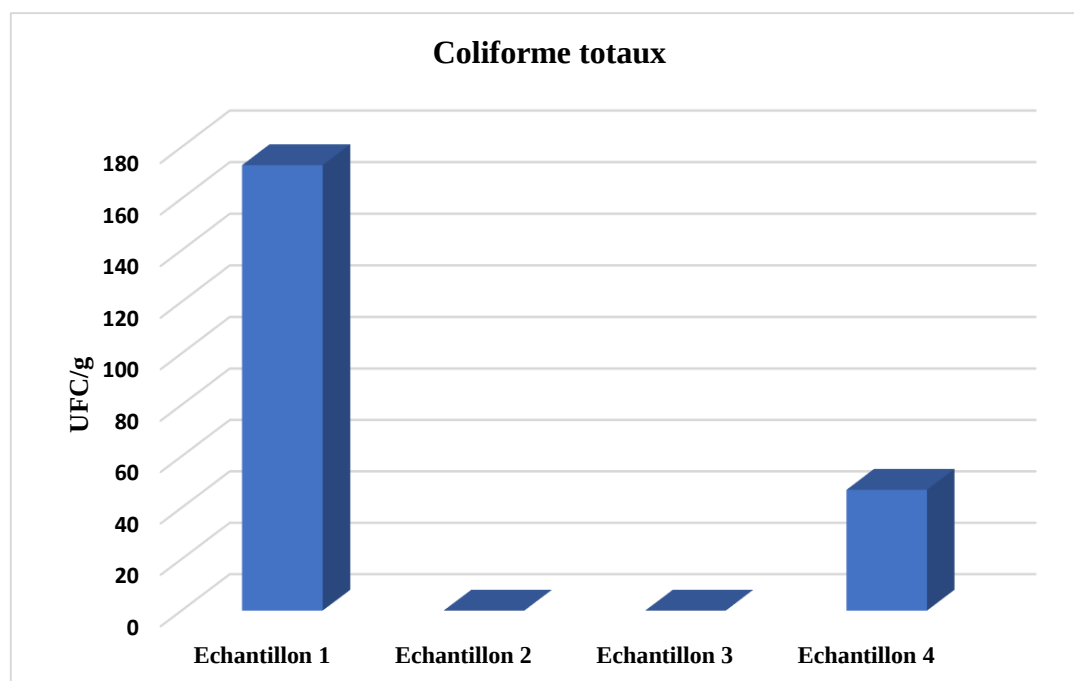


Figure 40. Variations des coliformes totaux des quatre échantillons du pollen.

Les résultats élevés obtenus dans notre étude Peuvent s'expliquer par le non-respect des conditions d'hygiène lors de la collecte, du nettoyage, du séchage et du Conditionnement. Cette charge élevée en coliformes peut aussi compromettre sa conservation mais sa sécurité sanitaire exigée par la réglementation et réclamée par le consommateur.

2.2.2. Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermos tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E.coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klesiella* (Elmud et al., 1999 ; Santé Canada, 1991 ; Edberg et al., 2000).

La présence des coliformes d'origine fécale indique une pollution ou une contamination d'origine fécale provenant de l'homme ou de l'animal et certains sont même présents naturellement dans le sol et l'eau (Eden, 2014).

Plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe et al., 1998 ; OMS, 2000). Ils sont responsables de plusieurs symptômes : La diarrhée aigüe, inflammation, colite hémorragique, les infections des voies urinaires, la septicémie et la méningite néonatale (Kaper et al., 2004).

L'analyse de Les coliformes fécaux dans les quatre échantillons de pollen présente une absence totale de contamination (0 UFC/g), indiquant une qualité satisfaisante de ce produit. Donc les échantillons de pollen sont conformes à la norme IHC (0 UFC/g).

Ces microorganismes sont peut-être inhibés par l'acidité du pollen ou alors à l'action bactériostatique de ce dernier (Cherbuliez, 2001). Cet effet bactériostatique est attribué à l'addition du glucose oxydase par l'abeille quand elle mélange le nectar aux grains de pollen au moment de la confection des pelotes (Dustmann et Gunst, 1986).

2.3. Staphylocoques

Ce sont des bactéries à Gram positif, de forme sphérique, se regroupant typiquement en amas évoquant des grappes de raisin. Ce genre bactérien comprend plusieurs espèces saprophytes ou pathogènes, telles que *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, fréquemment rencontrées dans divers environnements (air, eau, sol, flore cutanée) et capables de coloniser l'homme et les animaux (Carip et al., 2015). Certaines espèces, notamment *S. aureus*, sont responsables d'infections alimentaires sévères via la production d'entérotoxines thermostables. C'est dans ce contexte que la recherche de staphylocoques dans le pollen s'avère essentielle pour évaluer son innocuité microbiologique.

L'ensemencement sur le milieu sélectif Chapman a conduit à l'apparition de colonies typiques du genre *Staphylococcus*, petites, rondes, lisses, bombées, de couleur blanche à jaune

doré, avec une acidification locale du milieu traduisant une fermentation du mannitol. Cette acidification, visible par le changement de couleur du milieu, est un indicateur du métabolisme fermentatif de certaines espèces de staphylocoques (*Annexes II*).

L'examen microscopique après coloration de Gram a permis d'observer des coques Gram positif, mesurant environ 0,5 à 1 μm et regroupées en amas.

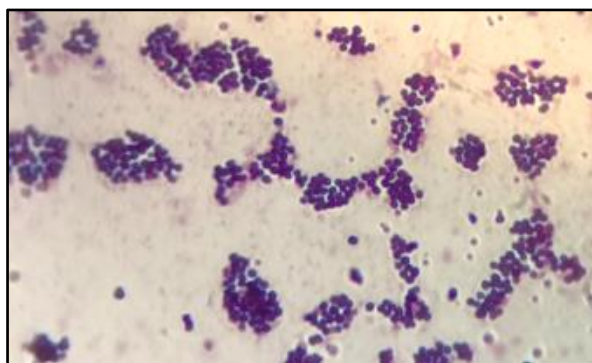


Figure 41. Observation microscopique après coloration de Gram des Staphylocoques (x100)
(Photo prise par DERGHOU.M.I.2024)

Ces observations ont été complétées par des tests biochimiques. Le test de catalase s'est révélé positif, confirmant la capacité des souches à dégrader le peroxyde d'hydrogène. Le test de l'oxydase a également donné un résultat positif, bien que moins spécifique.



Figure 42. Test catalase et oxydase positif (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)

Pour affiner l'identification, une galerie API Staph a été utilisée, permettant de diagnostiquer l'espèce isolée comme *Staphylococcus xylosus*, une espèce coagulase-négative généralement non pathogène, mais considérée comme indicatrice d'une possible contamination environnementale (Argudín et al., 2010).



Figure 43. Profil biochimique des staphylocoques après incubation et addition des réactifs
(Photo prise par DERGHOU.M.I.2024)

L'analyse quantitative des staphylocoques dans les échantillons de pollen a révélé une variabilité marquée de la contamination. L'échantillon 2 présente une absence totale de staphylocoque (0 UFC/g), ce qui reflète une excellente qualité hygiénique, probablement due à un bon séchage, une manipulation soignée et un stockage adéquat. Les échantillons 1 et 3 montrent une contamination modérée, respectivement 30 UFC/g et 26 UFC/g, des valeurs jugées acceptables selon les critères microbiologiques applicables au pollen sec ($<10^2$ UFC/g) (Campos et al., 2008). Toutefois, ces niveaux suggèrent un risque potentiel si les conditions de conservation ne sont pas optimales.

L'échantillon 4, en revanche, présente une charge microbienne élevée de 100 UFC/g. Bien qu'elle reste inférieure au seuil critique fixé à 10^2 UFC/g, cette valeur reflète une contamination significative pouvant résulter d'un séchage inadéquat ou d'une manipulation non hygiénique (Campos et al., 2008).

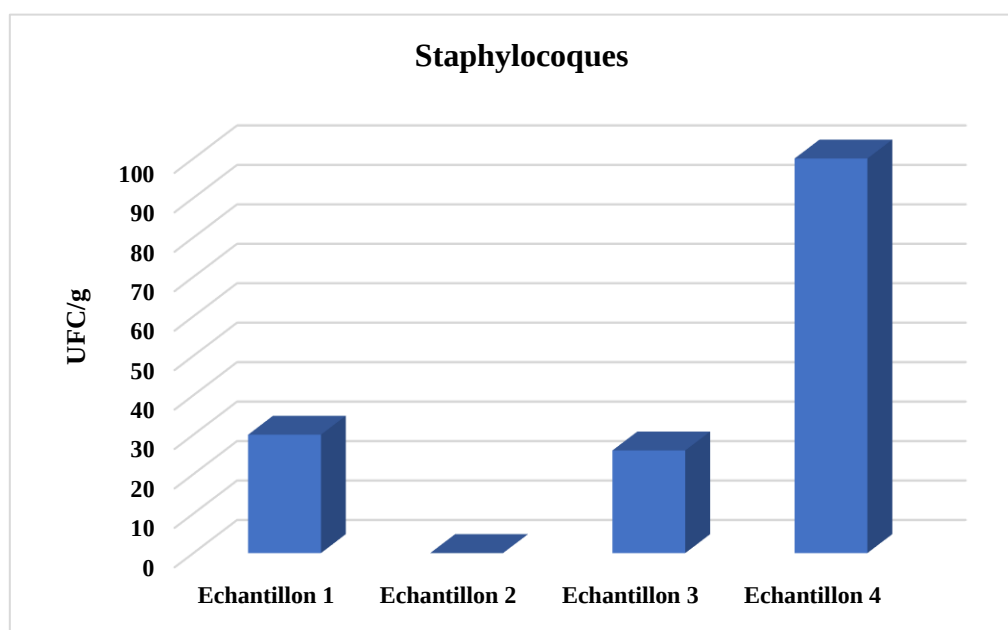


Figure 44. Variations des Staphylocoques des quatre échantillons du pollen.

Des contaminants environnementaux comme des fragments d'abeilles, des débris végétaux ou du matériel de récolte peuvent être à l'origine de cette contamination. Ce niveau indique que des mesures correctives devraient être envisagées pour améliorer les pratiques de récolte, de tri et de stockage.

2.4. Salmonelles

Les salmonelles sont des bacilles à gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des *Enterobactériacées*, catalase positive, oxydase négative (Salifou et al., 2013 ; Carip et al., 2015).

Lors de l'analyse des échantillons dans le milieu Hektoen pour l'isolement de *Salmonella*, aucune colonie caractéristique de cette bactérie n'a été observée dans l'ensemble des quatre échantillons examinés (absences totales de cette germe) Donc les échantillons de pollen sont conformes à la norme IHC (2008), ce qui reflète une excellente qualité microbiologique, probablement liée à un bon séchage et à des conditions de stockage optimales. Et une absence des conditions favorable pour la croissance de ce germe

Pour garantir une qualité constante et la sécurité du pollen destiné à la consommation, il est crucial d'uniformiser les méthodes de récolte, de séchage et de stockage, tout en respectant scrupuleusement les bonnes pratiques d'hygiène.

2.5. Levures et moisissures

Les levures et les moisissures, communément appelées mycètes, sont omniprésentes dans l'environnement (air, sol, surfaces). Si certaines souches sont bénéfiques, notamment dans les procédés de fermentation agroalimentaire (ex. : affinage de fromages), d'autres peuvent altérer la qualité des denrées par des fermentations indésirables ou la production de mycotoxines, représentant ainsi un risque pour la santé publique (Issaoun et Kacel, 2019)

Certaines levures pathogènes, comme *Candida spp.*, sont responsables d'infections opportunistes chez les individus immunodéprimés (diabétiques, patients VIH+, etc.), souvent par voie respiratoire, digestive ou cutanée (Boukerche et Selaimia, 2023).

A partir de l'examen macroscopique et microscopique (examen direct à l'état frais et examen microscopique après coloration au bleu de méthylène) qui constitue une étape fondamentale dans l'identification des levures et des moisissures en microbiologie. Sur le plan macroscopique, les levures se présentent sous forme des colonies de taille (Grande, moyenne, petite), la texture des colonies (Lisse, brillante, crémeuse), la forme (Plate, bombée, arrondie),

de couleur blanc crème. Elles dégagent une odeur fermentée, caractéristique de leur activité métabolique (*Annexes II*).

À l'inverse, les moisissures forment des colonies d'aspect filamenteux, poudreuse, cotonneuse, duveteuse, veloutée, granuleuse, dont les couleurs sont très variées (vert, noir, blanc) et dont la texture est sèche (*Annexes II*).

Au niveau microscopique, les levures apparaissent comme des cellules unicellulaires ovales ou rondes, mesurant entre 3 et 10 μm . Les moisissures sont caractérisées par des structures filamenteuses appelées hyphes, cloisonnées (septés) ou non, formant un réseau mycélien.

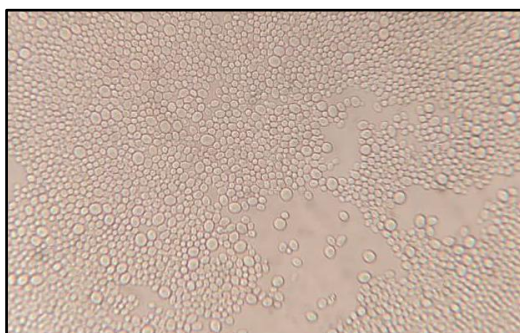


Figure 45. Observation microscopique des levures à l'état frais l'objectif x40 (Photo prise par DERGHOU.M.I.2024)

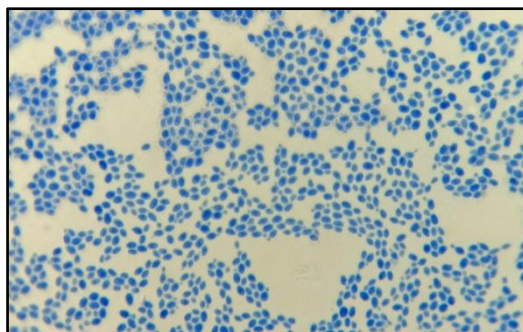


Figure 46. Observation microscopique des levures à Coloration au bleu de méthylène l'objectif x100 (Photo prise par DERGHOU.M.I.2024)



Figure 47. Observation microscopique des moisissures à l'état frais à l'objectif x40 (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)



Figure 48. Observation microscopique des moisissures à Coloration au bleu de méthylène l'objectif x100 (Photo prise par BOUTARFA.Y.2024)

Ces structures sont généralement mises en évidence au microscope après coloration au bleu de méthylène, permettant une observation précise des éléments fongiques. Cet ensemble d'observations morphologiques reste essentiel pour une orientation diagnostique rapide et fiable.

L'analyse microbiologique de quatre échantillons de pollen a révélé des niveaux de contamination variables en levures et moisissures. Les échantillons 1 et 4 ont présenté des charges élevées (2 500 UFC/g et 1 114 UFC/g), traduisant un séchage insuffisant ou une mauvaise hygiène de manipulation lorsque la trappe touche le sol ou est envahie par des fourmis, introduisant des micro-organismes et des débris. En revanche, les échantillons 2 et 3, avec des charges faibles (5 et 6 UFC/g), indiquent de meilleures conditions de traitement et de conservation.

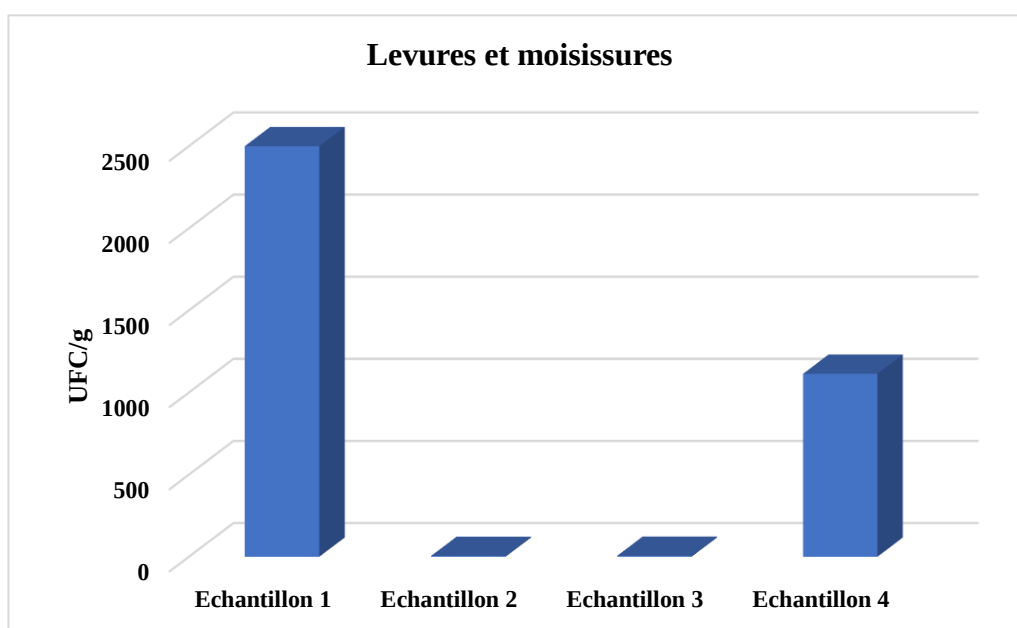


Figure 49. Variations des levures et moisissures des quatre échantillons du pollen.

Ces résultats restent conformes à la norme argentine (**article 785, Argentine, 1990**), qui fixe un seuil maximal à 10^4 UFC/g. Ils demeurent également inférieurs à ceux rapportés par **IHC (2008)** et **Coronel et al. (2004)**, qui ont enregistré des charges fongiques plus élevées dans des pollens commerciaux.

Selon **Coronel et al. (2004)**, plusieurs espèces fongiques potentiellement toxigènes ont été identifiées dans des échantillons contaminés, telles que *Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum* et *Penicillium citrinum*.

À l'état naturel, le pollen est stérile à l'intérieur de l'anthere. Sa contamination peut survenir lors de la collecte par les abeilles, ou à travers le contact avec l'environnement, les outils de récolte ou les opérateurs (**Belhadj et al., 2012**). Les levures ajoutées par les abeilles lors de la formation des pelotes résistent souvent aux températures de séchage (35–47 °C selon **Layral et Verling, 2001**). De plus, en l'absence de propriétés antifongiques, le pollen est sensible à l'humidité et aux conditions favorables à la croissance fongique (15–30 °C et pH 4–8) (**Libis, 1971 ; Bourgeois et al., 1988**).

2.6. Spores d'Anaérobies Sulfito-réductrices (ASR)

Les Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR), en particulier ceux appartenant au genre *Clostridium*, sont des bactéries sporulées strictement anaérobies, connues pour leur capacité à résister à des conditions environnementales extrêmes grâce à la formation de spores. Ces micro-organismes, souvent retrouvés dans le sol, les sédiments et le tractus intestinal des animaux, sont couramment utilisés comme indicateurs de contamination fécale ou environnementale dans les produits alimentaires. Leur détection dans des matrices alimentaires comme le pollen reflète des déficiences potentielles dans les pratiques d'hygiène tout au long de la chaîne de production (**Montville & Matthews, 2008**).

L'analyse microbiologique de quatre échantillons de pollen a mis en évidence une variabilité significative des niveaux de contamination en spores d'ASR. Les résultats obtenus sont les suivants : 96 UFC/g pour l'échantillon 1, 0 UFC/g pour les échantillons 2 et 3, et 7 UFC/g pour l'échantillon 4. Ces données traduisent une hétérogénéité dans la qualité hygiénique des échantillons. Les échantillons 2 et 3, exempts de toute contamination détectable, respectent les critères microbiologiques généralement admis pour les produits apicoles (≤ 10 UFC/g selon la norme **AFNOR V08-061, 2004**, et peuvent être considérés comme microbiologiquement sûrs. L'échantillon 4, avec une charge faible de 7 UFC/g, reste acceptable

mais mérite une attention particulière afin d'éviter toute évolution défavorable pendant le stockage.

En revanche, la valeur élevée observée dans l'échantillon 1 (96 UFC/g) dépasse largement les seuils tolérés, signalant une contamination importante probablement due à un contact direct avec le sol, à des conditions de séchage inappropriées ou à un non-respect des bonnes pratiques de manipulation et de conditionnement.

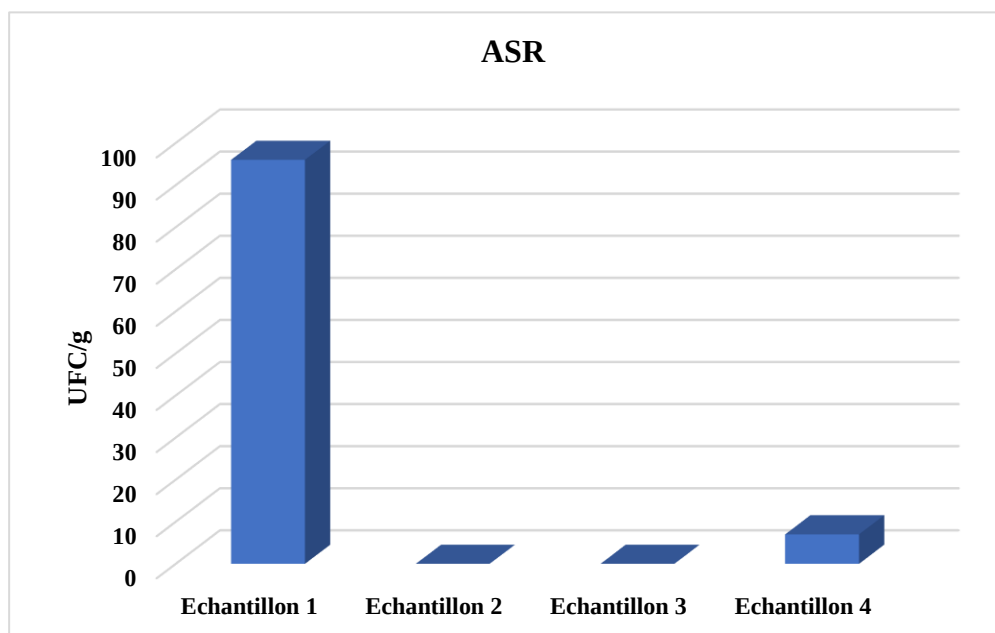


Figure 50. Variations des spores d'anaérobies sulfito-réductrices (ASR) des quatre échantillons du pollen.

Ces observations sont cohérentes avec les études antérieures qui signalent la détection de *Clostridium spp.* Dans le pollen et autres produits de la ruche, notamment lorsque les conditions de production ne sont pas rigoureusement maîtrisées (Tosi et al., 2004 ; Bogdanov, 2004 ; Giampieri et al., 2020). En contexte de consommation humaine, bien que le risque infectieux reste faible, la présence excessive de spores ASR pourrait constituer un marqueur de qualité hygiénique non satisfaisant, surtout dans des produits destinés à des publics vulnérables

Conclusion

Et perspectives

Conclusion

Cette étude comparative s'est attachée à évaluer la qualité microbiologique et physico-chimique de quatre échantillons de pollen, issus de différentes sources : universitaire, marché local et salon de vente. Réalisée dans le contexte de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma, au nord-est de l'Algérie, elle visait à apprécier l'innocuité et la valeur nutritionnelle du pollen selon la source et les pratiques post-récolte appliquées.

Les résultats ont mis en évidence des différences substantielles de qualité entre les échantillons. Les deuxième et troisième échantillon, provenant du marché, ont démontré une qualité satisfaisante, à la fois sur le plan physico-chimique (humidité inférieure à 6 %, pH acide, taux de cendres raisonnable, Brix équilibré) et microbiologique (absence ou très faible présence de flore aérobie mésophile totale, coliformes totaux et fécaux, levures et moisissures, staphylocoques, Salmonelles, ASR). Cela reflète une bonne application des bonnes pratiques apicoles, notamment en matière de séchage, de conditionnement et de conservation.

À l'inverse, le quatrième échantillon, acquis lors d'un salon de vente, il a présenté une qualité intermédiaire, dépassant les seuils acceptables pour plusieurs indicateurs (levures et moisissures, flore aérobie mésophile totale, et spores d'anaérobies sulfito-réducteurs), ce qui compromet gravement la qualité sanitaire du produit. Cette situation résulte vraisemblablement de conditions de manipulation, de séchage ou de stockage inadaptées.

Quant au premier échantillon, prélevé au sein de l'Université de Guelma, a révélé une forte contamination microbienne, avec des valeurs physico-chimiques relativement acceptables, mais une charge microbienne très élevée (coliformes totaux, flore aérobie mésophile totale, staphylocoques, levures et moisissures et ASR), révélant des points d'amélioration nécessaires au niveau des pratiques internes de récolte et de traitement.

Ces observations démontrent que la qualité du pollen dépend moins de l'origine institutionnelle ou commerciale que de la rigueur des procédés appliqués. L'adoption de protocoles standardisés et le respect strict des bonnes pratiques apicoles sont donc des conditions incontournables pour garantir un produit sain et stable, conforme aux attentes des consommateurs et aux normes internationales.

Perspectives et recommandations

À la lumière des résultats obtenus, les recommandations suivantes sont proposées afin de consolider la qualité du pollen apicole en Algérie et de favoriser son intégration dans des circuits de valorisation à haute valeur ajoutée :

1. Encadrement technique des apiculteurs

- Mettre en place des formations ciblées sur les bonnes pratiques de récolte, de séchage et de conditionnement du pollen.
- Sensibiliser aux risques microbiologiques liés à une mauvaise manipulation post-récolte.

2. Amélioration des infrastructures de transformation

- Encourager l'installation d'équipements de séchage et de stockage contrôlés au niveau des exploitations apicoles.
- Favoriser l'utilisation de contenants hermétiques et inertes respectant les exigences de conservation.

3. Renforcement des contrôles qualité

- Intégrer le suivi physico-chimique et microbiologique du pollen dans les programmes de contrôle qualité des produits apicoles locaux.
- Adapter les seuils de conformité aux normes internationales (AFNOR, IHC, Codex Alimentarius).

4. Développement d'un cadre réglementaire spécifique

- Élaborer une réglementation algérienne dédiée à la qualité du pollen, s'inspirant des directives européennes.
- Créer un système de labellisation ou d'indication géographique pour le pollen de terroir.

5. Valorisation de la recherche académique appliquée

- Promouvoir la collaboration entre universités, et les différentes institutions de santé publique.
- Encourager la recherche appliquée sur les propriétés fonctionnelles et thérapeutiques du pollen algérien dans un objectif de valorisation agroalimentaire.

Conclusion et perspectives

En définitive, cette étude s'inscrit dans une dynamique de structuration de la filière apicole en Algérie. Elle constitue une base scientifique solide pour le développement de produits apicoles de qualité, répondant aux exigences des marchés nationaux et internationaux, tout en renforçant le rôle de la recherche universitaire au service du développement territorial et de la sécurité alimentaire.

Références

bibliographiques



- **Amigou M., (2016).** Les résidus des médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gel é royale et propolis). Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine Créteil, Ecole nationale vétérinaire, faculté d'Alfort, pp.139, 27-41
- **AFNOR (1982).** Produits dérivés de fruits et légumes – Détermination de la teneur en eau Méthode gravimétrique. Association Française de Normalisation, **NF V 05-109**, Paris, France.
- **AFNOR. (2004).** **NF V08-061:** Microbiologie des aliments – Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfito-réductrices par comptage des colonies à 46 °C. Association Française de Normalisation.
- **Afssa, 2009.** Afssa l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments – Saisine n° 2009-SA-0190 Saisine liée n° 2008-SA-0395 1 / 6 Maisons-Alfort, le 18 janvier 2010
- **ALMEIDA–MURADIAN ; PAMPELUNE LC ; COIMBRA. S (2005).** Composition chimique et l'évaluation botanique de boulettes séchées pollen d'abeille. Journal of Food Composition and Analysis. Pp 105-111.
- **Almeida-Muradian, L. B., Pamplona, L. C., Coimbra, S., & Barth, O. M. (2005).** Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. Journal of Food Composition and Analysis, 18(1), 105–111.
- **Amigon, L., Gómez, J. E., & Cruz, L. (2016).** Caracterización fisicoquímica de polen apícola. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 7(4), 923-935.

Références bibliographiques

- **Amirat A., (2014).** Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel de *Thymus algeriensis* de la région de Tlemcen, mémoire de master, Université Abou-Bekr Belkaid , Tlemcen, 60 p.
- **Amrani et Aliouat. 2017.** Diplôme Master, Contribution à l'étude des caractéristiques physico- chimiques du pollen d'abeille de la région de Naciria, pp 20-21.
- **Argentina., (1990).** Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Alimentos. Código Alimentario Argentino. (Capítulo X : Alimentos Azucarados : Artículo 785-Resolucio 1550 de 12 de dezembro de 1990).
- **Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010).** Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751–1773.
- **ARRAEZ-ROMÁN D., ZUREK G., BÄßMANN C., ALMARAZ-ABARCA N.,**
- **ASSOCIATION EUROPEENNE D'APITHERAPIE,** La médecine par les abeilles Traiter d'apithérapie, CD-ROM d'apithérapie V1.0.



- **Barros, C., Canedo, L., & Girão, T. (2020).** Physicochemical and microbiological quality of bee pollen from different botanical origins. *Food Science and Technology*, 40, 431–438.
- **Barth, O. M., Freitas, A. S., & Luz, C. F. P. (2004).** Melissopalynological data of *Apis mellifera* L. pollen loads from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Grana*, 43(2), 107-115.

Références bibliographiques

- **Barthe C., J Perron et J.M.R Perron., (1998).** Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'intérêt dans le domaine de l'eau potable. Document de travail (version préliminaire), ministère de l'Environnement du Québec, 155 p. + annexes.
- **BAUDEL Mathilde ; 2017 ;** l'apithérapie ; diplôme d'état de docteur en pharmacie ; Université Picardie jule verine ; amiens ; France
- **Bay, I., et al. (2021).** Chemical composition and antioxidant properties of bee pollen: A review. *Antioxidants*, 10(1), 10.
- **Belhadj H., Bouamra D., Dahamna S., Harzallah D., Ghadbane M. et Khennouf S., (2012).** Microbiological Sanitary Aspects of Pollen. *Adv in Env Biol*, 6(4): 1415-1420.
- **Belhadj, H., Boukraa, L., & Khalil, A. (2012).** Microbiological quality of Algerian bee pollen. *African Journal of Microbiology Research*, 6(3), 604–608.
- **Bellerose LH., 1883.** Petit manuel d'apiculture a l'usage des écoles.pp.141.
- **Bendimerad, A., (2010).** Effet de la supplémentation en sélénim sur la réponse immune au cours de l'infection à sarm. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- **BESSAS A., 2008.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Ingénieur d'état en biologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Djillali Liabes. Sidi Bel Abbes. 160p
- **Biri M., (2002).** Le grand livre des abeilles cours D'apiculture moderne. Ed. De Vecchi Paris.pp.260
- **Biri M., 2010.** Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. Ed. De Vecchi. Paris.pp.302.14-101p.

Références bibliographiques

- **Blanc M., (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de limoges, Faculté de médecine et de pharmacie
Aspects of Pollen. Adv in Env Biol, 6(4): 1415-142
- **Blanc. (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, université de Limoges).
- **BOGDANOV S (2004).** Quality and Standards of Pollen and Beeswax APIACTA .38,p. 334-341.
- **Bogdanov, S. (2004).** Composition of honey. In P. Vit, S. Bogdanov, & K. Kilchenmann (Eds.), Harmonised methods of the International Honey Commission (pp. 1–13). International Honey Commission.
- **Bogdanov, S. (2004).** Pollen: Production, Nutrition and Health: A Review. Bee Product Science.
- **Bogdanov,S.(1999).** International Honey Commission. Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey commission. Bee-World. . 80(2) :61-69.
- **BONNEFOY C., GUILLET F., LEYRAL G. et BOURDAIS E-V., 2002** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire. In : Science des aliments. p 45, 79, 83, 103. Ed. Doin.
- **BONNEFOY C., GUILLET F., LEYRAL G. et BOURDAIS E-V., 2002.** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. In : Science des aliments. p 45, 79, 83, 103. Ed. Doin.
- **Boukerche et Selaimia, (2023).** Diplôme de Master en Science Alimentaire, Évaluation de la qualité microbiologique de l'eau potable (Eau de robinet) et l'eau de quatre sources naturelles dans la région de Guelma, p88.

Références bibliographiques

- **Boukrouma, N., (2008).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (W. d'Oum ElBouaghi). Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p
- **Bourgeois C.M., Mescle J.F et Zucca J., (1988).** Microbiologie alimentaire. Aspect Microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Tome 1.Ed Technique et documentation, Lavoisier. Paris. p 161, p178.
- **Bourgeois, C. M., & Mescle, J. F. (1995).** Microbiologie alimentaire: Tome 1, Bases microbiologiques de la sécurité et de la qualité des aliments. Tec & Doc.
- **Bradbear N., (2010).** « Le rôle des abeilles dans le développement rural (Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivées des abeilles ». Organisation des Nation Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. 176p.
- **Bruneau E. (2006).** Nutrition et malnutrition des abeilles biodiversité des plantes une clé pour l'alimentation et la survie de l'abeille. Académie d'agriculture de France. P1-8



- **Caillas A. (1969).** Le rucher de rapport et les produits de la ruche.(6ème édition), Etablissement d'apiculture Trubert. 502p.
- **Campos M.G.R., Bogdanov S., Almeida-Muradian L.B., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C et Frreira F., (2008).** Pollen composition and standardization of analytical methods. Jornal of apicultural research and bee World .47 (2):156-163.
- **Campos, M. G. R., Bogdanov, S., Almeida-Muradian, L. B., et al. (2008).** Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research, 47(2), 154–161.

- **Campos, M. G. R., Bogdanov, S., de Almeida-Muradian, L. B., et al. (2010).** Pollen composition and standardization of analytical methods. *Journal of Apicultural Research*, **49**(2), 154–163.
- **Campos, M. G. R., et al. (2008).** Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research*, **47**(2), 154–161.
- **CAMPOS. R ; BOGDANOV. S ; ALMEIDA-MURADIAN L.B ;** Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apiculture Research* **47**.Pp 156 - 163
- **CAMPOS. R ; BOGDANOV. S ; ALMEIDA-MURADIAN L.B ; SZCZESNAT ; MENCEBO. Y ; FRIGERIO. C.; FERREIRA. F (2008).** Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apiculture Research* **47**. Pp 156 -163.
- **Carip, C., Salavert, M.-H., Tandeau, A., 2015.** Microbiologie, hygiène et droit alimentaire, Lavoisier-Tec & Doc.
- **Carpes, S. T., et al. (2009).** Physicochemical properties and quality of bee pollen samples produced in Brazil. *Food Science and Technology*, **29**(4), 1009–1014.
- **Carpes, S. T., Mourão, G. B., Alencar, S. M., & Masson, M. L. (2013).** Chemical composition and microbiological analysis of pollen loads. *Ciência Rural*, **43**(12), 2127–2133.
- **Cherbuliez T., (2001).** CD-ROM.Apithérapie. Commission d’apithérapie d’Apimondia.
- **CHERBULIEZ. T (2001) .**CD – ROM. Apithérapie. Commission d’Apithérapie d’Apimondia.

- **Commission Brésilienne.,(2000).** Instruction normative N°11. Publié au Journal officiel de 23/10/00, Section I, p. 16-17.
- **Coronel B.B., Grasso D.S.C, Pereira G. et Fernàndez A., (2004).** Caracterización bromatológica del pólenapícola Argentino. Ciencia, Docencia y Tecnología, 15, 141 181.
- **Coronel, M. B., Vargas, D., & Valderrama, C. (2004).** Evaluation of microbiological quality of commercial pollen samples. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 54(3), 260–265.



- **Dajoz I., (1993).** L'évolution de grain de pollen. In « grand larousse annuel ». Larousse Editions
- **Darrigol J.L., (1979).** Le miel pour votre santé : propriété thérapeutique de miel, du Pollen, de la gelée royale et de la propolis. Edition Dangles. France : p.140.
- **De-Melo M.A.A., Estevinho M.L.M F., Almeida-Muradian L.B., (2015).** A diagnostic of the Microbiological quality of dehydrated bee-pollen product in brazil. Lett. Appl.Microbiol, 61. 477-483.
- **DjamaiAbdlhadi, 2018,** l'apiculture à la portée de tous, Editions Talantikit-bejaia, ISBN :978-9947-67-176-4 p.118-166
- **DONADIEU Y.** « Les produits de la ruche chez le sportif »,
- **Donadieu Y., (1983).** Le pollen : thérapeutique naturelle. Edition Maloine S.A ; 6ème Ed. Paris. ISBN2-224-00873-2

- **DONADIEU Y.** « Les produits de la ruche, source de sante et de vitalite », Les Fiches d'Apithérapie, Donadieu Editions, 1987.
- **Dustmann J.H et Gunst E., (1986).** Inhibins and bactiriostaticaction of bee bread, 4piacta. N° 17. Pp: 51-S4.

E

- **Edberg SC., EW Rice., RJKarlin et MJ Allen., (2000).** Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of applied Microbiology, 88: 106S-116S.
- **Eden, R., 2014.** ENTEROBACTERIACEAE, COLIFORMS AND E. COLI| Classical and Modern Methods for Detection and Enumeration
- **Elmund GK., MJ Allen et EW Rice., (1999).** Comparison of Escherichia coli, total coliform and fecal coliform population as indicators of wastewater treatment efficiency. Water Environ. Res., 71:332-339.
- **Etienne BRUNEAU, 1-2012,** conditionnement du pollen, fiche technique, p15.16

F

- **FAO. (2004).** Food quality and safety systems: A training manual on food hygiene and the HACCP system. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- **FAO. (2009).** Quality control of bee products. FAO Agricultural Services Bulletin

- **Feás X., Pilar V-T. M., Estevinho L., Julio A. S. and Antonio I. (2012).** Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. *Molecules* 17, 8359-8377.
- **Fluri P., 1994.** Réflexions des chercheurs en apiculture sur la régulation de la durée de vie des ouvrières. *Journal suisse d 'Apiculture*. vol. 91. 19-27p.
- **Frérés JM ; Guillume JC., 2011.** L'apiculture écologique de A à Z. nouvelle Ed. marco pietteur.pp.816.119-142p.
- **Fuenmayor, C. A., Zuluaga, D. C., Díaz-Moreno, A. C., et al. (2014).** Evaluation of the physicochemical and functional properties of bee pollen from different botanical origins. *CyTA – Journal of Food*, 12(1), 76–83.



- **G.Ravazzi, 2007,** abeilles et apiculture. 2 éme édition paris : édition de vecchi S.A. p19.177- 118.
- **Gharbi M., (2011).** Les produits de la ruche : Origine – Fonction naturelle – composition propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de doctorat en Médecine-pharmacie, Université Claude-Bernard- Lyon I, pp.221.
- **Giampieri, F., Afrin, S., Haneefa, S. M., Fernandez-Cabezudo, M. J., Al-Ramadi, B. K., & Battino, M. (2020).** Therapeutic and preventive properties of honey and its bioactive compounds in cancer: An evidence-based review. *Nutrition Research Reviews*, 33(1), 50–76.

- **Giraldo, C., Quicazán, M. C., & Osorio, C. (2022).** Physicochemical characterization and antioxidant capacity of bee pollen from Colombian highlands. *Heliyon*, **8**(6), e09766.
- **Guiraud, J.P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. Pp : 136-139.



- **Haccour P., 1960.** Recherche sur la race d'abeille saharienne au Maroc. Comptes Rendus, Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc. vol.6. 96-98p.
- **Human H., & Nicolson S., 2006-** Digestion of maize and sunflower pollen by the spotted maize beetle *Astylus atomaculatus* (Melyridae): is there a role for osmotic stock. *J. Insect. Physical* .N°49. P 633-643.



- **ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). (2005).** Microorganisms in foods 6: Microbial ecology of food commodities. Springer Science & Business Media.
- **IHC., (2008).** International Honey Commission. World Network of Honey and Bee Product Science. <https://www.ihc-platform.net>
- **Issaoun et Kacel, (2019).** Diplôme de master en Science Alimentaire , Evaluation de la qualité microbiologique du pollen d'abeille sec, pp 32-33-39- 40.

J

- **Jean Marie Philipe, 2007.** Le guide de l'apiculture. Editions Edisud.France.ISNB :978 2-7449-0705-0 p1023-1027
- **Jean-Prost P. et Le Conte., (2005)** Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition, Tec & Doc Lavoisier, 698p.
- **Jeanet R., Croguennec T., Schuck P et Brull G., (2006).** Science des aliments : Biochimie, microbiologie, procédés, produits. Ed. Techniques et documentation, Lavoisier. Paris. P264.

K

- **KACER et NAIB, 2023.** Diplôme Master En Sécurité Alimentaire et Assurance de Qualité, Pollen d'abeille : biochimie, pharmacologie et la qualité sanitaire, pp 49-50.
- **Kaper, J. B., J. P. Nataro, and H. L. Mobley. 2004.** Pathogenic Escherichia coli. Nat Rev Microbiol 2:123-140.
- **Khenfer A. et Fettal M. (1997) .** Le miel. Ed. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. p 22
- **Komosinska-Vassev, K., et al. (2015).** Bee pollen: Chemical composition and therapeutic application. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 1–6.

- **Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., et al. (2015).** Bee pollen: Chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2015**, Article ID 297425.
- **Kornacki, J.L., 2014.** Processing plant investigations: Practical approaches to determining sources of persistent bacterial strains in the industrial food processing environment. *The microbiological safety of low water activity foods and spices*, Springer, pp. 67-83.
- **Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Barać, M. B., Stanisavljević, N. S., Tešić, Ž. L., & Pešić, M. B. (2015).** The application of pollen as a functional food and medicine. *Journal of Functional Foods*, **19**, 39–52.



- **Labres, E., Mouffouk, F., 2008.** Les cours national d'hygiènes et de microbiologies des eaux De boisson. Manuel des travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. Algérie. 53p. • Lemkaddem C et Telli.
- **Larousse, (1971).** La Grande Encyclopédie Larousse en 20 Volumes
- **Laurian Robert S., Foster Elizabeth., Levesque-lemly Madleine., Routly Elizabeth., Wilkinson David et Gleddie Steve., (2004).** Le potentiel de fixer des limites au flux des trans-gènes en modifiant les protéines à la surface des grains de pollen. *Agriculture et Agroalimentaire*. Ottawa. Canada, bulletin IBP n °1.
- **Layral G et Verling., (2001).** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire. Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine. P84, p24.

- **LESHAF H et ALAHOUM A., 2018.** L'effet cicatrisant et antibiotique du miel d'eucalyptus étude prospective au niveau du service de chirurgie générale « B » chu Tlemcen. Doctorat en Pharmacie. Faculté de médecine. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen 80 p.
- **Libis E., (1971).** L'apiculture pour tous. Ed. Flammarion. Pp: 119-124.
- **Louveaux Jean., (1985).** Les abeilles et leurs élevages. Ed. OPIDA. p 1 25.
- **Luis, G.D, Georgina, T, Ananias, P, Andleticia, M, Estevinho.2018.** Effect Of Processing Conditions On The Bioactive Compounds And Biological Properties Of Bee Pollen. Journal Of Apicultural.357-365.



- **MACALUSO-GALLETTA Anna ; 2004.** Étude des niveaux de contamination en HAP et Des différentes variables biologiques dans les grains de pollen de pin et de frêne (fraxinus Excelsior) du sillon mosellan ; grade de docteur en sciences mention toxicologie de L'environnement université de METZ-UFR sci F.A ; Metz ; France.
- **MacFaddin, J. F. (2000).** Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria (3rd ed.). Lippincott Williams & Wilkins. (Ce manuel est une référence classique pour de nombreux tests biochimiques en microbiologie.)
- **MarcucciM.C; 1995;** Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity ; Apidologie ; vol26(2) p. 83-99.
- **Martin N.H., Trmčić A., Hsieh T-H., Boor K.J. et Wiedmann M., (2016).** The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. Frontiers in Microbiology, 7, 1549.

- **Martin N.H., Trmčić A., Hsieh T-H., Boor K.J. et Wiedmann M., (2016).** The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1549.
- **MESSAID.H et al ; 2008.**Optimisation du processus d’immersion-réhydratation su système datte sèche ; jus d’orange. Mémoire de Magister. En Technologie alimentaire .Universté Mhammed Bougara Boumerdes .
- **Montville, T. J., & Matthews, K. R. (2008).** Food microbiology: An introduction (2nd ed.). ASM Press.
- **Morais, M., Moreira, L., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2021).** Natural bee pollen: Biological properties and nutritional value. *Current Opinion in Food Science*, **37**, 121–129.



- **Nicolson S.W., (2011).** Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two, *zoologie africaine*.46 (2), 197-204.
- **Nkere, C.K., Ibe, N.I., Iroegbu, C.U., 2011.** Bacteriological quality of foods and water sold by vendors and in restaurants in Nsukka, Enugu State, Nigeria: a comparative study of three microbiological methods. *Journal of health, population, and nutrition* 29, 560.



- **OMS., (2000).** Directive de qualité pour l’eau de boisson ; volume 2-critères d’hygiène et documentation à l’appui. Organisation mondiale de la santé, 2e Edition, 1050p.



- **Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017).** Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2017**, Article ID 1259510.
- **Paul Peacock, Marabout, 2011.** L'apiculture mode d'emploi, Grande Bretagne, ISBN : 978-2-501-07274-8 p15.35
- **PHILIPPE J.M., 1993.** Le guide de l'apiculture. Ed. Edisud. 329p
- **Philippe, G. (1999).** Étude physico-chimique du pollen et ses propriétés biologiques. Thèse de doctorat, Université de Montpellier.
- **Pierre Jean -Prost, 2005.**L'apiculture. connaitre l'abeille .conduire le rucher.7eme Edition. Lavoisier : 429-437
- **Pilet, M. F., & Gontard, N. (2000).** Les flores altérantes des produits alimentaires. Industries Alimentaires et Agricoles, 117(7), 11–18.
- **Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009).** Fungi and Food Spoilage (3rd ed.). Springer.
- **PONS A. "Le Pollen". 1970.** Que sais-je ? Le point des connaissances actuelles, no 783, Paris, (2e ed).
- **PROST J.P ; LE CONTE Y (2005).** Apiculture : connaître l'abeille. Ed. Technique et documentation, Lavoisier, PARIS. Pp 579 -600.

Q

- **QUIRANTES R., SEGURA-CARRETERO A. and FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A. (2007).** Identification of phenolic compounds from pollen extracts using capillary electrophoresis–electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 389,1909–1917

R

- **Ravazzi G., (2003).** Les autres produits de la ruche In « Abeilles et apiculture ». Ed: VECCHI, 118-121
- **Renault- Miscovsky J, 2015.** La biodiversité végétale Menagée, le pollen en témoin, Edition France 47, rue du docteur Fanton 13200 Ales.
- **Rodier J. (1996).** Analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires. 8ème édition, Paris, Dunod, 1130 p.
- **Roulston., (2000).** What governs protein content of pollen : pollinator preferences, pollenpistil interaction, or phylogeny. *Ecological Monographs* .v.70, p.617-643.
- **Ruttner F., 1968.** - Les races d'abeilles. In : *Traité de biologie de l'Abeille*, R. Chauvin ed. Paris, Masson, t 1 : 27-44
- **Rzepecka-Stojko, A., Kabala-Dzik, A., Kubina, R., & Stojko, J. (2022).** Bee pollen – Chemical composition and therapeutic application. *Nutrients*, 14(7), 1462.



- **Salifou, C., Boko, K., Ahounou, G., Tougan, P., Kassa, S., Houaga, I., Farougou, S., Mensah, G., Clinquart, A., Youssao, A., 2013.** Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 7, 1351-1369.
- **Serra Bonvehí, J., & Orantes-Bermejo, F. J. (2012).** Pollen: Nutritional value, benefits and safety. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(2), 406–412.
- **Serra Bonvehí, J., Soliva, M., & Ventura, F. (1986).** Composition of Spanish bee pollen. *Grasas y Aceites*, 37(5), 282–287.
- **Silva, L. R., Videira, R., Monteiro, A. P., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2020).** Bee pollen as a functional food: Nutritional composition and antioxidant properties. *Food & Function*, 11(6), 4962–4973.
- **Szczêsna, T., et al. (2010).** Moisture content and microbiological quality of bee pollen collected in Poland. *Journal of Apicultural Science*, 54(2), 109–119.



- **Thibault M., (2017).** Le pollen apicole : ses propriétés et ses utilisations thérapeutiques. *Sciences pharmaceutiques*.

- **Thibault Marion. Hal. 2017.** Open Science. Pollen Apicole, ses propriétés et ses Utilisations thérapeutiques et Sciences pharmaceutiques. France.P32.44
- **Tosi, E. A., Ré, E., Lucero, H., & Bulacio, L. (2004).** Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallization phenomena and fungal inhibition. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 37(6), 669–678.



- **UNE 23721 :2013.** Pollen apícola. Requisitos de calidad. Asociación Española de Normalización (AENOR)



- **Wendling S., 2012.** Varroa destructor (ANDERSON et TRUEMAN, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* LINNAEUS, 1758. Revuebibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction. Thèse de doctorat vétérinaire.Faculté de Médecine. Créteil. pp. 190
- **Winston ML., 1993.** La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont.Ed. Frison Roche. Paris. pp.276.



- Zuluaga, C. M., Martínez, A., & Fernández, J. (2015). Bee pollen: Nutritional and functional properties. *Alimentos Hoy*, 24(2), 40–45.
- محمد عباس عبد اللطيف,, 1994. عالم النحل. دار المعرفة الجامعية. الاسكندرية. ص: 289 – 510

Site web :

- (1)<https://www.apiculture.net/blog/tout-savoir-sur-le-faux-bourdon-n87#:~:text=Le%20cycle%20du%20faux%20bourdon&text=Ils%20atteindront%20leur%20maturit%C3%A9%20sexuelle,d'un%20%C3%A0%20deux%20mois> consulté le 7 mars 2025
- (2)<https://www.tigoo-miel.com/theme/tout-savoir-sur-les-abeilles/#:~:text=Par%20leur%20organisation%2C%20les%20abeilles,nombreuses%20esp%C3%A8ces%20v%C3%A9g%C3%A9tales%20et%20animales> consulté le 8 mars 2025
- (3)<https://www.tigoo-miel.com/theme/tout-savoir-sur-les-abeilles/#:~:text=Par%20leur%20organisation%2C%20les%20abeilles,nombreuses%20esp%C3%A8ces%20v%C3%A9g%C3%A9tales%20et%20animales> consulté le 8 mars 2025
- 4)<http://www.encyclopollens.fr/la-face-cachee-des-pollens/la-carte-didentite-du-pollen/qu-est-ce-que-le-pollen/> consulté le 8 mars 2025
- (5)https://biologiemarine.com/___fiches/APIpdf/api%20Staph-_07468_-_K_-_fr_-_20500.pdf consulté le 23 /04/2025
- (6)http://www.techmicrobio.eu/documentation_fabricants/Biomerieux%20et%20API/Staphylococcus/API%20Staph.pdf consulté le 23 /04/2025

Web graphie :

- <https://mesabeilles.fr/les-abeilles/anatomie-et-biologie-dune-abeille>
- <https://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/dossiers-thematiques/epigenetique/epigenetique-de-labeille/les-castes-dune-societe-dabeilles-melliferes> acces.ens-lyon.fr
- <https://www.kartable.fr/ressources/svt/exercice-de-connaissances/schematiser-un-etamine/58641/144067> www.kartable.fr
- <https://www.abeillesentinelles.net/les-abeilles/la-pollinisation>
- <https://souslemicroscope.com/coloration-de-gram/>
- <https://microbiologie-clinique.com/Coloration-bleu-methylene.html>
- <https://microbenotes.com/catalase-test-principle-procedure-and-result-interpretation/>
- <https://microbenotes.com/oxidase-test-principle-procedure-and-results/>

Annexes



Annexe I : Étapes d'échantillonnage du pollen issus de l'université dans les cadres de ruche

Annexes

Annexes II



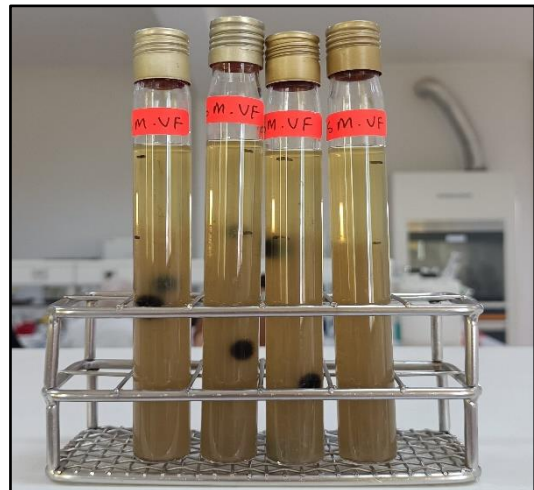
Annexes II : Résultats de Flore mésophile aérobie totale (FMAT) obtenus sur milieu PCA



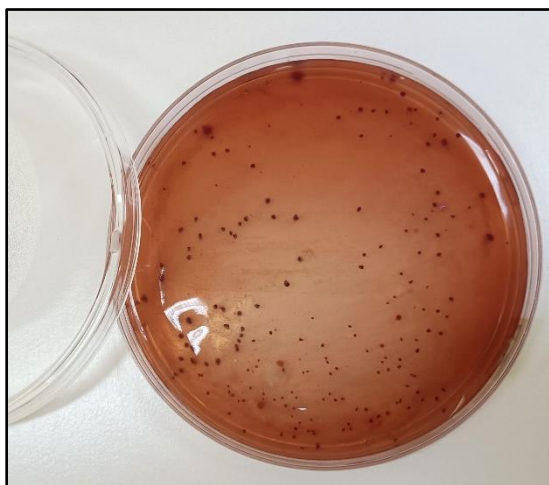
Annexes II : Résultats des levures et moisissures obtenus sur milieu OGA



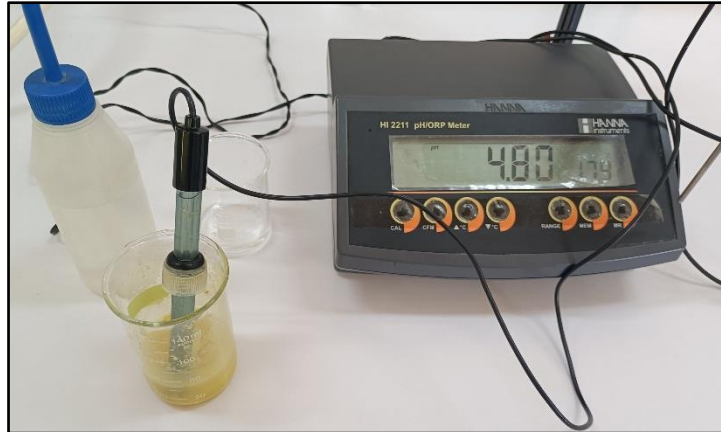
Annexes II : Résultats des staphylocoques obtenus sur milieu Chapman



Annexes II : Résultats des ASR obtenus sur gélose Viande foie



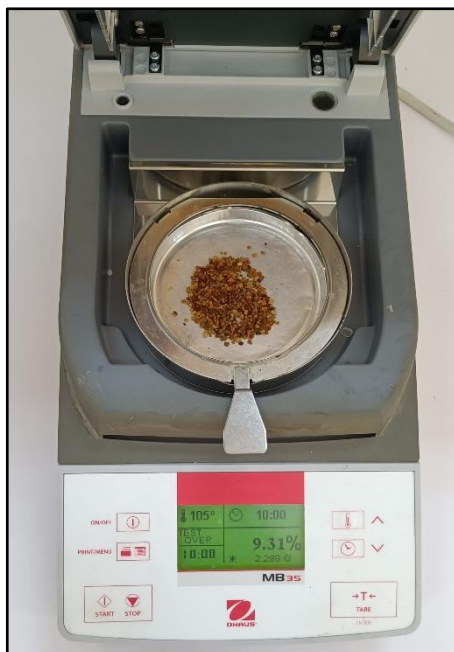
Annexes II : Résultats des coliformes totaux obtenus sur milieu VRBL



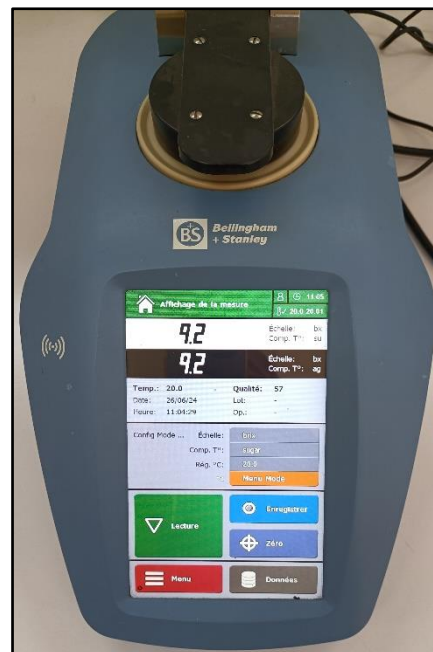
Annexes II : Résultats de pH lorsque s'affiche sur l'écran de l'appareil



Annexes II : Les étapes de la mesure des taux de cendre



Annexes II : Résultats de teneur en eau lorsque s'affiche sur l'écran de l'appareil



Annexes II : Résultats de taux de Brix lorsque s'affiche sur l'écran de l'appareil



Botanical Origin, Microbial Quality, and Physicochemical Characteristics of Pollen from Eastern Algeria



Yousra BOUTARFA¹, Ines DERGHOU¹, Kamel ROUABHIA^{1,2}, Hassen TOUATI^{1,2}, Yassine GUEROUI^{3,4}, Aissam BOUSBIA^{1,2}, Sofiane BOUDALIA^{1,2,*}



¹ Département d'Ecologie et Génie de l'Environnement, Université 8 Mai 1945 Guelma BP 401, Guelma 24000, Algeria

² Laboratoire Biologie, Eau et Environnement, Université 8 Mai 1945 Guelma BP 401, Guelma 24000, Algeria

³ Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université 8 Mai 1945 Guelma BP 401, Guelma 24000, Algeria

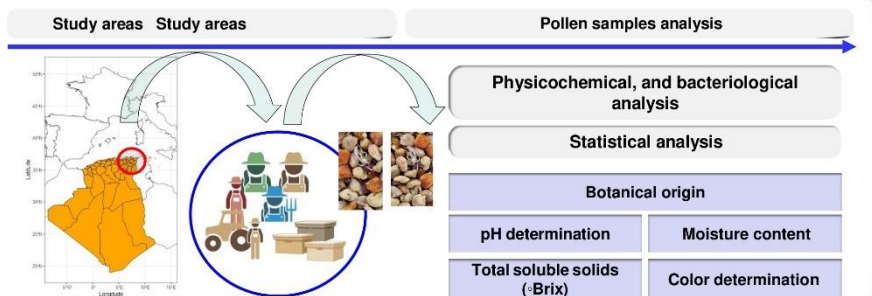
⁴ Laboratoire Génie Civil et Hydraulique (LGCH), Université 8 Mai 1945 Guelma BP 401, Guelma 24000, Algeria

Introduction

Pollen is a valuable apicultural product with significant economic, nutritional, and therapeutic importance, particularly for local beekeepers. It serves not only as a natural health supplement but also has potential applications as an ingredient in animal feed. The quality of pollen, however, is highly influenced by various environmental conditions and anthropogenic factors, including pollution and handling practices. Ensuring its safety and nutritional integrity is therefore essential for both human and animal consumption. In this study, we evaluated pollen samples collected from eastern Algeria to determine their botanical origin and assess their microbiological and physicochemical quality. A comparative approach was adopted to distinguish between pollen harvested within a university environment (Urban) and those sold in local markets.

Material and methods

- ✓ Pollen samples were collected from two sources in eastern Algeria: university environments (Urban) and market.
- ✓ Botanical origin was identified using microscopic analysis. Physicochemical parameters (moisture, ash content, pH, and Brix) were measured using standard methods.
- ✓ Microbiological analysis checked for bacteria, yeasts, molds, and pathogens.
- ✓ Statistical analysis was performed to compare differences between samples. The results are expressed as the mean $\pm$ SD (Standard Deviation). ** indicate significant differences according to the Wilcoxon test, and Spearman's rank correlation test was used to assess the correlation ($p < 0.05$).

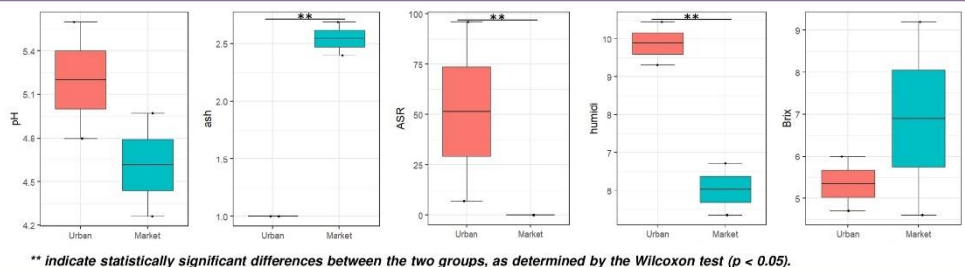


Results

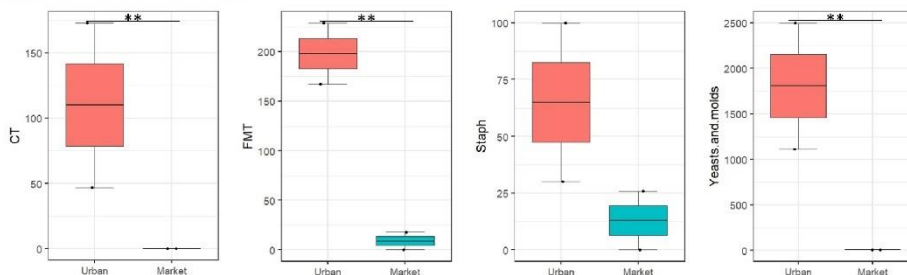
Physicochemical parameters

- The dominant botanical families identified were Fabaceae, Myrtaceae, and Anacardiaceae.
- Physicochemical analyses showed variations in moisture (5.35–10.45%), ash (1.80–3%), pH (4.26–4.97), and Brix (4.6–9.2).

- ✓ Pollen samples met the required standards for physicochemical aspects



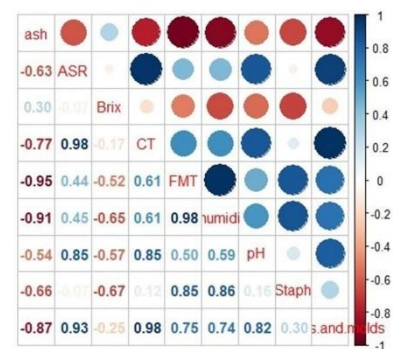
Bacteriological parameters



** indicate statistically significant differences between the two groups, as determined by the Wilcoxon test ($p < 0.05$).

- Microbiological results revealed no presence of harmful microorganisms, including bacteria, molds, yeasts, and common pathogens.
- Significant differences between the two sources suggest the influence of storage conditions, botanical origin, and possible contamination.

- ✓ Pollen samples met the required standards for bacteriological aspects



No significant difference was observed in the correlation of the analyzed elements between the two groups.

Conclusion and perspectives

This study reveals notable variability in pollen quality based on its source, influenced by storage conditions, botanical origin, and environmental factors. While the absence of microbial contamination reflects good hygiene practices, significant differences between university (Urban) and market samples highlight the need for standardized quality control. Environmental stressors, including pollution may also affect pollen composition. These changes could negatively impact bee health and productivity. Ensuring the sustainability of pollen production requires continuous monitoring. Adapting beekeeping practices to environmental challenges is essential. Education, improved handling, and regulatory oversight will support long-term resource preservation.

References:

- Honey Quality and Production Under Climate Change Uncertainty: Preliminary Study from Algeria. Proceedings of the 1st International Conference - BeSafeBeeHoney (Beekeeping Products Valorization and Biomonitoring for the SAFETY of BEES and HONEY). Bee World. 2024;101(3):4182-108. 10.1080/0005772x.2024.2434330
- Heavy metals in honey and poultry eggs as indicators of environmental pollution and potential risks to human health - Journal of Food Composition and Analysis, 119, 105255 (2023).
- Climate-Smart Agriculture in African Countries: A Review of Strategies and Impacts on Smallholder Farmers - Sustainability 14, no. 18: 11370. (2022). <https://doi.org/10.3390/su141811370>



2nd International Conference BeSafeBeeHoney

BeeForward: Exploring Beekeeping Innovations and Science

* corresponding author: sofiane.boudalia@hotmail.com

May 06 – 07
Sarajevo, Bosnia-Herzegovina



Funded by the European Union

