QUALITE MICROBIOLOGIQUE DU POLLEN PRODUIT PAR LES APICULTEURS ET COMMERCIALISE EN ALGERIE

N. ADJLANE ^{1,2}, L.M. HADJ ALI ¹, M. BENAMARA¹, O. BOUNADI ¹, N. Haddad ³

¹*Département de Biologie, Université M'hamed Bougara de Boumerdes, Algérie*

²*Laboratoire Biologie et physiologie Animale, ENS de Kouba, Alger, Algérie*

³*Bee Research Department, National Center for Agriculture Research and Extension, Baq'a, Jordan.*

Auteur correspondant : Nouredine Adjlane : adjlanenouredine@hotmail.com

RESUME

D'un point de vue hygiénique, la valeur microbiologique du pollen est le principal critère de qualité. Il est alors nécessaire de contrôler sa charge microbienne et en particulier l'absence des germes pathogènes et fongiques. Pour ce faire, des analyses microbiologiques ont été effectuées sur huit types d'échantillons du pollen de différentes régions. Les résultats obtenus ont montrés une grande variation dans la qualité microbiologique entre les échantillons. En effet, les concentrations en coliformes totaux qui oscillent entre 08 et 300.10³ UFC/g, les germes aérobies mésophiles totaux sont présents à une concentration entre 01 et 420.10³ UFC/g, les levures et les moisissures sont estimées entre 15 et 280 .10³ UFC/g. On note par ailleurs, l'absence totale de coliformes fécaux, des salmonelles et de staphylococcus dans l'ensemble des échantillons analysés. La qualité de la plupart des échantillons est acceptable sauf pour deux échantillons où les résultats obtenus dépassent les normes .

Mots clés : Pollen, qualité microbiologique, Abeille mellifère, Algérie.

ABSTRACT : Microbiological quality of pollen produced by beekeepers and commercialized in algeria

From a hygienic point of view, the microbiological value of pollen is the main quality criterion. It is then necessary to control the microbial load, in particular the absence of pathogenic and fungal germs.

The microbiological quality of the pollen produced by beekeepers and marketed in Algeria is the objective of this study. Microbiological analyzes were carried out on eight sample types of pollen from different regions harvested by the bee. The results obtained showed concentrations of total coliforms which ranged between 08 and 300.103 UFC / g and those of fecal coliforms were absent. The total mesophilic aerobic organisms were found at a concentration between 01 and 420.103 UFC / g. Yeasts and molds represent between 15 and 280.103 UFC / g. The total absence of salmonella and staphylococcus was noted in all the samples analyzed.

The results obtained showed a great variation in the microbiological quality between the samples. The quality of most samples is acceptable except for two samples where the results exceeded the standards (Samples 1 and 5).

Keywords: Pollen, microbiological quality, Bee honey, Algeria,

INTRODUCTION

Les produits de la ruche (miel, pollen, gelé royal ...) sont appréciés sur le plan alimentaire, médicinal et industriel. Leur consommation a augmenté au cours des années grâce aux divers effets bénéfiques qu'ils procurent à la santé. Le pollen est un des produits de la ruche qui représente une multitude de corpuscules microscopiques contenus dans les sacs polliniques de l'anthere de la fleur. Ces grains minuscules constituent les éléments fécondants mâles de celle-ci (Stanciu *et al.*, 2009). C'est un produit de plante très riche en hydrates de carbone, protéines, enzymes, sucres, acides aminées ...etc. (Serra et Alegret, 1986).

L'abeille récolte du pollen sur les étamines des fleurs et le transporte dans les cellules où elle triture les pelotes avec sa tête et y ajoute une petite quantité de miel et de la salive. Ce mélange est soumis à des processus biochimiques et des actions microbiologiques, afin qu'il se transforme en pain d'abeille (Pitta et Markaki, 2010). Le pollen récolté par les abeilles contient environ 20 à 30g d'eau par 100g de pollen

(Bogdanov, 2004; Campos *et al.*, 2008) . Cette humidité est un idéal facteur pour le développement des microorganismes tels que les bactéries, les levures et les moisissures. Ainsi pour bien le conserver, les pelotes de pollen doivent être séchées tout de suite après la récolte. Le taux d'humidité passe alors en moyenne d'environ 25% à 11%. Il convient de conserver le pollen dans un endroit sombre et sec (Pitta et Markaki, 2010).

Le pollen est un produit particulièrement sensible, s'il est mal conditionné, il peut présenter de réels risques alimentaires. C'est un milieu biologiquement très actif, il est exposé à des contaminations microbiennes. Ces dernières peuvent être attribuées à diverses sources : les abeilles mellifères, l'environnement, les insectes et les humains. A cet effet, le contrôle de la qualité microbiologique du pollen produit et commercialisé par les apiculteurs est primordial. Une seule étude a été faite en Algérie sur 3 échantillons provenant de 3 régions différentes en 2012 (Belhadj *et al.*, 2012). Notre étude a pour but d'analyser la qualité microbiologique de quelques échantillons du pollen commercialisé en Algérie par les apiculteurs. Ce genre d'analyse microbiologique est indispensable non seulement pour assurer une bonne qualité hygiénique et une bonne conservation mais aussi pour garantir la sécurité sanitaire du consommateur.

MATERIEL ET METHODES

Origines des pollens

L'étude a été faite sur 9 échantillons de pollen commercialisés par des apiculteurs du centre d'Algérie. 2 de la région de Blida (1, 2), deux de Bouira (3,4), deux de Tipaza (5,6), un de Boumerdes (7) et un de la région d'Alger (8).

Les germes recherchés sont les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les germes aérobies mésophiles totaux (FAMT), les germes anaérobies totaux, les levures et les moisissures, ainsi que les salmonelles et les staphylocoques.

Analyses microbiologiques

La solution mère est préparée en introduisant de façon aseptique, 25g du broyat de pollen dans 225ml de diluant qui est l'eau physiologique. À partir de la solution mère on prépare les dilutions décimales 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}

Dans chaque échantillon du pollen, 8 groupes microbiens sont dénombrés en milieu solide. Ils et 'isoles sur milieux de culture spécifiques ou d'enrichissement (Campos *et al.*, 2008).

- La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est dénombrée sur gélose PCA (Plate Count Agar) par ensemencement en profondeur de 1ml des dilutions et incubation à 30°C pendant 72h.

- Les coliformes sont recherchés sur gélose lactosée et citratée au désoxycholate (DLC) à 1‰ incubés 24 à 48 heures à 30°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux.

- Les levures et les moisissures sont dénombrées sur le milieu Sabouraud glucosé à 4 % et incubées 5 jours à la température ambiante d'environ 25°C.

- *Staphylococcus aureus* sont dénombrés sur la gélose de Baird Parker additionnée au jaune d'œuf et au tellurite de potassium et incubés 48 heures à 37°C. Seules les colonies entourées d'un halo jaune brillant à centre noire sont dénombrées.

-Les salmonelles, on réalise un pré-enrichissement de 25 ml de lait sur milieu B.L.M.T (bouillon lactose « mannitol » tamponné+ additif B.L.M.T, 24 heures à 37°C, suivi d'un enrichissement sur bouillon au sélénite de sodium (S.F.B) 24 heures à 37°C.

RESULTATS ET DISCUSSION

Nos résultats de la qualité bactériologique du pollen sont rassemblés dans le tableau I. On note l'absence des coliformes fécaux, de staphylococcus aureus et les staphylococcus chez l'ensemble des échantillons étudiés. Par contre, une corrélation a été faite entre l'origine de l'échantillon et la concentration en coliforme totaux, en flore

aérobie et anaérobie mésophile totale, et en levures et moisissure.

Tableau I : Les résultats des analyses microbiologiques du pollen (10^3 ufc /g)

	Echan 1	Echan 2	Echan 3	Echan 4	Echan 5	Echan 6	Echan 7	Echan 8
Les coliformes totaux	300	25	22	01	95	6	65	08
Les coliformes fecaux (<i>Escherichia Coli</i>)	0	0	0	0	0	0	0	0
La flore aerobies mesophile totale (FMAT)	420	35	150	02	150	15	90	01
La flore anaerobies mesophiles totale	380	50	60	0	90	9	75	0
Levures et moisissures	280	25	50	60	110	10	40	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
Salmonella	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0

Pour les levures et moisissures, 3 échantillons (1, 4 et 5) sont en dessus de la norme ($>50\ 000$ /g). On note que c'est l'échantillon 1 qui présente le taux le plus élevé avec 280.10^3 UFC/ g. Pour les FMAT, 3 échantillons (1, 3 et 5) dépassent la norme recommandée ($> 100\ 000$). le pollen d'échantillon 01 (région de Blida) a présenté un nombre de colonies (420.10^3 UFC/g) 28 fois supérieur que celui présenté dans l'échantillon 06 de la région de Boumerdès (15.10^3 . UFC/g) et 04 fois supérieur que celui trouvé dans l'échantillon 07 (90.10^3 UFC/g). Par contre les échantillons 03 et 05 (régions de Bouira et de Tizi Ouzou) présentent un nombre de colonies moyen de 150.10^3 UFC/g.

Le tableau I montre que cinq échantillons (02, 03, 04, 06, 07 et 08) contiennent moins de 65.10^3 UFC/g des coliformes totaux.. Deux échantillons (01, 05) contenaient plus de 65.10^3 UFC/g. C'est la limite de quantification supérieure. La prévalence des coliformes totaux dans l'échantillon 1 (région de Blida) dépasse la norme recommandée

qui est au Max 10^5 UFC/g.

Belhadj *et al.* (2012) ont signalé la présence des staphylocoques dans le pollen de Blida ($27,3 \cdot 10^3$ UFC/g), ce qui fait de ce pollen un complément alimentaire à risque pour la consommation. Ces mêmes auteurs ont montrés que le nombre de germes aérobies totaux était de (620×10^3 , 470×10^3 UFC/g), pour les régions de Sétif, Blida respectivement. Ces chiffres sont supérieurs aux résultats obtenus dans notre étude.

Cependant, de nombreuses études ont été menées pour déterminer les micro-organismes associés avec le pollen. Gilliam *et al.* (1989) ont identifié plus de six genres de levures (*Cryptococcus*, *Kloeckera*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Hansenela*) à partir du pollen d'amande. La majorité des moisissures identifiées à partir du pollen aussi par Gilliam *et al.* (1989) étaient *Penicillia*, *mucorals* et *aspergilli*. Gonzales *et al.* (2005) ont identifié certaines espèces de la flore fongique comme *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus Niger agrégées*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Alternaria spp.* De Mello *et al.* (2015) ont obtenu des valeurs de $2 \cdot 80 \times 10^3$ CFU/ g pour les coliformes totaux, et $7 \cdot 67 \times 10^3$ UFC/g pour les levures et les moisissures. Une étude a été faite en Italie sur la présence des champignon dans 40 échantillons du pollen a montré que tous les échantillons de pollen étaient positifs pour au moins un isolat fongique (Nardoni *et al.*, 2016). Rodríguez-Carrasco *et al.* (2013) ont montrés la présence des mycotoxines dans le pollen d'abeilles par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse en tandem. Deveza et la (2015) ont détecté un nombre très important de mycotoxines dans les échantillons du pollen en Brazil .Le processus de la production du pollen comprend la récolte, le séchage, le nettoyage, l'emballage et le stockage. Néanmoins la contamination microbienne peut être le résultat d'une mauvaise manipulation lors de ce processus (Brindza *et al.*, 2013). Gonzalez *et al.* (2005) ont conclu dans leur étude que l'étape la plus critique est la collecte du pollen des pièges où les risques de

contamination sont hautement élevés. La contamination du pollen peut se produire pendant la production, la collecte et la transformation (Satller *et al.*, 2015). Turhan et al (2014) ont montré a travers une etude que les mauvaises conditions de stockage diminue la qualité microbiologique du pollen Naturellement, les grains de pollen contiennent des substances antimicrobiennes (flavonoïdes,acides phénoliques et d'autres composés phyto-chimiques) ainsi que des inhibiteurs de germination des spores microbiens (Feas *et al.*, 2012). La croissance et la sporulation de la flore fongique, à la fois sur les cultures permanentes et en grains stockés, sont largement tributaires des facteurs environnementaux (Siuda *et al.*, 2012). Le plus important déterminant est probablement l'activité de l'eau et la température (Bogdanov, 2004).

CONCLUSION

Cette étude est une contribution à la détermination microbiologique du pollen local, les résultats ont montré que quelques échantillons dépassent les normes recommandées, Plusieurs facteurs de risque liés à cette variabilité de la qualité hygiénique du pollen. Au niveau du rucher et de la miellée : le manque d'hygiène dans la chaine de production du pollen (récolte, séchage, mise en pot), au niveau des points de vente : une mauvaise conservation du produit. Il est important de considérer que ces micro-organismes peuvent causer la détérioration et diminuer la durée de conservation, raison pour laquelle des programmes de contrôle de la qualité devraient être mis en œuvre.

A cet effet, d'autres études sont prévues pour mettre en évidence surtout les relations entre les conditions de récolte, de stockage et la qualité microbiologique, ceci afin de déterminer l'influence de l'apiculteur dans la détérioration de la qualité du pollen.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Belhadj H., Bouamra D., Dahamna S., Harzallah D., Ghadbane M., Khennouf S., (2012).** Microbiological Sanitary Aspects of Pollen. *Adv in Env Biol*, 6(4): 1415- 1420.
- Brindza J, Gróf J, Bacigálová K, Ferianc P, Tóth D. (2013)** Pollen microbial colonization and food safety. *Acta Chim Slov.* 3: 95–102
- Bogdanov, 2004.** Quality and Standards of Pollen and Beeswax. *APIACTA*, 38, 334-341.
- Campos, M.G.R.,S. Bogdanov, L.B.Almeida-Muradian, T. Szczesna, Y. Mancebo, C. Frigerio, F. Ferreira (2008).** Pollen composition and standardization of analytical methods. *J. Apic. Res.* 47(2):156-163.
- De-Melo, A.M.M., Estevinho, M.F., Almeida-Muradian, L.B. (2015).** A diagnosis of the microbiological quality of dehydrated bee-pollen produced in Brazil. *Letter. in Appl. Microbiol.*, 61(5) : 477-483
- Deveza, M.V., Keller, K.M., Lorenzon, M.C.A., Nunes, L.M., Sales, E.O., Barth, O.M. (2015)** Mycotoxicological and palynological profiles of commercial brands of dried bee pollen. *Braz. J. of Microbiol.*, 46, 4, 1171-1176.
- Feás, X., Vázquez-Tato, M.P., Estevinho, L., , Seijas, L.A., Iglesias. A. (2012).** Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. *Molecules*, 17(7), 8359-8377
- Nardoni, S., D’Ascenzi, C., Rocchigiani, G., Moretti, V., Mancianti, F. (2016).** Occurrence of moulds from bee pollen in Central Italy – A preliminary study. *Annals of Agric. and Env. Med*, 23 (1), 103–105.
- Siuda M., Wilde J., Bąk T. (2012)** The effect of various storage methods on organoleptic quality of bee pollen loads. *J. of Apic. Scie.* 56(1): 71-79.
- Gilliam, D. B. Prest, B. J.1989** Lorenz. Microbiology of pollen and bee bread : taxonomy and enzymology of molds. *Apidologie*, , 20 (1), .53-68.
- Gonzalez, G., M.J. Hinojo, M.J., Mateo, R., Medina, A., Jimenez, M. 2005.** Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. *Int. J. of Food. Microbiol.* 105(1):1-9.

- Sattler, J.A.G., de Melo, I.L.P., Granato, D., Araújo, E., de Freitas, A.S., Barth, O.M., Sattler, A., de Almeida-Muradian, L.B. (2015).** Impact of origin on bioactive compounds and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil: A screening study, *Food Res Internal*, 77, 82.
- Stanciu, O.G., L.A. Mărghitas, D. Dezmirean, 2009.** Macro- and Oligo-Mineral Elements from Honeybee-Collected Pollen and Beebread Harvested from Transylvania (Romania). *Bul UASVM An. Sci. Biotec.*, 66(1-2): 276-281.
- Serra B, Alegret L. 1986.** Etude microbiologiques du pollen d'abeilles. *Rev Franç. Apic.* 79: 259-266.
- Rodríguez-Carrasco, Y., Font, F., Mañes, J., Berrada, H. (2013).** Determination of Mycotoxins in Bee Pollen by Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 61 (8), pp 1999–2005.
- Turhan, S., Yazici, F., Saricaoglu, F.T., Mortas, M., Gencelep, M. (2014).** Evaluation of the Nutritional and Storage Quality of Meatballs Formulated with Bee Pollen. *Korean J Food Sci Anim Resour.* ,34(4): 423–433.
- Pitta M. Markaki P. 2010.** Study of aflatoxin B1 production by *Aspergillus parasiticus* in bee pollen of Greek origin. *Mycotox Res.* 26:229–234.