

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahlab Blida -1-
Institut des sciences vétérinaires



Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur vétérinaire

Etude de synthèse sur les travaux réalisés sur la propolis en Algérie

Présenté par :

- LARBI Sadia
- HAMDI Lynda

Devant le jury :

Président:	Mr SALHI Omar	MAA	ISVB
Examineur:	Mr BESBACI Mohamed	MAA	ISVB
Promoteur:	Mr KAIDI Rachid	Professeur	ISVB

Année universitaire : 2017/2018

Résumé

La propolis, un produit résineux de la ruche que les abeilles fabriquent à partir des bourgeons et feuilles d'arbres et des plantes variées. Elle est utilisée par les abeilles dans la ruche comme une barrière protectrice contre leurs ennemis, on la trouve à l'entrée de la ruche. Les premières traces de la propolis remontent à l'Égypte antique, et depuis, les civilisations l'ont utilisé comme remède jusqu'au temps présent. Les chercheurs n'ont cessé de démontrer toutes ces vertus.

La composition de la propolis assure toutes ces propriétés biologiques : antibactérienne, antifongique, anti-oxydante, antiparasitaire, anti-inflammatoire, et même anti-tumorale, ainsi que d'autres pathologies.

Notre travail est une synthèse des différents résultats obtenus en Algérie, sur la composition de la propolis et ses caractéristiques physico-chimiques variant selon le facteur climatique, géographique et le couvert végétale. Ces variations influenceront à leur tour l'activité biologique de la propolis.

Mots clés : propolis, activités biologiques, compositions, abeilles.

Abstract

Propolis is a resinous product of the hive that bees make from buds and leaves of trees and various plants. It is used by bees in the hive as a protective barrier against their enemies, it is found at the entrance of the hive. The earliest traces of propolis date back to ancient Egypt, and since civilizations have used it as a remedy until the present time, researchers have continually demonstrated all these virtues.

The composition of propolis ensures all these biological properties: antibacterial, antifungal, anti-oxidant, antiparasitic, anti-inflammatory, and even antitumor, as well as other pathologies.

Our work is carried out on the different results obtained in Algeria, on the composition of propolis and its physicochemical characteristics varied according to climatic, geographical and vegetal factors, which will in turn influence the biological activity of propolis.

Key words: propolis, biological activities, composition, bees.

الملخص

دنج ، وهو منتج راتيني من الخلية التي يصنعها النحل من براعم وأوراق الأشجار والنباتات المختلفة. يتم استخدامه من قبل النحل في الخلية كحاجز واقى ضد أعدائهم ، يتم العثور عليه عند مدخل الخلية. تعود أقدم آثار دنج إلى مصر القديمة ، ومنذ أن استخدمتها الحضارات كعلاج حتى الوقت الحاضر ، وقد أظهر الباحثون باستمرار كل هذه الفضائل.

تكوين دنج يضمن كل هذه الخصائص البيولوجية: مضاد للجراثيم ، مضاد للفطريات ، مضاد للأكسدة ، مضاد للطفيليات ، مضاد للالتهاب ، بل ومضاد للأورام ، بالإضافة إلى أمراض أخرى.

يتم عملنا على النتائج المختلفة التي تم الحصول عليها في الجزائر ، على تكوين دنج وخصائصها الفيزيائية الكيميائية المتنوعة وفقا للعوامل المناخية والجغرافية والنباتية ، والتي بدورها تؤثر على النشاط الحيوي للدنج.

الكلمات المفتاحية: الدنج، الخصائص البيولوجية، التركيبية، النحل.



Remerciements

En premier lieu, on remercie Dieu, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

*Nous adressons tout d'abord nos remerciements les plus sincères, à notre promoteur **Pr Kaidi Rachid**, pour son aide et son grand soutien et ses conseils considérables, et nous remercions **Mme Belguendouse R** pour son aide et ses conseils.*

Nous voudrions également remercier les membres du jury :

*Le président **Mr Salhi Omar** et l'examineur **Mr Besbaci Mohamed** pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour toutes leurs remarques et critiques.*

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tous ceux qui ont participé de réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants et tous ceux qui nous ont aidé et ont contribué à notre formation.

Dédicace

C'est avec une profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail à mes chers parents, pour tout leur amour et leur effort et soutien, qui m'ont poussé à aller de l'avant, je vous dis merci pour tout et je vous aime.

*Je dédie aussi ce travail à mes **frères** et **sœurs** et leurs **enfants**.*

*A l'homme de ma vie **Hamid** que je remercie pour son soutien et tout le bonheur qui me procure.*

*A ma binôme **Ahlem** « **el hayla** » et ma copine fofolle **Nabila** pour les bons moments qu'on a passés pendant ces cinq années à la cité,*

Et surtout « 3mi Amar », qui était notre remonte morale durant toutes ces années passées à Blida

Sans oublier Poline qui nous a sauvée cette année,

Et à toutes mes amies.

LYNDA

Dédicace

A mon père,

Toi qui m'as nourri de courage et d'amour pour toutes les étapes importantes de ma vie

A ma mère,

Pour ton soutien permanent, ta motivation et tes encouragements

A mes frères,

Vous étiez toujours là pour moi

A mes sœurs,

Vous êtes les meilleures sœurs du monde, que cela dure aussi longtemps...

Mes neveux et nièces, une source de joie mais également un cassement de tête

A Lynda et Nabila,

A tout ces moments passés ensemble, à nos fou rires et nos repas partagé, nos révisions et à tout ce qu'on a laissé inachevé..

Et Mes amies : Kenza, Lila, Yasmine et Amina pour être mes idiotes préférées du monde.

Dieu vous bénisse et vous garde pour moi.

AHLEM

Liste des figures

Figure 1 : Résine de pin.	6
Figure 2 : Récolteuse de propolis.....	11
Figure 3 : Récolte de propolis par grattage du cadre	12
Figure 4 : Récolte par grilles	12

Liste des tableaux

Tableau 1 : Propolis des zones tempérée	7
Tableau 2 : Propolis des zones tropicales.....	7
Tableau 3 : Comparaison entre la composition de Peuplier (<i>Populus nigra</i>) et celle de la propolis	8
Tableau 4 : Composition chimique de propolis purifiée	18
Tableau 5 : Pourcentages des composés de la propolis algérienne	19
Tableau 6 : Les flavonoïdes identifiés dans la propolis	21
Tableau 7 : Influence de la région sur la teneur en flavonoïdes de la propolis d'abeille.....	22
Tableau 8 : Les acides aliphatiques détectés dans la propolis	23
Tableau 9 : Influence de la race d'abeille sur la composition en acide aliphatique de la propolis.....	23
Tableau 10 : La composition en acide aromatique selon la race d'abeille	23
Tableau 11 : La composition de la propolis en esters aromatiques.....	25
Tableau 12 : Les sucres et les sucres alcooliques de la propolis	25
Tableau 13 : L'influence de la région géographique sur la composition en sucre de la propolis.	25
Tableau 14 : Composition minérale de quelques échantillons de propolis de l'Argentine...26	
Tableau 15 : Les pertes pendant le séchage et le pourcentage de la matière sèche des échantillons de propolis	26
Tableau 16 : Taux des cendres et de la matière organique de la propolis	29
Tableau 17 : Masse volumique des différents échantillons de propolis.....	29
Tableau 18 : Comparaison du pH entre les trois groupes	31
Tableau 19 : Acidité des différents échantillons de propolis	32
Tableau 20 : Teneur en polyphénols des différents échantillons de propolis.....	33
Tableau 21 : La teneur en flavonoïdes des différents échantillons de propolis	34
Tableau 22 : Teneur de l'acide ascorbique des différents échantillons de propolis.....	35
Tableau 23 : Teneur en sucres totaux et réducteurs des différents échantillons de propolis.	36

Tableau 24 : Teneur en protéines solubles des différents échantillons de propolis.....	37
Tableau 25 : Teneur moyenne des métaux analysés.....	39
Tableau 26 : Effets de la propolis contre les micro-organismes pathogènes et virus.....	41
Tableau 27 : Les diamètres des zones d'inhibition obtenues.....	44
Tableau 28 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations a 5%.....	46
Tableau 29 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 10%.....	46
Tableau 30 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations a 20%.....	46
Tableau 31 : Résultat des zones d'inhibition des témoins positives.....	47
Tableau 32 : Résultat des zones d'inhibition des témoins négatives (Tween 80).....	47
Tableau 33 : Les différentes CMI et CMB observées sur les souches testées.....	48
Tableau 34 : Variation du pourcentage de la réduction de la surface des plaies 1 et 3.....	51
Tableau 35 : Les diamètres observés de la zone d'inhibition.....	52
Tableau 36 : Les diamètres de la ZI observés.....	52
Tableau 37 : Les valeurs CMI et CMB observées.....	52
Tableau 38 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons (5%, 10%, 20%).....	53

Liste des abréviations :

EEP : Extrait éthanolique de la propolis.

EAP : Extrait aqueux de la propolis.

CMI : Concentration minimale d'inhibition

CMB : Concentration minimale bactéricide

GS : Gélose sanguine

TSA : Gélose tryptique de soja

R : Résistant

CCM : Chromatographie sur couche mince.

ZI : Zone d'inhibition

Mm : Millimètre

ml : Millilitre

ATCC : American Type Culture Collection

MS : Matière sèche

ET : Ecart type

CAPE : L'acide caféique ester phénéthyle

MHz : Méga Hertz

UV : Ultra-violet

Ppm : Particule

PS : Phase solide

PL : Phase liquide

[C] : Concentration

Sommaire

Introduction	1
I.1. Historique	3
I.2. Définition et étymologie	4
I.3. Origine de la propolis	5
I.3.1. Une origine interne	5
I.3.2. Une origine externe	5
I.3.3. Une origine botanique	6
I.3.4. Origine de la propolis algérienne	8
I.4. Description organoleptique et physicochimique de la propolis	8
I.5. Récolte de la propolis	9
I.5.1. Récolte par l'abeille	9
I.5.1.1. Procédés de récolte	9
I.5.1.2. Condition de récolte par l'abeille	10
I.5.2. Récolte par l'homme	11
I.6. Conservation de propolis	12
I.7. Extraction	13
I.7.1. Méthodes d'extraction	13
I.8. Les formes galéniques de la propolis	14
I.8.1. La propolis naturelle, seule substance active	14
I.8.2. La propolis naturelles en association	15
I.8.3. Des extraits de propolis, seule substance active	15
I.8.4. Des extraits de propolis en association	15
I.8.5. Exemples de préparations magistrales	15
I.9. Utilisation de la propolis	16
I.9.1. Utilisation par l'abeille	16
I.10. Composition de la propolis brute	17
I.11. Composition et caractéristique physique et chimique de la propolis	19
I.11.1. Flavonoïdes	20

I.11.2. Les phénols	22
I.11.3. Acides aliphatiques	22
I.11.4. Les acides aromatiques	24
I.11.5. Esters aromatiques	24
I.11.6. Sucres de la propolis	25
I.11.7. Eléments minéraux de la propolis	26
I.11.8. Vitamines	26
I.11.9. Autres composés chimiques	27
II.1. Les méthodes d'analyse	27
II.1.1. Les méthodes d'analyses physiques	27
II.1.1.1. Détermination de taux des pertes pendant le séchage (NF T 60-305, Juin 1976).....	27
II.1.1.2. Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113, 1972)	28
II.1.1.3. La masse volumique	29
II.1.1.4. Le point de fusion (Norme NFT60 -226, Méthode 2)	30
II.1.2. Méthodes d'analyses chimiques	31
II.1.2.1. Détermination du pH (NF V 05-108, 1970)	31
II.1.2.2. Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)	31
II.1.3. Quantification de quelques composés principaux de la propolis	32
II.1.3.1. Dosage des polyphénols de la propolis	32
II.1.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes	33
II.1.3.3. Détermination de la teneur en acide ascorbique des extrais éthanoliques de la propolis.....	34
II.1.3.4. Dosage des sucres totaux	35
II.1.3.5. Dosage des protéines	36
II.1.3.5.1. Détermination de la teneur azote totale (Méthode de Kjeldahl)	36

II.1.3.5.2. Dosage des protéines solubles	37
II.2. Analyse de la composition de l'extrait de propolis	38
II.2.1. Analyse de la composition chimique de l'extrait éthanolique de la propolis par chromatographie sur couche mince (CCM)	38
II.2.2. Caractérisation des extraits de propolis par la résonance Magnétique et Nucléaire (RMN).....	38
II.2.3. Détermination de la teneur en éléments minéraux par spectroscopie d'absorption atomique	39
III. Activités biologiques.....	40
III.1. Activités antibactériennes	40
III.1.1. Activité antibactérienne étudiée par Soltani El khamza, 2017	42
III.1.2. Activité antibactérienne étudiée par (Blida 2016)	42
III.1.2.1. Mise en évidence de la présence ou non de la zone d'inhibition	43
III.1.2.2. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne	43
III.1.3. Activité bactérienne étudiée par (Blida 2017)	45
III.1.3.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition	45
III.1.4. Activité antibactérienne étudiée par (Blida 2011)	48
III.1.4. Détermination des diamètres des zones d'inhibition (aromatogramme)	48
III.1.5. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide de l'EEP	48
III.2. Activité cicatrisante	48
III.3. Activité antifongique	53
III.4. Activité antiviral	53
III.5. Propriétés anti-oxydantes	54

III.6. Effets anti-tumoraux et antiradiation	55
IV. Discussion.....	57
IV.1. Les méthodes physique	57
IV.2. Analyses chimiques	58
IV.3. Quantification de quelques composés principaux de la propolis	59
IV.4. Activité antibactérienne	61
IV.5. Activité cicatrisante	61
IV.6. Activité antifongique	62
V. Conclusion	63

Introduction :

La propolis est l'un des six produits de la ruche avec le miel, la gelée royale, le pollen, la cire et le venin d'abeille. C'est un complexe fabriqué par les abeilles (*Apis mellifera*) à partir de leurs sécrétions salivaires, de cire et d'une série de substances résineuses que les abeilles vont recueillir sur différents supports végétaux comme les bourgeons, jeunes rameaux, ou encore blessures d'arbres et arbustes (en Europe : principalement peupliers, bouleaux, saules, hêtres, etc.) (Caillas, 1974). Dans la ruche, la propolis a de multiples usages : c'est un mortier qui sert au colmatage des fissures ou interstices, à l'étanchéité (face à l'humidité et au développement des moisissures) et à la protection de la colonie par la réduction de l'entrée de la ruche. En effet, l'ouverture à l'entrée de la ruche est constamment remodelée afin d'ajuster ses dimensions et son orientation aux conditions climatiques. Ce passage constitue par la même occasion une sorte de "sas de décontamination" où chaque abeille rentrante et sortante devra se poser, d'où le nom de propolis qui vient du grec ancien pro pour "devant, à l'entrée de" et polis pour "communauté". La propolis est aussi une véritable arme chimique contre les microorganismes et sert à momifier les animaux intrus et morts (rats et souris par exemple) trop gros pour être évacués par les abeilles, évitant ainsi leur décomposition. Elle est généralement constituée d'environ 50 % de résines (contenant les composés polyphénoliques), 30 % de cires et d'acides gras, 10 % d'huiles essentielles, 5 % de pollen et 5 % de matières organiques et minérales diverses. Mais la composition de la propolis est très variable car elle dépend de la végétation (Tosi et al., 2006)

Bien que sa composition soit variable, la propolis est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle, car elle présente de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques telles que des activités anti-oxydante, antifongique, antibactérienne, antivirale, anti-inflammatoire ou encore anti-tumorale. C'est une matière première très étudiée et très utilisée de nos jours dans les secteurs alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques, et ce de par le monde.

Notre étude aura comme but de rassembler toutes les informations liées aux effets thérapeutiques de la propolis, cette dernière sera sous forme de synthèse bibliographique

de documents et de travaux scientifiques fait en Algérie ; dans les régions montagneuses, steppiques et les plaines du nord Algérien.

I.1. Historique :

Anciennement, la propolis était beaucoup moins connue que le miel, mais ses propriétés médicinales étaient déjà mis à profil vraisemblablement plusieurs millénaires avant notre ère.

Les premières traces de la propolis remontent à l'Égypte antique. Des recherches poussées ont permis aux égyptologues de découvrir les traces de propolis. Cette substance est utilisée par les grands prêtres de l'ancienne Égypte pour les embaumants des momies (De Almeida et Menezes, 2002).

Les textes hébreux la nommaient « tzori » et ses propriétés thérapeutiques sont décrites dans l'Ancien Testament, (Krell, 1996, Bogdanov et al., 2006).

Le mot propolis est d'origine grecque, il signifie « pro » : devant, et « polis » : cité, en se référant aux observations des apiculteurs qui voyaient cette résine à l'entrée de la ruche « devant cité ». Cette résine nommée propolis est utilisée depuis les temps les plus reculés grâce à ces propriétés antibactériennes, immunostimulantes et cicatrisantes (Nowotnick, 1997), dans la médecine traditionnelle populaire, dans de nombreuses régions du monde (Sforcin et al., 2000, Nolkemper et al., 2009). Hipocrate recommandait la propolis pour la guérison des plaies et des ulcères (Viel et Dore, 2003).

A Rome, au cours du 1^{er} siècle avant J.C, la propolis a été très recherchée sur la voie sacrée ou elle se vendait plus cher que le miel. Chaque légionnaire romain en possédait, une petite quantité sur lui au moment des campagnes militaires (Marchenay, 1977). Elle a été réputée pour réduire les œdèmes, apaiser les douleurs nerveuses et guérissait les plaies cutanées même les abcès (Ransome, 1937).

Au II^{ème} siècle, c'est au tour de médecin Galien d'en faire mention dans ses traités. Au XI^{ème} siècle, le philosophe et médecin Iranien *Abu Ali Iben Sina* connu sous le nom d'Avicenne, note à son propos « la propolis a la qualité de faire éliminer les pointes de flèches et les épines, nettoie facilement et amollit fortement » (Debuyser, 1984).

En raison des résines végétales qu'elle renferme, elle est considérée depuis longtemps dans l'herboristerie traditionnelle comme un remède utile pour combattre les infections de toutes sortes, tant par voie interne que par voie externe. (Pierre Le François et Françoise Ruby, 2010).

Plus tard, les perses, les Incas l'ont utilisé (Donadieu, 1992).

En France, ce n'est qu'au début de XVIIIème siècle que le terme de propolis apparait dans les écrits d'Amboise (chirurgien d'Henri II, de François 1^{er} de Charles IX ainsi que d'Henri III). A la fin du XIXème siècle la propolis connut un regain de popularité lorsque les médecins de l'armée anglaise l'employèrent pour désinfecter les blessures et faciliter leur cicatrisation durant la guerre des Boers en Afrique du Sud. (Debuyser, 1984, Donadieu, 1992, Pierre Le François et Françoise Ruby, 2010). A la fin de XXIème siècle, un important marché de propolis existe en Russie et en Allemagne, c'était un remède populaire qui prétendait soigner tous les maux. On l'employait surtout en usage externe comme anti-infectieux, cicatrisant, adoucissant et anti-inflammatoire sous forme d'onguent d'emplâtre, de lotion et de fumigation (Debuyser, 1984).

Lors de la dernière guerre mondiale, la propolis a été expérimentée dans des cliniques soviétiques, son application est très intéressante dans la médecine vétérinaire empirique pour le traitement des hémorragies et des plaies de toute nature (Caillas, 1974).

I.2. Définition et étymologie :

La propolis, qu'on appelle aussi la colle d'abeille, est le nom générique d'une substance naturelle, résineuse, fortement adhésive, collectés par les abeilles *Apis mellifera L.*, à partir de bourgeons et feuilles d'arbres et des plantes variées telles que les peupliers, bouleaux, saules, conifères, prunier et jamais sur le marron d'Inde. (Bankova et *al.*, 2000, Fenge et *al.*, 2008, Nolkemper et *al.*, 2009). Mélangé avec du pollen ainsi que des enzymes sécrétées par les abeilles (Marcucci 1995).

Les abeilles lui ajoutent certaines salives en la transformant en un mastic pour pouvoir enduire l'entrée de la ruche et les cadres qu'il n'est pas de courant d'air à l'intérieure de leur demeure. D'autre part une fine couche pelliculaire est déposée aussi dans les alvéoles ou les reines pondront les œufs pour désinfecter qu'il n'y ait pas de maladie nommée Bacillus larvae. C'est ainsi que la colonie est protégée avec un produit antibactérien et antifongique (Mlagan et Sulimanovic, 1982).

Ces derniers l'utilisent dans la ruche comme une barrière protectrice contre leurs ennemis (Kumazawa et *al.*, 2003).

I. 3. Origine de la propolis :

Les apiculteurs se sont aperçus que les abeilles récoltaient des bourgeons de divers arbres.

La propolis a une double origine :

I.3.1. Une origine interne :

D'après Kustenmacher (cité par Ferhoum, 2010), la propolis serait un résineux provenant de la première phase de la digestion du pollen dans un petit organe situé entre le jabot et l'intestin moyen dit le gésier à pollen, régurgité et craché par l'abeille qui l'utilise dans la ruche comme ciment, vernis. Toutes les cellules de la ruche, et notamment celles qui sont nouvellement construites, sont en quelque sorte imprégnée avec cette propolis interne avant que la reine y pond. La plus grande quantité de propolis produite par les abeilles aurait cette origine, elle est assez facile à reconnaître au microscope grâce à des polis et des grains de pollen qu'elle contient.

I.3.2. Une origine externe :

Collectée par les abeilles de différentes plantes, elle est utilisée à des fins moins importantes telles que l'embaument de prédateurs.

Les abeilles récoltent une résine (figure 1) présente sur les bourgeons, jeunes rameaux, blessures de certains arbres et arbustes prévue pour les protéger contre les attaques des micro-organismes mais aussi des insectes (un effet répulsif). En mélangeant cette résine à de la cire et à des enzymes sécrétées par leur système glandulaire, elles obtiennent une sorte de glu que l'on nomme : propolis. Les abeilles récoltent cette résine quand la température est voisine de 18–20 °C, la modifient avant de la déposer dans la ruche pour colmater les trous, pour en assurer une parfaite étanchéité associée à une excellente asepsie.

Il est vrai qu'elle peut avoir la première origine mais il est bien connu de tous les praticiens que les ruches situées dans les bois ou les forêts proposent beaucoup plus que celles situées en plaine (Caillas, 1974).



Figure 1 : résine de pin (Meanos, 2004)

I.3.3. Une origine botanique :

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'origine botanique de la propolis, en se basant sur leurs observations et dans certains cas en se référant à des connaissances chimiques faibles qui comportent des comparaisons entre échantillons de propolis et matériel végétal.

Valcic et al., 1999 ont étudiés la propolis du Chili, pour déterminer son origine botanique par des analyses microscopiques du pollen et des fragments de feuilles trouvés dans la propolis.

Francisco A Tomas-Barberan et al., 1993 ont observés les abeilles dans leurs vols puis récoltés les fleurs visitées ces fleurs ainsi que différentes propolis sont extraites par le méthanol, puis analysées par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) pour déterminer le profil de composés phénoliques. Une fois déterminés, les profils sont comparés. Les chromatogrammes indiqués ou similaires permettent de déterminer la source de la propolis.

Selon Crane 1988 les plantes et les arbres sécrètent une substance résineuse et gommeuse pour protéger des insectes, des bactéries et des moisissures lorsqu'elles sont blessées. Après plusieurs études, Crane a établi une liste de plantes suspectées d'être la source de la propolis. La collecte de la propolis est une activité rare des abeilles, difficile à observer.

Elle se fait souvent au niveau des arbres (Bankova et al., 2000). C'est pour cette raison que nous ne discutons que les résultats des études de comparaisons chimiques entre la propolis et les plantes pour les deux zones : tempérée et tropicale.

Tableau N°1 : Propolis des zones tempérée

Régions géographique	Sources végétales	Référence
Méditerranéen Algérie	Populus spp. cistus spp.	Piccinelli et al 2013
Suisse	P. tremula	Bankova et al, 2002
Malte	Ferula spp. Probablement Ferula communis	Popova et al, 2010
Turquie	Populus spp. Eucalyptus spp et Castanea sativa	Velikova et al, 2000. Silici et al., 2007. Duran et al, 2011
Grèce	Probablement Conifera spp	Popova et al 2010. Celemi et al 2013
Europe, Amérique du nord, Nouvelle-Zélande	Populus spp, plus principalement P. nigra	Bankova et al, 2000. Falcao et al, 2010. Sun et al, 2012.
Russie	Betula spp, plus spécifiquement C. rosea et C. minor	Bankova et al, 2000. Isidorov et al 2014.
Oman	Azadirachta indica, acacia spp. et Mangifera indica	Popova et al 2013
Nigeria Kenya	Probablement M. schweinfurthii	Zhang et al, 2014 : Petrova et al, 2010

Tableau N°2 : Propolis des zones tropicales

Région	Sources végétales	Référence
USA (Hawaiian Islands)	Plumeria (<i>Plumeria acuminata</i> , <i>Plumeria acutifolia</i>)	Marcucci, 1995
Venezuela	Clusia (<i>Clusia minor</i> et <i>Clusia major</i>)	Marcucci, 1995
Australie	Xanthorrhoea (<i>Xanthorrhoea sp</i>)	Burdock 1997
Brésil	Romarin des champs (<i>Baccharis dracunculifolia</i>), Peuplier (<i>Populus sp</i>),	Silici et al., 2007 Weinstein et al., 2005

		Bruno et al., 2007 Vardar-Unlu et al., 2008
Région Equatorial	<i>Clusia(Clusia sp)</i> , <i>Delchampia sp</i>	Marcucci, 1995 Kumazawa et al., 2008.

I.3.4. Origine de la propolis algérienne :

Selon la flore botanique disponible en Algérie, on peut déduire que notre propolis est d'origine soit du pin (*Pinus sp*) qui occupe les zones semi arides, le chêne (chêne liège et chêne zeen) qu'on trouve au nord-est du pays, châtaignier, Cyprès (*Cupressus sp*), casuarina, et le peuplier (*Populus sp*).

D'après une étude faite sur la propolis algérienne, récoltée dans quatre régions (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tzi-Ouzou) (Tableau N°3), nous pouvons conclure que : les échantillons analysés ont comme source principale le Peuplier (*Populus nigra*) avec la participation d'autres espèces. Sauf pour l'échantillon de Tizi-Ouzou, car on remarque l'absence de Pinocebrin, Pinobanksin, Chrysin et Galangin (Moudir, 2004).

Tableau N°3 : Comparaison entre la composition de Peuplier (*Populus nigra*) et celle de la propolis (Moudir, 2004).

Composés	Propolis standard de peuplier nigra	Tlemcen	Guelma	M'sila	Tizi-Ouzou
Pinocebrin	4,2 – 12,4	5,9	6,9	9,5	0,2
Pinobanksin	1,7 – 6,2	3,9	3,0	3,5	0,6
Chrysin	5,9 – 12,2	7,5	6,9	1,9	0,4
Galangin	6,6 – 10,3	8,5	6,9	1,9	0,4
Pentenyl cafféate	0,7 – 7,5	4,7	2,1	1,8	0,3
Benzyl cafféate	1,7 – 5,3	4,9	1,4	1,2	1,2
Acide diterpenique	/	2,0	8,6	20,1	9,1

I.4. Description organoleptique et physicochimique de la propolis :

- **Couleur :** Elle varie selon l'âge et l'origine botanique et géographique, du brun vert au brun jaune, brun rouge a rouge foncé. (Bogdanov et al., 2006, Bufalo et al., 2007).

-
- **Odeur** : Elle possède une odeur variable suivant son origine, en général arôme agréable douceâtre, mélangé à celui de miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc.) (Tosi et *al.*, 2006).
 - **Saveur** : sa saveur est souvent acre, parfois elle peut être amère (Popova et *al.*, 2010).
 - **Consistance** : de façon caractéristique, elle est une substance lipophile, dure et fragile à froid, mais douce, souple, et très collante à chaude, d'où le nom de beeglué. (Bogdanov et *al.*, 2006, Bufalo et *al.*, 2007).
 - A 15 °C elle est dure et friable ;
 - A 30 °C elle est molle et malléable. Entre 30 °C et 60 °C elle est coulante et gluante (Krell, 1996) ;
 - Son point de fusion est variable, il se situe vers 60°C à 70°C en moyenne mais peut atteindre 100°C et plus (Debuyser 1983, Krell 1996).
 - **Solubilité** : La dissolution totale de ces constituants se fait par un mélange approprié de solvants, les plus utilisés sont : l'éther, l'éthanol, l'acétone et benzène, elle est insoluble dans l'eau (Marcucci 1995).
 - **Densité** : Elle est de l'ordre de 1.2 en moyenne (Tosi et *al.*, 2006).

I.5. Récolte de la propolis :

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par l'abeille puis par l'homme (Donadieu, 1992).

I.5.1. Récolte par l'abeille :

La fabrication de la propolis se fait à la base par les résines récoltées, ces tâches sont assurées par un nombre restreint de butineuses au sein d'une colonie d'abeilles, puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail (Debuyser, 1984).

I.5.1.1. Procédés de récolte :

La récolte de la propolis par les abeilles s'effectue suivant quatre étapes :

- A l'aide de ses antennes, l'ouvrière butineuse repère la source de résines, puis avec ses mandibules elle en détache un fragment en s'aidant parfois de pattes antérieures.
- Le morceau est modelé par les mandibules et pris avec les pattes antérieures, tout en mélangeant à d'autres substances de leurs propres sécrétions à fin de fabriquer de la propolis
- Celui-ci est alors transféré aux pattes du milieu.

-
- Par un mouvement rapide la propolis est finalement déposée dans la corbeille (corbicules) des pattes postérieures, ou elle est transportée jusqu'à la ruche (Debuyser, 1984, Philippe, 1994)

I.5.1.2. Conditions de récolte par l'abeille :

Cette récolte, qui ne répond pas à des règles bien définies et constantes, dépend des nombreux facteurs, (Debuyser, 1984, Donadieu, 1992).

- **Facteurs saisonniers** : la récolte a lieu, selon les cas, soit en début de saison (c'est à dire au printemps) soit le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche de l'automne (au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage). De plus il faut noter, que c'est au moment où la miellée de nectar est la plus abondante, que la récolte de la propolis est la moins importante, les abeilles semblent alors y consacrer moins de temps et moins d'efforts (Lavie, 1975).
- **Facteurs géographiques** : il n'a été constaté que les ruches situées dans les régions boisées propolisent plus que les ruches de plaines (Hegazi, 1997).
- **Facteurs climatiques (la température)**: les abeilles récolteuses de propolis déploient leur activité au cours des journées chaudes (température supérieure à 20°C) et en particulier pendant les heures les mieux exposées à cette chaleur (soit entre 10 h et 15 h 30 en moyenne).

Ceci est dû au fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires.

- **Facteurs liés à la race d'abeille**: il est reconnu que les caucasiennes et certaines autres races d'Asie mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) (*Apis mellifica caucasia*) propolisent, en général, d'avantage que les autres. Dans de nombreux autres cas, les données concernant ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises. Selon Chauvin 1968, l'abeille punique et tellienne (Algérienne) (*Apis mellifica intermissa*) propolis également beaucoup.

Certaines races utilisent peu de propolis, c'est le cas de l'abeille (*Apis mellifica lamarcki*), elle n'emploie pas de propolis.

- **L'Age de l'abeille** : il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui récoltent la propolis, l'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées ; l'âge minimal est donc dix-huit jours.



Figure2 : récolteuse de propolis (Meanos, 2004)

I.5.2. Récolte par l'homme :

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

➤ **Technique traditionnelle :**

Par raclage et grattage (Figure 3) des cadres et des parois de la ruche, de préférence par température assez basse, car la propolis est alors dure et friable, se détachant mieux de son support. (Debuyser, 1983)

➤ **Technique biotechnologique:**

Par l'utilisation de différents dispositifs (grille moulée en matière plastique souple, en acier inoxydable, en bois ou textile synthétique), qui est posé sur les rayons de la ruche et dont les abeilles s'empressent d'obturer les orifices avec la propolis, cette utilisation permet une récolte ponctuelle durant les périodes de grande production et en dehors des périodes de traitement des ruches. La quantité récoltée par l'abeille est très variable en fonction des abeilles et de l'environnement ; elle se situe généralement entre 100 et 300 gramme par an et par ruche (Caillas 1974, Debuyser, 1983). La récolte est favorisée si on place la ruche en courant d'air, car les abeilles utilisent cette propolis pour lutter contre ces courants d'air.

La grille en bois, principalement utilisée en Asie, permet un grattage immédiat des barreaux. (Debuyser, 1983).

L'utilisation de grilles (Figure 4) spécifiques qui se placent sur la tête des cadres sans isolant par-dessus peut améliorer la qualité du produit. (Debuyser, 1983).



Figure 3 : récolte de propolis par grattage du cadre (originale2017)



Figure 4 : récolte par grilles (originale 2017)

I.6. Conservation de propolis :

La propolis est un produit facile à conserver, quelque soit la forme sous laquelle elle se présente. Il est toutefois préférable de la conserver dans des récipients hermétiques, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur. Pour bénéficier de toutes ses propriétés, il est recommandé d'utiliser la propolis aussi fraîche que possible.

Elle présente un intérêt certain sous forme lyophilisée, car ce procédé de conservation assure, pendant un temps presque illimité, le maintien de toutes ses propriétés et de la composition chimique du produit. Une première méthode de lyophilisation, brevetée aux Etats-Unis, propose une solution hydro-alcoolique de propolis évaporée sous vide à basse température.

Une seconde méthode utilisée en Roumanie, propose une préparation préliminaire d'extrait mou de propolis par dissolution d'alcool éthylique. Cet extrait mou de propolis est ensuite dissout par le biais de solvants à groupe amino (amines organiques). La solution résultante est filtrée et les résidus de cire sont éliminés par précipitation. Elle devient alors soluble à l'eau et cette solution aqueuse peut être lyophilisée sous vide et congelée (Philippe, 1994).

I.7. Extraction :

I.7.1. Méthodes d'extraction :

- **Extraction alcoolique** : entre 20 et 50 % de propolis (poudre) dans l'éthanol (de 40 à 95° alcoolique, l'idéal étant de 60 à 70°), macération 3 semaines à l'abri de la lumière sous agitation, filtration.

Segueni Narimene, Rhouati Salah 2011 :

La propolis est additionnée de dix volumes de solvant de son poids (pour 1 g de propolis, nous ajoutons 10 ml de solvant). Le mélange est laissé pour macération pendant une semaine avec agitation de temps en temps. Après macération, le mélange est chauffé (bain-marie) à 70°C pendant 30 minutes puis filtré. L'extrait obtenu est appelé Extrait Ethanologique de propolis (EEP). Une partie de cet extrait est laissée pour l'étude du profil chimique et la réalisation de l'antibiogramme. L'autre partie est évaporée pour obtenir un extrait sec, facile à manipuler.

Soltani khamsa, 2016 :

L'extraction a été réalisée par deux solvants. Le premier est l'éthanol, et le second est l'eau distillée. Deux extraits ont été obtenus, un extrait éthanologique (EEP), et un extrait aqueux (EAP).

Préparation des extraits éthanologique de propolis (BE, SE, AbE, BoE)

30 grammes de chaque échantillon de propolis ont été macérés dans 100 mL d'éthanol à 70% à température ambiante pendant une semaine, ensuite filtrés sur gaze et papier Whatman n°1, respectivement. La phase éthanologique obtenue est alors évaporée à 50 °C puis séché dans une étuve à 40°C. La poudre résultante est alors conservée à 4 °C à l'obscurité jusqu'à utilisation (Eraslan *et al.*, 2007).

Ferhoum, 2010 :

➤ **Extraction à froid (macération)**

Cette méthode consiste à couper la propolis en petits morceaux (3 à 5mm), et à les macérer dans le solvant d'extraction, à une température ambiante pendant une semaine.

- On pèse 10g dans 100ml de solvant d'extraction ;
- La macération est conservée pendant une semaine sous agitation pour augmenter la surface de contact entre la propolis et le solvant et à l'abri de la lumière pour éviter l'altération de principes actifs de la propolis;

-
- On filtre le mélange, puis on élimine le solvant par rota-vapeur.

➤ **Extraction à chaud**

Elle est réalisée avec un Soxhlet, sauf pour l'extraction avec l'eau (la température d'évaporation de l'eau est très élevée, alors que avec Soxhlet on ne doit pas dépasser 60°C).

➤ **Extraction à l'eau**

Préparation des extraits aqueux de propolis (BA, SA, AbA, BoA)

50 grammes de propolis brute est macérés dans 150 mL d'eau distillée sous agitation pendant 48 h. L'extrait aqueux résultant est filtré sur gaze et papier Whatman n°1, respectivement. Les filtrats sont évaporés à 50 °C puis séchés dans une étuve à 40°C, et stockés à 4 °C à l'obscurité jusqu'à utilisation (Yildirim *et al.*, 2004). L'extraction à chaud avec l'eau comme solvant est réalisée en mettant de la propolis dans un ballon de 500 ml raccordé à réfrigérant, puis chauffage pendant 5 à 6 heures.

Il existe notamment d'autres méthodes d'extraction mais d'une utilisation moindre. Selon Françoise Sauvager, 2017, L'extraction se fait : par l'huile, au CO2 supercritique (Nucell), et à l'eau subcritique.

Le rendement de l'extraction dépend de la polarité du solvant, du temps d'extraction, de la température et aussi de la composition et des caractéristiques physiques de l'échantillon. Les solvants utilisés vont avoir un impact sur les teneurs en éléments actifs.

I.8. Les formes galéniques de la propolis :

La forme galénique de la propolis est très variable, ce qui facilite son administration et son utilisation. Elle est soit seul composant, soit associé avec d'autres produits (visée thérapeutique ou cosmétologique) :

- Sous sa forme naturelle, débarrassée de toutes les impuretés diverses susceptibles de la souiller (fibres de bois, poils d'abeilles, etc...) (Donadieu , 2006, 2008).
- Sous forme d'extraits purifiés : fluide, mou ou sec selon l'usage thérapeutique envisagé. C'est ainsi qu'on trouve le plus souvent à l'heure actuelle :

I.8.1. la propolis naturelle, seule substance active : existe sous-forme

- pâte et fragments à mâcher ;
- granulés ou poudres, en vrac ou en gélules à avaler.

I.8.2. La propolis naturelles en association : habituellement avec un ou plusieurs produits diététiques (miel, gelée royale, etc...), mais aussi certaines plantes médicinales et/ou huiles essentielles.

I.8.3. Des extraits de propolis, seule substance active : sous forme

- **Extrait fluide**, souvent une teinture alcoolique obtenue par macération, dissolution oulixiviation (=extraction de produits solubles par un solvant).
- **Extrait mou** obtenu par évaporation plus ou moins importante (habituellement la moitié) de la teinture alcoolique ci-dessus ;
- **Extrait sec** obtenu par évaporation totale de cette teinture.

I.8.4. Des extraits de propolis en association avec :

- Certaines substances médicamenteuses qui viennent potentialiser l'action de la propolis dans certaines indications ;
- Des produits diététiques tels que le miel (excellent complément thérapeutique dans le traitement des cicatrisations difficiles) ;
- Des produits cosmétologiques;
- Des excipients variés tels que : la vaseline, la lanoline, la cire d'abeille, etc...

Il en découle de ces nombreuses possibilités une multitude de formes galéniques et de spécialités commerciales dont il est pratiquement impossible de dresser la liste exhaustive (Donadieu, 2008).

Nous allons présenter ci-après quelques exemples de préparations magistrales et de spécialités parapharmaceutiques à base de propolis.

I.8.5. Exemples de préparations magistrales :

❖ **Teinture alcoolique de propolis**

Plusieurs étapes seront à suivre pour obtenir cette teinture :

Prendre une à deux parties de propolis (débarassée de ses impuretés éventuelles et de préférences pliée) pour dix parties d'alcool éthylique (70°, placer ce mélange dans un récipient en verre opaque, fermé hermétiquement).

Laisser macérer à température ambiante pendant 2 semaines en agitant bien le mélange régulièrement 2fois par jour ;

La dernière étape consiste à filtrer soigneusement ce mélange à fin d'obtenir l'extrait liquide; tout ce qui n'a pas été dissout devant être jeté (Donadieu, 2008)

❖ **Teinture aqueuse de propolis**

Les mêmes étapes seront à respecter que celles vues ci-dessus, mais en remplaçant simplement l'alcool par de l'eau minérale plate peu minéralisée.

Il va de soi que cette teinture –qui ne comporte que les extraits hydrosolubles- n'a pas la même efficacité que la précédente. Toutefois, elle peut s'avérer suffisante dans certaines indications mineures par voie locale interne ou externe (gargarismes ou applications cutanées par exemple) (Donadieu, 2008).

❖ **Pommade à base de propolis**

Facile de réalisation, elle touche notamment à la sphère dermatologique (Donadieu, 2008), voici sa composition :

- Extrait mou de propolis 10g
- Lanoline 10g
- Vaseline 80g

✓ **L'extraction par l'alcool à chaud :**

La propolis concassée et enveloppée dans un linge et mise à bouillir pendant 1 heure dans un ballon sarmenté d'un réfrigérant; l'extrait est ensuite filtré, évaporé au bain-marie, et repris par l'eau chaude (Chauvin, 1968).

✓ **L'extraction par l'eau chaude :**

Se pratique exactement de la même façon, on traite généralement 50g de résine/1L d'eau. Cependant, dans la majorité des essais, les extraits alcooliques se sont montrés légèrement plus actifs que les extraits aqueux (Chauvin, 1968).

I.9. Utilisation de propolis :

I.9.1. Utilisation de la propolis par l'abeille :

La propolis est utilisée par les abeilles comme :

- ✓ Un scellant pour réparer et entretenir les rayons de leurs ruches. (Gunduz et al., 2005).
- ✓ Un produit d'étanchéité et d'agent de stérilisation dans les nids d'abeilles. (Garoui et al., 2011). Grâce à ses propriétés antibiotiques elle intervient dans l'asepsie partielle dans les alvéoles (Caillas, 1974).

-
- ✓ Elle sert également à boucher les trous permettant ainsi une meilleure isolation thermique (Kalogeropoulos et al., 2009, Barbarié et al., 2011).
 - ✓ Lisser les parois internes de la barrière de la ruche (Kalogeropoulos et al., 2009. Barbarié et al., 2011).
 - ✓ Protéger l'entrée contre les intrus donc elle sert à édifier une véritable muraille à l'entrée de la cité d'abeilles comme son étymologie nous le rappelle (Kalogeropoulos et al., 2009, Barbarié et al., 2011).
 - ✓ Comme protection contre les petits rongeurs et empêche la décomposition des créatures qui ont été tués par les abeilles, après une invasion de la ruche (Kalogeropoulos et al., 2009).
 - ✓ La propolis sert aussi à tapisser d'une fine pellicule à l'intérieur des cellules à couvain avant que la reine ne vienne y pondre (Caillas, 1974).
 - ✓ Renforcer les minces parois des alvéoles en l'incorporant à la cire qu'elles sécrètent (Caillas, 1974).

Mise à part l'usage purement mécanique de la propolis en tant que colle ou ciment, son utilisation peut avoir une base chimique qui limite l'apparition des infections (Caillas, 1974).

I.10. Composition de la propolis brute :

Elle est variable selon l'origine botanique (Bankova, 2005. Weinstein et al., 2005. Bruno, Silva et al., 2007). La variété des sources de propolis a bien évidemment une influence sur sa composition, elle dépend du type des plantes accessible aux abeilles (Krell, 1996). La race d'abeille influence également cette composition, d'après les résultats qui ont été trouvés par une analyse chromatographique associée à une spectrométrie de masse (CG/MS) (Silici et Kutulka, 2005), par trois races d'abeilles (*Apis mellifera anatolica*, *Apis mellifera carnica* et *Apis mellifera caucasica*).

Généralement, elle est constituée de 40 à 50 % de résine, de baume composé de flavonoïdes et d'acides phénoliques ou de leurs esters, 20 à 30 % de cire (mélange de cire verte d'origine végétale et de cire d'abeille), 5 à 10 % d'huiles essentielles, 5 % de pollen et 5% de matières diverses (organiques et minérales).

(Tosi et al., 2006. Krell, 1996. Bankova et al., 2000)

Liste des principales classes des composés chimiques de la propolis est illustrée dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Composition chimique de propolis purifiée

Composition en ordre	Composition par groupes	Quantité	Références
Résines	Flavonoïdes, acides phénoliques+esters	45-55%	-Bankova, Dyalgerov, -Popov et Marekov, 1987. -Nagy, 1989. -Omar, 1989
Cire et acides gras	La cire d'abeilles et des plantes	25-35%	Papay, 1987.
Huiles essentielles	Volatiles	10%	- Tosi et al. 2006.
Pollen	Protéines (6 acides aminés libres>1%) arginine et proline jusqu'à 46% du total	5%	-Gabrys, 1986.
Autres composés et les minéraux	14 traces de minéraux, silice et zinc sont les plus communes cétones, lactones, quinones, stéroïdes, acides benzoïque, vitamines, sucres	5%	-Bankova et al., 1987. - Cuellar and Rojas 1987

I.11. Composition et caractéristique physique et chimique de la propolis :

La propolis contient habituellement une variété de composés chimique. L'inventaire complet de ses substances serait fastidieux. Citons toutefois, les poly phénols (flavonoïdes, acides phénoliques et leurs esters), les terpènes, des stéroïdes et des acides aminés (Tosi et al., 2006). Leur abondance est influencée par les facteurs géographiques, ainsi que par la saison de collecte. (Kalogeropoulos et al., 2009).

Les différents profils thérapeutiques de la propolis sont associés à la présence des types de composés spécifiques, tels que les polyphénols et les isoflavonoïdes (Gunduz et al., 2005, Mani et al., 2006, Freitas et al., 2006, Kalogeropoulos et al., 2009, Castro et al., 2009, Popova et al., 2010).

○ Composition de la propolis algérienne

D'après une étude réalisée dans quatre régions différentes du pays (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tizi-Ouzou), la propolis algérienne est constituée de cinq familles principales : les acides aliphatiques, les acides aromatiques, les esters, les flavonoïdes et les terpènes.

Tableau N°5: Pourcentages des composés de la propolis algérienne
(Moudir, 2004)

Famille	Tlemcen	Guelma	M'sila	Tizi-Ouzou
Acides aliphatiques	2,80	4,90	4,20	4,30
Acides aromatiques	3,70	3,60	2,70	8,80
Esters	17,20	9,00	9,80	2,60
Flavonoïdes	42,30	37,40	23,10	3,90
Terpènes	6,60	19,90	26,80	12,60

D'après les études déjà réalisées, on peut classer les composants de la propolis dans les groupes suivants :

- Les flavonoïdes ;
- Les acides aromatiques ;
- Les acides aliphatiques ;
- Les esters aromatiques ;
- Les Sucres ;
- Les Autres composés

I.11.1. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires (Ghedira, 2005. Erlund, 2004). Ils constituent des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havsteen, 2002).

Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent un noyau flavone C₁₅ (C₆-C₃-C₆) (Ghedira, 2005). Ils sont composés de deux cycles benzéniques (A et B) reliés par le biais d'un cycle pyrone (oxygène contenu au niveau d'une pyrane (Häkkinen, 2000. Rice-Evans et al., 1996).

Ils sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes comme une réponse au stress environnemental et les infections microbiennes (Kalogeropoulos et al., 2009). La propolis comporte pas mal de substances comme la Galangine, Kaempferine, Quercétine, Pinocembrine, La Chrysin, l'Acacétine, Papavérine ... etc. (Tableau 6) (Marcucci, 1995, Stefan, 1998, Pellati et al., 2011, Kalogeropoulos et al., 2009).

Les Galangines, Pinocembrine et Pinostrobin ont été reconnues comme les plus efficaces agents des flavonoïdes contre les bactéries (Cushine et al., 2007, Yang et al., 2011).

Tandis que la cytotoxicité a été évaluée pour la chrysin, le kaempférol, acacétin, galangine et la quercétine (Nolkemper et al., 2009) et l'activité antifongique pour pinobanksine, pinocembrine, chrysin et galangine (Yang et al., 2011).

En 2001, Chirumbolo a marqué que la Chrysin et le kaempférol ont été identifiés comme les principaux composants antiallergiques dans EEP.

Les flavonoïdes ont été signalés qu'ils présentent un large éventail d'activités biologiques, y compris antibactériennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, vasodilatatrices et antivirales contre la grippe, les atteintes de la sphère ORL, herpès simplex, adénovirus, coronavirus et rotavirus (Domerego, 2003, Kalogeropoulos et al., 2009). En outre, les flavonoïdes inhibent la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire (Mani et al., 2006). L'agrégation plaquettaire, la perméabilité capillaire et la fragilité, et l'activité des systèmes enzymatiques dont la cyclo-oxygénase et la lipoxygénase. Sans oublier les effets cardio-protecteurs qui ont également été signalés pour les flavonoïdes par Mani et al., 2006.

D'autre part, Kedzia et al., (1990) a signalé que le mécanisme de l'activité antimicrobienne est compliqué et pourrait être attribuée à une synergie entre les

flavonoïdes, les hydroxyacides et les terpènes. (Scheller et al., 1977 et Krol et al., 1993) ont également observé cet effet (Murcucci, 1995).

Tableau N°6: Les flavonoïdes identifiés dans la propolis. (Shiva et al., 2006)

Nom des flavonoïdes	%TIC
- 5-Hydroxy-7-Metoxy flavanone (pinostrobin)	0.51
- 5,7- Dihydroxy flavanone (pinocembrine)	2.62
- 2,6- dihydroxy-4-méthoxydihydro chalcone	0.07
- 5,6-dihydroxy-3-acetyloxyflavanone(pinobankcine-3-acetate) isomer 1	0.17
- 5,7-Dihydroxy-3-acetyloxyflavanone(pinobanksin-3-acetate)(isomer2)	2.29
- 5,7-dihydroxy flavone (chrysin)	0.3
- 3,5,7-trihydroxy flavanone (piobankine)	0.9
- 3,5,7-trihydroxy flavone (galangine)	0.06
- 2',4',6'- trihydroxy chalcone (pinocembrine chalcone)	0.13
- 3,5,7,4'-tetrahydroxy flavone (Kaempferol)	0.11
- 5,7- dihydroxy flavone (chrysin)	0.69
- 5,7'dihydroxy-3-propanoyloxyflavanone (pinobankcine-3-propanoate)	
- 3,5,7- trihydroxy flavone (galangine)	0.17
- 5,7-dihydroxy-3-(iso)butanoyloxyflavanone (pinobankcine-3-isobutanoate)	0.73
- 5,7-dihydroxy-3-(iso)pentanoyloxyflavanone (pinobankcine-3-isopentanoate)	0.05
- 5,7,4'-trihydroxy flavanone(naringenine)	0.04
- 3,5,7,3',4'- pentahydroxy flavone (quercétine)	0.07
- Quercétine méthyl éther	0.13
- 3,5,7,3',4'- pentahydroxy flavones	0.12
	0.15

Remarque : TIC : caractérise la substance mais il ne permet pas de quantifier.

L'étude réalisée par (Kamazawa et al., 2004), confirme que la teneur en flavonoïdes dépend de la région botanique comme il le démontre le tableau suivant.

Résultats approuvés lors d'une autre étude réalisée sur la propolis de la Kerrie, qui montre une teneur en flavonoïdes totale allant de 16 – 136 mg EQ / g de propolis (Katalinic et al., 2006).

Tableau N°7: Influence de la région sur la teneur en flavonoïdes de la propolis d'abeille (Kamazawa et al., 2004).

Provenance	Flavonoïdes (mg EQ /g propolis)	Provenance	flavonoïdes (mg EQ /g propolis)
Argentine	130 (Ecart type : 5,5)	New Zealand	152 (Ecart type : 12,6)
Australie	145 (Ecart type : 6,5)	Sud d'Afrique	50,8 (Ecart type : 0,8)
Bésilil	51,9 (Ecart type : 2,4)	Thailand	2,5 (Ecart type : 0,8)
Bulgarie	157 (Ecart type : 8,9)	Ukraine	63,7 (Ecart type : 3,2)
Chilie	116 (Ecart type : 9,3)	Uruguay	168 (Ecart type : 6,4)
Chine	147 (Ecart type : 9,3)	U S A	122 (Ecart type : 6,2)
Hongrie	176 (Ecart type : 1,7)	Uzbekistan	94,2 (Ecart type : 6,8)

11-2 Les phénols :

Autres métabolites secondaires des végétaux présents dans la propolis. Ce sont les phénols ; Ils sont considérés comme des substances phytochimiques et confèrent à la propolis les propriétés antiseptiques et antimicrobiennes et aromatiques (Postova et al., 2003, Scazzocchioun et al., 2006).

On trouve dans la propolis de l'Acide Cinnamique, l'alcool Cinnamique, Vanilline, Acide et alcool Benzoïque, Acide Caféique ainsi que l'Acide Férulique et l'Acide Salicylique (Vanhaelen et vanhaelen-Fastre, 1979, Hale, 2003).

La Férulique et l'acide caféique ont contribué également à l'action bactéricide de la propolis (Marcucci, 1995). Tandis que l'activité antivirale a été étudiée in vitro sur les esters substitués acides cinnamique, une d'entre eux, férulate isopentyle qui a significativement inhibé l'activité infectieuse du virus de la grippe A (Nolkemper et al., 2009).

D'autre part il a été montré que l'acide caféique ester phénéthyle (CAPE) qui est l'un des composants de la propolis a des propriétés anti-tumorale et des propriétés antioxydants ainsi que l'acide cinnamique (Gunduz et al., 2005, Buffalo et al., 2007).

I-11-3 Acides aliphatiques :

Parmi les acides aliphatiques qui ont été identifiés et reportés dans la littérature, on peut citer plus de vingt acides relevés dans le tableau qui suit :

Tableau N°8 : Les acides aliphatiques détectés dans la propolis. (Marcucci, 1995. Shiva et al., 2006).

Nom des composés	% TIC
Acide 2-hydropropanoïque (acide lactique)	0,08
Acide 2- hydroxybutanedioïque (acide maleique)	0,31
Acide trans butan-1,4-dioïque (acide fumarique)	0,01
Acide butanedioïque (acide succinique)	0,29
Acide nonaoïque (acide pelargonique)	0,01
Acide decanoïque (acide caprique)	0,02
Acide dodecanoïque (acide laurique)	0,02
Acide hexadecanoïque (acide palmitique)	0,54
Acide oléique	0,86
Acide octadecanoïque (acide stéarique)	0,28
Acide 2-hydroxy acétique	0,01
Acide 2, 3-dihydroxypropanoïque (acide glycérique)	0,01
Acide tetradecanoïque (acide myristique)	0,04
Acide heptadecanoïque	0,06
Acide 11-eicasonoïque	0,11
Acide 2, 3 ,4-trihydroxy butyrique (acide tetronique)	<0,01
Acide octanoïque	0,01
Acide α -linolenique	0,1
Acide hydroxy malonique	0,02
Acide linoléique	-
Acide oléique	-
Acide stéarique	-

TIC : c'est une valeur qui caractérise chaque composé, mais elle ne permet pas de les quantifier (CG/MS).

La race d'abeille peut influencer la composition en acides aliphatique de la propolis de la même région, ces résultats ont été obtenus par une analyse CG/SM.

Tableau N°9 : Influence de la race d'abeille sur la composition en acide aliphatique de la propolis (Silici et Kutluca, 2005).

Nom du composé	<i>Apis mellifera anatolica</i>	<i>Apis mellifera Carnica</i>	<i>Apis mellifera Caucasica</i>
Acide 9-octadecanoïque	+ (%TIC = 38,98)	+ (%TIC = 38,93)	+ (%TIC = 38,93)
Acide hexadecanoïque	+ (% TIC = 33,60)	+ (%TIC = 33,57)	+ (%TIC = 38,93)
Acide decanoïque	-	+ (%TIC = 14,29)	-

1.11.4. Les acides aromatiques : (Havsteen, 2002).

Cette catégorie se subdivise en trois groupes :

- Les dérivés de l'acide benzoïque ;
- Les dérivés de l'acide benzaldéhydrique ;
- Les dérivés de l'acide cinnamique.

Tableau N°10: La composition en acide aromatique selon la race d'abeille (Silici et Kutluca, 2005)

<i>Apis mellifera anatolica</i>	<i>Apis mellifera carnica</i>	<i>Apis mellifera caucasica</i>
Acide benzoïque	Acide benzoïque	Acide benzoïque
Acide ferulique	Acide benzeneacetique	Acide propanoïque
Acide 3,4- dimethoxy-cinnamique	Acide 3-hydroxy-4-niethoxycinnamique	Acide 3-hydroxy-4-methoxycinnamique
Acide 3-hydroxy-4-methoxycinnamique	Acide 3,4dimethoxycinnamique	Acide 1,3-benzenedicarboxylique
Acide 4- pentenoïque	Acide propanoïque	
Acide 1,3- benzene-dicarboxique		
Acide propanoïque		

1.11.5 Esters aromatiques :

Ce groupe englobe les catégories suivantes :

- Esters cinnamiques ;
- Esters coumariques ;
- Esters ferulates ;
- Esters caffeates ;
- Esters isoferulates ;

Tableau N°11 : La composition de la propolis en esters aromatiques. (Shiva et al., 2006, Silici et Kutluca, 2005)

1. Ethyl palmitate	10. 3-methyl-3-butenyl-trans caffeate
2. diethyl phthalate	11. 2-methyl-2-butenyl-trans caffeate
3. benzyl-trans-4-coumarate	12. 3-methyl-2-butenyl-trans caffeate
4. 1-phenylethyl trans caffeate	13. 2-methyl-2-butenyl-trans-4-coumarate
5. cinnamyl caffeate	14. 3-methyl-2-butenyl-trans-4-coumarate
6. 3-methyl-3-butenyl-trans ferulate	15. phenylethyl trans-4-coumarate
7. 3-methyl-2-butenyl-trans ferulate	16. ethyle linoleate
8. 3-methyl-3-butenyl-trans-iso- ferulate	17. ethyl oleate
9. 3-methyl-3-butenyl-trans ferulate	18. ethyl stearate

I.11.6. Sucres de la propolis :

Les sucres qui ont été identifiés dans la propolis sont illustrés dans le tableau suivant (Shiva et al., 2006).

Tableau N°12: Les sucres et les sucres alcooliques de la propolis.

1. inositol	6. D-glucetole
2. saccharose	7. D-glucose
3. D-fructose (isomère1)	8. α-D-xylopyranose
4. D-fructose (isomère2)	9. acide gluconique
5. sorbose	10. galactose

D'après la littérature, la région géographique influence la composition en sucres de la propolis, (Beatriz et al., 2009).

Tableau N°13 : L'influence de la région géographique sur la composition en sucre de la propolis.

Le pays	Les composants	% (g/100g)
Kenya	Saccharose	0,34
	Glucose	0,23
	Fructose	0,65

Bulgarie	Saccharose	0,23
	glucose	0,16
	fructose	0,08
Kenya	Saccharose	1,15
	glucose	0,75
	fructose	0,95
Tanzanie	Saccharose	0,04
	galactose	Traces
	fructose	0,12
	glucose	0,03

I.11.7. Eléments minéraux de la propolis :

L'étude de la propolis montre que le taux des cendres est compris entre 1,2 à 4,5% de poids frais de la propolis brute (Tosi et al., 2006). Cette dernière est l'un des produits naturels les plus riches en éléments minéraux tels que le magnésium, l'iode, le sodium, le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer essentiellement le potassium et le calcium.

Le tableau suivant donne la teneur en éléments minéraux de quelques échantillons de propolis provenant de l'Argentine. On remarque que la teneur en minéraux varie d'un échantillon à un autre de la même région.

Tableau N°14: Composition minérale de quelques échantillons de propolis de l'Argentine (Beatriz et al., 2009).

	San Martin	Sarmiento	Chimbas
Calcium (Ca) (mg/kg)	1651	42	3397
Potassium (K) (mg/kg)	473	174	1148
Fer (Fe) (mg/kg)	473	174	1192
Sodium (Na) (mg/kg)	855	368	370
Magnésium (Mg) (mg/kg)	237	395	875
Zinc (Zn) (mg/kg)	61	68	80
Manganèse (Mn) (mg/kg)	14	17	22

I.11.8. Vitamines:

En général, la propolis ne constitue pas une source importante de vitamines. La fraction vitaminique de la propolis d'abeille se caractérise par des teneurs appréciables en vitamine

de groupe B1, B2, B6, tout particulièrement la vitamine B₃ (pp) et la vitamine C et la provitamine A qui se transforme en vitamine A dans l'organisme (Krell, 1996).

I.11.9. Autres composés chimiques :

Il y a plusieurs autres composés qui ont été détectés dans la composition de la propolis dont on peut citer (Shiva et al., 2006) :

➤ **Les hydrocarbures aliphatiques :**

- Heptadecane
- 2-Nonadecane
- Eicosane

➤ **Les sesquiterpènes :**

- γ -cadenine
- α -cedrol
- trans-farnesol

II.1. Les méthodes d'analyse:

Elles se rapportent aux expériences suivantes :

II.1.1. Les méthodes physique :

II.1.1.1. Détermination de taux des pertes pendant le séchage (NF T 60-305, Juin 1976) :

◆ **Principe :**

Le taux des pertes pendant le séchage, c'est-à-dire l'eau et les matières volatiles est déterminé sur une partie aliquote de 1 g d'échantillon coupé en petits morceaux dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve réglée à une température de 103 ± 2 °C, jusqu'à obtention d'un poids constant.

◆ **Mode opératoire:**

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à 103 ± 2 °C ;
- Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur ;
- Peser dans chaque capsule 1 g d'échantillon préalablement coupé en petit morceaux et les placer dans l'étuve réglée à 103 ± 2 °C pendant 3 heures ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans le dessiccateur et après

refroidissement les peser ;

- L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 mn) pour éviter la caramélisation.

Tableau N°15 : Les pertes pendant le séchage et le pourcentage de la matière sèche des échantillons de propolis. (Ferhoum, 2010).

Echantillon		Taux des pertes pendant le séchage (%)	Moy ± SD de la classe	Matière sèche (%)
Montagne	Yakouren (2006)	2,30 ± 0,20	2,50 ± 0,79	97,70
	Yakouren (2007)	1,67 ± 0,06		98,33
	Yakouren (2008) « a »	1,26 ± 0,21		98,74
	Yakouren (2008) « b »	3,17 ± 0,05		96,83
	Dellys	2,97 ± 0,20		97,03
	Bouzgen	2,77 ± 0,15		97,23
	Ain El hammam	3,39 ± 0,26		96,60
Plaine	Isser	2,57 ± 0,3	2,43 ± 0,79	97,43
	Mitidja (2007)	1,47 ± 0,28		98,53
	Mitidja (2008)	3,89 ± 0,06		96,11
	Chaabet	2,31 ± 0,13		97,69
Steppe	Sahara (abeille tellienne)	2,58 ± 0,07	2,48 ± 0,96	97,42
	Sahara (abeille saharienne)	1,47 ± 0,15		98,53
	Laghouat	3,39 ± 0,23		96,61

II.1.1.2. Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113, 1972) :

◆ Principe :

La propolis brute coupée en petits morceaux puis calcinée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant.

◆ Mode opératoire:

-Dans des capsules en porcelaine, on pèse 2 g de propolis coupée en petits morceaux ;
On place les capsules dans un four à moufle réglé à 550 ± 15 °C pendant 5 heures jusqu'à obtention d'une couleur grise, claire ou

-On retire les capsules du four, on les met dans le dessiccateur pour se refroidir et puis, on les pèse.

Tableau N°16 : Taux des cendres et de la matière organique de la propolis (Ferhoum, 2010).

Echantillon		Taux des cendres (%)	Taux de la matière organique (MO %)
Montagne	Yakouren (2006)	4,21 ± 0,47	95,79
	Yakouren (2007)	2,91 ± 0,14	97,09
	Yakouren (2008) « a »	3,11 ± 0,15	96,89
	Yakouren (2008) « b »	2,54 ± 0,14	97,46
	Dellys	2,98 ± 0,16	97,02
	Bouzgen	2,80 ± 0,22	97,2
	Ain El hammam	5.32 ± 0,24	94,68
Plaine	Isser	2,29 ± 0,16	97,71
	Mitidja (2007)	2,41 ± 0,21	97,59
	Mitidja (2008)	3.05 ± 0,35	96,95
Steppe	Sahara (abeille saharienne)	1,58 ± 0,21	98,49
	Laghouat	4,43 ± 0,12	95,57
	Sahara (abeille tellienne)	2,01 ± 0,21	97,99

II.1.1.3. La masse volumique :

- Principe :
 - Préparation d'un morceau de propolis de masse déterminée.
 - Détermination du volume occupé par ce dernier par la mise de l'échantillon dans une éprouvette graduée contenant de l'eau.
 - L'opération est répétée trois fois pour chaque échantillon.

Tableau N°17: Masse volumique des différents échantillons de propolis. (Ferhoum, 2010).

Echantillon		Masse volumique moyenne × 10 ³ (kg /m ³)
Montagne	Yakouren (2006)	1,01 ± 0,05
	Yakouren (2007)	1,03 ± 0,01
	Yakouren (2008) « a »	1,06 ± 0,07
	Yakouren (2008) « b »	1,02 ± 0,09
	Dellys	1,05 ± 0,06
	Bouzgen	1,18 ± 0,09
	Ain al hammam	1,12 ± 0,10

Plaine	Isser	$1,12 \pm 0,05$
	Mitidja (2007)	$1,04 \pm 0,04$
	Mitidja (2008)	$0,98 \pm 0,09$
	Chaabet	$1,14 \pm 0,15$
Steppe	Sahara (abeille saharienne)	$1,10 \pm 0,05$
	Laghouat	$1,07 \pm 0,04$
	Sahara (abeille tellienne)	$0,98 \pm 0,02$

II.1.1.4. Le point de fusion (Norme NFT60 -226, Méthode 2) :

- **Principe :**

Chaque substance chimiquement pure possède sa propre température de fusion. C'est une des plus importantes caractéristiques physiques permettant de juger la pureté de la substance envisagée, du même, de l'identifier.

Une matière telle que la propolis n'est pas une substance individuelle mais un mélange de plusieurs composées dont les températures de fusion différentes. Donc, il n'existe pas de température de fusion de la propolis mais un intervalle de température dans lequel fondent leurs différents constituants.

Par convention, la température de fusion de la propolis correspond à la température du début de sa fusion.

- **Mode opératoire:**

- Un tube capillaire propre est introduit dans l'échantillon de la propolis fondue puis rempli sur une hauteur de 2 cm.
- Le tube capillaire et son contenu sont refroidis à l'air libre pendant 20 mn.
- Le tube est attaché à un thermomètre de façon que la colonne de la propolis se trouve au même niveau que le réservoir du thermomètre.
- L'ensemble est introduit dans un bêcher contenant de l'eau ayant une température inférieure de 10 °C environ de la température de fusion présumée.
- Le bêcher est chauffé de façon que la température s'élève d'environ 0,5 °C par minute, en surveillant le moment où la propolis commence à monter dans le tube capillaire.
- La température de fusion est déterminée.

L'essai doit être réalisé au minimum deux fois et la température de fusion représentera la moyenne arithmétique de ces deux valeurs.

II.1.2. Méthodes d'analyses chimiques :

II.1.2.1. Détermination du pH (NF V 05-108, 1970) :

◆ **Principe :**

Détermination en unité de pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse de la propolis découpée en petits morceaux.

◆ **Mode opératoire:**

- Couper en petits morceaux une partie de l'échantillon de la propolis ;
- Placer le produit dans un bécher et y ajouter trois fois son volume d'eau distillée ;
- Chauffer au bain-marie pendant 30 mn en remuant de temps en temps avec une baguette de verre ;
- filtrer ensuite le mélange obtenu et procéder à la détermination du pH en prenant soins que l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

Tableau N°18: Comparaison du pH entre les trois groupes. (Ferhoum, 2010)

	Groupe montagne N = 7	Groupe plaine n =4	Groupe steppe n =3
pH Max	4,66	4,44	4,64
pH Min	4,28	4,24	4,44
pH Moy	4,46	4,38	4,54
Ecart type	0,19	0,10	0,10
α (Ecart type/moyenne)	0,04	0,02	0,02

II.1.2.2. Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974) :

◆ **Principe :**

Titration de l'acidité d'une solution aqueuse de la propolis avec une solution d'hydroxyde de sodium.

◆ **Mode opératoire :**

- On pèse à 0,01g près au moins 25 g de propolis coupée en petits morceaux ;
- On place l'échantillon dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu' à l'obtention d'un liquide homogène ;
- On adapte un réfrigérant à reflux à la fiole conique puis, on chauffe le contenu au bain-marie pendant 30 mn ;
- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole

jaugée de 250 ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie, bien mélanger puis filtrer ;

- On prélève à la pipette 25, 50 ou 100 ml de l'échantillon pour essai selon l'acidité présumée, et on les verse dans un bécher sous agitation ;
- On titre avec une solution d'hydroxyde de sodium ;
- On opère rapidement jusqu'à un pH de 7, puis lentement jusqu'à un pH de $8 \pm 0,2$.

Tableau N°19: Acidité des différents échantillons de propolis. (Ferhoum, 2010)

	Echantillon	Acidité (%)
Montagne	Yakouren (2006)	$7,24 \pm 0,34$
	Yakouren (2007)	$7,52 \pm 0,40$
	Yakouren (2008) « a »	$7,60 \pm 0,40$
	Yakouren (2008) « b »	$6,93 \pm 0,23$
	Dellys	$4,73 \pm 0,61$
	Bouzgen	$7,30 \pm 0,42$
	Ain El hammam	$8,67 \pm 0,23$
Plaine	Isser	$7,33 \pm 0,23$
	Mitidja (2007)	$7,58 \pm 0,34$
	Mitidja (2008)	$10,67 \pm 0,23$
	Chaabet (2009)	$7,87 \pm 0,46$
Steppe	Sahara (abeille tellienne)	$6,27 \pm 0,46$
	Sahara (abeille saharienne)	$6,84 \pm 0,16$
	Laghout (2009)	$6,53 \pm 0,46$

II.1.3. Quantification de quelques composés principaux de la propolis :

II.1.3.1. Dosage des polyphénols de la propolis

- **Extraction des polyphénols**

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le principe consiste en ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. La plus part des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion. Le solvant utilisé dans cette présente étude est l'éthanol (70%). Celui-ci possède l'avantage d'être plus facilement éliminé sous vide, il donne en plus un meilleur rendement d'extraction (7 fois plus que celui d'eau) et il évite l'extraction de la cire qui se trouve mélangée (Ribéreau-Gayon, 1968). Le rendement d'extraction en polyphénols augmente

aussi avec le temps de contact (Lapornik B et al., 2005).

Tableau N°20 : Teneur en polyphénols des différents échantillons de propolis. (Ferhoum , 2010)

Echantillon		quantité de polyphénols en mg/g de propolis
Montagne	Yakouren (2006)	206,11 ± 4,98
	Yakouren (2007)	254,30 ± 3,30
	Yakouren (2008) « a »	215,00 ± 5,00
	Yakouren (2008) « b »	11,53 ± 0,60
	Dellys	135,67 ± 0,16
	Bouzgen	310,37 ± 0,6
	Ain al hammame	277,00 ± 6,50
Plaine	Isser	100,57 ± 1,27
	Mitidja (2007)	227,85 ± 1,69
	Mitidja (2008)	35,77 ± 2,25
Steppe	saharienne (abeille saharienne)	247,58 ± 3,80
	Laghouat	241,26 ± 3,25
	Sahara (abeille tellienne)	60,00 ± 1,20

II.1.3.2.Détermination de la teneur en flavonoïdes :

- **Principe :**

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits Ethanolique de la propolis est réalisée par la méthode décrite dans la littérature (Bahorun T et al., 1996).

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Ils forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons.

- **Mode opératoire:**

- Mettre 1 ml d'extrait éthanolique de la propolis dans un tube à essai ;
- Ajouter 1 ml de solution de chlorure d'aluminium à 2 % ;
- Après 10 mn, l'absorbance est lue à 430 nm.

La concentration des flavonoïdes contenus dans les extraits de propolis est calculée en se

référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard.

Tableau N°21: La teneur en flavonoïdes des différents échantillons de propolis (Ferhoum, 2010).

Echantillon		quantité de flavonoïdes en mg/g de propolis
Montagne	Yakouren (2006)	30,90 ± 0,20
	Yakouren (2007)	164,39 ± 2,18
	Yakouren (2008) « a »	83,45 ± 1,20
	Yakouren (2008) « b »	3,33 ± 0,1
	Dellys	48,79 ± 0,19
	Bouzgen	189,8 ± 1,28
	Ain El Hammam	193,75 ± 2,3
Plaine	Isser	15,24 ± 2,31
	Mitidja (2007)	103,48 ± 0,28
	Mitidja (2008)	13,33 ± 0,5
	Chaabet	20,84 ± 1,28
Steppe	Sahara (abeille saharienne)	159,21 ± 1,34
	Sahara (abeille tellienne)	10,03 ± 1,03
	Laghouat	120,3 ± 5 4,05

II.1.3.3. Détermination de la teneur en acide ascorbique des extrais éthanoliques de la propolis :

La quantification de la vitamine C (acide ascorbique) est réalisée par la méthode de 2,6 dichlorophénolindophénol (DIP) décrite par *Klein et Rerry (1982)* avec quelques modifications (Yue-Horng Yen et al., 2008).

- **Principe:**

Traitement de 0,5 g de propolis brut coupée en petits morceaux avec 10 ml d'acide oxalique (1%).

L'extrait est centrifugé à 3000 tour/min pendant 15 minutes. 1 ml de surnageant est mélangé avec 9 ml de DIP à 0,2 mM, bien mélangé pendant 15 seconds, puis l'absorbance est mesurée à 515nm.

La courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant une gamme de concentration allant de 0 à 500µg.

Tableau N°22 : Teneur de l'acide ascorbique des différents échantillons de propolis (Ferhoum, 2010).

Echantillon		Vitamine C (* 10 ⁻³ mg/g) de propolis
Montagne	Yakouren (2006)	0,38± 5,21 e ⁻⁰⁵
	Yakouren (2007)	0,56± 7,98 e ⁻⁰⁵
	Yakouren (2008) « a »	0,44 ±2,09 e ⁻⁰⁵
	Yakouren (2008) « b »	0,39± 6,28 e ⁻⁰⁵
	Dellys	0,55± 7,28 e ⁻⁰⁵
	Bouzgen	0,57 ± 9,67 e ⁻⁰⁵
	Ain El hammam	0,27 ±7,38 e ⁻⁰⁵
Plaine	Isser	0,64±4,13 e ⁻⁰⁵
	Mitidja (2007)	0,45± 5,26 e ⁻⁰⁵
	Mitidja (2008)	0,62± 5,10 e ⁻⁰⁵
	Chaabet	0,45± 4,00 e ⁻⁰⁵
Steppe	Sahara (abeille saharienne)	0,54 ± 6,58 e ⁻⁰⁵
	Sahara (abeille Tellienne)	0,31 ± 4,43 e ⁻⁰⁵
	Laghouat	0,12± 7,87 e ⁻⁰⁵

II.1.3.4. Dosage des sucres totaux :

Les sucres totaux sont déterminés par le test au Phénol (méthode de DUBOIS et autres, 1956).

- **Principe :**

En présence de l'acide sulfurique concentré, les oses sont déshydratés en composés de la famille des dérivés furfuriques. Ces produits se condensent avec le Phénol pour donner des complexes jaune-orangé. La teneur en sucres totaux est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 490 nm (Goodon, 1997).

- **Mode opératoire**

Dans un tube en pyrex déposer avec précaution 1 ml de la solution à doser, 1ml de la

solution phénol (50g/l) et 5ml d'acide sulfurique. Après homogénéisation douce de mélange réactionnel et refroidissement, la densité optique est mesurée à 490 nm.

Tableau N°23 : Teneur en sucres totaux et réducteurs des différents échantillons de propolis.

Provenance		les sucres (g Glucose /100g propolis)
Montagne	Yakouren (2006)	2.72±0.02
	Yakouren (2007)	2.35±0.04
	Yakouren (2008) « a »	3.09±0.01
	Yakouren (2008) « b »	2.65±0.06
	Dellys	0.49 ±0.02
	Bouzgen	1.03±0.05
	Ain El hammame	0.66±0.02
Plaine	Isser	0.98±0.01
	Mitidja (2007)	2.41±0.03
	Mitidja (2008)	0.68±0.02
	Chaabet (2009)	0.56±0.01
Steppe	Sahara (abeille tillienne)	3.46±0.01
	Sahara (abeille saharienne)	2.57±0.02
	Lahgouat (2009)	0.47±0.01

II.1.3.5. Dosage des protéines :

II.1.3.5.1. Détermination de la teneur azote totale (Méthode de Kjeldahl)

- **Principe**

Le principe de la méthode est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur. Alcalinisation des produits de la réaction puis distillation de l'ammoniac libéré et titrage.

On introduit dans un matras de minéralisation 1 g de propolis et une pincée de catalyseur (sulfate de cuivre et de potassium), puis on ajoute 15 ml d'acide sulfurique pur ; On applique un chauffage progressif : d'abord une attaque à froid pendant 15 mn jusqu'à l'apparition de vapeur blanche d'anhydride sulfurique, puis le chauffage est rendu plus énergique, attaque à chaud pendant 4 à 5 heures. Quand la solution devient limpide, elle est refroidie et complétée à 100 ml avec de l'eau distillée. La distillation est réalisée dans un distillateur semi automatique (VELP) où l'ajout de 20 ml de lessive de soude à 35 % dans le matras et 25 % d'acide borique dans une fiole de 250 ml est réalisé. Le dégagement

d'ammoniac est récupéré dans une solution d'acide borique contenant l'indicateur coloré (mélange de bleu de méthylène et rouge de méthyle). L'excès d'ammoniac est alors dosé par l'acide sulfurique 0.05 N grâce à un titrateur automatique.

Un témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans échantillon.

II.1.3.5.2. Dosage des protéines solubles :

- **Extraction des protéines soluble de la propolis brute :**

L'extrait de la propolis est préparé par l'incubation des morceaux de propolis dans la solution tampon phosphate 0,1 M (PBS) pH 7,6 avec une proportion de 15 % à (4 à 8°C) pendant 4 à 8 heures (Goupy, 2001).

Les extraits sont centrifugés à 1000 tours par minute pendant 40 minutes et on récupère le surnageant.

- **Quantification des protéines soluble:**

Le dosage des protéines totales solubles des extraits de propolis a été réalisé selon la méthode préconisée par BRADFORD, 1976. C'est une méthode colorimétrique qui permet la détermination des concentrations d'une solution protéique.

Tableau N°24: Teneur en protéines solubles des différents échantillons de propolis. (Farhoum, 2010)

	Echantillon	Protéine soluble (g/100gde propolis)
Montagne	Yakouren (2007)	7,63 e ⁻⁰⁵ (Ecart type : 3,66 e ⁻⁰⁵)
	Yakouren (2008) « a »	1,64 e ⁻⁰⁴ (Ecart type : 3,66 e ⁻⁰⁵)
	Dellys	7,23e ⁻⁰⁵ (Ecart type : 1,39 e ⁻⁰⁵)
	Bouzgen	2,32e ⁻⁰⁴ (Ecart type : 2,69 e ⁻⁰⁵)
	Ain El Hammam	2,83 e ⁻⁰⁴ (Ecart type : 4,25e ⁻⁰⁵)
Plaine	Isser	1,37 e ⁻⁰⁴ (Ecart type : 1,36 e ⁻⁰⁵)
	Mitidja (2007)	2,16 e ⁻⁰⁴ (Ecart type : 3,13 e ⁻⁰⁶)
Steppe	Sahara (abeille saharienne)	1,95 e ⁻⁰⁴ (Ecart type : 2,42 e ⁻⁰⁵)
	Laghouat	1,99 e ⁻⁰⁴ (Ecart type : 1,96 e ⁻⁰⁵)

II.2. Analyse de la composition de l'extrait de propolis :

II.2.1. Analyse de la composition chimique de l'extrait éthanolique de la propolis par chromatographie sur couche mince (CCM) :

- **Principe :**

La chromatographie sur couche mince (C.C.M) essentiellement une chromatographie liquide exécutée sur une couche de particules d'une substance polymérisée immobilisée sur un support planaire.

- **Méthode:**

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées avec des plaques de silicagel, sur un support rigide en verre ; 20/20 cm.

Deux microlitres (2µl) de l'extrait éthanolique ainsi que des étalons sont déposés à des points repères à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque. On a employé comme éluant trois systèmes différents : 1^{er} système (Hexane 20%, Chloroforme 70%, eau 10%), 2^{iem} système (Hexane, Ethanol, 1% Acétone) et le troisième système (Ether de pétrole/Acétate éthylique (7 :3)).

Remarque :

Le dernier système est utilisé pour étudier la composition en flavonoïdes, concernant les étalons, les temps de rétention donnés par la bibliographie ont été utilisés (M Popova et al., 2005)

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 366 nm. Les couleurs des spots et les temps de rétention ont été enregistrés.

II.2.2. Caractérisation des extraits de propolis par la résonance Magnétique et Nucléaire (R M N) (Osmany Cuesta-Rubio et al., 2007).

Le but de cette étude par la Résonance Magnétique et Nucléaire est de développer un système de classification des composés de la propolis, capable de fournir la caractérisation chimique des différents extraits de propolis Algérienne.

- **Principe :**

Il s'agit d'une méthode d'analyse basée sur la réponse des atomes d'hydrogène à la stimulation d'un champ magnétique. Les atomes d'hydrogène entament alors un mouvement de précision.

- **Méthode d'analyse:**

Les spectres RMN du proton ont été enregistrés sur un appareil Bruker DRX-600, fonctionnant à 250 MHz. Les extraits de propolis ont été dissous dans le deutériochloroforme.

Les déplacements chimiques δ sont donnés en ppm.

II.2.3. Détermination de la teneur en éléments minéraux par spectroscopie d'absorption atomique (Javanmardi et al., 2003)

En absorption atomique la concentration est déduite de la mesure de l'absorption de la lumière par les atomes de l'élément restés à l'état fondamental lorsqu'ils sont éclairés par une source lumineuse convenable. La mesure de l'intensité est faite à une longueur d'onde spécifique de l'élément.

- **Mode opératoire (NF V 05 – 113, 1972):**

Aux cendres obtenues après incinération d'une masse bien déterminée de propolis brute est ajoutée 1 ml d'acide chlorhydrique et 10ml d'eau distillé. Après chauffage du mélange dans un bain marie bien bouillant jusqu'à dissolution des cendres, on complète à 100 ml.

A partir de cette solution, nous avons effectué le dosage des éléments minéraux suivant : le sodium, le fer, le potassium, le plomb, le zinc, le cuivre, le manganèse, le chrome, le cobalt, le cadmium, le nickel, par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Tableau N°25: Teneur moyenne des métaux analysés

	Plaine (Mitidja)	Sahara (Laghouat)	Montagne (Ain El Hammam)
Potassium (K) (mg /kg)	190,82	268,28	276,58
Sodium (Na) (mg /kg)	755,32	607,26	563,15
Plomb (Pb) (mg /kg)	51,68	52,30	55,92
Zinc (Zn) (mg /kg)	207,70	397,09	1209,19

Cuivre (Cu) (mg /kg)	7,95	7,75	12,97
Manganèse (Mn) (mg /kg)	30,81	45,52	35,95
Chrome (Cr) (mg /kg)	< 4,97	< 4,83	< 4,98
Fer (Fe) (mg /kg)	993,84	968,51	559,15
Cobalt (Co) (mg /kg)	< 4,97	< 4,83	< 4,99
Cadmium (Cd) (mg /kg)	< 0,99	< 0,97	< 0,99
Nickel (Ni) (mg /kg)	< 5,96	< 5,80	< 5,99
Totale (mg /kg)	2255,01	2363,95	2719,86

III. Activités biologiques :

La propolis est utilisée par l'homme sur le plan médical depuis des millénaires

La propolis est utilisée par l'homme sur le plan médical depuis des millénaires. Depuis une cinquantaine d'années, la littérature scientifique a rapporté et confirmé bon nombre de propriétés thérapeutiques intéressantes de ce produit de la ruche (Banskota, 2001, Burdock, 1998, Isala 2001, Khalil, 2006). Malgré des différences de composition entre les propolis, un certain nombre d'activités pharmacologiques et/ou d'effets biologiques communs font consensus.

III.1. Activités antibactériennes :

Selon Chauvin 1968, c'est jusqu'au 1948 que Kilvalkina a mis en évidence les propriétés bactéricides de la propolis et a trouvé des résultats positifs sur *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Bacillus propigiosus* et une grande sensibilité des Staphylocoques blancs et dorés et des bacilles pyocyanique. Au contraire il n'obtient pas d'action sur toute une série de *Salmonella*, une série d'*Escherichia* et trois *Proteus*. Par la suite, Feureisl et Kraus 1958 ont montré l'activité de divers extraits de cette substance sur plusieurs souches de bacilles

de tuberculose, et ont trouvé que la propolis contient un antibiotique vis-à-vis *Mycobacterium tuberculosis*.

Tableau N°26: Effets de la propolis contre les micro-organismes pathogènes et virus d'après (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995; Burdock, 1998; Banskota *et al.*, 2001b; Orsolich *et al.*, 2004; David *et al.*, 2012; Gressler *et al.*, 2012)

Microorganismes	Espèces
Bactéries à Gram positif	<i>Bacillus cereus, Bacillus mesentericus, Corynebacterium spp., Corynebacterium diphtheriae, Diplococcus pneumoniae, Enterococcus spp., Mycobacteria sp., Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus,</i> <i>Streptococcus : S. critecus, S. epidermis, S. faecalis, S. mutans, S. pyogenes, S. viridans, S. sobrinus.</i>
Bactéries à Gram négatif	<i>Branhamella catarrhalis, E coli, Helicobacter pylor, Klebsiella mozaemae, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella : S.choleraesuis, s.dublin, S. enteritidis, S, gallinarum, S. pullorum, S. paratyphi-A, S.paratyphi-B, Shigella dysinteriae, Sh. Sonnei.</i>
champignons	<i>Aspergillus sp., Candida albicans, C. guiliermondi, C. parapsilos, C. tropicalis ; Cryptococcus sp., Cryptococcus neoformans, Histoplasma copsulatum, Madurella mycetomi, Microsporium : audoinini, canis, cepleo, distortum, ferrugeneum, gypseum ; Piedrahortae, Phialophora jeanselmei, Saccharomyces sp., Trichophyton : sp., mentagrophytes, rubrum, Trichosporon cutaneum.</i>
Virus	<i>Adenovirus, Coronavirus , Herpes symplex, Influenca A et B virus, Newcastle disease virus, Polio virus, Vaccina, Rotavirus, Vesicular, Stomatitis virus, Coronar virus.</i>
Parasites	<i>Cholomonas paramecium, Eimeria : magna, media, perforans ; Giardia lambia, Giardia duodenalis ; Trichomonas vaginalis, Trypanosoma cruzi, Trypanosoma evansi.</i>

III.1.1. activité antibactérienne étudiée par Soltani El khamsa, 2017 :

Matériels utilisés :

- **Propolis (EEP) :** 4 échantillons de Sétif : Babor, 2011, Sétif, 2012 ; Ain Abbassa, 2013 et Boutaleb, 2014
- **Souches bactériennes :**

L'activité antibactérienne des extraits de la propolis a été tester contre:

- *Shewanella putrefaciens* Pdp11(non pathogène)
- *Photobacterium damsela*e subsp. piscicida SK 223/04 (CECT 7198) (pathogène)
- *Vibrio harveyi* Lg 16/00. (pathogène)

Elles ont été utilisées pour déterminer l'activité bactéricide présente dans les extraits de propolis. Les bactéries ont été cultivées sur de la gélose tryptique de soja (TSA) à 25 °C.

- **Résultats :**

Dans le présent travail, l'activité bactéricide a suivi un modèle similaire pour les huit extraits étudiés contre *V. harveyi*. Toutefois, cette activité était très faible et de façon frappante, spécialement dans le cas des extraits aqueux vis-à-vis de *P. damsela*e.

Malgré la faible activité des extraits aqueux dans le cas de *P. damsela*e, le profil bactéricide était également assez similaire. Cependant, en considérant tous les extraits confondus la plus haute activité a été retrouvée vis-à-vis de *S. putrefaciens*. Par contre, dans les extraits éthanoliques, l'activité bactéricide était la plus élevée contre *S. putrefaciens*, et la plus faible contre *V. harveyi*. Il est d'ailleurs admis que l'extrait éthanolique de la propolis a un potentiel élevé comme source alternative de composés antibactériens (Lu *et al.*, 2005; Basim *et al.*, 2006 ; Shiva *et al.*, 2007 ; Yang *et al.*, 2007; Castro *et al.*, 2009).

III.1.2. Activité antibactérienne étudiée par (Blida 2016) :

- **Propolis (EEP) :** récoltée de la partie Ouest de Médéa (Draa El Samar).

-
- **Les souches microbiennes** : Choix de germes : pour effectuer nos expériences, 4germes sont sélectionnées, les souches utilisées ont été fournis par le laboratoire de microbiologie du complexe, prévenant de l'institut pasteur d'Alger, à savoir :
 - *Staphylococcus aureus*,
 - *Staphylococcus épidermidis*,
 - *Bacillus subtilis*,

III.1.2. 1. Mise en évidence de la présence ou non de la zone d'inhibition :

Technique : Par diffusion par gélose.

Principe :

Elle consiste à utiliser des disques buvard, imprégnées dans la substance à tester à une dose bien déterminée. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension des germes utilisés.

Après 24heures d'incubation, il s'établit un gradient de concentration minimale de la substance à tester, l'interaction entre les germes et cette dernière s'exprime par une zone d'inhibition dont le diamètre est une expression indirecte de la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Amhis, 2001). Plus le diamètre de la ZI est grand, plus que les souches sont sensibles à la substance. Plus qu'il est petit, plus qu'elles sont résistantes. (Faucher et al., 1997)

III.1.2.2. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne :

C'est la base de toute détermination directe et précise de la CMI d'un antibiotique ou autre substance avérée possible de présenter une activité antimicrobienne.

- **Principe :**

Consiste à préparer une gamme de dilution de la substance à tester dans des milieux de culture liquides (bouillon nutritif), puis les ensemencer par des différentes souches microbiennes. La croissance des germes diminue au fur et à mesure que la concentration de la substance augmente, il consiste à une comparaison entre les tubes ensemencés qui contient de la substance et ceux de témoins. (Debeyser, 1996).

- **Résultats :**

- ✓ **La zone d'inhibition :**

Après 18heures d'incubation, à 37°C, on constate :

Les diamètres de la ZI sont visibles et bien déterminés,

Tableau N°27: Les diamètres des zones d'inhibition obtenues (Original, 2011)

EEP	5%	10%	20%
Diamètres de la ZI/Germes	Diamètres moyens		
<i>B.subtilis</i>	20,9 mm	21 mm	26,1 mm
<i>S.aureus</i>	33,1 mm	33,1 mm	32,4 mm
<i>S.épidermidis</i>	32 mm	33 mm	34 mm

✓ **L'activité micro effets bactéricide ou bactériostatique :**

Après 18 heures d'incubation, voici les résultats :

- Pour les trois ensembles des tubes témoins des souches étudiés, les milieux nutritifs s'éclaircissent progressivement jusqu'on obtient des milieux plus ou moins clairs (faible turbidité des deux premières dilutions).
- Pour les trois ensembles des tubesensemencés par des suspensions des trois germes bactériens (à savoir : *S.épidermidis*, *S.aureus*, *B.subtilis*) contenant de PEEP à des concentrations croissantes, les bouillons connaissent une forte turbidité pour les premières concentrations, à savoir :
 - De la concentration 10^{-10} g/ml à 10^{-5} g/ml pour *S.épidermidis* ;
 - De la concentration 10^{-10} g/ml à 10^{-4} g/ml pour *S.aureus* ;
 - De la concentration 10^{-10} g/ml à 10^{-7} g/ml pour *B.subtilis* ;
- Puis à partir de ces dernières concentrations, les tubes s'éclaircissent peu à peu et restent limpides.
 - Pour les boitesensemencées par des suspensions microbiennes, des souches testées ; contenant des dilutions décroissantes de la substance testées, on constate qu'après une certaine dilution que les zones d'inhibition apparies, soient nettes et bien délimitées, à savoir : (*S.épidermidis* : 10^{-5} , *S.aureus* : 10^{-4} , *B.subtilis* : 10^{-2}).

L'effet du principe actif est létal pour une partie de la population microbienne, c'est la zone de bactéricide/bactériostatique, qui se traduit par l'éclaircissement du bouillon et l'apparition des ZI nettes et bien délimitées, ainsi se définit la CMI,

comme étant la plus faible concentration des principes actifs de la propolis qui entraîne la mort de la plupart des populations.

- **Les résultats de la CMI et la CMB**

L'effet de la CMI de la propolis à la phase exponentielle, se traduit par l'absence de la prolifération bactérienne, cela indique que la valeur de la CMI est bactériostatique. Cette valeur est de 652,2 µg/ml pour *S.épidermidis*, de 1125 µg/ml pour *S.aureus* et de 2250 µg/ml pour *B.subtilis*, ces valeurs sont obtenues après 120 mn d'incubation.

Par contre, la valeur de la CMB soit 2250 µg/ml qui commence à partir de 200 mn, ainsi pas de prolifération, ni de développement, autrement dit pas de croissance. Donc c'est la valeur Bactéricides

L'étude de la cinétique de croissance des souches, indique que le rapport Bactéricides/bactériostatiques (2250/652,2µg/ml) confirme que la propolis a un effet bactéricide que bactériostatique.

III.1.3. Activité bactérienne étudiée par (Blida 2017) :

III.1.3.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition :

Elle est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, l'antibiogramme (Popova et al., 2010).

- **Principe :**

Ces diamètres ont été déterminés selon la méthode de diffusion en milieu solide en utilisant le milieu Mueller Hinton pour les bactéries (Satrani 2007, Archambaud 2009, Popova et al., 2010). Elle consiste à utiliser des disques de 9 mm, imprégnés de la substance à tester selon trois concentrations (5%, 10% et 20%). Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de germe étudié après 24 heures pour les bactéries à 37°C.

Après 24 heures d'incubation dans l'étuve, il s'établit un gradient de concentration de la substance testé, l'interaction entre les bactéries et la substance à tester s'exprime par la zone d'inhibition (Amhis et al., 2001), puis on mesure les diamètres des éventuelles zones d'inhibition observées autour des disques (Loubaki et al., 1999, Archambaud, 2009).

Pour le témoin de contrôle, on utilise un disque imprégné seulement de tween 80. Et pour enrichir notre travail on a fait des témoins positifs : Gentamicine et Céfalexine.

Les résultats des zones d'inhibition sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau28: Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations a 5%

Souches microbiennes	ZI/échantillon de Sidi moussa en (mm)	ZI/échantillon d'Ouled yaich en (mm)
Bactéries		
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	10.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	10
<i>Escherichia coli</i>	Résistante	Résistante
<i>Citrobacter</i>	Résistante	Résistante
<i>Morganella</i>	Résistante	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	Résistante	Résistante

Tableau 29 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 10%

Souches microbiennes	ZI/échantillon de Sidi moussa en (mm)	ZI/échantillon d'Ouled yaich en (mm)
Bactéries		
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	11
<i>Escherichia coli</i>	Résistante	Résistante
<i>Citrobacter</i>	13	12
<i>Morganella</i>	Résistante	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	14	13

Tableau30: Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations a 20%

Souches microbiennes	ZI/échantillon de Sidi moussa en (mm)	ZI/échantillon d'Ouled yaich en (mm)
Bactéries		

<i>Staphylococcus aureus</i>	17	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	21
<i>Escherichia coli</i>	Résistante	Résistante
<i>Citrobacter</i>	17	16
<i>Morganella</i>	20	16
<i>Salmonella arizona</i>	19	15

Tableau31 : Résultat des zones d'inhibition des témoins positives

Souches microbiennes	ZI/ de Gentamicine en (mm)	ZI/de Céfalexine en (mm)
Bactéries		
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37	Résistante
<i>Escherichia coli</i>	30	10
<i>Citrobacter</i>	26	Résistante
<i>Morganella</i>	21	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	37	Résistante

Tableau32 : Résultat des zones d'inhibition des témoins négatives (Tween 80)

Souches microbiennes	ZI/ de Tween 80 en (mm)
Bactéries	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistante
<i>Escherichia coli</i>	Résistante
<i>Citrobacter</i>	Résistante
<i>Morganella</i>	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	Résistante

III.1.4. Activité antibactérienne étudiée par (Thèse Blida, 2011) :

L'étude a été faite sur 3 souches de références :

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- *Staphylococcus aureus* MSSA ATCC 25932 ;
- *Staphylococcus aureus* MRSA ATCC 25922.

Et d'autres souches : *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus β* hémolitique.

III.1.4.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition (aromatogramme) :

- **Principe :**

Ces diamètres ont été déterminés selon la méthode de diffusion en milieu solide en utilisant le milieu Mueller Hinton (Satrani 2007, Archambaud 2009, Popova et al., 2010).

- **Résultats :**

EEP est sans effet inhibiteur pour la souche *Pseudomonas*, mais à un effet pas très important sur les deux souches *Staphylococcus*

III.1.5. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide de l'EEP :

Tableau33 : Les différentes CMI et CMB observées sur les souches testées.

Souches	CMI/PL (mg/ml)	CMI/PS	CMB	CMB/CMI
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2	4	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1	1	1
<i>E. coli</i>	8	Ns	Ns	Ns
<i>Bacillus subtilis</i>	0,25	0,25	0,25	1
<i>Streptococcus β hémolitique</i>	0,5	0,5	0,5	1

CMI PL : CMI phase liquide, CMI PS : CMI phase solide, Ns : non spécifiée.

III.2. Activité cicatrisante :

Cette étude a été faite pour démontrer l'effet cicatrisant de la propolis de Benibelaid (Segueni Narimane, 2011). Elle a été réalisée sur des rats femelles de souches albinos pesant entre 97,2 et 189 g, provenant de l'institut Pasteur d'Alger. L'animalerie était soumise à une photo-période de 12 / 24 heures.

- **Plaies cutanées :**

Ils ont utilisé 8 rats repartis en 2 lots égaux. Les plaies cutanées ont été réalisées en combinant les deux méthodes de Subramoniam et al 2001 et Melpomeni et al 2003. Pour chaque rat, 2 plaies cutanées sont réalisées sur la partie antérodorsale.

- **Traitements des plaies :**

Après réalisation des plaies, les animaux sont traités comme suit :

Lot n°1 : désigné comme lot témoin

- La première plaie ne reçoit aucun traitement. Elle est considérée comme contrôle négatif.
- La deuxième plaie est traitée par la vaseline. Elle est considérée comme Contrôle positif.

Lot n°2 : désigné comme lot traité.

- La première plaie est traitée par l'extrait de la propolis à 30%.
- La deuxième plaie est traitée par le remède à base de la propolis.

Les traitements sont appliqués quotidiennement au matin, durant 18 jours consécutifs. Toutes les règles de l'asepsie ont été respectées. L'observation macroscopique des différentes plaies est réalisée avant chaque nouvelle application. Toutes les plaies sont laissées à l'air libre.

Certains paramètres, durant cette période, ont été contrôlés régulièrement :

- *Poids des rats :*
- *Comportement des animaux ;*
- *Apparition de rougeur, d'œdème et de bourgeon ;*
- *Apparition disparition de la croûte ;*
- *Surfaces des plaies et leur évolution* Nous avons mesuré le pourcentage de la réduction de la surface de la plaie par rapport à la surface de la plaie initiale suivie durant 1er, 2eme, 4eme, 8eme, 12eme, 16eme et 18eme jour.

- **Résultats :**

- ✓ **Poids** Les valeurs des poids augmentent légèrement et régulièrement au cours du traitement. L'étude statistique montre que l'évolution des poids des deux lots ne présente aucune différence significative ($P > 0.05$) pendant toute la durée de l'expérimentation

✓ **Comportement** : Il n'a été observé aucun changement dans le comportement des animaux qui ne semblent pas affectés par la présence des plaies sur leur partie antéro-dorsale.

✓ **Surface de la plaie, évolution et croute** :

Plaie 1 : contrôle négatif (aucun traitement).

Plaie 3 : plaie traitée par l'extrait de propolis à 30%.

Tableau34: Variation du pourcentage de la réduction de la surface des plaies 1 et 3

N° de lot	Surface(%) Plaies	J 1	J2	J4	J8	J12	J16	J18
Lot témoin	Plaie 1	0	0	10	38,75	95	100	100
	Plaie 1	0	0	25,33	76,66	96	99,66	100
	Plaie 1	0	0	42,2	80,73	99,77	100	100
	Plaie 1	0	0	45	71,42	99,82	100	100
Moyenne ± écart type		0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	30,63 ± 16,27	66,89 ± 19,14	97,65 ± 2,51	99,92 ± 0,17	100
Lot traité	Plaie 4	0	0	58,67	89,79	99,49	100	100
	Plaie 4	0	0	35	77,27	99,09	100	100
	Plaie 4	0	0	20	86,66	100	100	100
	Plaie 4	0	0	28,88	72,22	98,88	100	100
100		0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	35,64 ± 16,54	81,49 ± 8,15	99,37 ± 0,49	100	100

Le traitement des animaux par l'extrait de propolis à 30% pendant 8 jours n'a entraîné qu'une légère augmentation du pourcentage de la réduction de la surface par rapport à la plaie contrôle négatif. L'étude statistique montre que les variations du pourcentage de la réduction de la surface des deux plaies ne présentent aucune différence significative ($P > 0.05$).

Cependant, macroscopiquement, il y'a eu quelques changements au niveau des paramètres surveillés : il a été observé que le temps de disparition de la rougeur, de l'œdème et du bourgeon pour les rats traités par l'extrait de propolis survient au bout du 3^{ème} jour, par contre ce phénomène ne survient qu'au bout du 4^{ème} jour pour les rats témoins ; et pour la croute, elle apparait au 4^{ème} jour et se maintient jusqu'au 8^{ème} jour, puis laisse place au nouveau tissu cicatriciel rose et fragile, en revanche, elle apparait au 6^{ème} jour et se maintient jusqu'au 13^{ème} jour chez les rats témoins.

III.3. Activité antifongique :

❖ Détermination de la ZI (Thèse Blida 2016) :

Mise en évidence de la présence ou nom de la zone d'inhibition.

Technique : de diffusion par gélose

Milieu de culture : GS

Souche : *Candida albicans*

Incubation 25°C / 18heures

- **Résultats :** Les diamètres sont visibles et bien délimités

Tableau n°35 : Les diamètres observés de la zone d'inhibition

EEP	5%	10%	20%
Souche :	Diamètres moyens		
<i>Candida albicans</i>	10,3 mm	15 mm	16,1 mm

Candida albicans donne des diamètres très faibles avec les 3 EEP, due à une faible sensibilité à la propolis.

❖ Détermination de la ZI par (Thèse Blida 2011) :

EEP : [C]= 20%

Milieu : saboubraud

Souches fongiques : *Candida sp.*, *Candida albicans*

- **Résultats :**

Tableau 36: Les diamètres de la ZI observés

Souches	Aromatogramme (mm ± ET)	Micro-atmosphère
<i>Candida sp.</i>	22,33 ± 0,57	00
<i>Candida albicans</i>	21,25 ± 1,25	00

Candida albicans répond par une sensibilité pas très importante

❖ Détermination de la CMI et CMB :

Tableau37 : Les valeurs CMI et CMB observées

Souche	CMI / PL	CMI /PS	CMB	CMB/CMI
<i>Candida albicans</i>	2	2	2	1

❖ Détermination de la ZI (Blida 2017) :

Souches fongiques : *Candidas albicans*

Saccharomyces cerevisiae

Aspergillus niger

Milieu : sabouraud

Principe : Ces diamètres ont été déterminés selon la méthode de diffusion en milieu solide selon la méthode de (Satrani 2007, Archambaud 2009, Popova et *al.*, 2010).

La lecture des résultats se fait après 48 heures d'incubation.

Résultats

Tableau38 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons (5%, 10%, 20%)

Souches fongiques	5%	10%	20%	
<i>Candida albicans</i>	R	R	11	11
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	R	R	25	16
<i>Aspergillus niger</i>	R	R	16	15

Pour la Concentration 5% et 10% toutes les souches fongiques sont résistantes pour les deux propolis utilisées.

Pour la concentration 20%, il y ' a une légère inhibition pour les 3 souches.

III.4. Activité antiviral :

La propolis comprend une complexité de composés qui jouent un rôle dans la protection antivirale. Malgré les quelques données disponibles sur cette activité, il a été démontré que la propolis provenant de différentes régions géographiques aurait une activité antivirale considérable en agissant à différents niveaux et en interférant avec la réplication de certains virus (Fokt *et al.*, 2010). C'est le cas de l'*Herpès simplex* de type 1 et 2, l'adénovirus de type 2, Le virus de la grippe ou le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), entre autres (Amoros *et al.*, 1992; Marcucci, 1995; Gekker *et al.*, 2005; Sartori *et al.*, 2012).

Il existe peu de données à partir d'études sur l'effet antiviral de la propolis. Dans les études virologiques effectués avec des extraits de propolis obtenus à partir de divers solvants, certains extraits affectent la reproduction des virus grippaux A et B (Nolkemper et al., 2009), virus de la vaccine, le virus de la maladie de Newcastle, et le virus de la grippe aviaire (Domerego 2003).

Selon Marcicci 1995, Amoros et al., 1992 ont étudié l'effet in vitro de la propolis sur plusieurs virus à ADN et à ARN, y compris l'herpès Simplex de type 1, herpes simplex de type 2, un mutant résistant à l'acyclovir, l'adénovirus de type 2, virus de la stomatite vésiculeuse et le poliovirus de type 2. En plus de son effet sur la multiplication du virus, la propolis a été trouvée à exercer une action virucide sur le virus de l'herpès simplex enveloppés (HSV) et le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV). Ses résultats ont été confirmés par (Huleihel et Isanu 2002, Schnitzler et al., 2009 et Domerego 2003), qui a signalé aussi que la propolis est également d'un grand secours contre les virus de l'hépatite B et le zona ainsi de le VIH (Ito et al., 2001).

Les recherches les plus récentes sont celles de Nolkemper et al., (2009) ou l'effet de la propolis exercé sur l'Herpes Simplex a été bien expliqué.

En outre des avantages thérapeutiques ont été rapportés pour les extraits de la propolis contre les infections des voies respiratoires chez les enfants (Cohen et al., 2004).

- **Mode d'action :**

Selon Fearnley 2001, les virus sont contenus dans une enveloppe protéique qui les protège, lorsque le virus pénètre dans un organisme cette enveloppe s'ouvre en libérant le matériel viral. Grace à l'action des flavonoïdes contenus dans la propolis qui sont l'acide caféique, lutseoline et la queratine, l'enzyme responsable de la décapsulation du virus est inhibée, le contenu génétique du virus n'est pas libéré dans l'organisme, ce qui l'empêche d'être infectieux et de prolifères.

III.5. Propriétés anti-oxydantes :

Un antioxydant est une molécule capable de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules et ainsi d'empêcher de tels changements. L'effet antioxydant est en corrélation avec l'activité anti-inflammatoire et hépato protectrice.

Cette propriété antioxydant des flavonoïdes est due à leur composition chimique. Ces composés ont la propriété de piéger les radicaux libre responsable de la détérioration des lipides membranaires. Cette activité anti radicalaires est mise en évidence vis-à-vis du radical DPPH. C'est la fraction la plus concentré en flavonoïdes qui réduit le mieux les radicaux libres en protégeant les lipides et autres substances comme la vitamine C. C'est pour cette raison qu'on recommande la

prise de la propolis au même temps que l'acide ascorbique (Buratti *et al.*, 2007). De plus, elle permet aussi une régénération des tissus en cas de brûlure et un ralentissement du vieillissement des cellules (Veloza *et al.*, 2006).

La propolis est remarquable pour ses propriétés antioxydantes et qui est plus actif que le reste des produits de la ruche en ce qui concerne cette propriété (Volpi et Bergonzini, 2006). Les effets antioxydants relativement puissants de l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) provenant de différentes origines géographiques (Argentine, Australie, Chine, Hongrie et Nouvelle-Zélande) ont été corrélés avec des teneurs élevées en polyphénols et flavonoïdes, en particulier le kaempferol et le phénéthyl caffeate (Kumazawa *et al.*, 2004a). D'autres échantillons de propolis provenant de Turquie et de différentes régions de Corée ont donné des résultats similaires (Ahn *et al.*, 2004). En général, les antioxydants synthétiques ont montré de meilleures propriétés antioxydantes que l'EEP, mais à des concentrations plus élevées, par contre le pouvoir réducteur de l'EEP et des antioxydants artificiels étaient similaires. L'activité DPPH de piégeage des radicaux libres de l'EEP Coréenne est supérieure à celle de l'hydroxy toluène butylé (BHT). L'acide ferulique, la quercétine, l'acide caféique, les composés prénylés, l'apigénine ainsi que la galangine, l'acide p-coumarique et l'CAPE (caffeic acid phenethyl ester) ont été identifiés comme composés bioactifs responsables du potentiel antioxydant dans différents échantillons de propolis (Cuesta-Rubio *et al.*, 2002; Orsolich *et al.*, 2005; Orsolich *et al.*, 2006; Volpi et Bergonzini, 2006; Fischer *et al.*, 2007).

En plus des composés cités, Oyaizu *et al.* (1999) ont rapporté que l' α -tocophérol est contenu dans presque tous les échantillons de propolis et est fortement corrélé avec son effet antioxydant

III.6. Effets anti-tumoraux et antiradiation :

Orsolich (2010), a montré l'activité chimio préventive de la propolis dans les modèles animaux et les cultures cellulaires par : leur capacité à inhiber la synthèse d'ADN dans les cellules tumorales, leur capacité à induire l'apoptose (mort cellulaire) des cellules tumorales, ainsi que leurs propriétés à activer les macrophages, par production des facteurs capables de réguler la fonction des cellules B, T et NK. En effet, Sforcin (2007) avait déjà rapporté une stimulation de l'activité lytique des cellules NK contre les cellules tumorales par augmentation de la production des anticorps. De plus, les flavonoïdes de la propolis jouent un rôle protecteur contre la toxicité des agents chimio thérapeutiques ou des radiations chez la souris, ce qui donne l'espoir qu'ils peuvent avoir une action protectrice similaire chez l'homme. La combinaison avec une thérapie antioxydante adjuvante peut améliorer l'efficacité de la chimiothérapie en améliorant l'effet secondaire sur les

leucocytes, le foie et les reins et, par conséquent, permettant ainsi une augmentation de la dose (Sforcin, 2007).

Bien que de nombreux polyphénols aient une activité anti-métastatique, l'acide phénylique d'acide caféique (CAPE) de la propolis de peuplier et l'Artepilline C de la propolis de baccharis ont été identifiés comme des agents anti tumoraux (Bankova *et al.*, 2007; Sforcin, 2007). Les effets anti tumoraux de la chryisine (propolis de peuplier), de la nemorosone et de la plukenetione A (propolis cubaine) ont aussi été rapportés. La consommation régulière de suppléments alimentaires de propolis peut avoir un effet préventif contre les cancers liés à la mutation chez l'homme. Cette activité préventive est liée à l'activité anticancéreuse, anti-oxydante, antiprolifératives (les cellules cancéreuses provoquant une apoptose), anti-angiogénique (processus multi-étape pour former des vaisseaux sanguins, ce processus est perturbé dans le cancer), suppressives, anti-inflammatoire et immunomodulateur (Watanabe *et al.*, 2011; Vit *et al.*, 2015).

Par son effet antioxydant puissant la propolis peut contrer le rayonnement en minimisant les taux de molécules oxydantes dans les cellules tumorales des animaux. En effet, la propolis agit également dans l'apoptose des cellules cancéreuses, améliorant ainsi l'effet anticancéreux du rayonnement (Benkovic *et al.*, 2008; Orsolic, 2010).

IV. Discussion :

D'après des études réalisées dans plusieurs régions de l'Algérie (Montagne, steppe, plaine), on constate que la propolis varie selon la source végétale de la région.

Selon Moudir Naima l'origine de la propolis en Algérie est : le chêne, châtaignier, cyprès, casuarina et peuplier.

D'après l'étude de Ferhoum, 2010 :

IV.1. Les méthodes physique :

- **Les pertes pendant le séchage et le pourcentage de la matière sèche des échantillons de propolis :**

Les échantillons de la propolis pris des trois régions (tableau n°14) sont pauvres en eau et matières volatiles, ce qui procure à la propolis sa structure solide, qui est en adéquation avec la nature hydrophobe de la plupart des constituants. Les analyses des échantillons ont révélé un taux faible de pertes pendant le séchage compris entre 1,26 à 3,89 %. Cela signifie que la presque totalité du poids de la propolis est constituée par la matière sèche (96% à 98,53% de matière sèche).

Comparativement aux propolis d'Argentine (1,4 % à 6,2 %) (Tosi et al., 2006), ces valeurs de pertes de la propolis Algérienne sont légèrement inférieures.

En comparant la moyenne des trois régions et en éliminant les échantillons mal conditionnés, on peut en déduire que les trois groupes montagne, plaine et le groupe de la propolis Saharienne présentent respectivement des taux d'humidité moyens comparables de 2,39 (écart type : 0,81%) ; 2,12 (écart type : 0,57%) et 2,43 (écart type : 1,34%), ce qui montre que les pertes pendant le séchage ne permettent pas de faire la différence entre les trois groupes.

Des fois on trouve des résultats différents dans la même région, cette différence est due aux mauvaises conditions de conservation de cet échantillon (conservation à l'air libre) ainsi que les conditions climatiques

- **Taux des cendres et de la matière organique de la propolis**

Nous constatons que les échantillons de propolis Algérienne dans le 15ème tableau montrent un taux de cendres variant entre 1,58% et 5,32 %. Ce qui conduit à déduire que la propolis est riche en matières organiques (plus de 94 %). Les taux de cendres obtenus sont en concordance avec la

littérature (5%) (Krell, 1996, Bankova et al., 1987).

En comparant les trois régions on constate que la région montagneuse a le taux de cendre le plus élevé (5.32%) à Ain el Hammam Tant dis que le taux le plus faible est dans la région de la steppe avec un taux de (1.58%) au Sahara (abeille saharienne).

Le taux de cendre à la région de la plaine reste moyen

Les valeurs du taux de cendres de la propolis algérienne ont été supérieures comparativement aux propolis d'Argentine (1,8% à 2,4%) (Tosi et al., 2006).

- **Masse volumique des différents échantillons de propolis :**

Le tableau 16 montre des résultats qui varient entre 1,01 (écart type = 0,05) et 1,18 (écart type = 0,09), ce qui signifie que la propolis est plus dense que l'eau. Mais pour les échantillons dégradés, la masse volumique est de l'ordre de 0,98 ; cela peut s'expliquer par la non homogénéité de ces échantillons et la perte d'une grande partie des constituants.

- **Le point de fusion des différents échantillons de propolis :**

Les résultats obtenus dans le tableau 16 indiquent que le point de fusion des différents échantillons de la propolis Algérienne varie entre 65,8 (écart type : 0,8) présenté par l'échantillon d'Isser à 82,0 (écart type : 1,0) présenté par l'échantillon de Yakouren 2006.

IV.2. Analyses chimiques :

- **Détermination de pH de la propolis :**

Les différents échantillons de propolis ont montré un pH variant entre 4,24 et 4,66. Ce qui signifie que toutes les propolis sont de nature acide, cette acidité est due à sa composition riche en acides aromatiques (dérivés de l'acide benzoïque ; dérivés de l'acide benzaldéhyde ; dérivés de l'acide cinnamique) et acides aliphatiques.

D'après les résultats illustrés dans le tableau N°17, on remarque que les échantillons de propolis du groupe steppe ont montré un pH moyen le plus élevé 4,54 (écart type : 0,10), tandis que le groupe montagne présente un pH de l'ordre de 4,45 (écart type : 0,19), le groupe plaine présente des valeurs intermédiaires.

- **Détermination de l'acidité titrable de la propolis brute :**

Les résultats obtenus dans le 19ème tableau mettent en évidence la nature acide de la propolis. L'acidité de la propolis étudiée varie entre 6,25% (écart type = 0,46%) et 8,67% (écart

type =0,23%). L'échantillon de Dellys à montré la valeur la plus faible de 4,73% (écart type = 0,61%). Par contre la propolis de la Mitidja 2008 à montré la valeur la plus élevée de 10,67% (écart type= 0,23%), ce qui peut être expliqué par la dégradation de l'échantillon ou bien la différence de la flore botanique entre ces deux régions.

IV.3. Quantification de quelques composés principaux de la propolis :

- **Teneur en polyphénols et flavonoïdes :**

La teneur en polyphénols et flavonoïdes se différencie d'un échantillon à un autre selon l'origine botanique de la propolis, c'est-à-dire la région des provenances (Leandro M., Luis G., Diase, José Alberto Pereira, Leticia Estevinho; 2008.), comme illustrées dans les tableaux N° 20 et 21.

➤ **Polyphénols :**

Les teneurs en polyphénols totaux des différents échantillons de propolis dans le tableau n°20 présentent des écarts significatifs, la variation passe de 11,53 (Ecart type : 0,6) mg EAG /g de propolis brute (le cas des échantillons dégradés) à 310,37 (Ecart type : 0,16) mg EAG / g de propolis brute (le cas des échantillons en bon état).

En comparant la moyenne des trois régions et en éliminant les échantillons mal conditionnés, on peut déduire que les deux régions Montagne et steppe présentent des valeurs moyennes comparables de 233,75 et 240,42 mg EAG / g de propolis brute, mais les échantillons de la région steppique montrent une répartition plus homogène (Ecart type : 4,46). La plaine présente la valeur moyenne la plus faible de 161,21 mg EAG / g de propolis

➤ **Flavonoïdes :**

La teneur en flavonoïdes dans les extraits éthanoliques de propolis est exprimée en mg d'équivalent de Quercétine par g de propolis brut (mg EQ/g de propolis), représentés dans le tableau n°21.

Les quantités les plus élevées en flavonoïdes sont repérées chez les échantillons de Ain El Hammame (193,75 mg EQ/g de propolis) suivi de celle de Bouzguen (189,8 mg EQ / g de propolis). Les teneurs les plus faibles sont celles de Yakouren 2008 « b » (3,33 mg EQ/g de propolis), Mitidja 2008 (13,33 mg EQ/g de propolis brute) et la propolis Saharienne dégradée (10,03 mg EQ / g de propolis brute). Les autres échantillons ont présentés des valeurs moyennes allant de 13 à 164,39 mg EQ / g de propolis. Ces résultats sont différents d'un échantillon à un autre de la même région,

ce qui signifie que la détermination de la teneur en flavonoïdes peut être utilisée comme un indice de provenance de la propolis.

En comparant les résultats des trois régions, avec l'élimination des échantillons dégradés. On peut déduire que les deux régions montagne et steppe présentent des valeurs importantes en flavonoïdes 118,51 et 139,78 mg EQ/g de propolis respectivement, par contre la région plaine présente une valeur faible. Résultats similaires à ceux trouvés pour les polyphénols.

- **Dosage de la vitamine C :**

Les résultats obtenus dans le tableau n°22 varient entre 0,64 (Ecart type : 4,13E-05) mg/g de propolis brute, la teneur la plus élevée et elle a été enregistrée par l'échantillon provenant des ISSER. L'échantillon de Laghouat présente la valeur la plus faible $0,12 \cdot 10^{-3}$ (Ecart type : 7,87E-05).

- **Détermination de la teneur en sucres :**

La quantité la plus élevée en sucres totaux (tableau 23) est donnée par l'échantillon Saharienne (abeille noire) $3,46 \pm 0,01$ g E G /100 g de propolis brut, et la quantité la plus faible est observée avec l'échantillon de Laghouat ($0,47 \pm 0,01$) g E G /100 g de propolis brute.

- **Teneur en protéine soluble**

A notre connaissance, la teneur en protéines soluble de la propolis brute, n'a pas été étudiée.

Le tableau n°24 montre la comparaison entre le pourcentage en protéine par région.

- **Détermination de la teneur en éléments minéraux par spectroscopie d'absorption atomique :**

Le Potassium, le Sodium, le Zinc et le Fer ont présenté les concentrations les plus élevées dans les échantillons analysés, les autres éléments ont diminué dans l'ordre : Plomb > Manganèse > Cuivre. Tandis que le Chrome, le Cobalt, le Cadmium et le Nickel étaient aux dessous de la limite de détection dans tous les échantillons analysés.

La concentration de Zinc était plus élevée dans la propolis provenant de montagne (1209 mg/Kg) contrairement à celles provenant de la Plaine et Sahara (207,70 et 397,09 mg/kg respectivement). Le même échantillon a présenté la plus faible concentration en Fer (559, 15 mg /Kg).

Les résultats obtenus dans notre étude sont comparables à ceux trouvés dans la littérature (Osmany Cuesta-Rubio et al., 2007) ; celle-ci a signalé que la teneur en minéraux change d'une région à une autre et que le potassium et le calcium présentent les concentrations les plus élevées : 473 et 1650 mg/Kg respectivement.

En comparant la teneur totale en minéraux présente dans les propolis brutes des trois régions différentes, on peut en déduire que la propolis montagnaise présente la valeur la plus élevée (2719,86 mg/Kg), suivie de celle Saharienne (2363,95 mg/Kg) et en fin de la Plaine (2255,01 mg/Kg).

IV.4. Activité antibactérienne :

- **Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la concentration Minimale Bactéricide (CMB) de l'EEP :**

D'après les résultats obtenus de cette étude (tableau 33) faite sur l'activité antibactérienne de la propolis, prévenante de différents endroits (Sétif, Blida, Alger, Médéa), et à différentes concentrations (5%, 10%, 20%), testé sur de variables souches bactériennes. La variation du diamètre de la zone d'inhibition correspond à la sensibilité/résistance de la souche envers notre antibiotique naturel, la propolis. On a constaté des résultats très variables, aucune activité sur les bactéries à Gram négatif (*E.coli*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Morganella*) à une basse concentration (5%) et ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Popova et al., 2010, qui a travaillé sur différentes propolis du monde, notamment la méditerranéenne. Quoique, quelques souches ont été légèrement sensible à une plus forte concentration (10% ou 20%), sauf pour *E.coli* qui a été résistante dans tous les résultats. Cependant l'activité inhibitrice varie sur les bactéries à Gram positif, en tenant compte des germes étudiés, leurs pathogénies et résistances, l'EEP et la concentration utilisée. On peut expliquer cette variation de résultats par la variation de la propolis en fonction de la région géographique, le climat, l'origine botanique etc.. comme c'est mentionné en bibliographie. (Popova et al., 2010 ; Bogdanov et al., 2006 ; Bufalo et al., 2007).

IV.5. Activité cicatrisante :

Il a été démontré par ces résultats (tableau 34) qu'il y'a eu une légère augmentation de la réduction de la surface de la plaie, qui n'est pas significative, ce qui était démontré également par Kleinrok et al., 1978 et Jarrahi et al., 2004. Contrairement à l'étude menée par Scheller et al., 1977 et Gabrys et al., 1986, leurs résultats ont montré une bonne activité cicatrisante. Cela est peut être due à l'origine botanique de la propolis. (Hegazi, 1997)

Macroscopiquement, on a constaté une bonne activité anti-inflammatoire, la rougeur, l'œdème et le bourgeon qui se fait remplacé plus rapidement, et la croute qui disparaît plus rapidement ce qui peut signifier que la propolis agit sur le tissu de granulation.

IV.6. Activité antifongique :

Les champignons sont plus sensibles qu'à cette concentration (20%) de l'extrait de propolis, avec un diamètre varie entre 11mm et 25mm pour l'échantillon de Sidi moussa et entre 11mm et 16mm pour l'échantillon d'Ouled yaich. Ce qui confirme que la propolis possède des propriétés antifongiques (Ota et *al* 2001, Pepeljnak et *al* 1982, Cizmaric et Trupl 1976, Ozcan et *al* 2004),

V. Conclusion :

Les recherches entreprises durant ces dernières années ont permis de montrer que ce produit de la ruche pouvait être une alternative efficace dans bon nombre de troubles et pathologies mais également en association avec certaines médications.

Actuellement, la communauté scientifique reconnaît, en partie, le pouvoir et l'apport de l'apithérapie dans les domaines diététique et thérapeutique. Toute fois, cette discipline reste non reconnue comme une pratique médicale à part entière. Ainsi, elle fait l'objet de plus en plus d'études visant à confirmer scientifiquement les effets bénéfiques de la propolis déjà observés pendant plusieurs millénaires. En fait, tout le paradoxe est là, ses vertus médicinales sont connues dans de nombreuses civilisations, des résultats empiriques les mettent en évidence mais la confirmation des bienfaits de ce produit par le monde médical tarde à venir.

Le présent mémoire est une synthèse bibliographique sur la propolis, sa composition et ses activités biologiques étudiées en Algérie ; travaillant sur des thèses de master et doctorats tout en comparant les résultats obtenus. Ces travaux ont sélectionnés plusieurs propolis de différentes régions, principalement : la steppe, la montagne et la plaine où on a constaté des différences de résultats dans celles-ci et parfois une différence au sein de la même région comme dans le cas de la région de Yakouren et de Metidja. Cela peut être causé par différents facteurs tels que la mauvaise conservation, le climat ; ce qui influencera la composition chimique et physique de la propolis qui a un impact sur son activité biologique.

Références bibliographiques

1. Akin H. 2008. Evolution du pH pendant la fermentation alcoolique de moûts de raisins, modilisation et interprétation métabolique. Thèse doctorat, Institut National. *Polytechnique de toulouse, option genie des procédés et environnement. P40.*
2. Amic D. ; Becol D et Trinaijsti N. 2003. Structure-Radical Scavenging activity relationships of Flavonoïdes. *Croatica Chemica Act, Original Scientific Paper 76 (1).*
3. Amoros, M., Simoes, C.M., Girre, L., Sauvager, F., Cormier, M., 1992. Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products 55, 1732– 1740.*
4. Assen meriem et Ouadfeul sabrina, 2017, Caractérisation physico-chimique de la propolis issue du Nord Algérien et évaluation de quelques activités biologique et formulation cosmétique
5. B. Goodon, 1997. Guide pratique d'analyse dans les industries des céréales. *Tec. et Doc. P 346, 347-353,354.*
6. Bahorun T. ; Gressier B. ; Trotin F. ; Brunet C. ; Dine T. ; Luyckx M. ; et autres ., Vasseur J. ; Cazin M. ; Cazin J.C. ; Pincas M. 1996. Oxygen species scavening activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and parmaceutical preparations. *Arzneimittle Forshing, 46 (11), pp 1086-1089.*
7. Bankova V., de Castro SL., Marcucci MC. 2000. Propolis : récent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie 31: 3 –*
8. Bankova, V. Dyalgerov, A., Popov, S. and Marekov, N.L. 1987. A GC/MS study of the propolis phenolic constituents. *Z. f. Naturforschung, 42:147-151.*
9. Bankova, V. Dyalgerov, A., Popov, S. and Marekov, N.L. 1987. A GC/MS study of the propolis phenolic constituents. *Z. f. Naturforschung, 42:147-151*
10. Bankova, V., Castro, S.L., Marcucci, M.C., (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie, 31, 3-15.*
11. Banskota AH.; Nagaoka T.; Sumioka LY. 2002. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer celle lines. *J Ethnopharmacol 80: 67 – 73.*
12. Banskota.; Yasuhiro Tezuka.; Jeevan K. Prasain.; Katsumichi Matsushige.; Ikuo Saiki et Shigetoshi Kadota. 2004. Chemical Constituents of Brazilian Propolis and Their Cytotoxic Activities. *J. Agric. Food Chem., 52, 7286-7292*

-
13. Barak, S et Katz J The effect of breezy candy on halitosis: a double-blind, controlled and randomized study. *Quintessence Int*2012;**43**(4):313-317
 14. Beatriz Lima. Alejandro Tapia, Lorena Luna, Maria p. Fabani, Guillermo Schmeda-Hirschmann, Natalia S. Podio, Daniel A. Wunderlin, and Gabriela E. Feresin.2009. Main Flavonoids, DPPH Activity, and Metal Content Allow Determination of the Geographical Origin of Propolis from the Province of San Juan (Argentina). *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 2691–2698.
 15. Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt KV (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Ann Bot*, 91, 179-194.
 16. Branen A L.; Davidso PM.; Katz B. 1980. Antimicrobial properties of phenolics antioxydants and lipids. *Food technologie*.rr42-63.
 17. Bruno B. Saliva. ; Pedro L. Rosalen. ; Jaime A. Cury.; Masaharu Ikegaki.; Vinivius C. Souza.; Alessandro Esteves et Severino M. Alencar. 2007. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*.
 18. Burdock ga. Review of the biological properties ans toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol* 1998; **36**(4):347-363.
 19. Burdock, G. (1998), Review of the biological properties and toxicity of bee.
 20. Caillas.A, 1974. Les produits de la ruche: miel, cire, venin et la propolis. 2^{ème} Edition, Bois d'Archis (78). Saint-Gilles. PP: 1-35.
 21. Cuellar Cuellar, A. and Rojas Hernandez, N.M. 1987. Chemical components of Cuban propolis. *Revista Cubana de Farmacologia*, 21(3): 365-372
 22. De Whalley CV, Rankin SM, Hoults JRS, Jessup W and Leake DS (1990). Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem Pharmacol*, 39(11), 1743-50.
 23. Dobrowolski, J. W.; Vohora, S. B.; Sharma, K.; Shah, S. A.; Naqvi, S. A.; Dandiya, P. C. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol.* **1991**, 35, 77–82
 24. Donadieu Y.1992.*l'apithera-pie,médecine des abeilles :Edition Amyris,225 pages.*
 25. Elena Gregoris.; Roberto Stevanato. 2009. Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis.*Food and Chemical Toxicology*.

-
26. Enzo A Tosi.; Edmundo Ré.; Marta E Ortega. ; Ampelio F Cazzoli. 2007. Food preservative based on propolis : Bacteriostatic activity of propolis polyphénols and flavonoïdes upon *Escherichia coli*. *Food Chemistry* : 1025- 1029.
27. Eric Debuyser., 1984. La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. *Université De Nante, Faculté de pharmacie*.
28. Erica Weinstein Teixeira.; Giuseppina Negri.; Renata M. S. A. Meira.; Antonio Salatino. 2005. Plant origin of grin propolis : Bee Behavior, Plant Ana Chemistry. *Evidence-based Complementary and Alternative Medvine.1: 85 – 92*.
29. Erkmén O.; Özcan MM. 2008. Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen and laurel on spoilage and pathogenic food-related
30. Erlund I.,2004. Review of the flavonoïds quircétine, hesperten and narginine. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutr Res 24: 851 – 74*.
31. Erlund I.,2004. Review of the flavonoïds quircétine, hesperten and narginine. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutr Res 24: 851 – 74*.
32. Esin Basim .; Huseyin Basim b.; Musa Ozcan. 2006. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal Ahn. M.*
1. et des Propriétés biologiques de la propolis
33. Eun-Hee Park.; Sun-Hee Kim et Soo-Sun Park. 1996. Anti-inflammatory Activity of Propolis. *Arch. Pharm. Res. VoL19, No.5, pp. 337-341*.
34. Fenge Li. ; Suresh Awwale. ; Yasuhiro Tezuka et Shigetoshi Kadota. 2008. cytotoxic constiteuents from brazilian red prrpolis and their structure- acivity relationship. *Biorganique et Medicinal chemistry 16: 5434 – 5440*.
35. Ferhoum Fatiha, 2010, Analyse physico-chimique de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeilles locales (*Apis mellifica intermissa*, *Apis mellifica sahariensis*).
36. Fiorucci. 2006. Activités biologiques de composés de la famille des flavonoides : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de Doctorat.Univesité de Nice-Sophia Antipolis. Spécialité: *Chimie, pp: 19-25*.
37. Frère Adam. 1985. Les croisements et l'apiculture de demain. SNA Paris. 126 page .
38. G. A. Burdock. 1998. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis

-
- (Propolis). *Food and Chemical Toxicology* 36: 347 – 363.
39. Genya Gekker.; Shuxian Hua.; Marla Spivak.; James R.; Lokensgard.; Phillip K. Peterson. 2005. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology* 102 (2005) 158–163.
40. Ghedira. K. 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* (2005) Numéro 4: 162-169.
41. Ghisalberti E. L.1997. Propolis: a review. *Bee World* 60: 59 – 84.
42. Ghisalberti, E.L. (1979): Propolis: A Review. *Bee World*, 60 (2), 59-84.
43. Gülhan Vardar-Ünlü.; Sibel Silci.; Mehmet ünlü. 2008 . Composition and in vitro antimicrobial activity of propolis. *Pharmac. Research Communications* 18 (6): 513- 518.
44. Gulhan Vardar-Unlu.; Sibel Silici.; Mehmet Unlu. 2008. Composition and in vitro antimicrobial activity of populus buds and poplar-type propolis. *World J Microbiol Biotechnol* 24: 1011 – 1017.
45. Häkkinen S.; 2000. Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. *These doctorale. KUOPIO. 93p.*
46. Havsteen B. H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids.
47. Jianchun Sheng, Jing Zhou, Lin Wang, Juan XU. 2007. Antioxidant activity of Ethanol and petroleum ether extracts from Brazilian propolis. *Eur Food Technol.*225: 249- 253.
48. Jiang Hong Chen et Chi-Tang Ho., 1997. Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 2374-2378
49. K. Ghedira. ; P. Goetz. ; R. Le Jeune. 2009. Propolis. *Phytothérapie* 7: 100-105.
50. Kamazawa S, Tanguchi M., Suzuki Y., Shimra M., Kwon M-S et Nakayama T. 2002. Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 373 – 377
51. Katalinic V., Milos M., Kulisic T et Jukic M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extract for antioxidant capacity and total phenol. *Food Chem*, 94: 550 – 557.
52. Krell R.1996. *Value added products from beekeeping food and agriculture organisation of*

53. Kumazawa S, Nakayama T, Goto H, Hamasaka T, Fukumoto T, 2004. A NEW prenylated flavonoid from propolis collected in Okinawa, Japan. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 68(1), 260-262.
54. Kumazawa S.; Usui Y.; Nakamura J.; Matsuka M.; Zhu F.; Nakayama T. (2007). Antioxidant activity and constituent of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry* 101: 1383 – 1392. *Food Engineering* 77 : 992–996.
55. Lapornik B., Prosek M., et Wandra A. L. 2005. Comparison of extracts prepared from plant byproduct using different solvent and extraction time. *Journal of food engineering*, 71 (2): 214-222.
56. Leandro M., Luis G., Diase, José Alberto Pereira, Leticia Estevinho; 2008. Antioxidant properties, total phenol and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008) 3482 – 3485.
57. Lejeune B. ; Pourrat, A. et Dehmouche H. 1988. Propolis utilisation en dermocosmétique. *Parfums, Cosmétiques, Aromes*: 73-77.
58. Li – Chang Lu.; Yue-Wen Chen. ; Cheng-Chun Chou. 2005. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology* 102: 213-220.
59. Liqin Jiang. ; Guozhen Fang. ; Yan Zhang. ; Guojie Cao. ; Shuo Wang. 2008. Analysis of Flavonoids in Propolis and *Ginkgo biloba* by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 11571–11577
60. Liu CF, Lin CC, Lin MH, et al. (2002) Cytoprotection by propolis ethanol extract of acute absolute ethanol-induced gastric mucosal lesions. *Am J Chin Med* 30: 245-255.
61. Lu, L.C., Chen, Y.W., Chou, C.C., (2005). Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 213- 220.
62. Lucrecia L Chaillou.; Monica A Nazareno. 2009. Bioactivité of propolis from Santiago del Estro, Argentina, related to their chemical composition. *Food Science* Kamazawa. S, Hamaska. T, Nakayama. T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* 84: 329 – 339. *and Technology*: 42: 1422 – 1427.
63. Ludmila Plenina.; Petr Krassotchko.; Irina Krassotchko. Propriété antivirales des produits de la ruche. *Apithérapie*.
64. M. Amoros.; F. Sauvager. ; L. Girre. ; M. Cormier. 1992. In vitro antiviral activity of propolis.

Apidologie. 23: 231 – 240.

65. M.Popova, S. Silici, O. Kaftanoglu, V. Bankova ; 2005. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition.*phytomedicine* 12 (2005)221-228
66. Macheix J. J. ; Fleuriet A. ; Billot J. 1990. Fruit phenolics-boca rato, USA: CRC Press
67. Marc F.; Davin A.; Deglene-Benbrahim L.; Ferrand C.; Baccaunaud M et Fritsch P. 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/sciences*, 54, 458 – 63.
68. Marcucci, M.; 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83 – 99.
69. Marfak A. 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes .Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: Formation de Depsides. Thèse de Doctorat.Université de Limoges. Spécialité: *Biophysique*, pp:6-34.
70. Maria Jesus Periago. ; Francisco Rincon.; Maria Dolores Agüera et Gaspar Ros. 2004. Mixture Approach for optimizing Lycopene Extraction from Tomato Products. *J. Agric Food Chem* 2004, 52, 5796 – 5802.
- microorganisms. *J Med Food* 11: 92-587
71. Milane H (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications. *Thèse de Doctorat .Université Louis Pasteur (Strasbourg)*. Spécialité *Pharmacologie*, pp : 13-3.
72. Mizuno. M.; linuma. M.; et Kato. H. 1987. Useful ingredients and biological activity of propolis. *Fragrance Journal*, 15(2): 20-28.
73. Mohammdi Z. 2004. Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelque plantes de la région de Telmcen. Thèse de magistère, option : produit naturels, activités biologiques et synthèse
74. Mohsen Fathi Najafi.; Fatemeh vahdy.; Mohammed Seyyedini.; Hamid reza Jomehzadeh.; Kazem Bozary. 2007. Effet of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells. *Cytotechnology*. (2007) 54: 49 – 56.
75. Mok-Ryeon Ahn , Shigenori Kumazawa , Yumiko Usui , Jun Nakamura , Mitsuo Matsuka , Fang Zhu , Tsutomu Nakayama.,2007. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry* 101 (2007) 1383–1392.

-
76. Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity songklanakarín. *Journal of science technology*, 26 (2): 211-219.
77. Moudir Naima, 2004. Les polyphénols de la propolis algérienne. . Thèse de magister en chimie. Université Mohamed Boudiaf, M'sila.
78. Nagy, M. 1989. Constituents of propolis of Czechoslovak origin. V. *Chemical Papers*, 42 (5): 691-696.
79. Neumann. D.; Gotze G.; et Binus. W. 1986. Clinical study of the testing of the inhibition of plaque and gingivitis by propolis. *Stomatologie der DDR*: 677-681 .
80. Nicola Volpi.; Gianluca Bergonzini. 2006. Analysis of flavonoids from propolis by on- line HPLC-electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 42: 354 – 361.
81. observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften (2008)*95:781–786.
82. Omar, M.O.M. 1989. Some characteristics of propolis from Upper Egypt. Proceedings of the Fourth International Conference on Apiculture in Tropical Climates, *Cairo, Egypt, 6-10 November 1988*, 88-92.
83. Osmany Cuesta-Rubio, Anna Lisa Piccinelli, Mercedes Campo Fernandez, Ingrid Maä Rquez Hernaä Ndez, Aristides Rosado, et Luca Rastrelli. 2007. Chemical Characterization of Cuban Propolis by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR: the Brown, Red, and Yellow Cuban Varieties of Propolis. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 7502-7509.
84. Papay, V. 1987. Chemical and pharmacological study of propolis from various locations. *Acta Pharmac. Hung.*, 57:143-151.
85. PASCAL BARBIN, 2006. Contrôle et éléments de maîtrise de la contamination par la levure *brettanomyces* au cours du procédé de vinification en rouge. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.
86. Pavilonis A, Baranauskas A, Puidokaite L, et al. (2008) Antimicrobial activity of soft and purified propolis extracts. *Medicina (Kaunas)* 44: 977-83.
Pharmacol Therap 96: 67-p2002
87. Pierre Jean prost. ; Pierre Medori Raul. 1984. Apiculture. *Ed J. B. Baillière*. R. KRELL., 1996. Value - edded products from beekeeping. *Food and agriculture organization of the United Nations Rone. Chapitre 5*.

-
88. Pierre Jean-Proste, Yves Le Conte. 2005. Apiculture : Connaître l'abeille, conduire le rucher. *Edition lavoisier*.
89. Ribéreau-Gayon. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod Paris, 254*.
90. Ricardo O. Orsi.; José M Sforcin.; Silvia R C Funari.; Vassya Bankova. 2005. Effect of Brazilian and Bulgarian propolis on bactericidal activity of macrophages against *Salmonella Typhimurium*. *International Immunopharmacologie (5): 359 – 368*.
91. Rice- Evans C. A. ; Miller N.J.; Paganga G. 1996. Structure-antioxydant activity relationships of flavonoïdes and phenolique acids. *Free radical Biology and Medicine, 20, (7), 933 – 956*.
92. S. Buratti.; S. Benedetti. ; M. S. Cosio. 2007. Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta 71: 1387-1392*.
93. S. M. Alencar, T. L. C. Oldoni, M. L. Castro, I. S. R. Cabral, C. M. Costa-Neto, J. A. Cury, P.L Rosalen, M. Ikegaki. 2007. Chemical composition and biological activity of a new type of Brizilian propolis: Red propolis. *Jourbal of Ethnopharmacology . 113. 278- 283*.
94. Scazzocchio, F., D'auria, F.D., Alessandrini, D., Pantanella, F., 2006. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research 161, 327–333*.
95. Segueni Narimane, 2011, Contribution à l'étude de la composition chimique
96. Sforcin J.M, Fernandesjr A, lopes C.M.A, Bankova.V., Funari S.R.C. *nee* Seasonal effect on Brazilian propolis. *Microbiological recherc 161, 327-33*
97. Shi X., Dala N.S; 1991. Antioxydant behaviour of caffeine: efficient scavenging of hydroxyl radical. *Food and Chemical toxicology 29, 1 – 6*.
98. Shigeniro Kamazawa.; Tomoka Hamasaka.; Tsutomu Nakayama. 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry. 84: 329- 339*.
99. Shigenori Kumazawa.; Jun Nakamura.; Masayo Murase.; Mariko Miyagawa.; Mok- Ryeon Ahn et Shuichi Fukumoto. 2008. Plant origin of Okinawa propolis: honeybee behavior.
100. Shiva.Mohammadzadeh, Mohammad Shariatpanahi.; Manoochehr Hamdi.; Reza Ahmadvkhniha.; Nasrin Samadi.; Seyed Nasser Ostad. 2006. Chirical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis . *food Chemistry*.
101. Sibel Silici.; Mehmet Unlu.; Gülhan Vardar-Ünlü. 2007. Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions. *World J Microbiol Biotechnol (2007) 23:1797–1803*.

-
102. Sibeli Silici.; Semiramis Kutulka. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 69 – 73.
103. Singoleton V., Orthofer R et Lamuela-Raventos R. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteau reagent. *Methodes of enzymologie*, 299, 152- 178.
104. SOLTANI EL-KHAMSA, 2016, Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles, cas de la propolis.
105. Suraj Prakash Shrestha .; Yuji Narukawa.; Tadahiro Takeeda. 2007. Chemical constituents of nepalase propolis: isolation of new dalbergiones and related compound. *Journal of Natural Medicine (2007) 61: 73 – 76.*
106. Tosi, Enzo A.; Ciappini, Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M. 2006. Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA 41 (2006) PAGE 110-120.*
107. Uzel, A., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., & Gençay, Ö. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological research*, 160(2), 189-195.
108. Valcic S, Montenegro G, Timmerman B, Mujica A, Avila G, Franblan S, Singh S, Maiese W. 1998. Phytochemical, morphological and biological investigation of propolis from Central Chile. *Z.Naturforsch* 54c, 406-416.
109. Vassya Bankova., 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology* 100 (2005) 114 – 117.
110. Vercautern J.; Cheze C.; Triau J. 1996. Polyphénols . *Edition : INRA, Paris : PP 31 – 43.*
111. Wang H.; Zhao M.; Yang B.; Jiang Y et Guohua R. 2008. Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food Chemistry*. 163: 1399 – 1406.
112. Yue-Horng Yen, Chia-Ho Shih and Ching-Hui Chang, 2008. Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot. *Food Chemistry Volume 107, P. 265-272.*
113. Yves Donadieu, les produits de la ruche. 3^{ème} Edition. 1981.