



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la

Vie Département Sciences alimentaires

Spécialité : Nutrition et Diététique

Humaine **Mémoire de fin d'études**

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER ACADEMIQUE EN SCIENCE ALIMENTAIRE

Thème :

Etude de quelques propriétés nutritionnelles de la propolis récoltée dans trois régions différentes (Béjaia, Tipaza et Tiaret) en vue de leur valorisation alimentaire.

Réalisé par :

KECHAD Nessrine

ISMAEL Aouaouche

Devant le jury:

Présidente	Dr BOUDJEMA N.	MCA	Université Blida 1
Examineur	Dr BRAHIM M.	MCB	Université Djelfa
Promotrice	Dr BENMANSOUR N.	MCA	Université Blida 1

Année Universitaire 2021-2022

remerciements

En tout premier lieu, nous tenons à remercier **ALLAH** qui nous a aidés à réaliser ce travail de recherche et de nous avoir donné la force pour survivre.

On tient à remercier sincèrement notre promotrice **Dr. Benmansour N** pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail et pour son dynamisme pour la recherche scientifique. On la remercie pour sa disponibilité et la confiance qu'elle nous accordée. On aimerait aussi la remercier pour ses conseils.

On 'exprime toute notre reconnaissance à **Dr Boudjema.N** maitre de conférences A et chef département de Biologie au niveau de faculté SNV UDSB, pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de ce mémoire, nous vous remercions de votre enseignement et nous vous sommes très reconnaissantes de bien vouloir porter intérêt à ce travail. Nous avons bénéficié, au cours de nos études, de votre enseignement clair et précis, votre gentillesse, vos qualités humaines, votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence. Veuillez trouver ici, Docteur, l'expression de nos sincères remerciements.

Notre gratitude va également à celui qui nous a fait l'honneur de juger ce travail, **Dr.Brahim.M** maitre de conférences B, On tient à présenter tous notre gratitude, reconnaissance, respects et notre grande estime à vous.

Nous remercions tout le personnel de laboratoire de contrôle de qualité et d'emballage, et spécialement la directrice **madame Halwane isma** et toute l'équipe au niveau de département microbiologique et physicochimique

Nous remercions aussi tout le personnel du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida et spécialement **monsieur Tefahi djamel** et **madame Nekkab selma**.

Nous remercions tous les ingénieurs de laboratoire P.F.E au niveau de l'université Blida 1 et surtout **madame Larbi chafika** et **monsieur Maalem abderrahmane**.

Un grand merci pour tous les apiculteurs qui nous aident, chacun par son nom.

Nous profitons de cette dernière occasion pour exprimer notre gratitude à tout le corps enseignant et tout membre de notre université, côtoyés au court de ces cinq années.

Merci à tous ceux qui de prêt ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, rien de tout cela n'aurait été possible sans vous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers:

A MES CHERS PARENTS OMAR ET NADIA

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

Je n'oublierai jamais mon chers frère **HICHAM**

qui nous a quitté depuis 2ans tu restera gravé dans ma vie et ma mémoire a vie que dieu vous accueillir dans son vaste paradis

Mes deux frères **SIDAHMED et FETHENOUR**

Ma seule et unique sœur **NIHAD.**

Ma grande mère **JOUHARA.**

Mon binôme **AOUAOUECHE.**

Toutes mes copines « **ROMAISSA, YASMINE H, YASMINE (nobia), HIND, SIHAME, GHOUFRAN.** »

...Bien fiable témoignage d'affection

KECHAD NESSRINE

Dédicaces

C'est avec une profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail à :

L'âme pure de mon père ISMAEL SADAK, que Dieu ait pitié de ton âme, un homme qui ne se répétera jamais par le temps, je sais très bien que tu m'entoures et que tu es fier de moi aussi. Tu me maque tellement. Je t'aime papa.

Ma chère mère AOUICHA LEILA, mon modèle, mon paradis et tout ce qui est beau dans ce monde, que Dieu te garde pour moi toute la vie. Je t'aime maman.

Ma chère grande sœur **KARIMA** : ma deuxième maman et mon meilleure amie, sans oublier son mari **MEROUENE** qui est comme un grand frère pour moi, et ses douces filles **MANAR** et **GHOUFRANE** que je les adore trop.

Mes petites sœurs **AHLAM** et **MERIEM** : je prie pour que vous réalisiez tout ce que vous souhaitez.

Mes chers frères **ABDERREZAK**, **FEYCEI** et le petit **HAMZA** : le soutien, le support et la force, que Dieu vous protège.

A mon binôme et mon amie **KECHAD NESSRINE**: nous avons partagé des souvenirs et des sentiments inoubliables et tu as toujours été à mes côtés, que Dieu t'accorde selon la bonté de ton cœur et la pureté de tes intentions.

A ma famille, mes amis et tous ceux qui m'aiment et qui croient en moi.

Enfin, un spécial dédicace pour moi-même: **AOUAOUCHÉ**, je m'aime.

Aouaouche.

Résumé

Dans un souci de la valorisation des produits prélevés des 03 régions : Bejaia, Tipaza et Tiaret, nous avons effectué une analyse microbiologique, une caractérisation physico-chimique, dosage des poly phénols, des flavonoïdes et de la matière grasse. En plus nous avons réalisé l'étude des activités biologiques des extraits de la propolis: Etude du pouvoir antioxydant et antimicrobien sur 06 souches microbiennes. .

Les résultats des analyses microbiologiques révèlent une bonne qualité microbiologique de la propolis des 03 régions étudiées et leurs conditions de conservation et de stockage sont satisfaisantes. Elles sont très pauvres en eau et en matière volatiles, elles ont un taux faible de pertes pendant le séchage compris entre 2,5% et 4,5%, avec des taux de pourcentage de matière sèche respectifs 95,70%, 96,82 % et 97,5%., ce qui procure à la propolis sa structure solide et qui est en adéquation avec la nature hydrophobe de la plupart des constituants.

. L'échantillon de Tipaza se montre avec un pH le plus élevé soit 5.73 tandis que l'échantillon de Bejaia se montre plus acide (4.56) par rapport à deux autres propolis avec un pH le plus faible soit 4.56.

Les métabolismes secondaires : les glycosides, les saponosides, les tannins, les poly phénols et les flavonoïdes se trouvent en quantité importante dans la propolis de Bejaia par rapport à la propolis des deux autres régions..

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de la région de Bejaia se montrent supérieures à celles des deux autres régions avec des teneurs respectives 408 ± 2.091 μg EAG/mg d'extrait et $46,4 \pm 2.154$ μg EQ/mg d'extrait. L'extrait de la propolis de la région des Bejaia divulgue une activité antioxydante importante par rapport à deux autres régions avec une IC50 de 1.55 mg/ml. Les extraits de la propolis des 03 régions sont composés de plus de 44 % de matière grasse

Les extraits de la propolis (50 ug/ml et 100ug/ml) des 03 régions dévoilent une activité bactériostatique importante vis-à-vis des deux souches *Staphylocoques aureus* et les bactéries *E coli* qui se montrent extrêmement sensibles. Les *Aspergillus brasiliensis* se montrent très sensibles uniquement vis à vis des extraits (100 ug/ml) de Tipaza et de Bejaia.

Mots clés : la propolis, analyse physicochimique et microbiologique, dosage des polyphénols, des flavonoïdes et de la matière grasse, activités anti oxydantes et antimicrobiennes.

Abstract

In order to make the most of the products collected from the 03 regions: Bejaia, Tipaza and Tiaret, we carried out a microbiological analysis, a physico-chemical characterization, determination of poly phenols, flavonoids and fat. In addition we carried out the study of the biological activities of propolis extracts: Study of the antioxidant and antimicrobial power on 06 microbial strains. .

The results of the microbiological analyses reveal good microbiological quality of propolis from the 03 regions studied and their storage and storage conditions are satisfactory. They are very poor in water and in volatile matter, they have a low rate of losses during drying between 2.5% and 4.5%, with percentages of dry matter respectively 95.70%, 96.82% and 97.5%. , which gives propolis its solid structure and is in line with the hydrophobic nature of most constituents.

. The Tipaza sample shows with the highest pH of 5.73 while the Bejaia sample shows more acid (4.56) compared to two other propolis with the lowest pH of 4.56.

Secondary metabolisms: glycosides, saponosides, tannins, polyphenols and flavonoids are found in large quantities in Bejaia propolis compared to propolis in the other two regions..

Total polyphenols and flavonoids in the Bejaia region were higher than in the other two regions with 408 2,091 μg EAG/mg extract and 46.4 2,154 μg EQ/mg extract respectively. Propolis extract from the Bejaia region shows significant antioxidant activity compared to two other regions with an IC₅₀ of 1.55 mg/ml. Propolis extracts from the 03 regions are composed of more than 44% fat

Propolis extracts (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) from the 03 regions reveal a significant bacteriostatic activity with respect to the two *Staphylococcus aureus* strains and the *E coli bacteria which are* extremely sensitive. *Aspergillus brasiliensis* are very sensitive only to the extracts (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) of Tipaza and Bejaia.

Keywords: propolis, physicochemical and microbiological analysis, determination of polyphenols, flavonoids and fat, antioxidant and antimicrobial activities.

المخلص

من أجل الترويج للمنتجات المأخوذة من مناطق 03: بجاية وتيبازة وتيارت ، أجرينا تحليلاً ميكروبيولوجياً وتوصيفاً فيزيائياً كيميائياً وجرعة البوليفينول والفلافونويد والدهون. بالإضافة إلى ذلك قمنا بدراسة الأنشطة البيولوجية لمستخلصات البروبوليس: دراسة قوة مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات على 06 سلالات ميكروبية. .

كشفت نتائج التحليلات الميكروبيولوجية عن جودة ميكروبيولوجية جيدة للعكبر في المناطق الثلاثة المدروسة وأن ظروف حفظها وتخزينها مرضية. إنها فقيرة جداً في الماء والمواد المتطايرة ، ولديها معدل ضياع منخفض أثناء التجفيف يتراوح بين 2.5٪ و 4.5٪ ، مع معدلات النسبة المئوية للمادة الجافة 95.70٪ ، 96.82٪ و 97.5٪ ، مما يعطي البروبوليس هيكله الصلب والذي يتماشى مع الطبيعة الكارهة للماء لمعظم المكونات. تظهر العينة المأخوذة من تيبازة بأعلى درجة حموضة قدرها 5.73 بينما العينة من بجاية أكثر حمضية (4.56) مقارنة بقطعتين أخريين من بروبوليس مع أقل درجة حموضة 4.56.

الأبيض الثانوي: الجليكوسيدات ، السابونوزيدات ، العفص ، البوليفينول والفلافونويدات توجد بكميات كبيرة في دنج بجاية مقارنة بالبروبوليس من المنطقتين الأخريين.

محتويات البوليفينول والفلافونويد الكلي في منطقة بجاية أعلى من تلك الموجودة في المنطقتين الأخريين حيث تبلغ محتويات كل منهما $408 \pm$ 2.091 ميكروغرام / ملغ من المستخلص و 46.4 ± 2.154 ميكروغرام من EQ / ملغ من المستخلص. يكشف مستخلص البروبوليس من منطقة بجاية عن فعالية كبيرة في مضادات الأكسدة مقارنة بمنطقتين أخريين بتركيز 50 1.55 مجم / مل. تتكون مستخلصات البروبوليس من مناطق 03 من أكثر من 44٪ دهون

تكشف مستخلصات البروبوليس (50 ميكروغرام / مل و 100 ميكروغرام / مل) من مناطق 03 عن نشاط مهم للجراثيم مقابل سلالاتي

المكورات العنقودية الذهبية وبكتيريا إي كولاي الحساسة للغاية. *Aspergillus brasiliensis* حساسة للغاية فقط لمستخلصات (100 ميكروغرام / مل) من تيبازة وبجاية.

الكلمات المفتاحية: البروبوليس ، التحليل الفيزيائي والكيميائي والميكروبيولوجي ، جرعات البوليفينول ، الفلافونويد والدهون ، مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات.

Liste des figures

Figure i1 : La ruche	06
Figure i2 : Propolis brute.....	10
Figure ii1 : Echantillons de la propolis brute récoltée dans la région de Bejaia	26
Figure ii2 : Macération de propolis de Bejaia dans l'éthanol sous agitation (2 ^{ème} jour).....	27
Figure ii3 : Macération de propolis de Bejaia dans l'éthanol sous agitation (5 ^{ème} jours)	27
Figure ii4 : Filtration des extraits de propolis de Bejaia	27
Figure iii1 : Teneurs en poly phénols de la propolis récoltée dans trois régions différentes ..	46
Figure iii2 : Teneurs en flavonoïdes de la propolis récoltée dans trois régions différentes	47
Figure iii3 : Pourcentage d'inhibition d'extrait éthanoliques de propolis récoltée dans les 03 régions et de l'acide ascorbique	50
Figure iii4 : Valeurs des concentrations d'inhibitions IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique de propolis récoltée dans les 03 régions différentes.....	51
Figure iii5 : Diamètres d'inhibitions (mm) des extraits des 03 propolis.....	54

Liste des tableaux :

Tableau i1 : Classification de l'abeille domestique	04
Tableau i2 : Caractéristiques des trois castes.....	05
Tableau i3 : Les principaux produits de la ruche	07
Tableau ii1 :06 souches de référence	23
Tableau ii2 : Origine et date de récolte des trois échantillons de la propolis étudiée	24
Tableau ii3 : Les méthodes utilisées	25
Tableau ii4 : Estimation de la sensibilité des souches	40
Tableau iii1 : Résultats des analyses microbiologiques des propolis analysées.....	41
Tableau iii2 :Les taux des pertes pendant le séchage et le pourcentage de la matière sèche des n échantillons de la propolis récoltée dans trois régions différentes.....	41
Tableau iii3 : Valeur de PH des échantillons de la propolis récoltée dans trois régions différentes.....	42
Tableau iii4 : Acidité titrable des 03 échantillons de Propolis récoltée dans trois régions différentes.....	43
Tableau iii5 : Résultats du screening phytochimique des échantillons de la propolis récoltée dans 03 régions (Bejaia, Tipaza et Tiaret)	45
Tableau iii6 : Teneur de la matière grasse des extraits de propolis récoltée dans 03 régions.	48
Tableau iii7 : Estimation de la sensibilité des souches	52

SOMMAIRE

Introduction	01
Chapitre I : la propolis	03
I.1. Apiculture	03
I.1.1. Définition	03
I.1.2. Situation de l'apiculture dans le monde	03
I.1.3. Situation de l'apiculture en ALGERIE	03
I.2. L'abeille	03
I.2.1. Définition	03
I.2.2. Classification	04
I.2.3. Principales castes	05
I.3. La ruche	06
I.4. La propolis	08
I.4.1. Introduction	08
I.4.2. Historique	08
I.4.3. Définition et étymologie	09
I.4.4. Origine de la propolis	10
I.4.5. Composition	10
I.4.6. Récolte	11
I.4.7. Extraction	12
I.4.8. Conservation	12
I.4.9. Utilisation	13
I.4.10. Propriétés	14
I.4.11. Les travaux antérieurs sur la propolis	19
Chapitre II : Matériel et méthodes	21
II.1. Lieu de stage	22
II.2. Objectif de travail	22
II.3. Matériel et méthodes	22
II.3.1. Matériel biologique	22
II.3.2. Matériel non biologique	22
II.3.2.1. Echantillon de la propolis	22
II.3.2.2. Microorganisme utilisées	23
II.3.3. méthodes utilisés	25
II-3.3.1. Traitement de l'échantillon	25
III.3.3.2. Analyses microbiologique de la propolis	28
III.3.3.3. Analyses Physicochimiques de la propolis	31
A. Détermination de taux des pertes pendant le séchage	31
B. Détermination de la teneur en cendres	31
C. Détermination du pH	32
D. Détermination de l'acidité titrable	33
II.3.3.4. Test de screening	33
II.3.3.5. Dosage des poly phénols :	34
II.3.3.6. Dosage des flavonoïdes :	35
II.3.3.7. Détermination de la matière grasse	36
II.3.3.8. Activité anti-oxydante :	37

I.3.3.4.5. Activité antimicrobienne de l'extrait de propolis en milieu solide	38
1- Préparation de l'inoculum	38
2: préparation des extraits de propolis :	39
3- ensemencement	39
4 : Application des disques	40
5-Lecture des antibiogrammes	40
Chapitre III : Résultats et discussions	41
III.1. Analyses microbiologiques de la propolis récoltée dans 03 régions différentes	42
III.2. Pertes pendant le séchage et le pourcentage de la matière sèche	43
III.3. pH	43
III.4. Acidité titrable	43
III.5. Analyse phytochimique	43
III.6. Dosage des poly phénols	45
III.7. Dosage des flavonoïdes	47
III.8 .Matière grasse	48
III.9.Activité antioxydante de l'extrait éthanolique de la propolis	49
III.9.1.Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH	49
III.5.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne	52
Conclusion	55
Références bibliographiques	57
Annexe	62

Introduction

Introduction

Durant les dernières années, l'intérêt aux remèdes traditionnels et la naturopathie a connu une croissance remarquable dans le domaine de la médecine et même pour l'opinion publique. Une nouvelle vue des méthodes de la médecine traditionnelle a conduit à ressusciter de l'oubli des produits naturels pharmaco logiquement actifs. Certains de ces produits peuvent être utilisés comme des compléments à la gamme actuelle des substances médicamenteuses pour le traitement de certaines maladies dans la médecine humaine et vétérinaire (**Holz, 1999**).

Parmi ces produits, la propolis est défini comme un remède naturelle utilisé depuis l'antiquité. Cette résine végétale est récoltée par les abeilles (*Apis mellifera*) à partir d'une série de substances résineuses qu'elles vont recueillir sur différents supports végétaux comme les bourgeons, jeunes rameaux, ou encore les blessures de certains arbres et arbustes. Après récolte, la propolis est mélangée avec les sécrétions salivaires des abeilles et de la cire (**Ghisalberti, 1979, Challem, 1995, Park, et al 1999**).

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**)

L'intérêt croissant à la propolis s'est exprimé par une série de travaux scientifiques dans les années 80 et 90 qui ont été mis en œuvre afin de tester principalement les composants chimiques de la propolis et leur possible emploi dans la médecine humaine (Holz, 1999).

La propolis présente de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques telles que des activités antifongique (Ota et al , 2001), antibactérienne, antivirale (Kujumgiev, et al ,1999), anti-inflammatoire (Ramos, et al ,2007), antitumorale (Carvalho, et al ,2011) et plus particulièrement l'activité antioxydante (Cottica, et al ,2001). Cette dernière est liée directement à sa composition en polyphénols et en flavonoïdes.

Dans ce contexte, et afin de mieux apprécier la qualité de la propolis algérienne, la présente étude se base sur la valorisation de la propolis prélevée des 03 régions : région Bejaia , Tipaza et Tiaret. Pour ce faire nous avons procédé à une caractérisation de quelques paramètres physicochimique des échantillons de la propolis, le dosage des métabolites secondaires plus particulièrement les poly phénols et les flavonoïdes, et déterminer le taux de la Matière grasse. Aussi nous avons évalué l'activité biologique des extraits de nos 03 échantillons : activité antioxydante des extraits par la méthode DPPH et action antimicrobienne des extraits vis-à-vis de 06 souches microbiennes de référence : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* , *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*

Notre thèse est structurée de façon classique en trois chapitres. Le premier chapitre portant sur une synthèse des données relatives à notre thématique. Le second chapitre décrit les démarches méthodologiques, Dans le troisième chapitre, la discussion des résultats obtenus est rapportée.

Enfin, une conclusion relatant l'essentielle des résultats, accompagnée de perspectives concluant notre manuscrit

Chapitre I La propolis

I.1. Apiculture :

I.1.1. Définition :

L'Apiculture c'est une activité agricole qui permet d'obtenir, grâce à l'élevage des abeilles, des produits directs (miel, pollen, gelée royale, propolis, cire, venin, etc.) et indirects (accroissement de la production agricole grâce à la pollinisation des fleurs par les abeilles) (**Biri, 2011**).

I.1.2. Situation de l'apiculture dans le monde :

L'abeille *mellifère*, a vécu à l'état sauvage il y a 10 à 20 millions d'années, avant l'apparition de l'Homme (**Philippe, 1999**). Ce dernier commence à la domestiquer et lui confectionnant divers abris (paniers, troncs d'arbres creux et poteries). Les premières traces de la récolte de miel par l'homme remonte à 12 mille ans comme en atteste une peinture rupestre découverte en 1921 dans la grotte d'araignée (Espagne) (**Conte, 2006 b**). Selon **Cherbuliez (2001)**, c'est en Egypte, qu'on a trouvé les premiers témoignages d'une pratique de l'apiculture datée de 2400 ans avant J.C., mais c'est en Grèce et en Rome antiques que l'apiculture a connu son bel essor. L'esclave chargé de cette tâche était nommé apianus chez les romains et mellitours chez les grecs. Depuis 1951, le monde apicole a vu naître la ruche la plus répandue dans le monde, la ruche Langstroth, à dix cadres mobiles (**Biri, 2002**). Son apparition a permis de développer de nouvelles techniques de conduite pour un meilleur développement du cheptel et des rendements.

I.1.3. Situation de l'apiculture en ALGERIE :

L'Algérie possède des grandes aptitudes à développer la filière apicole, qui résident dans les potentialités mellifères abondantes et variées notamment au nord, le climat est favorable sans oublier la présence d'une race d'abeille possédant un potentiel génétique intéressant (**Berkani, 2008**).

I.2. L'abeille :

I.2.1. Définition :

C'est un insecte social vivant dans une ruche et produisant le miel et la cire et autres produits. L'abeille est, avec le ver à soie, le seul insecte domestiqué par l'homme. (**Lambrechts et al., 2006**.)

Apis mellifera: Notre abeille domestique. La plus fréquemment employée en apiculture, a colonisé, grâce à sa remarquable faculté d'adaptation (l'abeille européenne). (**Henri, 2009**).

I.2.2. Classification :

D'après la classification de Linné, les abeilles appartiennent à l'ordre des Hyménoptères (qui comprend au moins 250 000 espèces et inclut presque tous les insectes sociaux sauf les termites), à la superfamille des Apoïdes, et à la famille des Apidés .Ces derniers renferment environ 20 000 espèces d'abeilles dont la majorité sont des espèces solitaires. Les Apidés à leur tour sont divisés en quatre tribus dont celle des Apini qui inclut le genre *Apis*. Ce dernier comprend plusieurs espèces dont l'abeille domestique, *Apis mellifera* (Philippe, 2007).

Le nom scientifique de cet insecte a subi quelques modifications. (Linné 1761), change le nom d'espèce d'*Apis mellifera* en *Apis mellifica*. Généralement, le miel étant préparé par lesabeilles (melli-fica) plutôt que récolté (melli-fera) (Gharbi, 2011) (Tableau i1).

Apis mellifica est l'espèce dont les diverses races sont élevées pour produire du miel, du pollen, de la gelée royale, de la propolis, de la cire et, dans certains cas, du venin (Ravazzi, 2007).

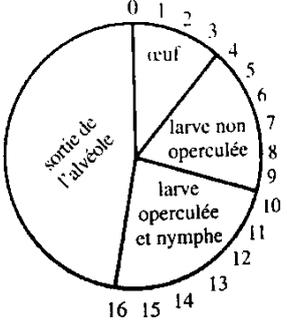
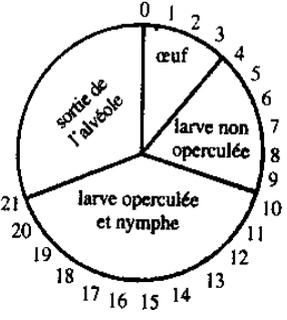
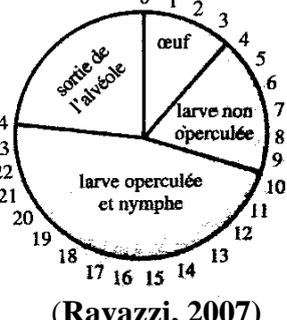
Tableau i1: Classification de l'abeille domestique (Gharbi, 2011).

Règne	Animal
Embranchement	Arthropode
Classe	Insecte
Ordre	Hyménoptères
Sous-Ordre	Apocrites
Infra-Ordre	Aculéates
Super-famille	Apoïdea
Famille	Apidés
Genre	<i>Apis</i>
Espèce	<i>Apis mellifica</i> , (Linné 1761) = <i>Apis mellifera</i> , (Linné 1758)

I.3. Principales castes :

Une colonie d'abeille regroupe des individus de trois castes différentes (**Tableau i2**), elle se compose d'une reine, de plusieurs dizaines de milliers d'ouvrières; et de quelques milliers de mâles (**Le conte, 2002**).

Tableau i2 : Caractéristiques des trois castes.

Definition	Morphologies	Cycle évolutif
<p>Reine: Seule mère de l'ensemble de la colonie, la reine se différencie par sa taille plus grande : et par la forme de son abdomen, plus allongé. Nourrie à l'état de larve exclusivement avec de la gelée royale, elle peut vivre quatre à cinq ans. Sa principal activité consiste à pondre (Clement, 2009).</p>	 <p>(Anonyme 1)</p>	 <p>(Ravazzi, 2007)</p>
<p>Les ouvrières : femelles incomplètes, remplissent toutes les tâches domestiques, depuis la plus noble à nos sens, telle la garde des larves, jusqu'à la plus commune, comme le nettoyage de la ruche. Le caractère le plus fascinant est qu'elles se divisent les tâches au sein de la colonie (Jean-prost, 2005).</p>	 <p>(Anonyme 1)</p>	 <p>(Ravazzi, 2007)</p>
<p>Males : sont généralement appelés faux bourdon. Le faux bourdon naît vingt-quatre jours après la ponte d'un œuf non fécondé qui ne donnera naissance qu'à des mâles, qui peuvent vivre près de trois mois (Clement, 2009).</p>	 <p>(Anonyme 1)</p>	 <p>(Ravazzi, 2007)</p>

		
La Reine (Anonyme 1)	Le male (Anonyme 1)	Les ouvrières (Anonyme 1)

I.3. La ruche :

Les abeilles, livrées à elles-mêmes, se réfugient dans des abris naturels, des arbres creux, des toits, des saillies de roches, etc.

Pour les utiliser à des fins économique, l'homme a entrepris d'installer, à proximité de ces emplacements naturels, des troncs d'arbres, des paniers en osier ou autre matière, afin d'y attirer les essaims. Puis parvint progressivement à aménager pour les abeilles des nids de plus en plus perfectionnés et de plus en plus accueillants. Ce genre d'habitation, construite par l'homme est appelée communément une ruche. (figure i3) (Dubois *et al.*, 1986).



Figure I3 : La ruche (Dubois *et al.*, 1986).

Tableau i2: Les principaux produits de la ruche

Les produits de la ruche	Definitions	Composition
 <p>Miel</p>	<p>le miel est une substance sucrée et parfumée produite par les abeilles, à partir du nectar des fleurs, (Dubois et al., 1986).</p>	<p>-Eau 17,2% ; Sucres (trisaccharides 1,5%, maltose 7,31 %, saccharose 1,31%, glucose 31,28%, fructose 38,19%) ; -Eléments mineurs 3,1% (minéraux, acides aminés, vitamines...). (Bruneau, 2002).</p>
 <p>Pollen</p>	<p>Substance finement poudreuse récoltée par les abeilles sur les étamines des fleurs, (Peterson, 2008).</p>	<p>-Eau 10% ; -Protides 11 à 35% ; -Glucides 20 à 40% ; -Lipides 1 à 20% ; -Matières minérales 1 à 7% ; -Vitamines A, B, C, D, (Jean-prost, 2005).</p>
 <p>Propolis</p>	<p>Il s'agit de résines ou de gommes visqueuses et Imperméables à l'eau (Jean-prost, 2005).</p>	<p>-Résines et baumes 55% ; -Huiles essentielles 7% ; -Cire 30% ; -Pollen 3% ; -Divers 5% (Bruneau, 2002).</p>
 <p>Cire</p>	<p>Sécrétion glandulaire utilisée par les abeilles pour fabriquer les rayons dans lesquels (Peterson, 2008).</p>	<p>-Hydrocarbures 14% ; -Esters 52% ; -Hydroxymonoesters 4% ; -Hydroxypolyesters 8% ; -Esters acides 2% ; -Polyesters acides 2% ; -Acides libres 12% ; -Alcools libres 1% (Bruneau, 2002).</p>

 <p data-bbox="296 521 368 548">Venin</p>	<p data-bbox="544 197 895 342">Liquide incolore, à réaction acide, de saveur légèrement amère, à l'arôme caractéristique (BIRI, 2002).</p>	<p data-bbox="927 197 1343 427">-Eau 88% ; -Acides aminés, phospholipides et des glucides 20% ; -Amines 2% ; -Polypeptides 50% (Jean-prost, 2005).</p>
--	---	---

I.4. La propolis :

I.4.1. Introduction :

La propolis est certainement un produit à ne pas négliger vu son importance comme matière première qui croît de jour en jour surtout dans le domaine de la médecine. Des fois, la question reste à poser : peut-on trouver dans la nature un produit plus extraordinaire que la propolis. Elle assure la protection du bourgeon de l'arbre, puis protection de la ruche, et enfin protection de l'homme. (**Jean-prost, 2005**).

Les abeilles spécialisées récoltent des substances résineuses, sur les bourgeons de certains arbres. Elles les mélangent avec les sécrétions de leurs propres glandes, de la cire et de pollen, et utilisent ce produit qu'on appelle "la propolis" au colmatage de fissures et au lissage de surfaces rugueuses à l'intérieur de la ruche. C'est donc une sorte de mastic particulièrement collant et robuste. (**BIRI, 2002**)

La récupération de ce produit est relativement facile, il suffit de gratter les cadres ou des grilles spéciales placées dans la ruche.

I.4.2. Historique :

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».

Anciennement, la propolis était beaucoup moins connue que le miel.

Les premières traces de la propolis remontent à l'Égypte antique. Des recherches poussées ont permis aux égyptologues de découvrir les traces de propolis (**De Almeida et Menezes, 2002**).

A Rome, au cours du I^{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**).

Au XI^{ème} siècle, le philosophe et médecin Iranien Abu Ali IbnSina 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**).

En France, ce n'est qu'au début de XVII^{ème} siècle que le terme de propolis apparaît 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 XIX^{ème} 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 XXI^{ème} 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.4.3. 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*, à partir de bourgeons et feuilles d'arbres et des plantes variées telles que les peupliers, bouleau, saules, conifères, prunier et jamais sur le marron d'inde. (**Bankova et al, 2000, Fenge et ol, 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 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 larvea. C'est ainsi que la colonie est protégée avec un produit antibactérien et antifongique (**Mlagan et Sulimanovic, 1982**). (**figure i4**)

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



Figure i4: propolis brut (**Anonyme 1**)

I.4.4. Origine de la propolis :

A. Végétale :

Des exsudâtes de la plante ressemblé par les abeilles, les résines secrétés par les bourgeons de peuplier, pin, bouleau, châtaigne, érable, et les substances lipophiliques secrétés par les lésions des plantes (des résines ou des plantes) (**Donadieu, 2018**).

B Animal :

Substances secrétées par les abeilles (la cire, la salive) (**Ghediraet, al., 2013**).

C. Matières secondaires :

Matières accessoires introduites lors de la production de propolis (pollen, nectar ou le miel) (**Ghediraet al. 2013**). Selon la flore Algérienne, la propolis est à l'origine du pin (*Pinus* sp) qui occupe les régions semi arides : chêne (*Quercus suber* et *Quercus canariensis*), châtaignier, cyprès, peuplier, et casuarina qui se trouve dans le nord- est du pays (**Debabet al., 2016**).

I.4.5. Composition :

Un échantillon de la propolis est généralement composé de :

- 50 à 55% de résine. De baume composé de flavonoïdes et d'acides phénoliques ou de leur esters (**Banakova et al., 1987**).
- 25 à 35% de cire (mélange de cire verte d'origine végétale et de cire d'abeille) (**Papay, 1987**)
- 10% d'huiles essentiels (**Tosi et al., 2006**)
- 5% de pollen (**Gabrys, 1986**)

- 5% de matières diverses (organiques et minérales) (**Banakova et al., 1987**).

I.4.6.Récolte :

A. Par les abeilles

La récolte de propolis est faite par un nombre relativement restreint d'abeilles ouvrières butineuses, qui se trouvent dans la dernière partie de leurs existences (les plus âgées). Ces ouvrières sont certainement très spécialisées dans cette activité puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au sein de la colonie (**Donadieu, 1981**).

Les ouvrières butineuses localisent la source de résines à l'aide de ses antennes et triturent celle-ci avec leurs mandibules, les mélangent avec d'autres substances de leurs propres sécrétions afin de fabriquer de la propolis. Une fois fabriquée, la propolis est transportée à la ruche dans les corbeilles situées dans les pattes postérieures de l'abeille (**Lavie, 1975**).

La récolte de la propolis dépend des facteurs suivants :

- **Facteurs saisonniers** : la récolte a lieu selon les cas, soit en début de printemps, soit à la fin de la miellée, ou à l'approche de l'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernation (**Lavie, 1975**)
- **Facteurs géographiques** : il 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 au moyenne). Ceci est dû au fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires. (**Lavie, 1975**)
- **Facteurs liés à la race d'abeilles** : la tendance à propoliser dépend de la race d'abeille. Il est reconnu que les caucasiennes et certaines autres races d'Asie mineurs propolisent, en général, d'avantages que les autres. Dans de nombreux autres cas, les données concernant ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises. (**Lavie, 1975**)

B. Par homme :

La propolis peut être récoltée par deux techniques diverses :

- Raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence par température assez basse, la propolis alors dure et friable se détache mieux. **(Lavie, 1975)**
- Par des grilles moulées en matière plastiques ou en métal. On pose cette grille comme couvres cadres. Les abeilles s'empressent d'obturer ces trous de propolis. Le moment idéal se situe après la récolte d'été, les abeilles se consacrent plus facilement à cette tâche, sachant l'hiver proche. **(Krell, 1996 ; Evangeliste et al., 2001)** ce procédé donne une propolis de meilleure qualité.

I.4.7.Extraction :

A. 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)**.

B. Par l'eau chaude :

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

I.4.8 . Conservation :

Avant extraction, la propolis est généralement conservée au congélateur (-18°C) avant d'être pulvérisée **(Popova et al., 2005)** ou simplement conservée à température ambiante à l'obscurité **(Barbarić et al., 2011)**.

Les échantillons sont conservés secs, soit dans des récipients opaques, bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 10 ou 12°C de préférence). Soit au réfrigérateur (4°C) **(Ahn et al., 2007; Barbaric et al., 2011)**, ou soit encore au congélateur 20°C **(Raghukumar et al., 2010)**.

De nombreuses expériences ont montré que le stockage de longue durée de la propolis ne diminue pas sa teneur en composants chimiques, ni ses activités biologiques. Cependant, pour en obtenir de meilleurs effets et résultats, il vaut toujours mieux l'utiliser la plus fraîche possible **(Krell, 1996)**.

I.4.9 . Utilisation :**I.4.9.1 . 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).**
- Elle sert également à boucher les trous permettant ainsi une meilleure isolation thermique **(Kalogeropoulos et al., 2009, Barbarie 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 dont 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. Barbarie et al. 2011).**
- Comme protection contre les petits rongeurs et empêcher 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 du 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.4.9.2 .Par l'homme :

La propolis est utilisée par l'homme dans plusieurs domaines :

A. La cosmétique :

Les extraits de propolis sont largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique. **(Lejeune et al., 1988).**

- Contre les impuretés : points noirs, boutons et pustules.
- Contre l'acné.
- Contre les inflammations provoquées par les micro-organismes.

- Contre les mycoses.

Toutes ces maladies sont désormais combattues par une gamme de plus en plus importante des produits à base de la propolis sous forme : dentifrice, crème, savant, masque, bain dermatologique. (Zeitoun, 2009).

B. La médecine :

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- Les problèmes cardio-vasculaires.
- Appareil respiratoire (pour divers infection).
- Soins dentaire.
- Les ulcères
- Les infections des muqueuses et des lésions.
- Le cancer.
- Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration de système immunitaire. (Krell, 1996, Neumann, et al., 1986)

C. La technologie alimentaire :

Les activités anti-oxydantes, antifongiques et antibactériennes de la propolis lui offre une place de choix dans ce domaine. Les résidus des propolis semblent avoir un effet généralement bénéfique sur la santé humaine. Cependant, seulement très peu d'étude ont faites sur les effets secondaires possibles sur la plus grande consommation des propolis.

D'après la littérature, certains composants identifiés dans les propolis peuvent être très préjudiciables à la santé humaine (krell. 1996).

La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture (Mizuno et al. 1987). Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons (Donadieu, 1981).

I.4.10 : Propriétés physico-chimiques :

I.4.10.1 : Propriétés physiques :

- **Consistance** : La propolis est une substance naturelle de consistance variable suivant la température : À 15 ° C, elle est dure et friable. À 30 ° C, elle est molle et malléable. Entre 30 et 60 ° C, elle devient collante, jusqu'à fondre en moyenne vers 70 ° C ou plus (Donadieu , 2008).

- **Couleur** : Très variable selon sa provenance , allant du jaune clair au brun très foncé presque noir en passant par toute une gamme de brun extrêmement riche et étendue rougeâtre , verdâtre , etc. (**Lavie , 1975 ; Krell , 1996 ; Evangelist et al . , 2001**).
- **Saveur** : Elle est souvent acre et parfois amère (**Metzner et Schneidewind , 1997**).
- **Odeur** : Variable selon son origine botanique : en général arôme agréable et douceâtre, mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc...) . Si elle est brûlée, elle dégage une odeur d'encens très délicate et très recherchée en rapport avec les résines aromatiques (**Donadieu , 2008**).

I.4.10.2. Propriétés chimiques :

- **Solubilité** : La propolis est insoluble dans l'eau froide. Elle est, en revanche, partiellement soluble dans l'acétone, l'alcool, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme ... etc. Seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi - totalité de ses composants (**Lavic, 1975**).
- **Point de fusion** : Son point de fusion se situe autour de 70 ° C. Chauffée au bain - marie. elle se divise en deux parties : Une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient Une partie liquide appelée cure de propolis, qui reste en surface et qui a de nombreux usages dans le domaine apicole (**Donadicu, 2008**).
- **Densité** : La densité de la propolis est de 1.2 (soit supérieure à celle de l'eau) (**Donadicu , 2008**).

I.4.11 .Propriétés thérapeutiques :

I.4.11.1. Action antibactérienne :

L'activité bactéricide de la propolis et / ou de ses constituants est la plus largement documentée. Cette activité à large spectre a été démontrée sur des bactéries Gram + et Gram (de type anaérobie et aérobie) mais avec une plus grande efficacité sur les souches Gram + (**kooH et al . , 2000**)

Parmi les bactéries inhibées , on retrouve des streptocoques (*Streptococcus mutans* responsable des caries dentaires) , des staphylocoques (*Staphylococcus aureus*) (**Kim et al , 2011**), des Bacilles et des Salmonella (**Donadieu , 2008**) , des microcoques et ainsi sur *Helicobacterpylori* (responsable d'ulcères gastroduodénaux) (**Farseni et al . , 2009**) .

On attribue cette activité au groupe de flavonoïdes , aux composés phénoliques , mais aussi aux molécules aromatiques , aux acides terpéniques , acides caféique , ferulique , gallique , salicylique ... etc . (**Bankova et al . , 1996 ; Boukrai et Sulaiman , 2009 ; Ramanauskienė et Inkėnienė , 2011**) .

I.4.11.2 . Action antivirale :

L'action antivirale de la propolis a été montrée sur les poliovirus , les virus de type herpes (par des esters de l'acide caféique) , les adénovirus(**Donadieu , 2008**) , le virus de la grippe H1N1 (**Apimondia , 2001 ; Fakemura et al . 2011**) , de l'hépatite B (**Apimondia , 2001**) et de la stomatite vésiculaire (**Donadieu . 2008**) .

I.4.11.3 . Action antifongique et antimycosique :

Les effets antimycosiques de la propolis résultent de l'activité de substances multiples telles que la Galangine, le Kaempferol , la Pinoembrine et l'acide caféique . Cette activité s'exerce sur plusieurs espèces de champignons parasites générateurs de mycoses, notamment : le genre Candida et, plus particulièrement, le Candidaalbicans ; les Trichophytons ; les MicrosporumCanis et Cryptococcus (**Apimondia , 2001 ; Donadieu , 2008**) .

I.4.11.4 . Action antiparasitaire :

La propolis s'est révélée être efficace sur certains parasite. Une action antiparasitaire a été démontrée in vitro sur de nombreux parasites : Trypanosomas, Leishmanias, Giardalamblia, Giardaintestinalis , Trichocephalusdispar Trichomonas vaginal... etc. (**De Castro et Higashi , 1995 ; Abdelfattah et al . , 2007**) . Toxoplasmagondii n'échappe pas au spectre large de la propolis. Cette dernière agirait sur la croissance du toxoplasme, l'empêchant de synthétiser ses protéines. Les principes actifs n'ont pas encore été identifiés. La propolis a également une action sur certains vers comme les genres Ascaris. Tenia et Enterobius(**Apimondia , 2001**) .

I.4.11.5 .Action antioxydante :

L'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait correspond à sa capacité à diminuer ou à empêcher les réactions d'oxydation (**Popovici et al . , 2009**) .

La propolis possède une activité antioxydante démontrée lors de l'opposition à la lipoperoxydation dans différents organes (foie , rein , poumon , cerveau) ce qui préviennent les dommages des radicaux libres (**Kumazawa et al . , 2004 ; Yang et al . , 2011**) et la

modulation de l'expression des enzymes antioxydantes (catalase, superoxydedismutase, glutathion peroxydase)(**Okutan , 2005**).

Les composés antioxydants responsables de cette activité sont principalement les vitamines E et C, les flavonoïdes et les polyphénols « le CAPE , le kaempferol mais aussi les acides cinnamiques : caféique , p - coumarique et férulique» (**Kumazawa et al . , 2004**) .

Les effets de la propolis ont été mis en évidence dans la cataracte et dans la protection du LDL - cholestérol contre la peroxydation (qui favorise l'artériosclérose) ce qui permet de considérer la propolis comme agent de prévention de la dégénérescence (**Apimondia , 2001**).

I.4.11.6 . Action anti - inflammatoire :

L'effet anti - inflammatoire de la propolis est dose - dépendant. Son mécanisme est sensiblement proche de celui de l'aspirine. Les extraits aqueux montrent de meilleurs résultats et de nombreux flavonoïdes y coopèrent certainement (**Borrelli et al . , 2002**) .

Deux mécanismes anti - inflammatoires de la propolis ont été identifiés :

- Le premier mécanisme consiste en une inhibition de l'activation de certaines molécules du système immunitaire (IL - 6) et inhibition de certaines enzymes impliquées dans la voie métabolique de l'inflammation « < cyclo - oxygénase , lipo - oxygénase myeloperoxydase , NADPH - oxydase , ornithine décarboxylase » (**Khayyal et al . , 1993**) .
- Le second mécanisme implique le CAPE, qui intervient comme un puissant modulateur du métabolisme de l'acide arachidonique , composé à l'origine de la synthèse des leucotriènes et prostaglandines (**Rossi et al . , 2002**) .

I.4.11.7. Action immun modulatrice :

La propolis possède une action immun modulatrice in vitro et in vivo sur l'ensemble des cellules immunitaires impliquées dans la réponse innée ou acquise (**Park et al . , 2004 ; Orsatti et al . , 2010**).

- Action sur les macrophages : Elle stimule le pouvoir de présentation des macrophages, leur activité lytique et des " Natural killers " contre les cellules tumorales (**Sforcin . 2007**).
- Action sur les lymphocytes et la production d'anticorps : Elle augmente la production de cytokines pro - inflammatoires (TNF - a IL - 6 , IL - 8) , renforce la coopération

entre les lymphocytes CD4 et CDS et stimule la production d'anticorps par les plasmocytes (**Orsi et al .. 2000 : Sforcin , 2007**) .

Ses effets biologiques bénéfiques sur le système immunitaire existent en partie grâce au dérivé de l'acide cantique CAPL (**Apimondia , 2001**) .

I.4.11.8 .Action anticancéreuse :

Les propriétés anti - carcinogènes de la propolis et de ses principaux constituants ont été signalées dans de nombreux travaux scientifiques réalisés sur l'animal. Les résultats montrent un effet antiprolifératif vis - à - vis d'un très grand nombre de lignées tumorales (sang, peau, côlon, sein, poumon, pancréas, foie, rein, prostate, cerveau) (**Watanabe et al .,2011**). Selon Orsolic (2010), 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 Leurs propriétés à activer les macrophages, par production des facteurs capables de réguler la fonction des cellules B. T et NK. L'inhibition du processus tumoral serait due à Des agents cytotoxiques naturels ont présentent dans la propolis, comme les flavanones, l'artépillineC, les diterpénoïdes qui induisent l'apoptose des cellules cancéreuses et notamment le dérivé de l'acide caféique : le CAPE . (**Chen et al . , 2011**) .

I.4.11.9 .Action cicatrisante et régénératrice :

La propolis accélère la régénération des tissus abimés (pulpe dentaire, tissus hépatiques osseux).

Ces actions sont dues à l'activité antioxydante des flavonoïdes qui piègent les radicaux libres ainsi qu'à des acides phénoliques et certains acides aminés comme la choline (dans la division donc le renouvellement cellulaire) ou la proline (dans la synthèse de collagène, de l'élastine et de facteurs intervenant dans l'élasticité de la peau) (**Blanc, 2010**). La propolis restructure les membranes capillaires cutanés et la néoformation vasculaire, stimulant les processus métaboliques au niveau cellulaire et tissulaire, lutte contre l'hypoxie tissulaire, réactive les processus enzymatiques et aide à la reformation de la substance fondamentale (**Apimondia , 2001 : Domerego et al . , 2009**)

Cette action vraisemblablement liées à l'activité des huiles volatiles de la propolis, mais est indépendante d'un mécanisme centrale, comme pour la morphine. (**Apimondia, 2001**).

I.4.12 .Les travaux antérieurs sur propolis :

Les études entreprises jusqu'à présent sur propolis sont basées sur des activités biologiques surtout sur des activités antimicrobiennes anti-inflammatoires et antioxydants de propolis et sur la détermination de la composition chimique des extraits de propolis à partir de la poudre ou matière sec.

Huang et al (2014) décrit que la propolis est recueillie à partir de résines végétales. À partir d'une recherche systématique dans une base de données, 241 des composés ont été identifiés dans la propolis pour la première fois entre 2000 et 2012 ; et ils appartiennent à des classes chimiques aussi diverses que les flavonoïdes, les phényl propanoïdes, les terpènes, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et leurs dérivés prénylés, montrant un modèle cohérent avec environ 300 composés précédemment rapportés. Les caractéristiques chimiques de la propolis sont liées à la diversité de la situation géographique, des sources végétales et des espèces d'abeilles.

Burdock(1998) ont étudié des propriétés biologiques et toxicité de la propolis d'abeille, l'utilisation de produits contenant de la propolis a entraîné un contact cutané étendu et elle est utilisée comme complément alimentaire. Contrairement à de nombreux remèdes « naturels », il existe une base de données substantielle sur l'activité biologique et la toxicité de la propolis indiquant qu'elle peut avoir de nombreuses propriétés antibiotiques, antifongiques, antivirales et anti tumorales, entre autres attributs. Bien que les rapports de réactions allergiques ne soient pas rares, la propolis est relativement non toxique.

S.M.Alencar et al (2007) ont étudié la Composition chimique et l'activité biologique(les activités antimicrobiennes, antioxydants et cytotoxiques) d'un nouveau type de propolis brésilienne communément appelée propolis rouge, ainsi que d'analyser sa composition chimique. L'activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylocoque mutant* L'UA159 a été évalué et la fraction chloroformique (Chlo-fr) était la plus active avec une CMI inférieure allant de 25 à 50 μ g/ml. La fraction hexane (H-fr), ayant la concentration la plus élevée de flavonoïdes totaux, a montré la meilleure activité séquestrant pour le radical libre DPPH. L'extrait éthanolique de propolis (EEP) a montré une activité cytotoxique pour les cellules tumorales HeLa avec un IC50 de 7,45 μ g/ml. Lorsque l'EEP a été analysé par GC-MS, sept nouveaux composés ont été trouvés, dont quatre étaient des isoflavones. Les résultats ont montré que la propolis rouge contient des composés biologiquement actifs qui n'avaient jamais été signalés dans d'autres types de propolis brésilienne.

Stepanović, et al (2003) ont étudié les propriétés antimicrobiennes de l'extrait éthanolique de 13 échantillons de propolis provenant de différentes régions de Serbie contre 39 micro-organismes, et de déterminer les synergies activité entre les antimicrobiens et la propolis. L'activité antimicrobienne des échantillons de propolis a été évaluée par gélose méthode de diffusion et de dilution en gélose. L'action synergique de la propolis avec les médicaments antimicrobiens a été dosée par le disque méthode de diffusion sur gélose contenant des concentrations subinhibitrices de propolis. Le potentiel antimicrobien démontré de la propolis seule ou en association avec certains antibiotiques.

Bankova(2005) : ont publié que la variabilité chimique de la propolis est discutée par rapport au problème de la standardisation. Plusieurs types chimiques de propolis sont formulés, en fonction de leur source végétale. Des critères fiables pour la standardisation chimique des différents types de propolis sont nécessaires, mais de tels critères généralement acceptés n'existent pas encore. Le profil chimique de la propolis « de peuplier », typique de la zone tempérée, peut être caractérisé par les paramètres suivants : teneur totale en flavones et flavonols, teneurs totales en flavanones et dihydroflavonols et teneur en composés phénoliques totaux. Ces paramètres sont mieux corrélés avec l'activité biologique et sont plus informatifs que la quantification des composants individuels. Il reste encore beaucoup de travail à faire pour parvenir à une standardisation des autres types de propolis.

Des travaux menés par **Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019)**. Ont révélé que la propolis possède une activité antimicrobienne significative contre les bactéries Gram+ positives plus que Gram-négatives.

Yusop, S et al (2019) : ont étudié les activités antioxydants, antimicrobiennes et cytotoxiques de

Sarawak T. étama propolis dans des extraits d'hexane, d'acétate d'éthyle et de méthanol.

Les résultats montrés que les trois types d'extrait de propolis de T. étama de Beladin Sarawak présentaient une activité antioxydant et une activité antimicrobienne contre les bactéries gram-positives et gram-négatives. L'extrait de méthanol a produit un taux élevé d'activité antioxydant et antimicrobienne. Tous les extraits de propolis de T. étama ont montré un faible niveau de toxicité.

Hegazi et al. (2000) : ont étudié trois échantillons de propolis provenant d'Autriche, d'Allemagne et de France par GC/MS, où onze composés étaient nouveaux pour la propolis. Les échantillons ont montré quelques similitudes dans leur composition qualitative. Phényléthyl-Zram'-caféate, benzyle la férulate et la galangine étaient prédominants dans la propolis allemande. Le caféate de benzyle était prédominant dans l'échantillon français.

Pinocembrine était prédominante dans la propolis française et autrichienne et l'acide rra"sp-coumarique était prédominante dans tous les échantillons. D'un autre coté L'activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli* et *Candida albicans* a été évalué. La propolis allemande a montré la plus haute activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Alors que la propolis autrichienne a l'activité la plus élevée contre *Candida albicans*. La propolis française était efficace contre tous pathogènes mais moins de propolis allemande et autrichienne.

De Araújo, et al(2015): ont incorporé l'extrait de propolis éthanolique (EPE) dans des films d'amidon de manioc, et des caractérisations concernant leur microstructure, leurs propriétés mécaniques, leur perméabilité à la vapeur d'eau (WVP), leur cinétique de sorption d'humidité ainsi que leurs capacités antimicrobiennes et antioxydantes ont été réalisées .Les résultats ont montré que la résistance à la traction n'était pas affectée ($P > 0,05$) par la présence d'EPE, mais que le module de Young a diminué d'environ 50 % par rapport aux films témoins, probablement à cause de l'effet plastifiant de l'EPE. Lorsque 1 % d'EPE a été utilisé, des changements dans les propriétés de sorption d'humidité ont été détectés par un caractère légèrement hydrophobe au niveau des films WVP. Une fois extrait des films, la propolis a conservé son activité antioxydante. Les films présentaient une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* même à de faibles concentrations d'EPE (0,5%) principalement en raison de ses composés phénoliques.

Chapitre II : matériel et méthodes

II.1. Lieu de stage :

Dans le cadre de la valorisation et de la recherche d'éventuelles activités biologiques du propolis récoltée dans trois régions d'Algérie : Bejaia, Tipaza, et Tiare., nous avons mené des analyses physicochimiques et nutritionnels du propolis au niveau de laboratoire de contrôle de qualité et d'emballage de Diar el-bahri wilaya de Blida et laboratoire de PFE de l'université Blida 1, l'analyse anti-microbienne et les analyses de contrôle de qualité au niveau de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida

La partie pratique s'est déroulée entre 27 mars 2022 et 23 juin 2022.

II.2. Objectif du travail :

L'objectif de notre travail est de réaliser un contrôle de la qualité des échantillons des propolis locaux produits par des apiculteurs issus de **03 régions du pays (Bejaia, Tipaza, Tiaret)**. En parallèle on accomplit une étude comparative entre ces 03 échantillons de propolis.

Pour atteindre cet objectif notre étude sera répartie en trois volets :

Premier volet se base sur les analyses suivantes :

- Analyse microbiologique
- Analyse physicochimique
- Dosage des poly phénols et des flavonoïdes
- Dosage de la matière grasse
- Test de screening
- Activités Biologique (activité antioxydante : méthode DPPH et activité antimicrobienne : méthode antibiose))

Deuxième volet : Une étude comparative des résultats obtenus pour chaque paramètre analysé avec les normes internationales de qualité ;

Troisième volet : Comparaison du profil de la qualité entre les 03 propolis locales.

II.3. Matériel et méthodes :

II.3.1 Matériel non biologique :

II.3.2. Matériel biologique :

II.3.2.1 .Echantillons de la propolis:

Les échantillons de propolis récoltés par deux races d'abeilles (*Apis mellifica intermissa*

et *Apis mellifica sahariensis*), entre 2021 et 2022 nous ont été fournis par des apiculteurs de différentes régions d'Algérie. Ils ont été répartis en trois régions, la zone littorale (n=1), une zone littorale (n=2), et steppe et plaine (n=3). Le poids de la propolis varie entre 50 g et 300 g. La conservation des échantillons a été faite à froid pour certains et à l'air libre pour d'autres. (**tableau ii1**)

La récolte a été effectuée par le raclage des cadres (cette méthode permet d'obtenir une propolis de mauvaise qualité « trop d'impuretés » contrairement à la récolte en utilisant des grilles de la propolis).

Origine, climat et date de récolte des trois échantillons de la propolis étudiée sont donnés par le **tableau ii1**.

II.3.2.2 .Microorganismes utilisés :

Afin d'étudier le pouvoir antibactérien des Echantillons de propolis récoltée dans 03 régions différentes, nous avons utilisé des souches de référence. Ils sont obtenus par le laboratoire d'hygiène. Ces souches proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont en tout 06 souches (voire **tableau ii2**)

Tableau iii2 : 06 souches de référence

Nom de l'espèce bactérienne	Le numéro de code
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
<i>Candid albicans</i>	ATCC 10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404

Tableau iii1 : Origine et date de récolte des trois échantillons de la propolis étudiée.

Echantillon	1	2	3
Wilaya	Bejaia	Tipaza	Tiaret
Commue	Village lalaam	/	EL-Kef lezrek
Date de Récolte	Mois de mars 2022	Mois de février 2022	Mois de mars 2022
Poids	90g	50g	70g
Patrimoine végétal	Bruyère forestière, nègre forestier, tilleul, plantes de panier, thym et épines, la myrrhe, des arbres tels que l'orme, le caroubier, le chêne, le cyprès et les oliviers.	Agrumes, sapin, cyprès, thym, et épines	Pin, genévrier, chêne, cidre, amande, pêche.
Propolis récoltée			
Climat	Méditerranéen	Méditerranéen.	semi-aride
Race d'abeille	<i>Apis mellifera</i>		<i>Apis mellifica sahariensis</i>
Méthode de récolte	Raclage des cadres		

II.3.3. Méthodes utilisées :

Durant notre stage pratique, nous avons utilisés les méthodes citées dans le **tableau iii3**

Tableauiii3 : Les méthodes utilisées

Nom de la méthode		
Préparation de l'échantillon	Poudre	Epuration
	Extrait	Epuration
		Macération
Contrôle de la qualité	Analyse microbiologique	/
	Analyse physique	Taux des pertes
		Teneur en cendre
	Analyse chimique	pH
Acidité titrable		
Analyse biologique	Screening	/
	Dosage des polyphénols	/
	Dosage des flavonoïdes	/
	Matière grasse	/
	Activité antioxydante	/
	Analyse microbiologique	/

II.3.3.1. Traitement de l'échantillon :

Selon **Scazzocchioun et al., (2006)** et **Barbarié et al., (2011)**, le traitement de la propolis est réalisé aux niveau de laboratoire est comme suit :

A-Traitement préliminaire de la propolis :

Le traitement préliminaire de la propolis est donné par les figure ii2 jusqu'à la figure ii 5

• **Epuration :**

- Cette étape consiste à débarrasser la propolis de toutes les impuretés telles que les cadavresd'abeilles, débris végétaux et les grains de pollen.

- La propolis brute (**figure i1**) subit un lavage à l'eau chaude, à une température de 60°C, qui permet l'élimination totale des impuretés et l'élimination partielle de la cire.

- La propolis récupérée est mise au congélateur à +6°C pendant 24 heure



Figure i1 : Echantillons de la Propolis brute récoltée dans la région de Bejaia (*originale 2022*)

B-Traitement technologique de la propolis

a-Macération :

- L'extraction des substances bioactives de la propolis est réalisée par macération dans l'éthanol 95% (V/V) selon la méthode de Park et Ikegaki 1998 : 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 07 jours on obtiendra deux phases : le culot qui représente les impuretés et la moitié de laire, et le surnageant qui correspond à la propolis dissoute dans l'éthanol. (**figure ii3**)

-

b-Filtration :

Après 07 jours de macération, Après macération le mélange est chauffé (bain-marie) à 70°C pendant 30 minutes puis suivi par une filtration par un tissu mousseline, puis une filtration à l'aide d'un papier filtre pour obtenir l'extrait.

L'extrait obtenu est appelé Extrait Ethanolique 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. Au cours de notre étude, les deux extraits (sec et EEP) sont utilisés. Le premier est conservé à l'abri (**figure ii4**)

c-Evaporation :

La solution alcoolique est mise dans le Rota vapeur pendant une heure à une température de 65°C et nombre de rotation de 150 à 200 jusqu'à obtention d'une pâte de propolis qui se solidifie rapidement.

d-Conservation et stockage :

La conservation des extraits alcooliques se fait dans des flacons ambrés en verre dans un endroit frais à 4°C.



Figure ii2 : Macération de propolis de Bejaia dans l'éthanol sous agitation (2ème jour) (*originale 2017*)

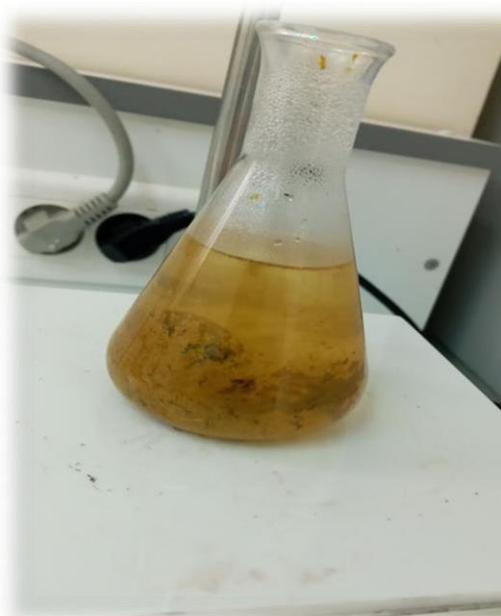


Figure ii3 : Macération de propolis de Bejaia dans l'éthanol sous agitation (5ème jours) (*originale 2022*)



Figure ii4 : Filtration des extraits de propolis de Bejaia (*originale 2022*)

III.3.3.2. Analyses microbiologique de la propolis

Les analyses microbiologiques visent à la recherche et le dénombrement de la microflore à incidence sanitaire et technologique.

La sécurité alimentaire, dont la qualité microbiologique de la propolis est une composante essentielle. Les analyses microbiologiques sont un des moyens d'autocontrôle pour vérifier la conformité de l'hygiène de la propolis par rapport à la réglementation.

. Préparation des suspensions mères et des dilutions décimales :

• Solution mère :

Introduire aseptiquement 1g de la gelée royale à analyser chaque type séparément dans des tubes stériles contenant 9ml de diluant (TSE), homogénéiser pendant 6 min pour obtenir la solution mère correspondant à la dilution 10^{-1} .

• Dilutions décimales :

Introduire aseptiquement 1ml de la solution mère dans un tube a vis stérile contenant au préalable 9ml de diluant (TSE), on obtient la dilution 10^{-2} , Mélanger doucement.

A- Recherche et dénombrement des Coliforme fécaux et *Escherichia coli* (NF V 08-050)

• Définition

Ce sont des coccobacilles à Gram (-), appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Aérobie-anaérobies facultatifs.

• Principe

Cette technique est basée sur le fait qu'une cellule placée sur un milieu solide VRBL donnera la naissance à une colonie macroscopiquement visible.

• Mode opératoire

Ensemencement et incubation

- A partir de la solution mère 10^{-1} et la dilution décimale 10^{-2} , porter aseptiquement 2 fois 1ml dans des boîte de pétri vides préparées à cet usage et numérotées.
- Couler ensuite chaque boîte de pétri avec la gélose VRBL, fondue puis refroidie à 45°C.

- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée.
- Incubée les boîtes à 44 °C pendant 24 à 48 h, la première lecture se fera au bout de 24h.

Lecture et dénombrement

Les colonies des coliformes fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé de 0,5 de diamètre.

B - Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

• Définition :

Ce sont des saprophytes, appartenant à la famille des *Staphylococcaceae*, *Staphylococcus aureus* se présente sous forme de cocci regroupés en amas à gram (+), aérobies-anaérobies facultatifs, non sporulé.

• Mode opératoire:

A partir de la solution mère 10^{-1} et la dilution 10^{-2} de chaque échantillon, porter 1 ml dans des tubes qui contiennent 14 ml de bouillons Giolitti et cantoni rendu sélectif après addition de tellurite de potassium puis mélanger les tubes.

Incubée les tubes à 37°C pendant 24 H, la première lecture se fera au bout de 24H

Lecture:

L'apparition du noircissement ou des précipités noirs indiquent la présence de *staphylococcus aureus* dans les tubes.

C - Recherche et dénombrement des *Salmonella* et des *Listéria*.

-Verser l'Eau Peptonée Tamponnée(*Salmonella*) et le bouillon Fraser(*Listéria*) dans le sachet stérile contenant **25 gde** produit à analyser.

-Broyer l'aliment **6 à 8 minutes**. Verser le contenu dans les flacons respectifs.

• Préparation des dilutions décimales :

a -Cas de produit solide:

- Introduire 1 ml de la suspension 10^{-1} dans 9 ml de TSE.

- Mélanger, puis prélever 1 ml de la dilution 10^{-2} et l'introduire ensuite dans 9 ml de

TSE.

b - Cas de produit liquide:

Introduire 1 ml de la suspension +1 dans 9 ml de TSE.

Mélanger, puis prélever 1 ml de la dilution 10^{-1} et l'introduire ensuite dans 9 ml de TSE, mélanger, puis prélever 1 ml de la dilution 10^{-2} et l'introduire ensuite dans 9 ml de TSE pour obtenir la dilution 10^{-3} .

D - Recherche et dénombrement des levures et moisissures (NF V 08-059) :

• Définition

Les moisissures sont des hétérotrophe aérobies acidophiles (ph de développement comprise entre 3 et 7) et mésophiles (température de croissance de 20 à 30 °C) .

Les levures sont typiquement unicellulaires de forme ronde ou ovoïde et se multiplient par bourgeonnement.

• Principe

Le dénombrement est effectué en milieu sélectif doté de propriétés antibactériennes (**Milieu OGA**)

• Mode opératoire

- Couler dans les boîte de pétri 20 ml de la gélose OGA
- Placer 4 gouttes de la solution mère et de chaque dilution 10^{-1} et 10^{-2} à la surface du milieu solide OGA
- Etaler l'inoculum à la surface du milieu de culture, utiliser un râteau en verre stérile.
- Incuber à une température ambiante (25°C) durant 5jours

• Lecture et expression des résultats

La lecture et le dénombrement des levures et moisissures se fait quotidiennement et séparément car les moisissures se développent rapidement et peuvent envahir les colonies des levures. Les colonies des levures sont brillantes, rondes et bombées, de couleur blanche avec une texture crémeuse, tandis que celles des moisissures sont épaisses, filamenteuses, pigmentées à aspect velouté.

III.3.3.3. Analyses Physicochimiques de la propolis

A - Détermination de taux des pertes pendant le séchage (NF T 60-305, Juin1976)

-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 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 couper 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.

-Expression des résultats :

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{(M1 - M2)}{P} \times 100$$

Soit :

H % : Humidité + Matières volatiles.

M1 : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en g.

M2 : Masse de l'ensemble après séchage en g.

P : Masse de la prise d'essai en g.

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

-Expression des résultats

$$MO \% = \left(\frac{M1 - M2}{P} \right) \times 100$$

Soit :

MO % : Matière organique.

M1 : Masse des capsules + prise d'essai.

M2 : Masse des capsules + cendres.

P : Masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (Cd) est calculée comme suit :

$$Cd = 100 - MO \%$$

C - 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

D - 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 $8 \pm 0,2$.

-Expression des résultats :

L'acidité titrable est exprimée selon la formule suivante :

$$A\% = (250 \times V1 \times 100) / (V0 \times M \times 10)$$

M : Masse, en grammes de produit prélevé. **V0**:Volume en millilitres de la prise d'essai.

V1:Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1N utilisé.

II.3.3.4. Test de screening

A-Glucosides :

On mélange 2 g de chaque échantillon (soit poudre ou pâte) avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré (96%) (Bidie et al., 2011). Le test est considéré positif par l'apparition d'une couleur rouge-bleu.

b- Saponosides :

Mélanger **2 ml** de chaque EEP avec **2 ml** d'une solution d'acétate de plomb à **1%** (1 g d'acétate de plombe dans 100 ml d'eau distillée) (**Bidie et al., 2011**). (Afin d'éviter le gaspillage, on a utilisé 0.25 ml d'EEP avec 0.25 ml de solution d'acétate de plomb). Le test est considéré positif par l'apparition d'une précipitation.

C- Tannins :

On mélange **1 ml** de chaque EEP avec 1ml d'eau distillée et **1 à 2 gouttes** de solution de FeCl₃ diluée **10 %** (au principe c'est 10 g de réactif FeCl₃ avec 100 ml d'eau distillée, mais on a préféré d'utiliser 1g dans 10 ml). Le test est considéré positif par l'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-vert (**Bidie et al., 2011**).

D- Alcaloïdes:

On mélange **3 ml** d'acide sulfurique concentré (**96%**) et **5 ml** d'une solution d'iodomercurate de potassium dans 5ml de chaque EEP (**Bidie et al., 2011**) (on a toujours préféré de diminuer la quantité, alors on divise toute les concentration par l'utilisation de 0,5 ml des extraits avec 0,3 d'acide sulfurique avec 0,5 de la solution iodomercurate de potassium). L'apparition d'une coloration blanc crème indique la présence des alcaloïdes

E-Poly phénols:

A **2 ml** de chaque extrait, nous avons ajouté **une goutte** de solution méthanolique de chlorure ferrique à **2%**. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols. (**N'Guessan et al (2009)**)

F-Flavonoïdes :

Une quantité de **0,5g** de chaque extrait avec **5 ml** d'HCl et quelques fragments de magnésium ont été ajouté. Après dégagement d'hydrogene par réduction des flavonoïdes algycons en anthocyanes, on obtient une coloration rouge (**test de Shibata**) (**Aliyu et al (2011)**).

II.3.3.5 . Dosage des poly phénols :

Le dosage des poly phénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite en 1965 par Singleton et Rossi. D (**Li et al. 2007**) avec quelques modifications.

-Principe :

La méthode colorimétrique la plus fréquemment utilisée est de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). L'intensité de cette coloration bleue est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu ayant un maximum d'absorption à 720 nm (**Ribéreau-Gayon et al. 1972**).

-Mode opératoire:

- 200 µl d'EEP est mélangé avec 750 µl de réactif de Folin-Ciocalteu (1 ml de réaction Folin-Ciocalteu est additionné à 9 ml d'eau distillée), après une pause de 5 minutes on ajoute 400 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5 % (7,5 g de poudre de carbonate de sodium est mélangé avec 100 ml de l'eau distillée)

- L'absorbance est mesurée à 720 nm après 1h30 d'incubation à l'abri de lumière et à température ambiante contre un blanc préparé suivant la même méthode, sauf que l'extrait a été remplacé par le solvant.

- Une courbe standard est réalisée avec différentes concentrations de l'acide gallique dans les mêmes conditions que le dosage des échantillons. (**figure 1 : voir annexe**)

-Expression des résultats:

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits de propolis sont calculées en extrapolant les valeurs d'absorbance à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (mg GAE/ mg d'extrait).

II.3.3.6 . Dosage des flavonoïdes :

L'estimation de la teneur en flavonoïdes contenus dans les extraits de propolis est réalisée par la méthode de (**Bahorun et al. 1996**) avec quelques modifications.

• **Principe :**

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 (**Ribéreau-**

Gayon, 1968). Ainsi la couleur jaune obtenue est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes dans l'extrait.

• Mode opératoire :

- Au **1,5 ml** d'EEP, **1,5 ml** d'une solution méthanolique de $AlCl_3$ 2% (**2 g** de réactif $AlCl_3$ avec **100 ml** de méthanol) est ajouté, le blanc utilisé est le mélange réactionnel sans échantillon et le standard utilisé est un flavonol, la quercétine, à différentes concentrations afin d'établir la droite d'étalonnage.

- Après **30 minutes** d'incubation à l'abri de lumière et à température ambiante l'absorbance est mesurée à **430 nm**. (**Figure a3: voir annexe**)

-Expression des résultats :

La concentration des échantillons de propolis en composés flavonoïques est déterminée en extrapolant les absorbances de ceux-ci à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard. La quantité des flavonoïdes est exprimée en équivalents milligramme de quercétrine par mg d'extrait (mg EQ/mg). (**Figure a4: voir annexe**)

II.3.3.7. Détermination de la matière grasse (NH 682°) :

-Principe :

Minéralisation d'une pris d'essai en le partant a l'ébullition avec de l'acide chlorhydrique dilué.

- Sincère l'intérieur du réfrigérant avec 75ml d'eau chaude prélevé dans 150ml d'eau chaud (au moins 80C°).
- Ajoute le reste de l'eau dans la fiole afin de sincère le col et la paroi intense.
- Filtre immédiatement le contenu de la fiole sur un papier filtre.

-Expression des résultats :

$$MG = (m1-m2)/PE *100$$

m1= masse de ballon après extraction.

m2 = masse du ballon vide

PE= pris d'essai

II.3.3.7. Activité anti-oxydante :

L'activité antioxydant des extraits éthanoliques de la propolis est exprimée par la neutralisation des radicaux libres par la méthode colorimétrique DPPH. Le composé chimique DPPH fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (**Brand-Williams, 1995**).

-Principe:

Le 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) est défini comme radical libre stable par vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption. Il réagit avec des groupements amines, les phénols, les acides, les composés hydro- aromatiques, etc... Cette propriété est largement recommandée et utilisé dans la pratique analytique. Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (1,1-diphényl-2-(2,4,6- trinitrophenyl) hydrazine (DPPH₂)) avec la perte de la couleur violette et apparition d'une couleur jaune pâle résiduelle due à la présence de groupement picarel (**Molyneux, 2004**).

-Mode opératoire:

- La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de propolis via le test DPPH, est effectuée par la méthode de (**Shi, 1991**).

- Une solution méthanoïque de **0.02 mg/ml** de DPPH (une très petite quantité de **0.02 mg** de DPPH est diluée dans **100 ml** de méthanol) est mélangée avec différentes concentrations des extraits de propolis. A cet effet, **100 µl** de chaque dilution de ces extraits sont mis dans un tube à essai, et additionnés de **2 ml** de solution méthanoïque de DPPH. Après une incubation de **30 min** à l'abri de la lumière à température ambiante.

- L'absorbance est lue à **517 nm** contre la solution témoin composée de **2 ml** de la solution de DPPH et **100 µl** de méthanol.

-Expression des résultats :

L'évaluation de l'activité antioxydant en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition de celui-ci selon la relation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = (\text{AC} - \text{AE}) / \text{AC} \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'échantillon.

I.3.3.4.5 : Activité antimicrobienne de l'extrait de propolis en milieu solide

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de propolis a été réalisée selon la méthode de diffusion par disque sur gélose (NCCLS, 2002). Nous avons choisi d'évaluer nos extraits de propolis sur un panel représentatif de bactéries Gram (-) et Gram (+).

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de Propolis sont donnés par le tableau ii2

-But :

C'est une méthode quantitative, permettant de tester l'existence de l'activité antimicrobienne, qui se traduit par la formation d'une zone d'inhibition autour de la source à caractère antimicrobien.

-Principe :

Elle consiste à utiliser des disques buvards ; imprégnés dans la substance à tester à une dose bien déterminée. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension des germes utilisés. Après 24 heures d'incubation, il s'établit un gradient de concentration de la substance à tester, l'interaction entre les germes et cette dernière s'exprime par une zone d'inhibition (**Amhis, 2001**). Puis on mesure les diamètres des éventuelles zones d'inhibition observées autour des disques (**Loubaki et al. 1999, Archambaud, 2009**). 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)**.

-Protocole expérimentale :

Travail s'effectue dans des conditions aseptiques, à côté du bec benzène entouré du matériel stérilisé auparavant et déposé sur une paillasse bien nettoyées avec l'eau de javel.

1- Préparation de l'inoculum

a- Bactérien

L'inoculum est préparé à partir d'une culture de 18 heures sur milieu d'isolement

comme suit : cinq colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide de l'anse de platine puis déchargées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée. Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland ou à une DO de 0,08 à 0,10 à 625 nm pour les bactéries. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique s'il est trop fort.

b- Levurien

A partir d'une culture pure, on prélève une colonie bien isolée de *Candida albicans* que l'on ensemence sur un milieu Sabouraud liquide incubé à 30°C pendant 18 h. On effectue ensuite des dilutions jusqu'à l'obtention de 10^5 cellules/ml c'est-à-dire DO varie entre 0,12 et 0,15 à la longueur d'onde $\lambda = 530$ nm pour les levures (turbidité équivalente à 0,5 McFarland)

c- Fongique

On prélève 3 à 4 disques d'agar de 5 mm de diamètre avec la manche de la pipette Pasteur, à partir de la périphérie d'une culture fongique pure. Les disques sont ensuite déposés à la surface du milieu gélose Sabouraud et incubés à 25°C, pendant 3 à 4 jours.

2- préparation des extraits de propolis

1000ug de propolis a été mélangé avec 10mL de DMSO dont la concentration est de 100ug/ml

5000ug de propolis a été mélangé avec 10ml de DMSO dont la concentration est de 50ug/ml.

3- ensemencement

-Couler 15 ml de la gélose Meller –Hinton (pour les bactéries) et sabouraud pour les champignons et les levures) sur les boîtes de pétri (25 mm)et laisser refroidir à la température ambiante

- L'ensemencement des bactéries **doit se faire dans les 15 minutes** qui suivent la préparation de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon stérile. Ce dernier est trempé dans la suspension bactérienne puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Après ensemencement en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosé (le frottement se fait de haut en bas, en stries serrées cette opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois)

-Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture approprié (milieu sabouraud) sont ensemencées par la levure par écouvillonnage ou par un disque d'agar de 5 mm de diamètre issue de chaque culture fongique (2 à 3 disques ensemencés séparément et en parallèle/boîte).

4- Application des disques

1- Dépôt des disques imprégnés de propolis (10ul) à différentes concentrations (100ug/ml et 50ug/ml) ; au centre de la gélose à l'aide d'une pince permettant son adhésion sur la gélose (ensemencée soit par les bactéries, ou les champignons)

2- dépôt des disques d'antibiotiques gentamycine (témoin positif) et des disques imprégnés de DMSO (témoin négatif) sur les boîtes ensemencées par les bactéries, et les champignons.

- Laisser diffuser pendant 30 minutes,

- Les boîtes renversées sont mises dans l'incubateur à 37°C pendant 24h (pour les bactéries) à 30°C pour les levures et à 25°C pour les champignons .

5-Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (Moreira et al., 2005). La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition (Tableau iii4).

Tableau ii4: Estimation de la sensibilité des souches

Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	Souche
D < 7	Nulle	Résistante
D [7-14]	Faible	Sensible
D [15-19]	Moyenne	Très sensible
D > 20	Forte	Extrêmement sensible

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Analyses microbiologiques de la propolis récoltée dans 03 régions différentes :

Les résultats des analyses microbiologiques effectués sur la propolis récoltée dans 03 régions différentes montrent une absence totale des bactéries (les coliformes fécaux et *Staphylococcus aureus*, les salmonelles et *Leisteria*), des levures et des moisissures.. (Tableau iii01)

En conséquence, nos échantillons analysés sont de bonne qualité microbiologique et leurs conditions de conservation et de stockage sont satisfaisantes.

Tableau iii 01 : Résultats des analyses microbiologiques des gelées royales analysées

Echantillons	Propolis de Bejaia	Propolis de Tipaza	Propolis de Tiaret	de Normes (AFNOR 1996)
Germes				
Levures et moisissures	Absence	Absence	Absence	< 30 germes/g
Coliforme Fécaux	Absence	Absence	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
<i>Salmonella</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
<i>Leisteria</i>	Absence	Absence	Absence	Absence

III.2. Pertes pendant le séchage et le pourcentage de la matière sèche :

Les résultats de la teneur en pertes pendant le séchage (élimination d’humidité et de matières volatiles) des échantillons de propolis de Bejaia, de Tipaza et de Tiaret sont reportés dans le **tableau iii2**

Tableau iii2 : Les taux des pertes pendant le séchage et le pourcentage de la matière sèche des n échantillons de la propolis récoltée dans trois régions différentes

Echantillon	Taux des pertes pendant le séchage (H%)	Matière sèche (%)
Bejaia	4.296	95.704
Tipaza	3.176	96.821
Tiaret	2.537	97.563

Les résultats trouvés ont révélé un taux faible de pertes pendant le séchage compris entre 2,5% et 4,5%, avec des taux de pourcentage de matière sèche respectifs 95,70%, 96,82 % et 97,5%. . Donc les 03 échantillons de propolis algérienne récoltée dans 03 régions différentes sont très pauvres en eau et en matière volatiles, ce qui procure à la propolis sa structure solide et qui est en adéquation avec la nature hydrophobe de la plupart des constituants.

Nos trois valeurs concordent avec ceux trouvés par (**Ferhoum ,2010**). Cette dernière a dévoilé un taux faible de perte pendant le séchage des échantillons de propolis récoltée dans les régions de Mitidja variant entre 1.26 à 3.89%.Cependant les valeurs de propolis provenant des régions d'Europe de Brésil et d'Argentine (0.4 à 3%) (**Tosi et al, 2006**) sont inférieurs par rapport à nos résultats. Donc Les conditions de stockage des échantillons issus de trois régions différentes et les conditions climatiques peuvent influencer cette proportion

III.3 . pH :

Les résultats des pH des échantillons de la propolis récoltée dans trois régions différentes sont donnés par le **tableau iii3** .

Tableau iii3^o: valeur de PH des échantillons de la propolis récoltée dans trois régions différentes

Echantillons de propolis	pH
Bejaia	4.56
Tipaza	5.37
Tiaret	5.63

Les différents échantillons de propolis récoltée dans les trois régions ont montré un pH Variant entre 4,56 et 5.73. L'échantillon de Tipaza a montré un pH le plus élevé soit 5.73 tandis que l'échantillon de Bejaia présente un pH le plus faible soit de 4.56. Nos résultats sont moins acides de ceux trouvés (pH varie de 4.55 au 5.01) et (pH varie de 4.24 au 4.66) respectivement par (**Bandaoui et Belhachemi 1997**) et (**Ferhoum, 2010**)

En conséquence 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.

III.4 . Acidité titrable :

L'acidité titrable nous renseigne sur la quantité en acides organique présentent dans l'échantillon de propolis.

Les résultats du dosage de l'acidité titrable des 03 échantillons de la Propolis récoltée dans trois régions différentes sont présentés par le **tableauiii4**

Tableau iii4 acidité titrable des 03 échantillons de Propolis récoltée dans trois régions différentes

Echantillon	PH	Acidité(%)
Bejaia	4.56	4.2
Tipaza	5.73	8.6
Tiaret	5.63	8.1

Les résultats obtenus mettent en évidence les degrés d'acidité de la propolis, plus elles sont faibles plus les propolis sont acides. Nos résultats trouvés varient de 4.2à 8.6. L'échantillon de Bejaïa est plus acide puisque sa valeur trouvée (4.56) est inférieur à celles des échantillons de Tipaza et de Tiaret

Nos résultats d'acidité sont inférieurs par rapport à ceux trouvés par (**Ferhoum ,2010**) (**6.55à 7.59%**), et par (**Bandaoui et Belhachem, 1997**) (**8à8.4%**).

En outre, on remarque que les résultats d'acidité des échantillons de propolis récoltée dans les 03 régions sont en corrélation étroite avec des valeurs de pH donnés par (le **tableauiii3**) .En effet les échantillons de la propolis récoltée dans la région de Bejaïa sont plus acides par rapport aux échantillons de propolis récoltée dans les régions de Tipaza et Tiaret puisque leur valeur de pH et d'acidité sont respectivement 4,56 et 4,2

Donc l'acidité élevée des 03 stations surtout celle de la propolis récoltée dans la région de Bejaia est dut probablement soit par l'oxydation des échantillons de propolis sous l'action de l'oxygène ou l'actions d'autres facteurs externes ou internes (température élevée, taux d'humidité, etc.) ,soit par la différence de la flore botanique entre les 03 régions.

III.5 . Analyse phytochimique :

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante, nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Pour cela nous avons réalisé les tests phytochimiques des échantillons de la gelée royale en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité, la turbidité et la coloration ; ce qui détermine la proportionnelle de la quantité et de la substance recherchée. Ainsi :

- Une réaction franchement positive est représentée par:+++
- Une réaction moyennement positive est représentée par:++
- Une réaction faiblement positive est représentée par: +
- L'absence de la substance est représenté par:—.

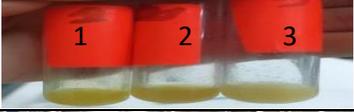
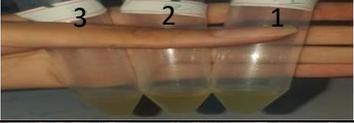
Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les 03 échantillons de la propolis sont résumés dans **Tableau iii 05**.

L'examen phytochimique réalisé a révélé la présence des métabolismes secondaires en quantité variable dans les 03 échantillons de propolis. En effet les composés chimiques : les glycosides, les saponosides, les tannins, les poly phénols et les flavonoïdes se trouvent en quantité importante dans les propolis de Bejaia. Dans la propolis de Tipaza seulement 03 composés se montrent en quantité importante c'est les glycosides, les alcaloïdes et les poly phénols. Les échantillons de la propolis de Tiaret renferment des quantités faibles en composés chimiques

Les résultats montrent que la propolis de Bejaia d'une grande importance, elle est riche en composés phénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes qui sont des substances reconnues pour leur propriété anti oxydantes (**Hertoget et al, 1993**).

Cette étude a également montré l'existence d'une réelle biodiversité moléculaire, qui confère à la propolis des vertus médicinales importantes à valoriser. Parmi les métabolites secondaires mis en évidence, les flavonoïdes ont un important champ d'action possédant de nombreuses vertus médicinales : antioxydantes (**Granto et al, 2018**), anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antiallergiques, anti ulcérogènes, et effets protecteurs vasculaires (**Umeshet et al, 2018**), antimicrobiens (**Usman et al, 2018**), antitumoraux, antisécréteurs et antidiarrhéiques (**de Souza et al, 2018**), hypotenseurs et aphrodisiaques (**Rai et al, 2018**).

Tableau iii 05 : Résultats du screening phytochimique des échantillons de la propolis récoltée dans 03 régions (Bejaia, Tipaza et Tiaret)

Test de screening	Echantillons			Photos originales des résultats
	Propolis de Bejaia	Propolis de Tipaza	Propolis de Tiaret	
Glucosides	+++	+++	++	
Saponosides	+++	++	+	
Tannins	+++	++	+	
Alcaloïdes	+	+++	++	
Polyphénol	+++	+++	+	
Flavonoïde	+++	++	+	

III.6. Dosage des poly phénols :

La teneur des différents extraits de propolis et pollen en polyphénols a été déterminée par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, en utilisant comme standard l'acide gallique (**voir annexe**), elle est exprimée en $\mu\text{g EAG/mg d'extract}$.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les échantillons de propolis récoltée dans trois régions différentes Bejaia, Tipaza et Tiaret sont illustrés dans **le tableau iii6 (voir annexe) et la figure iii1**

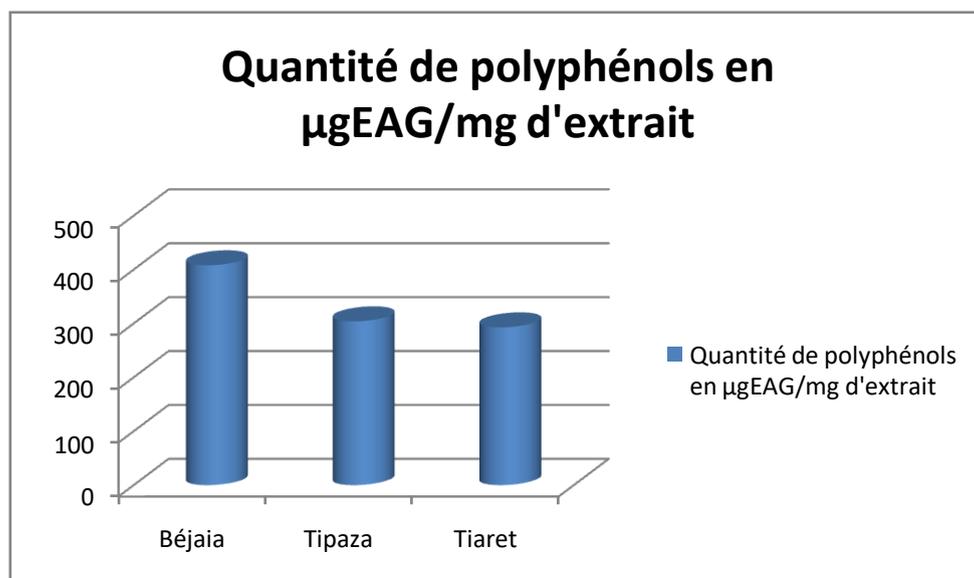


Figure iii1: Teneurs en poly phénols de la propolis récoltée dans trois régions différentes

La teneur en polyphénols totaux de la région de Bejaia c'est la plus élevée soit $408 \pm 2.091 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait par rapport à celle de la propolis récoltée dans la région des Tipaza ($304 \pm 3.213 \mu\text{g EAG/mg}$) et de la région de Tiaret ($292,8 \pm 1.025 \mu\text{g EAG/mg}$).

Les résultats obtenus durant cette étude sont élevés par rapport aux résultats trouvés dans les travaux de plusieurs auteurs tels que :

-- **Choi et al., 2006** a montré une teneur de $212,7 \pm 7,4 \mu\text{g EAG /mg}$ dans la propolis issue de la région coréenne;

- les travaux de **Ahn et al. (2007)** sur la propolis chinoise ont trouvé une teneur en polyphénols de $302 \pm 4,3 \mu\text{g EAG/mg}$.

- **Laskar et al., en 2010** ont trouvé une moyenne de teneur en polyphénols de $159 \pm 0.69 \mu\text{g EAG /mg}$ d'extrait de propolis Indian.

- l'étude de **Kumazawa et al., 2004** sur la propolis chinoise a révélé une teneur en polyphénols de $299 \pm 0.5 \mu\text{g EAG /mg}$,

- Une étude faite par **Boufadi et al. (2014)** montrent que la propolis d'Ain El Arba (wilaya Aïn Témouchen) contient $194 \pm 14 \mu\text{g EAG /mg}$ de polyphénols et celle de Ksar el hirane (wilaya de Laghouat) contient $91 \pm 1 \mu\text{g EAG /mg}$.

- et enfin **Can et al (2015)** ont trouvé une teneur très faibles en polyphénols entre 10,94 et $79,23 \mu\text{g EAG /mg}$ dans la propolis récoltée dans quelques régions d'Azerbaïdjan,

Toutes ces différences dans la teneur en polyphénols peut revenir aux conditions environnementaux (le climat, la nature du sol) de chaque région de l'échantillon récoltée,

ou/et aux conditions expérimentaux (les procédures d'extraction, le dosage et les différents Solvants utilisés).

III.7. Dosage des flavonoïdes :

La teneur des différents extraits de propolis en flavonoïde récoltée des les trois régions : Les Eucalyptus, Larbaa et Bouinam a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), en utilisant comme standard la quercétine (voir **annexe**)

Les résultats de dosage des flavonoïdes dans les échantillons de propolis analysés sont rapportés dans le (**tableau iii7**).et la **figure iii2**

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle une teneur élevée en flavonoïdes dans l'extrait EEP de la propolis récoltée dans la région de Bejaia avec une teneur de $46,4 \pm 2.154$ d'extrait, alors que les extraits EEP de la propolis récoltée dans les régions de Tipaza et de Tiaret sont respectivement $37,6 \pm 1.256$ μg EQ/mg d'extrait et $19,2 \pm 2.012$ μg EQ/mg.

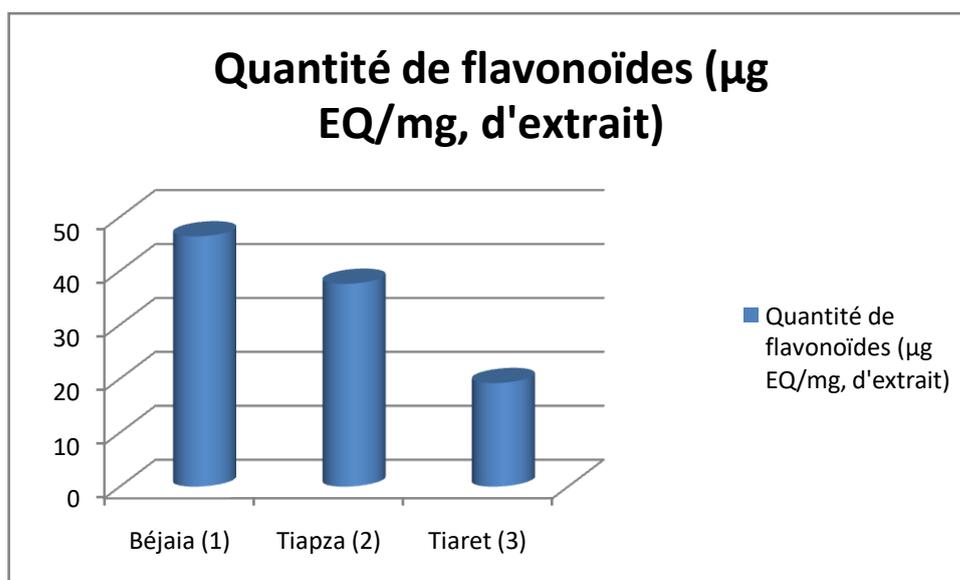


Figure ii2 : Teneurs en flavonoïdes de la propolis récoltée dans trois régions différentes

Les résultats obtenus durant cette étude sont élevées de ceux trouvés par quelques auteurs. En effet l'étude faite par **Boufadi et al., 2014** sur la propolis d'Ain ouassara (Wilaya de Djelfa) a divulgué une teneur en flavonoïdes de 32 ± 1 μg EQ/mg alors que l'extrait de propolis récoltée dans la région Ksar el hirane (wilaya de Laghouat) renferme 14.4 ± 0.9 μg EQ/mg d'extrait.

En outre, les différences dans les concentrations totales de flavonoïdes entre les échantillons de propolis récoltée dans différentes régions d'Algérie peuvent être dues à de nombreux facteurs, tels que les conditions environnementales, le fond génétique, ou les techniques agricoles appliquées

III.8 .Matière grasse :

Les teneurs en pourcentage des échantillons de la propolis récoltée dans trois régions différentes sont donnés par le **tableau iii 8**.

Tableau iii8: Teneur de la matière grasse des extraits de propolis récoltée dans 03 régions

Extraits de propolis des 03 régions	Proportion de matière grasse en %
Bejaia	44.66
Tipaza	59.65
Tiaret	60.64

La teneur la plus élevée en matière grasse a été observée dans les extraits de propolis de la région de Tiaret soit 60.64% et la plus faible dans les extraits de Bejaia (44.66%) (**tableau iii 8**).

La comparaison de nos résultats en MG dans les extraits de propolis des 03 régions avec ceux des huiles d'olives et des produits laitiers transformés (Beurre et crème fraîche), nous divulgue que leur teneur est supérieur à celle des crèmes fraîches (30 % de matière grasse) (**normes donnés par le COI et le codex Alimentarius**), cependant elles sont inférieurs à celles des beurres qui sont composés de plus de 80 % de matière grasse laitière et moindres de celles des huiles végétales renfermant près de 100 % de lipides et également elles sont moins importantes par rapport aux teneurs d'huiles d'olive composées d'environ 99 % de matières grasses.

En outre, la comparaison des teneurs en pourcentage de MG des mêmes extraits avec l'un des produits de la ruche (le pollen) elle nous montre que la propolis de nos 03 régions sont trop riches en matières grasses puisque selon **Brachemi et Moussaoui (2018)** La teneur en lipides, des différents pollens étudiés, varient de (5.79% à 6.85%). Les acides gras les plus représentés quantitativement, et qui sont présents dans tous les échantillons, sont : l'acide palmitique (16.32 à 33.86%), l'acide linoléique (20.28 à 31.75%), l'acide linoléique (3.63 à 28.48%). La propolis des abeilles apporte donc à l'organisme un mélange d'acide gras

bien équilibré de point de vue nutritionnel. Toutefois, la richesse de nos extraits en MG, le rend sensible au rancissement au cours de la conservation. De-ce-fait, on remarque que la propolis d'abeilles est l'un des principaux produits de la ruche ayant une valeur nutritionnelle et thérapeutique, et qui peut être donc considéré comme étant un alicament. Par ailleurs, et avec un peu plus d'un million de ruche et une flore apicole abondante et diversifiée, la production de la propolis en l'Algérie peut être abondante et donc bénéfique sur le double plan économique et de santé publique.

III.9. Activité antioxydante de l'extrait éthanolique de la propolis :

II.9.1. Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH :

L'activité anti-radicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH est évaluée spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne d'un passage de la couleur violette à la couleur jaune.

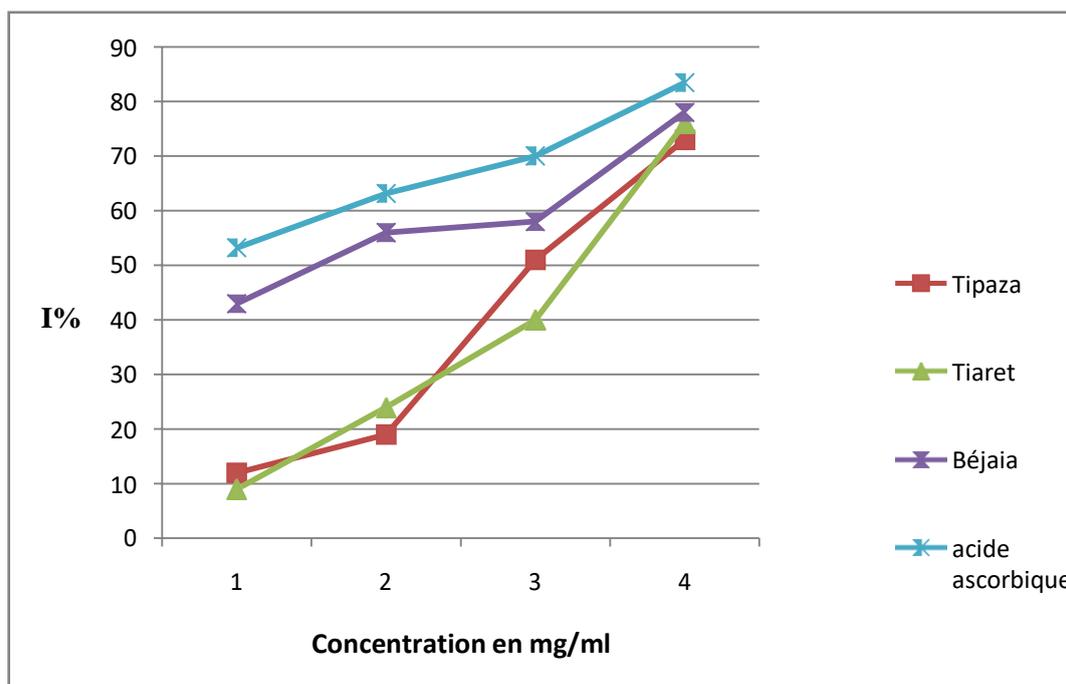
Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe du pourcentage (%) d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait (**tableau iii9 : voir annexe**)(Figureiii3).

Ces résultats, montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits de propolis récoltée dans les trois régions

Nous constatons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou les 03 extraits éthanoliques de la propolis.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les 02 extraits éthanoliques de la propolis récoltée dans les deux stations de Tipaza et de Tiaret sont inférieurs à celui de l'acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées. Néanmoins, le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait éthanolique de la région de Bejaia est légèrement inférieur à celui de l'acide ascorbique.

Pour une Concentration de 04 mg/ml, l'acide ascorbique révèle un pourcentage de 83.45 % ; tandis que les 03 extraits éthanoïques de propolis récoltée dans les régions de Bejaia, de Tipaza et de Tiaret présentent des concentrations respectives 78%, 73% et 76%.



I(%) : Pourcentage d'inhibition

Figure iii3: Pourcentage d'inhibition d'extrait éthanoliques de propolis récoltée dans les 03 régions et de l'acide ascorbique.

III.9.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

Les résultats obtenus sont exprimés selon les valeurs d'IC50 (**Tableau iii10 : voir annexe**) et **figure iii4** en comparaison à celle d'un standard (acide ascorbique).

La valeur d'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus La valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (**Ismaili et al. 2017**).

Les valeurs d'IC50 de l'extrait éthanolique et de l'acide ascorbique permettant d'inhiber l'effet de 50% du DPPH sont rapportées dans **la figure iii4**

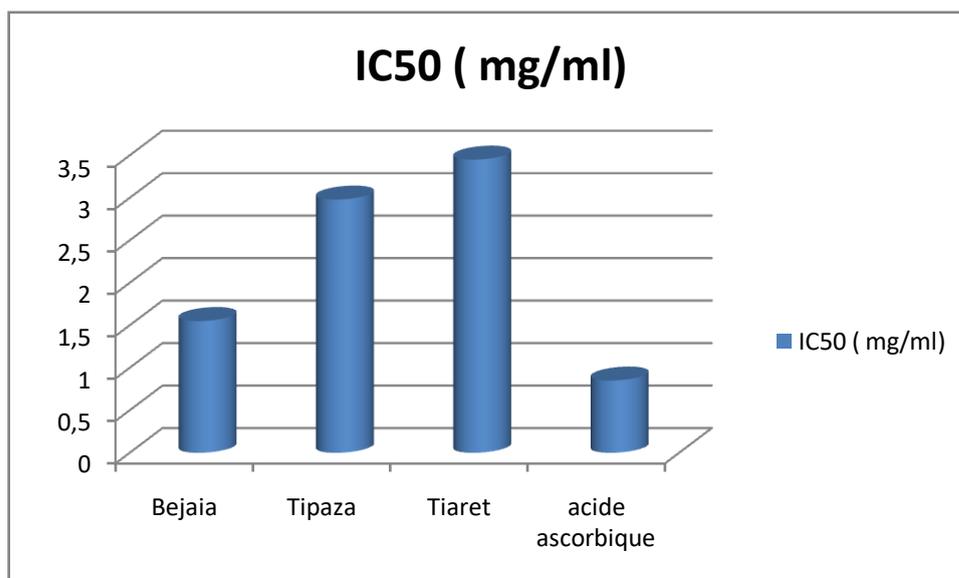


Figure iii4 : Valeurs des concentrations d’inhibitions IC50 de l’acide ascorbique et de l’extrait éthanolique de propolis récoltée dans les 03 régions différentes

L’extrait éthanolique de la propolis récoltée dans la région de Bejaia pouvait ramener le radical libre stable 2.2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de 1.55 mg/ml. Elle est inférieure à celle de l’acide ascorbique (0.85 mg/ml). Cependant les extraits éthanoliques de propolis récoltée dans les deux régions Tipaza et Tiaret sont respectivement élevés par rapport à l’acide ascorbique avec des valeurs respectives 2.98 mg/ml et 4.35mg/ml.

Donc L’extrait éthanolique de la propolis récoltée dans la région des Bejaia. dévoile une activité antioxydante importante par rapport à deux autres régions.

Selon l’étude de **Rebiai et al., 2013** sur la propolis de Ghardaia et Khanchla ont révélé un pourcentage d’activité antiradicalaire inférieur à nos résultats de l’ordre de 39.17 %, et 12.11 %. En plus l’étude menée par **Boufadi et al., 2014** sur la propolis d’Ouled ali (wilaya de Guelma), Ain Ouassara (Wilaya de Djelfa) et Ksar el hirane (wilaya de Laghouat) ont trouvé un pourcentage d’activité antiradicalaire > 50%.

Les résultats sont différents d’une étude à l’autre, cela peut être expliqué par plusieurs facteurs influençant l’efficacité de l’extraction, la nature et le volume du solvant utilisé.

En outre, L’activité antioxydante élevée de L’extrait éthanolique de la propolis récoltée dans la région des Eucalyptus peut être le résultat des composants phénoliques mais aussi d’antioxydants non phénoliques comme sesquiterpènes, flavonoïdes ou acides chlorogéniques (**Li et al. 2013 et Zhang et al. 2014**). Selon **Shahidi et Wanasundara (1992)** les composés phénoliques sont connus comme de puissants antioxydants. Suivant **Hanato et al (1989)** les

composés phénoliques sont des constituants très importants dans les extraits et leur capacité de balayage des radicaux libres est due à leurs groupes d'hydroxyles. .

III.5.2 . Évaluation de l'activité antimicrobienne :

L'évaluation des activités antimicrobiennes des extraits éthanoliques de la propolis, provenant des trois régions étudiées, à l'égard des bactéries pathogènes testées a été réalisée selon la méthode de diffusion par disque sur gélose. Les résultats de mesure des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant:

Dans le principe de l'antibiogramme solide, un antimicrobien est d'autant plus efficace que son cercle d'inhibition de la croissance microbienne est grand. Les mesures montrent des variations des diamètres de la zone d'inhibition sont estimés selon trois niveaux d'activité des souches utilisées (**Tableau iii11**).

Tableau iii11: Estimation de la sensibilité des souches (**Moreira et al., 2005**).

Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	Souche
D < 7	Nulle	Résistante
D [7-14]	Faible	Sensible
D [15-19]	Moyenne	Très sensible
D > 20	Forte	Extrêmement sensible

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à l'autre

Comme cela a été rapporté dans la littérature, ont considéré qu'un extrait a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12mm (**Sagdaç,2003**).

Selon **La figureiii5et le tableau iii12 (voir annexe)** les extraits (50ug/ml et 100 ug/ml) de la propolis des 03 stations inhibent légèrement les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, et *Bacillus cereus* avec des diamètres d'inhibitions allant de 10mm à 14 mm. Exception faite pour les *Bacillus cereus* qui se montrent très sensibles vis-à-vis des extraits (100 ug/ml) de la propolis de la région de Tipaza

Les Staphylocoques aureus et les bactéries E coli se montrent très sensibles vis à vis

des extraits des 03 propolis avec des diamètres d'inhibition allant de 15 mm à 19 mm, tandis que ceux de la propolis de la région de Tiaret et de Bejaia inhibent faiblement les mêmes souches (DI 14mm) avec une concentration de 50ug/ml.

En ce qui concerne , les *Aspergillus brasiliensis* divulguent une sensibilité élevée vis à vis des extraits des propolis(100 ug/ml) des deux régions Bejaia et Tipaza avec des diamètres allant jusqu'à 18 mm, Cependant elles dévoilent une faible sensibilité vis à vis de extraits de Bejaia (50ug/ml) et des extraits (50ug/ml et 100ug/ml) de propolis de Tiaret avec des diamètres allant entre 11 et 13 mm

Pour les levures *Candida albicans* se montrent faiblement sensibles à l'encontre des extraits des 03 propolis dont les diamètres varient de 9 à 12 mm.

En outre, l'antibiotique la gentamicine se montre très actif vis-à-vis des 04 souches par rapport aux extraits de la propolis des 03 régions (50 et 100ug/ml) .

la comparaison des résultats antibactériennes des extraits de la propolis des 03 régions (50 et 100ug/ml) vis-à-vis de nos 04 souches bactériennes, dévoile d'un côté une activité bactériostatique importante des extraits des 03 propolis et d'un autre côté les deux souches *Les Staphylocoques aureus* et les bactéries *E coli* se montrent extrêmement sensibles vis à vis des 03 extraits et *les Aspergillus brasiliensis* se montrent très sensibles uniquement vis vis des extraits de Tipaza et de Bejaia (voir figure iii4)

En conséquence, l'effet bactériostatique important des extraits de la propolis dut à sa composition riche en poly phénols variant de 292 à 304 ug EAG / mg d'extrait et en flavonoïdes 19 à 46 ug EQ /mg d'extrait et en plus l'extrait de la propolis des 03 régions surtout celle de la région de Bejaia (1.55 mg/ml) possèdent une activité antioxydante élevée. Aussi ces mêmes extraits surtout celui de Bejaia se montrent avec un pH bas et une acidité élevée.

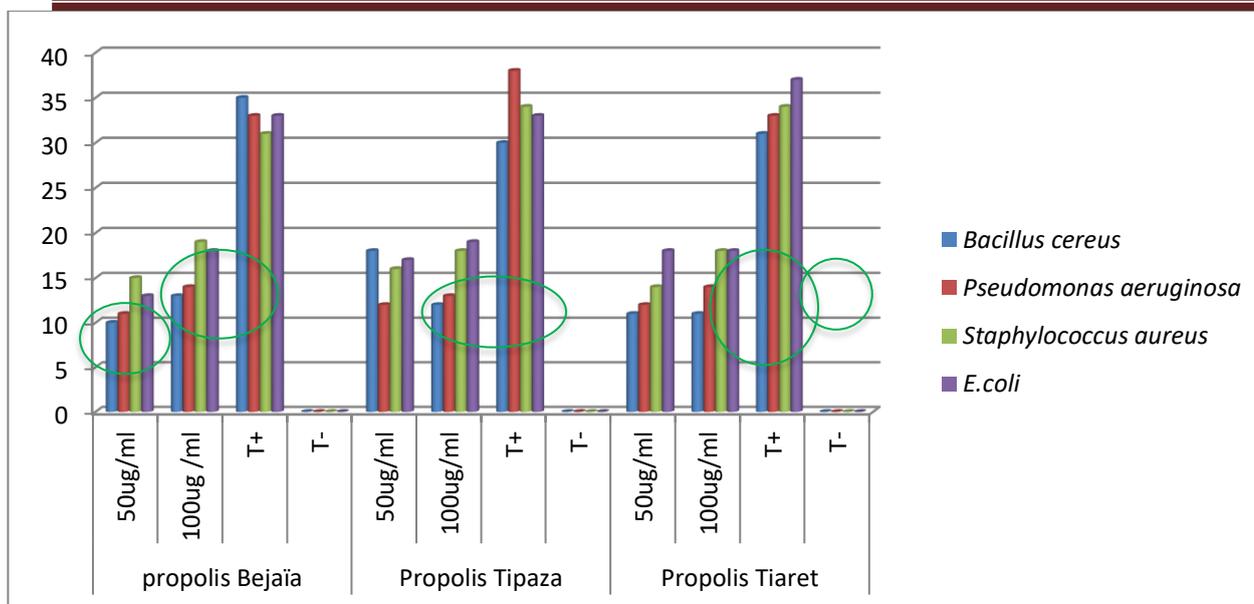


Figure iii 5 : Diamètres d’inhibitions (mm) des extraits des 03 propolis

T+ : témoin positif (antibiotique) T⁻ : témoin négatif (DMSO)

Suivant **Bogdanov et Blumer (2001)** la variabilité du potentiel antimicrobien de plusieurs régions est due à la différence dans la composition chimique extraits de propolis : teneurs en composées phénoliques, flavonoïdes et pH (le pH acide renforce l’activité antibactérienne car les bactéries ne peuvent se multiplier dans un milieu acide) .

En outre les résultats du pouvoir antimicrobien important des extraits de propolis de la région de Larbaa sur les *Bacillus subtilus* sont similaires aux travaux cités dans la littérature. En effet **Meresta et Meresta (1985)** ont démontré l’effet inhibiteur de leur extraits de propolis sur les *Bacillus subtilus* , **Mlagan et Sulimanovic (1982)** ont dévoilé l’effet destructif des extraits sur des *Bacillus larvea* et **Srdjan S et al, (2003)** ont énoncé l’activité antibactérienne importante des extraits de propolis récoltée dans la région de la Serbie sur les bactéries *E.coli*, *S.aureus* et surtout sur les *B.subtilis*.

De nombreuses études ont démontré l’effet d’inhibition de la propolis sur les souches Gram+, Gram- (**Grange et Davey 1990, Rojas Hernandez et al, 1993**) et les bactéries anaérobies (**Kedzia 1986, Boyanova et al 2006, Santos et al 2002**). Cet effet dépend de la souche étudiée, de l’origine de la propolis et du solvant utilisé (**Ugur et arslan 2004**) et de sa composition riche en pinocembrine, galangine, acide caféique, et l’acide férulique (**Schmidt et Buchmann,1992**).

Conclusion

Conclusion

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. La plupart des produits de la ruche sont essentiellement des thérapeutiques de terrain qui occupent une très grande place dans la prévention des maladies, prévention qui constitue la finalité première de la médecine. En effet, la propolis d'abeille constitue de véritable usine chimique dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien être de la population.

Elle est une résine qui se présente sur les bourgeons, jeunes rameaux, blessures de certains arbres et arbustes. Cette résine est récoltée par les abeilles. Ce produit occupe de plus en plus une place de choix en thérapeutique dans le domaine nutritionnelle. Les recherches entreprises sur la propolis ont permis de montrer que celle-ci pouvait être une alternative efficace dans bon nombre de troubles et pathologies, mais également en association avec certains traitements pharmacologiques.

Le but de notre travail été l'analyse microbiologique, l'étude des paramètres physicochimiques, le dosage des métabolismes secondaires et évaluer les activités biologiques de la propolis algérienne. Au début de ce travail, nous avons choisi trois propolis collectées dans trois zones géographiques : Bejaia, Tipaza et Tiaret. Les extraits testés ont été obtenus par macération dans les solvants alcooliques.

L'analyse microbiologique révèle une bonne qualité microbiologique des 03 propolis étudiées donc leurs conditions de conservation et de stockage sont satisfaisantes. L'étude des propriétés physico-chimiques a révélé les taux de pourcentage de la matière sèche dans les 03 propolis allant de 95,70% à 97,5%., ce qui procure à la propolis sa structure solide et qui est en adéquation avec la nature hydrophobe de la plupart des constituants. L'échantillon de Bejaia se montre plus acide (4.56) par rapport à deux autres propolis avec un pH le plus faible soit 4.56.

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de la région de Bejaia se montrent supérieurs à celles des deux autres régions avec des teneurs respectives 408 ± 2.091 μg EAG/mg d'extrait et $46,4 \pm 2.154$ μg EQ/mg d'extrait. L'extrait de la propolis de la région des Bejaia divulgue une activité antioxydante importante par rapport à deux autres régions avec une IC50 de 1.55 mg/ml. En conséquence La quantité en polyphénoles et en flavonoïdes est en relation avec l'activité antioxydante de la propolis de Bejaia et elle dépend de la source botanique de celle-ci. La propolis avec des quantités grandes en eux montrent une grande activité antioxydante et vice versa.

Les extraits de la propolis des 03 régions sont composés de plus de 44 % de matière grasse. La propolis des abeilles apporte donc à l'organisme un mélange d'acide gras bien équilibré de point de vue nutritionnel. Toutefois, la richesse de nos extraits en MG, le rend sensible au rancissement au cours de la conservation. De-ce-fait, on remarque que la propolis d'abeilles des trois régions est l'un des principaux produits de la ruche ayant une valeur nutritionnelle et thérapeutique, et qui peut être donc considéré comme étant un alicament.

L'étude de l'activité antimicrobienne a montré une activité bactériostatique importante des extraits de la propolis provenant des 03 régions vis-à-vis des deux souches *Staphylocoques aureus* et les bactéries *E coli* qui se montrent extrêmement sensibles et en plus la propolis issue des deux régions Tipaza et Bejaia s'avère fongistatique à l'encontre des *Aspergillus brasiliensis* qui se dévoilent très sensibles.

Perspectives:

Ceci n'est qu'une initiation d'un gros travail qui reste à faire ; nous projetons dans le futur proche, vers une étude détaillée de la composition chimique de la propolis, en utilisant les différentes méthodes d'analyse : RMN 1D et 2 D, CPG...etc

Comme notre objectif ultime est l'isolation d'un produit et faire de l'hémisynthèse, une purification des différents extraits est primordiale à l'identification complète de la composition chimique et utilisation la propolis comme complément alimentaire vue sa richesse en MG et en métabolismes secondaires.

Nous projetons aussi, vers une étude comparative sur le plan chimique et biologique entre le miel et la propolis de chaque région.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

1. **Abdelfattah et al . , 2007 Abdel-Fattah NS, Nada OH., (2007).** Effect of propolis versus agriculture organization of the United Nations Rone. Chapitre 5.
2. **Ahn et al..2007:Ahn, M.-R.; Kumazawa, S.; Usui, Y.; Nakamura, J.; Matsuka, M.; Zhu, F.;**
3. **Ahn. M.;Kumazawa. S.;Usui Y.; Nkamura. J.;Matsuka M.; Zhu. F.;Nakayama. T.(2007).** Antioxydant activity and constituent of propolis collected in varaus areas of china.Foodchemistry101.1383–1392.
4. **Apimondia , 2001 : Apimondia - standing commission of apitherapy (2001) Traité**
5. **Apimondia, 2001 Apimondia - standing commission of apitherapy (2001) Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit par Api Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN : 29600270-0-0.**
6. **Banakova et al., 1987 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.
7. **Bandaoui.W et Belhachem.H , 1997 ; Etude photochimique de la propolis algérienne et sa valorisation dans les domaines phyto-thérapeutique et cosmétique**
8. **Bankova et al, 2000, Bankova, V., Castro, S.L., Marcucci, M.C., (2000).** Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie, 31, 3-15.
9. **Barbarić et al., 2011 Barbarić, M. ; Mišković, K. ; Bojić, M. ; Lončar, M. B. ; Smolčić-Bubalo, A. ; Debeljak, Ž. ; Medić-Šarić, M., (2011).** Chemical Composition of the EthanolicPropolis Extracts and Its Effect on HeLa Cells. Journal of Ethnopharmacology, 135, 772–778.
10. **Barbarie et al., 2011 Barbaric M., Katarina M., Mirza B., Baus M., Asja S., Zeljko D., Marica M. 2011.** La composition chimique des extraits éthanolique de propolis et son effet sur les cellules Hela, Journal d'Ethnopharmacologie, (116) 220-231.
11. **BERKANIML.(2008).**Etudedesparamètresdedéveloppementdel'apiculturealgérienne. Thèsededoctorat ensciencesagronomiques.Institut NationalAgronomique,Alger.
12. **BIRIM.(2002).**Legrandlivredesabeilles:coursd'apiculturemoderne,ÉditionDeVecchi.2 56p.
13. **BIRIM.(2011).**Toutsavoirsurlésabeillesetl'apiculture.ÉditionDeVecchi.295p.
14. **Borrelli et al . , 2002 Borrelli F, Maffia P, Pinto L et al., (2002).**Phytochemicalcoumpoundsinvolved in the anti-inflammatoryeffect of propolis extract. Fitoterapia;73(1) :53-63.
15. **Boufadi, Y.M., Soubhye, J., Riazi, A., Rousseau, A., Vanhaeverbeek, M., Nève, J.,Boudjeltia, K.Z., Antwerpen, P.V., (2014).** Characterization and AntioxydantProperties of Six Algerian Propolis Extracts:EthylAcetateExtractsInhibitMyeloperoxidase Activity. 15, 2327-2345
16. **Boukrai et Sulaiman , 2009 ; Boukraâ L., Sulaiman SA. (2009)Rdiscovering the antibiotics of the hiveRecent Pat. Antiinfect. Drug Discov. 4(3) :206-13. Ramanauskienè et Inkèniènè ,**
17. **BRUNEAUE.(2002).**ChapitreIX:Lesproduitsdelaruche.,In:ClémentH.Traiterusticade l'apiculture.Editions Rustica, Paris,p 274-388.
18. **Caillas A.1974.** le rucher de rapport les produits de la ruche edition syndicat national d'apiculture 5 rue de copenhagen 75008 parie 534 page
19. **Caillas, 1974 Caillas A. (1974) : Le rucher de rapport (les produits de la ruche), édition syndicat national d'apiculture, 5rue de Copenhague 75008 paris, 534p.**

20. **Can, Z., Yildiz, O., Şahin, H., Asadov, A., Kolayli, S., (2015).** Phenolic Profile and Antioxidant Potential of Propolis from Azerbaijan., 15(1):16-28.
21. **Chauvin, 1968 ; Chauvin R. 1968.** pollen c'est moi, revue d'apiculture française n 416 p 20.
22. **Chen et al . , 2011 Chen CN., Hsiao CJ., Lee SS., Guh JH., Chiang PC., Huang CC. Huang WJ. (2011)** Chemical modification and anticancer effect of prenylated flavanones from Taiwanese propolis Nat. Prod. Res. Jul 27 Epub ahead of print. Blanc, 2010
23. **CHERBULIEZ T., 2001.** L'apithérapie. CD-ROM
24. **Choi, Y.M., Noh, D.O., Cho, S.Y., Suh, H.J., Kim, K.M., Kim, J.M., (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. Lwt-Food Science and Technology 39, 756-761.
25. **Chung, S. J.; Paik, S. Y.; Oh, H. Y. (2004)** Immunomodulatory Effect of Caffeic Acid
26. **CLEMENTH. (2009).** Créersonrucher. Editions Rustica. Paris. 111 p.
27. **De Castro et Higashi , 1995 ; De Castro SL, Higashi KO., (1995).** Effect of different
28. **Debabe t al., 2016** Debab, M ; Toumi-Benali, F. et Dif, MM. (2017). Antioxidant activity of propolis of Oued Algerian, Phytothérapie, 15, 230-234.
29. **Dehmouch H. 1988.** Propolis utilisation en dermocosmétique. Parfum, cosmétique, arômes : 73-77.
30. **Donadiou , 2008 Donadiou, Y. (1981).** les produit de la ruche. 3ième Edition.
31. **Donadiou, 1981** Docteur Yves Donadiou, Les produits de a ruche. 3éme Edition 1981.
32. **Donadiou, 1981** Donadiou, Y. (1981). les produit de la ruche. 3ième Edition.
33. **Donadiou, 2018** Donadiou, Y. (2008). la propolis .Paris. Dangles (ed) ; 96p.
34. **Donadiou, Y. (2008)** Naturellement vôtre avec ... La propolis
35. **;DUBOISC., BALLEF., BENOIT M. et al. (1986).** Petit Larousse encyclopaédie. Editions Larousse, 1665p.
36. **Evangelist et al . , 2001 Evangelist-Rodrigues, A., Carneiro of Cunha. M (2001).** Analise
37. **Evangeliste et al ,. 2001** Evangelist-Rodrigues, A., Carneiro of Cunha. M (2001). Analise comparativa da qualidade da propolis colectado atraves de calços de madeira e tlaplastica na regiaõ do byoparaeibano. Mensagem Doce 63 (bis).
38. **Farseni et al . , 2009 Farseni AP., Aquino-Ferreira R., De Jong D., Bastos JK. Soares AEE.**
39. **Fenge et ol, 2008, Fenge Li. ; Suresh Awwale. ; Yasuhiro Tezuka et Shigetoshi Kadota. 2008.** Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure-activity relationship Biorganique et Medicinal chemistry 16: 5434 – 5440.
40. **FERHOUMF . (2010) :** Analyse physicochimique de la propolis locale selon le stage bioclimatique et les deux races d'abeille locale .thèse de magistère univ Boudjèze
41. **Food Chemistry; 84:329339. Yang et al . , 2011 Yang H., Dong Y., Du H., Shi H., Peng Y., Li X., (2011).** Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China Molecules. 16(4):3444-3455 Okutan , 2005
42. **Gabrys, 1986** Gabrys, J. (1986). Free amino acids in bee hive products (propolis) as identified and quantified by gas-liquid chromatography. Pharmac. Research Communications 18 (6) : 51351
43. **Garoui et al., 2011** Garoui E.M., Troudi A., Fetoui H., Soudani N., Boudawara T., Zeghal N. 2011. Propolis attenuates colitis-induced nephrotoxicity in adult rats and their progeny. Elsevier. PubMed.
44. **GHARBI M. (2011).** Les produits de la ruche : Origines-Fonctions naturelles-Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat en Médecine Vétérinaire. Université Claude-Bernard, Lyon.

45. **Ghedira et al., 2013** Ghedira, K ; Goetz, P. et Le Jeune, R. (2013). Propolis. *Phytothérapie* 7: 100-105..
46. **Gunduz et al., 2005** Gunduz C., Biray C., Kosova B., Yilmaz B., Eroglu Z., Sahin F., Cogulu O. 2005. Evaluation of Manisapropolis effect on leukemia cell line by telomerase activity, *Leukemia Research*, Volume 29, 1343-1346.
47. **Hegazi. 1997** Hegazi, A. G (1997). Propolis an overview. International Symposium on Apitherapy Cairo 8 and 9th Egypt.
48. International SA R Brussels. 2001 ISBN : 29600270-0-0.Fakemura et al . 2011
49. involved in the anti-inflammatory response of propolis extract. *DrugsExp Clin Res*
50. **JEANPROSTP.(2005)**.Apiculture:connaître l'abeille,conduire le rucher.7ème EditionL AVOISIER.Paris. 689p.
51. **K.Ghedira.;P.Goetz.;R.LeJeune.2009**.Propolis.*Phytothérapie*7:100-105.
52. **Kalogeropoulos et al., 2009**, Kalogeropoulos N., Spyros J., Troullidou K., Mourtzinou E., Vaios I., Karathanos T.2009. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus, *Food Chemistry* 116 (2009) 452-461.
53. **Kamazawa,S,Hamaska.T,Nakayama.T.(2004)**.Antioxidant activity of propolis of various geographic origins.*Food chemistry*84.329–339.
54. **Kedzia, A (1986)**.Effect of ethanolextract of propolis (EEP) on anaerobic bacteria.*HerbaPolonia*32, 53-58.
55. **Khayyal et al . , 1993 Khayyal MT, El-Ghazaly MA et El-Khatibas., (1993)**.Mechanisms
56. **Kim et al , 2011 Kim MJ et al. (2011)** Antimicrobial effect of Korean propolis against the
57. **Krell , 1996 ; Krell. R, (1996)**. Value - added products from beekeeping. Food and
58. Krell R.1996: value added products from beekeeping, FAO food and agriculture organization, of the United Nations, Roma 150p.
59. **Krell, 1996** Krell. R, (1996). Value - added products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rome. Chapitre 5.
60. **Krell, 1996** Value _added products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rome. Chapitre 5.
61. **Krell, 1996 ;Krell. R, (1996)**. Value - added products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rome. Chapitre 5.
62. **Kumazawa et al . , 2004 : Kumazawa S, Hamasaka T et Nakayama T., (2004)**. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins.
63. **Kumazawa et al., 2003**Kumazawa S, Nakayama T,Goto H, Hamasaka T,Fukumoto T,2004A.NEW prenylated flavonoid from propolis collected in Okinawa, Japan .*Bioscience , Biotechnology , Biochemistry*, 68(1),260-262.
64. **Laskar, R.A., Sk, I., Roy, N., Begum, N.A., (2010)**.Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents. *Food Chem*, 122, 233-237.
65. **Lavie , 1975 ; Lavie, P (1975)**. La propolis. Edition : Apimondia. Bucharest.
66. **Lavie, 1975** Lavie, P (1975). La propolis. Edition :Apimondia. Bucharest.
67. **LE CONTE Y. (2002)**. Chapitre I : Mieux connaître l'abeille. In Clément H. *Traite rustica del'apiculture*.Editions Rustica, Paris, p 12-51.
68. **Lejeune et al., 1988** Lejeune B., Pourrat A., Dehmouch H. 1988. Propolis utilisation
69. **Li,H., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y., (2007)**.Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae.*Food chemistry*, 102, 771-776
70. **Marcucci 1995** Marcucci, M.; 1995. Propolis:chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83 – 99.

71. **Meresta L, Meresta T (1985)**. An attempt to use propolis extract in the treatment of mastitis of cows. *MedWeter* 41, 489-492 (in Polish), *ApicAbstr* (1988) 39(3)
72. **Metzner et Schneidewind, 1997 Metzner, J., Schneidewind, E. M (1997)**. Studies on the
73. **Mizuno et al. 1987** Mizuno M., Linuma M., Kato H. 1987. Useful ingredients and biological activity of propolis. *Fragrance Journal*, 15(2): 20-28.
74. **Mlagan V., Sulimanovic D. 1982**. Action of propolis solution on *Bacillus* larvae, *Apiacta* 17, 16-20.
75. NCCLS, „Standardisation de l'antibiogramme“, IPA, 121-143, (1997).
76. **Neumann, et al., 1986** Neumann D., Gotze G., Binus W. 1986. Clinical study of the testing of inhibition of plaque and gingivitis by propolis. *Stomatology der DDR*: 677-681.
77. **Norme NF 08 – 051** relative au dénombrement des micro-organismes – méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C.
78. **Norme NF ISO 17025** relative aux prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais.
79. **Norme NF ISO 7218**: règles générales pour les examens microbiologiques.
80. **Norme NF V- 057- 2** Microbiologie alimentaire - Directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.
81. **Norme NF V 08 – 002**: Microbiologie alimentaire – Directives générales pour les examens microbiologiques.
82. **Norme XP V 08 – 102** relative aux règles générales pour le comptage des colonies et l'expression des résultats.
83. **Orsatti et al., 2010 Orsatti, C. L.; Missima, F.; Pagliarone, A. C.; Sforcin, J. M., (2010)**. Th1/Th2 Cytokines Expression and Production by Propolis-Treated Mice.
84. **Orsi et al., 2000 Orsi, R. O.; Funari, S. R. C.; Soares, A. M. V. C.; Calvi, S. A.; Oliveira, S.L.; Sforcin, J. M.; Bankova, V., (2000)**. Immunomodulatory Action of Propolis on
85. **Papay, 1987** Papay, V. (1987). Chemical and pharmacological study of propolis from various locations. *Acta Pharmac. Hung.*, 57:143-151.
86. **Park et al., 2004**; Park, J. H.; Lee, J. K.; Kim, H. S.; Chung, S. T.; Eom, J. H.; Kim, K. A.;
87. **PETERSON P-D. (2008)**. L'apiculture. Edition Quae, 149p.
88. Phenethyl Ester in Balb/c Mice. *International Immunopharmacology*, 4, 429–436.
89. **PHILIPPE J.M. (1999)**. Le guide de l'apiculture. SARL EDITION SUD. 347
 - a. **PHILIPPE J-M. (2007)**. Le guide de l'apiculteur. Edition Edisud, 319p
90. *Phytomedicine*; 9(6):530-535.
91. **Pierre Jeanprost.; Pierre Medori Raul. 1984**. Apiculture. Ed J.B. Baillière.
92. Popov S. (1996) Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis *Z. Naturforsch C*.
93. **Popova et al., 2005** Popova, M.; Silici, S.; Kaftanoglu, O.; Bankova, V., (2005). Antibacterial Activity of Turkish Propolis and Its Qualitative and Quantitative Chemical Composition. *Phytomedicine*, 12, 221–228.
94. **Popovici et al., 2009** Popovici, C.; Saykova, I.; Tylkowski, B., (2009). Evaluation de
95. **Raghukumar et al., 2010** Raghukumar, R.; Vali, L.; Watson, D.; Fearnley, J.; Seidel, V., (2010). Antimethicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Activity of “Pacific Propolis” and Isolated Prenylflavanones. *Phytotherapy Research*, 24, 1181–1187.
96. **RAVAZZIG. (2007)**. Abeilles et apiculture. Edition de Vecchi, 159

97. **Rebiai, A., Lanez, T., Belfar, M.L., (2013).** Total polyphenol contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 6 (1), 975-1491.
98. **Rossi et al . , 2002 Rossi A, Ligresti A, Longo R et coll., (2002).** The inhibitory effect of
99. **Sagdaç A, (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and rosemary hydroalcoholic extracts. *Lebensm-wiss.U-technol.* 36:467-473
100. **Schmidt, J.O., S.L. Buchmann, (1992):** Other products of the hive. In: *The Hive and the Honeybee*. J.M. Graham, ed. Dadant & Sons, Hamilton, USA. PP.927-988.
101. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale, 6ème édition, (2011).
102. **Tosi et al., 2006** 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 PAGE 110-120.
103. **Watanabe et al ., 2011 Watanabe, M. A. E. ; Amarante, M. K. ; Conti, B. J. ; Sforcin, J. M., (2011).** Cytotoxic Constituents of Propolis Inducing Anticancer Effects: A Review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63, 1378–1386.

Annexes

Annex 1



Figure : emplacement des ruche dans la régions de Bejaïa

Annexe 2

1-Appareillages :	2-Verrerieetaccessoires:	3-Réatifs:
Etuve de stérilisation à 50°C, 37°C, 25°C	Fioles	Eauphysiologique
Balance	Tubes à essais stériles	Alcool éthylique à 96%
Bain-marie thermostat	Becher	Méthanol
Agitateur vortex	Pince	Eau distillée stérile
Réfrigérateur à 37°C	Boîtes de pétri rondes 90mm	Chlorure de fer
Bec Benzène	Erlenmeyer	III FeCl ₃ (5%)
Spectrophotomètre UV	Les pipettes graduées	Chlorure d'aluminium AlCl ₃
Evaporateur type rotavapour	Les pipettes pasteur	Acide sulfurique (10%)
pHmètre	Micropipettes	
la loupe	Antoires	
	Les écouvillons	
	Papier filtre	
	Tubes à hémolyse	
	Seringue de 1 mm	
	Seringue de gavage	
	Ciseau	
	Les disques 9mm	

Annexe 3

Le matériel utilisé



PH mètre



Four à moufle



Dessiccateur



Balance de précision



Agitateur



Appareil de soxhlet



Les échantillons de propolis prélevées des 03 régions Bejaia Tipazaet Tiaret

Tableau iii6: Teneurs en poly phénols de la propolis récoltée dans trois régions différentes

Echantillon de la propolis	Quantité de polyphénols en µgEAG/mg d'extrait
Béjaia	408
Tipaza	304
Tiaret	288

Tableau iii7 : Teneurs en flavonoïdes des différents échantillons de propolis

Echantillon de la propolis	Quantité de flavonoïdes µg EQ/mg, d'extrait
Béjaia (1)	46,4± 2.154
Tiapza (2)	37,6± 1.256
Tiaret (3)	19,2± 2.012

Tableau iii9 % d'inhibition

DO (ABS)	Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3
Blanc	0,784	0,740	1,210
1 ^{er} concentration	0,137	0,173	0,258
2eme C	0,383	0,443	0,497
3eme C	0,528	0,562	0,532
4eme C	0,682	0,669	0,678

Tableau iii10 : Valeurs des concentrations d'inhibitions IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique de propolis récoltée dans les 03 régions différentes

	Bejaia	Tipaza	Tiaret	l'acide ascorbique
IC50 (mg/ml)	1.55	2.98	3.45	0.85

Tableau iii11: Diamètres d'inhibitions (mm) des extraits des 03 propolis vis-à-vis des bactéries

	propolis Bejaïa			Propolis Tipaza			Propolis Tiaret		
	50	100	T+	50	100	T+	50	100	T+
Bacillus cereus	10	13	35	18	12	30	11	11	31
Pseudomonas aeruginosa	11	14	33	12	13	38	12	14	33
Staphylococcus aureus	15	19	31	16	18	34	14	18	34
E.coli	13	18	33	17	19	33	18	18	37
	propolis Bejaïa			Propolis Tipaza			Propolis Tiaret		
	50	100	T+	50	100	T+	50	100	T+
Bacillus cereus	10	13	35	18	12	30	11	11	31
Pseudomonas aeruginosa	11	14	33	12	13	38	12	14	33
Staphylococcus aureus	15	19	31	16	18	34	14	18	34
E.coli	13	18	33	17	19	33	18	18	37

Tableau iii12: Diamètres d'inhibitions (mm) des extraits des 03 propolis vis-à-vis des champignons

	Propolis Bejaïa			Propolis Tipaza			Propolis Tiaret		
	50	100	T+	50	100	T+	50	100	T+
Aspergillus Bacillus	12	18	0	15	16	0	11	13	0
Candida	12	12	0	11	12	0	9	10	0