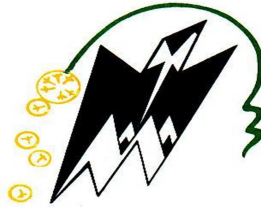


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Spécialité: Sciences Alimentaires
Option : Biochimie de la nutrition

Thème

**Activités biologiques de propolis collectées dans
diverses régions de Tizi-Ouzou.**

Présenté par :

FOUCHAL Lilia

LAKSARI Dihia

Soutenu publiquement le 12/09/2019 devant le jury composé de :

Président:	Mr TITOUCHE Y.	MCB	UMMTO
Promotrice:	Mme DERMECHE S.	MAA	UMMTO
Examineur:	Mr BOUACEM K.	MCB	UMMTO

Année universitaire : 2018/2019

Remerciement

On tient avant tout à remercier le bon Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience afin d'accomplir ce modeste travail qui a été réalisé au sein du Laboratoire de recherche Biochimie Analytique et Biotechnologie à l'Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU (UMMTO).

Nous tenons à exprimer notre profond respect et nos remerciements les plus sincères à notre promotrice Mme DERMECHE Samia, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. La qualité de ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé, nous ont permis de mener notre travail à bon port.

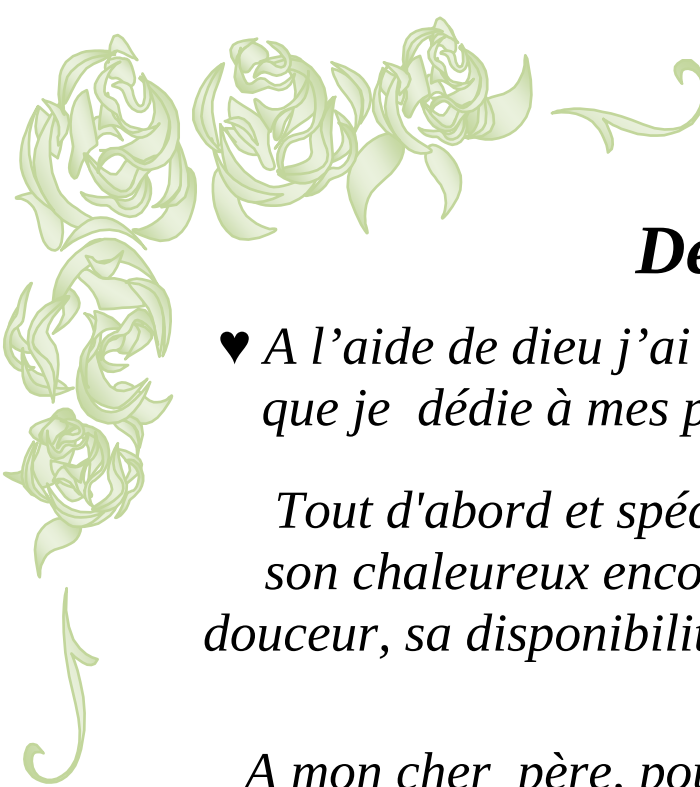
Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury Mr BOUACEM K. et Mr TITOUCHE Y. pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements vont également à Monsieur TITOUCHE Y. et à Monsieur SEBBANE H. qui nous ont beaucoup soutenus lors des manipulations au laboratoire.

Un remerciement spécial à l'ensemble des apiculteurs qui nous ont fourni quelques échantillons de propolis.

Nos remerciements les plus sincères à tous nos enseignants du département de Biochimie-Microbiologie (BM) de l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou pour leurs compétences et expertises.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail en particulier les ingénieurs des laboratoires.



Dédicaces

♥ *A l'aide de dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie à mes plus chers êtres au monde ♥*

*Tout d'abord et spécialement à ma chère mère pour
son chaleureux encouragement, sa tendresse, sa
douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute
ma vie.*

*A mon cher père, pour son soutien son aide et sa
compréhension.*

*A mes chers frères Said et Azzedine ma fierté dans cette
vie.*

*A mes grands parents : Roza, Ouardia, Bouteldja et
à la mémoire de mon grand père Mohamed.*

*A mes chers oncles et tantes à qui j'exprime mes
plus profonds sentiments d'amour.*

A mes très chers cousins et cousines

A ma chère binôme Dihia

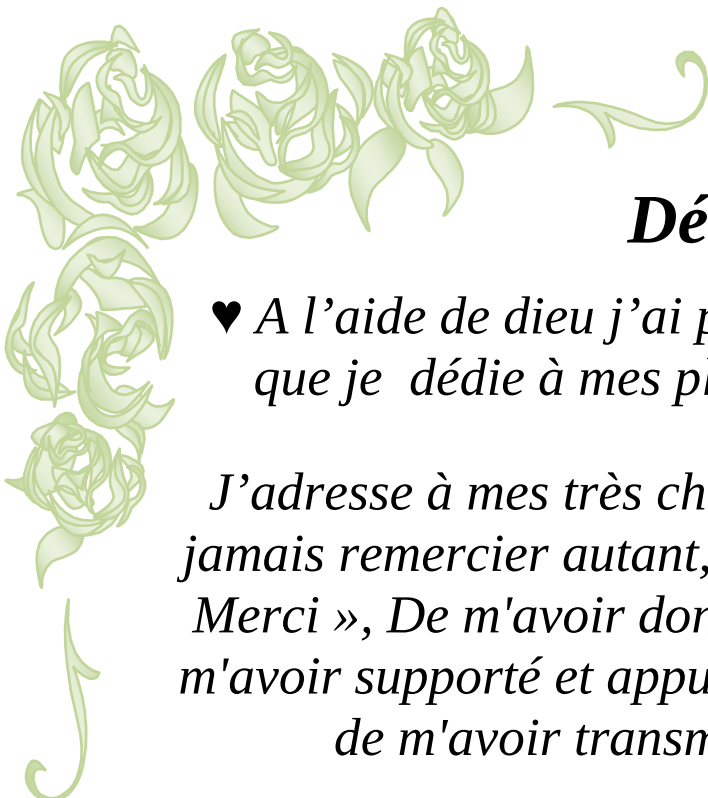
A mes professeurs

A mes amis

A vous...

Lilia





Dédicaces

♥ A l'aide de dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie à mes plus chers êtres au monde ♥

J'adresse à mes très chers parents, que je ne saurais
jamais remercier autant, Un grand et tout particulier «
Merci », De m'avoir donné des racines et des ailes, de
m'avoir supporté et appuyé durant toutes ces années, et
de m'avoir transmis de vraies valeurs....

A mon cher frère : Sofiane et ma chère sœur : Rosa,
qui ont su m'encourager et me soutenir dans les
différentes Situations de ma vie.

A ma très chère cousine : Hayette qui étais toujours là
pour m'écouter, me réconforter et m'encourager dans
les moments de doute

A ma petite nièce adorée Anaïs

A ma chère grand-mère : Dehbia

A mes chers oncles et tantes

A mes très chers cousins et cousines

A ma chère binôme Lilia

A mes professeurs

A mes amis

A vous...

Dihia



Tables des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I: Synthèse des données bibliographiques

Partie 1 : Généralités sur la propolis

I.1.1. Définition et l'étymologie de la propolis	3
I.1.2. Histoire de la propolis	3
I.1.3. Origine de la propolis.....	4
I.1.4. Récolte de la propolis.....	5
I.1.4.1. Par l'abeille	6
I.1.4.1.1. Procédé de la récolte	6
I.1.4.1.2. Conditions de la récolte	6
I.1.4.2. Par l'apiculteur	7
I.1.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis	8
I.1.5.1. Propriétés physiques	8
I.1.5.1.1. Caractéristiques organoleptiques	8
I.1.5.1.2. Caractéristiques physiques.....	9
I.1.5.2. Composition de la propolis brute	9
I.1.5.3. Composition de la propolis purifiée	11
I.1.5.3.1. Polyphénols et flavonoïdes	12
I.1.5.3.2. Acides aliphatiques	13
I.1.5.3.3. Acides aromatiques	13
I.1.5.3.4. Esters aromatiques	14
I.1.5.3.5. Sucres	14
I.1.5.3.6. Minéraux	15
I.1.5.3.7. Vitamines et autres composés.....	15
I.1.6. Utilisation de la propolis.....	15
I.1.6.1. Par l'abeille	15
I.1.6.2. Par l'homme.....	16
I.1.6.2.1. Utilisation en cosmétique.....	16
I.1.6.2.2. Utilisation en médecine.....	16
I.1.6.2.3. Utilisation en technologie alimentaire	17
I.1.7. Conservation de la propolis	17

Partie 2 : Intérêts biologiques et thérapeutiques de la propolis

I.2.1. Propriétés anti-infectieuses	18
I.2.1.1. Activité antibactérienne	18
I.2.1.2. Activité antifongique	18
I.2.1.3. Activité antivirale.....	18
I.2.1.4. Activité antiprotozoaire	18
I.2.2. Activité antioxydant et anti radicalaire	19
I.2.3. Activité antitumorale	19
I.2.4. Effet hépatoprotecteur.....	20
I.2.5. Effets contre les affections bucco-dentaires.....	20
I.2.6. Effets indésirables et toxiques de la propolis.....	22

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Objectif de l'étude	23
II.2. Matériel et méthodes	23
II.2.1-Matériel	23
II.2.1.1. Matériel biologique.....	23
II.2.1.2. Appareils, produits chimiques et milieux de culture utilisée lors du travail expérimental.....	25
II.2.2. Méthodes	26
II.2.2.1. Analyses physico-chimiques	26
II.2.2.1.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale	26
II.2.2.1.2. Détermination de la teneur en cendre et en matière organique	26
II.2.2.2. Extraction des composés phénolique.....	27
II.2.2.3. Rendement d'extraction des composés phénoliques	28
II.2.2.4. Dosage des polyphénols totaux	29
II.2.2.5. Test de l'activité antioxydante.....	29
II.2.2.5.1. Evaluation de l'activité anti radicalaire par ABTS	29
II.2.2.5.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire par DPPH	32
II.2.2.5.3. Evaluation de l'activité anti radicalaire par la méthode FRAP	33
II.2.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne (l'aromatogramme)	34
II.2.2.7. Analyse statistique	36

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Evaluation de quelques caractéristiques physico-chimiques de la propolis.....	37
III.1.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale.....	37
III.1.2. Détermination de la teneur en cendre et en matière organique	38
III.2. Rendement d'extraction des composés phénoliques	38

III.3. Dosage des polyphénols totaux	40
III.4. Evaluation de l'activité antioxydant des extraits phénoliques	42
III.4.1. Evaluation de l'activité anti radicalaire par ABTS	43
III.4.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire par DPPH	45
III.4.3. Evaluation de l'activité anti radicalaire par la méthode FRAP	48
III.5. Evaluation de l'activité antibactérienne	51
III.6. Analyse statistique.....	55

Conclusion	58
-------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

La propolis est une matière résineuse que les abeilles collectent à partir d'écorces et de bourgeons de certains arbres, notamment des conifères. Ce mastic naturel est riche en principes actifs surtout les composés phénoliques qui ont des propriétés thérapeutiques majeurs. Le but de ce travail est d'évaluer quelques activités biologiques d'extraits de propolis de différentes régions de Tizi-Ouzou, récupéré par deux solvants d'extractions de polarité différentes (éthanol à 96% et acétate d'éthyle).

La quantification des polyphénols est réalisée par le réactif de folin-ciocalteu, l'activité antioxydante est évaluée par trois méthodes : piégeage du radical libre (DPPH/ABTS) et le pouvoir réducteur (FRAP) et l'effet antimicrobien est testé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Les résultats montrent la richesse de tous les extraits en polyphénols, notamment les extraits à l'acétate d'éthyle, ceux-ci ont présenté des teneurs importantes en polyphénols (50,75 à 460,71 mg EAG/g de propolis). Tous les extraits de propolis ont montré des activités antioxydantes relativement intéressantes avec des IC_{50} de l'ordre de 0,021 à 0,069 mg/mL pour l'ABTS, de 0,007 à 0,044 mg/mL pour le DPPH et de 0,023 à 0,087 mg/mL concernant le test FRAP, particulièrement l'extrait acétate d'éthyle de la région de Bounouh (P9), qui est révélé être le meilleur antioxydant. Concernant l'activité antimicrobienne les extraits éthanoliques sont plus actifs que les extraits à l'acétate d'éthyle. *Staphylococcus aureus* LGA251 est la souche la plus sensible face aux extraits éthanoliques suivis de la souche *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853. *Escherichia coli* ATCC25922 est la souche la moins sensible démontrée par ce teste.

Cette étude démontre que la teneur en polyphénols des extraits de propolis dépend de la situation géographique et la flore locale de chaque région d'étude.

Mots clés : propolis, polyphénols, activités biologiques, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Propolis is a resinous material that bees collect from the buds and bark of some trees, especially coniferous trees. This natural mastic is rich in active principles, especially phenolic compounds that have major therapeutic properties. The purpose of this work is to evaluate some biological activities of propolis extracts from different regions of Tizi-Ouzou using two extraction solvents of different polarities (ethanol at 96% and ethyl acetate).

The quantification of the polyphenols is carried out by the folin-ciocalteu reagent; the antioxidant activity is evaluated by three methods: free radical scavenging (DPPH / ABTS) and reducing power (FRAP) and the antimicrobial effect is tested by the diffusion method on agar medium.

The results show the richness of all the polyphenol extracts, in particular the ethyl acetate extracts, which showed significant levels of polyphenols (50.75 to 460.71 mg EAG / g of propolis). All propolis extracts showed relatively interesting antioxidant activity with IC₅₀ values of 0.021 to 0.069 mg / mL for ABTS, 0.007 to 0.044 mg / mL for DPPH and 0.023 to 0.087 mg / mL for the FRAP test, particularly the ethyl acetate extract from the Bounouh region (P9), which is revealed to be the best antioxidant. Concerning antimicrobial activity, ethanolic extracts are more active than ethyl acetate extracts. *Staphylococcus aureus* LGA251 is the most sensitive strain against ethanolic extracts followed by the *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853 strain. *Escherichia coli* ATCC25922 is the least sensitive strain demonstrated by this test.

This study demonstrates that the polyphenol content of propolis extracts depends on the geographic location and local flora of each study area.

Key words: propolis, polyphenols, biological activities, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Liste des abréviations

ABTS:	2,2-azini-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate.
CAPE:	acide phénéthyl caféique (Caffeic Acid Phenethyl Ester).
CPT:	Composés phénoliques totaux.
DL50 :	La dose létale médiane.
DO:	Densité optique.
DPPH:	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
EAP:	Extrait d'acétate d'éthyle de propolis.
EEP :	Extrait éthanoïque de propolis.
FRAP:	Ferric Reducing Antioxidant Power.
H% :	pourcentage d'humidité.
IC₅₀ :	Concentration Inhibitrice.
Mg EAG /g de propolis :	Milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de propolis.
MO% :	Matière organique.
P1 :	propolis de Bouzeguene.
P2 :	propolis d'Azeffoune.
P3 :	propolis de Draa Ben Khedda.
P4 :	propolis d'Imsohal.
P5 :	propolis de Maâtka.
P6 :	propolis de Yakourene.
P7 :	propolis d'Ait Telha (Boghni).
P8 :	propolis de Draa El Mizane.
P9	propolis de Bounouh (Boghni).
R% :	Rendement.
TC% :	Teneur en cendre.

Liste des figures

Figure 1 : Photographie d'une propolis brute (échantillon prélevé à Maatkas)	3
Figure 2: Récolte de la propolis par l'abeille	6
Figure 3: Raclage de la propolis sur le cadre de la ruche	8
Figure 4 : Grille en plastique pour la récolte de la propolis	8
Figure 5 : Composition chimique de la propolis	10
Figure 6: Structure chimique de flavonoïde	13
Figure 7: Structure chimique d'acide benzoïque.....	13
Figure 8 : Structure chimique d'acide cinnamique.....	14
Figure 9 : Carte sur la localisation géographique des régions de récolte des différents échantillons de propolis.....	23
Figure 10 : Protocole d'extraction des composés phénoliques à partir de propolis en utilisant deux solvants organiques (acétate d'éthyle /éthanol).....	28
Figure 11 : Processus de réduction du radical $ABTS^{\bullet+}$ en ABTS en présence d'un antioxydant.	30
Figure 12 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » de l' $ABTS^{\bullet+}$	31
Figure13: Réaction de réduction du DPPH $^{\bullet}$	32
Figure 14 : Diagramme de détermination du pouvoir réducteur	33
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	40
Figure 16 : Teneur en polyphénols des extraits acétates d'éthyles (EAP)	41
Figure 17 : Teneur en polyphénols des extraits éthanoliques (EEP)	41
Figure 18 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire ABTS et DPPH.....	56
Figure 19 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire ABTS et le pouvoir réducteur.....	56
Figure 20 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire DPPH et le pouvoir réducteur.....	56

Liste des tableaux

Tableau I : Source botanique de la propolis selon différentes régions	4
Tableau II : Composition globale de la propolis	11
Tableau III : Les sucres alcooliques de la propolis	15
Tableau IV: Activité des extraits de propolis contre certaines souches microbiennes.....	19
Tableau V : Exemple de quelques activités biologiques des extraits de propolis	21
Tableau VI : Différents échantillons de propolis étudiées	24
Tableau VII : Appareillage utilisé lors du travail expérimental.....	25
Tableau VIII : Produits chimiques, réactifs, solvants organique sels, milieux de culture et petit matériel utilisés	25
Tableau IX : Souches bactériennes testées et l'antibiotique utilisé pour chaque souche	34
Tableau X : Taux d'humidité et de matière sèche des différentes propolis étudiées.....	37
Tableau XI : Taux de cendre et de matière organique des différentes propolis étudiées	38
Tableau XII : Rendement des extraits éthanoliques et acétates d'éthyles de la propolis de différentes régions	39
Tableau XIII : IC ₅₀ des différents extraits éthanoliques et acétates d'éthyles données par le teste de l'ABTS.....	43
Tableau XIV : IC ₅₀ des différents extraits éthanoliques et acétates d'éthyles données par le teste du DPPH	46
Tableau XV : Concentration des extraits donnant après réduction du ferrocyanure de potassium une absorbance de 0,5(PR _{0,5})	49

Tableau XVI : Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne $\pm$ écart type) exercées par les extraits éthanoliques étudiés sur *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC 271853 51

Tableau XVII : Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne $\pm$ écart type) exercées par les extraits acétates d'éthyles étudiés sur *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC 271853 52

Introduction

Introduction

L'extraordinaire pérennité des abeilles que l'on estime à quelque 60 millions d'années tient aux moyens naturels qu'elles ont su trouver dans la nature pour faire face à toutes sortes de maladies et parasites. Les abeilles récoltent une résine présente sur les bourgeons, jeunes rameaux, blessures de certains arbres et arbustes prévue pour les protéger contre les attaques des micro-organismes mais aussi des insectes. En mélangeant cette résine à de la cire et à des enzymes sécrétées par leur système glandulaire, elles obtiennent une sorte de glu que l'on nomme : propolis (CARDINAULT et *al.*, 2012).

La propolis est une véritable arme chimique contre les microorganismes et sert à momifier les insectes et les animaux intrus et morts (rats et souris par exemple) trop gros pour être évacués par les abeilles, évitant ainsi leur décomposition. La propolis 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 locale (MARCUCCI, 1955).

Ce produit de la ruche est très précieux en raison de sa composition en polyphénols et flavonoïdes responsables de ces ses propriétés biologiques et sa capacité à piéger les radicaux libre. A cet effet la propolis est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle, car elle présente de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques telle que des activités antioxydante, antifongique, antibactérienne, antivirale, anti- inflammatoire ou encore antitumorale (ANJUM et *al.*, 2018).

la recherche scientifique a tendance à se focaliser sur l'exploration de ces substances qui constituent une alternative prometteuse aux anciennes substances d'origine synthétique. Face à cette situation préoccupante, d'énormes efforts sont consentis dans le domaine de la recherche médicale en vue de trouver de nouvelles molécules naturelles actives efficaces et non toxique (BANKOVA et SFORCIN , 2011).

Compte tenu de toutes ces considérations, le présent travail a été conçu pour quantifier les composés phénoliques et comparer in vitro quelques activités biologiques (activité antioxydante et anti bactérienne) des extraits issus de différents échantillons de propolis collectés dans divers régions de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Introduction

Notre document sera donc composé de trois chapitres, initié par une recherche bibliographique sur un abrégé de l'histoire et l'étymologie de la propolis d'abeille, son utilisation au cours des siècles et sa composition complexe et son intérêt biologique et thérapeutique, suivi du matériel et les méthodes utilisés dans cette étude et on finira par les résultats et discussions relatifs aux teneurs en composés phénoliques et aux activités antioxydante et antibactérienne des différents extraits de la propolis. Le manuscrit se termine par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse des

données

bibliographiques

Partie 1

Généralités sur la propolis

I.1. Généralités sur la propolis

I.1.1. Définition et étymologie de la propolis

La propolis ou colle d'abeille désigne un ensemble de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, recueillies sur certaines parties (bourgeons et écorces essentiellement) de certains arbres (bouleaux, peupliers, chaines, saules, conifères etc..) par les abeilles (*Apis mellifera*) butineuses, qui les rapportent à la ruche et qui les modifient par l'apport de certaines de leurs propres sécrétions (cire et sécrétions salivaires) (DONADIEU, 1981).

Le mot Propolis est dérivé du grec dans lequel le morphème « Pro » signifie « devant » ou « à l'entrée de » et le morphème « polis » signifie « communauté » ou « ville », ce qui signifie substance de défense de la ruche (ANJUM et *al.*, 2018). D'où, son utilisation par les abeilles comme un moyen de défense contre les micro- organismes pathogènes, et pour embaumer les intrus qui peuvent entrer dans la ruche en empêchant leur décompositions (MARCUCCI, 1995 ; BANKOVA et *al.*, 2000). Elle est donc responsable de la faible incidence des bactéries et moisissures à l'intérieur de la ruche (GHISALBERTI, 1979).



Figure 1 : Photographie d'une propolis brute (échantillon prélevé a Maatka).

I.1.2. Historique

La propolis est un remède naturel qui est utilisé depuis les temps anciens, elle était employée comme moyen thérapeutique contre les affections de la peau, des plaies et des suppurations.

D'après GOLDER (2004) les Egyptiens, Grecs, Romains et Mayas utilisaient les produits issus de la ruche à des fins préventives, curatives et alimentaires. En effet, les Égyptiens connaissaient très bien les propriétés conservatrices de la propolis et l'utilisaient pour embaumer les cadavres, enduisant les bandelettes des momies avec de la propolis pour leur assurer une meilleure conservation, et elle est aussi utilisée pour soigner et anesthésier les caries dentaires (CASTALDO et CAPASSO, 2002).

En Amérique du Sud, les Incas utilisaient la propolis comme antiseptique. Hippocrate recommandait la propolis pour la guérison des plaies et des ulcères (VIEL et DORE, 2003). Les Arabes connaissaient aussi la propolis, Avicenne a parlé de deux sortes de cire : la cire propre et la cire noire, cette dernière étant probablement la propolis. Il a dit : «Elle a la qualité de faire éliminer les pointes des flèches et des épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement» (CRANE, 1999 ; FEARNLAY, 2001). En outre, la propolis a été reconnue en tant qu'agent antibactérien aux 17^{ème} et 20^{ème} siècles en Europe. En Angleterre, la propolis était reconnue comme un meilleur médicament pour le traitement des plaies pendant 17^{ème} siècle (ANJUM et *al.*, 2018). En France, on trouve quelques traces de son usage aux 18^{ème} et 19^{ème} siècles dans le traitement des plaies. Mais c'est surtout à l'occasion de la guerre des Boers en Afrique du Sud qu'elle connaît son apogée d'utilisation (LAVIE 1975 ; HEGAZI, 1997). De même, en Chine, la propolis était reconnue comme un médicament anticancéreux et anti-infectieux (ANJUM et *al.*, 2018).

Le premier rapport scientifique sur la propolis, sa composition et ses actions chimiques a été annoncé au public en 1908 (ANJUM et *al.*, 2018).

I.1.3. Origine de la propolis

Plusieurs recherches ont montré que la propolis pouvait avoir deux origines :

- ✓ **origine interne** : issue de la première phase de digestion du pollen dans le gésier à pollen, régurgitée ensuite par les abeilles (HEGAZI, 1997) ;
- ✓ **origine externe** : collectée par les abeilles de différentes plantes. Elles la rapportent à la ruche, et la modifient par l'apport de certaines de leurs propres sécrétions (cire et sécrétions salivaires essentiellement) (VALCIC et *al.*, 1999).

❖ Origine botanique de la propolis

Les abeilles vont collecter des substances sécrétées par les plantes mais aussi celles exsudées lors de blessures de ces dernières: il s'agit de matières lipophiles contenues dans les

feuilles, les bourgeons, les gommés ou encore les résines aux quelles ajoutent les cires et les sécrétions enzymatiques contenues dans leur salive (BANKOVA, 2005).

Ainsi la provenance de la propolis dépend de la région, de la flore botanique qui se situe à proximité immédiate des ruches et aussi aux préférences des abeilles.

Tableau I : Source botanique de la propolis selon différentes régions (CARDINAULT et al 2012).

Type de propolis	Origine géographique	Origine botanique	Principaux constituants
Peuplier Ambrée à brune	Europe, Amérique du Nord, régions non tropicales de l'Asie, Nouvelle-Zélande	Populus spp. et principalement <i>P. nigra</i> L.	Flavones, flavanones, acides phénols et ses esters et sesquiterpènes
Verte du Brésil	Zone tropicale du Brésil	Baccharis spp. principalement <i>B. dracunculifolia</i> DC	Dérivés prénylés de l'acide coumarique Acides diterpéniques Lignanes
Bouleau	Nord de la Russie	<i>Betula verrucosa</i>	Flavones, flavonols, flavonones et sesquiterpènes
Propolis rouge	Cuba, Brésil, Mexique	<i>Dalbergia ecastophyllum</i>	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïdes et benzophénones isoprénylées
Propolis rouge	Cuba, Venezuela	<i>Clusia rosea</i>	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïdes et benzophénones isoprénylées
Méditerranéenne	Sicile, Grèce, Malte, Crète, Turquie	Famille des Cupressaceae	Acides diterpéniques et principalement de type labdane
Pacifique	Zone pacifique (Taïwan, Okinawa, Indonésie)	<i>Macaranga tanarius</i>	Prényl-flavanones

❖ Origine de la propolis Algérienne

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

D'après une étude faite sur la propolis algérienne en 2004, récoltée dans quatre régions (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tizi-Ouzou), ils ont trouvé que les échantillons analysés ont comme source principale ; le peuplier (*Populus nigra*) avec la participation d'autres espèces. Sauf pour l'échantillon de Tizi-Ouzou, car on remarque l'absence de Pinocembrin, Pinobanksin, Chrysin et Galangin (MOUDIR, 2004).

I.1.4. La récolte de la propolis

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par les abeilles et ensuite par l'homme.

I.1.4.1. Par les abeilles

La récolte de propolis est faite par un nombre restreint d'abeilles ouvrières butineuses (qui se trouvent donc être dans la dernière partie de leurs existences). Ces ouvrières sont certainement très spécialisées dans cette activité, puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au sein de la colonie (la récolte du nectar par exemple) et cela même si la demande s'en fait sentir. Leur travail se limite au colmatage de l'intérieur de la ruche (DONADIEU, 1981).

I.1.4.1.1. Procédé de la récolte

Cette récolte s'effectue schématiquement de la façon suivante (DONADIEU, 1981 ; DEBUYSER, 1984) :

- la butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source, qu'elle attaque alors avec ses mandibules, puis elle détache la particule saisie ;
- elle l'entasse dans l'une des corbeilles de ses pattes postérieures (3ème paire) à l'aide de ses autres pattes pour accumuler ainsi progressivement une pelote (qui est en général plus petite qu'une pelote de pollen) qu'elle rapportera à la ruche ;
- au retour à la ruche, la butineuse de propolis est déchargée de sa récolte par d'autres ouvrières, soit au trou de vol, soit le plus souvent à l'endroit même où la substance est utilisée, opération assez longue qui peut durer d'une à plusieurs heures.



Figure 2: Récolte de la propolis par l'abeille (EL HOUSSEINI, 2013).

I.1.4.1.2. Condition de récolte

Cette récolte, dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons citer (DONADIEU, 1981 ; DEBUYSER, 1984) :

- **facteurs saisonniers** : la récolte a lieu, selon les cas, soit en début de saison, c'est-à-dire au printemps, mais le plus souvent et principalement à la fin de la miellée ou à l'approche de l'automne, au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage ;
- **facteurs géographiques** : il a été constaté que les ruches situées dans les régions boisées récoltent plus que les ruches de plaines ;
- **facteurs climatiques (la température)**: les abeilles « récolteuses » de propolis déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C) et en outre, pendant les heures les mieux exposées à cette chaleur (soit entre 10 h et 15 h 30 en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires ;
- **facteurs liés à la race d'abeille** : c'est ainsi qu'il est reconnu que les Caucasiennes et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres ;
- **Facteurs liés à l'âge de l'abeille** : Il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui récoltent la propolis. L'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées, l'âge minimal est de dix-huit jours.

I.1.4.2. Par l'apiculteur

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

- ✓ par raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence à des températures assez basses, la propolis, alors dure et friable, se détachant mieux (DONADIEU, 1981) ;
- ✓ utilisation de différents dispositifs: grille moulée en matière plastique ou en métal. On pose cette grille comme couvre cadres (LAVIE, 1975).

Pour avoir une propolis de meilleure qualité possible, DONADIEU (1981) recommande de pratiquer sa récolte au cours de la saison d'été après la miellée.

La quantité récoltée est très variable. Elle est sous la dépendance des facteurs qui conditionnent la récolte par les abeilles. Elle se situe en moyenne entre 100 et 300 g par ruche et par an. Cette propolis brute doit être purifiée avant toute utilisation (LAVIE, 1975).



Figure 3: Raclage de la propolis sur le cadre de la ruche. (LAVIE, 1975)



Figure 4 : Grille en plastique pour la récolte de la propolis (DUDNIK, 2017).

I.1.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis

I.1.5.1. Propriétés physiques

I.1.5.1.1. Caractéristiques organoleptiques

- **Couleur** : De couleur très variable selon sa provenance, allant du jaune clair (conifères) au brun très foncé, presque noir en passant par toute une gamme de brun extrême riche et étendue (rougeâtre, verdâtre, etc.) (DONADIEU, 1981).
- **Saveur** : Âcre, piquante, parfois amère, qui donne une insensibilisation de la muqueuse buccale (SAUVAGER, 2014).
- **Odeur** : Variable selon son origine, 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 qu'elle contient.(DEBUYSER, 1984).

I.1.5.1.2. Caractéristiques physiques

- **Consistance** : Variable en fonction de la température : dure et friable à 15°C, molle à 30 et gluante et collante au-delà et fond à 60, 70°C en moyenne, mais le point de fusion peut aller jusqu'à 100°C (LAVIE, 1975 ; KRELL, 1996).
- **Solubilité** : Très peu hydrosoluble, la propolis est partiellement soluble dans l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme et le benzène. Seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants (LAVIE, 1975).
- **Densité** : Elle est de l'ordre de 1,2 en moyenne (TOZI et *al.*, 2006).
- **Chauffée doucement au bain-marie** : elle se divise en deux parties bien distinctes :
 - L'une visqueuse qui tombe au fond.
 - L'autre liquide (cire de propolis) qui surnage à la surface et trouve de nombreux usages dans le domaine apicole (LAVIE, 1975).

I.1.5.2. Composition de la propolis brute

La propolis est un mélange complexe composé de dérivés végétaux et de composés libérés par les abeilles. La proportion des différentes substances est variable et dépend du lieu et du moment de la collecte (GHISALBERTI *et al.*, 1978), mais en général, la propolis brute se compose d'environ 50% de résines, 30% de cires, 10% d'huiles essentielles, 5% de pollen et 5% de divers composés (ANJUM *et al.*, 2018) (figure5).

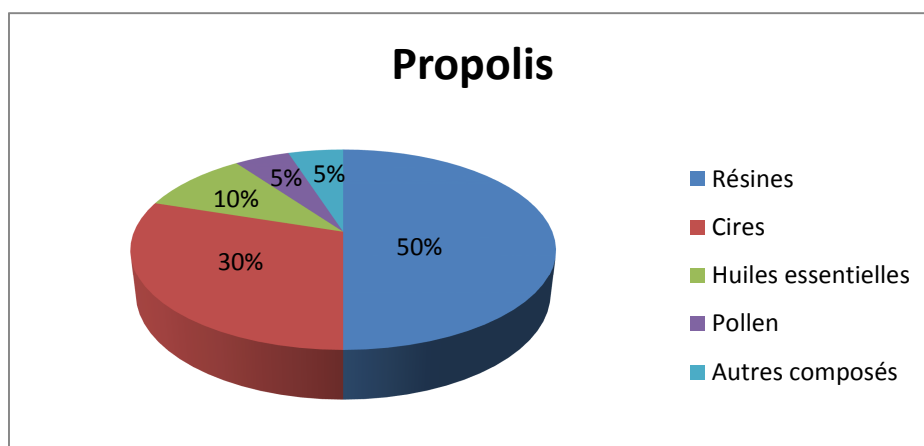


Figure 5 : Composition chimique de la propolis (ANJUM *et al.*, 2018).

La connaissance de la propolis a enregistré une évolution importante au fil du temps, en raison des études exhaustives concernant sa composition chimique et ses activités biologiques. Dans les années 60, on a pensé que, malgré sa complexité, la composition chimique de la propolis était plus ou moins constante. Néanmoins, l'analyse d'un grand nombre d'échantillons provenant de différentes origines géographiques a révélé que la composition chimique de la propolis est très variable et difficile à standardiser. Cette composition dépend de différents facteurs tels que la végétation, la saison et les conditions environnementales du site de la collecte (BANKOVA, 2005 ; BANKOVA et SFORCIN, 2011 ; BARLAK *et al.*, 2011). Il existe donc plus de 300 substances qui composent la propolis (MARCUCCI, 1995 ; BANKOVA, 2000).

Généralement, les principaux constituants de la propolis sont la résine (baume de composés phénoliques et flavonoïdes ou de leurs esters) et les matières volatiles (les huiles essentielles), qui sont des substances obtenues à partir d'une variété de processus botaniques dans différentes parties des plantes, et de la cire d'abeille (BANKOVA, 2005). La composition grossière de la propolis rapportée par divers auteurs est indiquée au tableau II.

Tableau II : Composition globale de la propolis (MOKHTARIA, 2014).

Parties de la propolis	Constituants par groupe
Résines et baumes	45-55% Flavonoïdes, acides phénoliques et leurs esters
Cire et acide gras	20-30% Acide cinnamique, acides linoléiques, acides propanoïques.
Huiles essentielles	10% Produits volatils
Pollen	5% Protéines (plus de 1% des acides aminés sont représentés par 6 acides aminés libres et l'arginine et la proline représentent jusqu'à 46% du total)
Autres composés et minéraux	5% 14 minéraux à l'état de traces : silice, Fe, Zn, (les plus communs) Ag, Cs, Hg, Sb Acide benzoïque et ses esters, vitamines, sucres, cétones, lactones, etc.

I.1.5.3. Composition de la propolis purifiée

L'origine botanique dont sera issue la propolis constitue le principal facteur responsable de sa composition spécifique. L'autre facteur sera les modifications générées à travers les sécrétions hypopharyngiennes de l'abeille qui vont apporter d'autres éléments spécifiques en plus de certaines transformations (hydrolyse des hétérosides de flavonoïdes en aglycone).

Parmi les substances organiques et minéraux constituant la propolis on retrouve beaucoup de flavonoïdes et autres dérivés phénoliques ainsi que leurs esters, des dérivés aromatiques volatils, des minéraux (fer, calcium, zinc, cuivre, manganèse) et des vitamines (C, E et du groupe B). La propolis contient également des sucres et des alcools de sucre (BANKOVA *et al.*, 2000).

Les composés phénoliques (appelés aussi polyphénols) semblent les plus dominants dans la composition de la propolis, en plus se sont les principaux composés responsables des activités biologiques de la propolis tels que l'activité antibactérienne (ALESANDRINI *et al.*, 2006), l'activité antioxydant (AHMEDKHNIHA *et al.*, 2006).

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

- Les polyphénols et les flavonoïdes ;
- Les acides aromatiques ;
- Les acides aliphatiques ;
- Les esters aromatiques ;
- Les sucres ;
- Les minéraux ;
- Les vitamines et autres composés.

I.1.5.3.1. Polyphénols et flavonoïdes

Les polyphénols constituent un groupe important de substances naturelles largement répandues dans le règne végétal. On peut distinguer les différentes classes de polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base (HARBORNE, 2000) :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques) ;
- Les flavonoïdes qui représentent la classe la plus abondante et la plus étudiée ;
- Les tanins et lignines ;
- Les plus rares, les coumarines et les stilbènes.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes (figure 6) sont des substances organiques les plus abondantes dans la propolis. Ces composés organiques sont responsables des activités biologiques de la propolis et sa capacité de piéger les radicaux libres.

Les flavonoïdes du latin *flavus*, jaune, sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux. Ce qui confirme la théorie qui dit que la propolis est d'origine végétale (GHEDIRA, 2005). Les flavonoïdes sont répartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes.

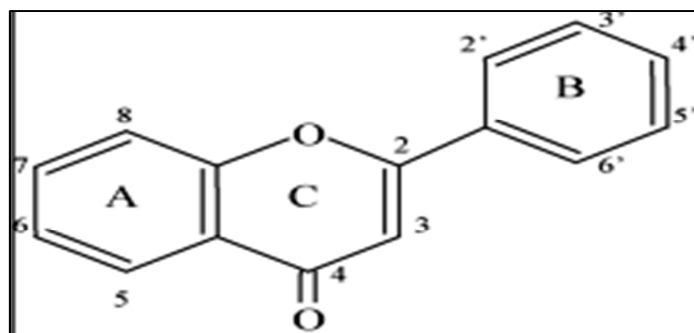


Figure 6: Structure chimique de flavonoïde (GHEDIRA, 2005).

I.1.5.3.2. Acides aliphatiques

Une propolis de qualité contient dans sa composition chimique en plus des composés phénoliques des acides gras aliphatiques. Parmi ces acides aliphatiques identifiés dans la propolis, on peut citer plus de vingt acides relevés on retrouve l'acide lactique, l'acide maléique, l'acide fumarique, l'acide palmitique, l'acide linoléique...etc. (MARCUCCI, 1995 ; AHMEDKHNIHA *et al.*, 2006).

La race d'abeille peut influencer la composition en acide aliphatique de la propolis de même région (SEMIRAMIS et SIBEL, 2005).

I.1.5.3.3. Acides aromatiques

La propolis renferme des acides aromatiques (dérivés de l'acide benzoïque et cinnamique) (figure 7, 8) dont le rôle est primordial dans les activités thérapeutiques de la propolis (HAVSTEEN, 2002).

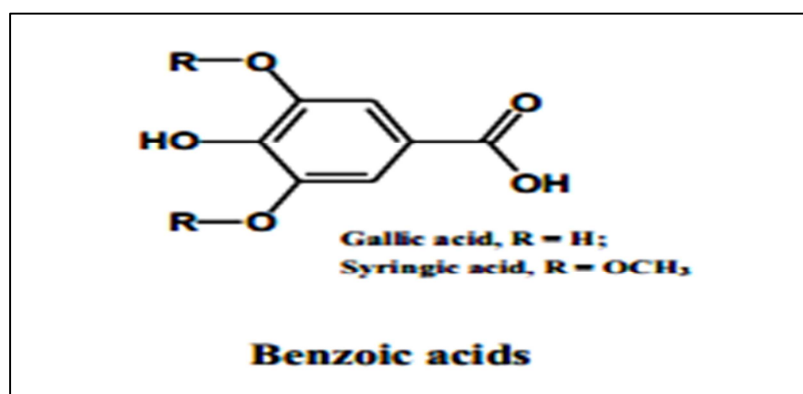


Figure 7: Structure chimique de l'acide benzoïque (TSAO, 2010).

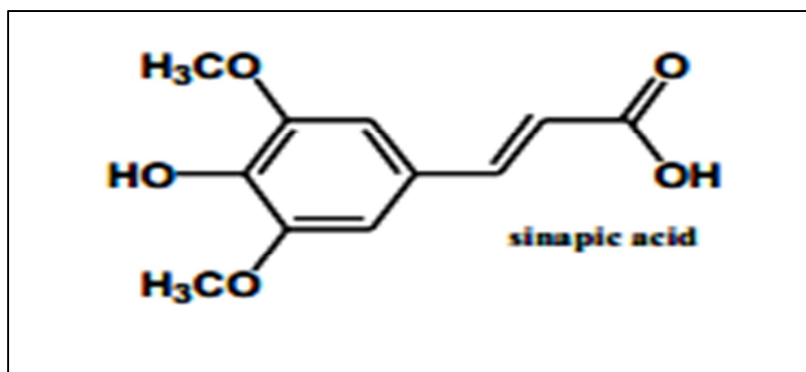


Figure 8 : Structure chimique de l'acide cinnamique (TSAO, 2010).

Parmi la famille des acides aromatiques ayant des propriétés diverses, les principaux sont l'acide Caféique et un de ses dérivés le phénéthyl-caféate (le CAPE) qui ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

I.1.5.3.4. Esters aromatiques

Plusieurs travaux ont été réalisés sur la composition de la propolis en esters aromatiques, ce groupe englobe les catégories suivantes : (SILICI, 2005).

- Esters cinnamiques ;
- Esters couramiques ;
- Esters ferulates ;
- Esters caffeates ;
- Esters isoferulates.

I.1.5.3.5. Sucres

La propolis contient également des sucres et des alcools de sucre (BANKOVA *et al.*, 2000). Les polysaccharides comme l'amidon et les mono et disaccharides, le glucose, le fructose, le ribose, le rhamnose, le talose, et le saccharose sont également présents dans la propolis (GORECKI *et al.*, 2014).

Les sucres et les sucres alcooliques identifiés dans la propolis sont illustrés dans le tableau III (MARCUCCI, 1995) :

Tableau III : Les sucres et les sucre alcooliques de la propolis

1. Inositol	6. D-glucetole
2. Saccharose	7. D-glucose
3. D-fructose (isomère1)	8. α -D-xylopyranose
4. D-fructose (isomère2)	9. Acide gluconique
5. Sorbose	10. Galactose

I.1.5.3.6. Minéraux

Des études sur la propolis ont montré que le taux des cendres est compris entre 1.2 à 4.5% de poids frais de la propolis brute (CAZZOLLI et *al.*, 2006), cette dernière est l'un des produits naturels les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium et le calcium.

La propolis contient également des minéraux tels que le magnésium, l'iode, le sodium, le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer.

I.1.5.3.7. Vitamines et autres composés

Pour les vitamines on y retrouve la vitamine A et les vitamines du groupe B dont les vitamines B1, B2, B3, B6, B8, B9, B12, C, E (KRELL, 1996).

On retrouve plusieurs autres composés détectés dans la composition de la propolis dont les hydrocarbures aliphatiques et les quiterpènes.

I.1.6. Utilisation de la propolis**I.1.6.1. Par l'abeille**

Dans la ruche, la propolis est utilisée par les abeilles pour boucher les trous, pour éviter les courants d'air indésirables, pour lisser les parois intérieures, pour imperméabiliser les parois afin d'éviter une humidité excessive et pour protéger l'entrée contre les intrus. C'est leur arme chimique la plus importante pour lutter contre les parasites et les pathogènes.

Des études ont même révélé que la propolis peut jouer un rôle plus subtil dans les mécanismes d'immunité de la colonie. On peut dans une certaine mesure parler d'automédication de la colonie. L'une des particularités d'utilisation de la propolis par l'abeille est de momifier en recouvrant avec cette matière les cadavres des ennemis, qui

s'introduisent dans la ruche une fois tués pour éviter leur décomposition et ne sera pas l'origine d'un éventuel développement des microorganismes. Elle contribue aussi au maintien du microclimat et à l'isolation thermique de la ruche (PIERRE et YEVES, 2005).

I.1.6.2. Par l'homme

La propolis est un produit de la ruche largement utilisé par l'homme pour ses vertus antiseptiques et antibiotiques. Elle est notamment exploitée dans plusieurs domaines tels que :

I.1.6.2.1. Utilisation en cosmétique

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique (DEHMOUCHE et *al.*, 1988). Durant de nombreuses études, les chercheurs se sont basés sur les effets de la propolis dans la régénération et la rénovation des tissus. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications (KRELL, 1996).

I.1.6.2.2. Utilisation en médecine

Aujourd'hui, la propolis est utilisée en médecine traditionnelle, en apithérapie, comme l'aliment. De nombreuses études mettent en évidence ses propriétés antibactérienne, antifongique, antivirale, anti-inflammatoire, anti-ulcéreuse, hépatoprotectrice et antitumorale. La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- Les problèmes cardio-vasculaires ;
- Diverses infections de l'appareil respiratoire ;
- Soins dentaires ;
- Les ulcères ;
- Les infections des muqueuses et des lésions ;
- Le cancer.

Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire (KRELL, 1996).

I.1.6.2.3. Utilisation en technologie alimentaire

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

antibactériennes et antifongiques offrent à la propolis une place de choix dans le domaine de technologie alimentaire avec un effet généralement bénéfique à la santé humaine.

Dans le domaine de technologie alimentaire, la propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture. Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie de l'entreposage en congélation de poissons (DONADIEU, 1981).

I.1.7. Conservation de la propolis

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions. Mais il paraît néanmoins préférable de la garder dans des récipients opaques, bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 10 ou 12°C de préférence). 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. Il faut signaler enfin, que la lyophilisation de la propolis (dessiccation obtenue par congélation brutale à basse température, suivie d'une sublimation sous vide, permettant d'obtenir une poudre poreuse qui se conserve indéfiniment sous vide) maintient aussi ses propriétés biologiques (KRELL, 1996).

Partie 2

Intérêts biologiques et thérapeutiques de la propolis

I.2. Intérêts biologiques et thérapeutiques de la propolis

La propolis possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. L'ensemble des recherches effectuées à ce jour permet de montrer plusieurs propriétés biologiques de ce produit. Ces propriétés sont en rapport avec la composition chimique.

I.2.1. Propriétés anti-infectieuses

La propolis présente des propriétés antimicrobiennes (antibactériennes, anti-fongiques, antiparasitaires, et antivirales) et immunostimulantes : elle active les fibrocytes et inhibe l'histamino-sécrétion des mastocytes (GHEDIRA et *al.*, 2009).

I.2.1.1. Activité antibactérienne

La propolis a un effet significatif contre les bactéries telles qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Plusieurs études ont montré que les extraits éthanoliques de propolis étaient plus efficaces contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif.

Le mode d'action de la propolis est dû à l'interaction des composés phénoliques avec d'autres composés tels que la pinocembrine, la galangine et la pinobanksine. La propolis agit en tant qu'agent bactéricide par blocage de la division cellulaire, désorganisation du cytoplasme ou par une inhibition de la synthèse protéique (ANJUM et *al.*, 2018).

I.2.1.2. Activité antifongique

La propolis a montré une activité contre différents champignons. Il a été étudié que la propolis inhibe les champignons aflatoxigéniques et diminue également la croissance des conidies chez *Aspergillus flavus*. La propolis montre une activité contre *Candida guilliermondii*, *Candida krusei* et *Candida albicans*. Dans une autre étude, une propolis française a été utilisée efficacement contre les pathogènes fongiques humains *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Aspergillus fumigatus* (ANJUM et *al.*, 2018).

I.2.1.3. Activité antivirale

La propolis a montré une activité antivirale en inhibant l'entrée du virus dans les cellules, ce qui perturbe la réplication virale et entraîne la destruction d'acide nucléique avant ou après sa libération dans les cellules (ANJUM et *al.*, 2018).

I.2.1.4. Activité antiprotozoaire

Une activité antiprotozoaire de la propolis contre de nombreux protozoaires qui causent des maladies chez l'homme et les animaux, tels que la giardiase, la maladie de Chagas, la leishmaniose, la trichomonase et la toxoplasmose, a été rapportée. Cependant, la propolis a montré une activité antiprotozoaire contre *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi*, *Giardia*

lamblia, *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii* et *Giardia duodenalis* (ANJUM et al., 2018).

Tableau IV : Activité des extraits de propolis contre certaines souches microbiennes (POPOVA et al., 2017).

Bactéries inhibées	Zone d'inhibition (mm)	CMI (concentration minimale inhibitrice) (mg /mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	18	0.95
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	19	0.90
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	14	1.34
<i>Enterobacter cloacae</i> (ATCC 13047)	16	1.15
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883)	17	1.03
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 227853)	16	1.10
Champignons		
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	12	1.40
<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13801)	13	1.28
<i>Candida glabrata</i> (ATCC 28838)	14	1.25

I.2.2. Activité antioxydant et anti radicalaire

La propolis est une substance constituée de nombreux composés antioxydants : vitamine E et C et des polyphénols. Les études ont montré que l'activité antioxydante de la propolis était positivement corrélée avec son contenu en polyphénols. De ce fait, la propolis de peupliers plus riche en polyphénols possède un potentiel antioxydant supérieur à celui de la propolis verte du Brésil par exemple (CARDINAULT et al., 2012).

La propolis avait la capacité d'éliminer les radicaux libres, qui sont la principale cause de l'oxydation des lipides, des acides nucléiques et des protéines. La propolis portugaise avait la propriété antioxydante et empêchait la peroxydation des lipides dans les globules rouges du sang humain (ANJUM et al., 2018).

I.2.3. Activité antitumorale

Les composants de la propolis tels que l'ester phénéthylique de l'acide caféique (CAPE) et l'artépilline C ont été étudiés et possèdent des effets anti tumoraux. Ces composés de propolis sont impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, l'inhibition des métalloprotéinases

matricielles, l'effet anti-angiogénèse et inhibent également le transfert de maladies d'une partie du corps à une autre. La propolis est capable d'arrêter la synthèse de l'ADN dans les cellules tumorales, a la propriété de causer le vieillissement des cellules tumorales et possède la capacité de mettre en action les globules blancs pour générer les agents capables de réguler la fonction des cellules tueuses naturelles (ANJUM et *al.*, 2018).

I.2.4. Effet hépatoprotecteur

La propolis agit comme un agent hépatoprotecteur. Elle augmente le taux de glutathion tout en arrêtant la peroxydation lipidique et le taux de glutathion oxydé. Des études ont également montré que les extraits de propolis possèdent un rôle protecteur contre le stress oxydatif hépatorénal et les lésions qui en résultent (ANJUM et *al.*, 2018).

I.2.5. Effets contre les affections bucco-dentaires

La propolis est reconnue par ses vertus désinfectantes et cicatrisantes qu'on peut exploiter dans le traitement des aphtes, elle permet aussi d'assainir la cavité buccale. Elle a un effet préventif sur les germes responsables des caries dentaires et permet de calmer l'inflammation de la gencive (EON, 2011). La combinaison d'extrait éthanolique de propolis avec un rince-bouche et des dentifrices améliorerait la prévention de l'infection microbienne ainsi que le traitement de l'inflammation des gencives (ANJUM et *al.*, 2018).

Tableau V : Exemple de quelques activités biologiques des extraits de propolis.

Activité étudiée	Type de propolis	Extrait de Propolis (Type d'extraction)	Résultats	Références
Activité antioxydante	Propolis verte et brune du Brésil	-Extraction à l'éthanol (95%), évaporation et dissolution dans de l'éthanol à 80%, puis partage avec de l'hexane et du dichlorométhane.	-L'activité antioxydante a montré des différences considérables en fonction du type de solvant et de la propolis utilisée.	(KOCOT et al., 2018)
Activité Antioxydante	Propolis de l'Algérie	-Une extraction successive en utilisant du chloroforme, de l'acétate d'éthyle et du n-butanol	-Les méthodes DPPH , ABTS et FRAP ont été appliquées pour déterminer l'activité antioxydante. Les extraits à acétate d'éthyle et au n-butanol se sont avérés les plus efficaces.	(KOCOT et al., 2018)
Activité antioxydante	Propolis de Pékin	-Eau 25%, 50%, 75%, 95% et 100% -Ethanol	-L'extrait aqueux à 75% a montré la capacité antioxydante la plus élevée. -L'activité antioxydante a montré des différences considérables en fonction du solvant utilisé	(KOCOT et al., 2018)
Activité anti-inflammatoire	Propolis verte de Brésil	-Extrait hydro-alcoolique	-Augmentation du taux de protéine -Effet anti-angiogénique -Réduction de l'inflammation chez des souris soumise à un régime pauvre en protéine.	(MIRANDA et al., 2018)
Activité anticancéreuse	Propolis du Brésil	-Extrait éthanolique de propolis Brésilienne	-L'extrait éthanolique de propolis brésilien avait la capacité anticancéreuse, examiné sur la 1,2 diméthylhydrazine provoquant une carcinogénèse du colon chez la souris.	(ANJUM et al., 2018)

Il est intéressant de constater que, quel que soit le pays et la race de l'abeille, l'action de la propolis et les propriétés sont toujours les mêmes, alors que ces constituants sont différents. Le champ d'action de la propolis est extrêmement vaste (SAUVAGER, 2014).

I.2.9. Effets indésirables et toxiques de la propolis

Les études en rapport avec la toxicité de la propolis sont rares. La propolis n'est pas toxique pour les hommes et les animaux, si elle est consommée en quantités raisonnables (GHISALBERTI, 1979).

AVROUEST-GRAND et al. (1994) ont reporté une DL50 (dose létale médiane) de 7340 mg/kg. Par contre, HRYTSENKO et al. (1977) ont reporté une DL50 de 2050 mg/kg et une DL 100 de 2750 mg/kg. Cette différence peut être expliquée par une différence au niveau de l'extraction de cette substance (choix du solvant et pourcentage utilisé). L'administration orale de 200 à 1220 mg/kg/J d'extrait éthanolique de propolis (EEP) pendant 7-10 jours, n'entraîne aucun effet nocif (HIGASHI, 1995).

Cependant, il peut exister des cas d'allergies de contact (dermatose, eczéma) avec la propolis, avec un allergène bien identifié : le 3,3-diméthylallyl caffeate (GARDANA et SIMONETTI, 2011).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1. Objectif de l'étude

Le présent travail a été effectué au niveau du laboratoire de recherche Biochimie Analytique et Biothéchnologie à l'Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU (UMMTO), durant la période comprise entre fin février et fin juin de l'année universitaire 2019. Cette étude consiste à l'évaluation de quelques activités biologiques d'extraits issus de différents échantillons de propolis collectés dans diverses régions de la wilaya de Tizi-Ouzou.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Matériel

II.2.1.1. Matériel biologique

Les neuf échantillons de propolis utilisée dans cette étude ont été fournis par des apiculteurs de différentes régions de la wilaya de Tizi-Ouzou, situées dans le nord Algérien au cours des années 2018-2019 (tableau VI). Ils ont été récoltés par la race d'abeille *apis mellifica* par la méthode de raclage sur les cadres de la ruche. Les échantillons de propolis ont été conservés dans des flacons en verre hermétiquement fermés et à l'obscurité jusqu'à utilisation.

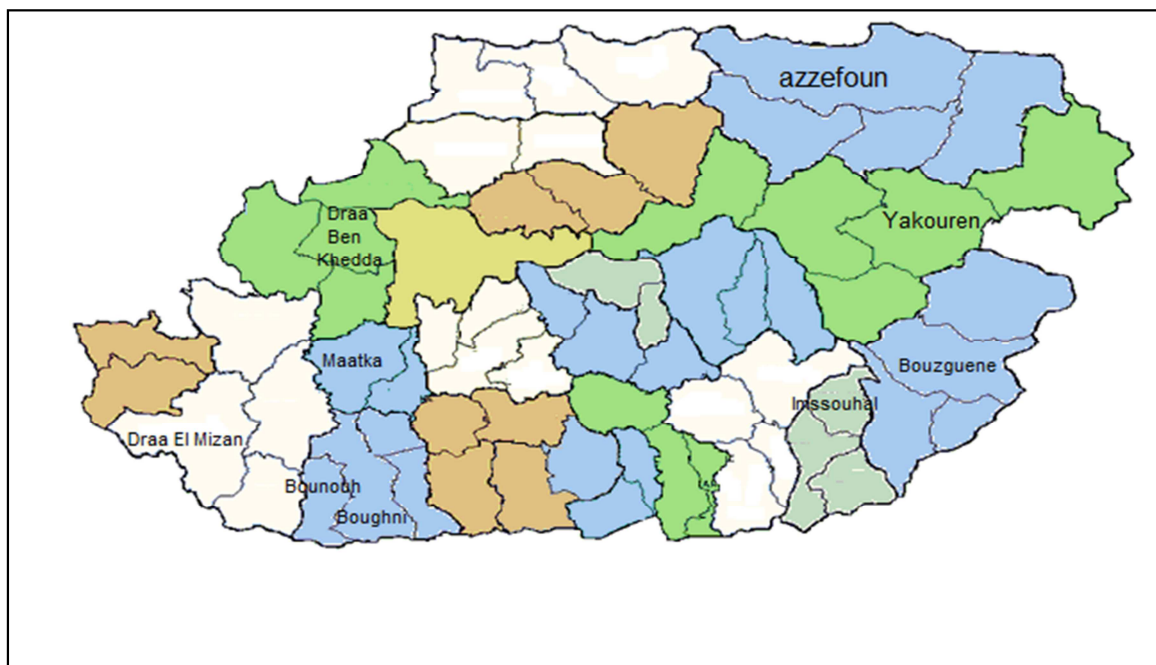
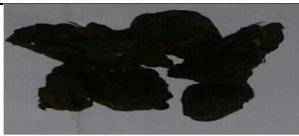


Figure 9 : Carte sur la localisation géographique des régions de récolte des différents échantillons de propolis.

Tableau VI : différents échantillons de propolis étudiées avec leurs régions, saisons et date de récolte.

Echantillon de propolis	Régions	Saison	Année	Photographie de l'échantillon
P1	Bouzeguene	Eté	2018	
P2	Azeffoune	Eté	2018	
P3	Draâ ben khedda	Hiver	2018	
P4	Imsouhal	Automne	2018	
P5	Maatka	Hiver	2018	
P6	Yakourene	Eté	2018	
P7	Ait telha (Boghni)	Automne	2018	
P8	Draâ el mizane	Printemps	2019	
P9	Bounouh (Boghni)	Printemps	2019	

II.2.1.2. Appareils, produits chimiques et milieux de culture utilisée lors du travail expérimental

Tableau VII : Appareillage utilisé lors du travail expérimental

Appareils	Références
Spectrophotomètre UV-visible	BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO.LTD(UK),VIS-7220G
Balance de precision	Sartorius,BP121S
Balance	DENVER INSTRUMENT, MXX-612
pH mètre	METROHM 620, HANNA instruments
Autoclave	Pbi International
Etuve 37°C et 105°C	memmert 854 Schwabach, memmert
Four à moufle	NABERTHERM Controller B170
Centrifugeuse Réfrigérée	Hettichzentrifugen D-7200 tuttingen
Bain-marie	WiseBath (Fuzzy control system)
Agitateur magnétique	VELP SCIENTIFICA, VARIOMAG electronicührer poly15 NETEZ
Rota-vapeur	Stuart
Vortex	VELP SCIENTIFICA (Zx3)
Congélateur et Réfrigérateur	ENIEM

Tableau VIII : produits chimiques, réactifs, solvants organique sels, milieux de culture et petit matériel utilisés.

Produits chimiques, réactifs, solvants organiques et sels	Milieux de culture	Petit matériel
Réactif de folin-ciocalteu. DPPH ((2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). ABTS (2,2- azini-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate). TCA(acide trichloroacétique) (SIGMA ALDRICH). Chlorure de fer (FeCl ₃) (Biochem chemopharma). Ferrocyanure de potassium (K ₃ Fe(CN) ₆). Persulfate de potassium (K ₂ S ₂ O ₈). Acide gallique. Acide ascorbique. Ethanol (Honeywell). Acétate d'éthyle Diméthylsulfoxyde (DMSO) (Sigma –Aldrich). Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃) (Fluka). Phosphate dissodique (Na ₂ HPO ₄) (RIEDEL-DE HAËN AG SEELZE6HANNOVER). Phosphate dipotassium (KH ₂ PO ₄).	Gélose nutritive (GN) (HIMEDIA). Mueller Hinton Agar (MHA) (HIMEDIA).	Verreries. Portoirs pour tubes, tube pour dosage. Anse de platine, bec benzène, boîtes de pétri, cuves, écouvillons, tubes à essai stériles. Pinces, pipettes pasteur, disque d'antibiotique Micropipettes

II.2.2. Méthodes**II.2.2.1. Analyses physico-chimiques****II.2.2.1.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale****Principe**

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à la température de (100 à 105°C) jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des capsules, placées dans un dessiccateur.

Mode opératoire

Sécher à l'étuve, les capsules pendant 15min, ensuite refroidies dans un dessiccateur durant 10min. Une quantité de 0.5g d'échantillon de propolis est placée à l'étuve réglée à 103°C pendant 3h, ensuite les capsules sont retirées de l'étuve et placées dans le dessiccateur. Effectuer une pesée des capsules après refroidissement. La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2mg, sinon l'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur en eau (%) est donnée par la formule suivante :

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

- M1 : Représente la masse en grammes de la prise d'essai avant séchage.
- M2 : Représente la masse en grammes de la prise d'essai après séchage.
- P : La masse de la prise d'essai en g.

A partir de la teneur en eau on peut déterminer le taux de matière sèche (MS) qui est donné par la formule suivante :

$$MS \% = 100 - H\%$$

II.2.2.1.2. Détermination de la teneur en cendre et en matière organique

Principe

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

Mode opératoire

Dans des capsules en porcelaine, on pèse 0.5g de propolis coupée en petits morceaux. On place les capsules dans un four à moufle réglé à 550°C±15°C pendant 5h jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre. Les capsules sont retirées du four et mises dans un dessiccateur pour se refroidir et puis on procède à la pesée

La teneur en matière organique est calculée comme suit :

$$\text{MO}\% = (\text{M1}-\text{M2})/\text{P}\times 100$$

- MO : Matière organique.
- M1 : Masse des capsules + prise d'essais.
- M2 : Masse des capsules + cendre.
- P : La masse de prise d'essais.

La teneur en cendre est calculée comme suite :

$$\text{Tc \%} = 100 - \text{MO}\%$$

- Tc : teneur en cendre

II.1.2.2. Extraction des composés phénoliques

Principe

C'est l'étude de la capacité d'extraction des principes actifs par des différents solvants. Dans notre cas c'est une extraction liquide-solide. Cette dernière se définit comme une opération de séparation d'un ou plusieurs constituants solides ou liquides contenus dans un corps solide par solubilisation dans un fluide. Ce fluide appelé généralement solvant (FERHOUM, 2010).

Dans cette présente étude on a utilisé deux solvants organiques de polarités différentes (l'acétate d'éthyle et éthanol 96%).

Mode opératoire

Le protocole de la macération de propolis consiste à mélanger 2 g de cette dernière dans 30mL du solvant (éthanol / acétate d'éthyle). Le mélange subit ensuite une agitation pendant 2h à température ambiante (15-20°C). Puis une centrifugation à 4000g pendant 10 min. Le surnageant est récupéré et évaporé sous vide dans un évaporateur rotatif. Une moitié de l'extrait sec est récupérée dans l'éthanol qui va nous servir pour le dosage des polyphénols et l'activité antioxydante ; une autre moitié est récupérée dans le DMSO pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne (figure 10).

Ces extraits sont conservés dans des épandorfs au réfrigérateur à (4°C) pour les extraits récupérés par le DMSO et au congélateur (-15°C) pour les extraits récupérés par l'éthanol jusqu'à utilisation.

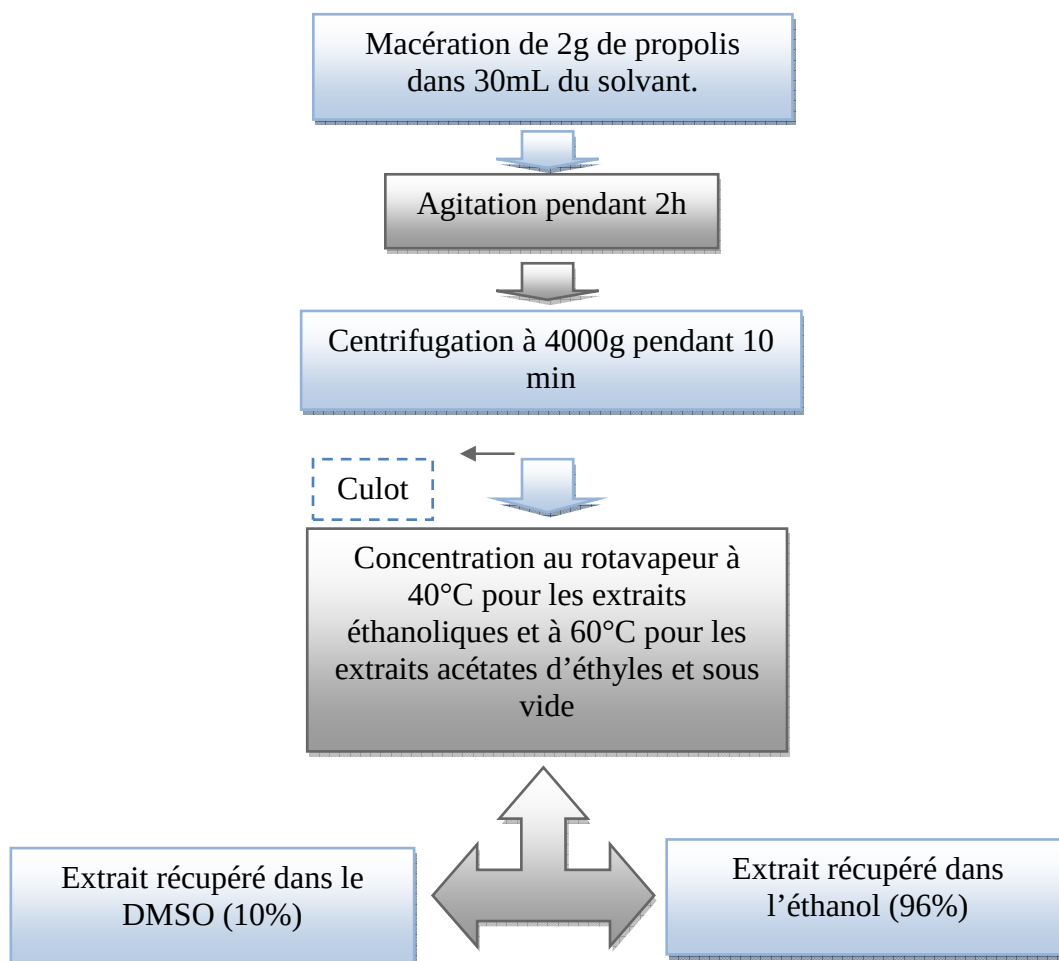


Figure 10 : protocole d'extraction des composés phénoliques à partir de propolis en utilisant deux solvants organiques (acétate d'éthyle /éthanol).

II.2.2.3. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la matière soumise à l'extraction (la propolis). Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

- **R (%)** : Rendement exprimé en pourcentage % ;
- **M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant ;
- **M₀** : Masse en gramme de la propolis.

II.2.2.4. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydo-réduction. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles acides contenant du molybdène et du tungstène (GERVAISE, 2004). La méthode consiste à réduire le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}P_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La présence de carbonates de sodium rend le milieu légèrement alcalin.

Mode opératoire

Selon SINGLETON et ROSSI. (1965) la procédure pour le dosage des polyphénols totaux consiste à la préparation de 125µL à partir de chaque extrait ou dilution et 500µl d'eau distillée sont ajoutés puis additionné de 125µl du réactif de folin-ciocalteu. Après 6min, un volume de 1,25mL de la solution Na_2CO_3 à 7% est ajouté. Le volume total agité puis ajusté à 3 mL avec l'eau distillée. Les absorbances sont mesurées à 760nm après incubation pendant 1h à l'obscurité. La concentration des polyphénols totaux est déterminée à partir d'une courbe (étalon) en utilisant l'acide gallique comme standard avec une gamme allant de 0 à 200µg/mL (annexe 9).

II.2.2.5. Test de l'activité anti-oxydante

A fin d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des échantillons étudiées, trois tests *in vitro* en duplicata ont été réalisés pour chaque échantillon (le test de DPPH, le pouvoir réducteur FRAP et le test de réduction du radical ABTS).

II.2.2.5.1. Evaluation de l'activité anti radicalaire par ABTS (2,2-azini-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)

Principe

La formation du radical cation $ABTS^{\bullet+}$ résulte de l'arrachement d'un électron de l'un des atomes d'azote de la molécule ABTS par un oxydant (le persulfate de potassium). En présence d'antioxydants donneurs de protons, ce radical $ABTS^{\bullet+}$ de coloration bleu-vert est réduit en ions $ABTSH^+$ incolore. Le suivi de cette décoloration à 734 nm permet d'évaluer le potentiel anti-radicalaire de l'extrait. L'acide ascorbique à des concentrations de 0 à 50 $\mu\text{g/mL}$ (annexe 10) a été utilisé comme standards (RE et *al.*, 1999).

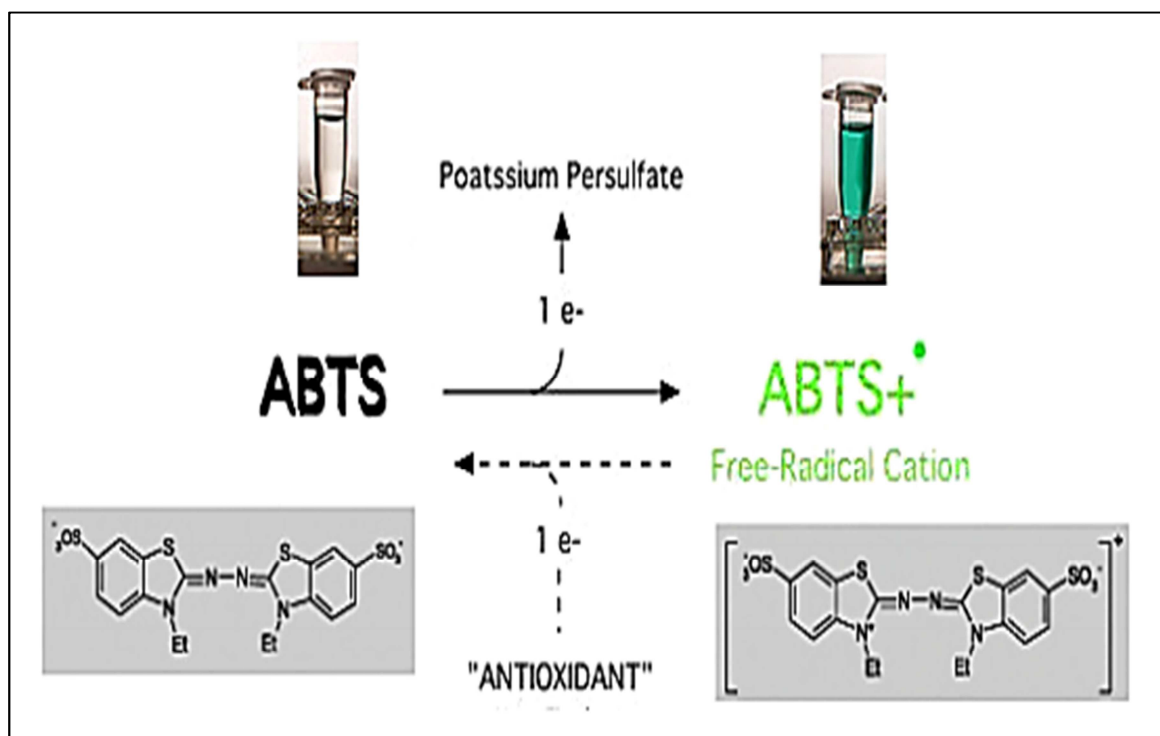


Figure 11 : Processus de réduction du radical $ABTS^{\bullet+}$ en ABTS en présence d'un antioxydant. (RE et *al.*, 1999).

Mode opératoire

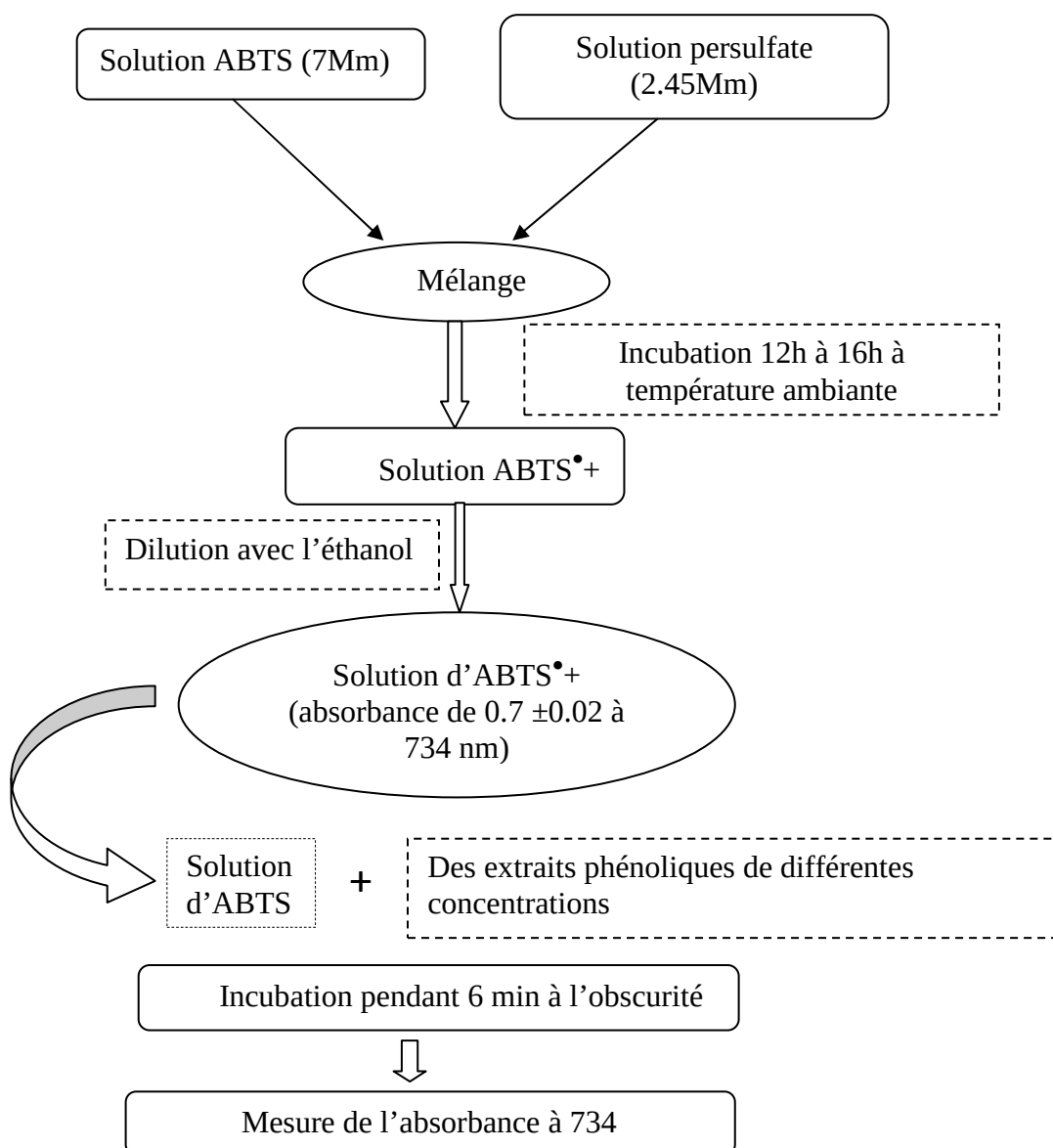


Figure 12 : Protocole d'étude de l'activité « scavenging » de l'ABTS^{•+} (RE et *al.*, 1999).

Pour déterminer les IC₅₀, différentes concentrations d'extrait ont été testées. Le pourcentage de réduction du radical ABTS^{•+} a été calculé par la loi suivante:

$$\%ABTS^{\bullet+} \text{ inhibé} = \frac{\text{Absorbance blanc} - \text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance blanc}} \times 100$$

II.2.2.5.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire par DPPH

Principe

L'activité antiradicalaire est estimée en utilisant le DPPH (2,2 Diphenyl -1-PycrylHydrazyl), qui est un radical libre, stable, de couleur violette intense due à la délocalisation de son électron célibataire autour de la molécule. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette à 517 nm. La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un proton qui se fixe avec le DPPH d'où la diminution de l'intensité de la couleur (figure 13) (GULCIN *et al.*, 2003).

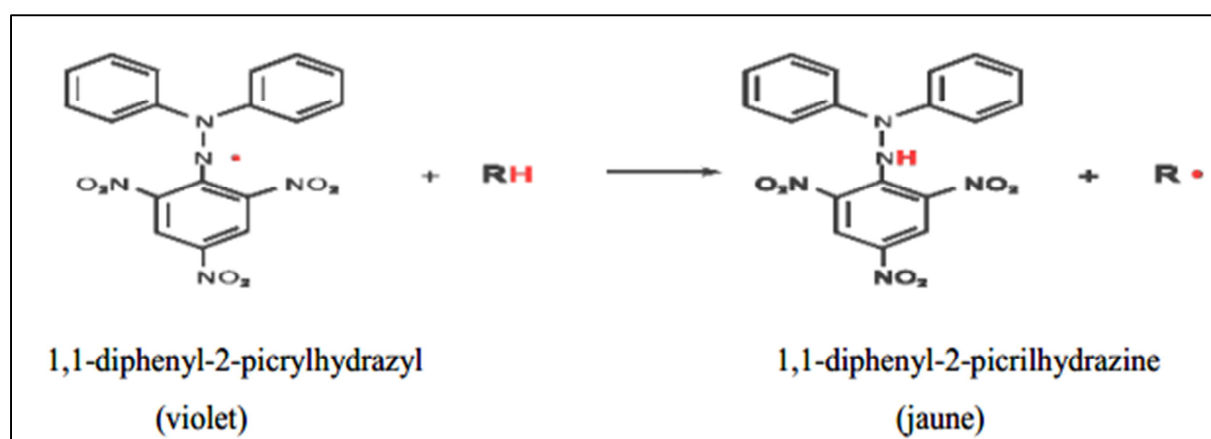


Figure 13: Réaction de réduction du DPPH• (MOLYNEUX, 2004).

Mode opératoire

Le test du pouvoir antiradicalaire est réalisé selon la méthode de BRAND WILLIAMS *et al.*, (1995). La solution du DPPH est préparée par solubilisation de 0.02mM de DPPH dans 100mL de l'éthanol. 50µl des solutions d'extraits phénoliques ou standards sont ajoutés à 1mL de DPPH et un contrôle est préparé avec 50 µl du solvant utilisé avec 1 mL de DPPH, Après homogénéisation au vortex le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min. Les absorbances sont lues à 517nm. Le témoin positif est représenté par une solution d'acide ascorbique avec des concentrations allant de 0 à 200ug/mL comme antioxydant standard (annexe 11).

Les concentrations des composés phénoliques utilisés varient selon les extraits. Pour déterminer les IC₅₀, différentes concentrations d'extrait ont été testées. Le pourcentage de réduction du radical ABTS^{•+} a été calculé par la loi suivante:

$$\% \text{DPPH inhibé} = \frac{\text{Absorbance blanc} - \text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance blanc}} \times 100$$

II.2.2.5.3. Evaluation de l'activité anti radicalaire par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Principe

Cette méthode est basée sur la capacité des composés réducteurs, à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du ferrocyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) pour donner du fer ferreux (Fe^{2+}). La réaction est révélée par le virement de couleur jaune de (Fe^{3+}) en couleur bleu vert de (Fe^{2+}), l'absorbance est mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. L'acide ascorbique à différentes concentrations allant de 0 à 100 $\mu\text{g/mL}$ (annexe 12) a été utilisé comme standards (OYAIZU, 1986).

Mode opératoire

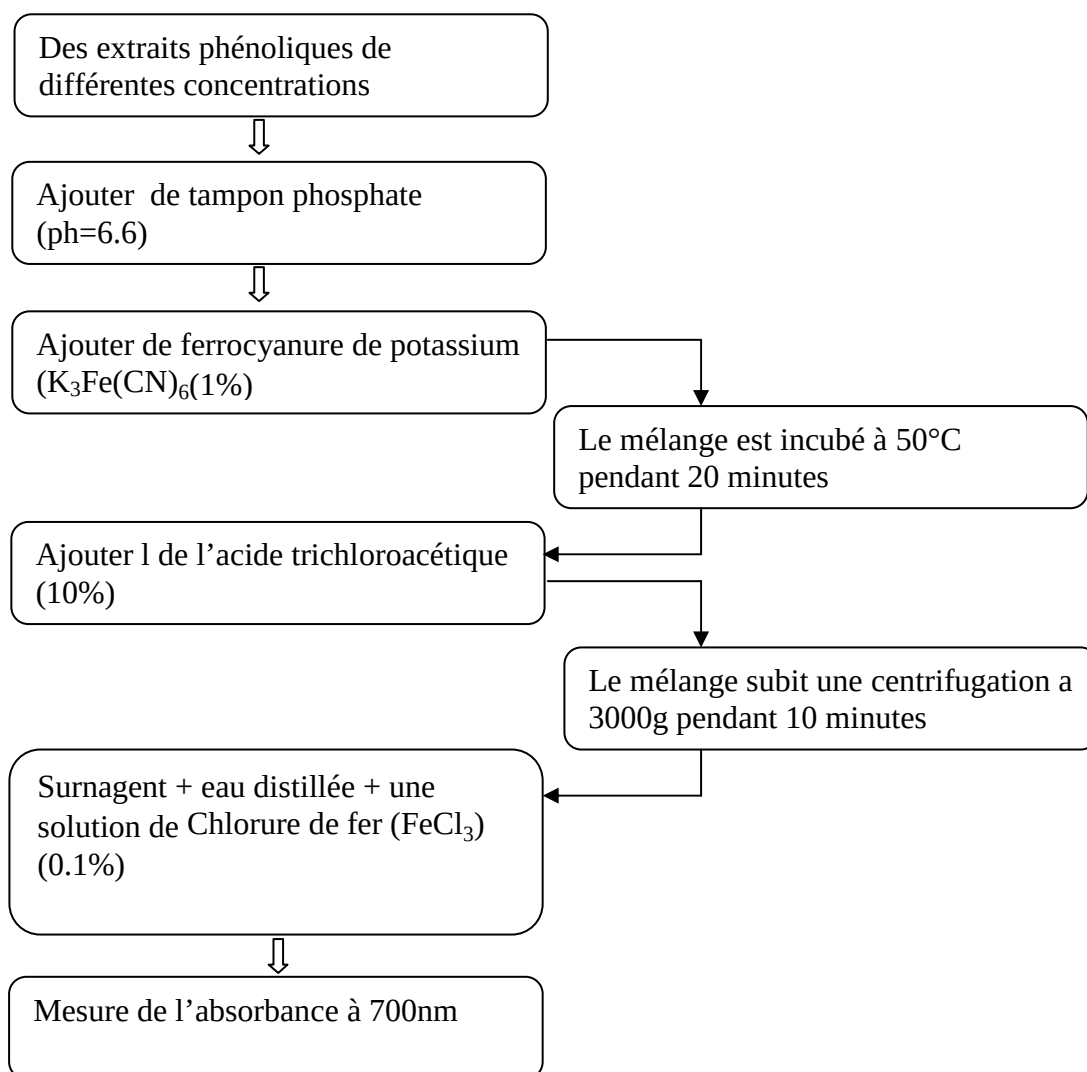


Figure 14 : diagramme de détermination du pouvoir réducteur selon la méthode d'OYAIZU, 1986)

II.2.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne (l'aromatogramme)

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis-à-vis des extraits phénoliques donnés. La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier buvard de 6mm de diamètre, sont alors placés en surface de la gélose, puis imprégnés de quantités connues des extraits à testés (WILKINSON, 2006).

Les différentes souches bactériennes testées représentées dans le Tableau IX ont été fournies par le laboratoire de recherche de la faculté. Elles comprennent des espèces Gram+ et Gram-.

Tableau IX : les souches bactériennes testées et l'antibiotique utilisé pour chaque souche.

Souche	Etat frais	Gram	Antibiotiques caractérisant chaque souche
<i>Staphylococcus aureus</i> LGA251	Coque	Gram+	Lincomycine
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	Coccobacille	Gram-	Gentamicine
<i>Pseudomonas auruginosa</i> ATTC 271853	Bacille	Gram-	Gentamicine

➤ Préparation des pré-cultures

Tout d'abord, les souches bactériennes sontensemencées dans une gélose nutritive par la méthode de stries et incubées à 37°C pendant 18h.

➤ Standardisation et préparation de l'inoculum

Les suspensions bactériennes utilisées sont issues de cultures jeunes âgées de 18h. Pour cela, après l'incubation les colonies bactériennes des souches à tester sont raclées et bien isolées à l'aide d'une anse à boucle de platine. Ensuite, elles sont déchargées dans de l'eau physiologique stérile. Après une bonne homogénéisation, les bactéries en suspension ont été diluées jusqu'à l'obtention d'une opacité de Mac Ferland 0,5 équivalent à une DO de 0.08

à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. Une fois dans la bonne longueur d'onde, on dilue pour avoir à la fin un inoculum de (10^{-6}) prêt à mettre en œuvre.

➤ **Aromatogramme**

Pour ensemer les boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller- Hinton (MH) un écouvillonnage est réalisé. Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur tout le diamètre gélosé. Le même écouvillon est utilisé pour ensemer plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Des disques stériles sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Un volume de chaque extrait (récupéré avec du DMSO) est déposé sur les disques. Des antibiotiques caractérisant chaque souche sont utilisés comme témoin positif et un volume de DMSO déposé sur un disque est servi de témoin négatif. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

➤ **Lecture des aromatogrammes**

La lecture des aromatogrammes a été faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibition au tour des disques. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition qui peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (PONCE et *al.*, 2003).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre ≤ 8 mm ;
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++): diamètre > 20 mm

II.2.2.7. Analyse statistique

Le logiciel STATISTICA a été utilisé pour l'analyse statistique. Les données sont présentées sous forme de moyenne $\pm$ écart-type.

Pour évaluer l'effet du solvant et la région sur l'activité antioxydant des trois tests antioxydants : ABTS, DPPH et FRAP et sur le taux en polyphénols des différents extraits (éthanoliques et acétates d'éthyles) de la propolis, on fait appel au test statique Kolmogorov-Smirnov pour la vérification de la normalité. Si cette dernière est vérifiée ($P > 5\%$) on évalue l'effet antioxydant avec le test paramétrique (ANOVA à deux facteurs suivi d'un test New Man et Keuls si $p < 0.05$) au revanche si la normalité n'est pas vérifiée ($P < 5\%$) on opte pour le test non paramétrique (test de Kruskal Wallis). Les valeurs trouvées peuvent affirmer que les échantillons sont différents avec un risque d'erreur P (si $P > 0,05$ la différence est non significative et si $p < 0,05$ donc la différence est significative).

On finit l'analyse avec le test de corrélation entre les trois tests antioxydants ABTS, DPPH et FRAP avec le test de régression linéaire (Plus R s'approche de 1 ou de -1 la relation est meilleure, cette dernière est d'autant faible lorsque R s'approche de 0) en utilisant le Microsoft Excel 2007.

Chapitre III

Résultats et discussions

III. Résultats et discussions

III.1. Evaluation de quelques caractéristiques physico-chimiques de la propolis

III.1.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale

Les teneurs en matières sèches et en eau sont répertoriés dans le tableau X.

Tableau X : Taux d'humidité et de matière sèche des différentes propolis étudiées.

Echantillon	Humidité (H%)	Matière sèche (MS) %
P1	4,24 ± 0,59	95,76 ± 0,59
P2	3,74 ± 0,49	96,26 ± 0,49
P3	4,82 ± 0,70	95,18 ± 0,70
P4	4,53 ± 0,61	95,47 ± 0,61
P5	4,77 ± 0,28	95,23 ± 0,28
P6	3,38 ± 0,90	96,62 ± 0,90
P7	4,00 ± 0,27	95,99 ± 0,27
P8	4,34 ± 0,08	95,66 ± 0,08
P9	4,73 ± 0,53	95,28 ± 0,53

A partir du tableau X il est constaté que les échantillons de propolis sont pauvres en eau et en matières volatiles, ce qui procure à celle-ci sa structure solide.

Les analyses de nos résultats ont révélé un taux d'humidité compris entre 3,38 ± 0,90 % à 4,82 ± 0,70 %. Cela signifie que le quasi totalité du poids de la propolis est constitué par la matière sèche (95,18 ± 0,70 % à 96,62 ± 0,90 %). Comparativement aux propolis d'argentine étudié par TOZI et al. (2006) qui ont trouvé des valeurs de teneur en eau allant de 1,4% à 6,2%, les valeurs obtenues dans la présente étude sont en concordance avec celles-ci. Contrairement aux résultats trouvés par FERHOUM (2010), qui a trouvé des taux d'humidité compris entre 1,26% à 3,89% nos résultats sont légèrement supérieurs, et cela peut s'expliquer par les conditions de stockage ainsi que les conditions climatiques qui peuvent influencer cette proportion (FERHOUM, 2010).

III.1.2. Détermination de la teneur en cendre et en matière organique

Le taux de cendre nous renseigne sur la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon de propolis, et par déduction le taux de la matière organique présent dans le même échantillon. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau XI.

Tableau XI : Taux de cendre et de matière organique des différentes propolis étudiées.

Echantillon	Teneur en matière organique (MO)%	Teneur en cendre (TC)%
P1	95,48 ± 0,61	4,52 ± 0,61
P2	95,98 ± 0,24	4,02 ± 0,24
P3	95,98 ± 0,09	4,02 ± 0,09
P4	96,38 ± 0,10	3,62 ± 0,10
P5	93,53 ± 0,09	6,47 ± 0,09
P6	97,44 ± 0,24	2,56 ± 0,24
P7	92,88 ± 0,06	7,12 ± 0,06
P8	91,47 ± 0,27	8,53 ± 0,27
P9	94,89 ± 0,47	5,11 ± 0,47

La teneur en cendre de nos échantillons varie entre 2,56 ± 0,24 % (pour la P6 qui présente le taux le plus faible en cendre) à 8,53 ± 0,27 % (pour la P8 qui présente le taux le plus élevé), ce qui déduit que la propolis est riche en matière organique (91,47 ± 0,27 % à 97,44 ± 0,24 %). Les taux des cendres obtenus dans cette présente étude sont en concordance avec la littérature (5%) (BANKOVA et *al.*, 1987 ; KRELL, 1996), sauf pour la P5, P7 et P8 qui présentent des taux légèrement supérieurs de l'ordre de 6,47 ± 0,09 %, 7,12 ± 0,06 % et 8,53 ± 0,27 %.

III.2. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que le rendement d'extraction varie de 29,38% à 70,58% pour les extraits éthanoliques et de 22,41% à 60,72% pour les extraits acétates d'éthyles. Cette variation dépend du type de solvant ainsi que la provenance de la propolis, ce qui prouve la complexité de la composition de la propolis.

Les rendements d'extractions de la propolis sont répertoriés dans le tableau XII ci-dessous.

Tableau XII : le rendement des extraits éthanoliques et acétates d'éthyles de la propolis de différentes régions.

Extraits	Rendement des extraits éthanoliques (%)	Rendement des extraits acétates d'éthyles (%)
P1	68,42	53,65
P2	32,79	31,75
P3	46,57	44,02
P4	70,56	60,72
P5	62,15	46,77
P6	31,05	29,72
P7	29,38	22,41
P8	53,92	53,10
P9	47,42	46,72

D'après les résultats obtenus dans cette étude, nous constatons que les extraits de propolis à l'éthanol ont montré des rendements d'extraction meilleurs avec des pourcentages allant de 29,38% à 70,58% contre 22,41% à 60,72% pour les extraits de propolis à l'acétate d'éthyle.

Pour les deux solvants, la P4 présente les meilleurs rendements avec des pourcentages de 70,56% et 60,72% respectivement pour l'extraction à l'éthanol et pour l'extraction à l'acétate d'éthyle. Les plus faibles rendements ont été enregistrés pour la P7, qui a présenté des rendements de 29,38% pour l'extraction à l'éthanol et 22,41% pour l'extraction à l'acétate d'éthyle, les autres propolis présentent des rendements moyens qui varient de 31,05% à 62,15% pour l'extraction à l'éthanol et de 27,72% à 53,10% pour l'extraction à l'acétate d'éthyle.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par (SILVA et *al.*, 2006) sur la propolis brésilienne, ou des taux allant de 40,70% à 73,90% ont été enregistré pour l'éthanol à 70%.

Les différences entre les rendements d'extraction et les concentrations sont liées aux caractéristiques de la propolis brute influencées par, la saison de récolte, les espèces d'abeilles et la flore régionale (POPOVA *et al.*, 2010), ainsi que le solvant utilisé lors de l'extraction.

III.3. Dosage des polyphénols totaux

La méthode de Folin-Ciocalteu est réalisée afin d'estimer la quantité des polyphénols totaux des différents extraits de propolis à étudier. Une droite d'étalonnage est réalisée avec de l'acide gallique à des concentrations allant de 0 à 200 ug/mL ; des mesures de la densité ont été réalisées à une absorbance de 760 nm pour chaque extrait.

L'ensemble des résultats obtenus concernant le dosage des polyphénols totaux des extraits éthanoliques et acétates d'éthyles des différents types de propolis sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la propolis brute (mg EAG/g M brute) et déterminés par l'équation $y = 0,0042x$ (figure 15).

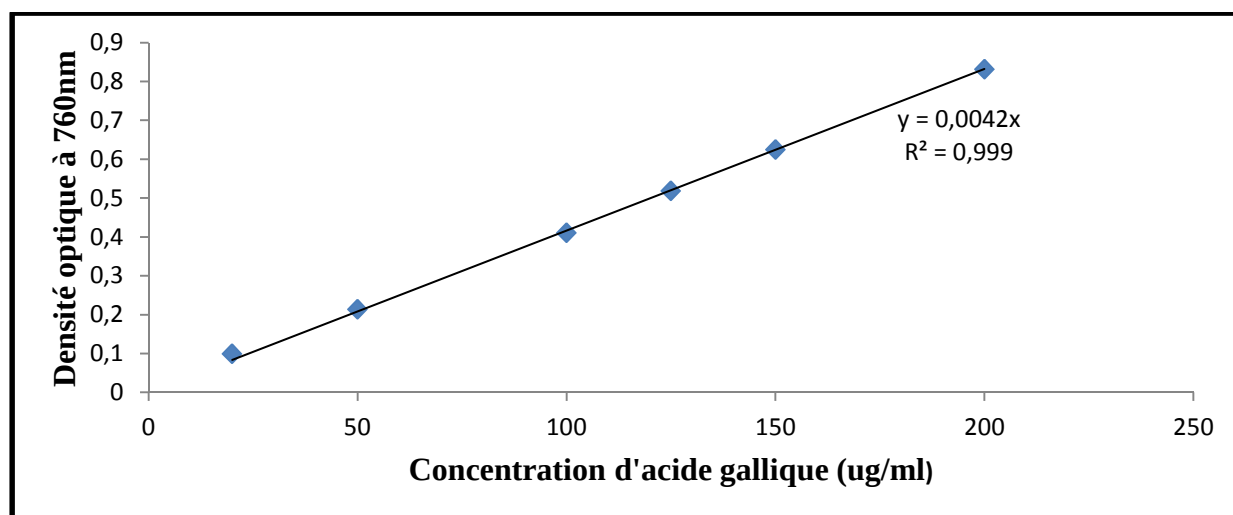


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les teneurs en composés phénoliques des deux types d'extraits, éthanoliques (EEP) et d'acétate d'éthyle (EAP), des différents types de propolis sont présentées dans la figure 16 et 17.

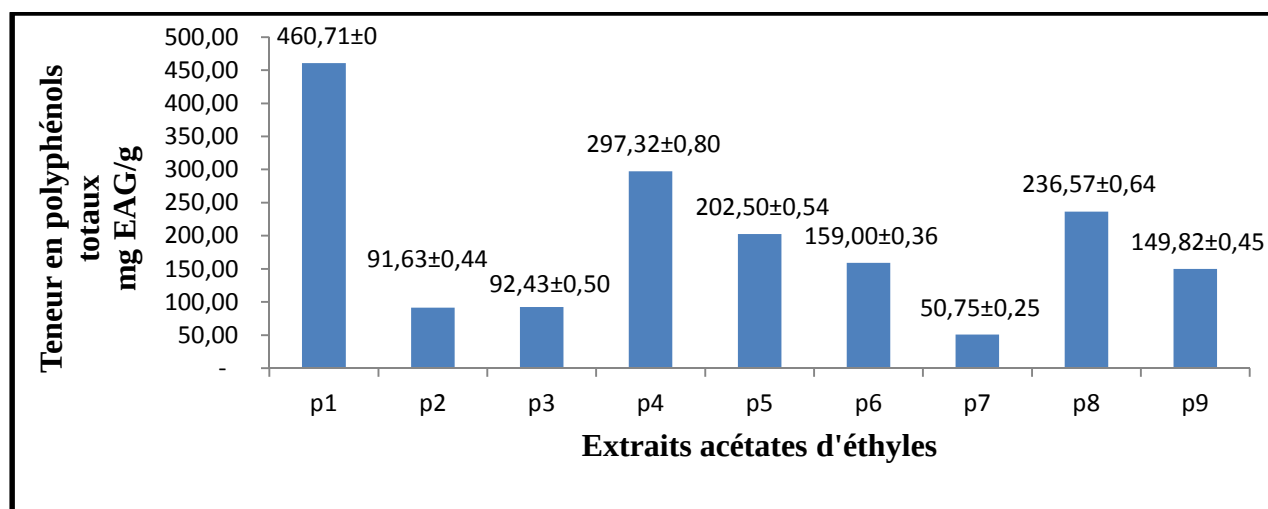


Figure 16 : Teneur en polyphénols des extraits acétates d'éthyles (EAP).

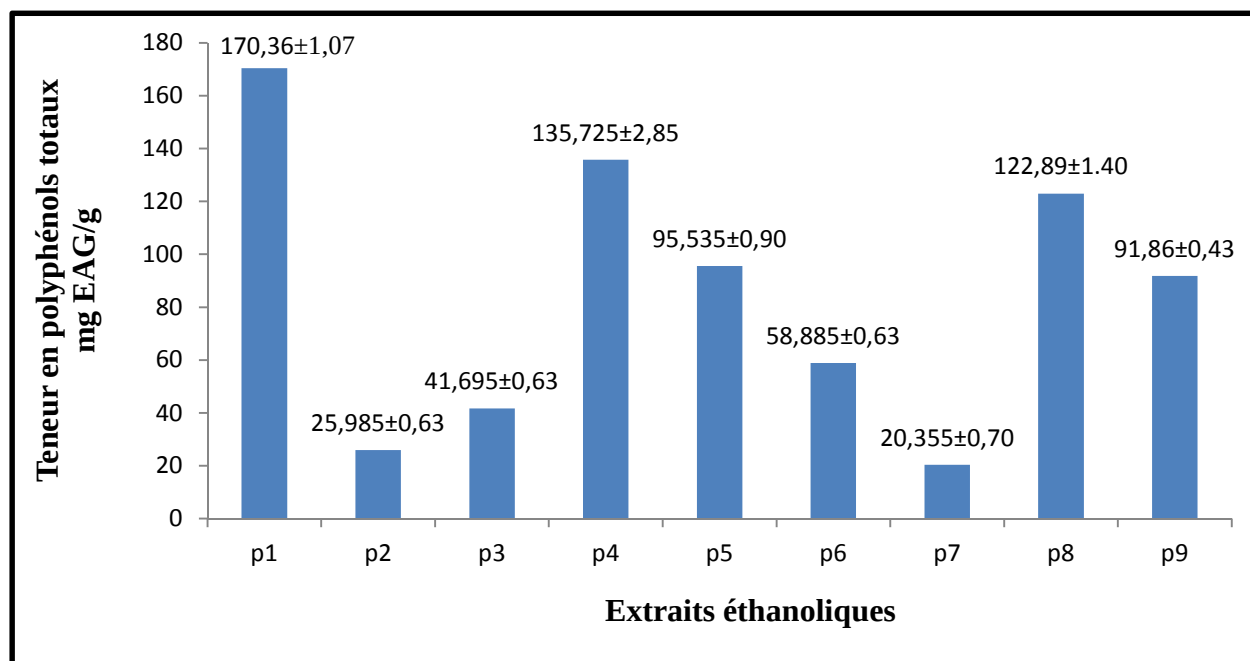


Figure 17 : Teneur en polyphénols des extraits éthanoliques (EEP).

Compte tenu des résultats obtenus représentés par les figures 16 et 17 ainsi prouvés statistiquement, nous remarquons que la teneur en polyphénols totaux est différente d'une façon significative ($p \text{ value} < 0.05$) d'un échantillon à un autre. Les teneurs en composés phénoliques des extraits d'acétate d'éthyle des neufs extraits de propolis varient de $50,75 \pm 0,25$ à $460,71 \pm 00$ (mg EAG/g de propolis) et de $20,36 \pm 0,71$ à $170,36 \pm 1,06$ (mg EAG/g de propolis) pour les extraits éthanoliques. On remarque que les extraits d'acétates

d'éthyles de propolis contenaient des concentrations plus élevées en polyphénols que ceux obtenues avec de l'éthanol comme solvant.

Les extraits P1, P4 et P8 ont montré les plus fortes concentrations des polyphénols avec des concentrations de l'ordre de $460,71 \pm 0$, $297,32 \pm 0.8$ et $236,57 \pm 0.64$ (mg EAG /g de propolis) pour les extraits acétates d'éthyles et de l'ordre de $170,36 \pm 1.07$, $135,73 \pm 2.8$ et $122,89 \pm 1.4$ (mg EAG /g de propolis) pour les extraits éthanoliques. Tandis que les extraits P2, P3 et P7 ont les plus faibles concentrations en polyphénols avec des concentrations de l'ordre de $91,63 \pm 0.44$, $92,43 \pm 0.5$ et $50,75 \pm 0.25$ (mg EAG/g de propolis) pour les extraits acétates d'éthyles et de l'ordre de $25,99 \pm 0.62$, $41,70 \pm 0.62$ et $20,36 \pm 0.72$ (mg EAG/g de propolis) pour les extraits éthanoliques. Pour le reste des extraits, les concentrations sont moyennes et varient de 149.82 ± 0.45 à $202,5 \pm 0.54$ (mg EAG/g de propolis) pour les extraits acétates d'éthyles et de $58,89 \pm 0.73$ à $95,54 \pm 0.89$ (mg EAG/g de propolis) pour les extraits éthanoliques.

Nos résultats sont en accord à ceux trouvés par KALOGEROPOULOS et *al.*, (2009) qui rapportent des teneurs en polyphénols totaux chez diverses propolis grecques variables entre 80.2 à 338.5 (mg EAG/g de propolis). A l'exception de l'extrait acétate d'éthyle de propolis (P1) récoltée à Bouzeguene, qui présente une teneur plus élevée qui est de 460.71 ± 0 mg EAG/g de propolis. Des résultats menés par DEVEQUI et *al.*, (2018) sur différents extraits de propolis montrent des teneurs de 113,41 à 481,59 (mg EAG/g de propolis). Une autre étude sur la propolis algérienne, montre des teneurs en polyphénols totaux oscillant entre 55 à 279 (mg EAG/g de propolis) pour les extraits éthanoliques et de 70 à 293 (mg EAG/g de propolis) pour les extraits acétates d'éthyles (MOKHTARIA, 2014).

Cette grande différence entre les différents extraits de propolis sur le plan de leur contenu en polyphénols serait liée à l'origine géographique des échantillons, ainsi qu'à leurs propriétés physico-chimiques. Ceci est démontré par BANKOVA (2005) et CHEN et *al.*, (2008), qui avaient fait des observations similaires et avaient attribué ces variations dans la composition de la propolis en polyphénols aux changements saisonniers, à la race des abeilles, la phénologie des plantes et de la végétation du site de collecte.

III.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une

méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (DEFRAIGNE et *al.*, 2009).

III.4.1. Evaluation de l'activité anti radicalaire par ABTS (2,2-azini-bis-3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)

Le test de décoloration du radical cationique ABTS^{•+} dont le spectre d'absorption maximal est à 734nm est souvent utilisé pour évaluer la capacité de l'extrait à donner un atome d'hydrogène ou un électron, et par conséquent exhiber une activité anti radicalaire (RE et *al.*, 1999). La valeur IC₅₀ désigne la concentration en polyphénols nécessaire pour inhiber 50% du radical ABTS^{•+}, elle est calculée à partir de l'équation de régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration des composés phénoliques testés (Annexe 13 à 48). Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} sont enregistrés dans le tableau XIII.

Tableau XIII : les IC₅₀ des différents extraits éthanoliques et acétates d'éthyles données par le teste de l'ABTS.

Extraits de propolis et standard	IC ₅₀ des Extraits acétates d'éthyles et standard en (mg/mL)	IC ₅₀ des extraits éthanoliques en (mg/mL)
Acide ascorbique	0,026	/
P1	0,044 ± 0,001	0,048 ± 0,0002
P2	0,043 ± 0,002	0,022 ± 0,0006
P3	0,035 ± 0,001	0,027 ± 0,0004
P4	0,040 ± 0,0007	0,040 ± 0,0004
P5	0,033 ± 0,001	0,038 ± 0,0002
P6	0,038 ± 0,002	0,069 ± 0,0003
P7	0,022 ± 0,0007	0,022 ± 0,0005
P8	0,044 ± 0,003	0,025 ± 0,001
P9	0,021 ± 0,0000095	0,025 ± 0,001

D'après les résultats obtenus, les différents extraits renferment une activité anti-radicalaire très intéressante, qui se manifeste par des valeurs d'IC₅₀ relativement faibles variantes de 0,021 à 0,069 mg/mL. Cette variation est statistiquement significative (*p value* < 0.05). Ces résultats peuvent être attribués aussi aux fortes concentrations de composés phénoliques disponibles dans la propolis. Toutes les IC₅₀ obtenues sont proches de celle de l'acide ascorbique (0,026mg/mL), Ceci montre que tous les extraits ont une capacité réductrice proche de celle de l'acide ascorbique.

Les extraits éthanoliques présentent une forte activité anti-radicalaire avec des valeurs d'IC₅₀ relativement faibles variantes de $0,022 \pm 0,0005$ à $0,027 \pm 0,0004$ mg/mL, sauf pour la propolis de Bouzeguene, Imsouhal, Maâtka et Yakouréne qui présente des valeurs d'IC₅₀ légèrement élevées de l'ordre de $0,048 \pm 0,0002$, $0,040 \pm 0,0004$, $0,038 \pm 0,0002$ et $0,069 \pm 0,0003$ mg/mL respectivement pour la P1, P4, P5, et P6.

En revanche les extraits acétates d'éthyles ont montré une activité anti-radicalaire moins importante que celle des extraits éthanoliques, avec des valeurs d'IC₅₀ légèrement supérieures qui varient de 0,033 à 0,044 mg/mL. Sauf pour la p7 et p9 qui ont présenté une forte activité anti-radicalaire avec des valeurs d'IC₅₀ relativement faibles et même inférieures à celle de l'acide ascorbique ($p7=0,022 \pm 0,0007$ mg/mL et $p9=0,021 \pm 0,0000095$ mg/mL).

Les IC₅₀ trouvés dans cette étude sont légèrement supérieurs de celle trouvée par EL GHENDOUIZ et *al.*, (2017), qui ont mené des travaux sur l'activité antioxydante de la propolis marocaine, et qui présente une activité très importante exprimée par une IC₅₀ de 0,016 mg/mL. Les valeurs d'IC₅₀ des extraits éthanoliques de la P1 ($0,048 \pm 0,0002$ mg/mL) et la P6 ($0,069 \pm 0,0003$ mg/mL) trouvés dans cette étude sont similaires à celle trouvée par SURIYATEM et *al.*, (2017) qui ont rapporté une valeur d'IC₅₀ de 0,054 mg/mL.

III.4.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire par DPPH

Les résultats concernant l'activité antiradicalaire (test au DPPH) des extraits éthanoliques et acétates d'éthyles de la propolis sont représentés dans les figures 20 et 21 et le tableau XIV. Ils sont exprimés en mg/mL par la concentration inhibitrice à 50 % (IC₅₀). Cette dernière correspond à la concentration des polyphénols nécessaire pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH[•]. L'IC₅₀ est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire. Tous les IC₅₀ sont calculés à partir de l'équation de régression

linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration des composés phénoliques présents dans les différents extraits testés (Annexe 49 à 84).

Tableau XIV : Les IC₅₀ des différents extraits éthanoliques et acétates d'éthyles données par le teste du DPPH.

Extraits de propolis et standard	IC ₅₀ des extraits acétates d'éthyles et standard en (mg/mL)	IC ₅₀ des extraits éthanoliques en (mg/mL)
Acide ascorbique	0,11	/
P1	0,26 ± 0,004	0,08 ± 0,005
P2	0,27 ± 0,0006	0,13 ± 0,010
P3	0,38 ± 0,009	0,15 ± 0,005
P4	0,20 ± 0,0002	0,08 ± 0,003
P5	0,11 ± 0,003	0,09 ± 0,0005
P6	0,44 ± 0,032	0,13 ± 0,004
P7	0,36 ± 0,037	0,08 ± 0,001
P8	0,08 ± 0,0009	0,15 ± 0,003
P9	0,07 ± 0,002	0,29 ± 0,011

Tous les extraits ont un pouvoir anti radicalaire envers le DPPH[•], plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. Tenir compte des résultats illustrés dans le tableau X. On constate que les activités antiradicalaires des extraits de la propolis sont assez importantes. On remarque aussi que le pouvoir antiradicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration.

Concernant l'activité antiradicalaire des extraits testés, nous remarquons que les extraits éthanoliques représentent une forte activité avec des valeurs IC₅₀ qui varient entre 0,08 à 0,29 (mg/mL). Et cela, est du fait que certains de ces extraits ont des valeurs IC₅₀ inférieures à celle de l'acide ascorbique qui est de 0.11 (mg/mL) pour les extraits éthanoliques P1, P4, P5 et P7 avec des valeurs d'IC₅₀ de 0,08 ± 0,005, 0,08 ± 0,003, 0,09 ± 0,0005 et 0,08 ± 0,001 mg/mL, respectivement ; d'autres extraits ont des valeurs proche tels que P2, P3, P6 et P8 avec des valeurs de 0,13± 0,010, 0,15 ± 0,005, 0,13 ± 0,004 et 0,15 ± 0,003 mg/mL,

respectivement ; tandis que, l'extrait éthanolique P9 se manifeste avec une valeur élevée de l'ordre de $0,29 \pm 0,011$ mg/mL.

En revanche, les extraits acétates d'éthyles représentent une activité radicalaire moins importante comparant aux extraits éthanoliques (les différences sont statistiquement significatives car la $p\text{ value} < 0.05$) ; avec des valeurs d'IC₅₀ variantes entre 0,07 à 0,44 mg/mL. Cependant, les extraits acétates d'éthyles P5, P8 et P9 représentent une forte activité avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre de $0,11 \pm 0,003$, $0,08 \pm 0,0009$ et $0,07 \pm 0,002$ mg/mL, respectivement ; au moment où le reste des extraits ont une faible activité avec des valeurs allant de $0,20 \pm 0,0002$ à $0,44 \pm 0,032$ mg/mL.

Selon les résultats enregistrés, les extraits acétates d'éthyles (IC₅₀ = 0,07 à 0,44 mg/mL) et éthanoliques (IC₅₀ = 0,08 à 0,29 mg/mL) de propolis ont montré des valeurs d'IC₅₀ proches de celles trouvées par MOKHTARIA (2014), qui ont trouvé des valeurs d'IC₅₀ des extraits éthanoliques de l'ordre de 0,019, 0,034 et 0,024 mg/mL respectivement pour la propolis de Tizirt, Ain El Arba et Yennarou. Et de l'ordre de 0,016, 0,027 et 0,019 mg/mL pour les extraits acétates d'éthyles de la propolis de Tizirt, Ain El Arba et Yennarou respectivement.

Les extraits éthanoliques de la propolis provenant du Portugal ont montré que les valeurs d'IC₅₀ obtenues sont de l'ordre de 0,006 et 0,052 mg/mL respectivement pour les propolis de Bornes et Funddao (LEANDRO et al., 2008). Ces résultats sont inférieurs à ceux du présent travail, ceci nous permet de dire que nos extraits de propolis ont un pouvoir antiradicalaire moins important que celui de la propolis de Portugal. Cette différence de valeur est due à la composition chimique de ces extraits de propolis, le type du solvant lors de l'extraction, l'origine botanique et beaucoup plus le climat.

III.4.3. Evaluation de l'activité anti radicalaire par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Pour comparer entre les activités des différents extraits, la procédure est de déterminer graphiquement le PR_{0,5} qui est définie comme la concentration d'un composé en mg/mL qui donne une densité optique de 0,5 à 700 nm (tableau XV) qui est inversement proportionnelle au pouvoir réducteur (ARDESTANI et YAZDANPARAST, 2007).

Tableau XV : Concentration des extraits donnant après réduction du ferrocyanure de potassium une absorbance de 0,5 ($PR_{0,5}$).

Extraits de propolis et standard	Concentration des extraits acétates d'éthyles donnant une $DO=0,5$ à 700nm en (mg/mL)	Concentration des extraits éthanoliques donnant une $DO=0,5$ à 700nm en (mg/mL)
Acide ascorbique	0,020	/
P1	$0,040 \pm 0,002$	$0,037 \pm 0,002$
P2	$0,087 \pm 0,005$	$0,037 \pm 0,002$
P3	$0,050 \pm 0,003$	$0,042 \pm 0,001$
P4	$0,036 \pm 0,001$	$0,055 \pm 0,0003$
P5	$0,031 \pm 0,001$	$0,039 \pm 0,0005$
P6	$0,055 \pm 0,001$	$0,036 \pm 0,0005$
P7	$0,036 \pm 0,001$	$0,037 \pm 0,0007$
P8	$0,039 \pm 0,002$	$0,039 \pm 0,001$
P9	$0,023 \pm 0,0009$	$0,041 \pm 0,0008$

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur est en fonction de la concentration des extraits éthanoliques et acétates d'éthyles de la propolis (Annexe 85 à 120). Ces résultats sont comparés entre eux (les différentes régions et solvants) et avec celle d'un antioxydant de référence (acide ascorbique).

L'analyse des résultats dévoile que le pouvoir réducteur se rapproche d'une région à une autre et d'un solvant à un autre. Démontrées par l'étude statistique, les différences entre les échantillons sont statistiquement non significatives ($p \text{ value} > 0.05$). Mais dans l'ensemble, tous les extraits renferment un potentiel réducteur très important qui se manifeste par des valeurs faibles de $PR_{0,5}$ dues à leur puissance réductrice élevée. En revanche tous les $PR_{0,5}$ sont supérieurs à celle de l'acide ascorbique ($PR_{0,5} = 0.020 \text{ mg/mL}$). Ceci montre que tous les extraits ont un potentiel réducteur inférieur à celui de l'acide ascorbique.

Le potentiel réducteur des différents extraits varie de 0.031 à 0.087 mg/mL, sauf pour l'extrait acétate d'éthyle de la région de Bounouh (Boghni) (p9) qui a présenté une activité réductrice plus importante que les autres extraits, qui se manifeste par une valeur faible de

PR_{0,5} de l'ordre de $0.023 \pm 0,0009$ mg/mL et très proche de celle de l'acide ascorbique. Par contre les extraits acétates d'éthyles de la P2 et P6 ainsi que l'extrait éthanoïque de la P4 ont présenté la plus faible activité réductrice avec des valeurs de PR_{0,5} de l'ordre de $0,087 \pm 0,005$, $0,055 \pm 0,001$ et $0,055 \pm 0,0003$ mg/mL respectivement.

Nos résultats ont été comparés avec ceux de la propolis de Tigzirt étudiée par AKNOUCHE et ARICHE (2018) qui ont trouvé des PR_{0,5} proche de ceux trouvés dans notre étude (0,035 mg/mL) pour l'extrait acétate d'éthyle de propolis. Et celui de la propolis de Portugal qui présente un pouvoir réducteur très élevé comparant à nos extraits (PR_{0,5} = 0,009 mg/mL) (LEANDRO et *al.*, 2008). Cet écart peut être expliqué par la différence de la nature de la flore botanique de l'Algérie et celle du Portugal qui est le principal facteur responsable de sa composition spécifique. Cette composition dépend de différents facteurs tels que la végétation, la saison et les conditions environnementales du site de la collecte.

III.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

La méthode d'aromatogramme (diffusion sur disques) est la méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits de propolis, vis-à-vis trois souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas auduginosa* ATTC271853. La présence ou l'absence d'une activité bactérienne se manifeste par l'apparition ou non des zones d'inhibitions autour des disques. Le diamètre des ces dernières est estimé en mm.

L'ensemble des diamètres des zones d'inhibitions sont représentés sur le tableau XVI et la figure 24 pour les extraits éthanoliques et le tableau XVII et la figure 25 concernant les extraits acétates d'éthyles, vis-à-vis les trois souches bactériennes.

Tableau XVI : Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne $\pm$ écart type) exercées par les extraits éthanoliques étudiés sur *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853.

Souches Extraits éthanoliques	<i>Staphylococcus aureus</i> LGA251	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<i>Pseudomonas auduginosa</i> ATTC 271853
antibiotiques	33.5 $\pm$ 1.5mm	28 $\pm$ 2mm	27.16 $\pm$ 0.75mm
P1	14 $\pm$ 1mm	14.25 $\pm$ 0.75mm	13.5 $\pm$ 2.5mm
P2	17 $\pm$ 2mm	6mm	12 $\pm$ 2mm
P3	11.5 $\pm$ 0.5mm	6mm	12.75 $\pm$ 0.75mm
P4	20.5 $\pm$ 0.5mm	11.5 $\pm$ 0.5mm	14.5 $\pm$ 0.5mm
P5	6mm	9.5 $\pm$ 0.5mm	6mm
P6	6mm	6mm	10 $\pm$ 1mm
P7	6mm	6mm	6mm
P8	8.5 $\pm$ 0.5mm	6mm	6mm
P9	11.5 $\pm$ 0.5mm	8 $\pm$ 1mm	9.25 $\pm$ 0.25mm

Tableau XVII : Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne $\pm$ écart type) exercées par les extraits acétates d'éthyles étudiés sur *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC 271853.

Souches Extraits acétates d'éthyles	<i>Staphylococcus aureus</i> LGA251	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<i>Pseudomonas auruginosa</i> ATTC 271853
antibiotiques	33.5 $\pm$ 1.5mm	28 $\pm$ 2mm	27.16 $\pm$ 0.75mm
P1	11 $\pm$ 1mm	10 $\pm$ 0mm	9.75 $\pm$ 0.25mm
P2	6mm	6mm	6mm
P3	18 $\pm$ 0mm	11.25 $\pm$ 0.25mm	14.5 $\pm$ 0.5mm
P4	6mm	6mm	6mm
P5	6mm	6mm	6mm
P6	6mm	6mm	6mm
P7	6mm	6mm	6mm
P8	6mm	11.75 $\pm$ 0.25mm	6mm
P9	6mm	6mm	6mm

A partir des deux tableaux et les deux figures, nous constatons que certains des différents extraits de propolis représentent une activité antibactérienne plus importante par

rapport au reste des extraits, vis-à-vis les trois souches *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853. Cependant, l'analyse des données a également montré que les extraits éthanoliques sont plus actifs que les extraits acétates d'éthyles.

En effet, *Staphylococcus aureus* LGA251 est la souche la plus sensible face aux extraits éthanoliques avec des diamètres de l'ordre de 8.5 ± 0.5 , 11.5 ± 0.5 , 11.5 ± 0.5 , 14 ± 1 , 17 ± 2 et 20.5 ± 0.5 mm pour les extraits P8, P9, P3, P1, P2 et P4 respectivement, pour le reste des extraits P5, P6 et P7 ne représentent aucune activité pour la même souche. Ce test a montré également que la souche *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853 est aussi très sensible en contact avec les extraits éthanoliques P9, P6, P2, P3, P1 et P4 avec des diamètres variant de 9.25 ± 0.25 , 10 ± 1 , 12 ± 2 , 12.75 ± 0.75 et 14.5 ± 0.5 mm respectivement, tandis que, les extraits P5, P7 et P8 n'ont pas marqué de zone d'inhibition, donc ils n'ont pas d'activité pour la souche *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853. *Escherichia coli* ATCC25922 est la souche la moins sensible démontrée par ce test. En effet, quatre sur neuf extraits éthanoliques ont montrés une activité antibactérienne avec des diamètres de l'ordre de 8 ± 1 , 9.5 ± 0.5 , 11.5 ± 0.5 et 14.25 ± 0.75 mm pour les extraits P9, P5, P4 et P1 respectivement, en revanche les cinq restants sont inactives vis-à-vis de cette bactérie.

On remarque que la P4 est l'extrait éthanolique qui représente une forte activité antibactérienne, vis-à-vis les deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* LGA251 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853, avec des diamètres de zone d'inhibition respectivement de 20.5 ± 0.5 et 14.5 ± 0.5 mm. De son côté l'extrait éthanolique P1 présente une forte activité face à *Escherichia coli* ATCC25922 avec un diamètre de 14.25 ± 0.5 mm.

Quand aux extraits acétates d'éthyles, ils se manifestent avec une faible activité antibactérienne par rapport aux extraits éthanoliques, vis-à-vis les trois souches bactériennes testées. *Staphylococcus aureus* LGA251 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853 ont montré une forte sensibilité pour l'extrait P3 avec des diamètres respectivement de 18 ± 0 et 14.5 ± 0.5 mm, et une sensibilité moyenne pour la P1 avec 11 ± 1 et 9.75 ± 0.25 mm de diamètre, cependant le reste des extraits ne représente aucunes activités. De son côté, *Escherichia coli* ATCC25922 a marqué une sensibilité modérée pour les extraits P1, P3, P8 avec des diamètres de l'ordre de 10 ± 0 , 11.25 ± 0.25 et 11.75 ± 0.25 mm, et aucunes sensibilités pour le reste des extraits.

Les résultats obtenus dans cette présente étude sont en concordance avec les résultats apportés par KUJUMGIEV et *al.*, (1999) sur une bonne activité antibactérienne des échantillons de différentes régions géographiques (zones tropicales et tempérées) contre *Staphylococcus aureus* LGA251. En revanche leur étude a marqué une absence d'activité contre *Escherichia coli* ATCC25922, alors que durant notre étude on a observé une faible activité des différents extraits de propolis contre cette bactérie.

GRANGE et PAVEY (1990), ont apporté que les extraits éthanoliques de la propolis de Boiron et Cie, Lyon, France inhibent complètement la croissance de *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853. Les résultats de nos extraits éthanoliques ont marqué une similarité avec les résultats de cette étude avec une activité antibactérienne moins importante.

Nous avons obtenu des résultats proches des résultats de plusieurs régions de Tlemcen apportés par SOLTANI (2017) sur les extraits éthanoliques contre les deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* LGA251, *Escherichia coli* ATCC25922.

Toutes les activités antibactériennes enregistrées sont moins marquées que le contrôle positif utilisé (Gentamicine pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853, Lincomycine pour *Staphylococcus aureus* LGA251). Les résultats obtenus ont indiqué que l'existence de composés antimicrobiens dans des extraits éthanoliques est plus importante que dans les extraits acétates d'éthyles, et la différence d'activité antimicrobienne entre ces différents extraits de propolis pourrait s'expliquer par le type du solvant utilisé lors de l'extraction. En effet, il existe des différences de solubilisation des composés phénoliques dans les solvants (acétate d'éthyle et éthanol). Mais aussi au taux de polyphénols présents dans les différents extraits. Selon (BANKOVA, 2005; MARCUCCI, 1995) l'activité antimicrobienne est principalement due à quelques substances telles que les flavonoïdes, les terpènes, les acides phénoliques et leurs esters, qui génèrent une forte zone d'inhibition.

III.6. Analyse statistique

Après avoir testé la normalité des trois tests ABTS, DPPH, FRAP et le taux en polyphénols. Le test statistique Kolmogorov-Smirnov nous a montré que la normalité a été vérifiée dans le cas de l'ABTS et le taux en polyphénols, donc l'ANOVA à deux facteurs est le test choisi pour la suite de l'analyse statistique. Contrairement au deux testes restants DPPH et FRAP, la normalité n'était pas vérifiée, pour cela on fait appel au test non paramétrique Kruskal Wallis.

Les étapes et les résultats de l'analyse statistique de l'effet du solvant et la région sur l'activité antioxydante testées par les trois tests : ABTS, DPPH et FRAP, et sur le taux de polyphénols des extraits de propolis ont montré que :

Le type du solvant (soit éthanol ou acétate d'éthyle) représente un effet sur le taux en polyphénols des extraits étudiés et sur l'activité antioxydante évaluée avec le test : DPPH donc les différences sont significatives. Contrairement au pouvoir réducteur et le test ABTS, le solvant n'a pas d'influence, dans ce cas les différences ne sont pas significatives.

Cependant, la provenance de la propolis influence ainsi sur le taux de polyphénols des différents extraits de propolis et sur le pouvoir réducteur du test ABTS (surtout la région de Yakourene qui se manifeste avec un grand effet par rapport aux autres régions), de ce fait la différence entre les échantillons est significative. Au revanche, elle est non significative sur l'activité antioxydante des deux autres tests : DPPH et FRAP parce qu'elle ne représente aucun impacte sur ces derniers.

Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire DPPH/ABTS et le pouvoir réducteur (FRAP)

Pour déterminer la relation entre les trois tests ABTS, DPPH et FRAP nous avons procédé au test de régression linéaire, qui repose sur l'évaluation de la force de la liaison existante entre deux variables quantitatives, mesurable par le coefficient de corrélation linéaire R.

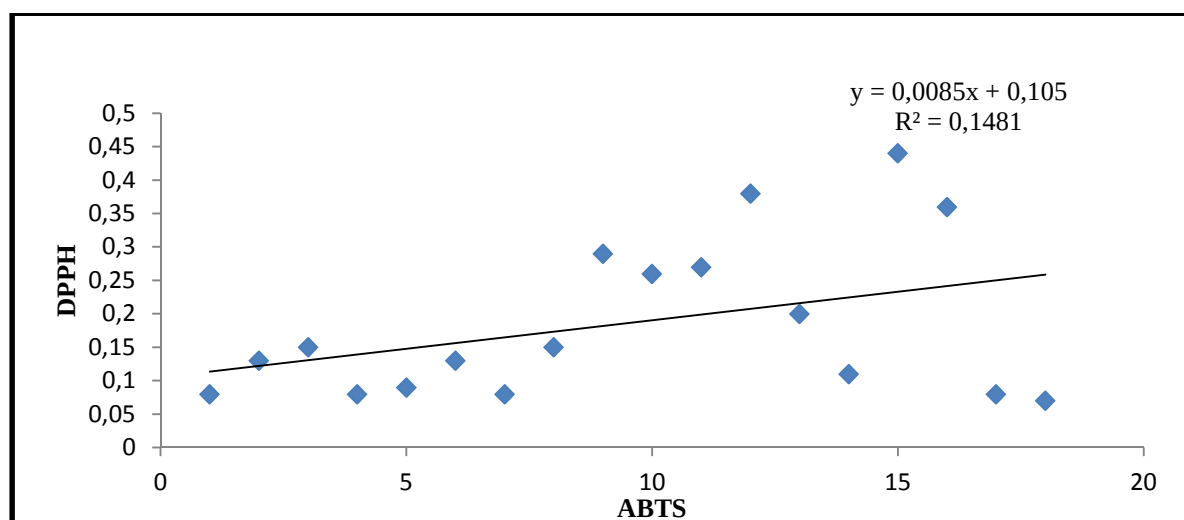


Figure 19 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire ABTS et DPPH

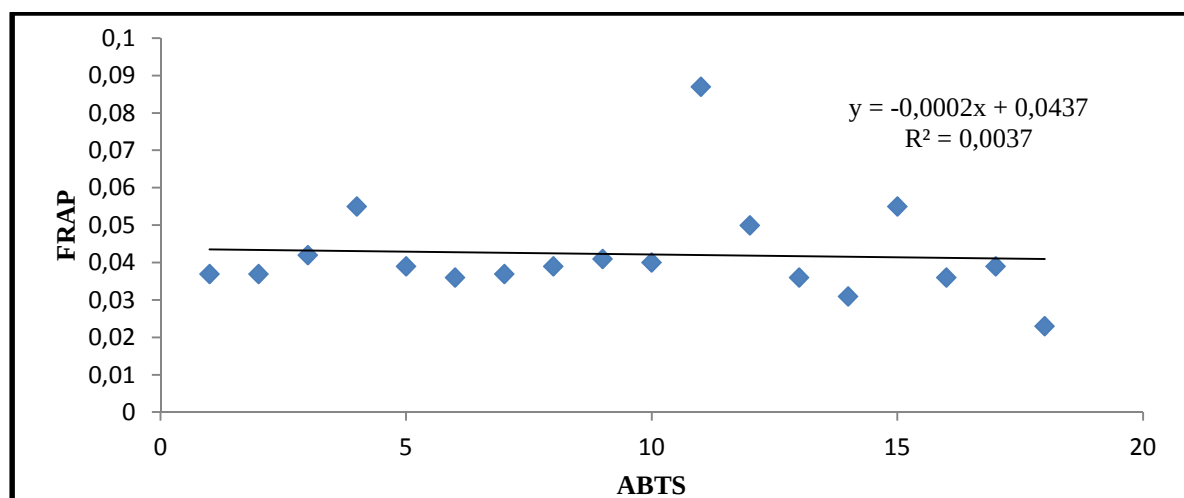


Figure 18 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire ABTS et le pouvoir réducteur

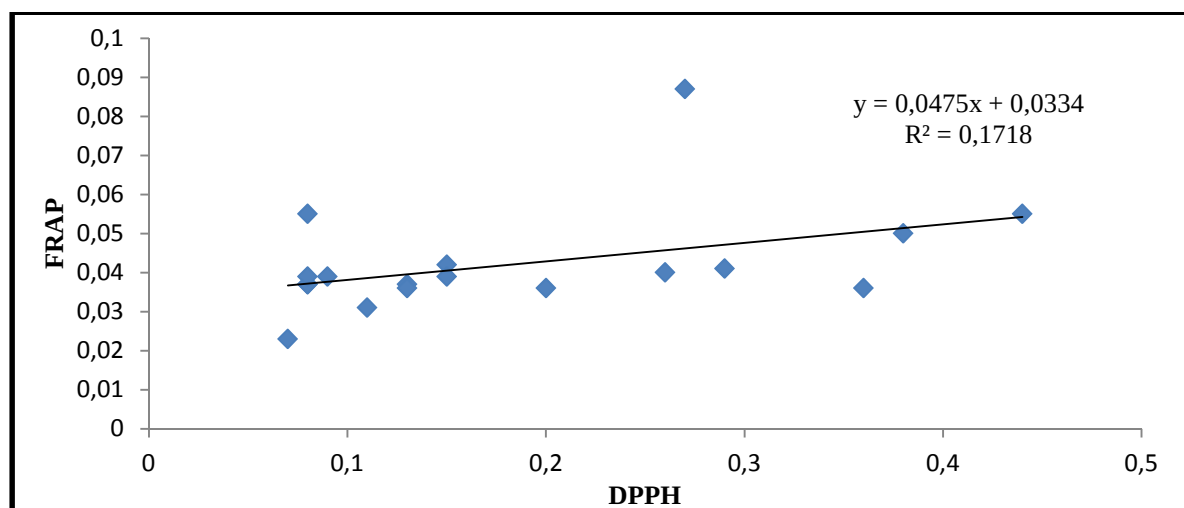


Figure 20 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire DPPH et le pouvoir réducteur

Les résultats des trois figures (26, 27 et 28) concernant les coefficients de corrélation montrent l'existence d'une corrélation positive faible entre l'activité anti-radicalaire estimée par le test de DPPH, et celle estimée par le test d'ABTS exprimée par un coefficient de corrélation de $R=0.38$ (figure 26), et entre le test de DPPH et le test FRAP avec un $R= 0.41$ (figure 27). Tandis que, entre le test ABTS et le test FRAP la corrélation est quasi absente avec un coefficient $R=0.06$ (figure 28). Cela peut être lié aux différents mécanismes adaptés par chacun des tests et la nature des composés responsables de l'activité antioxydante.

Conclusion

Conclusion

La présente étude a pour objectif l'évaluation des propriétés biologiques (antioxydantes et antibactériennes) de la propolis récoltée de neuf régions différentes du nord algérien, en utilisant deux solvants d'extractions (éthanol à 96% et acétate d'éthyle). Cette étude a donné des valeurs significativement différentes entre ces propolis. Ces variations sont attribuées à l'origine florale, à la zone géographique et aux conditions climatiques.

L'analyse physicochimique des propolis étudiées montre qu'elles sont pauvres en eau, elles contiennent un taux d'humidité compris entre 3,38% à 4,82%, avec un taux de matière sèche de 95,18% à 96,62%. Quand à la teneur en cendre elle varie de 2,56% à 8,53%, ainsi que des teneurs en matière organique élevées (91,47% à 97,44%). Les meilleurs rendements d'extraction ont été enregistrés pour les extraits éthanoliques des différentes propolis étudiées.

Concernant la composition en polyphénols totaux, l'ensemble des résultats obtenus a permis d'enregistrer des teneurs en polyphénols totaux très variables. Les teneurs en composés phénoliques des extraits d'acétates d'éthyle varient de 50,75 à 460,71 (mg EAG/g de propolis) et de 20,36 à 297,32 (mg EAG/g de propolis) pour les extraits éthanoliques. Les meilleurs taux sont enregistrés par les extraits acétates d'éthyle notamment la P1 qui a enregistré le taux le plus élevé (460.71 mg EAG/g).

L'étude de l'activité antioxydante des échantillons de propolis par l'évaluation de leurs pouvoirs anti-radicaux (test de DPPH et ABTS) et le pouvoir réducteur, a confirmé les propriétés puissantes des extraits de propolis à piéger les radicaux libres. Les extraits acétates d'éthyle ont montré une meilleure capacité réductrice. Spécialement l'extrait acétate d'éthyle de la propolis de Bounouh (P9), est révélé être le meilleur antioxydant pour les trois tests antioxydants, avec de très faibles valeurs d'IC₅₀ de l'ordre de 0,07 mg/mL pour le test de DPPH, 0,021 mg/mL pour le test de l'ABTS et 0,023 mg/mL pour le pouvoir réducteur (FRAP). Par contre, cette activité est moins importante pour les extraits éthanoliques et acétate d'éthyle de la région de Yakourene (P6) et l'extrait acétate d'éthyle de la région d'Azeffoune (P2) qui ont présenté des valeurs d'IC₅₀ légèrement élevées par rapport aux autres extraits.

Contrairement à l'activité antioxydante, l'effet antibactérien des différents extraits testés montre que les extraits éthanoliques sont plus actifs que les extraits acétates d'éthyle. En

Conclusion

effet, *Staphylococcus aureus* est la souche la plus sensible face aux extraits éthanoliques, suivis de la souche *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853. *Escherichia coli* ATCC25922 est la souche la moins sensible démontrée par ce teste. L'extrait éthanoïque de la région de Imsohal représente la plus forte activité antibactérienne, avec des diamètres d'inhibition de 20,5 mm et 14,5 mm vis-à-vis les deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* LGA251 et *Pseudomonas auruginosa* ATTC271853 respectivement.

En perspectives, il est intéressant de tester d'autres activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, antifongique, antivirale..., d'approfondir les recherches d'optimisation des procédés d'extraction, de fractionnement, et de caractériser d'autres composés qui peuvent avoir d'autres activités. Ainsi que des analyses in vivo pour détecter les effets thérapeutiques.

***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Ahmadkhniha R., Monoochehr H., Samadi N. et Shariatpanahi M.M. (2006). Chimical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Iranian biomedical journal*. **22(1)**: 50–65.

Aknouche S. et Ariche A. (2018). Bioactivités de biomolécules extraites à partir de biomasse de coproduits agricoles : propolis, cladodes du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) et grignons d'olives. Mémoire de master. Université de Tizi-Ouzou.

Alessandrini D., D'auria F.D., Pantanella F. et Scazzocchio F. (2006). Multiplicational aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research*. **161**: 327-333.

Anjum S. I., Amjad U., Khalid A.K., Mohammad A., Hikmatullah K., Hussain A., Muhammad A.B., Muhammad T., Mohammad J. A., Hamed A G., Nuru A. et Chandra K. D. (2018). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

Ardestani, A. and Yazdanparast, R. (2007) Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of Achilleasantolina Extracts. *Food Chemistry*, 104, 21-29.

Arvouet-Grand A., Legret P., Pourrat A. et Vennat B. (1994). Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. *Journal de Pharmacie de Belgique*. **4**: 462–468.

Bankova V et Sforcin J.M. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs?. *Journal of Ethnopharmacology*. **133 (92)**: 253-260.

Bankova V. (2005a). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*. **100 (12)**: 114-117.

Bankova V. (2005b). Recent Trends and Important Developments in Propolis Research. *Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine*. **2**: 29 – 32.

Bankova V., Castro S.L. et Marcucci M.C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*. **31**: 3-15.

Références bibliographiques

Bankova V., Dyalgerov A., et Popov S. (1987) A GC/MS study of the propolis phenolic constituents. *Zeitschrift fur Naturforschung*. **42**: 147-151.

Barlak Y., Bozdayi A. M., Deger O., Karatayli SC., olak M.C. et Yucesan F. (2011) Effect of Turkish propolis extracts on proteome of prostate cancer cell line. *Proteome Science*. **9**: article 74.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., &Boucherit, K.(2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredoliaaretioides* de la région de béchar en algérie. *Phytothérapie*, **12**, 364 – 371.

Bijoy, M., Jayati, S. et Prabir, K.S.(2008). Antioxidant activities of soybean as affected by *Bacillus*-fermentation to kinema. *Food Research International*. **41**:5586-593.

Brand-williams W., cuvelier M.E. etBerset C. (1995).Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*. **28** : 25-30.

Cardinault N., Cayeux M.O. EtPercie Du Sert P. (2012).La propolis: origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*. **10** : 298-304.

CASTALDO S. et CAPASSO F. (2002).Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. **73**: 1-6.

Cazzolli A.F., Ciappini M.C., Tapiz L.M. etTosi E.A. (2006). Physico-chemical characteristics of propolis collected in Santafe (Argentina). *Apiacta*, **41**: 110-120.

Chen J., Chen Q., Long Y., Han M. et Wang, T. (2008). Water-soluble derivative of propolis mitigates scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. **90**: 441-446.

Crane E. (1999). History of other products from bees the world history of beekeeping and honey hunting, Gerald Duckworth & Co Ltd, London, pp. 545-553.

Debuyser E. (1984). La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nante, Faculté de pharmacie.

Références bibliographiques

Defraigne J.O., Dommesa J., Keversa C., Pincemail J. et Tabart J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests.*Food Chemistry*. **113**: 1226-1233.

Dehmouche H., Leujeune B. et Pourrat A. (1988). Propolis utilisation en dermocosmétologie. *Parfums, Cosmétiques, Aromes* : 73-77.

Devequi-Nunes D., Souza Machado B.A., Barreto G.A., Silva J.R., da Silva D.F., da Rocha J.L.C., Brandão H.N., Borges V.M. et Umsza-Guez M.A. (2018). Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and super critical extraction.*PLoS ONE*, **13(12)**: e0207676.<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207676>.

Donadieu Y. (1981). Les produits de la ruche. 3^{ème} Edition, paris.

Dudnik A.L. (2017). Apithérapie en médecine bucco-dentaire. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. Université de Lorraine, Faculté d'odontologie.

El ghendouz S., AL-waili N., Aazaa S., Elamine Y., Zizi S., Al-waili T., Al-waili A. et Lyoussi B. (2017). Antioxidant and diuretic activity of co-administration of Capparis spinosa honey and propolis in comparison to furosemide.*Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. **10(10)**, 974–980.

El housseini N. (2013). Intérêts et Applications cliniques de la propolis en Médecine Bucco-dentaire. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. Université de Nantes.

Eon N. (2011). De la fleur à l'abeille, de l'abeille au miel, du miel à l'Homme : Miel et autres produits de la ruche. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Nantes, Faculté de pharmacie.

Fearnley J. (2001). Bee propolis: natural healing from the hive. Souvenir Press London, pp. 172.

Ferhoum F. (2010). Analyses physico-chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et deux races d'abeilles locales (*Apis mellificaintermissa* et *Apis*

Références bibliographiques

mellificasahariensis). Mémoire de magister. Université m'hamedbougaraBoumerdès, Faculté des sciences de l'ingénieur

Gardana C et Simonetti P. (2011).Evaluation of allergens in propolis by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry.*Rapid Communications in Mass Spectrometry*. **25**: 1675–82.

Gervaise Y. (2004). Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits Euroforum-polyphénols, Paris, France.

Ghedira K. (2005). Les flavonoids : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emploi en thérapeutique. *Phytothérapie*. **4** : 162-169

Ghedira K., Goetz P. et Le Jeune R. (2009). Propolis. *Phytothérapie*. **7**:100-105.

Ghisalberti E. L. (1979).Propolis: a review, *Bee World*. **60**: 59–84.

Ghisalberti E.L., Jefferies, P.R., Lanteri R. et Matisons J. (1978). Constituents of propolis.*Experientia*.**34** (2): 157-158.

Golder W., (2004).Propolis. The bee glue as presented by the graeco roman literature. *WurzburgerMedizinhistorischeMitteilungen journal*.**23**: 133-145.

Gorecki M., Kurek-Gorecka A., Rzepecka-Stojko A., Stojko J., Sosada M. et Swierczek-Zieba G. (2014). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*.**19** (1): 78-101.

Grange J.M. et Pavey R.W. (1990).Antibactérialphropeties of propolis (bee glue).Journal of the Royal Society of Medecine, **83**(3):159-160.

Gülçin I., Oktay M., Kirreççi E. etKufrevioglu O.I. (2003).Screening of antioxydant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinellaanisum* L.) seed extracts.*Food Chemistry*.**83**:371-381.

Harborne J.B. (2000).Advanced in flavonoid research since 1992.*Phytochemistry*, **55**: 481-504.

Références bibliographiques

Havsteen B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoïds. *Pharmacology and Therapeutique*. **96**: 67-202.

Hegazi A.G., Rashed, A. et Tossoun Z.A. (1997). Honey and propolis as management of chronic skin ulcers. *International Symposium on Apitherapy*, Cairo 8-9th, March.

Higashi K.O. (1995). Effect of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosomacruzi*. *Journal Ethnopharmacology*. **46**: 55-8.

Hrytsenko V.I., Pryakhin R. et Tyjhonov O. (1977). Study on the polysaccharide preparation propolis. *FarmatseytychnyiZhurnal*, **32**: 92-93.

Kalogeropoulos N., Karathanos V., Konteles S.J., Mourtzinos I. et Troullidou E. (2009). Chemical composition, antioxydant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cryrus. *Food Chemistry*. **116**: 452-461.

Kocot J., Kielczykowska M., Luchowska-Kocot D., Kurzepa J. et Muslik I. (2018). Antioxydant Potentiel of Propolis, Bee pollen and Royal Jelly: Possible Medical Application. *OxydativeMedecine and Cellular Longevity*.

Krell R. (1996). Value – edded products from beekeeping. *Food and Agriculture Organization of the United Nations Rone*. Chapitre 5.

Kujumjiev A., Bankova V., Popov S., Serkedjieva Y.S et Tsvetkova I. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Enthnopharmacology*, **64(3)**: 235-240.

Lavie P (1975). La propolis. Edition : Apimondia. Bucharest, Paris.

Leandro M., Luis G., Jose Alberto Pereira D. et Estevinho L. (2008). Antioxydant properties, total phenol and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and chemical toxicology*. **46**, 3482-3485.

Marcucci M.C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. **26** (2), 83–99.

Références bibliographiques

Miranda M.B., Lanna M.F., Narscimento A.L.B., de Pouda C.A., de Sousa M.E., Felipetto M., da Silva Barcelos L. et Moura S.A.L. (2018). Hydrolic extract of Brazilian green propolis modulate inflammatory process in mice submitted to a low protein diet. *Biomedecine and Pharmacotherapy*. **109**:610-620.

Mokhtaria Y.B. (2014). Exploration du potentiel antimicrobien et antioxydant de la Propolis d'Algérie. Thèse de doctorat en science. Université Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*. **26 (2)**: 211-219.

Moudir N. (2004). Les polyphénols de la propolis algérienne. Université Mohamed Boudiaf, M'silla.

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*. **44**: 307-315.

Philippe J. M. le guide de l'apiculteur, Troisième Edition EDISUD, 1999, p.1087.

Pierre T. P., Yeys L.C. (2005). Apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher. *Edition Lavoisier*.

Popova M., Giannopoulou E., Skalicka-wozniak K., Grainou K., Widelbki J., Bankova V., Kalofonos H., Sivolapenko G., Gaval-Beben K., Antosiewicz B. et Chinou I. (2017). Characterisation and biological evaluation of propolis from Poland. *Molécule*. **22(7)**:1159.

Popova, M.P., Graikou, K., Chinou, I., Bankova, V.S., (2010). GCMS profiling of diterpene compounds in mediterranean propolis from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58** (5), 3167-3176.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*. **26 (9/1)**: 1231-1237.

Sauvager F. (2014). La propolis: définition, récolte, propriétés et utilisation. **3** : 18-33.

Références bibliographiques

Semiranis K. et Sibeli S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in same region. *Journal of Ethnopharmacology*, **99**: 69-73.

Silici S. et Kutluca S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*. **99**: 69–73.

Silva, J.F.M., Souza, M.C., Matta, S.R., Andrade, M.R., Vidal, F.V.N., (2006). Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, **99**, 431-435.

Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. **16**: 144-153.

Soltani E.K. (2017). Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles, cas de la propolis. Thèse de doctorat en science. Université Ferhat Abbas–Setif-1, Faculté de technologie.

Suriyatem, R., Auras, R. A., et Intipunya, P. R. P. (2017). Predictive mathematical modeling for EC₅₀ calculation of antioxidant activity and antibacterial ability of Thai bee products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **7**: 122-133.

Tosi E.A., Ciappini M.C., Cazzolli A.F. et Tapiz L.M. (2006). Physicochemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *Apiacta*. **41**: 110-120.

Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. **2**: 1231-1246

Valcic S., Montenegro G., Mujica A.M., Avila G., Franzblan S., Singh M., Maiese W.M. et Timmerman B.N (1999). Phytochemical, Morphological and Biological investigation of propolis from Central Chile. *Zeitschrift für Naturforschung*. **54**: 406-416.

Viel C. et Dore J.C. (2003). History and uses of honey, mead and hive products. *Revue d'histoire de la pharmacie*, (Paris), 51 (337), 7-20

Wilkinson J.M. (2006). Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. *Modern Phytomedicine*. 157-165.

Annexes

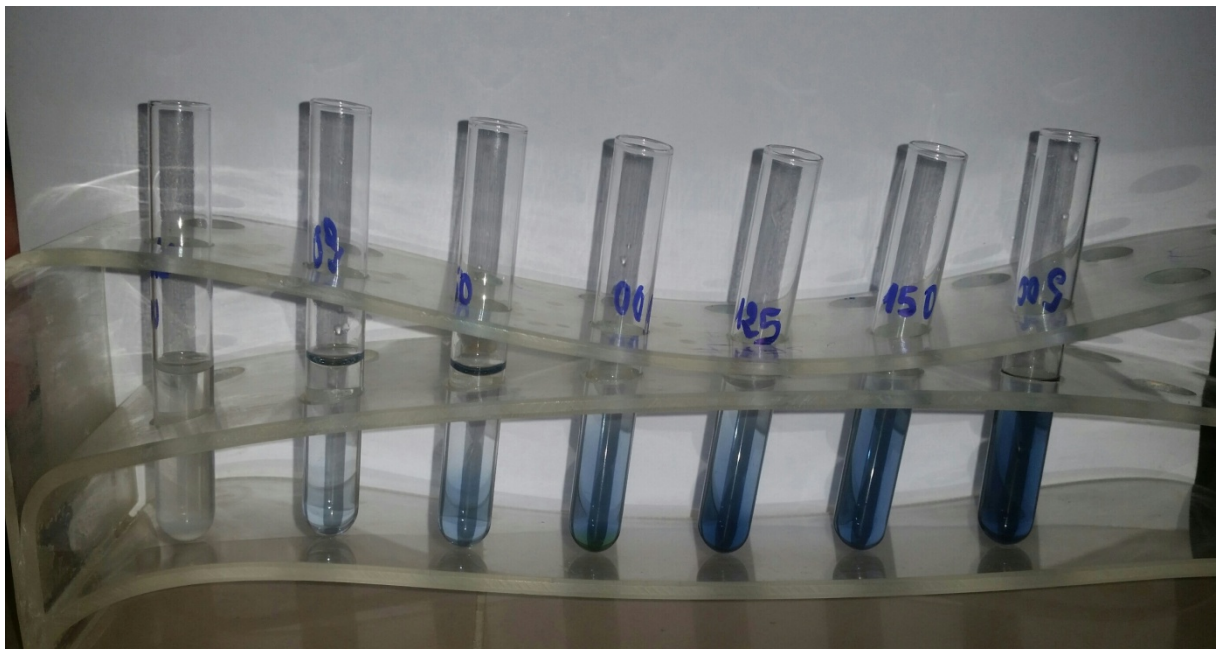
Annexes



Annexe 1 : Photographie des extraits éthanoliques de la propolis.

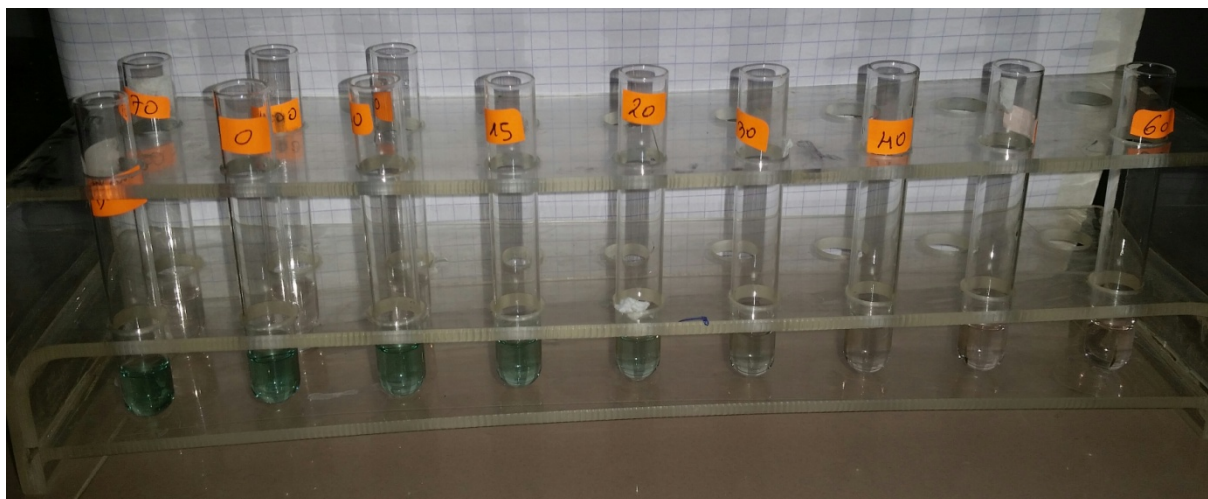


Annexe 2 : Photographie des extraits acétates d'éthyles de la propolis.

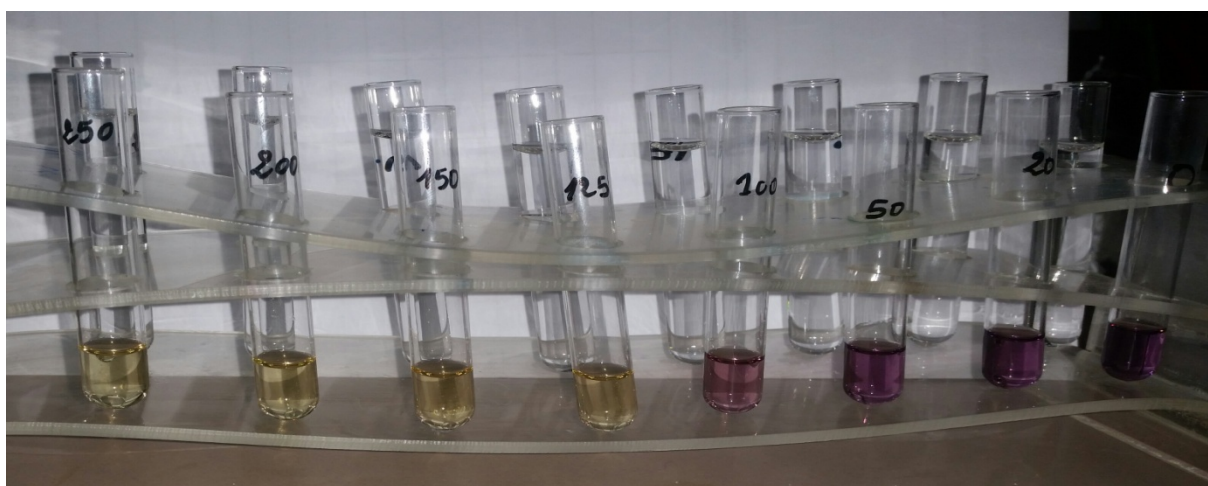


Annexe 3 : Photographie de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

Annexes

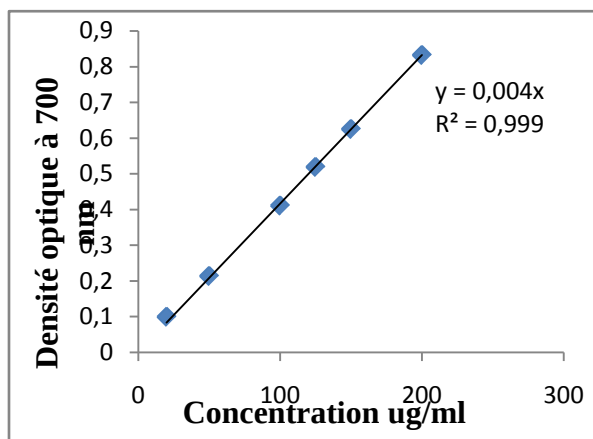


Annexe 4 : Photographie de la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique pour test de l'ABTS.

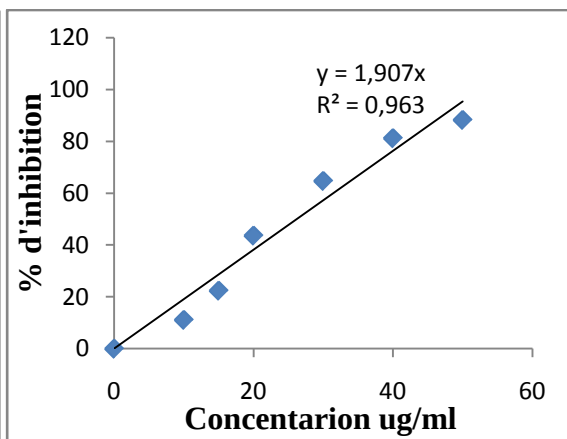


Annexe 5 : Photographie de la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique pour test de DPPH.

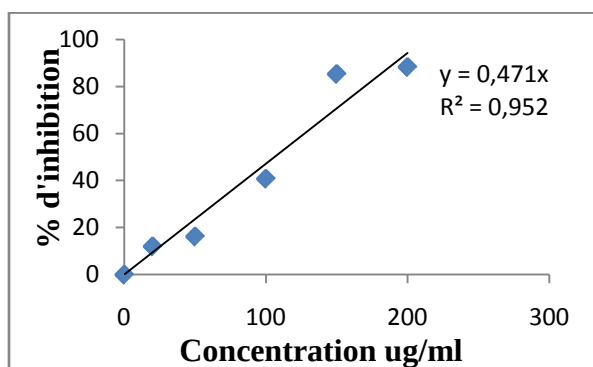
Annexes



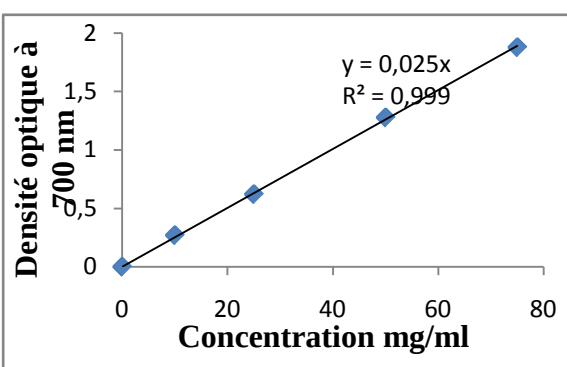
Annexe 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.



Annexe 7 : Courbe d'étalonnage de l'activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique pour le test de l'ABTS.



Annexe 8 : Courbe d'étalonnage de l'activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique pour le test de DPPH.



Annexe 9 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique pour le test de FRAP.