

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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 d'Agronomie



# Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de master

Option : Agro-alimentaire et contrôle de qualité.

## Thème

Etude comparative des paramètres physicochimiques et  
activité antioxydante de deux types de gelée royale :  
locale et importée.

Réalisé par :

M<sup>me</sup> Talbi malika

Membre de jury :

Président : M<sup>f</sup> Saadoudi. R

M.C.A

UMMTO

Promoteur : M<sup>f</sup> Bengana. M

M.C.B

UMMTO

Co-promoteur: M<sup>f</sup> Ouchemoukh. S

M.C.A

UAM-Béjaia

Examinatrice: M<sup>me</sup> REMANE. Y

M.A.A

UMMTO

2017/2018

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique.
<b>BHT</b>	Dibutyl hydroxytoluene.
<b>(BPA-)</b>	Bisphenol A–
<b>CAT</b>	catalase;
<b>DPPH</b>	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.
<b>EAG</b>	Equivalent Acide Gallique.
<b>EQ</b>	Equivalent Quercétine.
<b>ERO</b>	espèces réactives oxygénées
<b>GPx</b>	glutathione peroxidase;
<b>GR</b>	glutathione reductase;
<b>GRI</b>	gelée royale importée
<b>GRL</b>	gelée royale locale
<b>10HDA</b>	10-hydroxy-2-decenoic acid (HDA),.
<b>HDL</b>	high density lipids
<b>HUVECs</b>	human umbilical vein endothelial cells
<b>Kcal</b>	Kilocalorie.
<b>LDL</b>	low density lipids
<b>M</b>	Molarité.
<b>MDA</b>	malondialdehyde;
<b>Meq</b>	Milliequivalent.
<b>MRJP</b>	Major Royal Jelly Proteins.
<b>MRJPs</b>	major royal jelly proteins
<b>nm</b>	nanomètre.
<b>pH</b>	Potentiel Hydrogène.
<b>SOD</b>	superoxide dismutase
<b>VEGF</b>	Vascular endothelial growth factor
<b>%</b>	Pour cent

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : cellules royales ouvertes. ....	3
<b>Figure 2</b> : les différents types de l'activités biologique de la gelée royale.....	8
<b>Figure 3</b> : structure chimique d'acide 10 hydroxyL-2-décénoïque (10HDA ) .....	11
<b>Figure 4</b> : mécanisme moléculaire responsable de l'activité contre le vieillissement de la gelée royale.....	13
<b>Figure 5</b> : Organisation d'une ruche destinée à la production de gelée royale. Vue du dessus.....	15
<b>Figure 6</b> : cadres à cellules royales.....	16
<b>Figure 7</b> : Le greffage.....	17
<b>Figure 8</b> : Etape de décalotage.....	18
<b>Figure 9</b> : Elimination des larves.....	18
<b>Figure 10</b> : Etape d'aspiration de la gelée royale.....	19
<b>Figure 11</b> : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés(RLO) .....	27
<b>Figure 12</b> : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants .....	28
<b>Figure 13</b> : Implication du stress oxydant dans les pathologies.....	29
<b>Figure 14</b> : Effet complémentaire entre les enzymes antioxydantes.....	31
<b>Figure 15</b> : structure chimique de la vitamine C.....	31
<b>Figure 16</b> : vitamine E.....	32
<b>Figure 17</b> : Structure du noyau phénol.....	33
<b>Figure 18</b> : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.....	33
<b>Figure 19</b> : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques.....	34
<b>Figure 20</b> : Squelette de base des flavonoïdes.....	34
<b>Figure 21</b> : Structure chimique des flavanones.....	35
<b>Figure 22</b> : Structures chimiques de flavonols.....	36
<b>Figure 23</b> : Structures chimiques de certains flavan-3-ols.....	36
<b>Figure 24</b> : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes.....	37
<b>Figure 25</b> : Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol(b).....	37
<b>Figure 26</b> : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b)d'un gallotanin.....	38
<b>Figure 27</b> : Gelée royale locale(a) et gelée royale importée (b).....	41
<b>Figure28</b> : Réduction du radical DPPH.....	44
<b>Figure 29</b> : Taux d'humidité de deux types de gelée royale .....	46

<b>Figure 30</b> : pH de deux types de gelée royale : locale et importée .....	47
<b>Figure 31</b> : Teneur en protéines de deux types de gelée royale .....	48
<b>Figure 32</b> : teneur en polyphénols de deux types de gelée royale : locale et importée.....	50
<b>Figure 33</b> : Teneurs en flavonoides de deux types de gelée royale : locale et importée.....	51
<b>Figure 34</b> : valeurs de DPPH (en % d'inhibition) de deux types de gelée royale locale et importée.....	52
<b>Figure 35</b> : pouvoir réducteur de deux types de gelée royale : locale et importée.....	54

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Composition de gelée royale fraîche et lyophilisée.....	4
<b>Tableau II :</b> Acides amines libres de gelée royale.....	5
<b>Tableau III :</b> composition en acides amines des protéines de gelée royale.....	6
<b>Table IV.</b> La composition vitaminique de la gelée royale.....	7

# Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

## Partie 1: Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Composition et propriétés thérapeutiques de gelée royale

I.1 la gelée royale.....	3
1.1. Définition .....	3
1.2 Composition chimique .....	3
1.2.1 Eau.....	4
1.2.2. Lipides et acides organiques.....	4
1.2.3. Protéines et peptides.....	5
1.2.4 Acides aminés.....	5
1.2.5 Les minéraux.....	6
1.2.6 Les glucides.....	7
1.2.7 Les vitamines .....	7
1.3 Les propriétés thérapeutiques de la gelée royale.....	7
1.3.1 Activité anti-microbienne.....	8
1.3.2 Activité antioxydante.....	9
1.3.3 Action semblable à l'insuline.....	9
1.3.4 Action hypo-cholestérolémiant et hépato-protectrice .....	9
1.3.5 Action neurotrophique.....	10
1.3.6 Activité antihypertension.....	10
1.3.7 Activité de cicatrisation des plaies.....	10
1.3.8 Activité anticancéreuse.....	11
1.3.9 Effet sur la fertilité et la reproduction.....	11
1.3.10 Fortifiant et action tonique.....	12
1.3.11 Activité contre le vieillissement de la gelée royale .....	12

### Chapitre II : Production de gelée royale

II. Production de gelée royale.....	14
II.1. Technique de production de la gelée royale.....	14
1.1 Principe de la technique.....	14
1.2 Les préparations préalables de la colonie d'abeille.....	14
1.3 Organisation de la colonie d'abeille productrice de gelée royale.....	14
1.4 Les différentes étapes de la technique par ordre chronologique .....	16
1.4.1 La préparation des cadres de cellules royales .....	16
1.4.2 La récolte.....	17
1.4.2.1 Le décalottage.....	17
1.4.2.2 L'étape de délarvage.....	18
1.4.2.3 L'aspiration et la filtration.....	18

II.2. Facteurs influençant la production de gelée royale.....	19
II.3 Guide de bonnes pratiques de production de gelée royale .....	23
a. Choix du matériel .....	23
b. Recolte de la gelée royale .....	23
c. Nettoyage des cupules .....	23
d. Conditionnement de la gelée royale .....	23
e. Etiquetage de la gelée royale .....	25
f. Stockage de longue durée .....	25

### **Chapitre III Les antioxydants**

III.1 Les radicaux libres et le stress oxydant .....	26
1.1 Espèces réactives oxygénées - Stress oxydant .....	26
1.2 Formation des ERO .....	26
1.3 Origine des ERO .....	26
III.2 Les Antioxydants .....	29
2.1. Classification des antioxydants.....	29
2.1.1 Antioxydants enzymatiques (endogènes).....	29
a. Les superoxydes dismutases (SOD).....	29
b. Les catalases .....	30
c. Les glutathions peroxydases et réductases ( GSHPX) .....	31
2.1.2 Antioxydants naturelles (exogènes) .....	31
2.1.2.1 La vitamine C (acide ascorbique).....	31
2.1.2.2 La vitamine E.....	32
2.1.2.3 Les caroténoïdes .....	32
2.1.2.4 les polyphénols.....	32
2.1.2.3.1 Classification des polyphénols .....	33
A. Polyphénols simples.....	33
a. Acides phénoliques .....	33
b. Flavonoïdes.....	34
c. Flavanones.....	35
d. Flavonols.....	36
e. Flavan-3-ols .....	36
f. Anthocyanidines.....	37
g. Alcools phénoliques.....	37
B. Polyphénols complexes (tanins).....	38

a. Tanins hydrolysables .....	38
b. Tannins condensés .....	38
III. 3 Les études antérieures sur les propriétés antioxydantes de la gelée royale.....	39

## **Partie 2: Partie expérimentale**

### **I. Matériels et méthodes**

I-1 Echantillonnage et préparation des échantillons .....	41
I-2 Analyses physico-chimiques .....	42
I-2-1 Test d'humidité.....	42
I-2-2 Mesure du pH .....	42
I-2-3 Dosage des protéines.....	42
I-3 Dosage des antioxydants et évaluation de l'activité antioxydante.....	42
I.3.1 Extraction des antioxydants.....	42
I.3.2 Dosage des antioxydants.....	43
I-3-2-1 Dosage des composés phénoliques .....	43
I.3.2.2 Dosage des flavonoides .....	43
I-3-3 Evaluation de l'activité antioxydante.....	43
I.3.3.1 Activité antiradicalaire (DPPH).....	44
I-3-3-2 Pouvoir réducteur .....	44
I.4 L'analyse statistique .....	44

### **II. Résultats et discussion**

1. Analyses physico-chimiques.....	46
1.1 Humidité.....	46
1.2 pH.....	47
1.3 Teneur en protéines.....	48
2. Dosage des antioxydants .....	49
2.1 Teneur en polyphénols .....	49
2.2 Teneur en flavonoides.....	50
3. L'activité antioxydante.....	52
3.1 Activité de piégeage du radical DPPH (Activité antiradicalaire.....	52
3.2 Pouvoir réducteur.....	53

Conclusion et perspectives.....	54
---------------------------------	----

Annexes et références bibliographiques

### Introduction

L'apiculture est une filière agricole spécialisée dans l'élevage de l'abeille domestique, *Apis mellifera*, pour des fins commerciales. Cette abeille vit en société, sous forme d'une colonie. Cette dernière est constituée de trois types d'individus : la reine, l'abeille et le mâle ou le faux bourdon. La reine, une seule, est la mère de tous les individus de la colonie, son rôle principal est la reproduction et le maintien de la cohésion de la colonie. Les abeilles ou ouvrières se trouvent par millier, leur mission principale est l'amassage du nectar et du pollen ainsi que le nourrissage des larves qui deviendront de futures abeilles. Les mâles ou les faux bourdons se comptent en dizaine à une centaine dans une colonie, et leur unique et principale mission est la reproduction (la fécondation des reines vierges). Une colonie d'abeille, très peuplée et en bon état sanitaire et installée dans de meilleures conditions agro-climatiques, peut produire en quantité abondante les différents produits de la ruche dont les principaux sont : le miel, le pollen et la gelée royale.

La gelée royale est une substance crémeuse sécrétée par les glandes hypopharyngiennes, situées au niveau de la tête, des jeunes abeilles, appelées nourrices (âgées de 4 à 11 jours). Cette substance est la seule nourriture donnée à toutes les larves âgées de 2 à 3 jours, tandis que, pour les larves qui deviendront de futures reines, la gelée royale est leur nourriture exclusive jusqu'à leur éclosion, après 16 jours (**Bărnăuțiu et al., 2011**). La gelée royale est partiellement soluble dans l'eau avec une densité de 1,1 g / ml. Sa couleur est blanchâtre à jaune, son odeur est aigre et piquante et son goût est aigre et doux. (**Sabatinti et al., 2009**).

La gelée royale a une valeur nutritionnelle élevée en raison des quantités abondantes de protéines, d'acides aminés libres, de lipides, de vitamines et de sucres qu'elle contient. Les protéines sont les composants majeurs représentant jusqu'à 50% de poids sec. Par ailleurs, la composition biochimique de la gelée royale est étroitement associée aux activités biologiques du produit, ces dernières sont principalement attribuées aux acides gras bioactifs, aux protéines et aux composés phénoliques (**Jamnik et al., 2012**). Pour cette raison, elle est largement utilisée dans des produits médicaux, aliments santé et produits cosmétiques (**Sabatini et al., 2009**). Toutefois, plusieurs facteurs affectent la production et la composition de la gelée royale, comme le nourrissage, la saison, le moment de la récolte, et l'âge des larves au moment de greffage (**Liu et al., 2008**).

Sur le plan économique, la Chine est le plus grand producteur et exportateur de gelée royale à l'échelle mondiale, avec une production annuelle avoisinant 3000 tonnes (**Zheng et al., 2011**). Afin de mieux maîtriser sa qualité et sa stabilité, la gelée royale importée de Chine se trouve sous forme d'une poudre lyophilisée, ce nécessite donc une simple réhydratation (reconstitution) au préalable à son utilisation. Cette gelée est vendue à des prix très compétitif et même imbattable du fait que les quantités produites ainsi que le coût de production défie toute compétitivité. En effet, en Chine, les conditions climatiques favorables conjuguées à une race d'abeille bien adaptée, la production de gelée royale annuelle par colonie est aux environs de 5 kg et même plus, contre environ 500 g à un 1 kg en France et moins de 500 g en Algérie. Toutefois, les faibles rendements enregistrés en Algérie peuvent être relativement améliorés par la conjugaison de plusieurs facteurs : le choix de la région de production, la sélection génétique et l'optimisation des techniques de production afin de réduire le coût de production. En outre des contraintes naturelles, la production locale fait face à une concurrence déloyale de fait de l'absence de normes Algériennes définissant les critères qualitatifs de la gelée royale. De plus, l'absence de normes expose le consommateur à un danger réel de fait de la commercialisation d'un produit dont on ignore sa qualité et qui est prisé (recherché) pour ces vertus thérapeutiques présumées.

Dans ce contexte, et afin de mieux apprécier la qualité de gelée royale importée et celle produite localement, la présente étude compare le profil physico-chimiques de deux types de gélées. Outre les analyses de routine générales déterminant la composition de la gelée royale, le contenu polyphénoliques et les propriétés fonctionnelles comme l'activité antioxydante ont été vérifiées dans le but de caractériser sa qualité. Sur la base de nos résultats, nous suggérons que l'activité antioxydante de gelée royale est un facteur à prendre au sérieux en tant que paramètre qualitatif de ce produit.

**Partie 1**

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

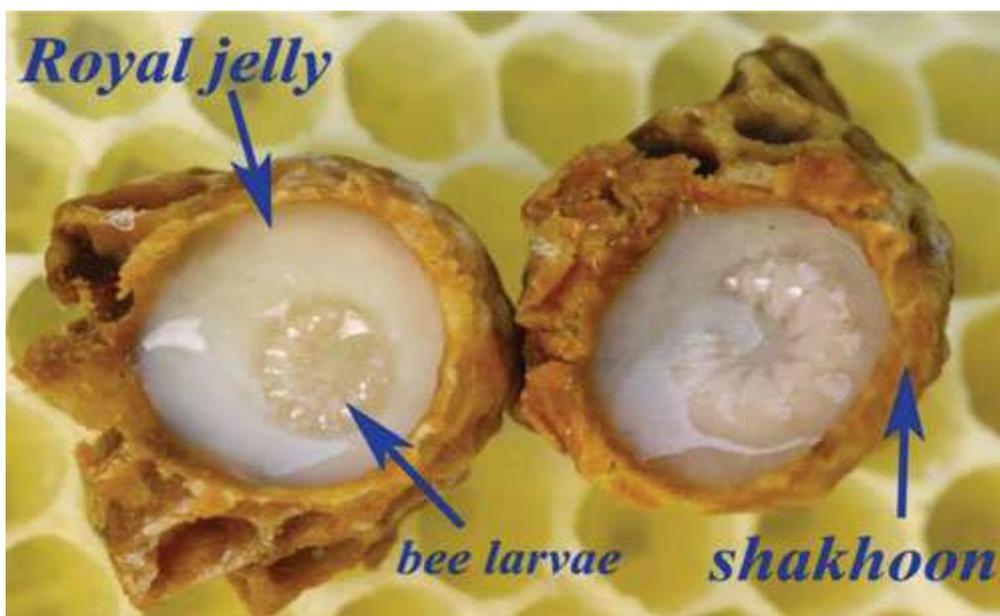
## **Composition et propriétés thérapeutiques de gelée royale**

## 1. La gelée royale

### 1.1 Définition

La gelée royale est une substance crémeuse sécrétée par les glandes hypopharyngiennes, situées au niveau de la tête, des jeunes abeilles, appelées nourrices (âgées de 4 à 11 jours). Cette substance est la seule nourriture donnée à toutes les larves âgées de 2 à 3 jours, tandis que, pour les larves qui deviendront de futures reines, la gelée royale est leur nourriture exclusive jusqu'à leur éclosion, après 16 jours (**Bărnuțiu et al., 2011**).

La gelée royale est partiellement soluble dans l'eau avec une densité de 1,1 g / ml. Sa couleur est blanchâtre à jaune, son odeur est aigre et piquante et son goût est aigre et doux. (**Sabatinti et al., 2009**).



**Figure 1** : cellules royales ouvertes. (**Mozafar et al., 2017**)

### 1.2 Composition chimique

La composition chimique de la gelée royale est très complexe: eau (60-70%), protéines (9-18%), hydrates de carbone (7-18%), lipides (3-8%), minéraux (0.8-3%), vitamines et les acides aminés (**Sabatini et al., 2009**). Selon la littérature, la composition de gelée royale peut varier en fonction de l'état métabolique et physiologique des ouvrières

(Scarselli *et al.*, 2005) ainsi que l'âge larvaire (Lercker *et al.*, 1993), de la race des abeilles (Sano *et al.* 2004) et les conditions saisonnières et régionales (Biondi *et al.*, 2003).

**Tableau I. Composition de gelée royale fraîche et lyophilisée (Al-Ghamdi et Ramadan , 2012).**

	<b>Gelée royale fraîche</b>	<b>Gelée royale lyophilisée</b>
Eau (g/100 g)	60–70	<5
Lipides (g/100 g)	3–8	8–19
10-HDA (g/100 g)	>1.4	>3.5
Protéines (g/100 g)	9–18	27–41
Fructose (g/100 g)	3–13	–
Glucose (g/100 g)	4–8	–
Saccharose (g/100 g)	0.5–2.0	–
Cendes (g/100 g)	0.8–3.0	2-5
pH	3.4–4.5	3.4–4.5
Acidité (mL 0.1 N NaOH/g)	3.0–6.0	–
Furosine (mg/100 g protein)	<50	–

### 1.2.1. Eau

L'humidité de la gelée royale est supérieure à 60%. Elle est caractérisée par une teneur en eau la plus élevée par rapport aux autres produits de la ruche (miel, pollen, propolis, cire d'abeille). La constance de la teneur en eau est essentiellement assurée, à l'intérieur de la ruche, par l'approvisionnement continu de cette substance par les abeilles nourricières, par l'hygroscopicité naturelle de la gelée royale et l'effort de la colonie à maintenir le niveau d'humidité ambiant. De plus, la non-solubilité de certains composés peut expliquer les variations de la teneur en eau (Bărnăuțiu *et al.*, 2011).

### 1.2.2 Lipides et acides organiques:

Les lipides varient de 3 à 19% du poids de la gelée royale (Karadeniz *et al.*, 2011). 80 à 90% de la fraction lipidique est constituée d'acides gras libres, le reste étant constitué de lipides neutres, de stérols, d'hydrocarbures (Kodai *et al.*, 2007). La plupart des acides organiques sont libres avec une structure assez inhabituelle et les dihydroxyacides et les

acides dicarboxyliques avec 8 et 10 atomes de carbone (**Lercker et al., 1993**). L'identification de cette fraction en particulier en ce qui concerne le modèle et l'analyse quantitative des acides organiques libres est considérée comme le critère de choix pour définir l'authenticité de la gelée royale. L'acide principal 10-hydroxy-2-decenoic (HAD) est un acide, qui est véritablement déterminé pour l'évaluation de la qualité de la gelée royale (Caboni et al., 2004). Le 10-hydroxy-2-décénoïque (HAD) ainsi que les autres acides gras de la gelée royale ont des propriétés antibactériennes, contribuant ainsi à la teneur relativement faible en bactéries de ce produit (**Serra et Escola, 1991**).

### 1.2.3 Protéines et peptides

**Lercker et al. (1992)** ont rapporté que la gelée royale fraîche contenait 17% et la gelée royale lyophilisée 45%.

Les principales substances azotées (60%) sont solubles dans l'eau. Les acides aminés libres représentent seulement 0,6-1,5%, dont la majorité appartient à la série L. Les plus représentatifs sont la proline et la lysine. Après un stockage à 4 ° C pendant 10 mois, aucun changement significatif des acides aminés n'a été observé, tandis qu'après un stockage de quelques jours à la température ambiante, la proline et la lysine ont augmenté, ceci est dû probablement à l'activité enzymatique protéolytique (**Lee et al., 1999**).

### 1.2.4 Acides aminés

Gelée royale est l'un des produits naturels les plus riches en acides aminés. La gelée royale contient au moins 17 acides aminés, y compris les 8 essentiels, plus 5 composés apparentés non identifiés (**Bărnăuțiu et al., 2011**).

Les tableaux II et III représentent respectivement les acides aminés libres et les acides aminés issus de l'hydrolyse de la fraction protéique de la gelée royale.

**Tableau II. Acides aminés libres de gelée royale (Bărnăuțiu et al., 2011)**

Acides aminés libres	%	Acides aminés libres	%
Alanine	1.7	Serine	3.5
Valine	1.7	Amino butyric acid	3.5
Glycine	2.1		
Isoleucine	1.3		
Leucine	13.3		
Proline	139.8		
Thréonine	1.0		

**Tableau III** composition en acides aminés des protéines de gelée royale (**Bărnăuțiu et al., 2011**).

Amino acids	%
Valine	1.6
Glycine	3.0
Isoleucine	1.6
Leucine	3.0
Proline	3.9
Thréonine	2.0
Sérine	2.9
Méthionine	3.7
Phénylalanine	0.5
Acide Aspartique	2.8
Acide Glutamique	8.3
Tyrosine	4.9
Lysine	2.9
Arginine	3.3
Tryptophane	3.4

### 1.2.5 Les minéraux

La gelée royale est également riche en minéraux. La teneur en cendres représente 0,8-3% de la RJ (matière fraîche). Les principaux éléments sont K, P, S, Na, Ca, Al, Mg, Zn, Fe, Cu et Mn. On y trouve également des traces (0,01-1mg / 100g) de Ni, Cr, Sn, W, Sb, Ti et Bi (**Bărnăuțiu et al., 2011**).

### 1.2.6 Les glucides

En moyenne, cette fraction représente 30% de la matière sèche de gelée royale. Il est également possible de trouver des oligosaccharides tels que le tréhalose, le maltose, le gentiobiose, l'isomaltose, le raffinose, l'erlose, mélézitose (**Bărnăuțiu et al., 2011**).

### 1.2.7. Les vitamines

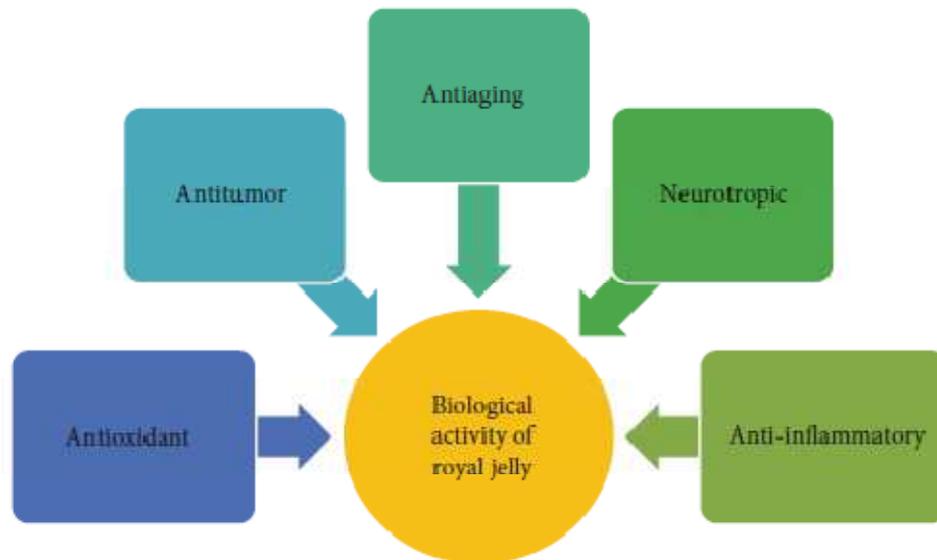
La fraction vitaminique de la gelée royale est constituée principalement de vitamines B1, B2, B6, B5 et secondairement de B8, B9, C et PP (**Bărnăuțiu et al., 2011**). La composition moyenne de la fraction vitaminique de la gelée royale est illustrée dans le tableau IV.

**Table IV.** La composition vitaminique de la gelée royale.

<b>vitamins</b>	<b>mg/100g</b>
Vitamine A	1.10
Vitamine D	0.2
Vitamine E	5.00
Vitamine B1	2.06
Vitamine B2	2.77
Vitamine B6	11.90
Vitamine B12	0.15
Vitamine B5 (acid Panthotenic)	52.80
Niacine (PP)	42.42
Vitamine C (acid ascorbic)	2.00
Vitamine B9 (acid folic)	0.40

### 1.3 Les propriétés thérapeutiques de la gelée royale

La gelée royale est l'un des produits de la ruche qui ont le potentiel de traitements de diverses maladies humaines (**Visweswara et al., 2017**). La figure ci-dessous montre les principales activités biologiques de la gelée royale.



**Figure 2 :** L'activité biologique de la gelée royale  
(**Visweswara et al, 2017**).

### 1.3.1 Activité anti-microbienne

L'importance médicale de la gelée royale est connue depuis l'Antiquité; une solution aqueuse de gelée royale pure a été utilisée comme un puissant agent antibactérien contre une grande variété de bactéries (**Aliabadi, 2002**). De nombreux chercheurs ont signalé que la propriété antibactérienne majeure de gelée royale est attribuée à une molécule spéciale à 10 carbones appelé 10HDA, l'acide gras le plus important de gelée royale (**Aslan et Genc , 1999**).

En outre, plusieurs peptides de la gelée royale ont révélé une activité antimicrobienne et qui sont : l'apisimine, l'albumine  $\alpha$ , les jelleines I, II, III et IV, et la royalactine (**Barnutiu et al., 2011**).

L'effet antibactérien de la protéine majeure de la gelée royale 2 (MRJP2) sur *Paenibacillus larvae* semble être due à la présence de peptides d'apidaecine et d'hyménoptaecine dans la gelée royale (**Sagona et al., 2015**). Les fortes concentrations de gelée royale jouent un rôle crucial dans la défense contre *Pseudomonas aeruginosa* (**Garcia et al., 2010**). L'activité antibactérienne de gelée royale contre *P. aeruginosa* peut être intéressante dans le développement des pommades pour le traitement des plaies (**Abdelatif et al., 2008**).

### 1.3.2 Activité antioxydante

La gelée royale a récemment fait l'objet d'une attention particulière en tant que antioxydant hautement efficace et puissant capteur de radicaux libres (**Cemek et al., 2010**). Dans une étude récente, 29 peptides antioxydants ont été séparés de la gelée royale. L'examen des effets antioxydants de 12 petits peptides avec 2-4 résidus d'acides aminés (Phe-Arg, Ala-Leu, Lys-Phe, Ile-Arg, Phe-Lys, Arg-Tyr, Tyr-Asp, Lys-Leu, Lys-Tyr, Lys-Asn-Tyr-Pro et Tyr-Tyr, Leu-Asp-Arg) ont montré l'activité de piégeage de radicaux par des groupes hydroxyle d'acides aminés de ces peptides. Par exemple, trois tyrosyldipeptides (Tyr-Tyr, Lys-Tyr et Arg-Tyr) dans la gelée royale ont une activité éliminant les radicaux libres par le don rapide d'un atome d'hydrogène de leur groupe hydroxyle phénolique. Les effets antioxydants de ces peptides seraient dus à une combinaison de leurs capacités à éliminer les espèces réactives de l'oxygène (ROS) des systèmes antioxydants (**Guo et al., 2009**). Des études cliniques ont montré que la supplémentation en gelée royale réduisait le stress oxydatif par des niveaux améliorés de la MDA( malondialdéhyde) et des activités de la glutathion peroxydase GPx et de la superoxyde dismutase SOD dans les érythrocytes des patients diabétiques (**Pourmoradian et al., 2014**).

### 1.3.3 Action semblable à l'insuline

En particulier, la médecine chinoise et japonaise utilise la gelée royale pour lutter contre le diabète et maintenir la glycémie normale. La gelée royale peut réduire le taux de sucre dans le sang via des peptides insulinoïdes et d'autres composés (comme le chrome, le soufre, les vitamines B3). La gelée royale est également capable de maintenir le taux optimal de sucre sanguin en participant à l'oxydation du glucose pour obtenir de l'énergie, grâce à l'effet insulinique des peptides analogues à l'insuline qui s'y trouvent. En outre, l'insuline trouvée dans la gelée royale ressemble beaucoup à l'insuline trouvée chez les mammifères (**Dezmirean et al., 2011**).

Les résultats de 8 semaines d'administration de gelée royale (1 000 mg) à des patients diabétiques de type 2 ont montré une baisse significative de la glycémie à jeun et les taux élevés d'insuline sérique (**Pourmoradian et al., 2014**).

### 1.3.4 Action hypo-cholestérolémiant et hépato-protectrice ;

La gelée royale fait baisser le taux des triglycérides et de cholestérol chez l'homme. Une étude réalisée par (**Vittek, 1995**) a révélé que l'administration de 50 à 100 mg de gelée

royale par jour fait abaisser de 14% les taux sériques de cholestérol total et de 10% les lipides totaux chez les patients atteints d'athérosclérose (**Vittekk, 1995**).

Dans une autre étude réalisée sur des personnes âgées, une consommation quotidienne de 10 g de gelée royale pendant 14 jours augmente les taux de lipides sériques de haute densité (HDL) et améliore les lipides de basse densité (LDL), sans affecter les triglycérides sériques (**Hauenschild et al, 2009**).

### 1.3.5 Action neurotrophique

La gelée royale a été traditionnellement connue pour améliorer la mémoire, prévenir la sénilité, augmenter l'énergie, réduire l'anxiété et calmer les sujets hyperactifs. Dans ce domaine, il existe des études sur la gelée royale et certains de ses composés qui ont des effets sur les cellules neuronales. La gelée royale contient de grandes quantités d'acétylcholine, un neurotransmetteur dans les systèmes nerveux périphérique et central et le seul neuromodulateur utilisé dans la division motrice du système nerveux somatique. Récemment, il a été rapporté que la gelée royale augmente la différenciation de tous les types de cellules cérébrales neurales, tandis que l'acide 10-hydroxy-trans-2-décénoïque (HDEA), un acide gras insaturé caractéristique de gelée royale, augmente la production des neurones et diminue celle des astrocytes des cellules souches neurales (**Pavel C. et al, 2011**).

### 1.3.6. Activité anti-hypertension

L'hypertension est devenue un facteur de risque grave pouvant entraîner une insuffisance cardiaque, un infarctus aigu du myocarde et un accident vasculaire cérébral chez les humains (**Takaki-Doi et al., 2009**). Récemment, il a été rapporté que les hydrolyses enzymatiques gastro-intestinales de gelée royale peuvent être responsables de la réduction de l'hypertension artérielle chez l'homme. Un rapport scientifique a montré que les protéines majeures de gelée royale ( PMGR) ont un effet fonctionnel potentiel dans la résistance à l'hypertension (**Kajimoto et al., 2005**).

### 1.3.7. Activité de cicatrisation des plaies

Pommade à base de gelée royale peut provoquer une alcalinité aux environs de la plaie qui oblitère l'infection et améliore les ulcères du pied diabétique (**Abdelatif et al., 2008**). En effet, le peptide antimicrobien, la royalisine isolée à partir de la gelée royale, joue un rôle important dans la protection des plaies contre l'infection (**Barnutiu et al., 2011**). La gelée

royale diminue significativement la période de cicatrisation des lésions cutanées desquamées (Fujii *et al.*, 1990).

### 1.3.8 Activité anticancéreuse

La gelée royale possède une propriété anticancéreuse remarquable chez les souris et l'homme (Kimura, 2008). Il a été rapporté que l'extraction brute de la protéine de gelée royale inhibe la prolifération induite par le bisphénol A- (BPA-) des cellules cancéreuses du sein humain (MCF-7) (Nakaya *et al.*, 2007). Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) est l'une des protéines pro-angiogéniques bien caractérisées comme un inducteur de la néovascularisation du cancer (Pan *et al.*, 2013). Le traitement avec 10HDA (figure 3) a supprimé la formation de tube induite par le VEGF et a inhibé la migration et la prolifération dans les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVECs).



**Figure 3** : structure chimique d'acide 10 hydroxyl-2-décénoïque (10HDA )

### 1.3.9 Effet sur la fertilité et la reproduction

La gelée royale est très efficace pour les femmes qui ont les symptômes de la pré-ménopause, de l'ostéoporose. Elle améliore l'équilibre hormonal et la fertilité pour l'homme et la femme par l'amélioration de la qualité des ovules et le sperme (Lewis, 2005), et aide dans les cas de faible libido, particulièrement pour les personnes âgées (Destrem, 1956). Le traitement pendant 48 jours avec la gelée royale conduit à l'augmentation de la quantité et la motilité du sperme (Amirshahi *et al.*, 2014).

La gelée royale est une source importante de l'acide para-aminobenzoïque qui augmente la fertilité pour les femmes qui consomment régulièrement ce produit au minimum pendant 6 mois. Par ailleurs, en synergie avec l'acide pantothenique (vitamine B5), cet acide

responsable de la synthèse d'une protéine favorisant l'élongation et les soins des cheveux (**Pavel et al, 2011**).

### **1.3.10 Fortifiant et action tonique**

A travers sa composition complexe, la gelée royale est une source naturelle de vitamines et un stimulant naturel de l'anabolisme.

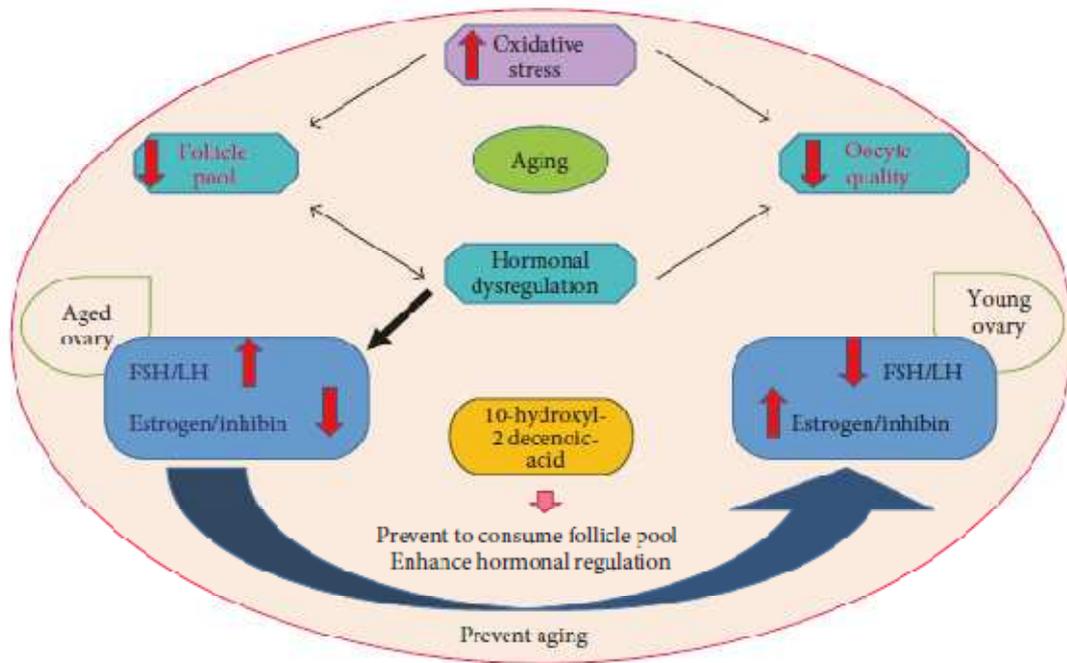
Chez l'être humain, il a été noté que la gelée royale rétablit l'homéostasie suite à un traitement de 3 mois au minimum à la gelée royale (**Wittenberg, 1996**).

La gelée royale augmente la capacité de l'effort musculaire, de la capacité vitale, de la fonction respiratoire et du niveau énergétique de l'organisme. De plus, elle augmente le tonus et la vitalité chez les patients atteints d'une fatigue chronique (**Batchelder, 2002**). Elle améliore l'appétit, la force et la masse corporelle pour les sujets maigres, déprimés et dans les cas d'anorexie (**Fossati, 1972**).

### **1.3.11 Activité contre le vieillissement**

L'état mental et les performances médiocres, comme dans le cas de la maladie d'Alzheimer (MA), sont principalement ressentis par les personnes âgées en raison du vieillissement. La gelée royale stimule les fonctions physiques et mentales pour les personnes âgées et augmente leur appétit et leur poids. Une étude a montré que la gelée royale exerce des effets neuroprotecteurs dans la maladie d'Alzheimer (MA). Une autre étude a également rapporté l'amélioration de la santé mentale chez l'homme lors de l'ingestion de gelée royale pendant six mois. Une autre étude sur l'utilisation de la gelée royale a également montré une action protectrice sur la peau humaine contre le photovieillissement induit par l'ultraviolet B en favorisant la production de collagène. (**Visweswara et al., 2017**)

La figure suivante (**figure 4**) montre le mécanisme moléculaire responsable de l'activité contre le vieillissement de la gelée royale. (**Visweswara et al., 2017**)



**Figure 4 :** Le mécanisme moléculaire responsable de l'activité de la gelée royale contre le vieillissement (Visweswara et al., 2017).

## **Chapitre II**

### **Production de gelée royale**

## 1. Technique de production de la gelée royale

La production de gelée royale est un travail minutieux qui demande rigueur et patience chez l'apiculteur souhaitant se lancer dans cette activité.

### 1.1. Principe de la technique

Le principe de la production de gelée royale repose sur isolement de la reine afin que la colonie d'abeille se sente orpheline. Dans cette colonie (orpheline), les abeilles développent leur instinct naturel de pérennité et vont ainsi nourrir des larves, âgées de moins de trois jours, exclusivement à la gelée royale pour élever une nouvelle reine. C'est sur ce principe que repose la technique de production commerciale de gelée royale adaptée par les apiculteurs.

### 1.2 Les préparations préalables de la colonie d'abeille

La colonie d'abeille orientée à la production de gelée royale doit réunir un certain nombre de critères (**Babin, 2015**) :

- Une forte colonie : densité d'abeille proche d'une colonie en état de propension à l'essaimage,

- Un rapport équilibré entre les abeilles nourrices et les abeilles butineuses

- Une colonie en bon état sanitaire

- Une reine jeune et bonne pondeuse, et de préférence sélectionnée, La sélection doit aboutir à un équilibre : bonne productrice GR/ une bonne résistance contre les maladies.

- Des provisions suffisantes : miel et pollen

### 1.3. Organisation de la colonie d'abeille productrice de gelée royale

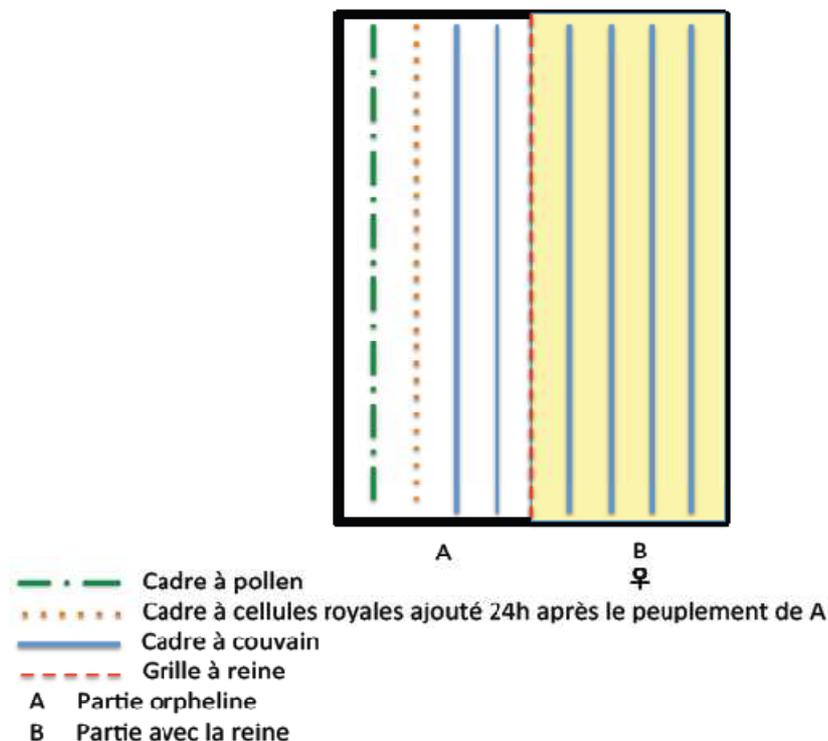
Au début du printemps, l'activité des colonies d'abeilles reprend et favorisé par la douceur des températures et la disponibilité du nectar et du pollen. Une fois l'activité de la colonie est bien lancée (une colonie avec 6 à 7 cadres de couvains sur 10 cadres), on peut démarrer la production de la gelée royale. Nous détaillons ci-dessous la technique la plus utilisée dans de nombreux pays producteurs de gelée royale, tel que la Chine. C'est cette méthode qui est aussi adoptée par le groupement de producteurs français de gelée royale

(GPFGR). Les apiculteurs Algériens ont eux aussi bénéficiés des formations sur cette technique de production de gelée royale.

A la différence de la méthode ancienne, qui nécessite une ruche de démarrage et une ruche de finition (donc deux colonies). Cette méthode n'exige qu'une seule colonie ce qui permet un gain économique très important : gain sur le capital investi et sur le temps de travail.

#### 1.4 Les différentes étapes de la technique de production de gelée royale:

Nous choisissons un modèle de ruche à 10 cadres (figure 5), pour simplifier la compréhension. Une grille à reine verticale partage la colonie en deux compartiments. La grille à reine permet la mobilité des abeilles librement entre les deux compartiments mais empêche le passage de la reine d'un compartiment à l'autre. La grille à reine emprisonne la reine dans le compartiment B. L'autre compartiment A est appelé alors partie orpheline. C'est dans cette partie de la colonie que la gelée royale sera produite suite à l'instinct d'orphelinage. Cet instinct pousse les abeilles nourrices à nourrir les jeunes larves à la gelée royale pour élever une nouvelle reine (pour ne pas rester orpheline) (Babin.,2015).



**Figure 5** : Organisation d'une ruche destinée à la production de gelée royale. Vue du dessus (Dubin, 2015).

Le compartiment **B** ne comporte que des cadres de couvain avec la reine. Le compartiment **A** possède deux cadres de couvain afin d'attirer les abeilles nourrices dans celui-ci. La reine n'ayant pas accès au compartiment **A**, elle ne peut y déposer ses phéromones, marques de sa présence. Les nourrices se sentent alors orphelines en zone **A**. On peut alors ajouter un cadre à cellules royales greffées dans la zone **A**. Les nourrices s'alimentant avec du pollen, il semble judicieux de placer un cadre de pollen dans la zone **A** à proximité du cadre de cellules royales afin que les nourrices soient dans des conditions optimales pour la production de gelée royale.

#### 1.4.1. La préparation des cadres de cellules royales

Les cellules destinées à recevoir l'élevage royal sont différentes par rapport aux cellules classiques des ouvrières. Les cellules royales, appelées cupules, peuvent être en cire ou plus couramment en plastique. Elles sont fixées sur des lattes, elles mêmes emboîtées dans un cadre classique de ruche (Figure 6).



**Figure 6** : cadres à cellules royales (Dubin, 2015)

Il est important de noter que les cupules sont, avant leur première utilisation, placées durant une journée dans une ruche quelconque. Les abeilles éliminent ainsi les odeurs étrangères à la ruche, nettoient et imprègnent les cupules de leur odeur. Cette familiarisation permet une meilleure acceptation des cellules par la suite.

Avant de procéder au greffage, l'apiculteur doit préparer les cellules royales en y déposant au fond un mélange : gelée royale/eau (1/3), qui optimise la survie de la larve après le greffage. Par ailleurs, il doit également avoir récupéré un cadre de jeunes larves (nées depuis moins de 24h) dans l'une des ruches (zone B, ou la reine peut pondre). Ces deux conditions étant réunies, le greffage peut débuter (Figure 7).



**Figure 7** : Le greffage (Dubin, 2015).

Il consiste à prélever, à l'aide d'outils appropriés, une larve du cadre pour la déposer dans une cellule royale. Ce travail minutieux demande du temps et de l'habileté ainsi qu'une bonne vue ; les larves ne mesurant que quelques millimètres. Un apiculteur expérimenté et bien équipé greffe entre 600 et 1000 larves à l'heure. Après greffage, les cupules et leur cadre doivent être positionnés dans la ruche dans la demi-heure qui suit pour éviter le dessèchement des larves. Une ruche peut élever, selon son potentiel, de 60 à 120 larves.

## 1.4.2 La récolte

Les cupules restent en place 3 jours durant dans la ruche puis sont retirées pour la récolte de la gelée royale. Cette étape demande une rigueur exemplaire du point de vue l'hygiène: l'environnement de travail doit être propre (l'idéal est un laboratoire dédié à cette activité) et le matériel utilisé doit être de qualité alimentaire et désinfecté avant et après chaque usage.

### 1.4.2.1 Le décalottage

La première étape appelée le décalottage consiste à couper le haut de la cellule en cire: les abeilles ont, durant les trois jours, allongé la cellule royale avec de la cire (Figure 8). Pour ce faire, il faut couper la cire au ras de la gelée royale afin de faciliter l'extraction larvaire par la suite. Cette opération se fait avec un couteau ou un cutter à condition que ceux-ci soient de qualité alimentaire. Le principal risque de cette étape est de blesser la larve et de répandre ses fluides dans la gelée royale.



**Figure 8** : Etape de décalotage (Dubin, 2015).

#### 1.4.2.2. L'étape de délarvage

Dans un second temps, la larve est retirée de la cupule en prenant toujours soin de ne pas la blesser: des fluides de larve pourraient compromettre la qualité de la gelée royale. La larve est retirée de sa cellule de façon manuelle avec une spatule par exemple ou avec un système d'aspiration apprécié pour sa rapidité.



**Figure 9** : Elimination des larves (Dubin, 2015).

#### 1.4.2.3. L'aspiration et la filtration

La dernière étape consiste à retirer la gelée royale de la cupule manuellement ou à

l'aide d'une pompe, puis à la filtrer (0,4 à 0,7mm) avant de la conditionner dans des pots en verre. La conservation se fait entre 2 à 5°C et à l'abri de la lumière (figure 10).



**Figure 10** : Etape d'aspiration de la gelée royale (Dubin, 2015).

## II.2. Facteurs influençant la production de gelée royale

Parmi les facteurs qui influent sur la production de gelée royale, citons les facteurs internes de la colonie, tels que la position et l'acceptation des larves, et des facteurs externes tels que la nutrition, les conditions climatiques, la température, les précipitations et l'humidité. (Faquinello et al., 2011).

La température externe maximale et l'humidité relative interféraient positivement, c'est-à-dire augmentent la production de gelée royale, tandis que les précipitations ont une influence négative (Toledo et Mouro, 2005).

La production de gelée royale est influencée par le nombre de collections (levées) par saison, la localisation géographique du rucher, l'expérience de l'apiculteur et l'origine génétique des abeilles (OPIDA, 2009).

Sereia et al. (2010) ont étudié les compléments avec différents nutriments dans l'alimentation des abeilles et constaté qu'en ayant une origine glandulaire, la production de la gelée royale varie avec la nutrition, qualité des sources disponibles et suppléments protéiniques recommandés dans les colonies d'abeilles. De plus, l'utilisation de compléments alimentaires sur la production de la gelée royale fait partie des spécifications de qualité de ce produit. (OPIDA, 2009).

Gisele et Vagner (2004) ont étudié la race d'abeille *Apis mellifera* africanisée et *Apis mellifera* Carniolan dans la production de la gelée royale. *Apis mellifera* Carniolan a montré

une production plus élevée de gelée royale par colonie, pour une collecte de trois jours, par rapport aux abeilles africanisées. La race Carniolan a également eu un pourcentage d'acceptation plus élevé de larves par rapport aux abeilles africanisées.

### II.3. Paramètres de qualité de la gelée royale

Les principaux facteurs de qualité de la gelée royale ont été décrits, et des études ont révélé l'importance de la fraction lipidique comme marqueur et donc un critère permettant de déterminer l'authenticité du produit. À l'heure actuelle, 10-HDA est principalement utilisé pour les tests de routine de l'authenticité de GR. Cependant, la concentration de cet acide varie dans de larges limites. D'autres études sont nécessaires pour montrer si la détermination des isotopes stables des éléments C et N (**Stocker, 2003**) est une approche prometteuse pour la détermination de l'authenticité de la production. L'altération par le miel entraîne une diminution générale des protéines et des lipides et une augmentation relative des sucres (**Bonvehi, 1991**). La falsification avec plus de 25% de yaourt, de blanc d'œuf, d'eau et de boue d'amidon de maïs peut être détectée en améliorant l'humidité, diminuant la teneur en lipides, protéines et 10-HDA ainsi que l'insolubilité en milieu alcalin (**Garcia et -Muradian, 2007**).

Par ailleurs, des analyses microscopiques de sédiments de gelée royale, appliquées selon les principes de base de la méliissopalynologie ( **Ricciardelli, 1986**) et notamment l'identification des pollens qu'elle contient, permettent de définir les origines géographiques du produit et détecter les mélanges là où ils se produisent. L'identification du pollen est facilitée par le fait que seuls quelques pays produisent réellement la gelée royale et que les spécialistes sont capables de formuler leurs associations caractéristiques respectives de pollen. Un autre paramètre prometteur pour l'évaluation de l'authenticité de la gelée royale est la présence d'apalbumine (**Simuth et al., 2004**). Ce marqueur, s'il est confirmé par d'autres recherches, pourrait gagner une grande importance.

#### 3.1. Définition de la fraîcheur

Un autre aspect fondamental réside dans la possibilité de définir un paramètre de fraîcheur de la gelée royale. Il a été noté que la composition physico-chimique de gelée royale est assez stable dans l'ensemble mais aussi variable, surtout en ce qui concerne certains composants. Ce n'est donc pas un paramètre approprié pour définir la fraîcheur du produit. Dans ce dernier but, des expériences ont été menées sur des échantillons de gelée royale stockés à 4 et 20 ° C sur une période de 24 mois pour évaluer les changements dans la teneur

en enzyme glucose oxydase. Les résultats obtenus ont montré que cette enzyme est influencée à la fois par la température de stockage et le temps. À 20 ° C, elle a diminué significativement après un mois et complètement dégradé après un an. Même à 4 ° C, il y avait une réduction évidente, bien que modeste, de l'enzyme. La détermination de la glucose oxydase est analytiquement très simple et donc dans les capacités de tous les laboratoires. Cette méthode pourrait être utilisée pour évaluer la fraîcheur du produit; cependant, il faut d'abord étudier la variabilité naturelle de ce composant dans le produit frais (**Boselli et al., 2002**). **Marconi et al., (2002)** ont cité plusieurs expériences réalisées pour évaluer la possibilité d'utiliser la teneur en furosine comme marqueur de la fraîcheur de la gelée royale. La valeur de la furosine, un produit de la réaction de Maillard, s'est révélée très faible (de 0 à 10 mg / 100g de protéines) dans des échantillons de gelée royale fraîchement produits (**Messia et al., 2003**) mais qui augmente avec le prolongement de la durée de conservation et l'élévation de la température. Plus précisément, la teneur a atteint jusqu'à 500 mg / 100g de furosine après 18 mois de stockage à température ambiante et 50 mg / 100g à 4 ° C. Les échantillons prélevés dans les rayons des magasins ont montré des valeurs allant de 40 à 100 mg / 100 g de furosine. Par ailleurs, la gelée royale congelée a montré une forte tendance à former de la furosine pendant le stockage (**Messia et al., 2005**).

### 3.2 Normes de la gelée royale

Il n'y a pas de normes internationales de gelée royale. Cependant, certains pays comme le Brésil, la Bulgarie, le Japon et la Suisse ont établi des normes nationales. Le tableau V montre les normes de la gelée royale de certains pays (**Kanelis et al., 2015**)

. Le tableau V : les normes de la gelée royale de certains pays (Kanelis *et al.*, 2015)

Parameter	Greek RJ	National limits and proposals	Value
Moisture %	Mean: 66.1 min-max: 46.8-73.2 Std:3.0 Proposed limits:60-70 % n=176	ISO Japan Turkey India Bulgaria China Korea Poland IHC Brazil Argentina Serbia Switzerland	62.5-68.5 62.5-68.5 62.5-68.5 62.5-68.5 62.5-67.0 62.5-67.5 65.6-68.5 max: 67.0 60-70.0 60-70.0 60-70.0 max: 70 max: 70
10-HDA %	Mean: 2.32 min-max: 0.8-6.5 Std:1.0 Proposed limits: 1-6 % n=97	ISO IHC Turkey Switzerland Japan Brazil Korea India China	min: 1.4 min: 1.4 min: 1.4 min: 1.4 min: 1.4 min: 2.0 min: 1.4 min: 1.4 min: 1.4
Protein %	Mean: 13.6 min-max: 10.5-19.6 Std:1.9 Proposed limits: min 10 % n=176	Brazil China Turkey Korea India Argentina Japan Bulgaria Poland SO IHC	min: 10 min: 11 11.0-14.5 11.0-14.5 11.0-15.0 11.0-15.0 12.0-15.5 12.0-17.0 13.5-20.0 11.0-18.0 9.0-18.0
Fructose %	Mean: 3.98 min-max: 2.1-7.3 Std:1.0 Proposed limits 2-8 % n=151	ISO IHC	2.0-9.0 3.0-13.0
Glucose %	Mean: 4.2 min-max: 2.4-6.9 Std: 0.9 Proposed limits: 2-8 % n=151	ISO IHC Brazil	2.0-9.0 4.0-8.0 max: 10.0
Sucrose %	Mean: 2.86 min-max: 0.0-9.3 Std:2.0 Proposed limits: type 1: max 3 % type 2: max 6 % n=151	ISO IHC Brazil Bulgaria	max: 3.0 (type 1) max: 6.0 (type 2) 0.5-2 max: 5.0 max: 4.5
Total sugars %	Mean: 11.03 min-max: 7.2-16.7 Std:2.0 Proposed limits 7-17 % n=151	ISO IHC Poland Bulgaria	7.0-18.0 7.0-18.0 6.5-18.0 9.0-13.0

### 3.3. Guide de bonnes pratiques de production de gelée royale:

#### a. Choix du matériel

Cupules de production de gelée royale :

☞ • Tous les éléments relatifs aux ruches, fils et cire sont très pertinents dans le cadre de la production de la gelée royale.

☞ • On ne peut fabriquer des cellules qu'au départ de cire d'opercules.

- Les cellules artificielles réutilisables en matière plastique doivent être de qualité alimentaire.
- Ces cellules doivent être fixées au support (lattes) avec des colles alimentaires, à la cire d'abeilles ou à l'aide de procédés mécaniques (vissage, emboîtement, etc.).

#### b. Récolte de la gelée royale

☞ **Amorçage**

- L'amorçage et le greffage doivent se faire dans de bonnes conditions d'hygiène.
- Tout matériel utilisé pour l'amorçage et le greffage doit être de qualité alimentaire et être nettoyé et désinfecté au préalable.
- Quand les cupules sont amorcées à la gelée royale, celle-ci provient de l'exploitation ou est d'origine connue (noter le pays d'origine si différent) et exempte de tout résidu.
- Toute gelée royale suspecte ne peut être utilisée.
- L'eau de dilution, lorsqu'elle est utilisée, doit être potable.
- La solution d'amorçage doit être préparée au moins une fois par semaine. Elle sera conservée au réfrigérateur. Pour l'amorçage, seule la quantité nécessaire sera mise en œuvre. Le reste sera éliminé.

☞ **Greffage**

- Le greffage se fait au départ de souches saines en dehors des périodes de traitement.
- Le linge utilisé pour protéger les larves de la chaleur et du soleil doit être propre et humidifié à l'eau potable.

☞ **Récolte**

- Le retrait des abeilles des barrettes d'élevage doit se faire avec un minimum de fumée.
- Les cupules à récolter doivent être protégées de toutes sources d'altération (soleil...) et de contaminations.

#### c. Nettoyage des cupules

☞ • Avant tout stockage des cupules de production de la gelée royale, celles-ci doivent être nettoyées à l'eau potable sous pression, le plus rapidement possible après utilisation.

#### ☞ **Transport**

• Les récipients utilisés pour le transport doivent être de qualité alimentaire, propres et couverts.

### **d. Conditionnement de la gelée royale**

#### ☞ **Hygiène des locaux et du matériel**

• Le conditionnement de la gelée royale ne peut se faire que dans des locaux répondant aux normes définies pour les mielleries permanentes.

• Les opérations de conditionnement de la gelée royale seront effectuées soit dans un local spécifique soit dans la miellerie en dehors des périodes de travail du miel.

• Tous les éléments entrant en contact avec la gelée royale (matériel d'extraction, de filtration, pince à délarver, pots, tuyaux...) doivent être de qualité alimentaire. Ils doivent être propres et faciles à entretenir et nettoyés et désinfectés directement après utilisation.

#### ☞ **Châtrage**

• Il faut éviter le contact des outils chauffés avec la gelée royale.

#### ☞ **Délarvage**

• La gelée des cellules dans lesquelles les larves sont mortes ne sera pas extraite.

• L'enlèvement des larves est obligatoire avant l'extraction. Pendant cette opération, on doit veiller à ne pas les endommager (écoulement d'hémolymphe).

#### ☞ **Extraction**

• L'extraction peut être effectuée à l'aide d'une spatule, d'une pompe à vide ou d'un appareil utilisant la force centrifuge.

• Les opérations d'extraction de la gelée royale devront être effectuées le jour même du retrait des lattes de cupules dans les plus brefs délais.

#### ☞ **Filtration**

• Afin d'éliminer les éventuels corps étrangers visibles, en particulier les particules de cire, la filtration est conseillée et doit être effectuée en même temps ou le même jour que l'extraction. La toile filtrante sera constituée d'un maillage de 0,4 à 0,7 mm.

☞ **Surgélation**

- La gelée royale peut être surgelée (-18°C). Attention, la chaîne du froid ne peut être interrompue. Une durée de conservation maximale est obligatoire.

☞ **Mise en pots**

- Pots parfaitement propres et hermétiques.

**e. Etiquetage de la gelée royale**

☞ • **Les mentions légales ci-dessous doivent figurer sur l'étiquetage :**

- dénomination de vente : gelée royale fraîche ou congelée,
- date de durabilité : fraîche max. 6 mois, congelée : max. 18 mois après la date de récolte. Cette date doit spécifier le jour, le mois et l'année,
- température de stockage : fraîche : entre 2 et 5° C, congelée : < -18°C,
- poids net,
- nom et adresse de l'apiculteur (du conditionneur ou du vendeur),
- pays de récolte (facultatif)
- n° de lot ou date de production,
- la gelée royale ne peut être recongelée.

**f. Stockage de longue durée**

☞ **Stockage de la gelée royale**

- Tant au niveau du stockage que sur les lieux de vente, la gelée royale préemballée doit être protégée de la lumière et maintenue entre 2° et 5°C.
- La gelée royale congelée doit être maintenue à une température inférieure à -18°C (max. 18 mois après la date de récolte) (**OPIDA,2009**).

## **Chapitre III**

### **Les antioxydants**

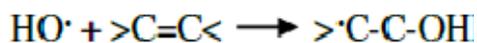
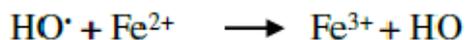
### III.1. Les radicaux libres et le stress oxydant

#### 1.1. Espèces réactives oxygénées - Stress oxydant

Le dioxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une faible partie d' $O_2$  en métabolites potentiellement toxiques: les espèces réactives de l'oxygène (**ERO**). Il existe plusieurs types d'**ERO**, radicalaires ou non-radicalaires. Les **ERO** sont susceptibles de participer à la dégradation des biomolécules (lipides, protéines, ADN, glucose, ...). Les principales **ERO** sont des formes réduites de  $O_2$ : l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ , réduction à 1 électron), le radical hydroxyl ( $OH^{\cdot}$ , réduction à 3 électrons), mais aussi les radicaux oxyl ( $RO^{\cdot}$ ), peroxy ( $ROO^{\cdot}$ ) et le monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ). Les **ERO** incluent aussi des espèces non radicalaires, notamment le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ , réduction à 2 électrons), le dioxygène singulet ( $^1O_2$ ), l'acide hypochloreux (**HOCl**), l'ozone ( $O_3$ ) et le peroxyde nitrite ( $ONOO^{\cdot}$ ) (Achat, 2013).

#### 1.2. Formation des ERO

La cellule génère divers types d'**ERO** qui réagissent selon trois modes d'action, soit en arrachant un électron ou un atome d'hydrogène, soit encore en s'additionnant sur les doubles liaisons carbone-carbone (Gilbert et Colton, 1999).

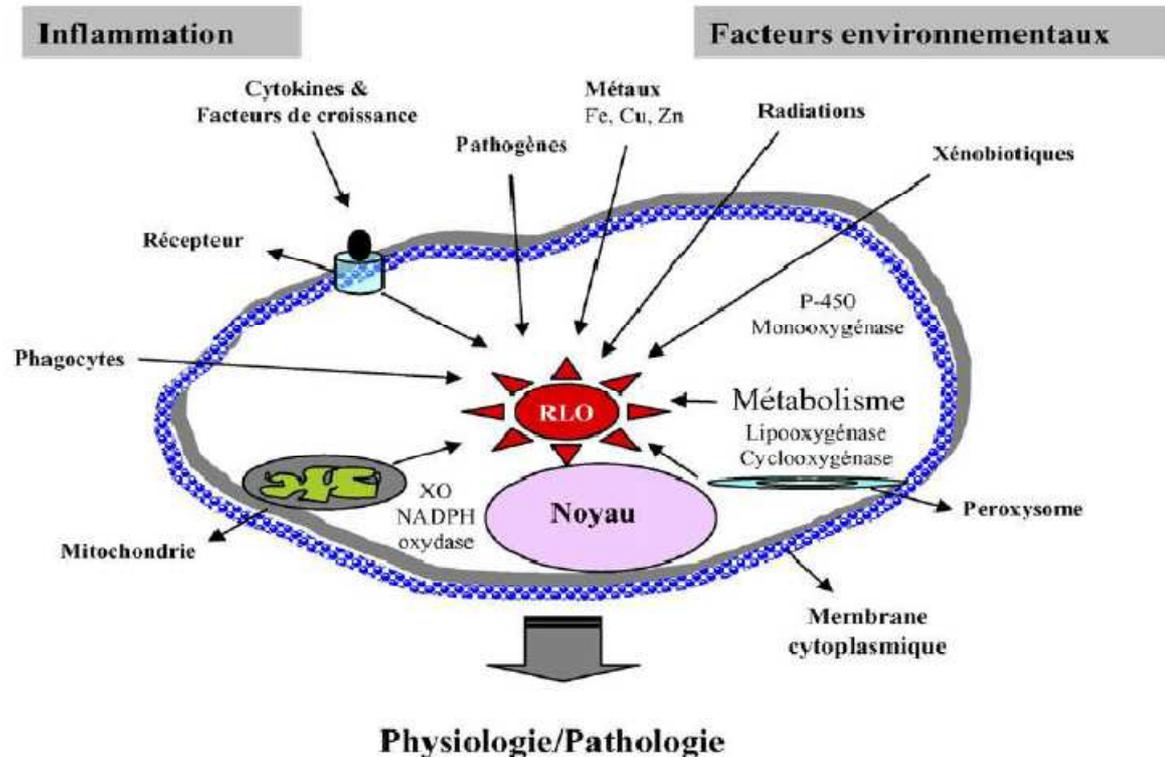


#### 1.3. Origine des ERO

La production des **ERO** est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin de  $O_2$  pour produire de l'énergie, via une réduction tétravalente séquentielle de  $O_2$  en eau au cours du processus dit de respiration mitochondriale (Curtay et Robin, 2000). Toutefois, une partie de l' $O_2$  échappe à sa réduction en eau (1-5%), qui peut alors être à l'origine de la production de superoxyde au niveau du transporteur d'électron ubiquinone (coenzyme Q) (Figure 11) (Jahn et al., 2008). Les dérivés semiquinones

(coenzyme Q) ou les cofacteurs flavine (forme semi-réduite, ex.: xanthine oxydase) jouent un rôle important dans la production de  $O_2^{\cdot-}$

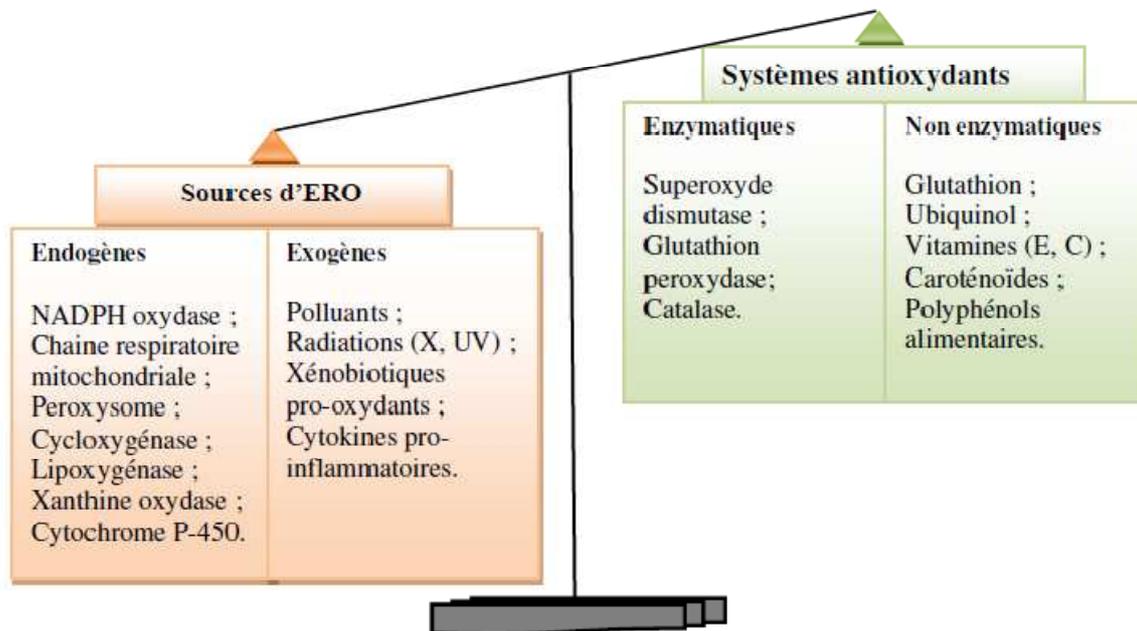
Les autres sources des ERO sont résumées dans la figure 11.



**Figure 11:** Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés (RLO) (XO: xanthine oxydase; P-450 : cytochrome P-450) (Afonso *et al.*, 2007).

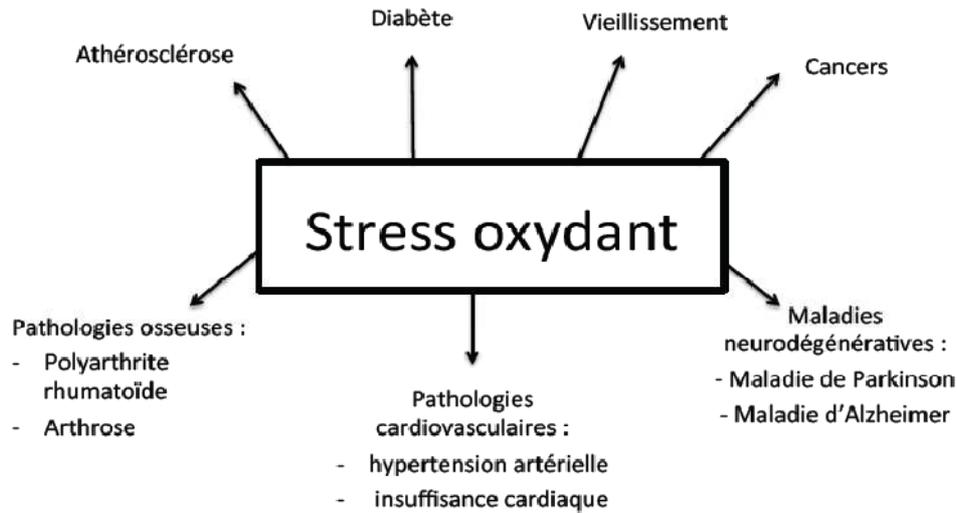
Les ERO sont également générées sous l'effet d'oxydants environnementaux. En effet, les rayonnements (UV, X), la consommation excessive d'alcool, le tabagisme, certains polluants industriels et l'exercice physique intense sont d'autant de situations qui provoquent une surproduction d'ERO dans notre organisme, susceptible de dépasser nos défenses antioxydantes naturelles (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase et autres enzymes antioxydantes), provoquant ainsi des dégâts cellulaires. C'est le stress oxydant. En outre, une alimentation riche en produits végétaux (fruits, légumes et produits dérivés), nous apportent une grande variété d'antioxydants (polyphénols, caroténoïdes, vitamines C et E...) qui peuvent agir en complément de nos défenses naturelles.

Le stress oxydant peut être d'origine non environnementale (réactions inflammatoires consécutives à des infections, exposition à des radiations ou à des xénobiotiques pro-oxydants), ou génétique (déficit dans l'expression d'enzymes de défense antioxydante). (Tessier et al., 2005). De manière générale, le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre l'exposition à des pro-oxydants et la capacité de détoxification des systèmes de défense antioxydante (enzymatique et non-enzymatique), le premier prenant le dessus sur le second.



**Figure 12:** Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants. (Achat, 2013)

En conséquence, des dégâts souvent irréversibles interviennent dans la cellule : modifications oxydantes au niveau des lipides (AGPI), de l'ADN et des protéines. A des degrés variables, le stress oxydant est impliqué dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, du diabète ou encore des maladies neurodégénératives (figure14) (Achat,2013).



**Figure 13** : Implication du stress oxydant dans les pathologies (Babin., 2015).

## III.2 Les Antioxydants

Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, et nous aident ainsi à garder une vie active et saine. Quelques antioxydants sont fabriqués par le corps humain, d'autres doivent être apportés par notre alimentation. La composition de l'alimentation est primordiale dans la lutte contre la formation de ERO dans notre organisme (vitamines, polyphénols). (Bruce *et al.*, 1993).

### 2.1. Classification des antioxydants

Selon leurs cibles et leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories :

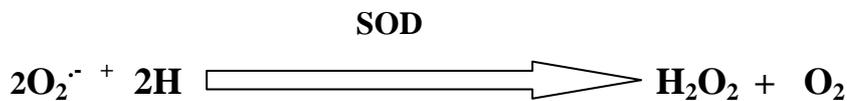
#### 2.1.1 Antioxydants enzymatiques (endogènes)

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défenses très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase SOD, de catalase, et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :

##### a) Les superoxydes dismutases (SOD)

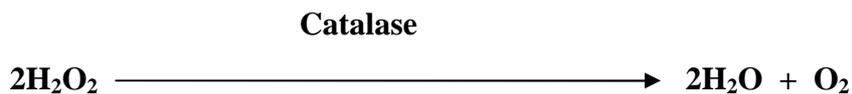
Les superoxydes dismutases ont le rôle de dismuter les deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives qui sont  $H_2O_2$  et  $O_2$  (Antwerpen, 2006).

L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (**Goubable et Favier, 1997**).



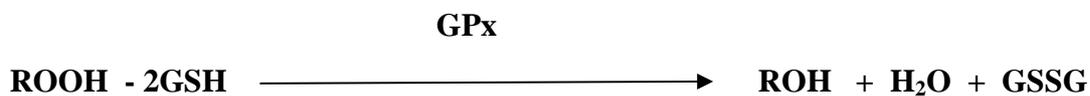
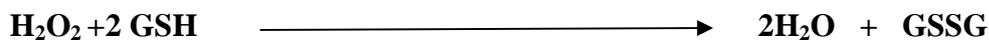
#### b) Les catalases

Les catalases réduisent le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux (**Lindeau-Sehpard et Shaffer, 1993**).

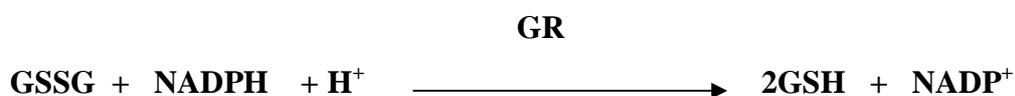


#### c) Les glutathions peroxydases et réductases ( GSHPX)

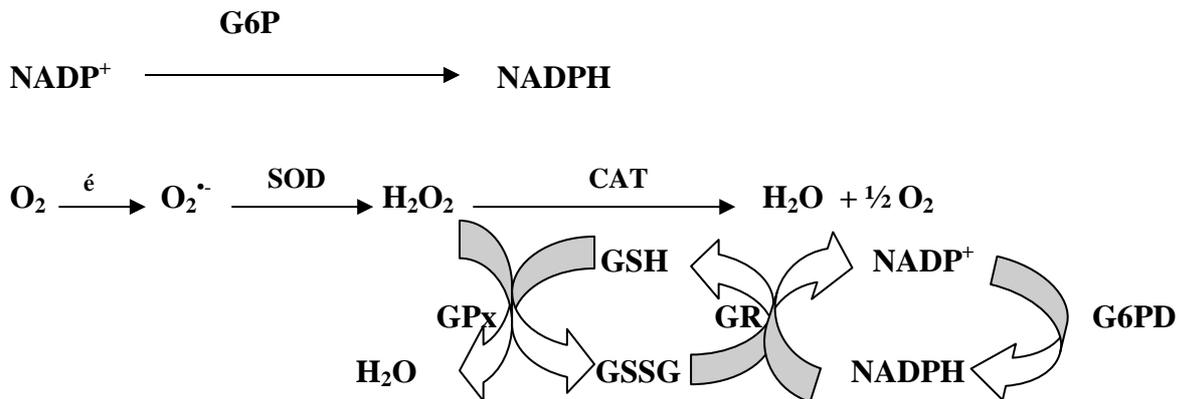
Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion( GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure(GSSG) (**Marfak , 2003**).



La glutathionne réductase (GR), quand à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG. Au cours de cette réaction, la glutathionne réductase utilise un co-facteur, le NADPH :



Cette réaction produit du  $\text{NADP}^+$  qui sera régénéré en  $\text{NADPH}$  pour une utilisation ultérieure, par une autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase)(Figure16) :



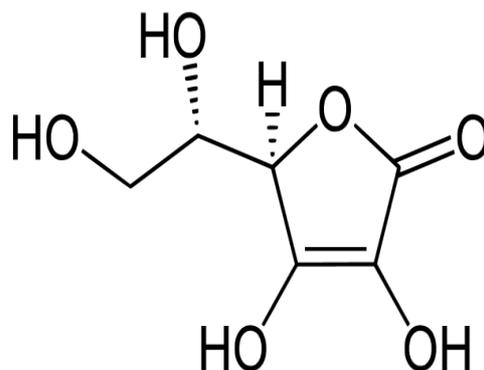
**Figure 14:** Effet complémentaire entre les enzymes antioxydantes (Goudable et favier, 1997).

### 2.1.2 Antioxydants naturelles (exogènes)

Les antioxydants naturels sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes anti-oxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003).

#### 2.1.2.1 La vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C ou acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble majeur (Curtay et Robin, 2000). Elle se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle capte directement  $\text{O}_2^{\bullet-}$  et  $\text{OH}^{\bullet}$ , Elle peut aussi réduire le radical  $\alpha$ -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (Evans, 2002).



**Figure 15:** structure chimique de la vitamine C (Evans, 2002)

### 2.1.2.2 La vitamine E

La vitamine E désigne un groupe de nombreux composants présents dans la nature : les  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - et  $\delta$ -tocophérols et tocotriénols ( **Ohrvall et al., 1996**). Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques ou elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles.(**Goussard, 1999**).

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (**Evans, 2002**).

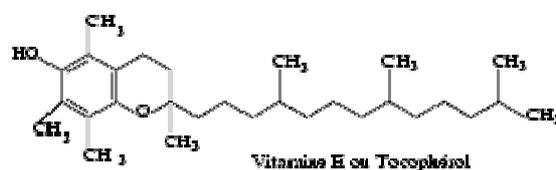


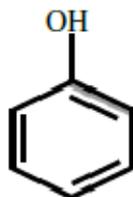
Figure 16: vitamine E ( **Abidi et al., 2002** ) .

### 2.1.2.3 Les caroténoïdes

Les caroténoïdes avec plus de 600 sortes, sont des pigments liposolubles synthétisés par les végétaux à qu'ils attribuent une couleur orange, rouge ou jaune.

### 2.1.2.4 les polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (**Mompon et al., 1996**). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (**Richter, 1993**), contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (**Druzyinka et al., 2007**). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (**Figure 19**), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Balasundram et al ., 2006**).



**Figure 17:** Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

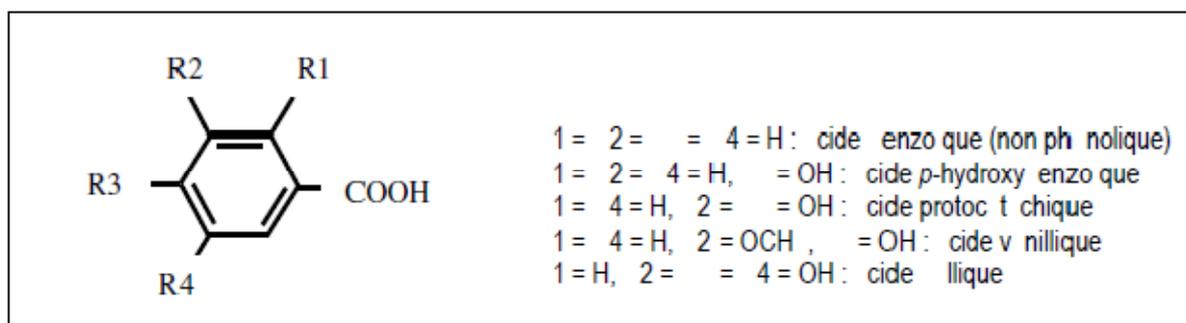
### 2.1.2.3.1 Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (D'Archivio et al., 2007).

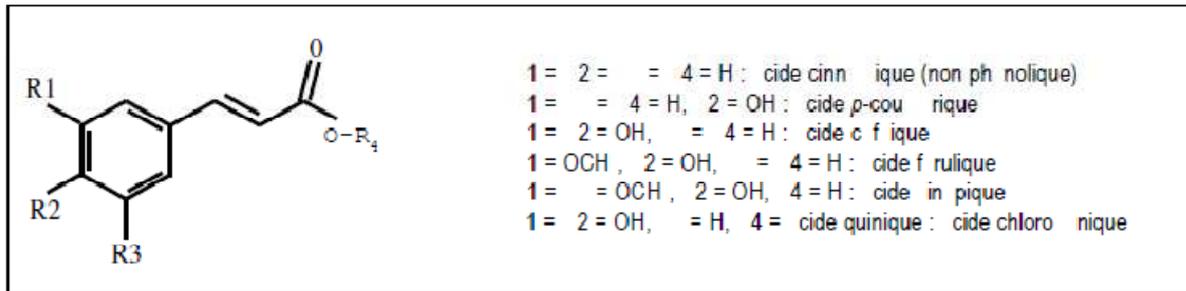
#### A. Polyphénols simples

##### a. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Bruneton, 2008).



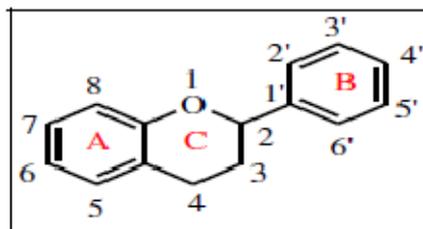
**Figure 18 :** Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (Bruneton, 2008).



**Figure 19:** Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques (Chira et al. 2008)

### b. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Figure 22) (Ghedira, 2005). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Crozier, 2003). Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...).



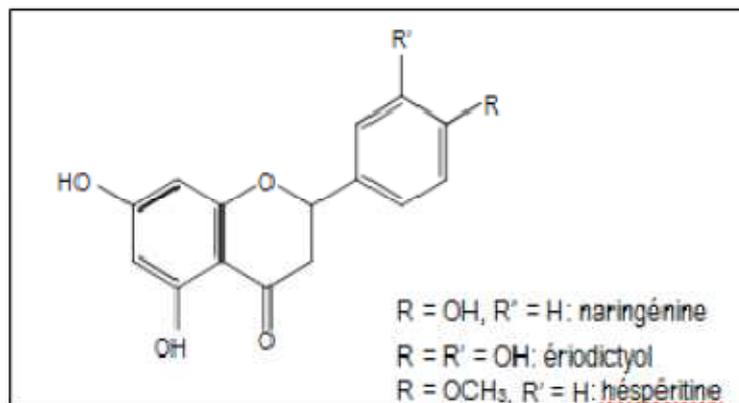
**Figure 20:** Squelette de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides (Chira et al. 2008)

### c. Flavanones

flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 (**Chira et al. 2008**).

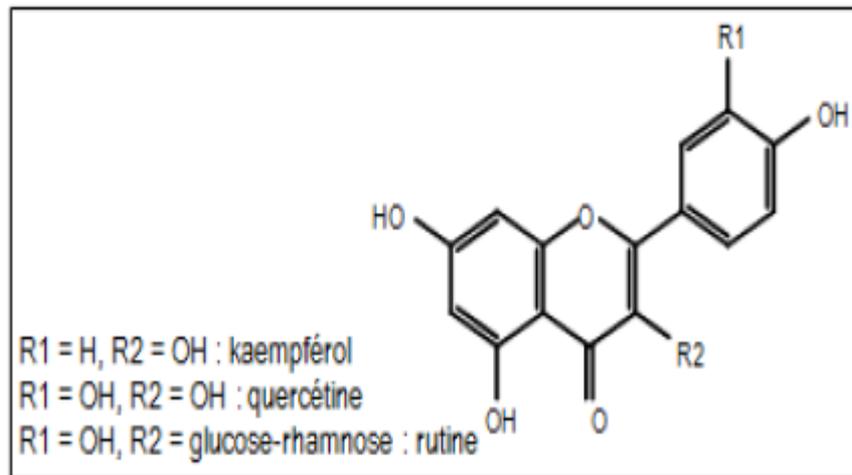
Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hésperitine dans l'orange (**Figure 23**) : un jus d'orange contient entre 200 et 600 mg d'hésperitine/L (**Manach et al., 2004**).



**Figure 21:** Structure chimique des flavanones (**Crozier, 2003**).

### d. Flavonols

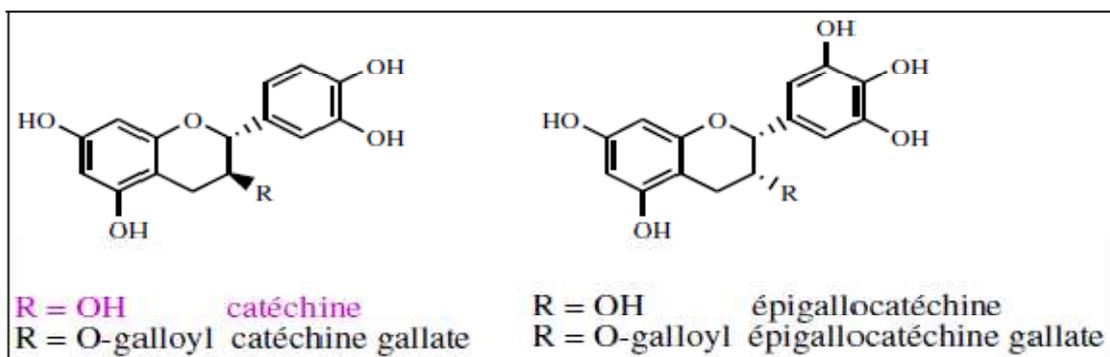
Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3 (**Figure 24**). Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses: D-glucose et L-rhamnose(**Crozier, 2003**). Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine. Les sources les plus riches sont les oignons (350-1200mg/kg de matière fraîche), le poireau, le chou et les baies telles que le cassis (115 mg/kg de matière fraîche). Le thé contient aussi des flavonols à hauteur de 45 mg/L (**Hertog et al., 1992**).



**Figure 22:** Structures chimiques de flavonols (Crozier, 2003).

#### e. Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatéchine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines. De plus, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocatéchines (épicatéchine gallate, épigallocatéchine, épigallocatéchine gallate) (Figure 25)(Chira *et al.* 2008). Les catéchines sont présentes dans le chocolat (jusqu'à 132,4 mg/kg de matière fraîche de chocolat noir), le thé (jusqu'à 120 mg du thé noir de Chine) et dans les fruits comme l'abricot (Arts *et al.*, 2000).



**Figure 23:** Structures chimiques de certains flavan-3-ols (Chira *et al.* 2008).

### f. Anthocyanidines

Ce sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin (Kořir et al., 2004). Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (Figure 26) (Vitrac et al., 2005). Ils sont présents dans le vin rouge (340-420 mg de malvidine 3-O-glucoside/L) (Mazza et al., 1999). De nombreux glucosides de cyanidine et deux dérivés de pélagonidine ont aussi été caractérisés dans l'oignon rouge (Fossen et al., 1996).

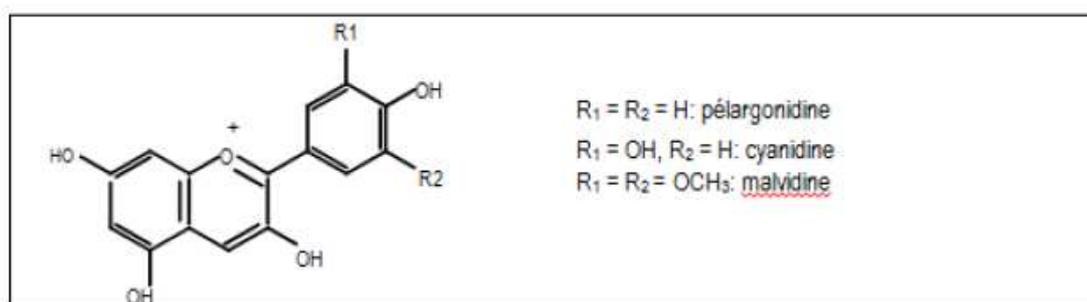


Figure 24: Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes(Chira et al. 2008).

### g. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) (Figure 27) sont les principales molécules de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique (Silva et al., 2010).

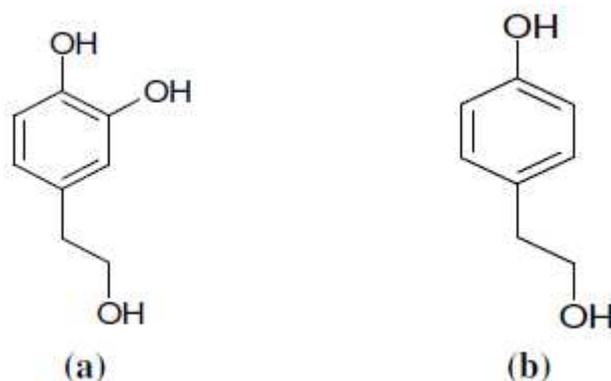


Figure 25: Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b) ( Long et al., 2010).

## B. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008). Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (Paris et Hurabeillen., 1981), d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Linden et Lorient, 1994).

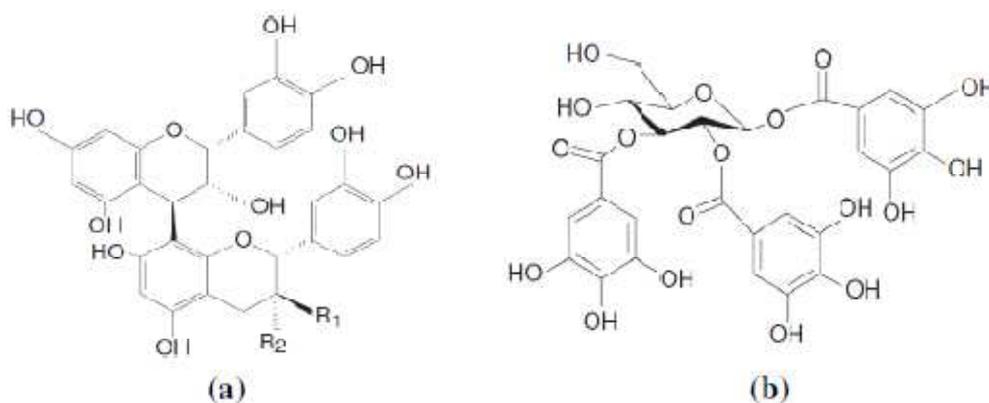
### a. Tanins hydrolysables :

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide éllagique (Figure 28) (O'Connell et Fox, 2001). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (Ribéreau-Gayon, 1968).

### b. Tannins condensés :

Les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (Figure 28) (O'Connell et Fox, 2001).

En raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire, etc...) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc...) et de l'amertume du chocolat.



**Figure 26:** Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) (Derbel et Ghedira , 2005).

### III.3 Les études antérieures sur les propriétés antioxydantes de la gelée royale

Plusieurs études ont tenté de montrer l'activité antioxydante de la gelée royale. (**Nagai et al., 2001**) ont notamment testé le pouvoir antioxydant de la gelée royale par détermination de la production de l'anion superoxyde. Ils ont montré que la gelée royale a un pouvoir antioxydant qui augmente avec sa concentration. Ses propriétés antioxydantes, bien que moins puissantes que celle de la propolis, sont plus actives que celles de tous les miels testés.

**Guo et al. (2005)** ont étudié le pouvoir antioxydant des protéines hydrosolubles de la gelée royale après les avoir hydrolysées. La fraction hydrolysée par la protéase N est celle qui a eu un pouvoir antioxydant le plus élevé envers la peroxydation des lipides. Les peptides antioxydants ont été isolés par HPLC. Plusieurs dipeptides (Leu-Trp, Phe-Asp, Trp-Leu, Trp-Val,) ont montré une activité antioxydante comparable à celle de l'acide ascorbique ou du tocophérol in vitro.

Dans une autre étude, **Nagai et al. (2006)** sont partis du fait que l'activité antioxydante de la gelée royale est due à ses protéines. Ils ont alors préparé des hydrolysats de gelée royale à l'aide de trois enzymes différentes : la pepsine, la trypsine et la papaine. Les hydrolysats ainsi obtenus ont été testés quant à leur activité antioxydante: in Vitro le potentiel de peroxydation de l'acide linoléique a été étudié. Chaque échantillon a montré une activité antioxydante mais qui diminue avec le temps. C'est l'échantillon hydrolysé par la trypsine qui montre une activité plus importante. Ainsi à une concentration de 100 mg/mL, l'activité antioxydante est supérieure à celle de la vitamine C à 5 mM mais reste inférieure à celle de la vitamine E à 1 mM. Les hydrolysats ont également montré un potentiel d'élimination de l'anion superoxyde, notamment l'hydrolysate par la trypsine qui a une activité sur le radical superoxyde supérieur à celle de 5 mM de vitamine C et à celle de 1 mM de vitamine E. De même, l'activité des hydrolysats de trypsine et pepsine à 10 mg/mL sur le radical hydroxyle est supérieure à celle de la vitamine C à 5 mM. A 100 mg/mL, ces mêmes hydrolysats ont une activité sur le radical hydroxyle semblable à celle de la vitamine E à 1 mM. Cette étude montre que l'activité des hydrolysats sur les radicaux libres est supérieure à celle des extraits aqueux et alcalins de la gelée royale. Les peptides seraient donc bien à l'origine de l'activité antioxydante de la gelée royale. Cependant, les peptides ne seraient pas les seuls responsables de cette activité.

**Liu et al. (2008)** ont étudié le potentiel antioxydant de la gelée royale récoltée à différents âges de la larve. La gelée royale récoltée 24h après le transfert de larve est plus riche en protéines, en 10H2DA et en composés phénoliques. Parmi ces derniers, plusieurs groupes existent, notamment les flavonoïdes, un des groupes les plus importants et les coumarines, naphthoquinones, xanthones, anthraquinones, lignine entre autres. Les polyphénols sont connus pour être anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, anti-arthrogéniques, anti-thrombotiques, immunomodulateurs grâce à leurs propriétés antioxydantes. L'activité antioxydante de la gelée royale est donc renforcée si la récolte a eu lieu dans les 24h qui suivent le transfert de larve. Cependant le dosage de la SOD montre que sa concentration est plus élevée dans la gelée royale récoltée 72h après le transfert des larves plutôt qu'après 24h, les auteurs supposent donc que l'effet antioxydant après dégradation du radical superoxyde, substrat de la SOD, soit effectuée par d'autres composants, notamment des vitamines, des polyphénols ou des fractions protéiques.

Partie2

Partie pratique

## **Matériels et méthodes**

## I. Matériel et méthodes

### I.1. Echantillonnage

La présente étude est réalisée sur deux types de gelée royale : GR locale et GR importée.

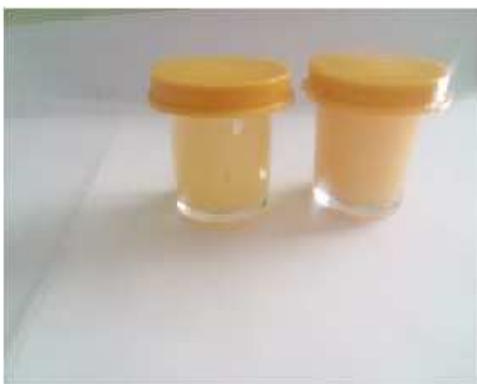
La GR locale a été récoltée au mois d'Avril 2018 dans la commune de Naciria (Boumerdès) distance de 60km du chef-lieu de la wilaya de Boumerdès et sur une altitude d'environ 500 à 600 m. Cette région est caractérisée par sa richesse en plantes apicoles. Cinq ruches d'abeilles ont été utilisées pour la production de gelée royale par une technique bien adaptée. En effet, deux barrettes contenant environ 70 cupules sont introduites dans une ruche de démarrage de l'élevage, appelée « Starters ». Après 24h dans le starter, les barrettes sont transférées dans une ruche de finition, pour y rester 48h. Au bout de cette période les barrettes sont retirées pour extraire la gelée royale.

La gelée royale extraite est purifiées à l'aide d'une passoire afin d'éliminer d'éventuelles impuretés.

La gelée est ensuite conditionnée dans des flacons en verre de 10g bien fermé enrobé avec du papier aluminium pour assurer l'obscurité, et conservée à une température de réfrigération, ne dépassant pas les 4°C .

Quant à la gelée importée (chine), elle a été achetée dans des flacons en plastiques de 10g chez un vendeur de produits de la ruche et matériels apicoles à ISSER (w. Boumerdès), puis conservée au réfrigérateur à 4°C.

Les photos des échantillons de gelée royale sont montrées dans la figure 27.



(a)



(b)

**Figure 27** : photos des échantillons analysés ((a) : GR importée, (b) : GR locale)

## **I.2. Analyses physico-chimiques**

### **I.2.1. Mesure du taux d'humidité**

La détermination du taux d'humidité de gelée consiste à peser 2,5g d'échantillons dans des creusets et les placer dans une étuve à 105°C pendant 3 heures. Les creusets sont repesés après refroidissement dans un dessiccateur. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage (Nabas *et al.*, 2014).

### **I.2.2. Mesure du pH**

Une quantité de 2g d'échantillons est homogénéisée pendant 5 minutes dans 20ml d'eau distillée. Le pH est mesuré par un pH-mètre (BANTE instruments, 920, Chine) après étalonnage.

### **I.2.3. Dosage des protéines**

Pour la préparation de l'extrait de la gelée, Une quantité de 1.5 g de celle-ci est dissoute dans 30ml de l'éthanol à 80%. L'extraction est réalisée par un malaxage à l'aide d'un ultra turax (IKA T18 ; Basic, Allemand) pendant 5 min puis par une agitation magnétique durant 20h à température ambiante. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre et l'extrait obtenu est conservé au réfrigérateur à 4°C.

La concentration des protéines de gelée royale est déterminée par la méthode colorimétrique décrite par (**Bradford, 1976**).

Un volume de 100 µl de l'extrait est mélangé avec 5 ml du réactif de Bradford et homogénéiser à l'aide d'un vortex. Après 2 minutes d'incubation, la lecture de l'absorbance est faite à 595 nm. Les résultats sont exprimés en % en utilisant la courbe standard de BSA (sérum d'albumine bovine) (Annexe figure a).

## **I.3. Dosage des antioxydants et évaluation de l'activité antioxydante**

### **1.3.1. Extraction des antioxydants**

Des aliquotes d'échantillons de 1.5 g de gelée ont été pesés dans des béchers, puis 30 ml du solvant d'extraction (éthanol 80%) est ajouté. L'extraction est réalisée en premier lieu

par un malaxage, avec un ultra turax (IKA T18 Basic, Allemand) pendant 5min, puis en deuxième lieu avec une agitation magnétique durant 20heures à température ambiante. Les mélanges sont filtrés à l'aide d'un papier filtre et les extraits obtenus sont conservés au réfrigérateur (6°C) (Moreno, 2000).

### **I.3.2. Dosage des antioxydants**

#### **I.3.2.1. Dosage des composés phénoliques**

Le réactif de Folin-ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ), et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Un volume de 200  $\mu$ l d'extrait est mélangé avec 1.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 5 minutes d'incubation à l'obscurité ; 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5% est ajouté au mélange. Après 2 h d'incubation, la lecture de l'absorbance est faite à 765 nm (**Rayane et al. , 2013**).

Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par 100g d'échantillons (mg EAG/100g) en utilisant la courbe standard d'acide gallique (Annexe figure b).

#### **I.3.2.2. Dosage des flavonoïdes**

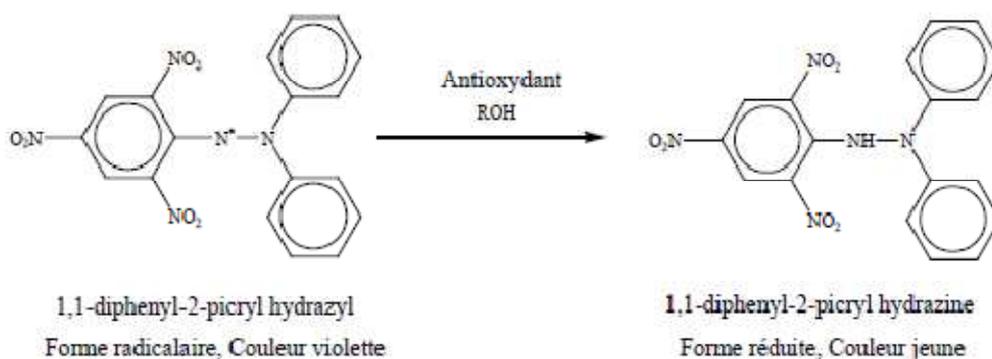
Le contenu en flavonoïdes est déterminé par la méthode colorimétrique décrite par (**Quettier-Deleu et al., 2000**). Un volume de 1ml d'extrait est mélangé avec 1ml de la solution de chlorure d'aluminium à 2%. Après 30min d'incubation, l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre, à une longueur de 448nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalents quercétine/100g d'échantillons (mg EQ/100g) en utilisant la courbe standard de quercétine (Annexe figure c).

### **I.3.3. Evaluation de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante de la gelée a été évaluée par deux méthodes : DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) et le pouvoir réducteur.

### I.3.3.1. Activité antiradicalaire (DPPH)

Le composé chimique 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violacée. En présence des antioxydants, le radical DPPH sera réduit par un transfert d'hydrogène et change de couleur vers le jaune (**Chaabi, 2008**).



**Figure 28** : Réduction du radical DPPH.

La capacité des antioxydants de la gelée royale à réduire le radical DPPH est évaluée par la méthode décrite par (**Lopes-Lutz et al., 2008**). Un volume de 2.5 ml d'extrait est additionné à 1ml de la solution alcoolique de DPPH (0.3 mM). Après 30min d'incubation à température ambiante, la lecture de l'absorbance est faite à 517nm. Les résultats sont exprimés en % d'inhibition :

$$\left(1 - \frac{\text{absorbance de l'échantillon à } 517 \text{ nm}}{\text{absorbance du témoin à } 517 \text{ nm}}\right) \times 100$$

### I-3-3-2 Pouvoir réducteur

La puissance réductrice des produits de la ruche est déterminée par la méthode décrite par (**Que et al., 2006**). Un volume de 0.5 ml d'extrait est mélangé avec 200 µl du tampon phosphate (0,2M, pH = 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium à 1%. Après agitation et incubation au bain marie à 50°C pendant 20min à l'obscurité, 1 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange. Le mélange est centrifugé à 3000 RPM pendant 10 minutes. un volume de 1ml de surnageant obtenu sont ajoutés 1ml d'eau distillée puis 0,2ml de chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (0,1%). Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 700nm et les résultats sont exprimés en mg équivalents acide gallique par 100g

d'échantillons (mg EAG/100g) en utilisant la courbe standard d'acide gallique (Annexe figure d).

#### **4. Analyse statistique**

Les résultats d'analyse de deux types de gelées royales sont calculés à partir de trois essais. Les données ainsi que les présentations graphiques sont traitées à l'aide de Microsoft Office Excel.

L'analyse statistique est faite dans le but de comparer les moyennes des résultats obtenus par l'analyse de la variance (ANOVA, test LSD) en utilisant le logiciel STAT BOX, version 6.40, le seuil de signification est pris à  $p < 0,05$ .

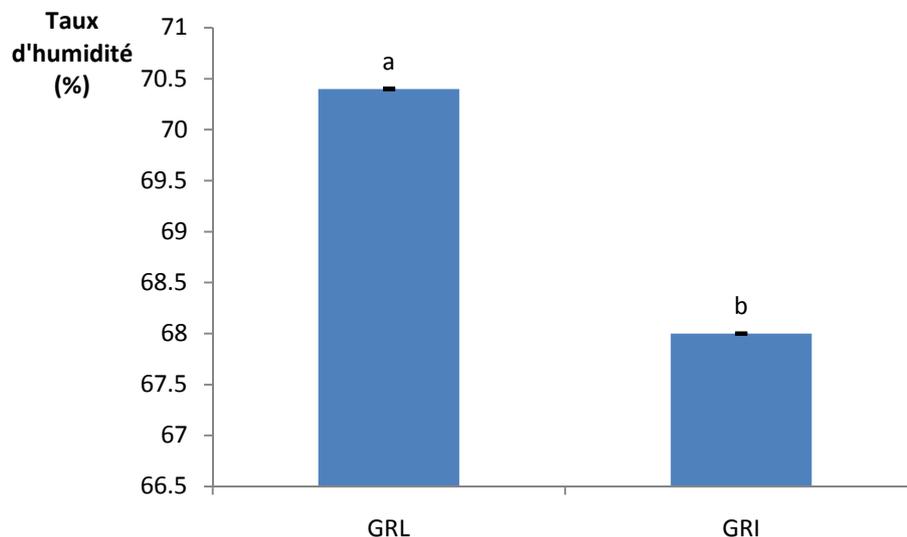
## **Résultats et discussion**

## II. Résultats et discussion

### 1. Analyses physico-chimiques

**1.1. Humidité :** La teneur en eau d'un aliment est déterminante de la qualité de l'aliment, en effet, le taux humidité élevé peut être un facteur de dégradation des antioxydants (Ribereau-Gayon, 1968). En effet, en présence d'eau une activité enzymatique peut entraîner rapidement des réactions irréversibles des antioxydants, tels que l'oxydation qui conduit à leur polymérisation ou leur décomposition.

La figure 29 illustre les résultats du taux d'humidité enregistrés sur les deux types de gelée royales.



**Figure 29:** Taux d'humidité de deux types de gelée royale : locale et importé ( $P < 0.001$ ).

La figure 29 montre les résultats des taux d'humidité enregistrés sur les échantillons de gelée royale analysés. La valeur la plus élevée (70.4%) a été enregistrée dans la gelée royale fraîche (GRL), produite localement, contre une valeur légèrement plus faible (68%) enregistrée dans la gelée royale importée (GRI). L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative ( $P = 0,0004$ ). Cette différence enregistrée, entre les deux types de gelée, peut s'expliquer par la différence des traitements appliqués après la production. En effet, dans le cas de la gelée royale produite localement n'a subi aucun traitement à l'exception d'un conditionnement dans son emballage final de commercialisation ; cependant dans le cas de la gelée royale d'importation, après sa

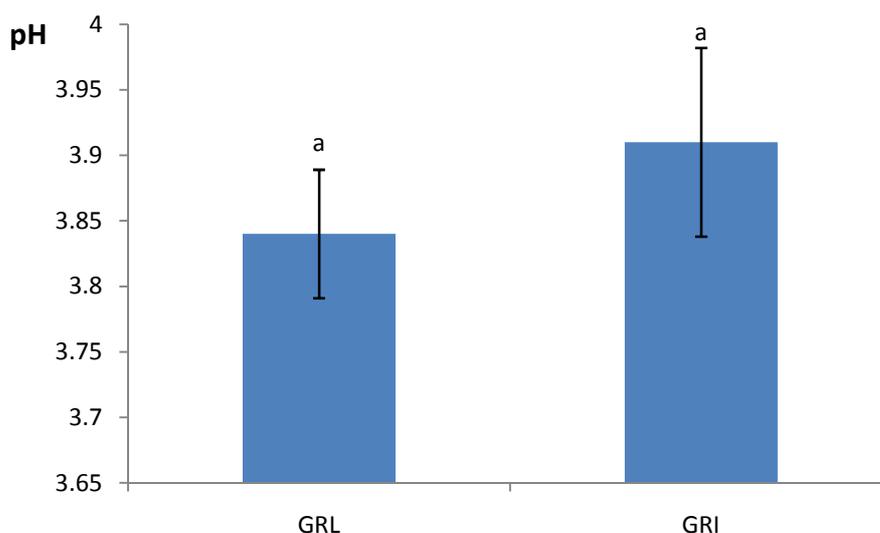
production, et pour son exportation, la législation internationale (ISO) exige sa lyophilisation. Ainsi, on obtient un produit sec et facile à conserver et donc à commercialiser. Sa réhydratation intervient juste avant sa consommation, le volume d'eau ajouté pour sa réhydratation détermine son humidité finale. Dans le cas de la gelée royale fraîche son taux d'humidité est influencé, selon **Wongchai (2002)** par les conditions environnantes : la pluviométrie et le taux d'humidité relative de l'air.

Par ailleurs, de point de vue réglementaire le taux d'humidité de la gelée royale, selon la norme ISO rapportée par **Kanelis et al., (2015)**, oscille entre 62,5 à 68,5%. Cette norme révèle la conformité du taux d'humidité de la gelée royale d'importation, cependant celui de la gelée royale locale est légèrement supérieur. Comparativement aux résultats obtenus par **Pavel et al. (2014)** dont les valeurs varient de 61.76 à 62.48 %, nos résultats sont de loin supérieurs. Les taux d'humidité relativement élevés de la gelée royale locale peuvent constituer un facteur limitant de sa conservation.

## 1.2. Le pH

La gelée royale a généralement un pH acide. Le pH peut être considéré comme étant un indice de qualité. En effet, ce paramètre peut influencer la solubilité de certains constituants hydrosolubles de la matrice, le goût et le développement des micro-organismes et donc la conservation de l'aliment.

La figure 30 illustre les valeurs moyennes de pH obtenues sur les deux types de gelées royales analysées.



**Figure 30** : pH de deux types de gelée royale : locale et importée ( $P > 0.05$ ).

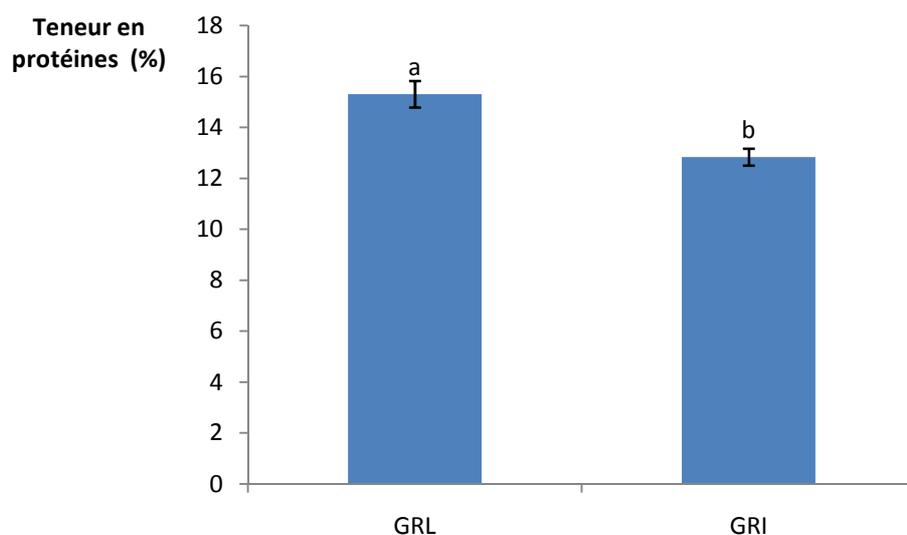
Les valeurs moyennes du pH enregistrées dans les deux types de gelées royales sont 3.84 et 3.91 respectivement pour la gelée royale locale et celle issue de l'importation. L'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative ( $P=0.25$ ).

Cette différence entre les deux types de gelée peut s'expliquer par la différence dans les conditions de production et la durée de conservation. Par ailleurs, les valeurs de pH enregistrées se situent dans l'intervalle de normes brésiliennes dont la fourchette oscille entre 3,4 à 4,5. Cependant, nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Pavel et al. (2014)** dont les valeurs varient de 3.97 à 4.04, ceci confirme l'influence des facteurs environnants et de la race d'abeille. **Balkanska et al. (2013)** ont montré la dépendance du pH des conditions de stockage du produit.

### 1.3. Teneur en protéines

La gelée royale, étant la nourriture des larves qui deviendront de futures reines, contiendrait naturellement des éléments de croissance, principalement des protéines.

La figure 31 montre les résultats de teneur en protéines enregistrées sur les deux types de gelées royales analysées.



**Figure 31:** Teneur en protéines de deux types de gelée royale : locale et importée ( $P < 0.01$ ).

Les résultats obtenus sur les deux types de gelées diffèrent significativement ( $P = 0.003$ ). En effet, la teneur en protéines de la gelée royale locale est plus élevée par rapport à celle provenant de l'importation, dont les valeurs sont respectivement 15,72% et 12,46%. Toutefois, ces valeurs sont incluses dans l'intervalle fixé par **ISO, 2016**, et qui varie de 9 à 18%. Par ailleurs, les valeurs remarquablement plus faibles enregistrées dans la gelée royale d'importation peuvent nous laisser soupçonner une situation de fraudes par addition des constituants de nature non protéique et de faible coût, tel que l'amidon par exemple. Ce résultat ouvre ainsi une piste sur la nécessité de contrôler et de fixer de normes très strictes pour combattre une concurrence déloyale en défaveur de la production locale.

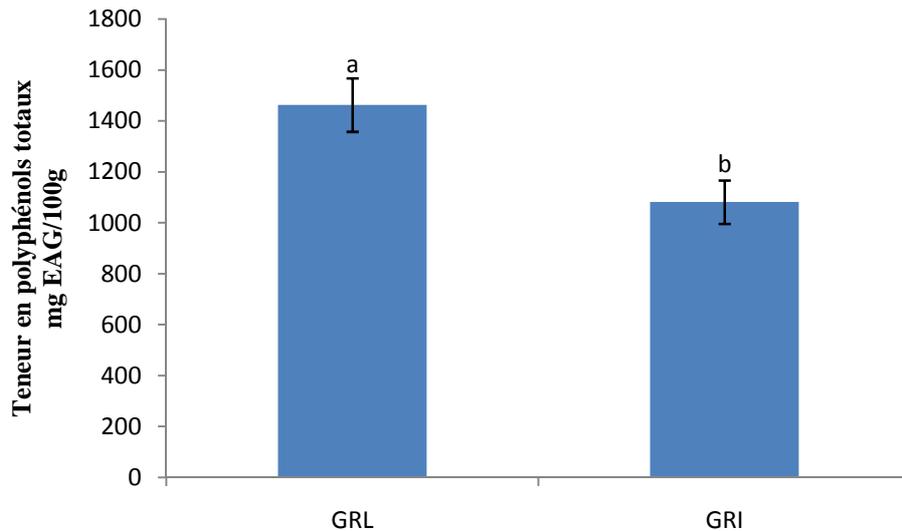
Par ailleurs, nos résultats sont supérieurs comparativement à ceux trouver par **Yavusi et Gurel (2017)** dont les valeurs enregistrées varient de 9.76% à 12.57%. Ces différences enregistrées, dans la teneur en protéines des gelées des différentes régions, peuvent s'expliquer selon **Balkanska et al., 2013** par l'origine botanique (pollen et nectar sont des précurseurs de la gelée royale), conditions géographiques, l'année de la récolte et les conditions environnementales des ruches.

## 2. Dosage des antioxydants

### 2.1 La teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des végétaux. En plus de leurs propriétés sensorielles, ces constituants mineurs sont doués d'une activité antioxydante permettant la protection de leur hôte (végétaux) des agressions extérieures par certains agents de nature biologiques et physico-chimiques. Plusieurs études scientifiques récentes ont rapportées la richesse de la gelée royale en ces substances bioactives et qui sont très bénéfiques pour la santé humaine.

La figure 32 ci-dessous illustre les résultats en polyphénols totaux enregistrés dans les deux types de gelée royale



**Figure 32:** teneur en polyphénols de deux types de gelée royale : locale et importée

( $P < 0.01$ )

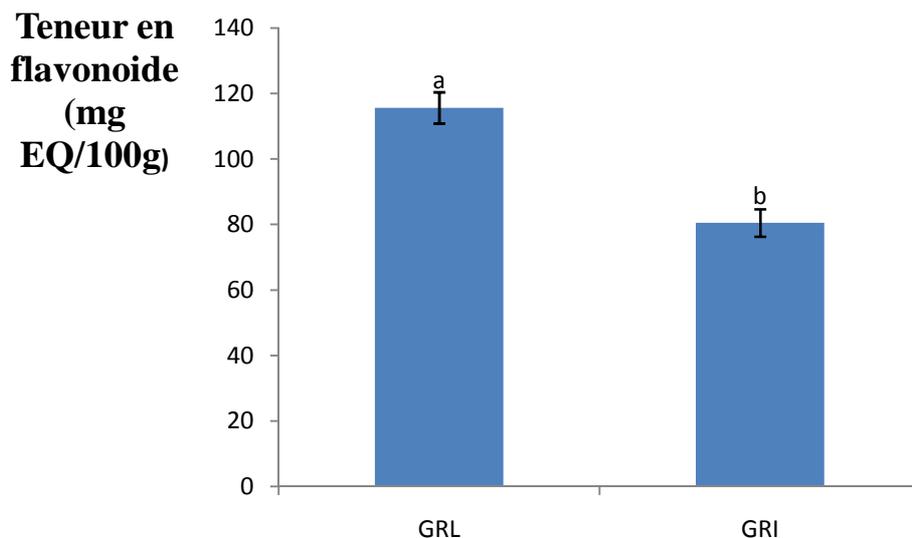
Les résultats enregistrés montrent des teneurs plus élevées en polyphénols dans la gelée royale locale (1462,66 mg /100g) comparativement à celle issue de l'importation (1081,66 mg /100g). L'analyse statistique a révélé une différence significative. Nos résultats sont d'environ de moitié inférieurs à ceux trouvés par Pavel et al (2014) et Balkanska (2018). Cette différence peut s'expliquer probablement par la différence des méthodes analytiques utilisées dans différentes études.

Sur le plan diététique les résultats enregistrés révèlent qu'il serait plus bénéfique pour la santé la consommation de la gelée royale fraîche produite localement.

## 2.2 Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes est une classe de polyphénols très abondante dans le règne végétale. Douée de mêmes propriétés que les polyphénols. Les flavonoïdes ont de forts pouvoirs antioxydant et sont donc très bénéfiques pour la santé humaine.

La figure 33 illustre les teneurs en flavonoïdes enregistrés dans les deux types de gelée royales.



**Figure 33:** Teneurs en flavonoïdes de deux types de gelée royale: locale et importée ( $P < 0.01$ ).

La gelée royale fraîche produite localement a des teneurs en flavonoïdes plus élevées par rapport à la gelée d'importation, dont les valeurs enregistrées sont de 115,63 mg /100g dans le cas de la GRL contre 80.49 mg /100 g pour la GRI. L'analyse statistique a révélé une différence hautement significative ( $P=0.001$ ). Ce résultat nous laisse supposer la valeur diététique la plus élevée de la gelée royale locale comparativement à la gelée royale d'importation de qualité douteuse.

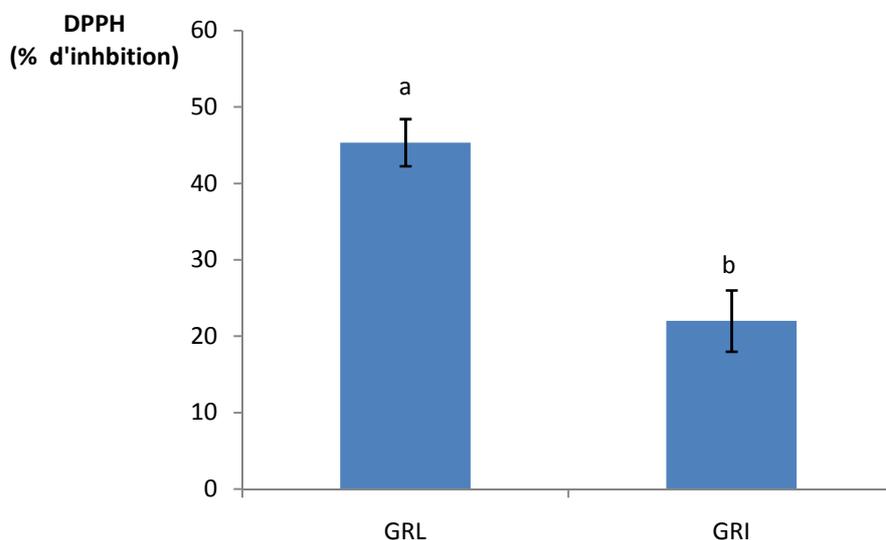
### 3. L'activité antioxydante

Pour déterminer la capacité antioxydante de deux types de la gelée royale, deux méthodes spectrophotométriques ont été utilisées :

#### 3.1 Activité de piégeage du radical DPPH (Activité antiradicalaire)

Le DPPH est un radical libre relativement stable qui a été largement utilisé dans la détermination de l'activité antioxydante des différents extraits des plantes (Sharififar et al., 2009). Les antioxydants interagissent avec le DPPH en lui transférant un électron ou un atome d'hydrogène ce qui entraîne sa neutralisation, par conséquent la couleur change de pourpre vers le jaune (Kubola et Siriamornpun, 2008).

La figure 34 illustre les résultats de l'activité anti-radicalaire, exprimé en pourcentage d'inhibition. Les résultats obtenus pour l'activité anti-radicalaire montrent des différences hautement significatives ( $P=0.002$ ).



**Figure 34** : valeurs de DPPH (en % d'inhibition) de deux types de gelée royale locale et importée ( $P<0.01$ ).

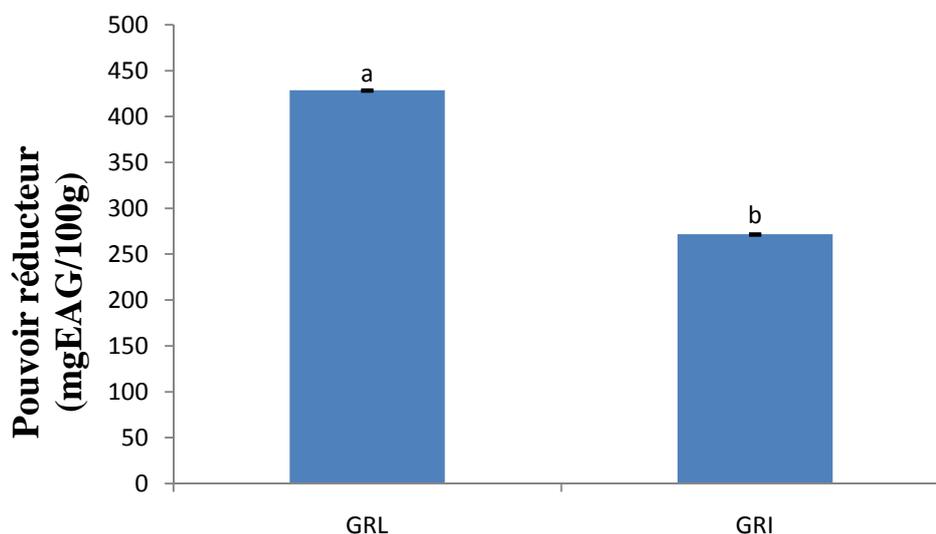
Le meilleur taux d'inhibition est enregistré dans la gelée royale locale (45,33%), contre (22%) de la gelée importée, c.-à-d que la gelée royale locale présente une meilleure activité anti-radicalaire. Les taux d'inhibition enregistrés sur la GRL sont supérieurs à ceux trouvés par **Pavel et al (2014)** qui ont trouvé des valeurs de pourcentage d'inhibition varient de 35,94 à 37,23 %, cependant, les taux d'inhibition de la GRI sont inférieurs à ceux trouvés par ce même auteur.

Par ailleurs, ces résultats sont corrélés positivement aux teneurs en polyphénols et aux flavonoïdes. En effet, les différences de valeurs de pourcentage d'inhibition peuvent être expliquées par les teneurs plus élevées de la gelée royale locale en antioxydants (polyphénols, flavonoïdes) par rapport à la gelée royale importée. Ce résultat confirme encore une fois la valeur diététique supérieure de la GRL comparativement à la GRI.

### 3.2 Pouvoir réducteur

Le potentiel antioxydant des extraits de gelée royale a été estimé par la méthode de réduction de ferricyanure de potassium. La présence des agents réducteurs dans les extraits induit la réduction du fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) au fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Cette réduction est mesurée par l'intensité de la couleur bleu vert qui résulte. L'absorbance est lue à 700 nm. Les valeurs élevées de l'absorbance indiquent que le pouvoir réducteur est important (Huda-Faujan et al., 2007).STZ

La figure 35 illustre les résultats du pouvoir réducteur enregistrés sur les deux types de gelée royale.



**Figure 35 :** pouvoir réducteur de deux types de gelée royale : locale et importée ( $P < 0.001$ ).

Cette figure montre que le pouvoir réducteur de la gelée royale locale (428,53mg/100g) est supérieur à celui de la gelée royale importée (271,73mg/100g). L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative ( $p = 0.0004$ ). Ce résultat peut s'expliquer par la différence dans la concentration des substances antioxydantes dans les deux types de gélées. En effet, la gelée royale locale ayant la concentration la plus élevée en polyphénols et en flavonoïdes a enregistré le pouvoir réducteur le plus élevé. Ce résultat confirme l'activité biologique la plus élevée de la gelée royale locale comparativement à celle issue de l'importation.

Par ailleurs, les résultats enregistrés dans cette étude sont inférieurs à ceux trouvés par **Liu et al. (2008)**. Enfin, cette variation du pouvoir réducteur de deux type de gelée royale peut être due à la présence des composés non phénoliques comme les enzymes (glucose oxydase et catalase) et non enzymatiques (vitamines et acides aminés) (**Aljadi and Kumaruddin, 2004**).

## Conclusion

La gelée royale est l'un des principaux produits de la ruche. En Algérie, très peu d'apiculteurs ont tenté sa production, car demande une technicité et un surplus de main d'œuvre qui est généralement en compétition avec la production du miel, pour un même niveau de rentabilité. Toutefois, la production de gelée royale est moins dépendante des conditions climatiques, comparativement à la production du miel. Par ailleurs, sur le plan économique, même si le produit n'est pas connu par un large public, il demeure toutefois un créneau vierge qui peut être très rentable. Justement, l'absence de la production locale est comblée par la gelée royale d'importation, provenant essentiellement de Chine. Cependant, cette gelée royale d'importation est de qualité méconnue. Cette présente étude a eu pour objectif d'apprécier la qualité de cette gelée importée par rapport à la gelée royale produite localement.

Les résultats des paramètres évaluant l'activité biologique de la gelée royale et qui sont la teneur en antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) ainsi que le pouvoir antioxydant et le pouvoir réducteur révèlent que la gelée royale importée est d'une qualité de loin inférieure comparativement à la gelée royale produite localement. L'analyse statistique a révélé des différences hautement significatives. La diminution de la qualité de gelée importée de Chine peut être due à la lyophilisation, à la durée et les conditions de conservation au cours de sa commercialisation. Cependant, la gelée produite localement a gardé son statut frais, d'une meilleure activité biologique, en raison de la proximité du marché.

La teneur en protéines est un autre paramètre évaluant la qualité de la gelée royale, de même que l'activité biologique, la gelée royale locale a des teneurs en protéines supérieures à la gelée royale d'importation même si cette dernière a un taux de matière sèche le plus élevé, ce résultat nous laisse supposé d'éventuelle fraude ce qui exigerait des contrôles supplémentaires d'évaluation de la qualité de ce produit.

Dans le cas du pH, ce paramètre de qualité est conforme aux normes pour les deux types de gélées royales.

La teneur en eau est un autre paramètre de qualité évalué, les résultats obtenus ont révélé la conformité de la gelée royale importée aux normes, contrairement à la gelée royale locale. Une teneur élevée en eau peut être un facteur préjudiciable à la conservation et donc à la commercialisation de la gelée royale locale. Ce résultat peut avoir pour origine les conditions de productions, et particulièrement les conditions climatiques. Ce résultat nécessite une investigation supplémentaire.

En perspective, nous proposons d'analyser le maximum d'échantillons de la gelée produite localement en perspective d'élaboration des normes nationales de la qualité de la gelée royale. Ces normes constitueront une référence définissant la qualité de gelée royale mise sur le marché, qu'elle soit locale ou importée.

L'approfondissement de l'évaluation de la qualité, dans le but de protéger le consommateur, passe obligatoirement par la recherche des résidus d'antibiotiques, utilisés pour le traitement des maladies de l'abeille, et qui peuvent se retrouver dans la gelée royale produite.

Enfin, les potentialités mellifères importantes de l'Algérie plaident pour le développement de la filière apicole. La diversification des produits de la ruche peut aussi être un facteur de prospérité de cette activité agricole, qui est bien adaptée aux zones de montagnes.

**Abdelatif M, Yakoot M, Etmaan M. 2008.** Safety and efficacy of a new honey ointment on diabetic foot ulcers: a prospective pilot study. *J Wound Care.* 17(3):108–110.

**Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme.* 74 : 636–643.

**Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 78: 189-199.

**Al-Ghamdi A., Ramadan M. F., 2012.** Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review; *JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS* 4(2012)39–52

**Arts I.C.W., Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000).** Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 48: 1746-1751.

**Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 99 : 191–203.

**Balkanska Ralitsa (2018).** Correlations of Physicochemical Parameters, Antioxidant Activity and Total Polyphenol Content of Fresh Royal Jelly Samples. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* ISSN: 2319-7706 Volume 7 Number 04 (2018) .Journal homepage: <http://www.ijcmas.com>  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.421>

**Lavinia Ioana Bărnuțiu, Liviu Al. Mărghitaș, Daniel S. Dezmirean, Cristina**

**Manuela Mihai, Otilia Bobiș(2011).** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Royal Jelly – Review. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 2011, 44 (2)

**Biondi, C., G. Bedini and A. Felicioli (2003).** Royal jelly: proposed method for the determination of geographical origin and quality. *Apitalia* (6): 32-37.

**Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris.* pp 198-260.

**Buratti S.; Benedetti S.; Cosio M.S., (2007).** Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Science Direct, Talanta* 71 (2007) 1387–1392.

**Caboni, M.F.; Sabatini, A.G. and Lercker, G. (2004).** La gelatina reale: origine, proprietà e composizione/Royal jelly:origin, properties and composition. *APOidea* 1: 72-79.

**Chira K., Such J., Saucier C., Teissède L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Ed:Springer.* 6 :75-82.

**Crozier A. (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants’ Diet and Health’*. *Ed. Goldberg.* pp: 27- 48

**D’Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dellIstituto-Superiore-di-Sanità.* 43(4) : 348-361.

**Dangles O. (2012).** Antioxidant activity of plant phenols: chemical mechanisms and biological significance. *Current Organic Chemistry.* 16 : 692-714.

**Derbel S., Ghedira K. (2005).** Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie.* 1: 28-34.

**Druzyńska B., Stepnińska A. et Wolosiak R. (2007).** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria.* 6: 27-36.

**Faquinello P, Toledo VAA, Martins EN, Oliveira CAL, Sereia MJ, Costa-Maia FM, Ruvolo-Takasusuki MCC (2011).** Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees. *Sociobiology* 2011; 57:495–509.

**Favier A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L’actualité chimique.* 17: 501-512. Curtay J.-P. et Robin J.-M. (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info.*4p.

**Fossen T., Andersen O.M., Ovstedal D.O., Pedersen A.T., Raknes A. (1996).** Characteristic anthocyanin pattern from onions and other *Allium* spp. *Journal of Food Science* 61: 703-706.

**Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes: structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 04: 162-169.

**Gilbert D.L., Colton C.A. (1999).** Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach..., editors. New-York: Kluwer Academic / Plenum Publishers. 740p.

**Halliwell B., Chirico S. (1993).** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*. 57: 715S-725S.

**Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B. (1992).** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 2379-2383.

**İbrahim YAVUZ1, Fehmi GÜREL (2017).** Chemical properties of the royal jellies in Turkish markets. *MEDITERRANEAN AGRICULTURAL SCIENCES* (2017) 30(3): 281-285. DOI: 10.29136/mediterranean.360013 *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 11447–11452 **11447**

**Jahn U., Galano J.-M., Durand T. (2008).** Beyond prostaglandins - chemistry and biology of cyclic oxygenated metabolites formed by free-radical pathways from polyunsaturated fatty acids. *Angewandte Chemie International Edition*. 47: 5894-5955.

**Jamnik, P., P. Raspor and Javornik, B ( 2012).** A proteomic approach for investigation of bee products: royal jelly, propolis and honey. *Food Technology and Biotechnology*, 50: 270–274.

**JE-RUEI LIU, YUAN-CHANG YANG, LI-SHIAN SHI, AND CHI-CHUNG PENG (2008).** Antioxidant Properties of Royal Jelly Associated with Larval Age and Time of Harvest.

**Karadeniz, A.; Simsek, N.; Karakus, E.; Yildirim, S.; Kara, A.; Can, I.; Kisa, F.; Emre, H. and Turkeli, M. (2011).** Royal Jelly Modulates Oxidative Stress and Apoptosis in Liver and Kidneys of Rats Treated with Cisplatin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, gail cell line-driven neurotropic factor and neurofilament H in the hippocampus of adult mouse brain. *Biotechnology and Biochemistry*, 69 (4): 800-805.

**Kodai T.; Umebayashi K.; Nakatani T.; Ishiyama K. and Noda N. (2007)** Compositions of royal jelly II. Organic acid glycosides and sterols of the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 55 (10): 1528-1531.

- Košir I-J., Lapornik B., Andrenšek S., Wondra A., Vrhovšek U et Kidric J. (2004).** Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta* . 513: 277-282.
- Lee A; Yeh M; Wen H; Chern J; Lin J. and Hwang W. (1999).** The application of capillary electrophoresis on the characterization of protein in royal jelly. *Journal of Food and Drug Analysis* 7 (1): 73-82.
- Lercker G.; Caboni M F.; Vecchi M A.; Sabatini A G. and Nanetti A. (1992)** Characterization of the main constituents of royal jelly. *Apicoltura* (8): 27-37.
- Lercker G.; Caboni M F.; Vecchi M A.; Sabatini A G. and Nanetti A. (1993)** Caratterizzazione dei principali costituenti della gelatina reale. *Apicoltura* 8: 27-37
- Lercker, G., M.F. Caboni, M.A. Vecchi and A.G. Sabatini (1993).** Caratterizzazione dei principali costituenti della gelatina reale. *Apicoltura* 8: 27-37.
- Linden et Lorient D. (1994).** Pigments et aromes .In : Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole. *Ed : Masson.* 338-340.
- Long H.S., Tilney P.M. et Van Wyk B.-E. (2010).** The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae). *South African Journal of Botany.* 76 (02): 167-420.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition.* 79: 727-747.
- Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P., Girard B., Ewert B. (1999).** Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 47: 4009-40017.
- Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbel D. (1996).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». *Ed INRA.* 31-35.
- Mozafar Khazaei, Atefe Ansarian & Elham Ghanbari (2017):** New Findings on Biological Actions and Clinical Applications of Royal Jelly: A Review, *Journal of Dietary Supplements*, DOI: 10.1080/19390211.2017.1363843

**Mozafar Khazaei, PhDa, Atefe Ansarian, MDb, and Elham Ghanbari, MSc (2017):** New Findings on Biological Actions and Clinical Applications of Royal Jelly: A Review. Journal Of Dietary Suppliments. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1363843>

**O'Connell J.E., Fox P.F. (2001).** Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milk dairy products: a review. *International Dairy Journal*. 11(3): 103-120.

**OPIDA, (2009).** The guide technique of royal jelly producer, in French]. Le guide technique du producteur de gelée royale. Lion: Office Pour L'information et la Documentation en Apiculture; 2009. 117 p.

**Paris M., Hurabeillen M. (1981).** Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie. *Ed:Masson*. 210-215.

**Ralitsa BALKANSKA, Liviu Al. MĂRGHITAS, CrenguŃa I. PAVEL ,Maya IGNATOVA1, Lavinia I. TOMOS (2013).** Comparison of Physicochemical Parameters in Royal Jelly from Romania and Bulgaria. Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies 70(1)/2013, 117-121 Print ISSN 1843-5262; Electronic ISSN 1843-536X.

**Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod. Paris*. pp : 173-201.

Richter G. (1993). Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. *Ed Presse polytechnique et universitaire romande*. pp: 317-339.

**Sabatini, A.G., Marcazzan, G., Caboni, M.F., Bogdanov, S., Almeida-Muradian, L.B. (2009).** Quality. and standardisation of royal jelly. *JAAS*, 1: 1-6.

**Sano, O., T. Kunikata, K. Iwaki, M. Ikeda and M. Kurimoto (2004)** Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by twodimensional gel electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*14; 52(1):.15–20.

**Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec et Doc Lavoisier*. pp : 02-11.

**Sereia MJ, Arnaut de Toledo VA, Faquinello P, Costa-Maia FM, Satilla ESC, Ruvolo-TakasusukiMCC, Furlan AC. 2010.** Lifespan of Africanized honey bees fed with various proteic supplements. *Journal of Apicultural Science* 2010;54:37–49.

**Serra Bonvehi J. and Escola Jorda R. (1991)** Study of the microbiological quality and bacteriostatic activity of queen food (royal jelly): effect of organic acids. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 87 (8): 256-529.

**Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A.V. et Boas V. (2010).** Secoiridoids in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. *Grassasy Aceittes*. 61 (02): 157-164.

**Spiteller G. (2006).** Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology and Medicine*. 41: 362-387.

**Stocker A.; Schramel P.; Kettrup A. and Bengsch E. (2005)** Trace and mineral elements in royal jelly and homeostatic effects. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 19 (2-3): 183-189.

**Toledo and Mouro, 2005. Royal jelly production by selected Africanized honeybees and Carniolan hybrids, in Portuguese. Revista Brasileira de Zootecnia 2005;34:2085–2092. DOI:10.1590/S1516-35982005000600034.**

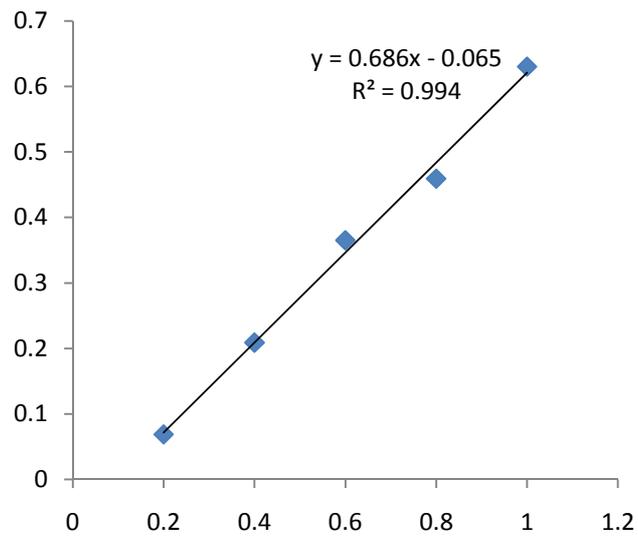
**Visweswara Rao Pasupuleti, Lakshmi Sammugam, Nagesvari Ramesh, and Siew Hua Gan, (2017).** Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. Hindawi. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2017, Article ID 1259510, 21 pages. <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>.

**Vitrac X., Bornet A., Vanderlinede R. (2005).** Determination of stilbenes (Delta-viniferin, trans-as tringin, trans-piceid, cis- and trans-resveratrol, epsilon-niferin) in Brazilian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (14): 5664-5669.

**ZHENG, H Q; WEI, W T; HU, F L (2011)** Beekeeping industry in China. *Bee World* 88(2): 41-44. <http://www.ibra.org.uk/articles/Beekeeping-Industry-In-China> .

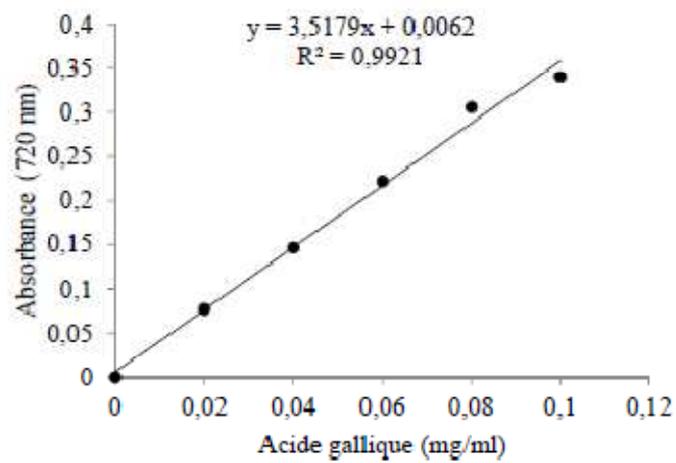
# **Annexes**

## Annexe a



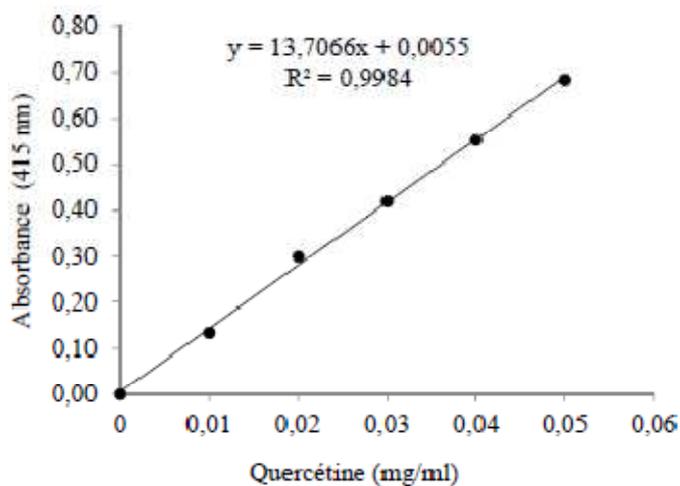
**Figure a :** courbe d'étalonnage des protéines.

## Annexe 2



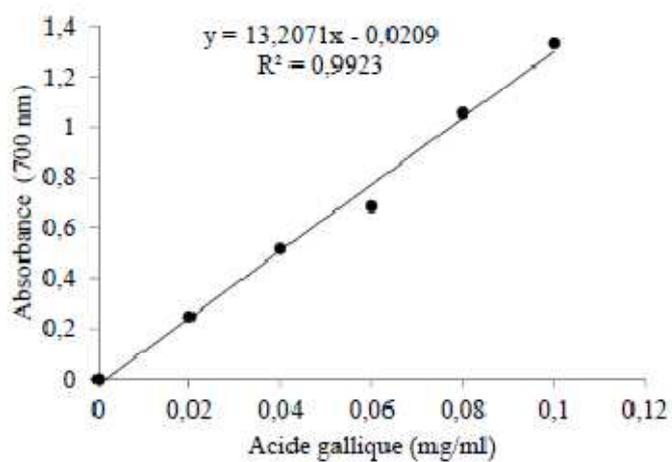
**Figure b:** Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.

### Annexe 3



**Figure c** : courbe d'étalonnage des flavonoïdes

### Annexe 4



**Figure d** : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

## Résumé

La présente étude a pour objectif l'évaluation de la qualité de la gelée royale à travers la mesure de certains paramètres physico-chimique et de l'activité antioxydante de deux types de gelées royales : importée et locale. La gelée importée est de provenance de Chine. La gelée royale locale a été produite dans la région de Naciria (w) Boumerdès, dans un rucher installé à une altitude d'environ 500 à 600 m, au cours du printemps 2018.

Les deux types de gelées royales ont fait l'objet d'analyses physico-chimiques suivantes : Humidité (%), pH, teneur en protéines, teneurs en polyphénols totaux, teneur en flavonoïdes, l'activité antioxydante et le pouvoir réducteur.

Les résultats obtenus ont montré que la teneur en polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydantes, le pouvoir réducteur ainsi que la teneur en protéines sont supérieurs dans la gelée royale produite localement (1462,66mg/100g ;115,63mg/100g ;45,33% ; 428,53mg/100g ;15,72%) respectivement, comparativement à la gelée royale d'importation respectivement (1081,66mg/100g ;80,49mg/100g ; 22% ; 271,73mg/100g ; 12,46%) ce qui confirmerait la qualité douteuse de cette dernière et de coup la meilleure valeur biologique de la gelée royale fraîche produite localement.

Les résultats de cette étude ont révélé toutefois des taux d'humidité de la gelée royale locale supérieur aux normes (70,4%). Ce taux élevé d'humidité peut compromettre sa conservation.

Dans le cas de la gelée royale importée les deux paramètres de qualité : le pH et l'humidité sont conforme aux normes (3,91 et 68%) respectivement.

La gelée royale fraîche produite localement est de meilleure qualité. Ce résultat plaide pour l'encouragement de la production locale.

**Mots clés :** Gelée royale, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante.

## Summary

This study have to aim to study the royal jelly quality among the measurement of some physico-chemicals parameters and the antioxidant activity of two types of royal jellies: imported and produced locally. The foreign royal jelly was imported from China whereas for the local royal jelly was produced in Naciria region at altitude around 500 m, during the spring of 2018.

The royal jelly studied has been the subject of the following physico-chemical analysis: humidity, pH, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, reducing power and the proteins content.

The results show that the polyphenolic, flavonoides, proteins content, the antioxidant activity and reducing power were more important in local royal jelly (1462,66mg/100g ;115,63mg/100g ;15,72% ; 45,33% ; 428,53mg/100g )respectively, than of foreign jelly (1081,66mg/100g ;80,49mg/100g ; 12,46% ; 22% ; 271,73mg/100g ) respectively. This result confirms that fresh royal jelly produced locally had the best quality.

In case of foreign royal jelly, the humidity and pH(68%,3,91) respectively, were among the international standards, whereas the local royal jelly had a humidity rate which is superior to these norms (70,4%).. This later result compromises the jelly royal storage.

At the end we can conclude that fresh royal jelly produced locally had the best quality. This result pleads to encourage the local production of royal jelly.

**Keys words:** Royal jelly, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.