

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1



Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Sciences Agro-Alimentaires

Laboratoire Sciences Technologies Alimentaires et Développement Durable

Spécialité : Nutrition et Diététique Humaine

Filière : Sciences Alimentaires

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Thème

**Étude comparative de la valeur nutritionnelle et
activité biologique des deux types de Gelée royale
(locale et importée)**

Présentées par :

ABBAS Fahima maroua & Difallah yasmine

Soutenues devant le jury

Mme KADRI F.	MCA /USDB 1	Présidente
Mme BOULKOUR S.	MCA /USDB 1	Examinatrice
Mme BENMANSOUR N.	MCA/USDB 1	Promotrice

Année Universitaire 2021 / 2022

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions notre encadreur "**Mme BENMANSOUR .N** ", pour son encadrement, ses conseils et ses encouragements. Grâce à elle que nous avons progressé et acquis la rigueur nécessaire pour appréhender ce projet. Tout en étant toujours présent et disponible.

Nous tenons également à remercier les membres du jury qui ont bien voulu accepter de porter leur jugement sur ce modeste travail que nous souhaitons à la mesure de leur satisfaction.

Un grand merci à tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et la vie, et du département des Science alimentaire de l'université Saad Dahleb Blida 1 qui ont contribué à notre formation.

Nous remercions **M.TEFFAHI Djamel** le chef de service du laboratoire d'hygiène de Blida, et à tous le personnel de laboratoire d'hygiène.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à La réalisation de ce travail de recherche scientifique.

MAROUA & YASMINE

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes merveilleux parents que j'adore à qui je dois tout et de qui je suis fière ,très chère maman qui m'a donné la vie et qui m'a aidé grâce à son soutien moral et très cher papa qui a déployé tous les moyens possible pour ma réussite .

A mes très chères sœurs FARIDA et Cherifa , Hassiba et Yasmine .

A Mon cher frère unique MOUHAMED .

A Mon marie ALAA EDDINE pour leur amitié, leur aide, leur soutien .

A tous mes amies qui ont rendu ma vie agréable et plein de bon souvenirs selma , asya, manel , sara et rayen , chaima et ikram et Sans oublier mon binôme DIFALLAH YASMINE .

maroua

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur Encouragement

A ma deuxième maman Abdi Assia Saida

A mes frères : Walid, Nadir, Fares et Mohamed

A mes belles-sœurs: Sabrina, Stefanie, Amina

A ma cousine Benayachi Bouchra

A Monsieur « Mezzaourou Boumediene »

Sans oublier mon binôme Abbas Maroua Fahima.

Je ne peux adresser les prémices de cette dédicace qu'à mes parents, premiers piliers de mon éducation, vous m'avez soutenu depuis mes débuts jusqu'à maintenant par vos bénédictions.

Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier sa juste valeur.

Puisse Allah vous garder longtemps auprès de nous et vous bénir infiniment

A mes frères Walid, Nadir, Fares et Mohamed pour leur encouragement, leur sacrifice qui m'ont permis d'aller de l'avant.

A toutes mes amies algériennes. En particulier : Oucif Chaima, Messaoudi Manel, Arrouche Rayane, Sais Sara.

Merci à vous.

Enfin à tous ceux ou celles que j'ai eu l'immense plaisir de côtoyer. Merci à vous tous

A mes Parents....

YASMINE

Résumé

La gelée royale est un produit de ruche issu de l'espèce *Apis mellifera* d'abeilles. Elle présente un intérêt nutritionnel et thérapeutique. Le présent travail a pour but d'évaluer la qualité nutritionnelle et la contribution de l'étude des activités antioxydante et antibactérienne de deux spécimens locale et importé de gelée royale.

Les analyses phytochimique effectué révèle la richesse de la gelée en composés phénoliques avec prédominance chez le spécimen locale par rapport a l'importé à savoir(les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponosides, tanins, Glucosides) Le dosage quantitatif des poly phénols et des flavonoïdes confirme les résultats trouvés par l'analyse qualitative avec un taux de poly phénols de 20 mg EAG / 100 g d'échantillon et un taux de flavonoïdes de 360 mg ECATéchine et 352 mg ECATéchine (locale et importée)

La gelée royale locale a prouvée également son pouvoir antioxydant puissant par rapport à la gelée importée avec $IC_{50} \% = 2 \text{ mg/ml}$.

Les échantillons de gelée royale étudiés exercent une activité antibactérienne importante avec puissance de la gelée royale locale où elle était révélée active contre les bactéries (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*)

Mots clés: gelée royale, antioxydante, antibactérienne,

Abstrat:

Royal jelly is a hive product from the *Apis mellifera* species of bees. It is of nutritional and therapeutic interest. The present work aims to evaluate the nutritional quality and the contribution of the study of antioxidant and antimicrobial activities of two local and imported specimens of royal jelly.

The phytochemical screening carried out reveals the richness of the jelly in phenolic compounds with predominance in the local specimen compared to the imported one namely flavonoids, alkaloids .

The quantitative determination of polyphenols and flavonoids confirms the results found by the qualitative analysis with a rate of polyphenols of 856 mg / 100 g, 752mg/100g of sample and a rate of flavonoids of 360mg Techin and 352 mg ECA Techin (local and imported)

The local royal jelly also proved its powerful antioxidant power compared to the imported jelly with $IC_{50} \% = 2$ mg/ml.

The studied royal jelly sample exerted significant antibacterial activity with potency of local royal jelly where it was found active against bacteria .

Key words: royal jelly, polyphenols and flavonoids dosage, antioxidant and antibacterial activities

الملخص

Apis mellifera غذاء ملكات النحل هو منتج نحل من أنواع النحل.

إنه ذو فائدة غذائية وعلاجية. يهدف العمل الحالي إلى تقييم الجودة الغذائية ومساهمة دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة والميكروبات لعينتين محليتين ومستوردة يكشف الفحص الكيميائي النباتي الذي تم إجراؤه عن ثراء الهلام في المركبات الفينولية مع غلبة في العينة المحلية مقارنة بالعينة من غذاء ملكات النحل المستوردة وهي الفلافونويد والقلويدات والسابونوزيدات والعفص والجلوكوزيدات تؤكد الجرعة الكمية من البوليفينول والفلافونويد الناتج التي توصل إليها التحليل النوعي بمعدل بوليفينول 856 مجم / 100 جم ، 752 مجم / 100 جم من العينة (محلية ومستوردة) ومعدل الفلافونويد 360 مجم إيكاتشين و 352 مجم إيكاتشين. (محلي ومستورد $IC_{50} = 2$ مل / مجم أثبت غذاء ملكات النحل المحلي أيضًا قدرته المضادة للأكسدة القوية مقارنة بالهلام المستورد بنسبة تمارس عينات غذاء ملكات النحل المدروسة نشاطًا مضادًا للبكتيريا بقوة غذاء ملكات النحل المحلي حيث وجد أنها نشطة ضد البكتيريا (*Escherichia coli, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa*) الكلمات المفتاحية: غذاء ملكات النحل ، جرعة من مادة البوليفينول والفلافونويد ، أنشطة مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا

LISTE DES FIGURES

Figure i1 : La ruche	06
Figure i2 : Organisation d'une ruche destinée à la production de gelée royale	08
Figure i3 : cadres à cellules royales	09
Figure i4 : Le greffage	10
Figure i5 : différentes étapes de la récolte de la gelée royale	11
Figure i6 : conditionnement de GR	12
Figure i7 : Larve de reine entourée de gelée royale	13
Figure i8 : composition moyenne de la gelée royale	14
Figure i9 :Mécanisme moléculaire responsable de l'activité anti âge de la gelée royal	21
Figure ii 1 : Photos des échantillons analysés	24
Figure iii 1 : pH de deux types de gelée royale locale et importée.	35
Figure iii 2 : valeurs de l'acidité des gélées royales analysées	36
Figure iii 3 : degré Brix des deux échantillons de la gelée royale par la méthode refractomètre	37
Figure iii 4 : teneur en polyphénols de deux types de gelée royale : locale et importée	40
Figure iii 5 : Teneurs en flavonoïdes de deux types de gelée royale: locale et importée	41
Figure iii 6 : IC50 de l'acide ascorbique et des extraits de gelée royale	43
Figure iii 7 : Diamètres d'inhibitions (mm) des extraits de la gelée royale locale et gelée royale importée	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau i 1 : Classification de l'abeille domestique	04
Tableau i 2: Caractéristiques des trois castes.	05
Tableau i 3: Les principaux produits de la ruche	07
Tableau i 4: composition de la gelée royale	15
Tableau i 5: Acides amines libres de la gelée royale	16
Tableau i6: La composition vitaminique de la gelée royale	17
Tableau ii1 : les 04 souches de référence	25
Tableau ii2: Estimation de la sensibilité des souches	34
Tableau iii 1: Résultats des analyses microbiologiques des gélées royales analysées	37
Tableau iii 2: Résultats du screening phytochimique de la gelée royale locale et importée	39
Tableau iii 03: la teneur en calcium de deux gelée royale (locale et importée)	42
Tableau iii 4: Valeurs des concentrations d'inhibitions IC50 de l'acide ascorbique et de des extraits de gelée royale	42
Tableau iii 5: Estimation de la sensibilité des souches	44
Tableau iii 06 : Photos des diamètres d'ihibition en mm des 04 souches inhibées par des extraits de gelée royale locale et importée 100% et 50%	46

LISTE DES ABREVIATIONS

- 10HDA:** 10-hydroxy-2-decenoic acid (HDA)
MRJP: Major Royal Jelly Proteins
TNF- α : Tumor necrosis factor- α
LPS: Lipopolysaccharides
Pro RJ: Protease N treated royal jelly
VEGF: Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
HPLC: High pressure liquid chromatography
pH : Potentiel Hydrogène.
GRL : gelée royale locale
GRI : gelée royale importée
nm : nanomètre.
ATCC: American Type Culture Collection
DMSO : Diméthylsulfoxyde

SOMMAIRE

Introduction.....	01
Chapitre I La gelée royale	
I .1. L'abeille.....	03
I.1.1. Définition.....	03
□.1.2 Classification.....	03
I.2. Principales castes	04
I.3. La ruche.....	05
I.4 : La gelée royale	06
I.4.1. Définition.....	06
I.4.2 .Production de la gelée Royale	08
I.4.2.1 Les différentes étapes de la technique de production de gelée royale	08
I.4.2.2. Facteurs influençant la production de gelée royale.....	12
I.4.3 Composition chimique de la gelée royale.....	13
I.4.4 : Les Propriétés thérapeutiques de la gelée royale	18
CHAPITRE I : Matériel et méthodes	
II.1 Lieu du stage	23
II.2 : Objectif du travail.....	23
II.3 : Matériel et Méthodes	23
II.3.1.Matériel non biologique	23
II.3.2 : Matériel biologique	23
II.3.2.1 : Echantillons de gelée royale	24
II.3.2.2 : Microorganismes utilisés	25
II.3.3 : Méthodes	25
II.3.3.1 : Analyse physicochimique et Microbiologique de la gelée royale	25
II.3.3.1.1. Analyses physico-chimiques.....	26
II.3.3.1.2. Analyses microbiologique de la gelée royale	29
II.3.3.2 : Analyse phytochimique	30
II.3.3.3. Dosage des antioxydants.....	31
II.3.3.4. Dosage du calcium	32
II.3.3.5. évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	32
II.3.3.6. évaluation de l'activité antibactérienne	32
CHAPITRE III : Résultats et discussions	
III.1 Résultats de contrôle de qualité	35
III.1.1 analyse physicochimique	35
III.1.2 Analyses microbiologiques des gelées royales	37
III.2 analyse phytochimique	38
III.3 : dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes	40
III.3.1 : Dosage des poly phénols totaux	40
III.3.2 Dosage des flavonoïdes	40
III.4 Teneur en calcium	41

III.5 Evaluation de l'activité biologique des gelées royales	42
III.5.1 Evaluation de l'activité antioxydante	42
III.5.2 Évaluation de l'activité antimicrobienne.....	43
Conclusion et perspectives.....	48
Références bibliographiques.....	50
Annexe.....	57

Introduction

Introduction

Depuis l'aube des temps, l'homme a toujours été intrigué et intéressé par la nature qui l'entourait. Il a su tirer partie des ressources naturelles pour s'adapter à son environnement et ainsi évoluer, créant la domestication de l'agriculture telle que l'apiculture (**Gharbi, 2011**). L'apiculture est l'art d'élever les abeilles dans le but de retirer le maximum de rendement des différents produits de la ruche (miel, pollen, gelée royale, propolis, cire d'abeille, venins ...etc).

Les abeilles sont des insectes sociaux, de l'espèce *Apis mellifera*, formant des colonies permanentes et constituant de ce fait un super organisme soudé par des relations de travail complexes entre ses différentes composantes (**Gowthorpe, 2011**). Ces organismes représentent d'excellents bienfaiteurs pour l'homme non seulement par leur travail de pollinisation nécessaire à la biodiversité mais aussi par la richesse des aliments qu'elles lui fournissent, c'est un véritable trésor de la nature (**Gely, 2015**). 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**). Elle 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**).

Elle 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).

Dans ce contexte, et afin de mieux apprécier la qualité de la gelée royale importée et celle produite localement, la présente étude se base sur la valorisation de la gelée royale locale prélevée de la région de Baba Ali (wilaya d'Alger) et de la gelée royale importée de la Chine. Pour ce faire nous avons procédé à une caractérisation de quelques paramètres physicochimique des deux échantillons de la gelée royale , le dosage des métabolites secondaires plus particulièrement les poly phénols et les flavonoïdes, et déterminer le taux du calcium. Aussi nous avons évalué l'activité biologique des extraits des deux échantillons de la gelée royale : activité antioxydante des extraits par la méthode DPPH et action antibactérienne des extraits vis-à-vis de 04 souches microbiennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

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

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

Chapitre I : La gelée royale

I.1. L'abeille

I.1.1. Définition

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

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

I.1.2. Classification

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

Le nom scientifique de cet insecte a subi quelques modifications. **(Linné, 1761)**, change le nom d'espèce d'*Apis mellifera* en *Apis mellifica*. Généralement, le miel étant préparé par les abeilles (melli-fica) plutôt que récolté (melli-fera) **(Gharbi, 2011) (Tableau i1)**. *Apis mellifica* est l'espèce dont les diverses races sont élevées pour produire du miel, du pollen, de la gelée royale, de la propolis, de la cire et, dans certains cas, du venin **(Ravazzi, 2007).**

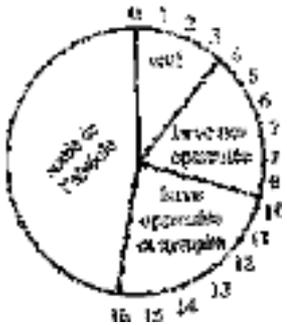
Tableau i1: Classification de l'abeille domestique (Gharbi, 2011).

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

I.2. Principales castes :

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

Tableau i2 : Caractéristiques des trois castes.

Définitions	Morphologies	Cycle évolutif
<p>Reine: Seule mère de l'ensemble de la colonie, la reine se différencie par sa taille plus grande : et par la forme de son abdomen, plus allongé. Nourrie à l'état de larve exclusivement avec de la gelée royale, elle peut vivre quatre à cinq ans. Sa principal activité consiste à pondre (Clement, 2009).</p>	 <p>(Anonyme 1)</p>	 <p>[0-16jours] (Ravazzi, 2007)</p>
<p>Les ouvrières : femelles incomplètes, remplissent toutes les tâches domestiques, depuis la plus noble à nos sens, telle la garde des larves, jusqu'à la plus commune, comme le nettoyage de la ruche. Le caractère le plus fascinant est qu'elles se divisent les tâches au sein de la colonie (Jean-prost, 2005).</p>	 <p>(Anonyme 1)</p>	 <p>(Ravazzi, 2007)</p>
<p>Males : sont généralement appelés faux bourdon. Le faux bourdon naît vingt-quatre jours après la ponte d'un œuf non fécondé qui ne donnera naissance qu'à des mâles, qui peuvent vivre près de trois mois (Clement, 2009).</p>	 <p>(Anonyme 1)</p>	 <p>(Ravazzi, 2007)</p>

I.3. La ruche :

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

Pour les utiliser à des fins économique, l'homme a entrepris d'installer, à proximité de ces emplacements naturels, des troncs d'arbres, des paniers en osier ou autre matière, afin d'y attirer les essaims. Puis parvint progressivement à aménager pour les abeilles des nids de plus

et plus perfectionnés et de plus en plus accueillants. Ce genre d'habitation, construite par l'homme est appelée communément une ruche. **(Figure i1) (Dubois et al., 1986).**

Les principales produits de la ruche sont donnés par le **tableau 3**



Figure i1 : La ruche (CLÉMENT, 2010).

I.4. La gelée royale

I.4.1. Définition

La norme ISO définit la gelée royale comme un mélange de sécrétions de glandes hypophrygiennes et mandibulaires d'abeilles ouvrières 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 considérée comme l'un des compléments naturels les plus largement appliqués. Elle représente un fragment de la principale source d'alimentation des larves d'abeilles et joue un rôle principal dans la reconnaissance des castes de cette espèce **(Maghsoudlou et al., 2019)**.

Elle se distingue par des caractéristiques spécifiques : une couleur blanchâtre qui devient jaune au contact avec l'air une odeur caractéristique du phénol, un aspect gélatineux, visqueux et un pH fortement acide entre 3 et 4 et légèrement amer avec une odeur âcre **(Philippe, 1999)**.

Tableau i3: Les principaux produits de la ruche

Les produits de la ruche	Definitions	Composition
 Miel	le miel est une substance sucrée et parfumée produite par les abeilles, à partir du nectar des fleurs, (Dubois et al., 1986) .	-Eau 17,2% ; Sucres (trisaccharides 1,5%, maltose 7,31 %, saccharose 1,31%, glucose 31,28%, fructose 38,19%) ; -Eléments mineurs 3,1% (minéraux, acides aminés, vitamines...). (Bruneau, 2002) .
 Pollen	Substance finement poudreuse récoltée par les abeilles sur les étamines des fleurs, (Peterson, 2008) .	-Eau 10% ; -Protides 11 à 35% ; -Glucides 20 à 40% ; -Lipides 1 à 20% ; -Matières minérales 1 à 7% ; -Vitamines A, B, C, D, (Jean-prost, 2005) .
 Propolis	Il s'agit de résines ou de gommes visqueuses et Imperméables à l'eau (Jean-prost, 2005) .	-Résines et baumes 55% ; -Huiles essentielles 7% ; -Cire 30% ; -Pollen 3% ; -Divers 5% (Bruneau, 2002) .
 Cire	Sécrétion glandulaire utilisée par les abeilles pour fabriquer les rayons dans lesquels (Peterson, 2008) .	-Hydrocarbures 14% ; -Esters 52% ; -Hydroxymonoesters 4% ; -Hydroxypolyesters 8% ; -Esters acides 2% ; -Polyesters acides 2% ; -Acides libres 12% ; -Alcools libres 1% (Bruneau, 2002) .
 Venin	Liquide incolore, à réaction acide, de saveur légèrement amère à l'arôme caractéristique (BIRI, 2002) .	-Eau 88% ; -Acides aminés, phospholipides et des glucides 20% ; -Amines 2% ; -Polypeptides 50% (Jean-prost, 2005) .

I.4.2. Production de la gelée Royale

La production de la gelée royale est une technique dérivée de celle de l'élevage des reines, les chercheurs en apiculture au cours des longues années mettaient au point cette méthode de production en démontrant par ailleurs l'intérêt alimentaire de ce produit (Babin, 2015). Très peu d'apiculteurs récoltent eux-mêmes la gelée royale. Cette activité nécessite un équipement particulier et un personnel qualifié et demande rigueur et patience (Clement, 2009).

I.4.2.1. Les différentes étapes de la technique de production de gelée royale

Le principe de cette technique 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.

A : Choix du modèle de la ruche

Nous choisissons un modèle de ruche à 10 cadres (figure i2), pour simplifier la Compréhension. Une grille à reine verticale partage la colonie en deux compartiments.

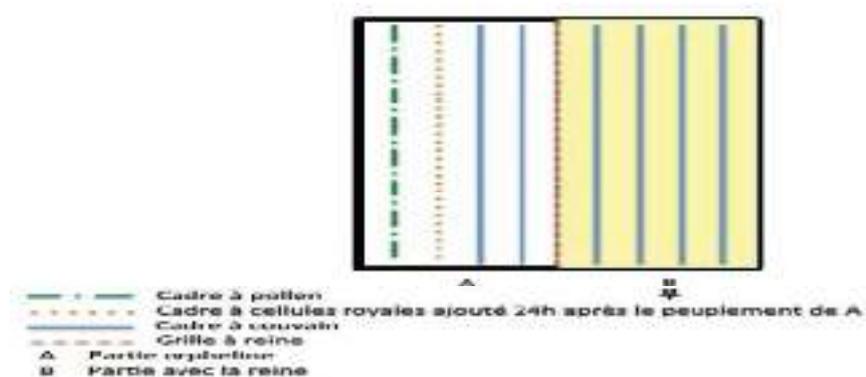


Figure i2 : Organisation d'une ruche destinée à la production de gelée royale. (Dubin, 2015)

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).

B. La préparation des cadres des 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 i3**).



Figure i3 : 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

C : Greffage

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. (, Clément, 2009). (Figure i4)



Figure i4 : Le greffage (Anonyme 01,2012).

D : 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.

La récolte s'effectue en 03 étapes successives (Figure i5):

D.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 i5). 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 (Babin, 2015).

D.2. L'étape de délarvage

La larve est retirée de sa cellule de façon manuelle avec une spatule ou avec un système d'aspiration apprécié pour sa rapidité. Des fluides de larve pourraient compromettre la qualité de la gelée royale (Babin, 2015).(Figure i5).

D.3. L'aspiration et la filtration

Cette 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 (Clement ,2009) (Figure i5).



I : récolte de la gelée royale (Anonyme02, 2012.)



II : Etape de décalotage (Dubin, 2015).



III : Délarvage (Anonyme02, 2012).



IV : Aspiration et filtration cellule par cellule (Clement ,2009).

Figure i5 : différentes étapes de la récolte de la gelée royale (Anonyme 02, 2012.)

E : Conditionnement

La gelée royale est ensuite immédiatement stockée entre 2° et 5° à l'abri de la lumière dans des pots en verre de 1 kg préalablement désinfectés, puis conditionnée en piluliers de contenance de 10 ou 20g. (**figure i6**)



Figure i6: conditionnement de GR (Anonyme01, 2012 Gelée royale française, Fraude à la gelée royale sur le site www.nectar-com).

E.1. 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.

La gelée royale congelée doit être maintenue à une température inférieure à -18°C (max. 18 mois après la date de récolte) (**Opida, 2009**).

I.4.2.2. 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 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 (**Opida, 2009**).

I.4.3. Composition chimique de la gelée royale

La composition de la gelée royale est différente suivant qu'elle est destinée aux larves d'abeilles ouvrières ou aux larves de reines (**Rigal, 2012**). Selon la littérature, elle peut varier, en fonction de l'état métabolique et physiologique des ouvrières ainsi que l'âge et dépend également de la race des abeilles (**Sano et al., 2004**) et les conditions saisonnières et régionales (**Biondi et al., 2003**). (figure i7) (figure i8)



Figure i7 : Larve de reine entourée de gelée royale (**Stefanet al., 2016**)

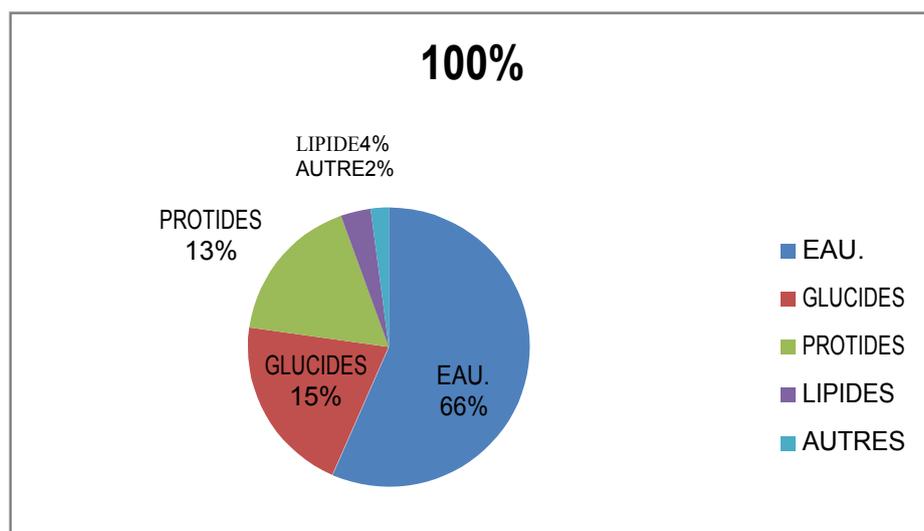


Figure i8: composition moyenne de la gelée royale (clément, 2011).

Selon les ressources disponibles dans l'environnement et l'âge des nourrices, la composition de la gelée royale peut changer (Haydak, 1960). Ainsi les colonies à l'extérieur produiront une gelée royale plus riche en eau, et en vitamines en général. Par ailleurs, la gelée royale sera d'autant plus riche en vitamines que l'abeille nourrice est jeune, âgée de 11 à 15 jours.

La composition moyenne générale de la gelée royale est décrite dans le **tableau i4**

1.4.3.1. 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 ambiante. De plus, la non-solubilité de certains composés peut expliquer les variations de la teneur en eau (Bărnăuțiu et al., 2011).

1.4.3.2 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 des 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).

Tableau i4 : composition de la gelée royale (Rigal, 2012).

Catégories	Groupe de composés	Principaux éléments	Teneur
Hydrates de carbone	Monosaccharide	Glucose et fructose	14%
	Disaccharides	Saccharose, maltose...	
	Polysaccharides	Mélibiose, erlose, ribose...	
Protides	Acides aminés (dont les 8 essentiels)	Proline, lysine, leucine, arginine, valine, phénylalanine...	14%
	Peptides	Défensine (la royalisine), apisimine, jelleines I, II, III, IV...	
	Protéines	MRJP1, MRJP2, MRJP 3, MRJP4	
Lipides	Acides gras	Trans-10-hydroxy-2-décénoïque...	4,5%
	Stérols	Cholestérol et stigmastérol	
	Cires		
	Phospholipides		
Substances diverses	Minéraux	K, Na, Mg, Ca, Fe, Zn, Cu, S, P, N, C...	4%
	Vitamines	B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, A, C, D, E, K)	
	Enzymes	Glucose-oxydase, ...	
	Acétylcholine 1mg/g		
	Hormones (gelée fraîche)	(Estradiol, testostérone, progestérone)	
	Acides nucléiques (gelée fraîche)	(ADN et ARN)	
Eau			70%

1.4.3.3 Protéines et peptides :

La GR est très riche en protéine, en peptides et en acides aminés qui représentent entre 9 et 18% de la composition totale (Sabatini et al., 2009).

La gelée royale contient un grand nombre de protéines natives et de dérivés protéiniques, dominé par 4 familles de protéines majeures de haut poids moléculaire. Ces protéines majeures de la GR (MRJP, pour Major Royal Jelly Protein) représentent plus de 80 % de la masse totale des protéines. Parmi les protéines majeures de la GR, l'apalbumine (MRJP 1) et MRJP 2 se manifestent au niveau du cerveau (les centres de mémoire) de l'abeille adulte. Un petit peptide l'apisimine au poids moléculaire de 5540,4 Da a été identifié au niveau de cerveau des abeilles nourrices et butineuses (Mateescu, 2016).

1.4.3.4. Acides aminés

La 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 (Bărnețiu et al., 2011). (tableau 5)

Tableau i5: Acides aminés libres de la gelée royale (Bărnețiu et al., 2011)

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

1.4.3.5. Glucides

Les glucides présents dans la gelée royale sont assez constants d'un point de vue qualitatif. Ainsi, les principaux glucides présents dans la gelée royale sont les monosaccharides (le fructose, le glucose) représentant à eux seuls 90% des sucres. Le saccharose est toujours présent mais retrouvé en quantité variable. Les autres sucres

secondaires sont des oligosaccharides, retrouvés en quantité moindre, sont le galactose, le mannitol, le maltose, le turanose, le trehalose, le palatinose, l'isomaltose, le gentiobiose, le melezitose, l'erlose et le maltotrios, leurs présence garantie l'authenticité et la pureté du produit. D'une manière générale, la gelée royale comporte 10 à 20 % de glucides (**Amigou, 2016**).

I.4.3.6. Vitamines

Les concentrations de vitamines dans la gelée royale sont réparties sur un large spectre, des vitamines hydrosolubles est très élevée montrant des valeurs assez uniformes, spécialement pour le groupe de vitamine B (**Mateescu, 2016**). Elles sont Ordonnés comme suit : la thiamine (B1), la riboflavine (B2), la niacine(B3), l'acide pantothénique (B5), la pyridoxine(B6) et secondairement de l'inositol (B7), la biotine (B8) et l'acide folique (B9) (**Bărnăuțiu et al., 2011**). Notamment la vitamine B5 dont elle est le produit naturel le plus riche avec une teneur qui va de 65 à 200 μ g/g et aussi un constituant du coenzyme A et intervient par conséquent dans de nombreux processus métabolique comme la synthèse du cholestérol, de lipides, glucides et protéines, des anticorps et de l'acétylcholine ainsi que certaines hormones. Il stimule l'immunité et participe à la bonne formation des phanères (**Cousin, 2014**). La gelée royale contient également de la vitamine C, cependant les vitamines liposolubles, c'est-à-dire A, D, E et K sont présentes en quantités négligeables (**Cousin, 2014**). (tableau i6)

Tableau i6:La composition vitaminique de la gelée royale (**Bărnăuțiu et al., 2011**).

Vitamines	mg/100g
Vitamine A	1,10
Vitamine E	5.00
Vitamine B1	2.06
Vitamine B	2.77
Vitamine B6	11.90
Vitamine D	0.2
Vitamine B5 (acidePantothénique)	52.80
Niacine (PP)	42.42
Vitamne C (acide ascorbique)	2.00
Vitamine B9 (acide folique)	0.40
Vitamine B12	0.15

I.4.3.7. Minéraux

Les minéraux présents dans la gelée royale représentent environ 0,8 à 3%. Les éléments majoritaires retrouvés sont par ordre décroissant le potassium, le calcium, le sodium, le magnésium, le zinc, le fer, le cuivre et le manganèse, également on trouve en quantités infimes de l'Aluminium, Baryum, Mercure, Plomb, Antimoine, Tellurium, Tungstène, l'Étain, Chrome, l'Or, du Nickel,. L'étude ne donne cependant pas d'indications quantitatives sur chaque élément. Les auteurs évoquent des variations quantitatives en fonction de l'environnement de la ruche et de facteurs biologiques liés aux abeilles elles-mêmes (**Babin, 2015**).

I.4.3.8. Les enzymes

Provenant des glandes salivaires des nourrices, on retrouve les enzymes suivantes : la glucose-oxydase, la glucose-déshydrogénase et un précurseur de l' α -glucosides, la phosphatase et le cholinestérase (**Cousin, 2014**).

I.4.3.9 : Autres

La composition de la gelée royale est complétée par des substances diverses comme :

- ✓ l'Acétylcholine (jusqu'à 1 mg/g).
- ✓ des facteurs antibactériens -des hormones sexuelles : œstradiol, testostérone, progestérone
- ✓ des facteurs hypoglycémians et hyperglycémians
- ✓ des substances similaires aux gibbérellines (qui sont des phytohormones) -la gélatine : précurseur du collagène
- ✓ des acides nucléiques : ADN et ARN
- ✓ la Néoptérine, c'est un dérivé de la guanine triphosphate qui est synthétisé par le système immunitaire humain au cours d'affections faisant intervenir l'immunité cellulaire. C'est un antioxydant, mais elle induit également l'apoptose.
- ✓ des flavonoïdes comme la catéchine et l'épicatéchine (**Cousin, 2014**).

Par ailleurs, on peut également trouver certains débris tel que des fragments de larves ou encore de la cire.

I.4.4. Les Propriétés thérapeutiques de la gelée royale :

L'ensemble des recherches effectuées à ce jour permet de montrer plusieurs propriétés physiques, biologiques et thérapeutiques de ce produit. Ces propriétés sont en

rapport avec la composition chimique (l'eau, des protéines, des lipides, des hydrates de carbone, des acides aminés, des sels minéraux, des vitamines, des enzymes, des hormones, des oligo-éléments, et des antibiotiques) (**Domeregoet *al.*,2007**).

Les principales activités biologiques et thérapeutiques de la gelée royale sont :

I.4.4.1. 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**), Les composés phénoliques comme les flavonoïdes présents dans la gelée royale sont responsables de l'action anti-oxydante (**Cemek et *al.*,2010**). 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 GPX (glutathion peroxydase) et de la SOD (superoxyde dismutase) dans les érythrocytes des patients diabétiques (**Pourmoradian et *al.*, 2014**) En tant qu'un antioxydant hautement efficace et puissant capteur de radicaux libres. De plus, La gelée royale protège l'ADN des dommages oxydatifs au niveau des tissus en réduisant les niveaux de 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (un marqueur du stress oxydant) au niveau de l'ADN (**Cemek et *al.*, 2010**). Grâce à sa richesse en produits antioxydants, la gelée royale aiderait à retarder les effets du vieillissement cutané. Elle contient des oligoéléments et des vitamines qui jouent un rôle protecteur vis-à-vis des radicaux libres. En plus de la vitamine C, la gelée royale contient de la vitamine E à l'état de trace qui possède des propriétés anti radicalaires et anti-inflammatoires, expliquant son action protectrice contre les effets nocifs du soleil (**Cemek et *al.*, 2010**). D'après (**Morita et *al.*, (2012)**), l'ingestion de la gelée royale pendant six mois chez l'homme améliore l'érythropoïèse, la tolérance au glucose et la santé mentale.

I.4.4.2. Action anti-inflammatoire

La gelée royale contribue à la suppression des dommages inflammatoires causés par les cellules micro-gliales. En 2004 est sortie une étude sur les propriétés anti-inflammatoires de la gelée royale, cet article, apparu en 2004 dans le 68ème volume de Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry démontre la présence de facteurs responsables de l'inhibition, dose dépendante, des cytokines pro-inflammatoires, telles que TNF- α , IL-6 ou IL-1, activé par des macrophages. Après avoir effectué des analyses chromatographiques, ces auteurs ont suggéré que la gelée royale serait un aliment fonctionnel pour retarder les progrès

inflammatoires dans le future et elle contient des facteurs, parmi lesquels la protéine majeure 3 (MRJP3) qui inhibe la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (You et al., 2018).

1.4.4.3. Action immunostimulante

La gelée royale stimule les organes hématopoïétiques et donc la production de globules rouges et blanc, particulièrement utile dans les anémies fonctionnelles du sujet âgé, Elle stimule l'appétit et la prise de poids grâce à son activité eupeptique et régulatrice des troubles digestifs fonctionnels, Elle est également source de bien-être en stimulant, euphorisant, tonifiant l'organisme, ceci améliorant le rendement physique, intellectuel et sexuel notamment chez les sportifs ou encore les étudiants en période d'examens. (**Association européenne d'apitherapie**), La gelée royale, grâce à son action immunostimulante, va aides à lutter contre les agressions, va retarder les effets du vieillissement sue les phanères et la peau (grâce à la richesse en vitamine B5) et possède des propriétés anti-tumorales (**Kirk-Othmer (1994)**).

1.4.4.4. Action sur la dysfonction sexuelle et la fertilité :

La dysfonction sexuelle et les carences en fertilité sont deux difficultés cliniques courantes avec des choix thérapeutiques limités. La gelée royale est un stimulateur de fertilité des mâles et des femelles.

✓ Action sur la fertilité :

Dans une étude dirigée par (**Ghanbari et al., 2015**) ont remarqué que le poids des testicules, le nombre de spermatozoïdes, la viabilité ont augmenté chez le groupe diabétique traité par la gelée royale. La gelée royale est très efficace pour les femmes qui ont les symptômes de la préménopause, 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 du sperme (**Lewis, 2005**), 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**).

✓ Action oestrogénique

L'oestrogène joue un rôle important dans la croissance, la différenciation et la fonction de nombreuses cibles, notamment le système reproducteur féminin et masculin. Les effets pharmacologiques de la gelée royale sont similaires à ceux causés par l'hormone, œstrogène

car elle contient des hormones dont de l'estradiol, mais elle s'est révélé présenter une faible activité œstrogénique. Pour cette raison de nombreux compléments alimentaires

Composés de gelée royale sont indiqués dans les troubles de la ménopause qui est caractérisée Par un taux d'œstrogène qui chute et qui est à l'origine des bouffées de chaleur (**Babin Marie. 2015 ; Mishima, S et al 2005 ;Suzuki, K.2008**). La gelée royale est traditionnellement utilisée pour traiter les symptômes de la ménopause en rééquilibrant la concentration hormonale dans le sang, en diminuant les hormones folliculo-stimulantes (FSH) et en augmentant la concentration d'œstrogène chez les souris âgées (**Figure i4**). Une étude a montré que les changements de taux d'hormones résultant de la gelée royale augmentaient la quantité d'ovocytes ovulés et leur qualité chez les rats âgés (**M. Imai. 2010**).

L'activité œstrogénique médiée par l'interaction avec les récepteurs des œstrogènes (ERs) entraîne une modification de l'expression des gènes et une prolifération cellulaire (**Mishima S., 2005**). **Suzuki et al., (2008)** ont déclaré que quatre substances bioactives isolées de la gelée royale ; l'acide-10-hydroxy-trans-2-décénoïque (10H2DA), l'acide 10-hydroxydécénoïque (10HDA), de l'acide trans-2-décénoïque (2DEA) et du 24-méthylène cholestérol (24MET) a montré un effet de liaison des récepteurs β des œstrogènes.

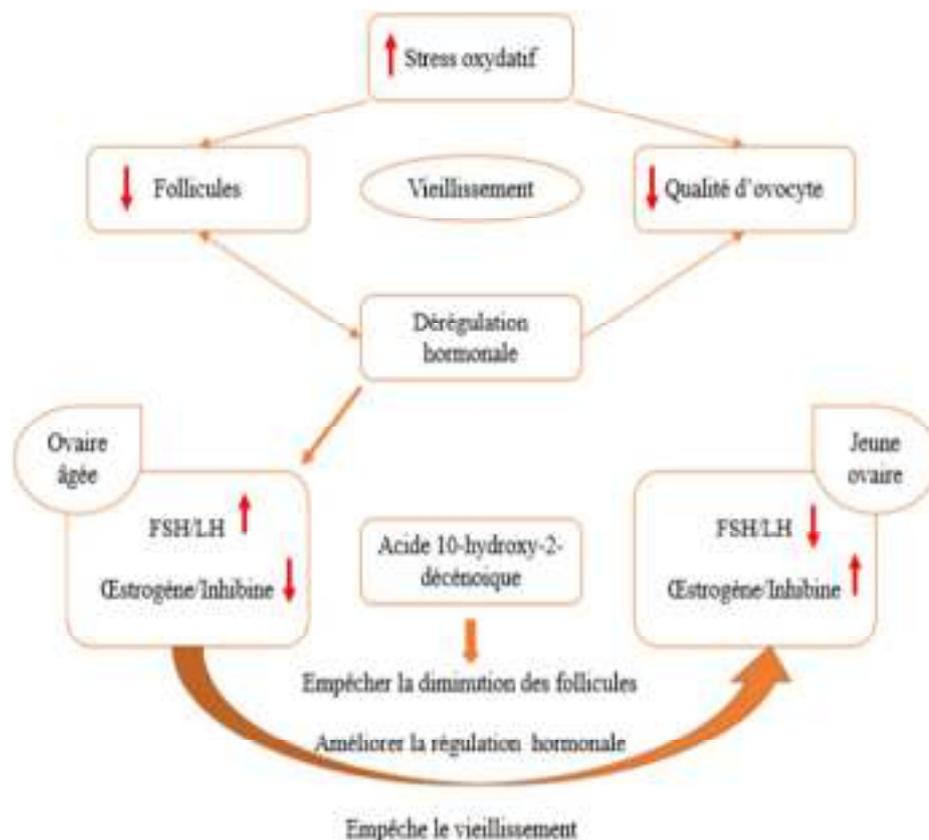


Figure i9 : Mécanisme moléculaire responsable de l'activité anti âge de la gelée royale (Visweswara Rao et al., 2017)

1.4.4.5 : Action anticancéreuse

La gelée royale possède une propriété anticancéreuse remarquable chez les souris et L'homme Cette .activité a été mise en évidence expérimentalement, mais son efficacité sur l'homme n'a pas été démontrée (Kimura, 2008). La présence de l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque (10-H2DA) confère à la gelée royale une activité anti tumorale potentielle (Gharbi, 2011). D'après Izuta et al. (2009), le 10-HDA exerce un effet inhibiteur sur l'angiogenèse induite par le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) qui joue un rôle dans la croissance des tumeurs. De plus, une autre fraction protéique de la gelée royale, appelée RJP30 joue également un rôle antitumorale. Elle exerce une action cytotoxique sur les cellules du carcinome utérin, diminuant 2,5 fois la densité initiale des cellules après 7 jours de traitement. (Salazar et al., 2005). La gelée royale contient aussi l'apalbumine-1 et l'apalbumine-2, deux protéines majeures stimulent la synthèse de TNF- (Tumor Necrosis Factor) par les macrophages (Šimúth et al., 2004).

Chapitre II : matériel et méthodes

II.1. Lieu du stage

Dans le cadre de la valorisation de la gelée royale prélevée de la région de Baba Ali (wilaya d'Alger) et importée du pays la Chine, nous avons mené des analyses physicochimiques de la gelée royale locale et importée au niveau Laboratoire de contrôle de qualité de la conformité de la wilaya de Blida, des analyses phytochimiques au sein du Laboratoire de la Faculté SNV DE l'université de Blida (PFE), des analyse microbiologiques dans Laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida et l'analyse nutritionnelle dans le laboratoire de contrôle de qualité et de conformité (ALTSSE LAB)

La partie pratique s'est déroulée durant 04 mois s'étalant entre 01 mars 2022 et 15 juin 2022.

II.2. Objectif du travail :

L'objectif de notre travail est de réaliser un contrôle de la qualité des échantillons des gélées royales locales et importée. La gelée royale locale produite par des apiculteurs issus de région de Baba Ali (Wilaya d'Alger).

En parallèle on a accompli une étude comparative entre deux échantillons de la gelée royale.

Pour atteindre cet objectif notre étude sera répartie comme suite

- Analyse physicochimique et microbiologique
- Analyse phytochimique (screening phytochimique, dosage des poly phénols et des flavonoïdes)
- Analyse nutritionnelle.(dosage du calcium)
- Etude des activités anti oxydantes et antibactériennes des deux échantillons

II.3. Matériel et Méthodes :**II.3.1. Matériel non biologique (voir Annexe).****II.3.2. Matériel biologique :****II.3.2.1. Echantillons de la gelée royale**

La présente étude est réalisée sur deux types de gelée royale : gelée royale locale et gelée royale importée. La gelée royale locale a été récoltée d'une ruche d'une ferme située à Baba- Ali Alger. Après la récolte elle a été mise dans des flacons en verre hermétiquement fermés puis recouverte avec du papier aluminium et mise au réfrigérateur et conservée à 4°C (pendant 6 mois) .

La gelée importée (chine) a été achetée dans des flacons en verre de 10g chez un vendeur des produits de la ruche et des matériels Apicoles (W. TIPAZA), puis le flacon est conservé au réfrigérateur à 4°C. (figure ii.1.)



(a) : gelée royale locale

(b) gelée royale importée

Figure ii.1: Photos des échantillons analysés locale et importée

Le choix de ces régions a pour but d'avoir un échantillonnage diversifié par sa localisation géographique ainsi que son origine botanique. La collecte de nos échantillons s'est déroulée à la fin de l'année 2021, et cela pour satisfaire à l'exigence d'avoir des gélées royales fraîches et pouvoir donner une interprétation correcte à nos résultats.

a-Conditions de stockage :

Les deux gélées sont stockées dans des bocaux en verre hermétiquement fermés, à l'abri de la lumière et à une température ambiante.

II.3.2.2. Microorganismes utilisés :

Afin d'étudier le pouvoir antibactérien des deux gélées royales nous avons utilisé des souches de référence et des souches bactériennes d'origine clinique. Les souches de référence sont obtenues par le laboratoire d'hygiène, sont en tout 04 souches (voir Tableau ii.1)

Tableau ii1 : les 04 souches de référence

Nom de l'espèce bactérienne	Le numéro de code
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 12826

II.3.3. Méthodes

II.3.3.1. Analyse physicochimique et Microbiologique de la gelée royale

II.3.3.1.1. Analyses physico-chimiques:

A. Mesure de pH (NF V 05-108,1997) :

Principe :

La détermination du PH par la méthode potentiométrique (**voir annexe**), a été réalisée à l'aide d'un pH-mètre en suivant le protocole ci-dessous.

Mode opératoire :

- ✓ La mise d'1g de l'échantillon dans 20 ml d'eau distillée chaude.
- ✓ Le broyage du mélange et le laisser refroidir.
- ✓ L'étalonnage du pH mètre en utilisant une solution tampon.
- ✓ Le prélèvement d'un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode.
- ✓ La prise de la valeur marquée par le pH mètre.

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

Principe :

Il s'agit d'un titrage de l'acidité avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1N) en présence de phénophtaléine comme indicateur de couleur.

Mode opératoire:

- ✓ Le pesage d'1g de l'échantillon.
- ✓ L'ajout de 50 ml d'eau.
- ✓ L'homogénéisation jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène.
- ✓ L'ajout de deux gouttes de phénophtaléine sous agitation.

✓ Le titrage avec une solution d'hydroxyde de sodium **0,1N** jusqu'au changement de la couleur en rose.

Expression des résultats

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$A = \left[V \times \frac{0.1}{m} \right] \times 100$$

Soit :

m: masse prélevée en gramme; **V**: volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.

C : Détermination de l'indice de réfraction :

L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un réfractomètre (**voir annexe**) comme suite:

Mode opératoire :

- ✓ Procédure d'étalonnage, Déposer quelques gouttes de produit d'étalonnage fourni avec le réfractomètre.
- ✓ Rabattre le volet sur le prisme, en exerçant une petite pression de façon que la gelée royale soit étalée de manière uniforme et sans bulles d'air.
- ✓ Attendre quelques secondes que le produit soit à la même température que le prisme.
- ✓ Exposer le réfractomètre à la lumière puis regarder à travers l'optique.
- ✓ Noter l'indice de réfraction.

II.3.3.1.2. Analyses microbiologique de la gelée royale

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

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

A. Préparation des suspensions mères et des dilutions décimales**• Solution mère :**

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

• Dilutions décimales

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

A. Recherche et dénombrement d' *Escherichia coli* (NF V 08-050)**• Définition**

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

• Principe

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

• Mode opératoire**Ensemencement et incubation**

- A partir de la solution mère 10^{-1} et la dilution décimale 10^{-2} , porter aseptiquement 2 fois 1ml dans des boîtes de pétri vides préparées à cet usage et numérotées.
- Couler ensuite chaque boîte de pétri avec la gélose VRBL, fondue puis refroidie à 45°C.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée.
- Incuber les boîtes à 37 °C pendant 24 à 48 h, la première lecture se fera au bout de 24h.

Lecture et dénombrement

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

B. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement de *staphylococcus aureus* a été effectué dans un milieu solide (Chapman) sélectif utilisé pour l'isolement, le dénombrement

• Définition

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

• Mode opératoire:

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

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

Lecture:

L'apparition du noircissement ou des précipités noirs (due à la réduction des tellurites par *staphylococcus aureus* indiquent la présence des *staphylococcus aureus* dans les tubes.

C. Recherche et dénombrement des levures et moisissures (NF V 08-059) :**• Définition**

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

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

• Principe

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

• Mode opératoire

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

• Lecture et expression des résultats

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

II.3.3.2 Analyse phytochimique

IL s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation selon les méthodes standards de screening phytochimique (**Dohou et al.,2003 ; Kumar et al., 2010**).

• Préparation de l'infusé

5g de gelée royale (**locale et importée**) sont mélangés dans 25 ml d'eau distillée, Le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes puis filtré, Le filtrat est ajusté à 25 ml d'eau distillée. L'infusé ainsi obtenu est utilisé pour la révélation des différents groupes de composés chimiques :

• Recherche des glucosides

Quelques gouttes d'acide sulfurique (**H₂SO₄**) sont ajoutées à 0,5 g de gelée royale (locale et importée). Une coloration rouge brique ensuite violacée indique la présence de glucosides.

• Recherche des flavonoïdes

Le mélange de 5ml d'HCl, un copeau de Magnésium sont ajoutés à 5ml de l'infusé. Une coloration rouge orangé est caractéristique de la présence des flavonoïdes.

• Recherche des tanins

Introduire dans un erlenmeyer 2ml de l'infusé puis on ajoute quelques gouttes de chlorure de fer FeCl_3 à 5%. Une coloration bleue noire indique la présence des tanins.

• Recherche des saponosides

Mélanger 2 ml d'extrait aqueux de 10 % avec 2 ml d'une solution d'acétate de plomb à 1 % le test est considéré positif par l'apparition d'une précipitation.

• Recherche des Alcaloïdes

On mélange 3 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré (96%) et 5 ml d'une solution d'iodo-mercurate de potassium dans 5 ml d'extrait aqueux de 10%. L'apparition d'une coloration blanc crème indique la présence des alcaloïdes.

II.3.3.3. Dosage des antioxydants**A : Extraction des antioxydants**

1.5 g de gelée ont été pesés dans des béchers, puis 30 ml d'éthanol à 80% sont ajoutés. Le mélange est agité à l'aide d'un agitateur magnétique durant 2 heures à température ambiante. Les mélanges sont filtrés avec un papier filtre N°1 pendant 1 heure et les extraits obtenus sont conservés au réfrigérateur (4°C) (Moreno, 2000).

B. Dosage des antioxydants**B.1. Dosage des composés phénoliques****Principe :**

Le réactif de Folin-ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$), et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). 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** µl 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 (voir **Annexe**).

B.2. Dosage des flavonoïdes

Principe:

Le contenu en flavonoïdes est déterminé par la méthode colorimétrique décrite par (**Quettier-Deleu et al., 2000**).

Mode opératoire :

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 b).

III.B.3.3.4. Dosage du calcium

A. Calcium

➤ Mode opératoire (méthode ISO6058) :

-50ml d'eau à analyser +2ml NaOH2 MOL/L de ph =12+0.2g d'indicateur coloré +15g du gelée royale (Locale et importé)

-l'eau doit se colorer en orange claire ;

- titrer avec EDTA jusqu'au virage orange foncé à rose claire.

-Formule

T _{ca} : dureté calcique exprimé en mmol/l.	T _{ca} : dureté calcique exprimé en En mg/l
$T_{ca} = cv/v_0$	$T_{ca} = c.v.M_{ca}/v_0$
<ul style="list-style-type: none"> ➤ c=concentration d'EDTA ➤ v=volume d'EDTA utilisé pour le titrage ➤ M_{ca}=masse molaire du calcium (40.08) ➤ v₀=volume de l'eau a analysé 	

II.3.3.5. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante de la gelée a été évaluée par la méthode : DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) .

A : Activité anti radicalaire (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) .

Mode opératoire

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 30 min d'incubation à température ambiante, la lecture de l'absorbance est faite à 517 nm les résultats sont exprimés en % d'inhibition :

- **Expression des résultats :**

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

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

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'échantillon.

II.3.3.6. évaluation de l'activité antibactériennes

La technique de diffusion sur gélose a été utilisé pour l'étude du pouvoir antimicrobien dans le but de déterminer la sensibilité ou non des différentes souches vis-à-vis du gelée royale (locale et importée).

La détermination de l'activité antimicrobienne de gelée royale locale et importée a été faite en utilisant des souches bactériennes de références ATCC (American Type Culture Collections) : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* .

• Préparation des dilutions

A partir de l'échantillon (gelée royale locale et importée) on prépare la solution mère (100%) et la dilution (50%) dans deux eppendorf .

Eppendorf1: contient 1 ml de gelée royale (100%)

Eppendorf2: contient 0.5 ml de gelée royale + 0.5 ml de DMSO (50%).

• Préparation du milieu de culture :

Dans notre travail nous avons utilisé le milieu Mueller Hinton (MH).

➤ Préparation des disques :

Les disques ont été préparés à partir de papier Wattman à un diamètre de 6mm, ensuite ont été posés dans un tube bien fermé. Ces disques sont par la suite stérilisés par autoclave à 120°C, pendant 15 minutes et conservé avant utilisation (Zeghad, 2009 ; Segueni, 2011).

➤ Préparation des prés cultures :

Les quatre souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes Pétri, La réactivation des souches a été effectué par ensemencement de chaque espèce bactérienne dans son milieu spécifique puis les incubé à l'étuve, 18h à 24h, à 37°C (Moroh et al., 2008).

➤ Standardisation des souches bactérienne :

A l'aide d'une anse à boucle, nous avons fait suspendre quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques dans 10ml d'eau physiologique stérile .La suspension bactérienne est bien homogénéisée.

➤ Evaluation de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion à partir des disques a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne.

➤ Mode opératoire**✓ Ensemencement des boîtes de gélose**

La gélose Muller Hinton est coulée dans des boîtes Pétri stériles de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laissée refroidir.

Les boîtes de Pétri stériles préalablement coulées, sont ensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile, par des stries bien serrées en répétant

l'opération 3 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon par la périphérie de la gélose pour assurer une distribution homogène des bactéries. (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Meziani, 2012).

✓ **Application des disques**

Après l'ensemencement sur des boîtes du milieu Mueller Hinton MH par la méthode d'écouvillonnage, des disques de papier watman d'un diamètre de 6mm et d'antibiotique (Témoin+) ont été déposés sur la gélose, Ensuite, 10µl de chaque solution et Témoin (-) (DMSO) sont pipetées par une micropipette et déposées sur le disque correspondant. Les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve à 37°C pendant 24h.

✓ **Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (Moreira et al., 2005). La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition (Tableau iii2).

Tableau ii2: Estimation de la sensibilité des souches

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

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1 Résultats de contrôle de qualité

III.1.1 analyse physicochimique

A. pH

Le pH est considéré comme étant un indice de qualité, ce paramètre peut influencer le goût et le développement des micro-organismes et donc la conservation de La gelée royale.

La figure suivante représente les valeurs moyennes de pH obtenues sur deux types de gelées royales (**Figure iii 01**)

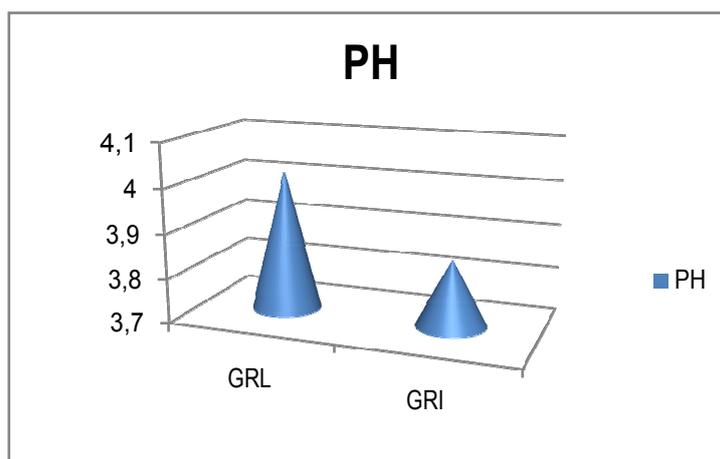


Figure iii 01: pH de deux types de gelée royale locale et importée.

GRL : Gelée royale locale GRI : Gelée royale Importé

Les valeurs moyennes du pH enregistrées dans les deux types de gelées royales sont : 4.02 et 3.85 respectivement pour la gelée royale locale et la gelée royale importée.

Cette différence entre les deux types de gelée royale peut s'expliquer par la différence dans les conditions de production et la durée de conservation.

Le résultat de pH de la gelée royale obtenu, se rapproche des pH des mêmes produits trouvés par **Layzid et Aslani (2018)** ainsi que de **Talbi (2018)**. Ces derniers ont trouvés des valeurs du pH de la gelée royale variant de 3.84 à 4.17. **Olimpia et al., (2008)** ont enregistré des valeurs légèrement élevées variant de 4 à 5.

B. L'acidité titrable :

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

Les résultats obtenus dans cette étude (**Figure iii 02**) révèlent que les deux produits analysés présentent des acidités différentes.

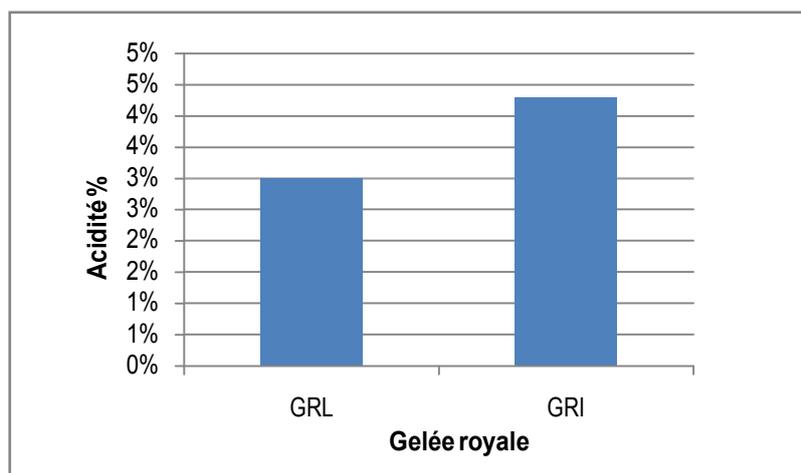


Figure iii 02 : valeurs de l'acidité des gelées royales analysées.

GRL : Gelée royale locale GRI : Gelée royale importé

Les résultats du dosage de l'acidité titrable des deux échantillons de la gelée royale varient de 3 à 4.3 % respectivement pour la gelée royale locale et importée. Les résultats obtenus se rapprochent de l'acidité des mêmes produits trouvés par **Layzid et Aslani (2018)**. Ces derniers ont trouvés des valeurs variant de 3.77 à 4.2 %.

Nos valeurs trouvées sont en accord avec ceux signalés par d'autres auteurs qui ont déclaré une valeur de l'acidité totale = 4.08% (**Dinkov et al., 2016**) et un taux d'acidité entre 3,0 – 6,0 %. rapporté par (**Sabatini et al., 2009**).

C. L'indice de Brix

Le degré Brix de gelée royale indique la quantité de matières sèches (en g) contenue dans 2g de gelée royale refroidi à 20°C. Il existe donc une légère différence entre le taux de sucres et le pourcentage de matière sèche d'une gelée royale. Plus la gelée royale est minéralisée, plus il contient de matières autres que des sucres et plus l'écart entre le véritable pourcentage de matière sèche (**degré Brix**) et le pourcentage de sucre risque de devenir appréciable. (**figure iii 03**)

Les deux échantillons de gelée royale utilisés dans cette étude présentent des valeurs de degrés de Brix à 20°C très proches, comprises entre 36°B (gelée royale importée) et 30.5°B (gelée royale locale) (**figure iii3**). Cependant, nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par (**Daoudi et al., 2021**) qui ont trouvé un taux de matière sèche entre 82% et 83%.



gelée royale importée



gelée royale locale

figure iii 03 : Degré Brix des deux échantillons de la gelée royale par la méthode refractomètre

III.1.2. Analyses microbiologiques des gelées royales

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les deux gelées royales montrent une absence totale des levures et moisissures dans la gelée royale locale tandis que dans la gelée royale importée possède une certaine charge microbienne plus ou moins faible en levures et moisissures estimés à 22.72 UFC/ml (due à la contamination au cours de stockage) (Tableau iii01)

Concernant les autres genres : les coliformes fécaux et *Staphylococcus aureus* on constate une absence totale dans les deux types de gelée royale ce qui indique que les deux gelées royales analysées sont de bonne qualité microbiologique et leur conditions de conservation et de stockage sont satisfaisantes.

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

Echantillons	Gelée royale Local	Gelée royale Importée	Normes (AFNOR 1996)
Cermes			
Levures et moisissures	Absence	22.72 UFC/ml	< 50 germes /g
Coliforme fécaux	Absence	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence

III.2 analyse phytochimique

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

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

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

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

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les deux échantillons de la gelée royale sont résumés dans (**Tableau iii 02**)

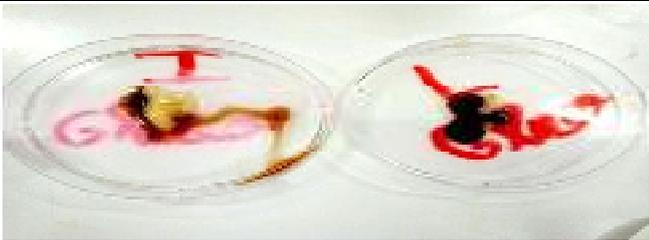
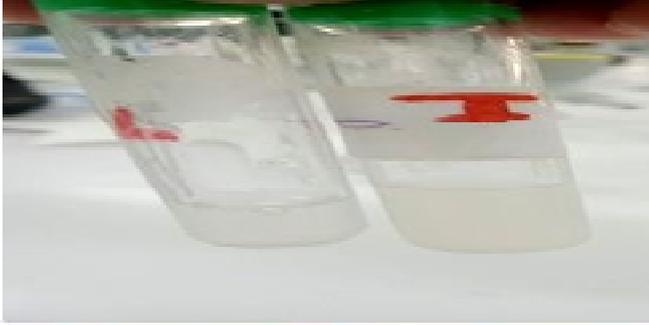
L'examen phytochimique réalisé sur les deux échantillons de la gelée royale a révélé la présence des alcaloïdes et des glycosides en quantité élevée et des flavonoïdes, en quantité moyenne. Cependant, nous observons l'absence des tannins et des saponosides

Les résultats trouvés sont en accord avec ceux avec (**Nabas *et al.*, 2014**) qui ont signalé la présence des flavonoïdes et des glucosides dans la gelée royale.

Contrairement à nos résultats, (**Konkon *et al.*, 2006**) ont noté l'absence des alcaloïdes au niveau de leurs échantillons.

D'après (**Nabas *et al.*, 2014**), les glucides constituent 14.07% de la gelée royale. C'est des sucres majeurs de la gelée royale (**Von planta (1888- 1889) et Mateescu (2016)**).

Tableau iii 02 : Résultats du screening phytochimique de la gelée royale locale et importée

Métabolites secondaires	Présence ou absence	Résultats
glucosides	+++	
flavonoïdes	++	
tanins	-	
Saponosides	-	
Alcaloïdes	+++	

(+++):Abondance;(++): Moyenne;(+) : Faible;(-): Absence

III.3 dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes

III.3.1. Dosage des poly phénols totaux

La figure iii4 donne les résultats en polyphénols totaux enregistrés dans les deux types de la gelée royale

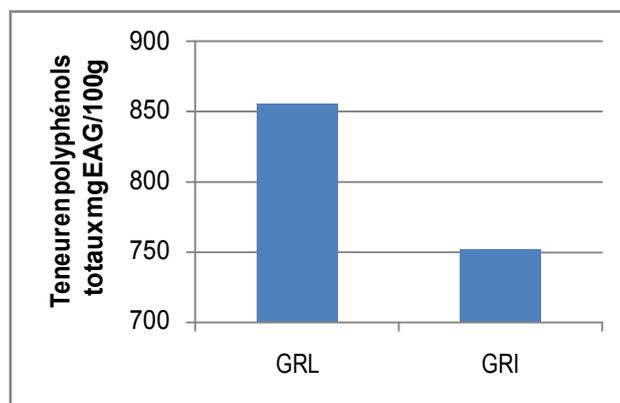


Figure iii 04 : teneur en polyphénols de la gelée royale : locale et importée.

Les résultats enregistrés montrent des teneurs plus élevées en poly phénols dans la gelée royale locale (856 mg EAG/100g) comparativement à celle issue de l'importation (752 mg EAG/100g). Nos résultats sont d'environ de moitié inférieurs à ceux trouvés par Talbi (2018) et (Balkanska2018) qui ont trouvé un taux des poly phénols entre (1081,66 mg EAG/100g à 1462,66 mg EAG/100g) . Cependant nos résultats trouvés sont supérieur à ceux trouvés par (Liu *et al.*, 2008). Ces derniers ont rapporté un contenu phénolique total compris entre 150 et 219 mg EAG/100g pour différents échantillons de la gelée royale.

Cette différence peut s'expliquer probablement par la différence des méthodes analytiques utilisées dans différentes études.

III.3.2. Dosage des flavonoïdes

La figure (iii 05) illustre les teneurs en flavonoïdes enregistrés dans les deux types de gelée royales.

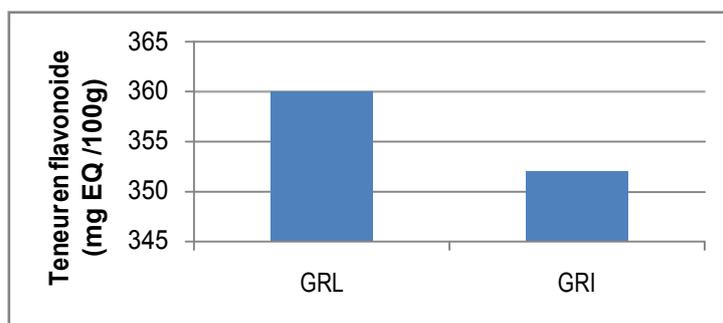


Figure iii 05 : Teneurs en flavonoïdes de deux types de gelée royale: locale et importée mg EQ/100g

La gelée royale produite localement a des teneurs en flavonoïdes plus ou moins élevées par rapport à la gelée d'importation dont les valeurs enregistrées sont de **360 mg EQ/100g** dans le cas de la gelée royale locale contre **352 mg EQ/100g** pour la gelée royale importée. Les résultats trouvés sont supérieurs à ceux trouvés par **Talbi (2018)** qui a trouvé un taux des flavonoïdes entre 80,49 mg EQ/100g à 115,63 mg EQ/100g.

Dans la gelée royale, la plupart des composés phénoliques se présentent sous la forme de flavonoïdes dont la concentration dépend de divers facteurs, notamment des espèces végétales utilisées par les abeilles, le bon état de la plante, la saison, etc. (**Kucuk et al., 2007**).

Les poly phénols 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. Les flavonoïdes sont une classe de poly phénols très abondante dans le règne végétal. Ils sont doués de mêmes propriétés que les poly phénols mais ils ont de forts pouvoirs antioxydants et sont donc très bénéfiques pour la santé humaine. Donc la gelée royale locale vu ses teneurs en polyphénols et en flavonoïdes élevées à celles de la gelée importée, elle possède un pouvoir antioxydant plus élevé que celui de la gelée royale importée.

III.4 Teneur en calcium

La gelée royale importée (**274,67 mg/kg**) est beaucoup plus riche en calcium que la gelée royale locale (**183,32 mg/kg**). (**tableau iii3**). Les résultats des deux gélées royales locale et importée sont inférieurs à ceux trouvés par **Layzid et Aslani (2018)**. Ces derniers ont trouvés **662,145 (mg/kg)** de calcium.

En générale n'importe quelle gelée royale est riche en minéraux et cela a été démontré par plusieurs auteurs. **Sabatini et al., (2009)** a rapporté que les minéraux et autres éléments

représentent environ 4% à 8% de la matière sèche de gelée royale et d'après (**Garcia-amodo et almeida-muradian, 2007**) la teneur en cendres représente 0,8-3% de gelée royale.

En conséquence, la présence de minéraux et leur variabilité sont liées à la source de l'alimentation, la période de production, l'environnement et les facteurs biologiques des abeilles (**Garcia amodo et almeida muradian, 2007; Sabatini et al., 2009**)

Tableau iii 03: la teneur en calcium de deux gelée royale (locale et importée)

Minéraux (mg/kg)	Gelée royale locale	Gelée royale importée
Calcium	183,32	274,67

III.5. Evaluation de l'activité biologique des gélées royales

III.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante

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

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

Les valeurs d'IC50 de l'extrait de la gelée royale et de l'acide ascorbique qui permettent d'inhiber l'effet de 50% du DPPH sont rapportées dans le **Tableau iii 4** et dans la **Figure iii 6**

Tableau iii 4: Valeurs des concentrations d'inhibitions IC50 de l'acide ascorbique et de des extraits de gelée royale

	Gelée royale locale	Gelée royale importée	l'acide ascorbique
IC50 (mg/ml)	2	6.5	0,85

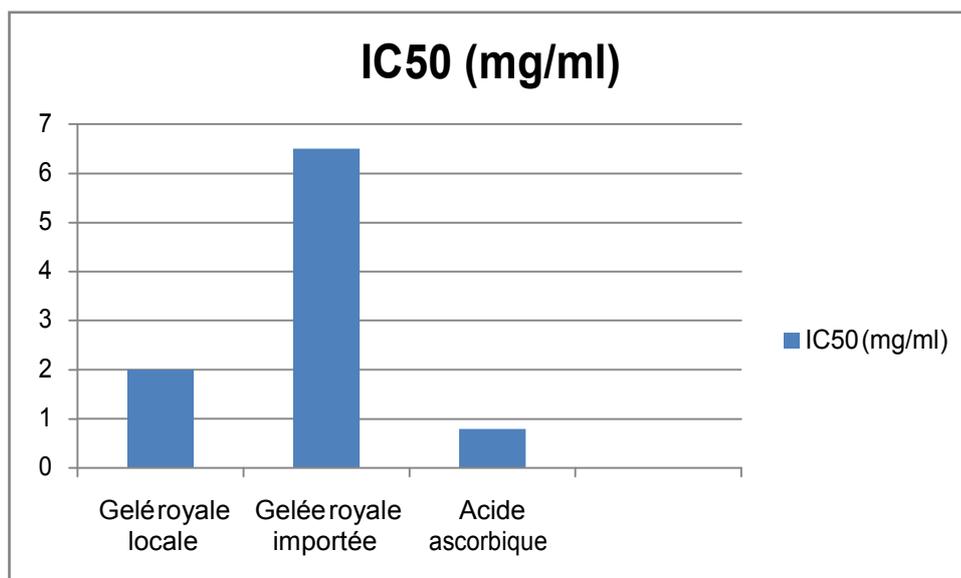


Figure iii6: IC50 de l'acide ascorbique et des extraits de gelée royale

L'extrait de gelée royale locale pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec un IC₅₀ de 2 mg/ml. Elle est légèrement inférieure à celle de l'acide ascorbique (0.85 mg/ml). Cependant l'IC₅₀ de l'extrait de la gelée royale importée est élevé (6.5 mg/ml) par rapport à ceux de la gelée royale locale et l'acide ascorbique.

Donc l'extrait de la gelée royale locale exhibe une activité antioxydante importante par rapport à celle de la gelée royale importée.

L'activité antioxydante élevée de l'extrait de la gelée royale locale peut être le résultat des composants phénoliques mais aussi d'antioxydants non phénoliques comme les sesquiterpènes, les flavonoïdes ou les acides chlorogéniques (Li *et al.*, 2013 et Zhang *et al.*, 2014). Selon Shahidi et Wanasundara (1992) les composés phénoliques sont connus comme de puissants antioxydants. Suivant Hanato *et al.*, (1989) les composés phénoliques sont des constituants très importants dans les extraits et leur capacité de balayage des radicaux libres est due à leurs groupes d'hydroxyles.

III.5.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne

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

Dans le principe de l'antibiogramme solide, un antimicrobien est d'autant plus efficace que son cercle d'inhibition de la croissance microbienne est grand. Les mesures montrent des variations des diamètres de la zone d'inhibition sont estimés selon trois niveaux d'activité des souches utilisées (**Tableau iii5**).

Tableau iii5: Estimation de la sensibilité des souches (**Moreira et al., 2005**).

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

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

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

Selon **La figureiii7 et le tableau (voir annexe)** les extraits de gelée royale importée 100% et 50 % inhibent légèrement les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylocoques aureus* et *Bacillus cereus* avec des diamètres d'inhibitions allant de 11 à 14 mm, Tandis que les extraits de gelée royale locale 100% et 50 % inhibent moyennement *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibitions allant de 15 à 19 mm. La souche *Bacillus cereus* se montre extrêmement sensible à l'encontre des extraits de gelée royale locale 100%.

Concernant *Escherichia coli* se montre très sensible vis-à-vis des extraits de la gelée royale importée 100% et 50 % et de la gelée royale locale 50 %. Cependant elle s'avère extrêmement sensible à l'encontre de la GRL (100%).

En outre, l'antibiotique la gentamicine se montre plus actif vis-à-vis des 04 souches par rapport aux extraits de la gelée royale importée et de la gelée locale 100% et 50 %. Cependant on constate que des extraits de la gelée locale 100% et l'antibiotique se montrent actifs sur la même souche *E coli* avec des diamètres d'inhibitions respectifs 30mm et 35 mm.

La comparaison des résultats antibactériennes des extraits de la gelée royale importée et

de la gelée locale 100% et 50 % vis-à-vis de nos 04 souches bactériennes, dévoile d'un côté une activité bactériostatique importante des extraits de la gelée royale 50% et surtout 100% par rapport à celle des extraits de la gelée royale importée 50% et 100%, et d'un autre côté les deux souches *Bacillus cereus* et surtout *E coli* se montrent extrêmement sensibles vis à vis des extraits de la gelée royale 100% (voir tableau iii6)

En conséquence, l'effet bactériostatique important des extraits de la gelée royale locale est dut à sa composition riche en poly phénols soit **856** mg EAG /100g d'extrait et en flavonoïdes soit **360** mg EQ /100g d'extrait et en plus la gelée royale locale possède une activité antioxydante élevée par rapport à celle de l'importée avec une IC50 de 02mg/ml légèrement inférieure à celle de l'acide ascorbique (0.85 mg/ml). Aussi ces mêmes extraits se montrent avec un pH bas et une acidité élevée par rapport aux extraits de la gelée royale importée.

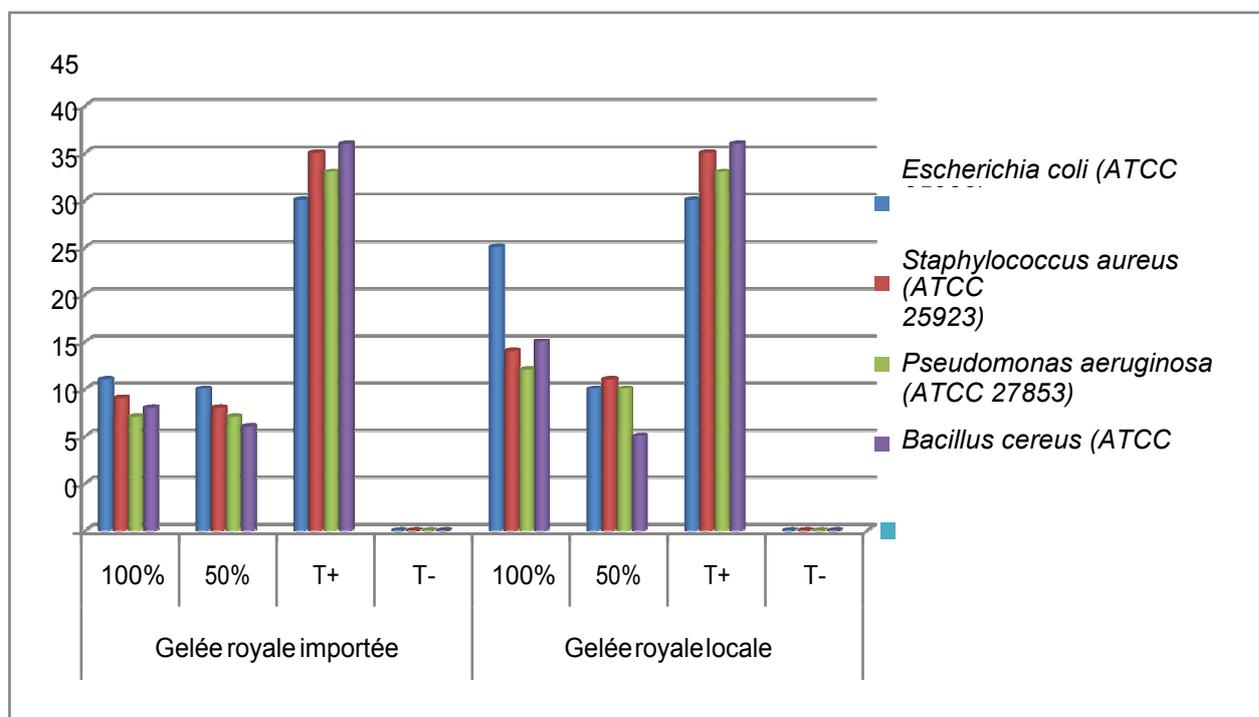


Figure iii 7 : Diamètres d'inhibitions (mm) des extraits de la gelée royale locale et gelée royale importée

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

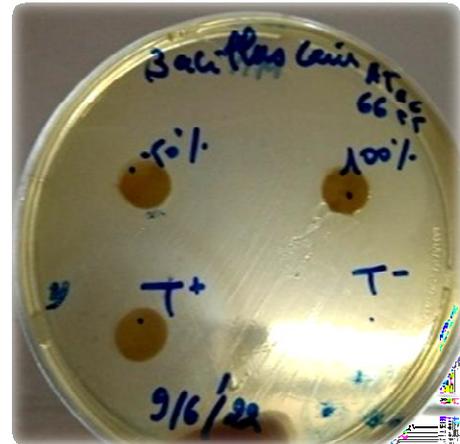
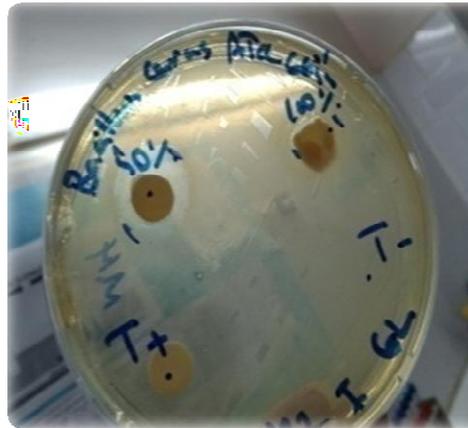
[50% - 100%] : nombre de dilution

[0 – 45] : diamètre d'inhibition

Tableau iii 06: Photos des diamètres d'ihibition en mm des 04 souches inhibées par des extraits de gelée royale locale et importée 100% et 50%

Souches	Gelée royale locale	Gelée royale importée
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)		
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 12826)		

Bacillus cereus
(ATCC 27853)



Conclusion

Conclusion

La gelée royale est une substance naturelle considérée comme une des produits les plus importants des abeilles mellifères avec des propriétés nutritionnelles, fonctionnelles et biologiques élevées. Elle 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 nutritionnelle de cette gelée importée par rapport à la gelée royale produite localement.

Les valeurs physicochimiques et microbiologiques permettent de prouver que la gelée royale importée et surtout locale sont de bonne qualité et sont conformes aux normes données par le Codex alimentarius (2001).

L'extrait de la gelée royale locale possède un très pouvoir antioxydant par rapport à la gelée royale importée puisque ses teneurs en poly phénols et en flavonoïdes sont élevées par rapport à celles des extraits de la gelée royale importée et leur concentration minimale inhibitrice (2 mg/ml.) est très supérieure à celle de la gelée royale importée (6.5mg/ml)

Par ailleurs ; les résultats de la méthode d'antibiose permettent de prouver l'effet antibactérien important de la gelée royale local puisque les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* , *Bacillus cereus* et *Staphylocoques aureus* se montrent plus sensibles à l'encontre des extraits la gelée royale (50%) et surtout (100%) par rapport aux extraits de la gelée royale importée. Egaleme^{nt} la souche *Escherichia coli* s'avère extrêmement sensible à l'encontre de la gelée royale locale (100%). Donc l'action bactériostatique importante surtout celle des extraits de la gelée royale locale (100%) est dut à sa richesse en polyphénols totaux ainsi qu'en flavonoïdes et à son pouvoir antioxydant élevé.

Enfin les teneurs élevées en calcium dans la gelée royale locale et surtout dans la gelée royale importée nous dévoilent une valeur nutritionnelle importante parce que le calcium est un minéral principalement connu pour son rôle dans la construction des os, dans la

contraction musculaire, dans la coagulation sanguine, aux échanges cellulaires, à la neurotransmission et encore au métabolisme énergétique.

Ainsi les résultats trouvés révèlent que la gelée royale importée est d'une qualité nutritionnelle de loin inférieure comparativement à la gelée royale produite localement.. 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.

Au vu des résultats obtenus et tenant compte de la problématique du sujet, il nous semble judicieux d'approfondir le présent travail par :

- Elargissement du nombre des échantillons pour toucher toutes les wilayas du pays ;
- Evaluation des propriétés thérapeutiques des extraits de gelée royale
- poursuivre les investigations sur la gelée royale algérienne, à savoir l'étude du fractionnement des extraits voir même d'isolement des molécules pour l'attribution à l'un ou l'autre des constituants des effets thérapeutiques, diététiques et nutritionnelles
- Enfin, 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.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

A

- **Amigou, M. (2016).** Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (Miel, Pollen, Gelée royale et Propolis). Thèse de doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort, Paris.
- **Amirshahi, M., Mullin, P.M., Rassoly, I., van den Anker, J., & Pines, J.M. (2014).** Rising opioid prescribing in adult US emergency department visits: 2001-2010. *Academic Emergency Medicine*, 21(3), p236-243.
- **ASSOCIATION EUROPEENNE D'APITHERAPIE,** La médecine par les abeilles - Traité d'apithérapie, CD-ROM d'Apithérapie v1.0.
- **ANONYME1** <http://www.ikonet.com/> : Castes.
- **Anonyme02, 2012.** Gelée royale française, Fraude à La gelée royale sur le site www.nectar-com
- **AFNOR (1996).** Association française de normalisation

B

- **Babin, M. (2015).** La gelée royale de son origine à sa valorisation pharmaceutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de médecine, Angers.
- **Barnutiu, L.I., Marghitas, L., Dezmiorean, S., Mihai C.M. et Bobis, O. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of royal jelly – Review. *J Anim Sci Biotechnol*, 44: p67–72.
- **Bayr H (2005).** Reactive oxygen species. *Critical care medicine*. 33(12) :498-501.
- **Biondi, C.G., Bedini and Felicioli, A. (2003).** Royal jelly: proposed method for the determination of geographical origin and quality. *Apitalia*(6):p32-37
- **Blanc M., (2010).** Propriété et usage médicale des produits de la ruche. Mémoire de doctorat : pharmacie. Limoges : université de limoges, 17, 22-31p : 144p.
- **Babin Marie. (2015).** La gelée royale: de son origine à sa volarisation pharmaceutique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université angers, Faculté de pharmacie, pp.230
- **BALKANSKA R., ZHELYAZKOVA I., IGNATOVA M. et KASHAMOV B. (2013).** Effect of supplementary honey and artificial sugar feeding of bees on the composition of royaljelly. *JAST*, 5: 335-343.
- **Boizot N., Charpentier J-Paul. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu encomposés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA, Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques, BP 20619-45166.
- **Bouchama Radia, Djaouani Djouza, (2015).** Etude de l'activité antibactérienne des produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale), Mémoire de Master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou p :29
- **BACHA.H.C, (2005).** Le miel entre le coran et la science. La revue Al-iaajaz Alilmi : N°15. 6-11p.
- **Bogdanov S. (2016).** Honey as Nutrient and Functional Food. *Book of Honey*, Chapter 8, Bee Product Science, www.bee-hexagon.net, April 2016.
- **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>
- **BECHETG, 2002.** Les trésors de la ruche. Chapitre2: Articles journalle soir, p21-22. France.

- **BIRIM ,(2003).**Le grand livre des abeilles: cours d'apiculture moderne .Edition VECCHI. 256p.
- **BRADBEARN.,2005.**Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture(FAO),25p.
- **BRUNEAU E. (2002).** Chapitre IX : Les produits de la ruche.,In : Clément H. Traite rustica de l'apiculture. Editions Rustica, Paris,p 274-388.

C

- **Cemek, M., Aymelek F.,Buyukokuroglu,M .E.,Karaca,T.,Buyukben,A.,&Yilmaz, F.(2010).** Protective potencial of Royal Jelly against carbontetrachloride induced-toxicityandchanges in the serum sialic acid levels.Food and Chemical Toxicology,48(10),p2827-2832.
- **Clement,H. (2009).**Créer son rucher. Editions Rustica .Paris.111p.
- **Cousin, L. (2014).** L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie .Faculté de Médecine et de Pharmacie, POITIERS.
- **Caboni, M.F.; Sabatini, A.G. and Lercker, G. (2004).** La gelatina reale: origine, proprietà e composition /Royal jelly:origin, properties and composition. APO idea 1: 72 79.
- **Courvaline, P., et LecREQ, R. (2012).** AntibioGramme.3ème édition. ESKA. Paris. P: 48, 49.
- **Canadanovic-Brunet, J., Gordana Cetkovic, G., Saponjaca, V.T., Stajcic, S., Vulica, J., Djilas, S., Stajner, D. et Popovic, B. (2014).** Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. Industrial Crops and Products, 62: 1-7.
- **Cran, (1990).** Bees and keeping, science practice and world ressources, heineman, London. P:614.ISBN0-8014-2429-1

D

- **Djellouli F. (2013).** Aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines sériques chez les agriculteurs utilisant les pesticides. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en biologie.
- **Domerego, R., Imbert, G., &Blanchard, C.(2007).** Les remèdes de la ruche, Monaco Alpen Editions, 96p.
- **Dinkov D., Stratev D., Balkanska R., Sergelidis d. et vashin I. (2016).** Reduction effect of royal jelly and rape honey alone and in combination against methicillinresistant staphylococcus aureus (MRSA) strains. J Bacteriol Virol, 46(1): 36-43.
- **DUBOIS C., BALLE F., BENOIT M. et al. (1986).** Petit Larousse en couleurs. Editions Larousse, 1665p.

E

- **El-Hanoun, A. m., Elkomy, A. E., Fares, W. A., Shahiene. H. (2014).** Impact of royal jelly to improve reproductive performance of male rabbits under hot summer conditions. World Rabbit Sci. 22: 241-248.
- **Elnagar, S. A. (2010).** Royal jelly counteracts bucks "summer infertility". Anim. Reprod. Sci., 121: 174-180.

F

- **Fert G, Clément H.L.** L'élevage des reines. Paris: Editions Rustica; 2007. 128p.
- **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. *Socio biology* 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.
- **Fontana R., Mendes M-A., de Souza B-M., Konno K., César L-M., Malaspina O. et Palma M-S. (2004).** Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honey bees (*Apis mellifera*). *Peptides*, 25: 919-928,

G

- **Ghanbari, E., Vahid, N., Gholamreza, N., Mozafar, K., et Babaei, M. (2015) .** Study on the effect of royal jelly on reproductive parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Into FertilSteril*, 9: p. 113-120.
- **Gharbi, M. (2011) .** Les produits de la ruche : Origines-Fonctions naturelles-Composition Propriétés thérapeutiques-Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat en Médecine Vétérinaire. Université Claude-Bernard, Lyon.
- **Gilbert D.L., Colton C.A. (1999).** Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach., editors. New-York: Kluwer Academic / Plenum Publishers. 740p.
- **Gutteridge J. (1993) .** Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun*; 19: 141-158.
- **G. Najafi., V. Nejati., A. Shalizar Jalali., and E. Zahmatkesh (2014).** “Protective role of royal jelly in oxymetholone-induced oxidative injury in mouse testis,” *Iranian Journal of Toxicology*, vol. 8, no. 25, pp. 1073–1080.
- **Ghanbari, E., Nejati, V., Khazaei, M. (2016) .** Antioxidant and protective effects of royal jelly on histopathological changes in testis of diabetic rats. *Int J Reprod Biomed*. 14:519.
- **Garcia-amodo I-h. et Almeida-muradian L-B. (2007).** Physicochemical composition of pure and adulterated royal jelly. *Quím. Nova*, 30: 257-259.
- **Gowthorpe, P. (2011).** L'abeille & sa colonie. Disponible sur : <http://www.adaif.fr/labeille/abeille-colonie.html> (consulté le 19/11/2020).
- **Gely, D.H. (2015).** Les vertus des produits de la ruche. *Human et terre*. 37: 29. Disponible sur : <http://www.naturopathe-hunkagely.fr/articles/article-miel.pdf> (Consulté le: 20/11/2020).

H

- **Haydak, M.H. (1943).** Larval food and development of castes in the honeybee. *Journal of Economic Entomology*, 36(5), p. 778-792.
- **Hoyet, C. (2005).** Le miel: De la source à la thérapeutique, Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy-I, 87 p.

I

- **Izuta, H., Chikaraishi, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2009).** 10-Hydroxy-2-decenoic Acid, a Major Fatty Acid from Royal Jelly, Inhibits VEGF-Induced Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells, *Evid. Based Complement. . Med.*, 6(4), 489-94.

J

- **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:p.270–274.

K

- **Kimura,N.,Nojima,T.,Ueno,K.,Nakamura,S.,Shimotani,H.,Ohtomo,A.(2008).** Electricfield-induced superconductivity in an insulator.Nature materials,7(11),p.855-858).
- **Kirk-Othmer (1994).** Encyclopedia of chemical technology. New York: John Wiley and sons.; 929-947.
- **Koehlin-Ramonatxo C (2006).** Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 20 : 165-177.
- **Kohen R, Nyska A (2002).** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. Toxicologic Pathology; 30: 620-650.
- **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.
- **Konkon N.G., Simaga D. et Adjoungova A.L. (2006).** Etude Phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. Pharm. Méd. Trad. Afr. 2006, Vol. 14, pp. 73-80 .

L

- **Lercker G.; Caboni M F.; Vecchi M A.; Sabatini A G. and Nanetti A. (1992)**
- **Lewis, R. (2005).** The Infertility Cure: The Ancient Chinese Wellness Program for Getting Pregnant and Having Healthy Babies, ed. Little, Brown and Company.
- **Lercker, G., M.F. Caboni, M.A. Vecchi and A.G. Sabatini (1993).** Caratterizzazione dei principali costituenti della gelatina reale. Apicoltura 8: 27-37.
- **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.
- **LE Conte Y. (2002).** Chapitre I : Mieux connaître l'abeille. In Clément H. Traite rustica de l'apiculture. Editions Rustica, Paris, p 12-51.
- **Li,H., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y., (2013).**Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae .Food chemistry, 102, 771-776.
- **Liu,J-R., Yang Y-C., Shi L-S. et Peng C-C. (2008).** Antioxidant properties of royal Jelly associates with larval age and time of harvest. J. Agric.FoodChem,56(23) :p.11447-11452.

M

- **Martin S, Andriantsitohaina R (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.*; 51 :304-315.
- **Mateescu C. (2016).** Les produits de sécrétion et leurs rôles dans la colonie d'abeilles.[enligne].AdresseURL:<https://www.researchgate.net/publication/23748056> (consultée le 25/2/2016).
- **Mateescu, C. (2016).** Les produits de sécrétion et leurs rôles dans la colonie d'abeilles.[enligne].AdresseURL:<https://www.researchgate.net/publication/23748056> (consultée le 20/11/2016).
- **Morita, H., Ikeda, T., Kajita, k., Fujioka, k., Mori, I., Okada, H., Uno, H. et Ishizuka t. (2012).**Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers. *Nutr J*,11:1-7.
- **Maghsoudlou, A., Mahoonak, A. S., Mohebodini, H., & Toldra, F. (2019).** Royal jelly: Chemistry, storage and bioactivities. *Journal of Apicultural Science*, 63(1), 17–40. <https://doi.org/10.2478/JAS-2019-0007>. Consulté le: 13/07/2020.
- **M. Imai., A. Umezawa., J. Qin., K. Miyado., N. Yamakawa., and Y. Takahashi. (2010).** “Molecular Alterations during Female Reproductive Aging: Can Aged Oocytes Remind Youth? ” in INTECH Open Access Publisher, Croatia.
- **Mishima, S., Suzuki, K. S. M., Isohama, Y., Kuratsu, N., Araki, Y., Inoue, M., et al.(2005).** Royal jelly has estrogenic effects in vitro and in vivo. *J Ethnopharmacol.* 3; 101(1S3):215–20.
- **Moroh, J., Bahi C., Dje K., Loukou Y and Guede-guina F, (2008).** Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin Societe Royale des Sciences Liege*, 77: 44-61
- **Meziani, M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas*. Mémoire de Magister .Université Mentori.Constantine.

N

- **Nagai T,Sakai M, Inoue R, Inoue H, Suzuki N.**Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chem.* **2001** Nov;75(2):237–40.
- **Nabas Z., Haddadin M., Haddadin J. et Nazer I-K. (2014).** Chemical composition of royal jelly and effects of synbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activitie. *Polish. J. FoodNutr. Sci*, 64: 171-180.

O

- **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.
- **Olimpia P., Mărghitas I-A., Dezmirean D-S., Muresan O-L., Laslo L. (2008).** A characterization about physical-chemical composition of royal jelly. *bull univ agric sci vet med cluj napoca*, 65(1-2): 244-248.

P

- **PROST J.P.(2005).**Apiculture, connaître l'abeille, conduit du rucher.7ème édition. Paris, 689p.
- **PHILIPPE J-M. (2007).** Le guide de l'apiculteur. Edition Edisud, 319p

R

- **Rigal, M-L. (2012).** Miel et gelée royale : utilisation thérapeutique dans le domaine cutanée et application en cosmétologie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges Faculté de pharmacie, Limoges. France.
- **Rebai h, et Saidi sief Ch, (2017).** Identification d'une souche cariogène *Streptococcus* sp et étude de l'action antibactérienne du miel de colza et de la propolis sur cette souche, Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. P 21-31, 42.

S

- **Sabatini A-G., Marcazzan G-L., CABONI M-F., BOGDANOV S., ALMEIDAMURADIAN L-B. (2009).** Quality and standardisation of Royal Jelly. *JAAS*, 1(1): 1-6.
- **Salazar-Olivo, L.A., Paz-González,V. (2005).**Screening of biological activities Presentin honeybee(*Apis mellifera*)royal jelly, *Toxicol.In Vitro*,19(5),645-51.
- **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 two dimensional gel electrophoresis. *J.Agric. Food Chem.*14;52(1):p.15–20.
- **Šimúth, J., Bíliková, K., Kováčová, E., Kuzmová, Z., Schroder, W. (2004).**Immunochemical Approach to Detection of Adulteration in Honey: Physiologically Active Royal Jelly Protein Stimulating TNF- Release Is a Regular Component of Honey, *J. Agric. Food Chem.*,52 (8),2154–2158.
- **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.
- **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.
- **Stefan, Bogdanov., Muehlethurnen., Switzerland. (2016).** Royal Jelly and Bee Brood: Harvest, Composition, Quality. *Bee Product Science*.
- **Suzuki, K. M., Isohama, Y., Maruyama, H., Yamada, Y., Narita, Y., Ohta, S., et al. (2008).** Estrogenic activities of fatty acids and a sterol isolated from royal jelly. *Evid Based Complement Alternat Med* 5:295–302.
- **Siavash M., Shokri S., Haghighi M., Mohammadi M., Shahtalebi M-L. et Farajzadehgan Z. (2011).** The efficacy of topical royal Jelly on diabetic foot ulcers healing: A case series. *Int J Res Med Sci*, 16: 904-909.
- **Segueni, N. (2011).** Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine.
- **Sagdaç A, (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme an doréganohydrosols. *Lebensm-wiss.U-technol.*36:467-473

T

- **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.

- **Tremellen K. (2008).** Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Hum Reprod Update* ; 14 : 243-258.
- **Tokunaga K-H., Yoshida C., SUZUKI K-M., MARUYAMA H., FUTAMURA Y., ARAKI Y. et MISHIMA S. (2004).** Antihypertensive effect of peptides from royal jelly inspontaneously hypertensive rats. *Biol Pharm Bull*, 27: 189-192.
- **Talbi Malika (2018).** Etude comparative des paramètres physico-chimiques et activité antioxydants de deux types de gelée royale : locale et importée. Mémoire pour l'obtention du diplôme de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

V

- **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. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

W

- **Whitman M, Ketsawatsakul U, Halliwell B (2002).** A reassessment of the peroxynitrite scavenging activity of uric acid. *Ann. NY Acad. Sci.* 962:242-259.

Y

- **Yzydorkzyk C. (2011).** Rôle du stress oxydant en période néonatale dans l'hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique de l'adulte.

Z

- **Zelko N, Marian T, Folz R. (2002).** Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology & medicine*. 33: 337-349.
- **Zeghad, N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*). Thèse de Doctorat, Université Mentouri de Constantine.
- **Zhang, T., Omar, R., Siherietal, W., (2014).** Chromatographic analysis with different detectors in the chemical characterization and dereplication of African propolis.

Annexes

Annexe a : tableaux de tous les appareillages verrerie solvant, etc. utilisés dans les parties physicochimique et microbiologique.

Tableau 01 : Appareillage, verrerie, solvants et réactifs chimiques utilisées dans la partie physicochimique.

Appareillage	Agitateur magnétique Balance de précision Bain-marie pH mètre Spectrophotomètre UV-Visible Réfractomètre (Brix 0-90%)
Solvant set réactifs chimiques	Eau distillée, HCl Chlorure de fer FeCl ₃ Acétate de sodium (CH ₃ COONa) Copeau de Mg Hydroxyde de sodium NaOH Acide chlorhydrique Phénolphtaléine Acétate de plomb Acide sulfurique H ₂ SO ₄ Réactif de Folin-ciocalteu Carbonate de sodium Trichlorure d'aluminium AlCl ₃
Verrerie	Anse de platine Bécher Bec bunsen Boites de pétri Burette Pincés Ecouvillons stériles Entonnoir et Erlenmeyer Pipette graduée

Tableau 02 : Appareillages, matériel, solution et milieux de cultures utilisées dans la partie microbiologique.

Appareillages	Bain marie Etuves bactériologiques
Matériel	Anse de platine Bec bunsen Boîtes de Pétri Disques stériles (papier wattmann) Ecouvillons Embouts en plastiques stériles Micro filtres stériles Micropipettes Pince Pipette pasteur Portoirs pour tubes Tubes à essai fermés
Solution	DMSO Eau distillé Eau physiologique
Milieux de cultures	Milieu Mueller Hinton (MH). Gélose plat count agar (PCA) VRBL : (Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge Neutre) Gélose glucose à l'Oxytétracycline (OGA)

Matériel utilisé :



pH mètre



Réfractomètre (Brix 0-90%) à T_R=20°C

ANNEXE b

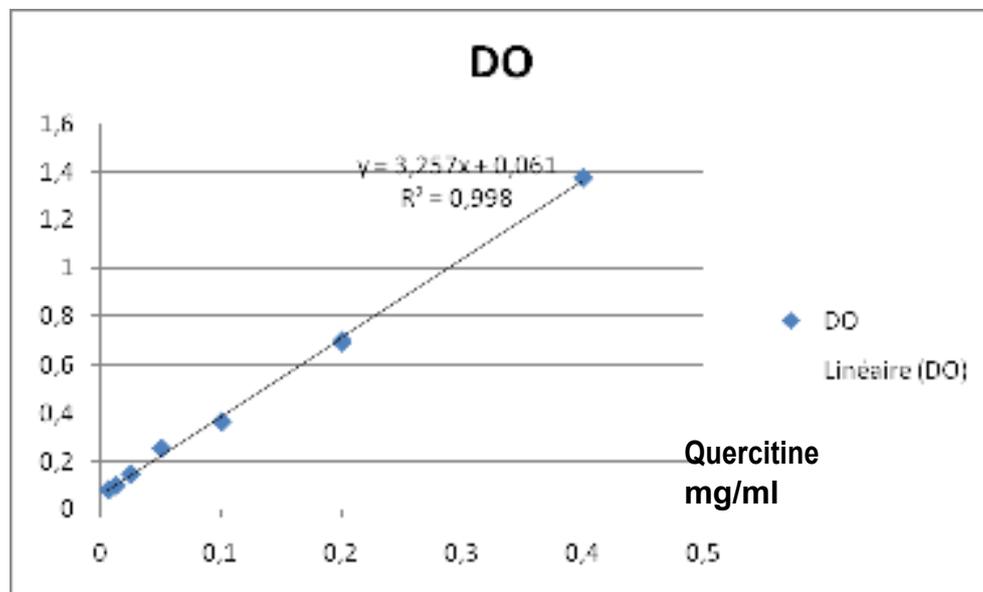


Fig.1: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes [DO=f(concentration en quercitine)](mg/ml)

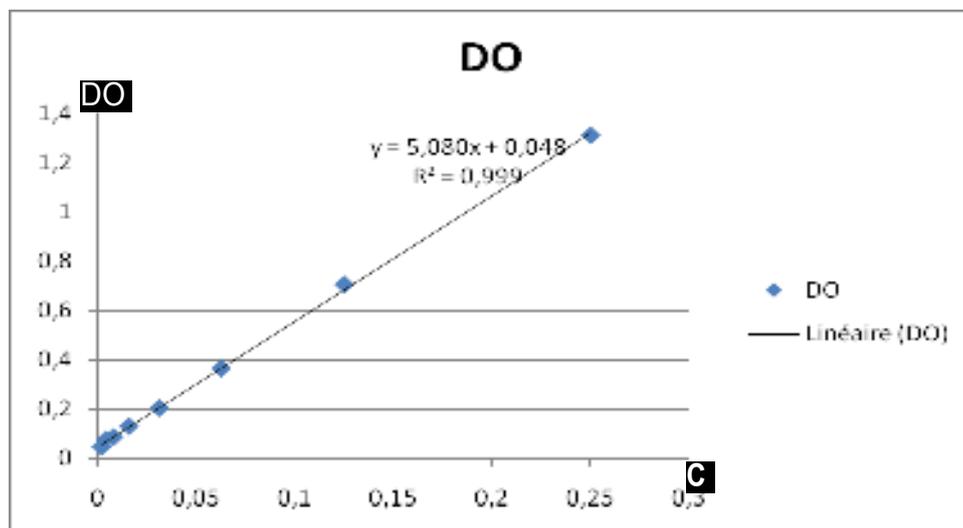
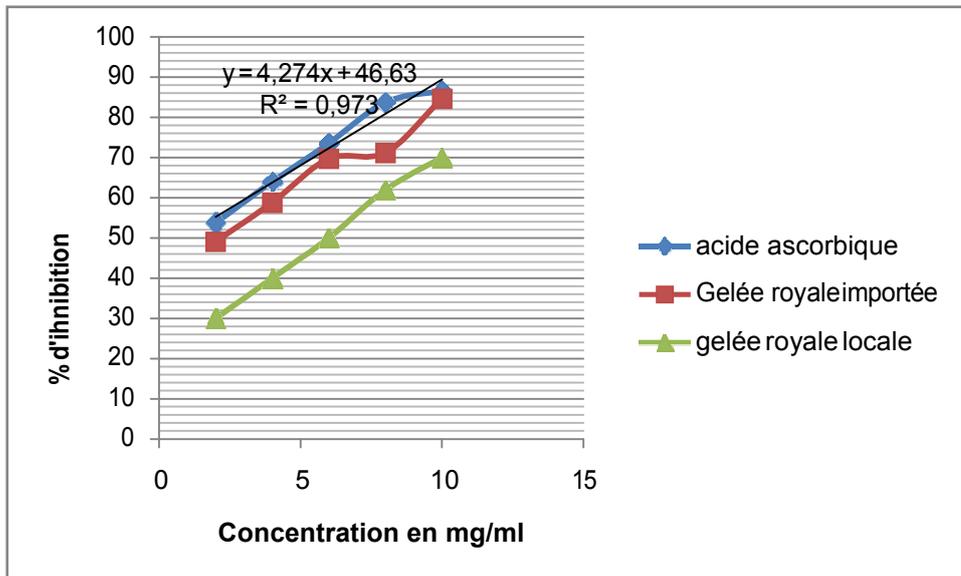


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.



I(%) : Pourcentage d'inhibition

Figure 3: Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique et des échantillons de la gelée royale locale et importée

ANNEXE C

Tableau 03 : diamètres des zones d'inhibition (mm) montrant l'activité antimicrobienne des gelées royales sur les quatre souches microbiennes.

Echantillon	Gelée royale importée				Gelée royale locale			
	100%	50%	T+	T-	100%	50%	T+	T-
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	16	15	35	0	30	15	35	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	14	13	40	0	19	16	40	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	12	12	38	0	17	15	38	0
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 9027)	13	11	41	0	20	10	41	0