

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche*  
*Scientifique*

**Université A. MIRA – Bejaïa**

**Faculté des Sciences de la Nature et  
de la Vie**  
**Département de Biologie**  
**Physico-Chimique Filière : Sciences**  
**biologiques**  
**Spécialité : Biochimie appliquée**



**Réf:.....**

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Teneurs en antioxydants et activités  
antioxydante et antiinflammatoire de  
quelques échantillons de gelée royale**

Présenté par :

**Mlle TOUATI Souhila & Mlle YAICHE Ouissem**

Soutenu le : 30 /09/2021

Devant le jury composé de :

Mme BENLOUKIL M.  
M<sup>r</sup> OUCHEMOUKHES S.  
Mme CHAHER-BAZIZI N.

Présidente  
Encadreur  
Examinatrice

**Année universitaire : 2020 / 2021**

# *Remerciements*

*Tout d'abord, Nous rendons grâce à Dieu, le tout puissant et le très*

*Miséricordieux de nous*

*avoir donné la patience, la force et le courage de mener à terme ce travail.*

*Nous tenons à remercier en premier lieu notre promoteur **Mr OUCHEMOKH S.** d'avoir accordé sa confiance, de consacrer son inspiration, son aide et son temps, d'être disponible quotidiennement pour mener à bien ce modeste travail.*

*Merci pour*

*sa qualité d'encadrement et la pertinence de ses remarques, pour sa sympathie et sa simplicité, sa gentillesse et sa générosité. Merci d'être avec nous tout au long de ce travail.*

*Nos hommages les plus respectueux s'adressent à **Mme BENLOUKIL M.** qui nous a fait l'immense honneur d'accepter la présidence de notre jury.*

*Nous adressons également tous nos*

*Honneur à notre enseignante **Mme CHAHER N.** D'avoir accepté d'être*

*Examinatrice de notre mémoire.*

*Nos remerciements les plus sincères pour le doctorant de*

***Mr MENIA M.** pour son précieux aide.*

*Nos hommages également à tous nos Enseignants du Département de  
Biologie Physicochimique*

*pour avoir fortement contribué à enrichir nos connaissances.*

*On a l'honneur d'exprimer nos sincères remerciements et notre gratitude aux personnes qui ont contribué de près ou de loin l'accomplissement et l'achèvement de ce travail : Les deux familles Yaïche et Touati et tout le personnel de laboratoire.*



*Souhila et Ouïssem -*

# *Dédicace*

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie:*

*Spécialement à mes chers parents **Brahim et Hanifa** en témoignage d'un profond amour et de grande reconnaissance pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon bonheur.*

*Je les remercie de m'avoir permis d'aller aussi loin dans mes études et de m'avoir réconforté, soutenu et supporté tout au long de ma vie.*

*Que ce travail soit le témoignage de ma sincère gratitude, reconnaissance et de tout mon amour, que dieu vous protège.*

*A mes très chères Sœurs :*

*Anissa, Sara, Ibtissam et meriame, qui m'ont encouragé, aidé et poussé à donner le meilleur de moi-même.*

*A mon très chère Frère :*

*Amehand pour avoir toujours été là pour moi.*

*A mes proches et toute ma famille.*

*A ma chère collègue **Souhila** et sa famille.*

*A toutes les personnes qui m'ont aidé de proche ou de loin.*



- OUISSEM -

# *Dédicace*

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail*

*QUE je dédie :*

*Au première place à mes chers parents **Bachir** et **Fatima** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien, leur confiance et leur prière tout au long de mes études.*

*À mes chers Sœurs **Baya** et **Amel** pour leur encouragements permanent et leur soutien morale.*

*À mes chers frères **Yacine** et **Rayane** pour leur appui et encouragement. Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués et le fruit de votre soutien infaillible.*

*À ma très cher collègue **Yaïche Ouïsem** et sa famille, je suis honorée de partager avec toi mon cursus universitaire.*

*À ma chère copine **Sarah** pour son soutien tout au long de ce travail, merci d'être à mes cotes.*



# *Sommaire*

---

## Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviation

**Introduction ..... 1**

### Partie bibliographique

#### Chapitre I

##### Gelée royale : généralités et compositions

1. Définition .....	3
2. Production .....	3
3. Biosynthèse .....	4
4. Composition chimique .....	4
4.1. Teneur en eau .....	4
4.2. Glucides .....	5
4.3. Protéines .....	5
4.4. Lipides .....	6
4.5. Sels minéraux .....	6
4.6. Vitamines .....	6
4.7. Composés phénoliques .....	7
4.7.1. Flavonoïdes .....	8
4.8. Autres composés .....	9
5. Conservation de la gelée royale .....	9

#### Chapitre II

##### Propriétés biologiques de la gelée royale

1. Propriété antioxydante .....	10
2. Propriétés anti-inflammatoires .....	11
3. Propriétés antimicrobiennes .....	12
4. Propriétés anticancéreuses .....	13

5. Propriétés cicatrisantes .....	13
6. Propriétés immunostimulantes .....	13
7. Propriétés sur la fertilité .....	14
8. Propriétés antihypertensives .....	14
9. Propriétés revitalisantes .....	14

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I**

#### **Matériel et méthodes**

Chapitre I : Matériel et méthodes .....	15
1. Échantillons de gelée royale .....	15
2. Extraction .....	15
3. Dosage des antioxydants et des protéines .....	16
3.1. Dosage des composés phénoliques totaux .....	16
3.2. Dosage des flavonoïdes .....	16
3.3. Dosage des protéines .....	16
4. Etude de l'activité anti-oxydante .....	17
4.1. Test de DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl) .....	17
4.2. Test de ABTS ([2, 2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diamonium salt] ...	17
4.3. Pouvoir réducteur .....	18
4.4. Test de CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) .....	18
4.5. Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) .....	19
4.6. Test de Ferrozine .....	19
5. Activité anti- inflammatoire .....	20
6. Analyses statistiques .....	21

### **Chapitre II**

#### **Résultats et discussion**

1. Teneurs en antioxydants .....	22
1.1. Composés phénoliques totaux .....	22
1.2. Flavonoïdes .....	23
1.3. Protéines .....	25

2.	Étude de l'activité antioxydante .....	<b>26</b>
2.1.	Activité antiradicalaire par DPPH .....	26
2.2.	Test ABTS .....	28
2.3.	Pouvoir réducteur .....	29
2.4.	Test CUPRAC .....	30
2.5.	Test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) .....	31
2.6.	Test Ferrozine .....	32
3.	Activité anti-inflammatoire .....	<b>33</b>
4.	Corrélations .....	<b>35</b>
4.1.	Corrélations entre les antioxydants et l'activité antioxydantes .....	35
4.2.	Corrélations entre les protéines et l'activité antiinflammatoire .....	36
	<b>Conclusion et Perspectives .....</b>	<b>38</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>39</b>
	Annexes	

**Liste des tableaux**

**Tableau I** : Principales vitamines identifiées dans la gelée royale. .... 7

**Tableau II** : Échantillons de gelée royale analysés ..... 15

**Tableau III** : Matrice de corrélation entre les paramètres étudiés ..... 37

**Liste des figures**

<b>Figure 1</b> : Cellules royales ouvertes. ....	3
<b>Figure 2</b> : Composition chimique de la gelée royale. ....	4
<b>Figure 3</b> : Structure de certains composés phénoliques.....	8
<b>Figure 4</b> : Teneurs en phénols totaux des échantillons de gelée royale.....	22
<b>Figure 5</b> : Teneurs en flavonoïdes des échantillons de gelée royale .....	24
<b>Figure 6</b> : Teneurs en protéines des échantillons de gelée royale .....	25
<b>Figure 7</b> : Activité antiradiclaire avec le radical DPPH des échantillons de gelée royale..	27
<b>Figure 8</b> : Résultats du test ABTS des échantillons de gelée royale .....	28
<b>Figure 9</b> : Pouvoir réducteur des échantillons de gelée royale.....	29
<b>Figure 10</b> : Activité réductrice Cuprac des échantillons de gelée royale .....	30
<b>Figure 11</b> : Résultats du test de FRAP des échantillons de gelée royale.....	31
<b>Figure 12</b> : Résultats du test Ferrozine des échantillons de gelée royale .....	32
<b>Figure 13</b> : Résultats du test anti-inflammatoire des échantillons de gelée royale.....	34

## Liste d'abréviation

- 10- HDA:** Acide 10-hydroxy-décénoïque
- 10H<sub>2</sub>DA:** Acide 10-hydroxy-2-décénoïque
- 10H<sub>2</sub>DA<sub>25</sub> :** Acide 10-hydroxy-2-décénoïque-25
- ABTS+ :** Acide 2-2-azinois -3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
- ACE :** Angiotensine conversion enzyme
- ADN :** Acide DésoxyriboNucléique
- AmMRJP :** *Apis mellifera* Major Royal Jelly Protéine
- ARN :** Acide Ribonucléique
- AVUC :** Analyse de la Variance à Un seul Critère de Classification
- B5 :** Acide pantothénique
- Betta TNF- $\alpha$ :** Tumor Necrosis Factor- $\alpha$
- CAT:** Catalase
- COX -1:** Cycloxygénase -1
- COX-2:** Cycloxygénase-2
- CUPRAC:** Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity
- DPPH:** 2, 2-diphinol-1-picrylhydrazyl
- EAG:** Equivalent Acide Gallique
- EBSA :** Equivalent Bovin Serum Albumin
- EC:** Equivalent de Catéchine
- FRAP:** Ferric Reducing Antioxydant Power
- GSH-Px :** Glutathion perxydase
- GSH-R :** Glutathion réductase
- IFN $\gamma$  :** Interferon gamma
- IL-6:** Interleukine -6

**IL-8** : Interleukine -8

**MAPK** : Mitogen activated protein kinase

**MDA**: Malondialdehyde

**MRJP**: Major Royal Jelly Protéine

**NF $\kappa$ B** : Nuclear Factor-kappa B

**NO**: Oxyde nitriques

**PBS**: Posphate buffered salin

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**ProRJ**: Protease N treated royal jelly

**SA**: Acide sébacique

**SDS-PAGE**: sodium dodécyl sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis

**SOD**: Superoxyde dismutase

**TCA**: Trichloracétic acid

**TGF- $\beta$ 1**: Growth Factor Transformation

**TPTZ**: Tripyridyletriazine

**VEGF**: Vascular Endothelial Growth Factor

# *Introduction*

### Introduction

Les abeilles sont apparues sur Terre depuis des millions d'années et ce bien avant l'Homme. Ces dernières années, les propriétés thérapeutiques des produits de la ruche connaissent une fascination grandissante. Cependant, nombreux sont les patients en quête d'une médecine plus traditionnelle utilisant les produits issus de la nature comme source thérapeutique (**Mathilde, 2017**).

La gelée royale est l'un des produits de la ruche les plus importants aussi bien sur le plan économique que sur le plan biologique vu le rôle majeur qu'elle joue dans la vie des abeilles et la multitude des effets bénéfiques qu'elle procure à l'organisme. Ce produit est une sécrétion des glandes mandibulaires et hypopharyngiennes des abeilles nourricières de l'espèce *Apis mellifera*. Le rôle majeur de cette substance est l'acquisition du phénotype royal et la mise en place d'une organisation sociale au sein de la ruche. Elle constitue aussi la seule alimentation de la reine tout au long de sa vie (**Wright et al., 2018 ; Oldroyd et al., 2018**).

La gelée royale est composée de 60 à 70 % d'eau, de 9 à 18 % de protéines, de 7 à 17 % de carbohydrates, de 3 à 8% de lipides, de sels minéraux et de petites quantités de vitamines, de nucléotides, d'acides aminés et de polyphénols (**Ramadan et Al-Ghamdi, 2012**).

Les travaux scientifiques réalisés sur ce produit naturel ont démontré qu'elle possède plusieurs activités biologiques comme les activités antioxydante, antimicrobienne, cicatrisante, anticancéreuse, anti-inflammatoire... (**Ahmad et al., 2020 ; Hashem et al., 2021**).

L'essentiel de ces propriétés est inhérent à la composition chimique de la gelée royale. Les études menées sur ce point montrent une hétérogénéité selon la race d'abeille productrice, l'origine géographique, le type d'alimentation, l'exposition à des xénobiotiques toxiques et les méthodes analytiques employées (**Melliou et Chinou, 2014**).

La production mondiale de la gelée royale est estimée de quelques milliers de tonnes par an avec la Chine comme premier producteur (60 % de la production). Cela fait que le prix de revient de ce produit de la ruche soit assez élevé et nettement supérieur à ceux d'autres produits apicoles, tels que le miel ou le pollen, ce qui en fait une source importante pour les apiculteurs (Ahmad et al., 2020, Collazo et al., 2021).

Ce travail réalisé a pour but la détermination du taux des antioxydants et des protéines et les activités antioxydante et anti-inflammatoire de quelques échantillons de gelée royale

Il comporte 2 parties :

- ✓ La première partie est consacrée aux généralités sur la gelée royale et ses propriétés biologiques.
- ✓ La deuxième partie est dédiée à la description du matériel et les méthodes utilisées afin d'analyser les échantillons de la gelée royale ainsi qu'aux résultats et discussions.

# *Partie bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Gelée royale : généralités et compositions*

## Chapitre I : gelée royale : généralités et compositions

### 1. Définition

La gelée royale est un produit visqueux de couleur jaune blanchâtre qui se trouve dans des cellules royales (Figure 1). Elle est sécrétée par les glandes hypo-pharyngiennes et mandibulaires des jeunes ouvrières, nommées nourricières, de l'espèce *Apis mellifera* (Nagai et al., 2006). En partie, cet élément dérive des nutriments présents dans le pollen ingéré par les abeilles. Elle est la nourriture unique et exclusive de toutes les larves pendant leurs trois premiers jours de vie, dès le troisième jour pour celles destinées à devenir reines. Ceci indique le rôle majeur de la gelée royale dans l'acquisition et la mise en place d'une organisation sociale au sein de la ruche. Ce produit de la ruche constitue la seule alimentation de la reine pendant toute son existence (Khazei et al., 2017).



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

### 2. Production de la gelée royale

La production de la gelée royale se fait dans une ruche aménagée avec une partie sans accès pour la reine (Ballot Flurin, 2009).

L'apiculteur dépose des larves d'ouvrières âgées de 12 à 36 heures à l'intérieur de la ruche avec des ébauches de cellules royales artificielles. Les ouvrières vont alors donner à ces ébauches de cellules la taille définitive des cellules de reines tandis que les nourricières sécrètent la gelée royale et la distribue aux jeunes larves pendant 2 à 3 jours (Rigal, 2012). Après trois jours, la gelée royale est récoltée et transférée pour être stockée (Boselli et al., 2003).

### 3. Biosynthèse de la gelée royale

La gelée royale est une sécrétion de deux types de glandes céphaliques des abeilles nourricières : glandes hypo-pharyngiennes et mandibulaires.

Les glandes hypo-pharyngiennes sont des paires d'amas alvéolaires de cellules glandulaires, situées entre les yeux et le cerveau des abeilles nourricières (**Deseyn et Billen, 2005**). Elles jouent un rôle dans la production de la partie protéique de la gelée royale nécessaire à l'alimentation des larves (**Crailsheim et Stolberg, 1989**).

Les glandes mandibulaires sont des glandes situées à côté de chaque mandibule et sont de taille très grande chez les abeilles et moyenne chez les ouvrières. Elles jouent plusieurs rôles dont celui de la production des composés lipidiques de la gelée royale. L'acide 10-hydroxy-2-décénoïque est l'acide gras prépondérant de la gelée royale produit par ces glandes (**Barker, 1959**).

### 4. Composition chimique

La composition de la gelée royale est différente suivant qu'elle est destinée aux larves d'abeilles ouvrières ou aux larves de reine et dépend également de nombreux facteurs, y compris l'origine de l'abeille ainsi que les conditions régionales et saisonnières (**Clement, 2009**).

La composition de la gelée royale la plus fréquemment citée est la suivante (Figure 2).

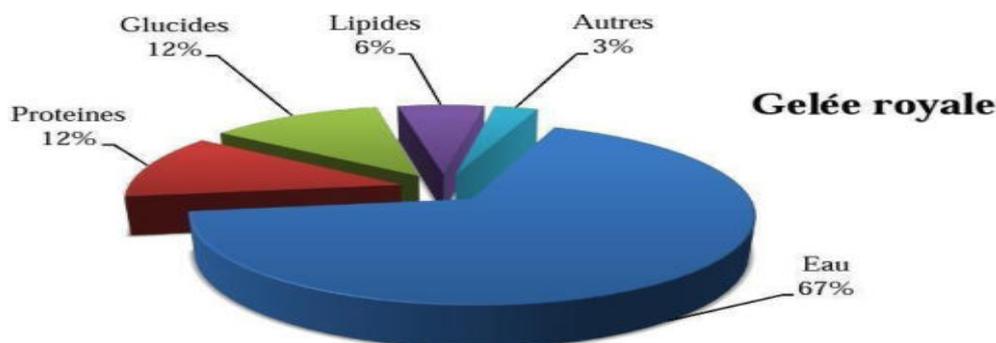


Figure 2 : Composition chimique de la gelée royale (**Clement, 2009**).

#### 4.1. Teneur en eau

La teneur en eau de la gelée royale varie de 60 à 70 % (**Baudel, 2017**). La variation d'humidité peut s'expliquer par l'insolubilité de certains de ses composés (**Sabatini et al., 2009**).

## 4.2. Glucides

Les principaux sucres existant dans la gelée royale sont le fructose et le glucose avec une teneur qui varie entre 4,06 à 6,4 % et 5,07 à 8,2 %, respectivement. Le saccharose est également présent mais en quantité moindre (0,8 à 3,6 %).

La composition en glucides de la gelée royale pourrait être liée non seulement à l'origine territoriale mais aussi à la méthode et au moment de la collecte et à l'âge des larves (**Zhu et al., 2019**).

La gelée royale d'origine française comporte une teneur en sucres comprise entre 7,9 et 17,9 % avec une moyenne de 13,1 % (**Xue, 2017**).

## 4.3. Protéines

La teneur en protéines dans la gelée royale est d'environ 13 % (**Jeanne, 1992**). Elles jouent un rôle important, tant nutritionnel que biologique, dans le développement des larves et la vie de la reine ainsi que des activités bénéfiques pour la santé humaine (**Fujiwara et al., 1990**).

Les protéines majeures de la gelée royale constituent une famille de neuf protéines (MRJP1-9 : Major Royal Jelly Protein). Elles représentent jusqu'à 90 % des protéines de la gelée royale (**Laurent, 2014**). MRJP1 est le plus dominant parmi tous les MRJP et il existe sous deux formes distinctes : oligomère et monomère. L'oligomère MRJP1 est très résistant à la chaleur et il est considéré comme un facteur de prolifération prédominant par rapport à MRJP2 et MRJP3 (**Moriyama et al., 2015**).

Les protéines de la gelée royale jouent des rôles physiologiques et spécifiques dans le développement de la reine des abeilles (**Schmitzova et al., 1998 ; Nozaki et al., 2012**). Elles modulent le développement des larves femelles non seulement par leur haute valeur nutritionnelle mais principalement par l'activité physiologique de leurs 400 à 578 acides aminés qui contribuent au rôle de la gelée royale dans la prolifération cellulaire, la suppression des cytokines et l'activité antimicrobienne (**Xin et al., 2016**).

#### 4.4. Lipides

La gelée royale a une teneur lipidique d'environ 5 % dont 80 à 85 % d'acides gras sous forme libre à chaîne courte contenant 8 à 12 atomes de carbone et sont généralement des acides gras hydroxyles ou dicarboxyliques (Xue, 2017), 4 à 5 % de phénols responsables du brunissement de la gelée à la lumière et 0,30 % de stérols (Jeanne, 1992).

Les acides gras de la gelée royale les plus importants dans l'ordre sont l'acide 10 - hydroxydécanoïque (10- HDA), l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque (10H<sub>2</sub>DA) et l'acide sébacique (SA). Ces acides participeraient à la résistance de la reine dans la ruche, à sa

Longévité (Laurent, 2014) et jouent un rôle dans les propriétés biologiques de la gelée royale (Amigou, 2016).

Le 10-HDA exerce un contrôle épigénétique sur la caste différenciation d'*Apis mellifera* en inhibant les histones désacétylases qui catalysent l'hydrolyse de résidus acétyl-lysine des histones au niveau N-terminal (Buttstedt et al., 2016 ; Polsinelli et Yu, 2018).

En raison du faible pH de la gelée royale, le 10-HDA agit comme un puissant bactéricide. Il protège donc les larves d'abeilles contre les infections bactériennes virulentes qui affectent les ruches telles que celles causées par certaines souches de *Paenibacillus* (Sediva et al., 2018).

#### 4.5. Sels minéraux

Le taux des sels minéraux contenus dans la gelée royale est d'ordre de 0,80 g par 100 g (Jeanne, 1992). Ils sont en quantité moindre que celle contenue dans le pollen. Il en existe dans cet aliment les minéraux : Calcium, Fer, Potassium, Soufre, Magnésium, Phosphate, Sodium, Zinc, Cuivre, Manganèse, Aluminium, Baryum, Strontium, Bismuth, Cadmium, Mercure, Or, Nickel, Titanismes, Vanadium, Cobalt et Molybdène (Laurent, 2014).

#### 4.6. Vitamines

La gelée royale contient plusieurs types de vitamines dont le groupe de vitamines B (Zhou et al., 2007) et surtout la vitamine B5 (acide pantothénique) (Guendouz, 2019).

Il en existe aussi en quantité négligeable la vitamine C et des vitamines liposolubles telles que les vitamines A, D, E et K sous forme de traces (Gharbi, 2011).

La gelée royale est utilisée pour améliorer la santé des cheveux et favorisée leurs croissances, ceci est due à sa teneur élevée en biotine qui favorise la production de la kératine (Zhou et al., 2007).

**Tableau I :** Principales vitamines identifiées dans la gelée royale (Xue et al., 2017).

Types de vitamines	Quantités (mg/100g)
Vitamine A	01,10
Vitamine D	00,20
Vitamine E	05,00
Vitamine B1	02,06
Vitamine B2	02,77
Vitamine B6	11,90
Vitamine B12	00,15
Vitamine B5 (acide penthoténique)	52,80
Niacine	42,42
Vitamine C (acide ascorbique)	02,00
Vitamine B9 (acide folique)	00,40

#### 4.7. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés à partir des métabolites primaires. Ils sont parmi les composés bioactifs de la gelée royale, ils proviennent de plante où ils sont largement distribués (Liu et al., 2008).

Les composés phénoliques sont présents dans la gelée royale dont la concentration dépend de divers facteurs, notamment les espèces végétales utilisées par les abeilles, la santé de la plante, la saison et les facteurs environnementaux (Ramadan et al., 2012).

L'activité antioxydante de ces composants contribue aux propriétés anti-apoptotiques et anti-inflammatoires de la gelée royale (Kocot et al., 2018).

La gelée royale récoltée sur les plus jeunes larves (âgées d'un jour) dans les 24 h contient un taux en composés phénoliques plus élevé et présente un effet de piégeage des radicaux libres plus puissant par rapport à la gelée royale obtenue sur des larves plus âgées ou plus tard que 24h (Liu et al., 2008).

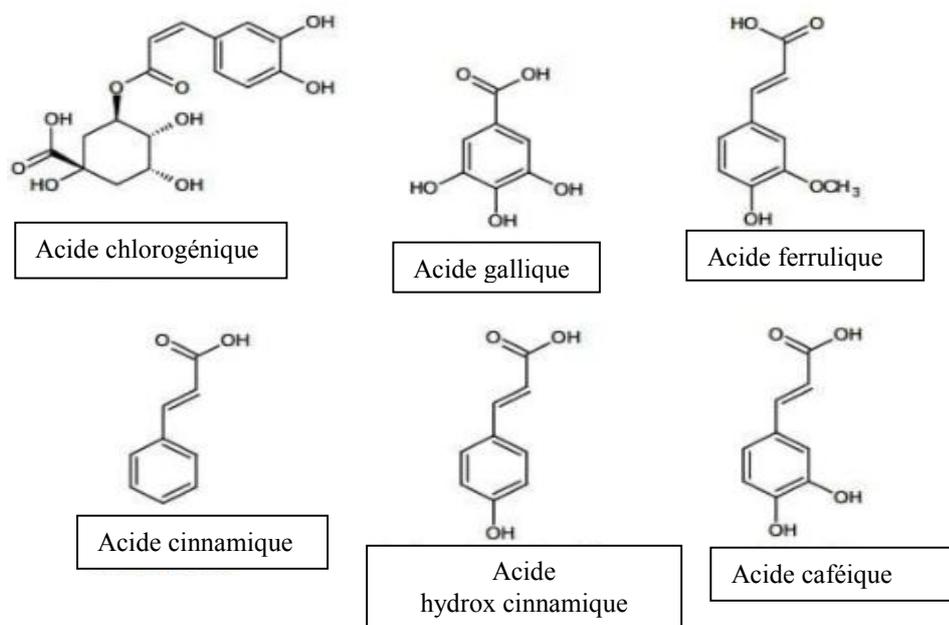


Figure 3 : Structure de certains composés phénoliques (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

#### 4.7.1. Flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane. Ils sont caractérisés par leur structure commune en C6-C3-C6 (Portet et al., 2007).

Les principaux flavonoïdes présents dans la gelée royale sont les flavonoles (la quercétine, le kaempferol, la galangine et la fisétine), les flavanones (la pinocembrine, la naringine et l'héspéridine), les flavones (l'apigénine, l'acétine, la chrysin et la lutéoline) et les isoflavonoïdes (le coumestrol, la formononétine et la génistéine). L'activité antioxydante de ces composants contribue aux propriétés anti-apoptotiques et anti-inflammatoires de la gelée royale (Kocot et al., 2018 ; Ramadan et al., 2012).

#### 4.8. Autres composés

La gelée royale contient également d'autres composés qui sont :

- Des hormones sexuelles : œstradiol, testostérone et progestérone (**Domerego et al., 2009**).
- Des enzymes : glucose-oxydase, glucose-déshydrogénase et le précurseur de l'alpha glucosidase (**Han et al., 2011**).
- De la gélatine (précurseur de collagène) et des acides nucléiques (ADN et ARN) (**Gharbi, 2011**).
- Des facteurs antibactériennes (**Domerego et al., 2009**).
- De l'acétylcholine (jusqu'à 1 mg/g) (**Laurent, 2014**).

#### 5. Conservation de la gelée royale

La gelée royale est un aliment dont la conservation est difficile. Elle doit être conservée dans des pots en verre hermétiquement fermé avec un bouchon en plastique dès le prélèvement et entreposé au réfrigérateur à des températures entre 2 à 5 °C (**Biri, 2011**).

La gelée royale est sensible à l'air (perd facilement son eau et s'oxyde en brunissant), à la chaleur (apparition de certaines moisissures et provoque diverses altérations) et à la lumière (**Millet, 2006**).

*Chapitre II*  
*Propriétés biologiques de la*  
*gelée royale*

## Chapitre II : Propriétés biologiques de la gelée royale

La gelée royale possède de nombreuses propriétés biologiques et thérapeutiques : antioxydantes, antiinflammatoires, antibactériennes, eupeptiques, analgésiques, hypocholestérolémiantes, érythropoïétiques... Elle est connue pour ses diverses applications sur le physique et la psychologie (tranquilisant) de l'organisme humain (**Blanc, 2010**).

Ses propriétés et sa composition en font un complément utile au traitement de nombreuses maladies, elle est donc très recommandée. Sa richesse en vitamine B5 lui confère la propriété d'être utilisée contre les problèmes de phanères (peau et ongles fragiles, chute de cheveux anormale). Elle peut aussi être recommandée comme stimulant sexuel et pour les traitements des troubles de la ménopause (**Guendouz, 2019**).

### 1. Propriété antioxydante

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la balance de la production des radicaux libres et le système de défense antioxydant de l'organisme (**Cuvillier, 2015**).

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules. En d'autres termes, c'est "toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs causés à une molécule cible" (**Halliwell, 1995**).

Divers essais chimiques couplés à des technologies de détection hautement sensibles et automatisées sont utilisés pour évaluer l'activité des antioxydants par des mécanismes particuliers, par exemple, l'activité de piégeage contre certains types de radicaux libres, le pouvoir réducteur et la chélation des métaux, entre autres (**Shahidi et Zhong, 2015**).

La gelée royale est un antioxydant puissant par sa composition en métabolites secondaires (**Balkanska et al., 2017**).

Les acides aminés libres, y compris les acides aminés essentiels, les petits peptides, tels que les dipeptides (Lys-Tyr, Arg-Tyr et Tyr-Tyr) obtenus à partir de protéines de gelée royale, hydrolysées par protéase, possèdent des groupes hydroxyles phénoliques qui piègent les radicaux libres par transfert d'atome d'hydrogène de leur groupe hydroxyle (**Martinello et Mutinelli, 2021 ; Guo et al., 2009**).

Les travaux *in vivo* ont révélé que la gelée royale a la capacité d'augmenter les systèmes de défense antioxydant : taux de la superoxyde dismutase (SOD), de la glutathion peroxydase (GSH-Px), de la glutathion réductase (GSH-R), de la catalase (CAT) et du glutathion et d'autrepart à diminuer certains marqueurs de stress oxydatif, notamment le malondialdéhyde (MDA) et l'oxyde nitreux (NO) (**Pourmoradian et al., 2014**).

**Park et al. (2020)** ont étudié la capacité antioxydante des MRJPs en utilisant les MRJPs 1-7 recombinant de l'espèce *A. mellifera* (AmMRJPs 1-7) produites dans des cellules d'insecte infectées par un baculovirus. Les tests d'activité antioxydante des AmMRJP 1 à 7 recombinantes contre l'effet du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sur des cellules en culture (lignée cellulaire de fibroblastes murines NIH 3 T3) ont révélé que les AmMRJP réduisent l'activité de la caspase-3 et l'apoptose cellulaire induite par le stress oxydatif et entraînent une augmentation de la viabilité cellulaire. De plus, les AmMRJP 1 à 7 présentent une activité de piégeage des radicaux 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle et protègent contre les lésions oxydatives de l'ADN. Ces résultats indiquent que les AmMRJP jouent un rôle d'antioxydant.

La gelée royale également retarde le mécanisme de vieillissement. En effet, elle pourrait améliorer les taux de survie de 50 % des souris C3H/HeJ qui souffrent fréquemment de carcinogenèse du foie ou d'autres organes avec l'âge, en diminuant l'ADN rénal et les taux sériques de 8- hydroxy-2-désoxyguanosine (marqueur d'oxydation qui s'accumule dans les tissus avec le vieillissement) par des molécules non encore définies (**Inoue et al., 2003**).

## 2. Propriétés anti-inflammatoires

L'inflammation est un processus physiologique qui détermine la réaction normale du corps contre une agression pathogène ayant comme origine des éléments physiques, solides exogènes ou endogènes. De plus, l'inflammation est une réaction généralement bénéfique pour l'organisme car elle lui permet de réparer les tissus lésés (**Schwartz, 2010**).

Les manifestations de la réaction inflammatoire persistent à des intensités et des durées variables. Il y a alors de deux types : réaction aiguë définie comme une réponse normale de l'organisme permettant généralement une protection et une réparation ; réaction chronique qui présente une réponse associée à un processus nocif et dégénératif (**Schwartz, 2010**).

La réponse inflammatoire se déroule en trois phases : la phase d'initiation qui mis en jeu des effecteurs primaires (radicaux libres) libérés par les phagocytes activés suite à un signal de danger, la phase d'amplification durant laquelle il y a l'activation des effecteurs secondaires (cytokines) et enfin la phase de résolution et de réparation des tissus agressés (Zerbato, 2010).

Ces phases font intervenir plusieurs substances chimiques telles que les enzymes dont les principales sont les cyclooxygénases COX-1 et COX-2 et la lipooxygénase (Viunda-Martos et al., 2008).

Plusieurs études ont démontré l'effet antiinflammatoire de la gelée royale. Les premières investigations révélant l'activité antiinflammatoire de la gelée royale ont été rapportées par Kohno et al. (2004), suite à l'inhibition de la production des cytokines IL-6, IL-1 et TNF- $\alpha$  par les macrophages péritonéaux murins stimulés par les lipopolysaccharides et l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ) dans les colites murines induites par l'acide 2, 4, 6, trinitrobenzène-1-sulfonique (Karaca et al., 2015).

D'autre part, à une concentration de 100 mg/Kg la gelée royale provoque une diminution de l'expression de la cyclo-oxygénase 2 (COX-2) et du facteur NF- $\kappa$ B, deux médiateurs de la réaction inflammatoire (Manzo et al., 2015).

La lignée cellulaire murine BV-2 stimulée par lipopolysaccharide a été traitée par gelée royale qui a démontré un effet anti-inflammatoire. Cet effet protecteur pourrait être causé par l'inhibition de la transcription des cytokines TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-6 qui sont pro-inflammatoires (You et al., 2018).

Certains constituants de gelée royale possèdent une activité antiinflammatoire : 10 HAD (Chen et al., 2018 ; Yang et al., 2018) et l'adénosine N1-oxide (Kohno et al., 2015; Ohashi et al., 2019).

### 3. Propriétés antimicrobiennes

La gelée royale possède une activité inhibitrice sur de nombreux microorganismes soit bactéries, champignons ou virus, *In vivo* ou *In vitro* citant : *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus licheniformis*, *Erwinia carotovora*, *Micrococcus varians* et *Bacillus subtilis* (Mateescu, 2016).

En effet, des études ont montré que la gelée royale a des actions bactériostatiques et bactéricides sur certaines bactéries Gram (+) et Gram (-). Ces actions reviennent à sa richesse en flavonoïdes, à l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque (10-H<sub>2</sub>DA) et également en protéines et en peptides (**Genc et Aslan, 1999 ; Bărnuțiu et al., 2011**).

La royalisine aussi est un type de peptide qui joue un double rôle : antifongique en inhibant la croissance du champignon *Botrytis cinerea* et antibactérien en empêchant la multiplication des bactéries *Bacillus subtilis* et *Sarcina lutea* (**Mateescu, 2016**).

#### 4. Propriétés anticancéreuses

La présence d'un acide gras monoinsaturé (10H<sub>2</sub>DA) dans les sécrétions mandibulaires de la reine confère à la gelée royale une activité anti-tumorale potentielle. Par conséquent, cet acide gras inhibe la production de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) qui joue un rôle dans la croissance des tumeurs donc la néovascularisation (**Rabouane, 2014**).

#### 5. Propriétés cicatrisantes

La gelée royale joue un rôle important dans le phénomène de réparation tissulaire grâce à des acides aminés proline et l'hydroxyproline qui sont des précurseurs de l'élastine et du collagène. De plus, les MRJP interviennent dans l'induction de la prolifération des kératinocytes (**Marie, 2012**).

Le 10 H<sub>2</sub>DA intervient dans le processus de cicatrisation en favorisant la production de facteur de croissance TGF-β1 (Facteur de croissance transformant beta) par les fibroblastes ou bien il stimule la production de collagène et son dépôt dans les dermes (**Koya-Miyata et al., 2004**).

La gelée royale contient aussi des oligoéléments et des vitamines qui interviennent dans le processus de kératinisation par la régulation de la division des cellules basales de l'épiderme (**Marie, 2012**).

#### 6. Propriétés immunostimulantes

La γ-globuline et le 10H<sub>2</sub>DA présents dans la gelée royale ont une action sur les organes hématopoïétiques donc elles stimulent la prolifération cellulaire, la production d'anticorps et des globules blancs et rouges. Aussi, elles ont une activité eupeptique et régulatrice des

troubles digestifs fonctionnels bénéfiques à l'immunité par l'amélioration du rendement physique et intellectuel conférant un état de bien-être général (Cousin, 2014).

## 7. Propriétés sur la fertilité

Ghanbari et al. (2015) ont montré que les personnes atteintes du diabète et traitées par la gelée royale présentent quelques symptômes positifs par rapport aux diabétiques sans traitement tels que : l'augmentation de poids des testicules, le nombre, la motilité et la viabilité des spermatozoïdes ainsi que les taux sériques de testostérone.

De nombreux compléments alimentaires contenus dans la gelée royale sont indiqués dans les troubles de la ménopause et cela par sa composition en hormones dont l'œstradiol. Cependant, la gelée royale n'est pas recommandée chez les patients ayant un antécédent de cancer hormono-dépendant (Mathilde, 2017).

## 8. Propriétés antihypertensives

La gelée royale est impliquée dans le traitement de l'hypertension artérielle par sa composition en enzyme protéase ProRJ (Protease N treated royal jelly) et ses peptides (Ile-Tyr, Val-Tyr, Ile-Val-Tyr) qui inhibent l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ACE) qui est un puissant vasoconstricteur (Tokonaga, 2004).

## 9. Propriétés revitalisantes

La gelée royale stimule l'appétit par l'action synénergique de ses constituants notamment le 10H<sub>2</sub>DA<sub>25</sub> (10-hydroxy-trans-2-décénoïque 25), l'acétylcholine et les vitamines du groupe B parmi lesquelles l'acide pantothénique (B5). Ce dernier joue un rôle dans l'équilibre neuropsychique en luttant contre un état dépressif ou angoissé aussi l'activation du métabolisme qui améliore l'oxygénation des tissus dont les tissus nerveux (Cousin, 2014).

# *Partie expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériel et méthodes*

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### 1. Échantillons de gelée royale

Huit échantillons de gelée royale de 2019 (Tableau II) sont conservés à une température - 18°C. Ils sont analysés pour leurs teneurs en protéines et en antioxydants ainsi que leurs activités antioxydantes et antiinflammatoires.

**Tableau II :** Échantillons de gelée royale analysés.

<b>Gelées royales</b>	<b>Région</b>
<b>G1</b>	<b>Blida</b>
<b>G2</b>	<b>Tipaza</b>
<b>G3</b>	<b>Khenchella</b>
<b>G4</b>	<b>Boumerdas</b>
<b>G5</b>	<b>Mila</b>
<b>G6</b>	<b>France</b>
<b>G7</b>	<b>Skikda</b>
<b>G8</b>	<b>Jijel</b>

### 2. Extraction

Une quantité de gelée royale de 1 g est dissoute dans 6 ml de chacun des solvants : eau, éthanol et méthanol. Le mélange est agité 10 et 30 minutes au vortex et aux ultrasons, respectivement. Après, il est centrifugé à 5000 rpm durant 10 minutes (**Liu et al., 2008**).

À partir de dosage des composés phénoliques totaux, il s'est avéré que l'éthanol donne le meilleur taux en ces composés. Par conséquent, les analyses sont effectuées sur des extraits éthanoliques.

### 3. Dosage des antioxydants et des protéines

#### 3.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents types de gelée royale est effectué suivant la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Naithani et al., 2006**). Ce réactif est formé d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

Un volume de 100  $\mu$ l d'extrait de gelée royale est mélangé avec 100  $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu (50 %, v/v) et 2 ml de la solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) (2 %, p/v).

Après 30 min à l'obscurité, l'absorbance est lue à 750 nm. L'acide gallique est utilisé comme standard et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 gramme de gelée royale (mg EAG/100 g) (Figure 1, Annexe 1).

#### 3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes contenue dans les échantillons de gelée royale est déterminée selon la méthode décrite par **Mokaya et al. (2020)**.

Un volume de 0,5 ml d'extrait de la gelée royale est mélangé avec 2 ml d'eau distillée et avec 0,150 ml de la solution de nitrite de sodium ( $NaNO_2$ , 5 %). Après 5 min, 0,150 ml de la solution de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ , 10 %) sont additionnés au mélange précédent. Six minutes plus tard, 1 ml de la solution d'hydroxyde de sodium ( $NaOH$ , 1M) et de 1,70 ml d'eau distillée y sont ajoutées. L'absorbance du mélange est lue à 510 nm.

La teneur en flavonoïdes totaux des gélées royales étudiées sont exprimées en mg équivalent de quercétine par 100 g de gelée royale (mg EQ/100 g) (Figure 2, Annexe 1).

#### 3.3. Dosage des protéines

La méthode de dosage des protéines est réalisée selon **Azeredo et al. (2003)**. Une fois les protéines sont liées au colorant bleu de commassie G250, il y aura l'apparition d'une couleur bleue qui dure avec le temps.

Un volume de 100 µl de la solution de gelée royale est mélangé avec 5 ml de la solution de Bradford. Après incubation à 2 min, l'absorbance du mélange est lue à 595 nm.

La BSA (bovine serum albumin) est utilisée comme un standard et les résultats sont exprimés en mg E BSA/100 g (Figure 3, Annexe 1).

## 4. Etude de l'activité anti-oxydante

### 4.1. Test DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH est un radical libre qui se fixe à un proton libéré dans un milieu réactionnel par une molécule antioxydante. Cette réaction engendre une diminution de l'intensité de la couleur (Meda et al., 2005).

Le test de réduction de DPPH par les antioxydants présents dans la gelée royale est réalisé suivant le protocole décrit par Meda et al. (2005). Un volume de 1ml de la solution éthanolique de DPPH ( $6,10^{-2}$  mM) est ajouté à 500 µl de la solution éthanolique de la gelée royale. L'absorbance est lue à 517 nm après 15 min d'incubation. Le pourcentage de réduction du radical DPPH est donné selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Ab_{sc} - Ab_{se}) / Ab_{sc}] \times 100$$

**Ab<sub>sc</sub>** : Absorbance du contrôle (1 ml de solution DPPH + 0,5 ml d'éthanol).

**Ab<sub>se</sub>** : Absorbance de l'échantillon.

### 4.2. Test ABTS ([2, 2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diamonium salt])

Le test ABTS est une méthode colorimétrique basée sur l'inhibition du radical cationique ABTS<sup>•+</sup>. La solution d'ABTS ne contient pas de radicaux libres au départ. Après mélange avec du persulfate de potassium, des radicaux libres ABTS<sup>•+</sup> se forment par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS formant ainsi une solution de couleur bleu-vert (Re et al., 1999). Le contact entre le radical ABTS<sup>•+</sup> et un donneur d'électron conduit à la formation d'un radical neutre ABTS dont le maximum d'absorbance est à 734 nm (Isla et al., 2011).

L'évaluation de la capacité antioxydante avec l'ABTS est effectuée suivant la méthode rapportée par **Re et al. (1999)**. Un volume de 0,1 ml de l'extrait éthanolique de gelée royale est additionné à 1 ml de la solution ABTS (7 mM). Après 7 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 734 nm. Le pourcentage de réduction du radical ABTS est donné selon la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Ab_{sc} - Ab_{se}) / Ab_{st}] \times 100$$

**Ab<sub>sc</sub>**: Absorbance du contrôle.

**Ab<sub>se</sub>**: Absorbance de l'échantillon.

#### 4.3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif de l'activité antioxydante. Il est basé sur la réduction de fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). L'intensité de la couleur verte obtenue est proportionnelle au pouvoir réducteur (**Canadanovic -Brunet et al., 2014**).

L'évaluation du pouvoir réducteur de la gelée royale est effectuée selon la méthode décrite par **Li et Lin (2010)**. Un volume de 500  $\mu$ l de la solution de gelée royale est mélangé avec 500  $\mu$ l de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 500  $\mu$ l de ferricyanure de potassium (1 %). Après 20 min incubation au bain marie à 50 °C, 500  $\mu$ l de trichloroacétate (TCA, 10 %) sont ajoutés au mélange. Un volume de 500  $\mu$ l est prélevé de ce mélange et dilué dans 800  $\mu$ l d'eau distillée puis 100  $\mu$ l de chlorure ferrique (0,1 %) y sont ajoutés. Après 10 min, l'absorbance est lue à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg EAG/ 100 g (Figure 4, Annexe 1).

#### 4.4. Test de CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)

Le test CUPRAC est un test stable, rapide et facile qui permet d'estimer la teneur des antioxydants contenant dans un échantillon et son activité réductrice. Il est basé sur le suivi du changement de l'absorbance du complexe néocuproïne (Nc)-ions cuivrique [ $Nc_2-Cu^{2+}$ ].

Ce dernier est formé par la réduction de cuivre en présence de néocuproïne. Ce complexe de cuivre réduit donne une absorption maximale à 450 nm (**Apak et al., 2004**).

Un volume de 150 µl de la solution de gelée royale est mélangé avec un volume de 150 µl d'eau distillée, un volume de 300 µL de CuCl<sub>2</sub> (0,01 M), 300 µL de néocuproïne (7,5 mM) et 300 µL de tampon d'acétate d'ammonium (1 M, pH 7). L'absorbance du mélange est lue à 450 nm après 30 minutes d'incubation. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Trolox par 100 g de gelée royale (mg ET/ 100 g) en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec le Trolox (Öztürk et al., 2011) (Figure 5, Annexe 1).

#### 4.5. Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le test de FRAP est l'une des analyses les plus répandues pour déterminer le pouvoir antioxydant. Le principe de ce test est basé sur la réduction du complexe ferrique 2, 4,6-tripyridyl-1,3,5-striazine (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) en sa forme ferreux coloré (Fe<sup>2+</sup>-TPTZ) en présence d'antioxydants. Le complexe Fe<sup>2+</sup>-TPTZ formé est de couleur bleue-violet avec un maximum d'absorbance à 593 nm (Alvarez Suarez et al., 2010).

Un volume de 0,5 ml de la solution de gelée royale est additionné de 0,75 ml de la solution de FRAP (300 mM de la solution acétate de sodium ; 40 mM TPTZ ; 20 mM de la solution de chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O)). L'absorbance du mélange réactionnel est lue à 593nm après incubation pendant 5 min à 37 °C. Les résultats sont exprimés en mg EAG/ 100 g (Alvarez Suarez et al., 2010) (Figure 6, Annexe 1).

#### 4.6. Test de Ferrozine

Le test de Ferrozine est une méthode colorimétrique basée sur la formation de complexe Fe<sup>2+</sup>-ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalentselon la méthode de **Le et al. (2007)**.

Les solutions d'échantillons (10 µl) sont mélangées avec 100 µl d'une solution de FeCl<sub>2</sub> (0,6 mM dans l'eau distillée) et 900 µl de méthanol. Après 5 min, 100 µl de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) sont additionnés au milieu réactionnel, le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante. Après formation de complexe violet avec le Fe (II)-Ferrozine, l'absorbance est lue à 562 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ D'inhibition} = [(Abs_c - Abs_e) / Abs_c] \times 100$$

**Absc** : Absorbance du contrôle.

**Abse** : Absorbance de l'échantillon.

## 5. Activité anti- inflammatoire

Le test d'hémolyse des érythrocytes a longtemps été utilisé en raison de la forte analogie existante entre la membrane érythrocytaire et celle du lysosome. Cet organite joue un rôle important dans l'inflammation. La déstabilisation de sa membrane peut provoquer ou amplifier une réaction inflammatoire (**Vijaya et al., 2013**).

Le principe du test de l'activité antiinflammatoire consiste à l'induction d'une hémolyse suite à un choc hypotonique. Si la gelée royale possède cette propriété, elle va diminuer l'intensité de cette hémolyse (**Rani et al., 2014**).

Le test consiste à préparer une solution érythrocytaire comme suit : Un volume du culot du sang récupéré dans les tubes héparinés, après centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min, Il est soumis à trois lavages avec deux volumes du tampon phosphate (PBS) iso-salin (10 mM; 154 mM NaCl). Après lavage, une solution érythrocytaire à 10 % est préparée (1 ml du culot + 9 ml du PBS iso-salin) (**Rani et al., 2014**).

Pour chaque échantillon, un volume de 0,1 g de gelée royale est mélangé avec 6ml PBS hypotonique (10 mM ; 50 mM NaCl). Une hémolyse est induite par un choc hypotonique suivant la méthode de **Shinde et al. (1999)** et **Oyepado et al. (1995)**.

Chaque test est réalisé en trois répliques. Plusieurs tubes sont donc préparés :

- Contrôle négatif : 0,5 ml de la suspension + 5 ml de PBS iso-tonique (aucune hémolyse n'est induite).

- Contrôle positif : 0,5 ml de la suspension + 5 ml de PBS hypotonique (induction d'hémolyse).

- Standard : 0,5 ml de la suspension + 5 ml d'acide salicylique (0,5 mg/ml) (molécule antiinflammatoire) dissout dans le PBS hypotonique (diminution de l'intensité de l'hémolyse).

- Tube test : 0,5 ml de la suspension + 5 ml de l'extrait de la gelée royale déjà préparée.

Après préparation des tubes, ces derniers sont incubés pendant 10 min à température ambiante puis centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. L'absorbance du surnageant est ensuite déterminée à 540 nm pour doser l'hémoglobine libérée des globules rouges lésés.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité antiinflammatoire est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ D'inhibition} = [(DO_c - DO_e) / DO_c] \times 100$$

**DO<sub>c</sub>** : Densité optique du contrôle positif.

**DO<sub>e</sub>** : Densité optique de l'échantillon testé.

## 6. Analyses statistiques

Les paramètres de la statistique descriptive (moyenne et écarts types) sont calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007.

Les données obtenues sont la moyenne de 3 essais. Le logiciel STATISTICA 5.5 est utilisé pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (AVUC) entre les différents échantillons de gelée royale. Les résultats sont classés par ordre décroissant a> b>c>d>e> f> g> h. Les valeurs obtenues, pourtant la même lettre, ne présentent aucune différence du point de vue statistique et les barres verticales représentent les écarts types.

Les corrélations entre les paramètres étudiés sont calculées avec statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation.

*Chapitre II*  
*Résultats et discussion*

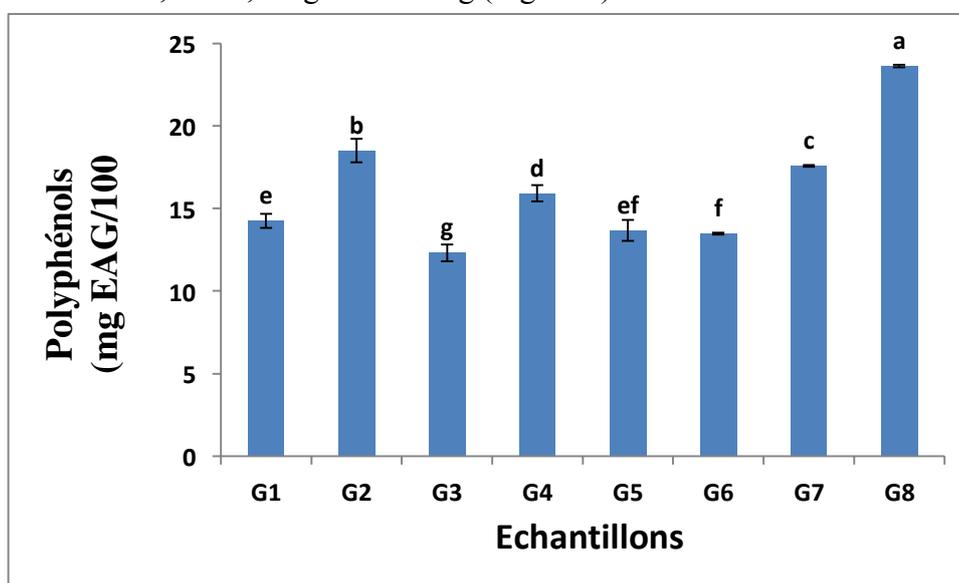
## Chapitre II : Résultats et discussion

### 1. Teneurs en antioxydants

#### 1.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des végétaux, doués de propriétés sensorielles et d'une activité antioxydante permettant la protection de leur hôte (végétaux) dues aux agressions extérieures. La gelée royale contient des substances bioactives qui sont très bénéfiques pour la santé humaine (Martinello et Mutinelli, 2021).

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux des extraits éthanoliques de la gelée royale varient de 12,3 à 23,6 mg EAG/100 g (Figure 4).



**Figure 4** : Teneurs en phénols totaux des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives.

La gelée royale de khenchella (G3) présente la valeur la plus faible en phénols totaux. Cependant, les échantillons G1, G5 et G6 n'ont pas une différence significative dans leur concentration en ces composés phytochimiques.

L'échantillon de Jijel (G8) présente la teneur la plus élevée en phénols totaux qui présente une différence significative par rapport à celles des autres échantillons.

La concentration moyenne en polyphénols totaux des extraits éthanoliques des différents échantillons de gelée royale est de 16,60 mg EAG/100 g. Ce résultat est inférieur à ceux rapportés par Pavel et al. (2014) et Balkanska (2018) pour des gélées royales de Roumanie (2349 mg EAG/100 g) et de Bulgarie (1807 mg EAG/100 g), respectivement.

Par contre, il est supérieur à ceux obtenus par **Kolayli et al. (2016)**, **Özkök et Silici (2017)** et **Mokaya et al. (2020)** dans leur étude sur des gelées royales de Turquie (9,1 à 30,1 mg EAG/100g ; 59,16 mg EAG/100 g) et de Kenya (46 mg EAG/100 g), respectivement.

Les travaux apportés par **Nabas et al. (2014)** justifie que le faible taux des polyphénols totaux contenus dans la gelée royale est dû à leurs dégradations suite à des réactions chimiques, enzymatiques et bactériennes, déclenchées par la grande quantité d'eau contenue dans la geléeroyale.

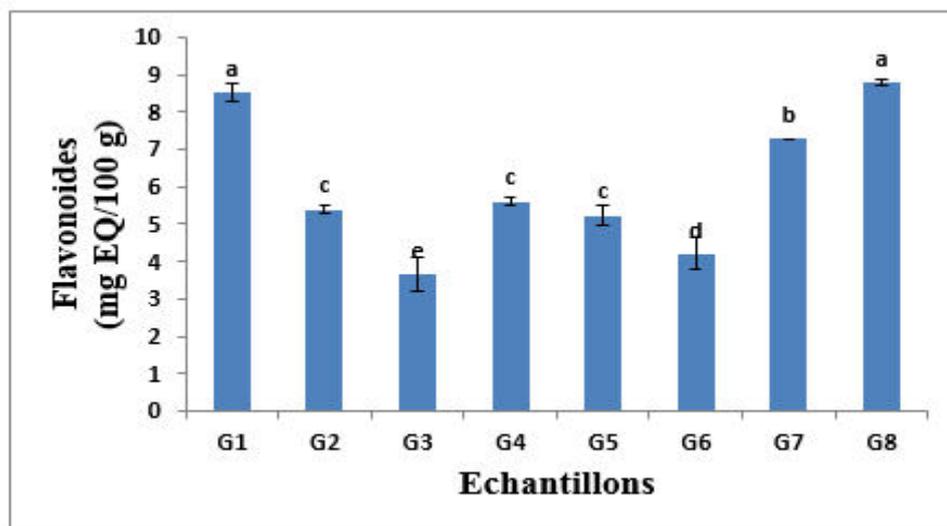
**Zaid et al. (2014)** ont indiqué que la quantité des composés phénoliques contenue dans la gelée royale est inévitablement faible car ils sont sécrétés par les jeunes abeilles ouvrières mélangeant de petites quantités de miel, de propolis et de pollen.

Les composés phénoliques de gelée royale pourraient provenir de plantes où ils sont largement distribués dans la nature sous forme libre ou sous forme de glycoside, ils sont des dérivés de l'acide coumarine et flavonoïdes dont la concentration dépend sur divers facteurs, tels que le climat, les espèces végétales utilisées par les abeilles, la santé de la plante, les facteurs environnementaux, etc (**Nabas et al., 2014 ; Zaid et al., 2014**).

## 1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe de polyphénols très abondante dans le règne végétal. Ils ont un pouvoir antioxydant et ils sont donc très bénéfiques pour la santé humaine (**Ramdan et al., 2012**). Peu d'études sont réalisées sur le taux global en flavonoïdes de la gelée royale.

La figure 5 illustre les concentrations en flavonoïdes enregistrées dans les extraits éthanoliques de gelée royale.



**Figure 5 :** Teneurs en flavonoïdes des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives.

Les teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques de la gelée royale analysés indique un intervalle allant de 3,67 (G3) à 8,79 (G8) mg EQ/100 g. Les échantillons G2, G4 et G5 ne présentent pas de différences significatives dans leur concentration en ces substances.

La teneur moyenne en ces composés est de 6,09 mg EQ/100 g, cette valeur est inférieure à celles obtenues par **Mokaya et al. (2020)** sur des gelées royales de Kenya (9 mg EQ/100 g) et **El Guendouz et al. (2020)** sur des gelées royales d'origine marocaine, espagnole et portugaise (de 10 à 50 mg EQ/100 g).

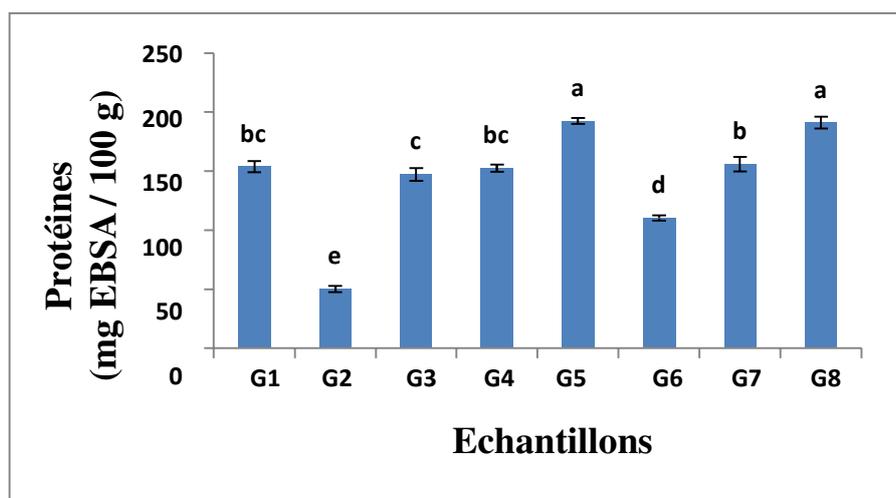
**López-Gutiérrez et al. (2014)** ont déterminé la composition et la teneur des flavonoides de neuf échantillons de gelée royale commercialisées en Espagne, par la technique de chromatographie liquide à haute pression couplée à la spectrométrie de masse. La concentration en flavonoides varie de 0 à 0,6527 mg/100 g. Ces substances végétales sont représentées par quatre groupe : les flavones (Apigénine, Apigénine-6-C-glucoside, Chrysin), les flavonoles (Kaempférol-3-Oglucoside, quercetin-3-O- rhamnoside, lutéoline-4-O-glucoside), les flavanones (Hespérétine, Isosakuranetine/sakuranetine et Naringénine) et les isoflavonoides (Coumestrol, Formononetin et Génistéine).

La concentration des flavonoïdes dans la gelée royale dépend de divers facteurs, notamment les espèces végétales utilisées par les abeilles, la santé de la plante, la saison et des facteurs environnementaux (**Kucuk et al., 2007**).

### 1.3. Protéines

La gelée royale est la nourriture des larves qui deviendront des futures reines. Elle contient naturellement des éléments de croissance principalement les protéines (**Fujiwara et al., 1990**).

La figure 6 montre les résultats des teneurs en protéines enregistrées sur les extraits éthanoliques de gelée royale analysées qui varient de 49,85 (G2) à 192,41 mg EBSA/100 g (G5) avec une moyenne de 121,13 mg EBSA/100 g.



**Figure 6** : Teneurs en protéines des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives.

Le taux en protéines des échantillons G5 et G8, de l'est du pays, ne présente pas de différence significative, 192,42 et 191,03 mg EBSA/100 g, respectivement. Cette constatation est similaire pour les échantillons G1 (153,66 mg EBSA/100 g), G3 (147,09 mg EBSA/100 g) et G4 (152,28 mg EBSA/100 g), récoltés au centre et à l'est du pays.

La gelée royale est riche en protéines dont le taux varie entre 9 et 18% (**Ramanathan et al., 2018**). Cependant, ces concentrations très faibles obtenues s'expliquent par le fait que les protéines de la gelée royale, notamment les MRJPs, sont peu solubles dans l'éthanol. Ceci a été montré par **Yuan et al. (2021)** où les protéines solubles dans l'éthanol et analysées par électrophorèse SDS-PAGE (sodium dodécyl sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) comprennent deux protéines seulement, la MRJP1 et la glucosylcéramidase. Cependant, les protéines hydrosolubles ont une composition très complexe avec une grande intensité de signal reflétant une concentration plus importante.

Comme pour les taux en phénols et flavonoïdes, il y a une différence significative dans les teneurs en protéines dans les échantillons de gelée royale. Selon **El-Guendouz et al. (2020)**, les échantillons du Maroc et d'Espagne ont présenté la plus grande quantité de protéines totales (29700 mg/100 g et 25600 mg/100 g), respectivement.

**Pavel et al. (2014)** ont rapporté que des échantillons frais et commerciaux de gelée royale de Roumanie ont présenté des valeurs de protéines allant de 7100 mg/100 g à 17700 mg/100 g. **El-Guendouz et al. (2020)** ont testé aussi des échantillons de différentes régions de Bulgarie et des résultats similaires à ceux rapportés par **Pavel et al. (2014)** ont été trouvés. **Balkanska et al. (2018)** ont rapporté des valeurs moyennes de protéines de 16100 mg/100 g et 13200 mg/100 g.

La variation en protéines des extraits de gelée royale peut s'expliquer par l'origine botanique (pollen et nectar sont des précurseurs de la gelée royale), les conditions géographiques, les conditions environnementales des ruches et l'année de la récolte qui affectent la teneur des acides aminés de la gelée royale. En effet, celle récoltée sur les plus jeunes larves (âgées d'un jour) contient des protéines plus élevées (**Balkanska et al., 2013 ; Liu et al., 2008**).

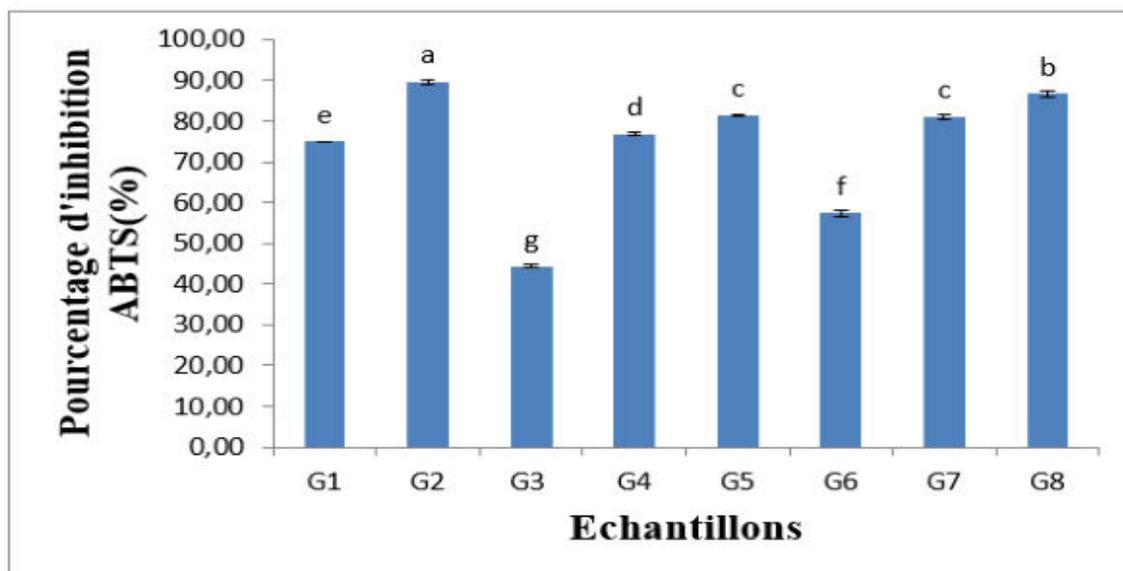
## 2. Étude de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes d'activités antioxydantes sont utilisées afin d'étudier cette propriété biologique pour les échantillons de gelée royale. En effet, l'emploi d'un simple et unique test unidimensionnel de la capacité antioxydante n'est pas possible et ne refléterait pas précisément la complexité des interactions des antioxydants *in vivo* d'où la nécessité de combiner les essais pour vérifier le potentiel antioxydant d'un aliment. De plus, toute allégation selon laquelle un aliment a une action antioxydante potentielle doit être étayée par des tests *in vitro* avant de faire l'objet d'essais *In vivo* (**MacDonald- Wicks et al., 2006**).

### 2.1. Activité antiradicalaire par DPPH

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (**Zhou et al., 2012**).

Les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits éthanoliques de la gelée royale sont représentés dans la figure 7.



**Figure 7 :** Activité antiradicalaire avec le radical DPPH des échantillons de gelée royale  
Les barres verticales représentent les écarts types.  
Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives.

Les échantillons de la gelée royale donnent des pourcentages d'inhibition de 50,57 (G5) à 78,26 (G8) % avec une moyenne de 63,82 %. L'échantillon de gelée royale de Jijel (G8) révèle une forte activité de piégeage de DPPH qui ne présente pas de différence significative avec celle du Skikda (G7) (76,62 %). Par conséquent, ils ont une meilleure activité antioxydante par rapport aux autres échantillons.

Les échantillons de gelée royale G3 et G6 ont la même capacité d'inhibition du radical DPPH. Ceci pourrait être expliqué par leur teneur semblable en antioxydants. En effet, le taux en polyphénols et en flavonoides pour ces échantillons est de 12,32 et 13,48 mg EAG/100 g ; 3,67 et 4,21 m EQ/100 g, respectivement. Les valeurs obtenues sont proches à celles rapportées par **Martinello et Mutinelli (2021)** sur la gelée royale de Corée de sud (30-80 %) et supérieur à celle de la romanie (37,23-35,94 %). Néanmoins, elles sont supérieures à celles indiquées par **Özkök et Silici (2017)**, **Balkanska (2018)**, **Liu et al. (2008)** et **Pavel et al. (2014)** pour les gélées royales de Turki (5,72 %), de Bulgarie (15,07- 35,59 %), de Taiwan (43- 62,8 %) et de Roumanie (35,94- 37,23 %), respectivement.

Selon **Zduńska et al. (2018)**, l'activité antiradicalaire des échantillons de gelée royale

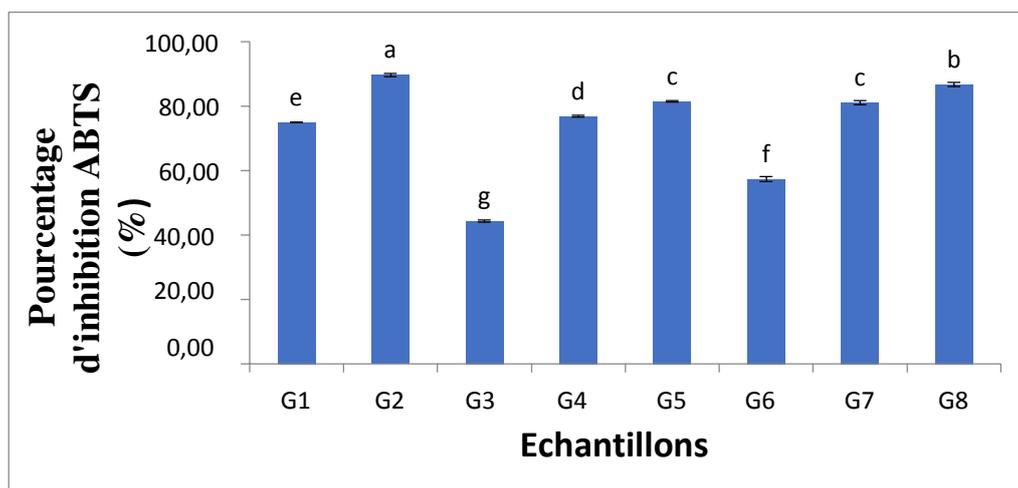
est attribuée à la présence des acides férulique, caféique et chlorogineque.

## 2.2. Test ABTS

L'activité antiradicalaire par l'ABTS est une autre méthode permettant d'évaluer la capacité des composés antioxydants à inhiber le radical cationique  $ABTS^+$  et le réduire en sa forme neutre ABTS sans couleur (Khalil et al., 2012).

L' $ABTS^+$  est applicable aux composés lipophiles et hydrophiles, ce qui permet de mieux évaluer le potentiel antioxydant de la gelée royale connue pour sa richesse en lipides (Gulcin, 2020).

La figure 8 montre les résultats de test ABTS enregistrés sur les extraits éthanoliques analysées de la gelée royale.



**Figure 8 :** Résultats du test ABTS des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

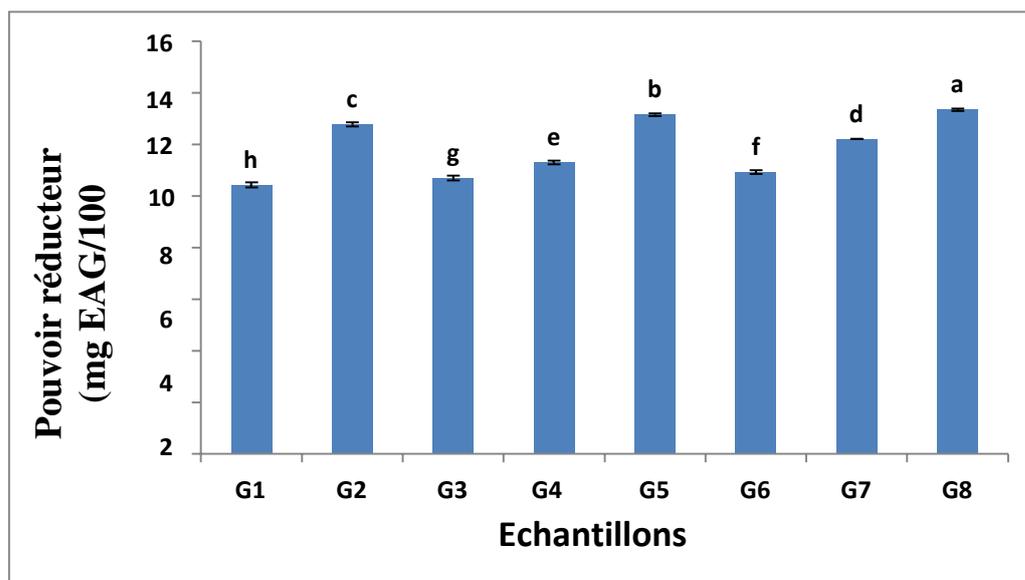
Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives.

L'activité antiradicalaire des différents échantillons de la gelée royale étudiés est comprise entre 44,30 (G 3) et 89,64 % (G2) avec une moyenne de 74,02 %. Le pouvoir antioxydant de l'échantillon de Tipaza (G2) est le plus élevé et il présente une différence significative par rapport à celui des autres échantillons. Cette capacité antioxydante importante est due peut-être à sa richesse qualitative et quantitative en phénols totaux et flavonoïdes car ce sont les principaux facteurs responsables des activités antioxydantes. Néanmoins, l'échantillon de kenchella (G3) indique la plus faible capacité antioxydante (44,30 %). Ceci peut être expliqué par sa teneur faible en phénol totaux et en flavonoïdes.

**Liang et Kitts. (2016)** ont démontré que l'acide chlorogénique est un puissant antioxydant de la gelée royale et il possède une forte capacité de piéger le radical ABTS.

### 2.3. Pouvoir réducteur

Les échantillons de la gelée royale analysés ont la capacité de céder un électron enrédusant le fer ferrique en fer ferreux. Les résultats du test de pouvoir réducteur sont représentés dans la figure 9.



**Figure 9 :** Pouvoir réducteur des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives.

Les résultats obtenus varient de 10,42 (G1) à 13,34 (G8) mg EAG/100 g avec une moyenne de 11,85 mg EAG/100 g. Ceci peut être expliqué par leurs teneurs différentes en antioxydants parmi lequel les polyphénols.

L'acide caféique est un puissant antioxydant. Aux concentrations de 10 et 30  $\mu\text{g/mL}$ , il possède un pouvoir réducteur total important (**Gülçin, 2006**).

**Lu et al. (2010)** ont démontré un pouvoir réducteur élevé (plus de 60 mg EBHT/g) qui est plus important pour la gelée royale récoltée 24 heures après le transfert des larves avec une puissance réductrice nettement supérieure à celle de la gelée royale collectée 48 ou 72 h après le transfert larvaire.

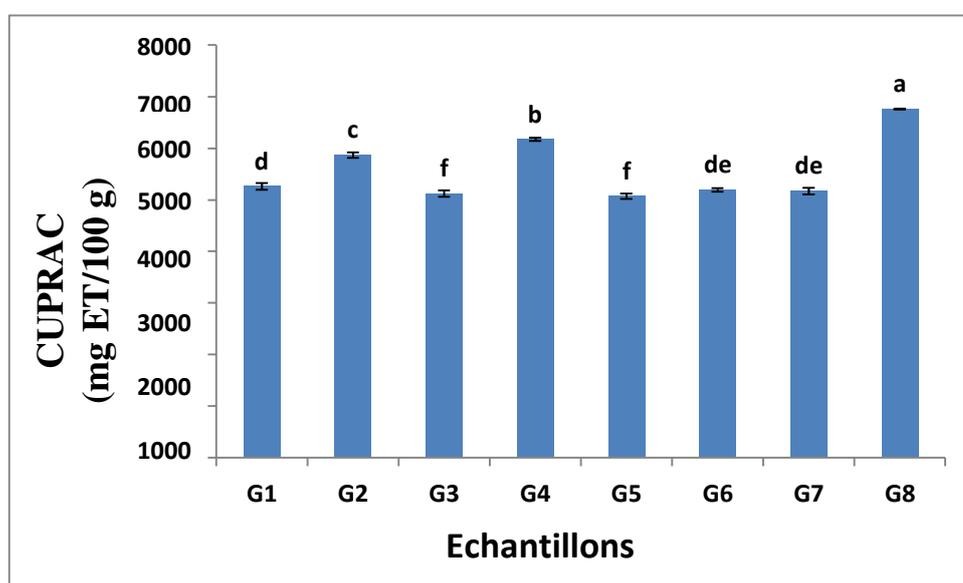
La variation du pouvoir réducteur des différents échantillons de la gelée royale peut être

due à la présence des composés enzymatiques (glucose oxydase et catalase) et non enzymatiques (composés phénoliques, vitamines et acides aminés) (Aljadi et Kumaruddin, 2004).

#### 2.4. Test CUPRAC

Le test CUPRAC est un test qui consiste à déterminer la teneur des antioxydants contenants dans un échantillon de la gelée royale et son activité réductrice de cuivre en présence de néocuproïne (Apak et al., 2004).

La figure 10 montre les résultats de test CUPRAC sur les extraits éthanoliques de la gelée royale.



**Figure 10 :** Activité réductrice CUPRAC des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives

Les valeurs du test CUPRAC varient entre 5067,69 (G5) à 6756,92 (G8) mg ET/100 g avec une moyenne de 5575,49 mg ET/100 g.

Le pouvoir antioxydant de gelée royale de Jijel (G8) est le plus élevé parmi tous les échantillons et il présente une différence significative par rapport à celui des autres échantillons.

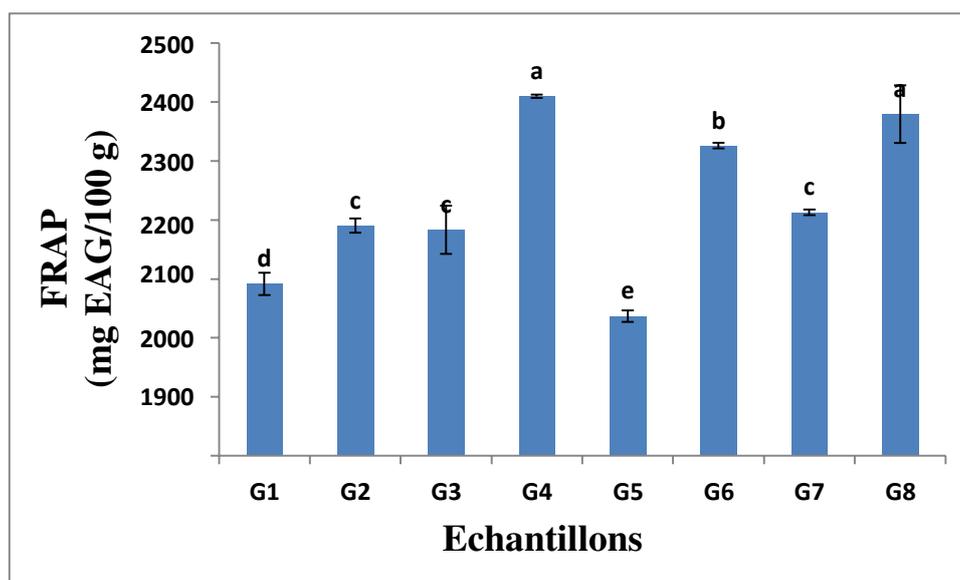
Ceci est probablement dû à la richesse en phénols totaux par rapport aux autres extraits. Néanmoins, les échantillons G6 (France) et G7 (Nord d'Algérie) présentent le même pouvoir antioxydant ( $p < 0,05$ ) malgré leurs origines différentes. Cette méthode est adaptée à une

variété d'antioxydants indépendamment de leur type chimique ou de leur hydrophobie. En outre, il a été signalé que les résultats obtenus à partir de mesures *in vitro* de la réduction de l'ion cuivrique ( $\text{Cu}^{2+}$ ) pourraient être étendus de manière plus efficace aux éventuelles réactions *in vivo* des antioxydants étant donné que le test de CUPRAC est réalisé à un pH (7,0) proche du pH physiologique et la méthode est capable de mesurer les antioxydants de type thiol tels que le glutathion et les thiols non protéiques (Gulcin, 2020). Cela peut expliquer les valeurs élevées obtenues avec la gelée royale vu sa richesse en protéines, peptides, en acides aminés et en substances lipidiques en plus des composés phénoliques connus pour leur activité réductrice.

Néanmoins, l'absence de données bibliographiques sur l'application de ce test sur la gelée royale ne permet pas de donner une estimation exacte des résultats obtenus.

## 2.5. Test FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Pour les résultats du test FRAP, la gelée royale a la capacité de réduire le  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  et les valeurs obtenues sont présentées dans la figure 11.



**Figure 11** : Résultats du test de FRAP des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives.

Les résultats de test FRAP des extraits éthanoliques de gelée royale oscillent de 2036,64 (G5) à 2409,42 mg EAG/100g (G4) avec une moyenne de 2228,44 mg EAG /100 g. Les extraits des échantillons de gelée royale G2, G3 et G7 ne présentent pas une différence significative (2190,12 ; 2183,06 et 2212,56 mg EAG/100 g, respectivement) pour ce test.

Les échantillons de gelée royale G4 et G8 ont le même pouvoir réducteur des ions ferriques en dépit de leur contenance différente en composés phénoliques et en flavonoïdes, ce qui peut être expliqué par la présence d'autres substances dotées d'un pouvoir réducteur élevé comme les peptides courts et les acides gras à petites chaînes carboniques (Kolayli, 2016). En plus, ce fait laisse aussi suggérer que la nature des composés phénoliques est déterminante de la capacité antioxydante des extraits étant donné la différence de la puissance antioxydante des différentes molécules qui font partie des extraits.

Des études démontrent une différence dans le mode d'extraction et d'expression des résultats ce qui rend difficile la comparaison entre les résultats obtenus par Balkanska (2018) (2,23-9,75 mM Fe<sup>2+</sup>/g), par Pavel et al. (2014) (1,50- 3,81 mM Fe<sup>2+</sup>/g) et Kolayli et al. (2016) (566.4 ± 238.6 mmol Trolox/kg).

## 2.6. Test Ferrozine

Le test Ferrozine est une méthode basée sur la formation de complexe Fe<sup>2+</sup>-ferrozine par la présence de fer dévalent (Le et al., 2007).

La figure 12 montre les résultats de test ferrozine enregistrés sur les extraits éthanoliques de la gelée royale analysées.

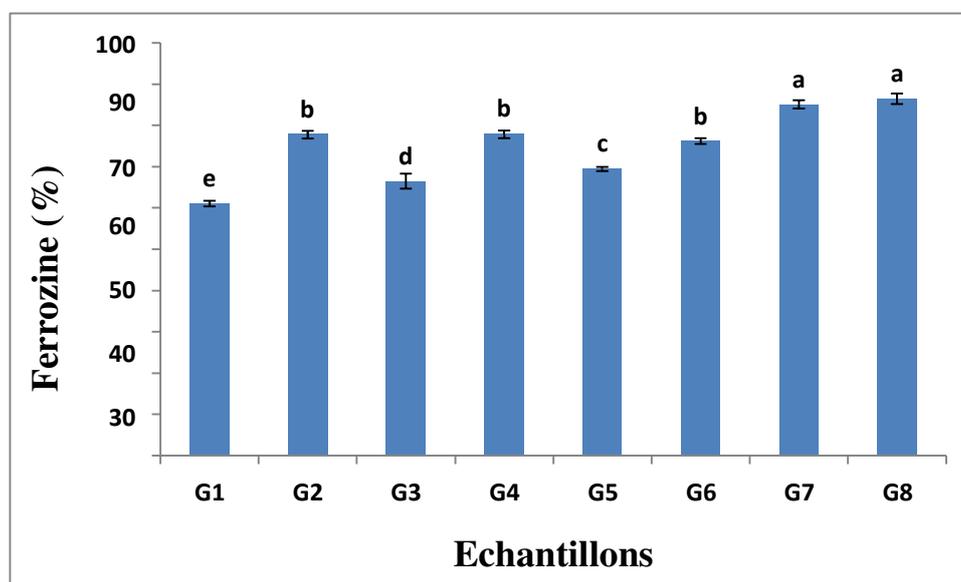


Figure 12 : Résultats du test Ferrozine des échantillons de gelée royale.

Les barres verticales représentent les écartypes.

Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives

Le pouvoir chélateur de fer est compris entre 61,10 (G1) à 86,50 % (G8) avec une moyenne de 75,07 %.

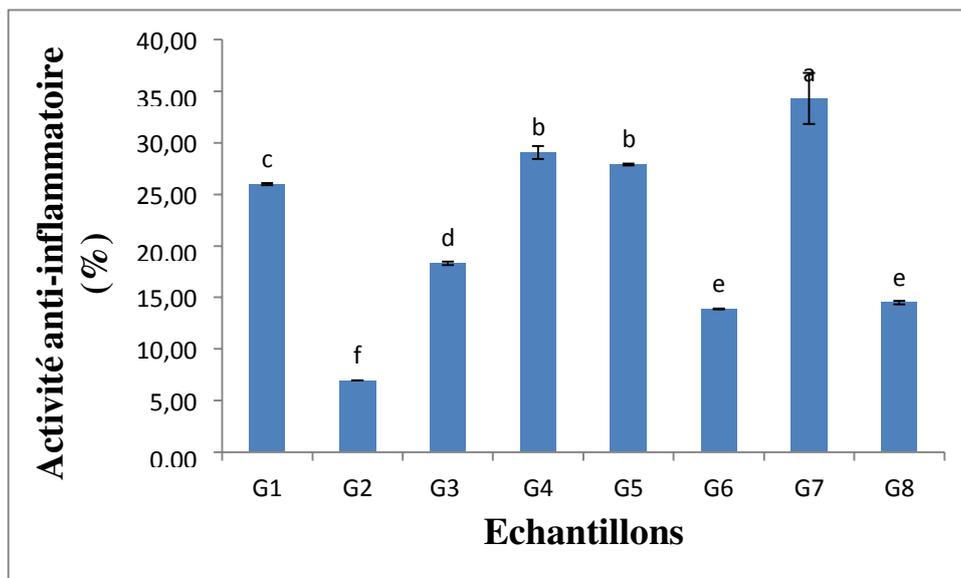
Les échantillons G7 et G8 présentent les meilleures activités de chélation du fer. Les échantillons de gelée royale G2, G4 et G6 présentent la même activité chélatrice ( $p < 0,05$ ) ceci peut être expliqué par leur teneur semblable en flavonoïdes. Ces derniers sont connus pour leur pouvoir chélateurs des ions métalliques, surtout ferriques, qui est en partie derrière leur activité antioxydante (**Perron et Brumaghim, 2009**). Parmi les composés phénoliques présents dans la gelée royale et qui sont connus pour leur activité chélatrice, il y'a les acides férulique (**Zduńska et al., 2018**) et caféique (**Gulcin, 2006**), la quercétine, le kampférol, la naringénine et la biochanine (**Perron et Brumaghim, 2009**).

Les résultats obtenus sont nettement supérieurs à ceux de **Guo et al. (2009)** qui ont estimé le pouvoir chélateur des peptides issus de l'hydrolyse enzymatique des protéines de la gelée royale et les résultats sont inférieurs à 5 %. **Wang et al. (2012)** ont évalué le pouvoir chélateur de différents extraits de la gelée royale et les résultats varient de 11,36 (gelée royale fraîche) à 21,8 % (extrait alcalin de gelée royale) qui sont inférieures à aux valeurs de cette étude.

### 3. Activité anti-inflammatoire

La méthode d'hémolyse érythrocytaire est choisie afin d'étudier l'activité anti-inflammatoire de huit échantillons de gelée royale.

Les résultats obtenus révèlent que la gelée royale possède une propriété anti-inflammatoire à une concentration faible (0,016 g /ml) comme il est illustré dans la figure 13. Tous les échantillons ont l'aptitude à diminuer l'intensité de l'hémolyse.



**Figure 13 :** Résultats du test anti-inflammatoire des échantillons de gelée royale. Les barres verticales représentent les écartypes. Les valeurs portant la même lettre ne représentent pas de différences significatives

L'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des différents échantillons de gelée royale étudiés est comprise entre 6,93 et 34,29 % avec une moyenne de 21,34 %.

L'échantillon de Skikda (G7) présente une meilleure activité anti-inflammatoire qui diffère significativement par rapport à celles des autres échantillons. Cette meilleure propriété est traduite par la forte diminution de l'intensité d'hémolyse.

Par contre, l'échantillon de Tipaza (G2) possède l'activité la plus faible. Les échantillons G4-G5 et G6-G8 ne présentent pas de différence significative dans leur activité anti-inflammatoire, respectivement.

Malgré la teneur élevée en protéines de l'échantillon de gelée royale G8, il a enregistré une faible activité anti-inflammatoire. Ceci peut être expliqué par la présence d'autres substances intervenant dans cette propriété (lipides et d'autres types de protéines).

Les échantillons de la gelée royale analysés présentent une faible activité anti-inflammatoire par rapport à celle du standards utilisé (l'acide salicylique: 90 %).

**Kohno et al. (2004)** ont révélé que l'activité anti-inflammatoire de la gelée royale est liée à la teneur en protéines principalement la MJRP3 qui a été purifié du surnageant de gelée royale par chromatographie. Aussi, **Yong et al. (2018)** ont prouvé que cette activité est due à l'existence de lipide HDA-10.

Les résultats obtenus représentent un autre mécanisme basé sur la libération des enzymes lysosomales pendant l'inflammation. Ils produisent une variété de troubles. Les membranes érythrocytaires sont similaires aux membranes lysosomales, la prévention de la lyse des membranes des globules rouges induite par l'hypotonie a été prise comme mesure de l'activité anti-inflammatoire des médicaments et des extraits de plantes (**Murugan et Parimelazhagan, 2014**), ce mécanisme est non traité par des études précédentes, par lequel la gelée royale exerce son activité anti inflammatoire.

## 4. Corrélations

### 4.1. Corrélations entre les antioxydants et l'activité antioxydantes

L'analyse de la matrice de corrélation a révélé des relations hautement et très hautement significatives entre les antioxydants et le potentiel antioxydant.

Une corrélation linéaire ( $p < 0,05$ ) est enregistrée entre les teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits de gelée royale et le pouvoir réducteur ainsi que leur activité antioxydante (DPPH, ABTS, CUPRAC et Ferrozine) avec des coefficients de corrélation qui sont :  $r=0,67$  ;  $r=0,77$  ;  $r=0,69$  ;  $r=0,83$  et  $r=0,76$ , respectivement (Tableau III, Annexe 2).

Concernant le test FRAP, les échantillons de la gelée royale ne révèlent pas une bonne corrélation avec les antioxydants, ceci est justifié du fait que ce test FRAP ne peut pas mesurer la capacité antioxydante de certains antioxydants avec précision qui peut réagir avec les ions ferreux et un groupe SH contenant dans les antioxydants (**Gulcin, 2020**).

En effet, l'échantillon G8 présente les meilleurs taux en protéines, phénols totaux et flavonoïdes et il enregistre la meilleure activité antioxydante avec le pouvoir réducteur et les tests DPPH, FRAP, CUPRAC et Ferrozine. En outre, l'échantillon G3 a le plus faible taux en phénols totaux et flavonoïdes et il a enregistré le plus faible pourcentage d'inhibition du radical ABTS.

Il y a une corrélation significative entre la teneur en flavonoïdes et en composés phénoliques totaux ( $r = 0,65$ ) (annexe I). Ce coefficient de corrélation est inférieur à celui obtenu par **Nabas et al. (2014)**.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par certains auteurs (**Balkanska et al. 2018**) et Suggèrent que les propriétés antioxydantes de la gelée royale sont fortement liées à leur teneur en agents antioxydants essentiellement les polyphénols. Cette constatation est prouvée par **Teixeira et al. (2017)**.

#### **4.2. Corrélations entre les protéines et l'activité antiinflammatoire**

Il y a une corrélation très hautement significative ( $r= 0,61$ ) entre le taux en protéines et l'activité antiinflammatoire (Tableau III). En effet, l'échantillon G2 présente la teneur la plus faible en protéines et il a enregistré l'activité antiinflammatoire la plus basse ; c'est le contraire pour les échantillons G5 et G7.

L'échantillon G8 enregistre une faible activité antiinflammatoire malgré sa teneur élevée en protéines. Ceci peut être expliqué par la présence d'autres substances intervenant dans cette propriété (lipides et d'autres types protéines).

Tableau III : Matrice de corrélation entre les paramètres étudiés

	Phénols totaux	Flavonoïdes	DPPH	Pouvoir réducteur	CUPRAC	FRAP	Ferrozine	Protéine	ABTS	Anti inflammatoire
Phénols totaux										
Flavonoïdes	<b>0,61***</b>									
DPPH	<b>0,78***</b>	<b>0,45*</b>								
Pouvoir réducteur	<b>0,63***</b>	0,15	0,33							
CUPRAC	<b>0,82***</b>	<b>0,49*</b>	<b>0,49*</b>	<b>0,39*</b>						
FRAP	<b>0,61***</b>	0,19	<b>0,58**</b>	0,10	<b>0,82***</b>					
Ferrozine	<b>0,81***</b>	0,28	<b>0,82***</b>	<b>0,65***</b>	<b>0,61***</b>	<b>0,67***</b>				
Protéines	0,06	<b>0,39*</b>	0,02	0,16	0,06	-0,04	-0,02			
ABTS	<b>0,65***</b>	<b>0,54**</b>	0,23	<b>0,70***</b>	<b>0,46*</b>	0,14	<b>0,54*</b>	0,23		
Activité antiinflammatoire	-0,26	0,24	-0,12	-0,14	-0,33	-0,20	-0,09	<b>0,61***</b>	0,07	

\* : Corrélation significative.

\*\* : Corrélation hautement significative.

\*\*\* : Corrélation très hautement significative.

## *Conclusion et Perspectives*

### Conclusion

Ce travail de recherche réalisé a permis d'étudier certains composés antioxydants et les activités antioxydante et anti-inflammatoire de quelques échantillons de gelée royale.

Les résultats obtenus concernant les antioxydants et les activités antioxydantes varient entre les échantillons analysés. Les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes sont comprises entre 12,3 à 23,6 mg EAG/100 g et 3,67 à 8,79 mg EQ/100 g, respectivement.

Tous les échantillons de gelée royale analysés possèdent des activités antioxydantes. En général, la gelée royale G8 exerce le meilleur pouvoir antioxydant et la gelée royale G3 enregistre la plus faible activité antioxydante. Les résultats des activités antiradicalaires avec les radicaux DPPH et ABTS et les tests FRAP, pouvoir réducteur, CUPRAC et ferrozine sont comme suit : 40,45 à 80,51 %, 13,24 à 58,24 %, 1118,94 à 1594,94 mg EAG/100 g, 0,98 à 2,95 mg EAG/100 g, 95,64 à 1671,64 mg ET/100 g et 757,74 à 5353,38 mg EAG/100 g, respectivement. La teneur en protéines des échantillons de la gelée royale varie entre 49,85 à 192,41 mgE BSA/100 g. L'activité anti-inflammatoire est évaluée par le test d'hémolyse érythrocytaire induite par un tampon PBS hypotonique. Les résultats montrent que les échantillons de gelée royale présentent une bonne activité anti-inflammatoire à une concentration très faible (0,016 g/ml).

L'analyse de la matrice de corrélation a fait ressortir des valeurs positives ( $p < 0,05$ ) entre les antioxydants et les différentes activités antioxydantes et des corrélations très hautement significatives sont consignées. De même, Les protéines des échantillons étudiés ont révélé des corrélations très hautement significatives ( $p < 0,05$ ) avec l'activité anti-inflammatoire.

Afin de mieux connaître la composition chimique et les propriétés biologiques de gélées royales locales, il est intéressant :

- De faire l'analyse qualitative et quantitative des minéraux des échantillons récoltés par spectroscopie d'absorption atomique.
- De réaliser des profils qualitatifs et quantitatifs des composés phytochimiques (acides phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes...) et des protéines par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide à haute pression.
- D'effectuer d'autres activités biologiques (anticancéreuse, antimicrobienne, cicatrisante, antiacétylcholinestérase...).

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- **Ahmad S., Campos M. G., Fratini F., Altaye S. Z. and Li J. (2020).** New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 382.
- **Ahmed M. M., El- Shazly S. A., Alkafafy M. E., Mohamed A. A. and Mousa A. A. (2018).** Protective potential of royal jelly against cadmium- induced infertility in male rats. *Andrologia*, 50(5), 1-12.
- **Aljadi A. and Kamaruddin M. (2004).** Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. Thèse de doctorat médecine. University of Malaya, 513–518.
- **Alvarez-Suarez J.M., Tulipani S., Díaz, D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S. and Battino M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color. polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2490–2499.
- **Amigou M. (2016).** Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticide dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale, et propolis). Thèse de doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, p. 149.
- **Apak R., Kubilail GI., Zyrek M. and Karademir SE. (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing in the presence neocuproine, Cuprac method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970 – 7981.
- **Azeredo L. D. C., Azeredo M. A. A., De Souza S. R. and Dutra V. M. L. (2003).** Protein content and physicochemical properties in honey samples of *Apis Mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80, 249–254
- **Balkanaska R., Zhelyazkova I., Ignatova M. and Kashamov B. (2013).** Effect of supplementary honey and artificial sugar feeding of bees on the composition of royal jelly. *Journal of Analytic Sciences and Technology*, 5, 335-343.

- **Balkanska R. (2018).** Correlations of physicochemical parameters, antioxidant activity and total polyphenol content of fresh royal jelly samples. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(4), 2319-7706.
- **Ballot Flurin C. (2009).** Miels et gelée royale : leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. *Phytothérapie*, 7, 87-90.
- **Barker C. A. (1959).** Price changes of stock-dividend shares at ex-dividend dates. *The Journal of Finance*, 14(3), 373-389.
- **Barnutiu L., Marghitas L., Dezmirean D., Mihai C. and Bobis O. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of royal jelly review. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 44(2), 67-72.
- **Biri M. (2011).** Tout savoir sur les abeilles et apiculture. Edition de vecchi. P. 295.
- **Blanc M., (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de Doctorat pharmacie. Université de Limoges. P. 138.
- **Boslli E., Caboni MF., Sabatini AG., Marcazzan GL. and Lercker G. (2003).** Determination and changes of free amino acids in royal jelly during storage. *Apidologie*, 34, 129-137.
- **Baudel M. (2017).** Théorie spectrale pour des applications de Poincaré aléatoires. Thèse de doctorat mathématique. Université d'Orléon. p. 85.
- **Buttstedt A., Ihling C.H., Pietzsch M. and Moritz, R.F.A. (2016).** Royalactin is not a royal making of a queen. *Nature*, 537, 10-13.
- **Čanadanović-Brunet J., Četković G., Šaponjac V.T., Stajčić S., Vulić J., Djilas S., Štajner D. and Popović B., (2014).** Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*, 62, 1-7.
- **Chen Y.F., Wang K., Zhang Y.Z., Zheng Y.F. and Hu F.L. (2016).** In vitro anti-inflammatory effects of three fatty acids from royal jelly. *Mediators of Inflammation*, 1-11.
- **Clement H. (2009).** Créer son rucher. Editions Rustica. Paris. P. 111.

- **Collazo N., Carpena M., Nuñez-Estevez B., Otero P., Simal-Gandara J. and Prieto, M. A. (2021).** Health promoting properties of bee royal jelly: food of the queens. *Nutrients*, 13(2), 543
- **Cousin L. (2014).** L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Poitiers. 77, 21-39.
- **Crailsheim K. and Stolberg E. (1989).** Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera L.*). *Journal of Insecta Physiology*, 35 (8), 595-602.
- **Cuvillier A. (2015).** Miel, propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lille2. p.138.
- **Deseyn J. and Billen J. (2005).** Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 36, 49-57.
- **Domerego R., Imbert G. and Blanchard C. (2009).** Les remèdes de la ruche Editions Alpens, Monaco. p. 95.
- **El-Guendouz S., Machado A., Aazza S., Lyoussi B., Miguel M., Mateus M. and Figueiredo A.(2020).** Chemical characterization and biological properties of royal jelly samples from the mediterranean area, *International Journal of Food Science and Technology*, 51(8), 1762-1773.
- **Fujiwara S., Imai J., Fujiwara M., yaeshima T., Kawashima T. and Kobayashi K. (1990).** Apotent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. *Journal of Biological Chemistry*, 265(19), 1333-1337.
- **Ghanbari E., Nejati V. and Khazaei M. (2016).** Improvement in serum biochemical alterations and oxidative stress of liver and pancreas following use of royal jelly in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cellular Journal (Yakhteh)*, 18(3), 362.
- **Genc M. and Aslan A. (1999).** Determination of trans-10-hydroxy-2-decenoic acid content in pure royal jelly and royal jelly products by column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 839, 265-268.

- **Gharbi M. (2011).** Les produits de la ruche : Origines-Fonctions naturelles-Composition- Propriétés thérapeutiques-Apithérapie et perspectives d'emploi en vétérinaire. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. Université Claude-Bernard, Lyon. P.130.
- **Guendouz M. (2019).** Etude de l'effet anti allergique de la gelée royale chez les souris Balb/c. Thèse de doctorat en sciences. Université d'Oran. P. 114.
- **Gulcin I. (2020).** Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archive of Toxicology*, 94(3), 651-715.
- **Gulcin I. (2006).** Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213–220.
- **Guo H., Kouzuma Y. and Yonekura M. (2009).** Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*, 113, 238–245.
- **Halliwell B., Murcia M. A., Chirico. and Aruoma O. I. (1995).** Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(1-2), 7-20.
- **Han B., Li C., Zhang L., Feng M. and Li J. (2011).** Novel royal jelly proteins identified by gel-based and gel free proteomics. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 59, 10346-10355.
- **Hashem N. M., Hassanein E. M. and Simal-Gandara J. (2021).** Improving reproductive performance and health of mammals using honeybee products antioxidants. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 10(3), 336-346.
- **Inoue S.-i., Koya-Miyata S., Ushio S., Iwaki K., Ikeda M. and Kurimoto M. (2003).** Royal Jelly prolongs the life span of C3H/HeJ mice: Correlation with reduced DNA damage. *Exp. Gerontology*, 38, 965–969.
- **Isla M.I., Craig A., Ordoñez R., Zampini C., Sayago J., Bedascarrasbure E., Alvarez A., Salomón V. and Maldonado L., (2011).** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *Food Science and Technology*, 44, 922-1930.

- **Izuta H., Chikaraishi Y., Shimazawa M., Mishima S. and 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. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6, 489-494.
- **Jeanne F. (1992).** La gelée royale nature et composition. *Bulletin Technique Apicole*, 19(2), 93-96.
- **Kanbur M., Eraslan G., Beyaz L., Silici S., Liman B. C., Altnordulu Ş. and Atasever A. (2009).** The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(2), 123-132.
- **Karaca, T., Uz, Y. H., Demirtas, S., Karaboga, I. and Can, G. (2015).** Protective effect of royal jelly in 2, 4, 6 trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(4), 370.
- **Khalil M., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M., Islam M. and Gan, S H. (2012).** Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Molecules*, 17(9), 11199–11215.
- **Khazaei M., Ansarian A. and Ghanbari E. (2017).** New finding on biological actions and clinical application of royal jelly: A Review. *Journal of Dietary Supplements*, 15(5), 757-775.
- **Kocot J., Kielczykowska M., Luchowska-Kocot D., Kurzepa J. and Musik, I. (2018).** Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: possible medical application. *oxidative. Medicine and Cellular Longevity*, 1-29.
- **Kohno K., Ohashi E., Sano O., Kusano H., Kunikata T., Arai N. and Fukuda S. (2015).** Anti-inflammatory effects of adenosine N1-oxide. *Journal of Inflammation*, 12(1), 1-16.
- **Kohno K., Okamoto I., Sano O., Arai N., Iwaki K., Ikeda M. and Kurimoto M. (2004).** Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68(1), 138-145.

- **Kolayli S., Sahin H., Can Z., Yildiz O., Malkoc M. and Asadov A. (2016).** A member of complementary medicinal food: anatolian royal jellies, their chemical compositions, and antioxidant properties. *Journal of Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 21(4), 43-48.
- **Koya-Miyata S., Okamoto I. and Ushi S. (2004).** Identification of a collagen production- promoting factor from an extract of royal jelly and its possible mechanism. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 68(4). 767-773.
- **Küçük M., Kolayli S., Şengül K., Ulusoy E., Baltacı C. and Candan, F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100(2) ,526-534.
- **Laurent C. (2014).** L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de Docteur en Pharmacie. Université de Poitiers. 77, 21-39.
- **Lavinia Ioana B., Liviu Al., Mărghitaş, Daniel S. Dezmirean., Cristina Manuel M. and Otilia B. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of royal jelly. *Review Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 44 (2), 67-72.
- **Le K., Chiu F. and Ken N. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in fructus lycii. *Food Chemistry*, 353-363.
- **Li C. and Lin E. (2010).** Antiradical capacity and reducing power of different extraction methods of *Areca catechu* seed. *African Journal of Biotechnology*, 9(46), 7831-7836.
- **Liang N. and Kitts D. (2015).** Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. *Nutrients*, 8(1), 1-20.
- **Liu J. R., Yang Y. C., Shi L. S. and Peng C. C. (2008).** Antioxidant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23), 11447-11452.
- **López-Gutiérrez N., Aguilera-Luiz M. M., Romero-González R., Vidal J. L. M. and Garrido Frenich A. (2014).** Fast analysis of polyphenols in royal jelly products using automated TurboFlow™-liquid chromatography–Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 973, 17–28.

- **Lu X., Wang J., Al-Qadiri H. M., Ross C. F., Powers J. R., Tang J. and Rasco, B. A. (2011).** Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 129(2), 637–644.
- **MacDonald- Wicks L., Wood L.G. and Garg M.L. (2006).** Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046-2056.
- **Manzo L. P., de-Faria F. M., Dunder R. J., Rabelo-Socca E. A., Consonni S. R., de Almeida A. C. A. and Luiz-Ferreira A. (2015).** Royal jelly and its dual role in TNBS colitis in mice. *The Scientific World Journal*, 1-15.
- **Marie-Laure R. (2012).** Miel et gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de Doctorat. Université de Limoges. p. 61.
- **Martinello M. and Mutinelli F. (2021).** Antioxidant activity in bee products: A review. *Antioxidants*, 10(1), 71.
- **Mateescu C. (2016).** Les produits de sécrétion et leurs rôles dans la colonie d'abeilles, [en ligne]. Adresse URL: <https://www.researchgate.net/publication/237480596>.
- **Mathilde B. (2017).** L'apithérapie. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Picardie Jules Verne. p. 95.
- **Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J. and Nacoulma O.G. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, 571–577.
- **Melliou E. and Chinou I. (2014).** Chemistry and bioactivities of royal jelly. In *Studies in Natural Products Chemistry*. 43, 261-290.
- **Millet J. (2006).** Matières premières produits par l'abeille. In Martini MC, Seiller M. *Actifs et additifs en cosmétologie*, 3<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Paris. p. 363.

- **Moriyama T., Ito A., Omote S., Miura Y. and Tsumoto H. (2015).** Heat resistant characteristics of major royal jelly protein 1 (mrjp1) oligomer. PLoS ONE, 10, 1-17.
- **Mokaya H., Njeru L. and Lattorff H. (2020).** African honeybee royal jelly: Phytochemical contents, free radical scavenging activity, and physicochemical properties. Food Bioscience, 37,1-6.
- **Mozafar K., Ansarian A. and Ghanbari E. (2017).** New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly. Journal of Dietary Supplements, 15, 757-775.
- **Murugan R. and Parimelazhagan, T. (2014).** Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *osbeckia parvifolia* Arn. – An in vitro approach. Journal of King Saud University - Science, 26, 267–275.
- **Nabas Z., Haddadin M S.Y., Haddadin J. and Nazer I.J. (2014).** Chemical composition of royal jelly and effects of synbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activities. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 64, 171-180.
- **Nagai T., Inoue R., Suzuki N. and Nagashima T. (2006).** Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly. Journal of Medicinal Food, 3, 363-367.
- **Nagai T. and Inoue R. (2004).** Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. Food Chemistry, 84, 181-186.
- **Naithani V., Nair, S. and Kakkar P. (2006).** Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. Food Research International, 39, 176-181.
- **Nozaki R., Tamura S., Ito A., Moriyama T., Yamaguchi K. and Kono T. (2012).** A rapid method to isolate soluble royal jelly proteins. Food Chemistry, 134, 2332-2337.
- **Ohashi E., Kohno K., Arai N., Harashima A., Ariyasu T. and Ushio, S. (2019).** Adenosine N1-oxide exerts anti-inflammatory effects through the PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$

signaling pathway and promotes osteogenic and adipocyte differentiation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 42, 968-976.

- **Oldroyd B. P., Reid R. J., Ashe A. and Remnant E. J. (2018).** Honey bees, royal jelly, *Epigenetics*. 5, 660-665.
- **Oyedepo O.O. and Femurewas A.J. (1995).** Anti-protease and membrane stabilizing activities of extracts of *fagra zanthoxiloides*, *olax subscorpioides* and *tetrapleura tetraptera*. *International Journal of Pharmaceutics*, 33, 65-69
- **Öztürk M., Ermin M.D., Kivrak S., Mercan-Doğan N., Türkoglu A. and Özler M A. (2011).** In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents, a comparative study on three most edible mushrooms. *Food Chemistry Toxicology*, 14, 1353 - 1360.
- **Özkök D. and Silici S. (2017).** Antioxidant activities of honeybee products and their mixtures. *Food Science and Biotechnology*, 2, 201-206.
- **Park M. J., Kim B.Y., Deng Y., Park H. G., Choi Y.S., Lee K. S. and Jin B. R. (2020).** Antioxidant capacity of major royal jelly proteins of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23, 445-448.
- **Pavel C., Marghitas L., Dezmirean D., Tomos L., Bonta V., Sapcaliu A. and Buttstedt. (2014).** Comparison between local and commercial royal jelly-Use of antioxidant activity and 10-hydroxy-2-decenoic acid as quality parameter. *Journal of Apicultural Research*, 53, 116-123.
- **Perron N. R. and Brumaghim, J. L. (2009).** A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cellular Biochemistry and Biophysics*, 53(2), 75–100.
- **Polsinelli G.A. and Yu H.D. (2018).** Regulation of histone deacetylase 3 by metal cations and 10-hydroxy-2E-decenoic acid: Possible epigenetic mechanisms of queen-worker bee differentiation. *13*, 1-12.

- **Portet B. (2007).** Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum* var. *Berbicense*. Thèse de doctorat, Université Toulouse, p. 270.
- **Pourmoradian S., Mahdavi R., Mobasseri M., Faramarzi E. and Mobasseri, M. (2014).** Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: a randomized clinical trial. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 20, 347-352.
- **Rabouane F. (2014).** Fievres hemorrhagiques virales : mythe ou realite. These de doctorat medecine universite mohamed –souissi. p. 85.
- **Rani A., Punitha S. and Rema M. (2014)**- researchgate.net Antiinflammatory activity of flowers extract of *cassia auriculata* an *in vitro* study International Research. *Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 8(1), 1-9.
- **Ramadan M. F. and Al-Ghamdi A. (2012).** Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly. *Journal of functional foods*, 4 ,1-52.
- **Ramanathan A. N. K. G., Nair A. J. and Sugunan, V. S. (2018).** A review on royal jelly proteins and peptides. *Journal of Functional Foods*, 44, 255–264.
- **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C., (1999).**Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- **Ribéreau-Gayon P. (1968).** Propriétés chimiques des phénols. Les composés phénoliques des Végétaux. Edition Dunod. p. 57.
- **Rigal M-L. (2012).** Miel et gélée royal : utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de limoges, p.156.
- **Rzepecka-Stojko A., Stojko J., Kurek-Górecka A., Górecki, M., Kabała-Dzik A. and Kubina R., Buszman E. (2015).** Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules*, 20(12), 21732–21749.

- **Sabatini AG., Marcazzan GL., Caboni MF., Bogdanov S. and Almeida-Muradian LB. (2009).** Quality and standardisation of royal jelly. *Journal Food Science Technology*, 1, 1- 6.
- **Sahreen S., Khan M. R. and Khan, R. A. (2010).** Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, 122, 1220.
- **Schmitzova J., Kludiny J., Albert S., Schroder W., Scherkengost W., Hanes J., Judov J. and Simuth J. (1998).** A family of major royal jelly protein of the honeybee *Apis mellifera* L. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 54, 1-14.
- **Schwartz K. (2011).** Inflammation et maladies: clés de compréhension. Mission Inserm Associations-Marseille, 6-7.
- **Šedivá M., Laho M., Kohútová L., Mojžišová A., Majtán J. and Kludiny, J. (2018).** 10-HDA, A major fatty acid of royal jelly, exhibits pH dependent growth-inhibitory activity against different strains of *paenibacillus* larvae. *Molecules*, 23, 1-14.
- **Shahidi F. and Zhong Y. (2015).** Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18,757-781.
- **Shinde UA., Phadke AS., Nair AM., Mungantiwar A A., Dikshit VJ. and Saraf VO. (1999).** Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action for the antiinflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70, 251-257.
- **Silici S., Ekmekcioglu O., Eraslan G. and Demirtas A. (2009).** Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage. *Urology*, 74, 545-551.
- **Simuth J. (2001).** Some properties of the main protein of honeybee *Apis mellifera* royal jelly. *Apidologie*, 32, 69-80.
- **Sousa C. M. P., Martínez-López F. J. and Coelho F. (2008).** The determinants of export performance: A review of the research in the literature between 1998 and 2005. *International Journal of Management Reviews*, 10, 343–374.

- **Tami-MAURY I., Zarate R., Salas S., Farley J. and Ventura, C. (2012).** Global health competencies for nurses in the americas. *Journal of Professional Nursing*, 28, 213–222.
- **Teixeira R. R., de Souza A. V., Peixoto L. G., Machado, H. L., Caixeta D. C., Vilela D. D. and Espindola F. S. (2017).** Royal jelly decreases corticosterone levels and improves the brain antioxidant system in restraint and cold stressed rats. *Neuroscience letters*, 655, 179-185.
- **Tokunaga K-H., Yoshida C., Suzuki K-M., Maruyama H., Futamura Y., Araki Y. and Mishima S. (2004).** Antihypertensive effect of peptides from royal jelly in spontaneously hypertensive rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, 189-192.
- **Vijaya P.P., David Wilson., Aswan Ali A.M. , Yogananth N., Syed Ali M., Anuradha V and Kalitha P. (2013).** parveevaluation of in-vitro anti-inflammatory and antimicrobial properties of pergularia daemia and solanum xanthocarpum. *International. Jornal of Current. Microbioly and. Applied. Science*, 2(1), 94-99.
- **Viunda-Martros M. (2008).** Functional proprieties of honey,proplis,and royal jelly. *Journal of Food Science*, 9, 73, 120.
- **Wang X., Cook L. F., Grasso L. M., Cao M. and Dong, Y. (2014).** Royal jelly-mediated prolongevity and stress resistance in caenorhabditis elegans is possibly modulated by the interplays of daf-16, sir-2.1, hcf-1, and 14-3-3 proteins. *The Journals of Gerontology*, 70, 827–838.
- **Wright G. A., Nicolson S. W. and amp; Shafir S. (2018).** Nutritional physiology and ecology of honey bees. *Annual review of Entomology*, 63, 327-344.
- **Xin X. x., Chen Y., Chen D., Xiao F., Parnell L.D., Zhao J., Liu L., Ordovas J.M., Lai C.-Q. and Shen, L.-r.(2016).**Supplementation with major royal-jelly proteins increases lifespan, feeding, and fecundity in drosophila. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 5803– 5812.
- **Xue X., Wu L. and Wang K. ( 2017).** Chemical composition of royal jelly. *Institue of Apicultural Research, Chinese Academy of Ag riculture Science*, 182-190.

- **Yang Y. C., Chou W. M., Widowati D. A., Lin I. P. and Peng C. C. (2018).** 10-hydroxy-2-decenoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inflammatory activity in human colon cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 1-7.
- **Yavuz I. and Gurel F. (2017).** Chemical properties of the royal jellies in Turkish markets. *Mediterranean Agricultural sciences*, 30, 281-285
- **You M. M., Liu Y. C., Chen Y. F., Pan Y. M., Miao Z. N., Shi Y. Z. and Hu F. L. (2020).** Royal jelly attenuates nonalcoholic fatty liver disease by inhibiting oxidative stress and regulating the expression of circadian genes in ovariectomized rats. *Journal of Food Biochemistry*, 44, 1-12.
- **You M. M., Chen Y. F., Pan Y. M., Liu Y. C., Tu J., Wang K. and Hu F. L. (2018).** Royal jelly attenuates LPS-induced inflammation in BV-2 microglial cells through modulating NF- $\kappa$ B and p38/JNK signaling pathways. *Mediators of Inflammation*, 1-11.
- **Yuan Y., Wang W., Fan R., Jiang J., Feng S., Yin H. and Chen, L. (2020).** Ethanol-soluble proteins from the royal jelly of Xinjiang black bees. *Protein Science*, 30, 291–296.
- **Zaid M., Nabas., Malik S.Y., Haddadin and Ibrahim K. Nazer. (2014).** the influence of royal jelly addition on the growth and production of short chain fatty acids of two different bacterial species isolated from infants in Jordan, Pakistan. *Journal of Nutrition*, 13, 43-49.
- **Zduńska K., Dana A., Kolodziejczak A. and Rotsztejn H. (2018).** Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. *Skin Pharmacology and Physiology*, 332–336.
- **Zerbato M. (2010).** Intérêt du dosage par microméthode de la protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré- Nancy 1, p. 73.
- **Zhou J., Xiaofeng X., Li Y. I. and Zhang J. (2007).** Optimized determination method for trans-10-hydroxy-2-decenoic acid content in royal jelly by high-performance liquid chromatography with an internal standard. *Chromatographia*, 90, 244–249.
- **Zhou L., Xue X., Zhou J., Li Y., Zhao J. and Wu L. (2012).** Fast determination of adenosine 5'-triphosphate (ATP) and its catabolites in royal jelly using ultra performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 60, 8994–8999.

- **Zhu Z., Zhang Y., Wang G., Li X., Wang W. and Huang Z. (2019).** Characterization of sugar composition in Chinese royal jelly by ion chromatography with pulsed amperometric detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 78, 101-107.

# *Annexes*

## Annexe 1

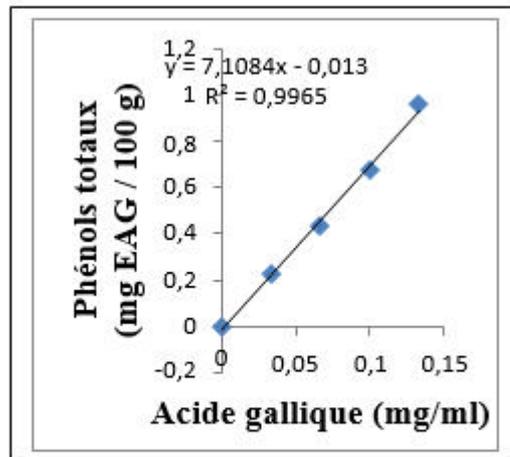


Figure 2: Courbes d'étalonnage des phénols totaux.

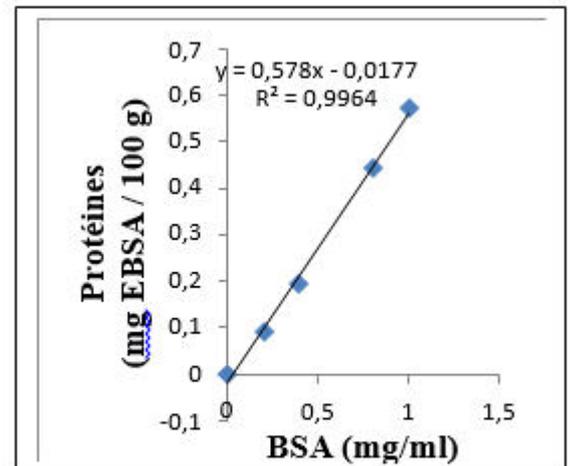


Figure 1: Courbes d'étalonnage des protéines.

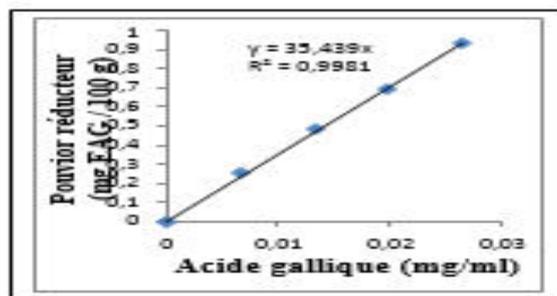


Figure 4: Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

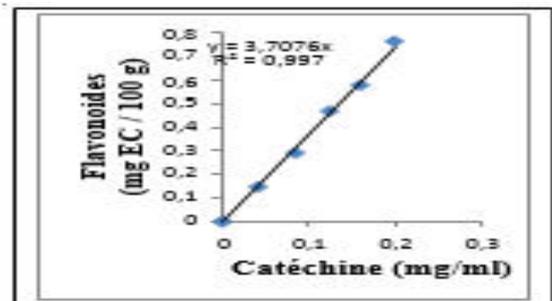


Figure 3: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

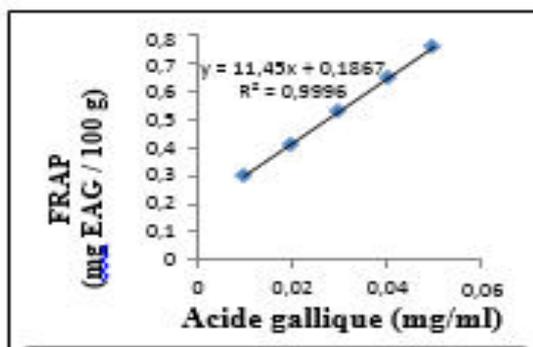


Figure 6: Courbe d'étalonnage du test FRAP.

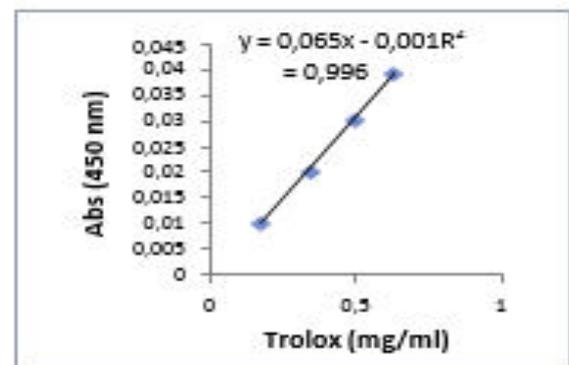


Figure 5: Courbe d'étalonnage du test de CUPRAC.

## Annexe 2

Corrélations significatives marquées à  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ .

Corrélations (gelée royale.sta)										
Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < ,05000$ N=24 (Suppression des observ. à VM)									
Variable	PHENOL	FLAVON OI	DPPH	P_REDU CT	CUPRAC	FRAP	FERROZ IN	PROTEI NE	ABTS	ANTIIN FL
PHENOL	1,00	,65	,77	,67	,83	,47	,76	,06	,69	-,26
FLAVONOI	,65	1,00	,44	,26	,44	,05	,24	,39	,62	,24
DPPH	,77	,44	1,00	,34	,49	,53	,81	,02	,24	-,12
P_REDUCT	,67	,26	,34	1,00	,44	-,00	,60	,16	,73	-,14
CUPRAC	,83	,44	,49	,44	1,00	,69	,58	,06	,51	-,33
FRAP	,47	,05	,53	-,00	,69	1,00	,65	-,04	-,01	-,20
FERROZIN	,76	,24	,81	,60	,58	,65	1,00	-,02	,46	-,09
PROTEINE	,06	,39	,02	,16	,06	-,04	-,02	1,00	,02	,61
ABTS	,69	,62	,24	,73	,51	-,01	,46	,02	1,00	,07
ANTIINFL	-,26	,24	-,12	-,14	-,33	-,20	-,09	,61	,07	1,00

Corrélations (gelée royale.sta)										
Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < ,01000$ N=24 (Suppression des observ. à VM)									
Variable	PHENOL	FLAVON OI	DPPH	P_REDU CT	CUPRAC	FRAP	FERROZ IN	PROTEI NE	ABTS	ANTIIN FL
PHENOL	1,00	,65	,77	,67	,83	,47	,76	,06	,69	-,26
FLAVONOI	,65	1,00	,44	,26	,44	,05	,24	,39	,62	,24
DPPH	,77	,44	1,00	,34	,49	,53	,81	,02	,24	-,12
P_REDUCT	,67	,26	,34	1,00	,44	-,00	,60	,16	,73	-,14
CUPRAC	,83	,44	,49	,44	1,00	,69	,58	,06	,51	-,33
FRAP	,47	,05	,53	-,00	,69	1,00	,65	-,04	-,01	-,20
FERROZIN	,76	,24	,81	,60	,58	,65	1,00	-,02	,46	-,09
PROTEINE	,06	,39	,02	,16	,06	-,04	-,02	1,00	,02	,61
ABTS	,69	,62	,24	,73	,51	-,01	,46	,02	1,00	,07
ANTIINFL	-,26	,24	-,12	-,14	-,33	-,20	-,09	,61	,07	1,00

Corrélations (gelée royale.sta)										
Suite...	Corrélations significatives marquées à $p < ,00100$ N=24 (Suppression des observ. à VM)									
Variable	PHENOL	FLAVON OI	DPPH	P_REDU CT	CUPRAC	FRAP	FERROZ IN	PROTEI NE	ABTS	ANTIIN FL
PHENOL	1,00	,65	,77	,67	,83	,47	,76	,06	,69	-,26
FLAVONOI	,65	1,00	,44	,26	,44	,05	,24	,39	,62	,24
DPPH	,77	,44	1,00	,34	,49	,53	,81	,02	,24	-,12
P_REDUCT	,67	,26	,34	1,00	,44	-,00	,60	,16	,73	-,14
CUPRAC	,83	,44	,49	,44	1,00	,69	,58	,06	,51	-,33
FRAP	,47	,05	,53	-,00	,69	1,00	,65	-,04	-,01	-,20
FERROZIN	,76	,24	,81	,60	,58	,65	1,00	-,02	,46	-,09
PROTEINE	,06	,39	,02	,16	,06	-,04	-,02	1,00	,02	,61
ABTS	,69	,62	,24	,73	,51	-,01	,46	,02	1,00	,07
ANTIINFL	-,26	,24	-,12	-,14	-,33	-,20	-,09	,61	,07	1,00

## Résumé

La gelée royale est un produit de la ruche élaboré par l'abeille de l'espèce *Apis mellifera*. La présente étude a pour objectif l'évaluation de la qualité de la gelée royale à travers la détermination des teneurs en protéines et en antioxydants ainsi que l'évaluation des activités antioxydante par plusieurs tests ( DPPH, ABTS, Pouvoir réducteur, CUPRAC, FRAP et Ferrozine) et anti- inflammatoire (test anti-hémolytique) de quelques échantillons de gelée royale.

La teneur en antioxydants (polyphénols, flavonoïdes) et l'activité antioxydante varient, en général, d'un extrait à un autre. La gelée royale de Jijel (échantillon de G8) enregistre les meilleurs paramètres en antioxydants (23,63 mg EAG/100 g pour les polyphénols ; 8,79 mg EQ/100g pour les flavonoides) et en activité antioxydante. Cependant, la gelée royale de kenchela (échantillon G3) enregistre les plus bas paramètres (12,32 mg EAG/100 g ; 3,67mg EQ/100 g), respectivement) pour les antioxydants. Ces variations sont dues essentiellement à l'origine botanique et le climat des échantillons analysés. De nombreuses corrélations positives sont observées entre les antioxydants et les activités antioxydantes des extraits éthanoliques de gelée royale.

Les échantillons de gelée royale analysés exercent une activité anti-inflammatoire importante qui varie de 6,93 à 34,28 % et elle est liée principalement à leurs concentrations en protéines.

**Mots clés :** Gelée royale ; Antioxydants ; Activité antioxydante ; Protéines & Activité anti-inflammatoire.

## Abstract

Royal jelly is a bee product made by the bee of the species *Apis mellifera*. The objective of this study is to assess the quality of royal jelly by determining the protein and antioxidant content as well as the evaluation of the antioxidant by different (DPPH, ABTS, Pouvoir réducteur, CUPRAC, FRAP et Ferrozine) and anti-inflammatory (anti-hemolytic test) activities of a few samples of royal jelly. The antioxidant content (polyphenols, flavonoids) and antioxidant activity generally vary from one extract to another. Royal jijel jelly (sample from G8) has the best parameters in antioxidants (23.63 mg EAG / 100 g for polyphenols; 8.79 mg EQ / 100 g for flavonoids) and in antioxidant activity. However, kenchela royal jelly (sample G3) recorded the lowest parameters (12.32 mg EAG / 100 g; 3.67 mg EQ / 100 g), respectively for the antioxidants. These variations are mainly due to the botanical origin and the climate of the samples analyzed. Many positive correlations are observed between antioxidants and the antioxidant activities of ethanolic extracts of royal jelly. The samples of royal jelly analyzed exert an important anti-inflammatory activity which varies from 6.93 to 34.28% and it is mainly related to their protein concentrations.

**Keywords:** Royal jelly; Antioxidants; Antioxidant activity; Proteine & Anti-inflammatory activity.

## المخلص

غذاء ملكات النحل هو منتج نحل ينتجه النحل من النوع *Apis mellifera*. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم جودة غذاء ملكات النحل من خلال تحديد محتوى البروتين ومضادات الأكسدة وكذلك تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات في عينات قليلة من غذاء ملكات النحل.

يختلف محتوى مضادات الأكسدة (البوليفينول والفلافونويد) والنشاط المضاد للأكسدة بشكل عام من مستخلص إلى آخر. يحتوي غذاء جيجل الملكي (عينة من G8) على أفضل المعايير في مضادات الأكسدة (23.63 مجم EAG / 100 مجم للبوليفينول ؛ 8.79 مجم EQ / 100 مجم للفلافونويد) وفي نشاط مضادات الأكسدة. ومع ذلك، سجلت خنشلة غذاء ملكات النحل (العينة G3) أدنى المعلمات (12.32 مجم EAG / 100 مجم؛ 3.67 مجم EQ / 100 مجم) على التوالي) لمضادات التعرق. ترجع هذه الاختلافات بشكل أساسي إلى الأصل النباتي ومناخ العينات التي تم تحليلها. لوحظت العديد من الارتباطات الإيجابية بين مضادات الأكسدة وأنشطة مضادات الأكسدة للمستخلصات الإيثانولية من غذاء ملكات النحل، وممارسات غذاء ملكات النحل التي تم تحليلها نشاطاً تجارياً مضاداً للالتهاب من 6.93 إلى تحليلها

الكلمات المفتاحية: غذاء ملكات النحل؛ مضادات الأكسدة؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ بروتين؛ نشاط مضاد للالتهاب.