

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Laboratoire de recherche: Biotechnologies, Environnement et Santé

THÈSE DE DOCTORAT 3^{ème} cycle (LMD)

En Biologie

Spécialité : Biologie et Santé

CARACTÉRISATION DE L'HUILE DE L'ARGANIER DE TINDOUF

OBTENUE TRADITIONNELLEMENT ET ÉTUDE DE QUELQUES

ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

PAR

Soumia Hakima LETTREUCH

Devant le jury composé de :

R. MOHAMED SAID	MCA USD Blida-1	Président
N. SAADOUN	Professeur UMM Tizi Ouzou	Examinatrice
W. HAMZI	MCA USD Blida-1	Examinatrice
F. SAIDI	Professeur USD Blida-1	Directrice de thèse

Blida, 2024

RESUME

L'huile d'argan est extraite des fruits d'*Argania spinosa*, qui est un arbre fruitier forestier xérophile avec un statut d'endémisme Algéro-marocain. Il constitue une source à usages multiples qui excite depuis longtemps la curiosité des chercheurs. Dans l'intention de participer au développement de cette essence naturelle d'intérêt économique et nutritionnel, nous avons réalisé cette modeste étude. Pour cela, nous avons réalisé la caractérisation physico-chimique de l'huile de l'arganier de Tindouf extraite traditionnellement, l'identification de sa composition chimique et l'étude de quelques activités biologiques.

L'analyse physico-chimique nous permet de classer l'huile d'argan de Tindouf, comme une huile « vierge » courante selon la norme marocaine de classification.

L'utilisation de techniques fines telles que la chromatographie gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC-MS), la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) nous ont permis de révéler la richesse de la fraction insaponifiable en acides gras insaturés (environ 80%), majoritairement les acides oléiques et linoléiques suivis par les acides gras saturés (environ 20%). La chromatographie à phase liquide à haute performance (HPLC) a révélé qu'elle est composée de triglycérides (TG) répartis en cinq TG majeurs : OOL (15,78 %), LLO (14,55 %), SLL (11,95 %), POO (11,20 %) et OOO (11,04%).

La fraction insaponifiable constitue environ (1%) de la matière grasse de l'huile d'argan. La chromatographie à phase liquide à haute performance (HPLC) a contribué à déterminer un taux en tocophérols de 750,52 mg/kg d'huile ; nous avons pu identifier et quantifier trois isomères : Le γ -tocophérol (640,79 mg/kg d'huile), α -tocophérol (75,23 mg/kg d'huile) et le δ -tocophérol (34,49 mg/kg d'huile). L'évaluation par dosage colorimétrique des polyphénols donne une valeur égale à 0,510 mg EAG/g .

L'activité antimicrobienne de l'huile d'argan étudiée, réalisée sur des bactéries et levures, montre que l'huile n'influence pas leur croissance, d'où l'absence de l'effet inhibiteur.

L'huile d'argan extraite traditionnellement présente, in vitro, une légère activité de piégeage du radical libre DPPH. Les valeurs de la IC 50 enregistrées sont égales à 64.136 ± 0.341 mg/ml et $0,120 \pm 00$ mg/ml pour l'huile d'argan et l'acide ascorbique respectivement.

Mots clés : *Argania spinosa*, huile d'argan, activité antimicrobienne, activité de piégeage du radical libre DPPH.

ABSTRACT

The argan oil is extracted from the fruits of *Argania spinosa*, which is a xerothermophilic forest fruit tree with Algerian-Moroccan endemism status. It constitutes a multi-use source which has long excited the curiosity of researchers. With the intention of participating in the development of this natural essence of economic and nutritional interest, we carried out this modest study. For this, we carried out the physicochemical characterization of the traditionally extracted Tindouf argan oil, the identification of its chemical composition and the study of some biological activities

The physicochemical analysis allows us to classify Tindouf argan oil as a common “virgin” oil according to the Moroccan classification standard.

The use of fine techniques such as gas chromatography coupled with mass spectrophotometry (GC-MS), gas chromatography coupled with a flame ionization detector (CPG-FID) allowed us to reveal the richness of the unsaponifiable fraction in unsaturated fatty acids (around 80%), mainly oleic and linoleic acids followed by saturated fatty acids (around 20%). High-performance liquid chromatography (HPLC) revealed that it is composed of triglycerides (TG) divided into five major TG: OOL (15.78%), LLO (14.55%), SLL (11.95%), OOP (11.20%) and OOO (11.04%).

The unsaponifiable fraction constitutes approximately (1%) of the fat in argan oil. High-performance liquid chromatography (HPLC) helped determine a tocopherol level of 750.52 mg/kg of oil; we were able to identify and quantify three isomers: γ -tocopherol (640.79 mg/kg of oil), α -tocopherol (75.23 mg/kg of oil) and δ -tocopherol (34.49 mg/kg of oil). Evaluation by colorimetric determination of polyphenols gives a value equal to 0.510 mg EAG/g.

The antimicrobial activity of the argan oil studied, carried out on bacteria and yeasts, shows that the oil does not influence their growth, hence the absence of the inhibitory effect.

Traditionally extracted argan oil presents, in vitro, a slight DPPH free radical scavenging activity. The IC 50 values recorded are equal to 64.136 ± 0.341 mg/ml and 0.120 ± 00 mg/ml for argan oil and ascorbic acid respectively.

Keywords: *Argania spinosa*, argan oil, antimicrobial activity, DPPH free radical scavenging activity.

ملخص

زيت الأركان يتم استخراجه من ثمار شجرة أرغانيا سبينوزا، وهي شجرة غابية مثمرة مقاومة للحرارة، وتعتبر الجزائر والمغرب موطنها الأصلي. وتعد هاته الشجرة مصدرًا متعدد الاستخدامات أثار فضول الباحثين منذ فترة طويلة، وبهدف المشاركة في تنمية هذا الجواهر الطبيعي ذي الأهمية الاقتصادية والغذائية، قمنا بهذه الدراسة المتواضعة. ولذلك تم اجراء التحليل الفيزيوكيميائي لزيت أركان تندوف المستخرج تقليديا، وتحديد تركيبته الكيميائية، ودراسة بعض الأنشطة البيولوجية.

يتيح لنا التحليل الفيزيوكيميائي تصنيف زيت أركان تندوف كزيت "بكر" حسب معيار التصنيف المغربي.

إن استخدام التقنيات الدقيقة مثل (GC-MS)، (CPG-FID) سمح لنا بالكشف عن ثراء الجزء غير القابل للتصبن بالأحماض الدهنية غير المشبعة (حوالي 80%)، وبشكل رئيسي أحماض الأوليك واللينوليك، تليها الأحماض الدهنية المشبعة (حوالي 20%). كشف التحليل بواسطة (HPLC) عن التركيب التريغليسيريدي للزيت و منه خمسة مركبات رئيسية : OOL (15.78%) ، LLO (14.55%) ، SLL (11.95%) ، OOP (11.20%) و OOO (11.04%).

يشكل الجزء غير القابل للتصبن حوالي (1%) من الدهون الموجودة في زيت الأركان. وقد ساعد التحليل بواسطة (HPLC) في تحديد نسبة التوكوفيرول حيث بلغ نسبة (750.52 ملغ/كغ) ؛ تمكنا من تحديد ثلاثة أيزومرات وقياسها: دالتا-توكوفيرول (640.79 ملغم /كغ)، ألفا-توكوفيرول (75.23 ملغ/كغ) وغاما-توكوفيرول (34.49 ملغ/كغ م). تقييم نسبة المركبات الفينولية أعطى قيمة تساوي 0.510 ملغ/EAG جم.

نتائج النشاط المضاد للميكروبات لزيت الأركان على البكتيريا والخمائر، أظهر أن الزيت لا يؤثر على نموها، وبالتالي عدم وجود التأثير المثبط له.

يقدم زيت الأركان المستخرج تقليديًا- في المختبر- نشاطًا طفيفًا لمحاصرة الجذور الحرة DPPH. قيم IC₅₀ المسجلة تساوي 64.136 ± 0.341 ملغ / مل و 0.120 ± 00 ملغم / مل لزيت الأركان وحمض الأسكوربيك على التوالي.

الكلمات المفتاحية: أرغانيا سبينوزا، زيت الأركان، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط DPPH للجذور الحرة.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse, **Professeur SAIDI Fairouz**, directrice de laboratoire de recherche de Biotechnologies, Environnement et Santé, pour son soutien inébranlable, son expertise et ses conseils avisés tout au long de ce parcours de recherche. Sa patience, sa disponibilité et son engagement ont été essentiels à l'aboutissement de cette thèse. Merci de m'avoir accordé votre confiance durant toutes ses années.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance et mes sincères remerciements aux honorables membres du jury :

Docteur MOHAMED SAID R., de l'université de Blida 1, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

Le **professeur SAADOUN N.**, de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou et **Docteur HAMZI W.**, de l'université de Blida 1, pour avoir accepté de consacrer leur temps à évaluer ce travail.

Ma profonde gratitude à Docteur. **José Maria Castellano**, de l'institut de la Grasa-CSIC, Séville, Espagne, qui me fait l'honneur de m'accueillir au niveau de son laboratoire de recherche, il m'a été d'une aide très précieuse et considérable. Sa gentillesse, sa compétence, son expérience, ses connaissances et son appétence pour le domaine ont très fortement contribué au présent travail.

Un chaleureux remerciement à Docteur **M, C, Perez-Camino**, de l'institut de la Grasa-CSIC, Séville, Espagne, pour sa disponibilité et son aide précieuse lors de la réalisation de la partie expérimentale du travail.

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble du personnel du groupe « ANTIBIOTICAL » SAIDAL–Medea et du laboratoire d'hygiène et de référence de la Wilaya de Blida pour leurs aides.

Je suis reconnaissant également envers le personnel de la direction de la conservation des forêts de la wilaya de Tindouf de m'avoir accueilli et d'avoir soutenu ce projet.

Mes remerciements vont également à mes collègues et amis qui m'ont soutenu tout au long de cette aventure, pour leur soutien moral et leurs encouragements, dont une pensée très particulière à mon amie **Dr. Rahma**

LOUKHAOUKHA, à ma nièce **Sarah**, son époux **Fazil** et mon beau-frère **Abdenour** qui m'ont été d'une aide très précieuse et considérable.

En fin, que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail trouvent dans ces lignes l'expression de ma reconnaissance et mes sentiments les plus chaleureux.

DEDICACES

À la mémoire de ma source d'inspiration, mon premier enseignant qui m'a toujours encouragé et soutenu, mon très cher papa. Tu as été ma source de force et de motivation, tu as allumé la flamme de la curiosité et de la persévérance qui m'ont guidé tout au long de ce voyage académique. Même en ton absence, ton esprit bienveillant continue de me donner la force de poursuivre mes rêves avec détermination et passion. À travers ce travail, je souhaite honorer ton héritage et rendre hommage à l'amour inconditionnel que tu as toujours manifesté envers moi. Ta sagesse et ton soutien resteront gravés dans mon cœur pour l'éternité.

À ma très chère maman, la source de tendresse, tes prières et bénédictions ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études et surtout mon doctorat. Ton soutien indéfectible a illuminé mon chemin. Ta présence bienveillante a été ma plus grande force, et c'est avec un profond respect et une immense affection que je te dédie ce travail. Que le Bon Dieu te préserve et t'accorde santé et longue vie.

A mon mari, merci Mourad pour ton soutien et ta patience. A ma lune Israa et mes deux étoiles Imad et Lyad, vous avez été ma source de motivation quotidienne, me rappelant constamment l'importance de persévérer et de travailler dur pour atteindre mes objectifs.

À mes deux frères bien-aimés, professeur Abderaouf et Dr. Mounir, à travers les hauts et les bas de cette aventure académique, votre soutien inconditionnel a été ma bouée de sauvetage. Votre encouragement constant et vos mots de réconfort ont été une source de force et de motivation inestimable. A mes très chères sœurs : Nassima, Leila, Nesrine et ma jumelle Asmaa, cette thèse est dédiée à vous, avec une profonde gratitude et un amour infini. Puissions-nous continuer à partager nos joies, et à nous soutenir mutuellement dans tous nos projets futurs.

A mes deux beaux-frères et mes deux-belles sœurs. A toutes mes nièces et mes neveux. A mes chères amies Sihem et Chahinez.

Tous les membre de ma famille et de ma belle-famille, veuillez trouver dans cet humble travail l'expression de mon affection.

TABLE DES MATIERES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

REMERCIEMENTS

DEDICACES

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	15
CHAPITRE 1 : Revue bibliographique	17
1.1. Généralités sur l'Arganier	17
1.1.1. Historique	17
1.1.2. Répartition géographique	18
1.1.3. Taxonomie et description botanique	20
1.1.4. Ecologie de l'arganier	25
1.1.5. Importance et utilisation de l'arganier	26
1.2. L'huile d'argan	29
1.2.2. Etude analytique de l'huile d'argan	32
1.2.3. Les utilisations de l'huile d'argan	43
1.2.4. Propriétés prouvées scientifiquement de l'huile d'argan	45
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	48
2.1. Matériel biologique	48
2.1.1. Matériel végétal	48
2.1.2. Souches microbiennes	49
2.1.3. Matériel non biologique	49
2.2. Méthodes	49
2.2.1. Extraction de l'huile d'argan	49

2.2.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile d' <i>Argania spinosa</i>	52
2.2.3. Etude de la composition chimique de l'huile d' <i>Argania spinosa</i>	60
2.2.4. Etude des activités biologiques de l'huile d'argan	66
2.2.5. Analyses statistiques	70
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	71
3.1. Propriétés physico-chimiques de l'huile du fruit d'argan	71
3.1.1. La densité	71
3.1.2. L'indice de réfraction	72
3.1.3. La couleur	72
3.1.4. Coefficients d'extinction spécifique dans UV	72
3.1.5. Indice d'acide et acidité	73
3.1.6. Indice de peroxyde	74
3.1.7. Indice de saponification	76
3.1.8. Indice d'iode	76
3.1.9. Teneur en eau et matières volatiles de l'huile	77
3.2. La composition chimique de l'huile d' <i>Argania spinosa</i>	78
3.2.1. La fraction saponifiable	79
3.2.2. La fraction insaponifiable	86
3.3. Etude des activités biologiques de l'huile d'argan	90
3.3.1. Résultats de l'activité antimicrobienne	90
3.3.2. Résultats de l'activité antioxydante	92
CONCLUSION	95
APPENDICES	
REFERENCES	

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure 1.1 :	Aire de répartition de l'arganier au Maroc	19
Figure 1.2 :	Aire de répartition de l'arganier dans la région de Tindouf (Algérie)	20
Figure 1.3 :	Aspect général de l' <i>Argania spinosa</i>	21
Figure 1.4 :	Ecorce de l'arganier	22
Figure 1.5 :	Feuilles de l'arganier	23
Figure 1.6 :	Fleur de l'arganier	24
Figure 1.7 :	Parties du Fruit de l'arganier a : fruit mur, b : fruit sec, c : noyau	24
Figure 1.8 :	Système racinaire de l'arganier	25
Figure 1.9 :	Les étapes d'extraction artisanale de l'huile d'argan	30
Figure 1.10 :	Les machines utilisées pour l'extraction de l'huile d'argan	31
Figure 1.11 :	Formules développée des principaux acides gras des huiles végétales	34
Figure 1.12 :	Structure chimique des xanthophylles : lutéine et zéaxanthine	37
Figure 1.13 :	La structure chimique du Schotténol et du Spinastérol	38
Figure 1.14 :	Structure de Tocol et de la chaîne phytol	40
Figure 1.15 :	Structure de tocophérols	40
Figure 1.16 :	Structure chimique de quelques composés phénoliques isolés de l'huile d'argan	42
Figure 1.17 :	Alcools triterpéniques de l'huile d'argan	43
Figure 2.1 :	Fruits d' <i>Argania spinosa</i> mûrs	48
Figure 2.2 :	Etapes d'extraction de l'huile d'argan traditionnellement	50

Figure 2.3 :	Huile d'argan obtenue traditionnellement	52
Figure 3.1 :	Profil chromatographique de CPG-FID de l'analyse des acides gras de l'huile d'argan	78
Figure 3.2 :	Profil chromatographique de l'analyse des acides gras par la CG-MS de l'huile d'argan	80
Figure 3.3 :	Composition de l'huile d'argan en triglycérides	83
Figure 3.4 :	Profil chromatographique des tocophérols de l'huile d'argan	86
Figure: 3.5 :	Antibiogramme sur milieu solide de l'huile d' <i>Argania spinosa</i>	91
Figure 3.6 :	Pourcentage d'inhibition de l'huile d' <i>Argania spinosa</i>	92
Figure 3.7 :	Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique	93
Figure 3.8 :	Les valeurs de l'IC50	94
Tableau 1.1 :	Caractéristiques physicochimiques de l'huile d'argan vierge selon la Norme Marocaine	33
Tableau 1.2 :	Pourcentage d'acides gras dans l'huile d'argan selon la norme marocaine	35
Tableau 1.3 :	Les triglycérides de l'huile d'argan	36
Tableau 1.4 :	Composition en stérols de l'huile d'argan	49
Tableau 1.5 :	Les tocophérols de l'huile d'argan	41
Tableau 1.6 :	Composés phénoliques quantifiés de l'huile d'argan	42
Tableau 3.1 :	Caractéristiques physicochimiques de l'huile d'argan étudiée	78
Tableau 3.2 :	Le pourcentage des acide gras de l'huile d'argan	79
Tableau 3.3 :	Composition de l'huile d'argan en triglycérides (%)	85

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les ressources naturelles qui approvisionnent les matières premières essentielles pour la pharmacologie et l'industrie cosmétique et agro-alimentaire commencent à stimuler le monde entier [1] . Parmi ces ressources, la famille diversifiée des huiles végétales issues des fruits ou de graines oléagineuses. Ces huiles occupent une place cruciale à la faveur de leurs riches compositions chimiques qui présentent des propriétés nutraceutiques, biologiques et thérapeutiques appréciables [2,3].

La chimie écologique qui cherche à promouvoir une approche durable et renouvelable donne une grande importance aux huiles végétales. Parmi ces huiles récemment trop demandées, l'huile d'argan, extraite des amandes de fruits d'*Argania spinosa*, qui est exploitée en cosmétologie et a été également traditionnellement utilisée comme huile culinaire [4].

Argania spinosa (L.) Skeels est un arbre endémique du Maroc et du sud-ouest algérien (région de Hamada de Tindouf), représentant de la famille des Sapotaceae. C'est une espèce qui pousse dans les zones arides et semi-arides, très résistante à la sécheresse et à la chaleur. Cet arbre forestier, fruitier et fourrager constitue une source de richesse naturelle à multi-usage où il joue un rôle environnemental capital et un rôle socio-économique cruciale surtout au Maroc dont il forme une couverture végétale naturelle très importante [5,6]. Cette essence botanique présente en Algérie une aire de répartition qui ne cesse d'augmenter, après avoir eu des reculs, grâce aux efforts fournis par les spécialistes ainsi que le service de conservation des forêts.

La richesse de la composition chimique de cette huile précieuse pourvue en acides gras mono et poly insaturés (oméga 6 et oméga 9), qui sont des composés majoritaires. La présence des biomolécules dans sa fraction insaponifiable, a été et elle est toujours une curiosité scientifique pour les chercheurs [7, 8]. Ces composés sont connus par leurs vertus cosmétiques et leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques remarquables, que ce soit, l'huile

extraite des amandes non torréfiées dite cosmétique et pour l'huile comestible extraite des amandes torréfiées [9,8].

L'huile d'argan étant le principal produit de l'arganier qui est considéré comme une source économique. Ce travail, participe à la valorisation et à la préservation de l'huile d'argan locale sous exploitée, négligée et méconnue même par les autochtones de la région du sud-ouest algérien.

Par le biais de cette étude nous avons ciblé la caractérisation des paramètres physico-chimiques de l'huile d'argan de Tindouf extraite traditionnellement, à identifier sa composition chimique et à tester quelques effets biologiques.

Les différentes analyses et testes de ce travail ont été effectués au niveau du laboratoire de biotechnologies, environnement et santé de l'université de Blida 1, au laboratoire « AGR-130, bioactive compounds, nutrition and health » de l'institut de la Grasa-CSIC, Séville (Espagne) au centre de recherche scientifique et technique en analyses physicochimiques (CRAPC), Bou Ismail (Algérie), au laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida (Algérie) ainsi qu'au sein de laboratoire de physicochimie du complexe Antibiotical, SAIDAL de Médéa (Algérie) dont les objectifs sont :

- La caractérisation physico-chimique de l'huile d'argan locale extraite traditionnellement a fin de la classifiée.
- L'étude biochimique par l'identification des molécules des deux fraction saponifiable (acides gras et triglycérides) et insaponifiable (tocophérols et polyphénols) de l'huile d'argan locale extraite traditionnellement, par des méthodes chromatographiques et colorimétriques.
- L'évaluation de quelques activités biologiques de cette huile extraite traditionnellement : l'étude de de l'activité antimicrobienne et de l'activité antiradicalaire.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : Revue bibliographique

1.1. Généralités sur l'arganier

1.1.1. Historique

L'arganier est répandu sur une grande partie du Maroc, au quaternaire, il aurait été refoulé au sud-ouest suite à l'invasion glaciaire. Il s'agirait d'un endémisme d'espèce relativement restreint [10, 11]. Selon [12], l'arganier de Tindouf formait, probablement à l'origine une même unité écologique avec celle du Maroc qui couvrait de vastes territoires.

Les premiers écrits sur l'arganier sont ceux de géographes et savants arabes qui ont étudié l'arganier de la région du Maghreb. En 1219, le célèbre médecin égyptien, Ibn-Al-Baytar, dans son ouvrage « Traité des simples » traduit en français par le Dr Leclerc en (1877-1883), parle de l'arganier et le décrit comme un arbre de haute taille, épineux, donnant un fruit du volume d'une amande, contenant un noyau d'où on extrait l'huile pour l'utiliser dans les préparations alimentaires [13].

Ce n'est qu'en 1737 que la première description spécifique dans le genre *Rhammus*, sous le nom de *Sideroxylon spinosum* fut donnée par CARL VON LINNE à partir seulement de rameaux séchés sans fleurs dans "*Hortus Clifortianus*". Cette description veut dire bois de fer (*Sideroxylon*) [10].

En 1819, ROEM et SHOULT créent le genre *Argania*, qui appartient à la famille des Sapotaceae. Ce monotype ne comprend qu'une seule espèce, *Argania spinosa* [14].

En 1888, Coton isole un principe actif du tourteau du fruit de l'arbre l'identifie comme un mélange de saponines et l'appelle Arganine. En 1929, Battino s'intéresse à l'huile d'argan et à d'autres produits de l'arganier en particulier l'Arganine isolée par Coton et à laquelle il prête une action hémolytique in vivo et in vitro [15].

En Algérie (Tindouf), l'arganier a été découvert suite à un vœu de reboisement par la population locale par des espèces autochtones. La population avait indiqué que des espèces locales existaient, donnaient satisfaction car elles se reproduisaient sans difficultés. Selon [5], Peltier (1983) avait signalé que l'arganier existait dans le Sahara occidental algérien entre le Jebel Ouarkiz et la hamada de Tindouf mais il n'avait pas donné son relevé phytosociologique.

L'Organisation des Nations Unies pour l'Education, la Science et la Culture (UNESCO) a déclaré l'arganeraie Réserve de la Biosphère en 1998 et elle l'a ajouté à la liste de l'héritage mondial [16].

1.1.2. Répartition géographique

Argania spinisa (L.) Skeels arbre endémique du Maroc et du Sud-Ouest Algérien, constitue une source de richesse naturelle bien connue.

- Au Maroc :

L'arganier couvre une superficie estimée à 800 000 ha (à peu près 21 millions d'arbres). Il constitue la deuxième essence forestière du Maroc, après le chêne vert et juste avant le thuya [17].

Son aire géographique principale s'étend entre les embouchures de l'Oued Tensif (au Nord) jusqu'à celle de l'Oued Soussen (au Sud), soit entre 29° et 32° de latitude Nord. Ainsi, il évolue dans une grande partie de la plaine du Sousse, sur le versant sud du Haut Atlas et sur le versant Nord de l'Anti-Atlas (figure 1.1). La limite sud de la forêt d'arganier se situe aux environs de l'Oued Noune [18] .

Deux petites stations sont signalées dans la région Nord-Est Marocaine et dans le piémont nord-ouest des Béni-Snassen, près d'Oujda. Ces deux stations, très isolées, résulteraient d'une dispersion assez récente, probablement due à l'homme [19].

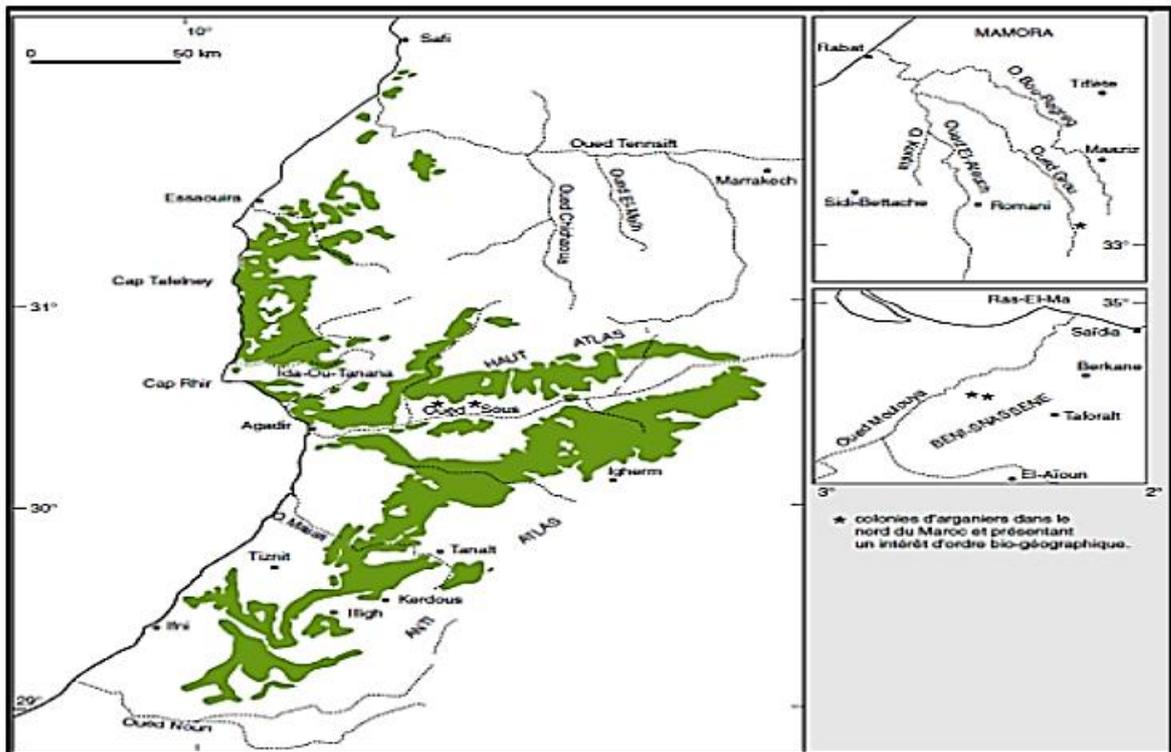


Figure 1.1 : Aire de répartition de l'arganier au Maroc [19]

- En Algérie

L'arganier Algérien couvre les marges les plus extrêmes de son aire de distribution, dans la partie occidentale du Sahara algérien et la partie Nord de la wilaya de Tindouf, précisément entre le djebel Ouarkziz et la hamada de Tindouf comprise entre 28° N et 8° W. [20,21]. L'arganeraie est localisée le long des berges des oueds et ses affluents (d'Oued El-ma (cours d'eau principale), Oued Elghahouane, Oued Bouyaddine, Oued El-khebi, Oued Merkala et Oued Targant).

La distribution des populations d'arganier a été déterminée sur la carte en trois unités hydro géographiques, selon KECHAIRI, la superficie totale est de 90644 ha. Elle est représentée principalement par trois périmètres, Touaref Bou-âam avec une superficie de 63590 ha, Merkala avec une superficie de 8764 ha et Targant avec une superficie 18290 ha [22].

Il existe aussi quelques essais d'introduction réussis de cet arbre dans de nombreux endroits du pays comme la région de Stidia (Wilaya de Mostaganem), de Chlef, de Sig (Mascara) et de l'INA d'El Harrach [23].

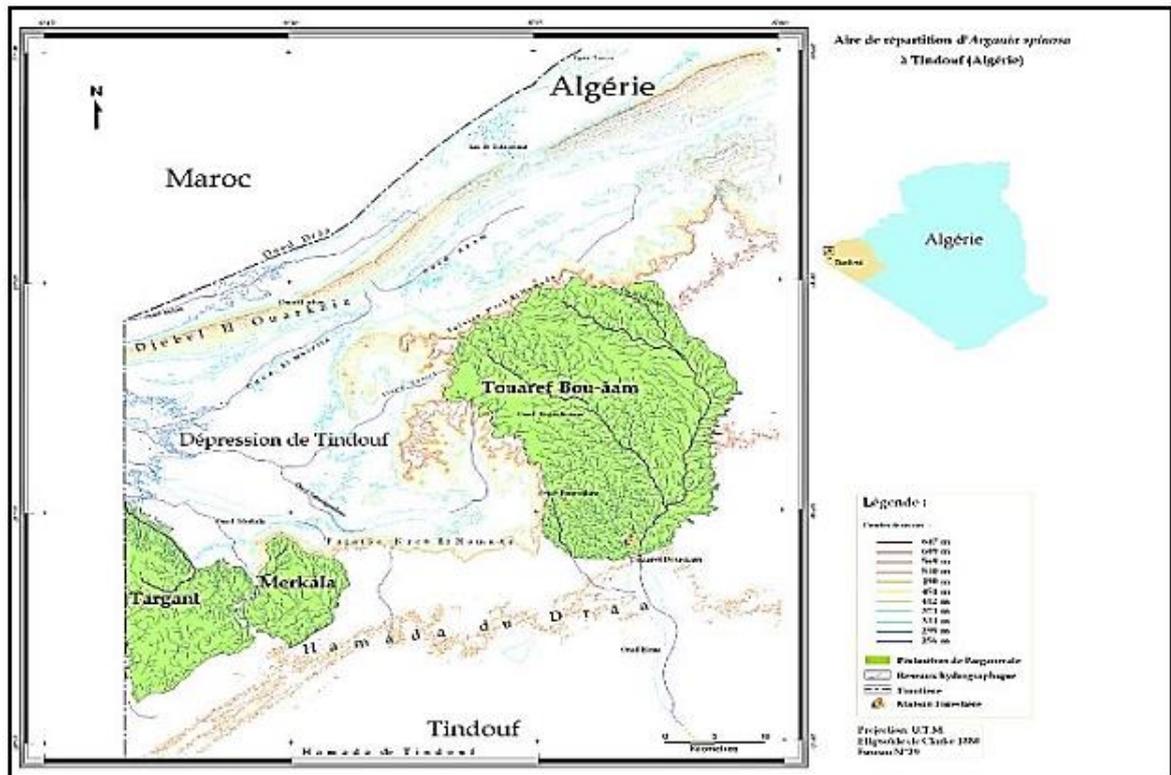


Figure 1.2 : Aire de répartition de l'arganier dans la région de Tindouf (Algérie) [22]

- Dans le monde :

Vu l'intérêt écologique de l'arganier, certains pays l'ont introduit pour enrichir leur patrimoine forestier, notamment : la Hollande (1697), l'Angleterre (1711), la France (1852), les Etats Unis (1927), la Tunisie et la Libye (Golfe de Syete) [13, 5].

1.1.3. Taxonomie et description botanique

1.1.3.1. Taxonomie

L'arganier est le seul représentant, en Algérie et au Maroc, de la famille tropicale des Sapotaceae. Dans un premier temps, l'arganier a été dénommé *Sideroxylon spinosum* par LINNE (1737). Puis Røemer et Schultes lui ont donné le nom d'*Argania Sideroxylon* du nom berbère et arabe où argan et le nom de sideroxylon qui se justifie par un bois extrêmement dur. C'est un arbre très résistant qui peut vivre de 150 à 200 ans [12].

Cette essence est connue sous les noms vernaculaires suivants tels que l'arganier, l'argan et le bois de fer. Sa classification botanique selon l'APG III [24], se présente comme suit :

Règne : Plantae

Clade : Angiospermes

Clade : Eudicotylédones

Clade : Rosidées

Ordre : Sapindales

Famille : Sapotaceae

Genre : *Argania*

Espèce : *Argania spinosa* (L.) Skeels

1.1.3.2. Description botanique

Argania spinosa est un arbre fruitier-forestier oléagineux, épineux d'où le nom d'espèce « spinosa », dont la taille peut atteindre 8 à 10 mètres de hauteur. Cet arbre se caractérise par un polymorphisme remarquable qui varie selon les lieux géographiques, les conditions pédoclimatiques du milieu et les stades de développement de l'arbre (Figure 1.3).



Figure 1.3 : Aspect général de l'*Argania spinosa* (originale)

Le tronc est court et très vigoureux. L'écorce rugueuse craquelée en « peau de serpent » (Figure 1.4), permet aux chèvres de grimper dans la couronne pour brouter les feuilles et les fruits [25, 26].

La cime est très large et étalée, dense et à contours arrondis.

Les tiges sont entrelacées et possèdent une ramification qui commence à environ 1 m du sol.

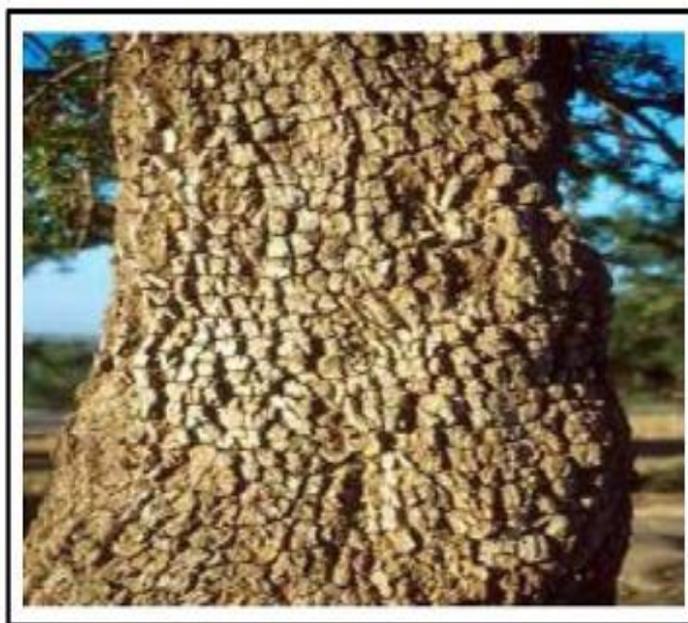


Figure 1.4 : Ecorce de l'arganier [27]

Le bois est très dur mais ne possède pas de cernes annuels nettement caractérisés en raison de sa croissance irrégulière, d'où la difficulté de déterminer l'âge de l'arganier. [27]. Les feuilles vertes alternes sont sub-persistantes.

Ainsi, en cas de grande sécheresse l'arbre peut perdre transitoirement ses feuilles. Ces dernières sont réunies en fascicules, lancéolées ou spatulées longues de 2 à 3 cm, sombres à la face supérieure et pâles sur leurs faces inférieures. Les feuilles présentent une nervure médiane très nette et des nervures latérales très fines et ramifiées (Figure1.5) [26, 22].

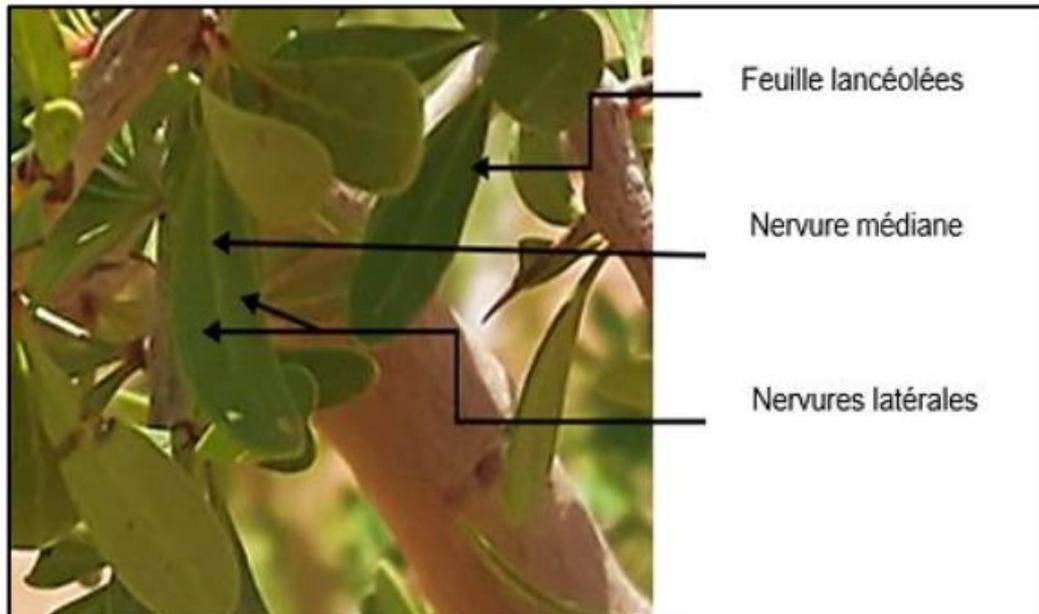


Figure 1.5 : Feuilles de l'arganier (originale)

Les fleurs jaune-verdâtres à blanchâtres, pentamères sont hermaphrodites [28] (Figure 1.6). Elles éclosent au printemps en petits glomérules, à l'aisselle des feuilles. Le calice et la corolle gamopétale à lobes imbriqués sont respectivement constitués de cinq sépales et de cinq pétales. L'androcée est formé de cinq étamines à filets courts. L'ovaire ovoïde comprend cinq carpelles. Les ovules sont basilaires ou axiaux, surmontées d'un style conique ne renfermant que 2 ou 3 carpelles uniovulés. L'ovaire velu donne, à maturité, une baie verte de la taille d'une grosse olive [29,30].

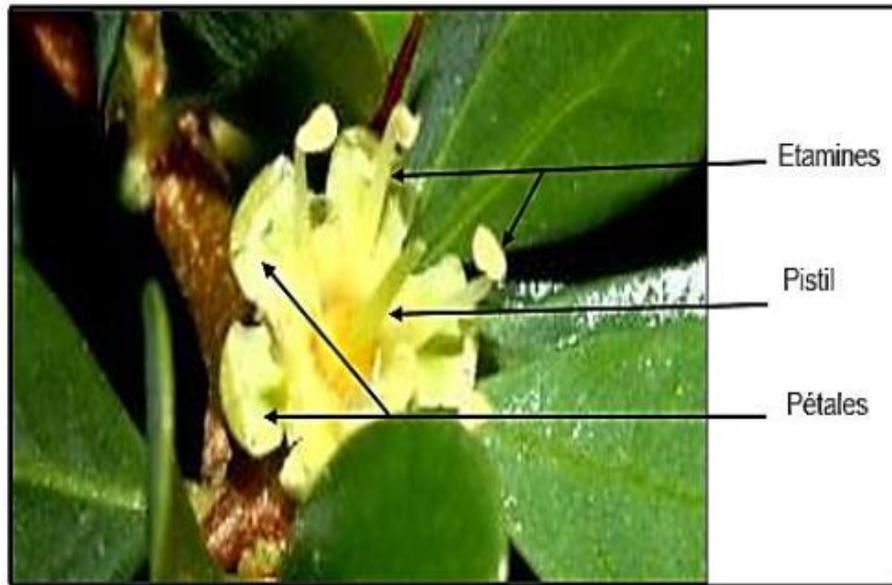


Figure 1.6: Fleur de l'arganier [27]

Le fruit est une baie sessile de forme ovale, arrondie ou globuleuse qui atteint à maturité la grosseur d'une noix de couleur jaune parfois vernis de rouge. Il est formé d'un péricarpe charnu ou pulpe qui recouvre un noyau, où sont incluses les graines généralement soudées. Le noyau central est très dur, comprenant 1 à 3 amandes gorgées d'huile (Figure 1.7) [31]. Le fruit entier est composé de 43% à 50% de pulpe , 50% à 55 % de coque et de 4,4% à 7,1% d'amande [32].

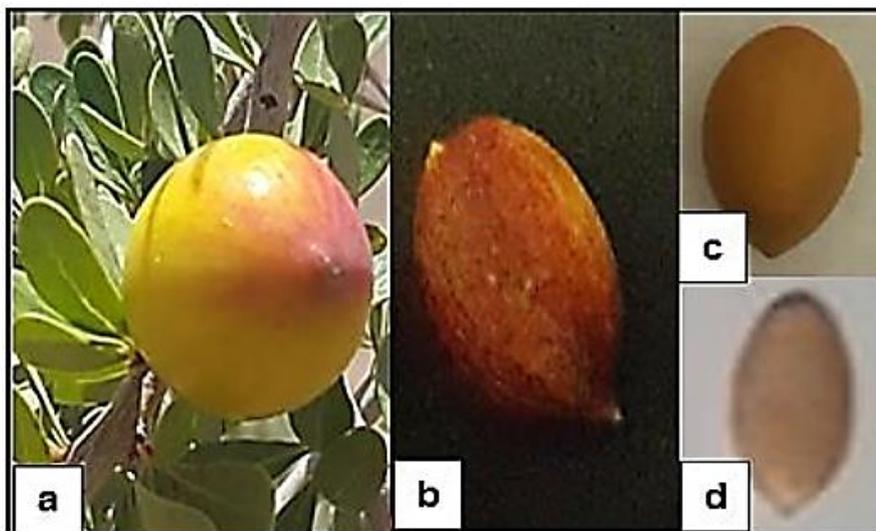


Figure 1.7 : Parties du Fruit de l'arganier a : fruit mur, b : fruit sec, c : noyau
d : amandon (originale)

Les racines de l'arganier sont des racines en pivot, magniloïdes dépourvu des poils absorbants, très profondes donnant à l'arbre la capacité de puiser l'eau à de grandes profondeurs et traçant sur des substrats rocheux ; ce qui permet à l'espèce de s'adapter aux conditions sévères du milieu (figure1.8). Pour assurer son alimentation en eau et en sels minéraux, l'arbre profite d'une relation symbiotique avec des endomycorhizes à arbuscules appartenant surtout à l'ordre des Glomales [33,12,34].

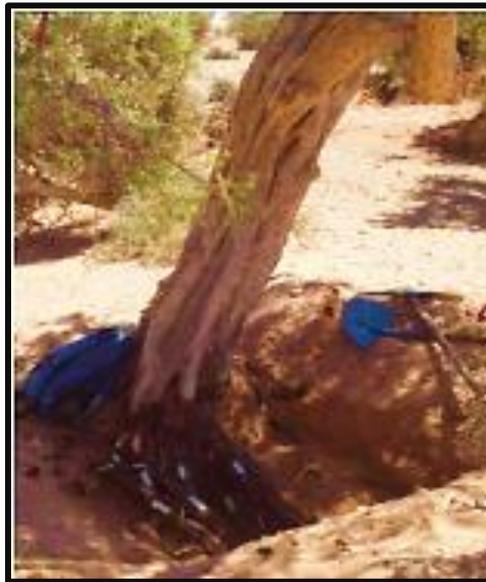


Figure 1.8 : Système racinaire de l'arganier [35]

1.1.4. Ecologie de l'arganier

L'arganier est un arbre des bioclimats semi-aride chaud à aride chaud, tempéré, voire saharien. C'est une essence xérophile résistante, Il peut en effet supporter des températures allant jusqu'à 50°C et se contenter d'une pluviométrie très faible. Il peut avoir une longévité de 200 ans. L'arganier pousse sur tous les types de sols, même les sols salés. On le retrouve sur les schistes, les roches calcaires et les alluvions. Ainsi l'arganier semble supporter une large gamme de pH allant de 4.6 à 7.5 [11]. Par ailleurs, il se développe à des altitudes allant du niveau 0 (niveau de la mer) à 1500 m.

Grâce à son système racinaire puissant et profond, l'arganier Contribue au maintien du sol, entretient sa fertilité, le protège contre l'érosion hydrique et permet de lutter contre l'avancée du désert ce qui lui confère un rôle irremplaçable dans l'équilibre écologique [36,37].

1.1.5. Importance et utilisation de l'arganier

Argania spinosa est un arbre de grande importance dont l'homme et l'animale bénéficient de la puissance résistance et de la générosité de cet arbre à usage multiple, chaque partie ou production de l'arbre est utilisable car c'est une source de revenus ou de nourriture pour l'usager. En même temps, cet arbre est très rustique et se considère comme un rempart contre la désertification dans les zones pré sahariennes.

1.1.5. 1. Importance environnementale

L'importance environnementale vitale de l'arganier est dans le maintien de l'équilibre écologique et dans la préservation de la biodiversité. L'arganier contribue au maintien du sol et permet de lutter contre les effets néfastes des ruissellements, des pluies occasionnelles et fortes, et des vents violents et fréquents [28,38]. [39,40] évoquent que la présence de l'arganier dans les bordures des Oueds permet de stabiliser les cours d'eau et de régulariser leurs écoulements. De plus, il enrichit le sol par la matière organique issue de la chute des feuilles mortes et les péricarpes secs des fruits. Par ailleurs, de nombreux espèces animales, végétales ou microbiennes sont directement liées à sa présence ce qui favorise la biodiversité dans la région [10, 41].

1.1.5.2. Importance socio-économique

L'importance socio-économique de l'arganier est remarquable, le fait qu'il régleme l'existence d'un grand nombre de la population rurale grâce à ses usages multiples. Il permet ainsi de limiter le phénomène de l'exode rural [42] Dans ce cas, l'exemple typique est l'arganeraie marocaine ou elle constitue l'unique source de vie pour des centaines de milliers d'autochtones [30].

Cette sublime essence fournit une exploitation rationnelle à travers les produits qu'elle procure :

➤ Utilisation du bois :

Le bois résistant et dur de l'arganier « bois de fer » constitue un très bon bois combustible parce qu'il est dense et se consume lentement. Il est aussi apprécié comme matériau de charpente ainsi que pour la fabrication de toutes sortes d'outils agricoles [27].

➤ Utilisation de l'huile

L'huile de fruits de l'arganier est extraite des amandes, elle est connue depuis des siècles par les autochtones, pour son utilisation dans l'alimentation en raison de son goût agréable ou comme base de produit de beauté pour la peau et les cheveux. Elle représente économiquement le produit le plus rentable de l'arganier. Cette huile est devenue aussi l'une des huiles comestibles les plus chères dans le monde. Elle est encore plus chère comme produit cosmétique et fait l'objet de plusieurs brevets cosmétiques aux États-Unis et en Europe [43,10]. Ce qui classerait cette huile dans la gamme d'aliment de luxe [44].

Au Maroc, en raison de la valorisation des produits de l'arganier et plus particulièrement l'huile d'argan, plusieurs coopératives féminines ont été créées assurant, pour des centaines de milliers d'autochtones, une importante source de revenus. Ces initiatives sont faites dans le cadre d'un programme d'appui à l'amélioration de la situation de l'emploi de la femme rurale et gestion durable de l'arganeraie [45]. La production d'huile d'argan a été estimée à 4 000 tonnes /an en moyenne [46].

➤ Utilisation comme fourrage

L'arganier est très largement utilisé pour le pâturage des troupeaux, [47] :

- Les feuilles d'arganier sont très consommées par les caprins et les camelins, représentant ainsi la principale ressource fourragère en période de sécheresse. De plus, sous l'arbre pousse un tapis herbacé où le cheptel tire une grande partie de sa nourriture [38].

- La pulpe des fruits d'arganier constitue un excellent fourrage pour le bétail dont sa valeur fourragère équivaut à 85kg d'orge pour 100kg de pulpe [48]. Elle est constituée principalement de 20% de sucres, 13% de cellulose, 6% de protéines et 2% de matière grasse vraie [49].
- Le tourteau ou le résidu de l'extraction d'huile peut être utilisé comme aliment concentré pour les bovins soumis à l'engraissement car Il est riche en glucides et en protéines [50].

1.1.5.3. Importance biologique et diététique

L'huile d'argan, vu sa richesse en plusieurs composés, constitue une source diététique de grande importance. Ces composés ont des propriétés antioxydante, antiprolifératives et anti-inflammatoires et des effets contre le cancer de la prostate [51].

Les feuilles de l'arganier sont aussi utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés anti-inflammatoires [52]. Elles sont très riches en composés triterpéniques. Les études portées sur la fraction flavonoïque ont montré la présence de la quercitrine, la myricétine et leurs hétérosides. En plus de leur activité antioxydante, ces deux flavonols présentent des propriétés antifongiques et antibactériennes remarquables [53].

Les fleurs d'arganier sont utilisées pour les soins du visage [54].

1.2. L'huile d'argan

C'est à partir des graines, qui peuvent contenir deux à trois amandes, que sera faite l'extraction de l'huile après qu'elles soient passées par une série de traitements [55].

L'huile d'argan peut être de deux types : huile alimentaire extraite à partir des amandes préalablement torréfiées pendant quelques minutes ou à usage cosmétique extraite à partir des amandes non torréfiées [56, 57].

1.2.1 Procédé d'extraction de l'huile

L'huile d'argan est extraite à partir des fruits d'arganier arrivés à maturité. Les récolteurs battent les arbres pour faire tomber les fruits où laissent monter les chèvres et les bovidés sur les arbres dont ils mangent les fruits et rejettent les graines après de la rumination [58]. Elle est extraite suivant différents procédés, soit selon la méthode traditionnelle, ou par presse ou en utilisant des solvants d'extraction.

- Extraction traditionnelle (sera détaillée dans le chapitre matériel et méthode car concernée par notre protocole expérimental)

Le rendement en huile est faible et demande un travail fastidieux : A partir de 100 kg de fruits frais et 40 à 50 heures de travail donnent 55 kg de produit séché dont on retire 25 kg de graines. Ces dernières donnent 2 à 3 kg d'amandes dont on extrait 1 à 2 kg d'huile. L'huile ainsi obtenue reste avant tout un produit d'autoconsommation destiné aux besoins alimentaires. Le même procédé (figure 1.9) est appliqué sans que les amandes soient torréfiées, l'huile qui en résulte est destinée à la cosmétique [42].

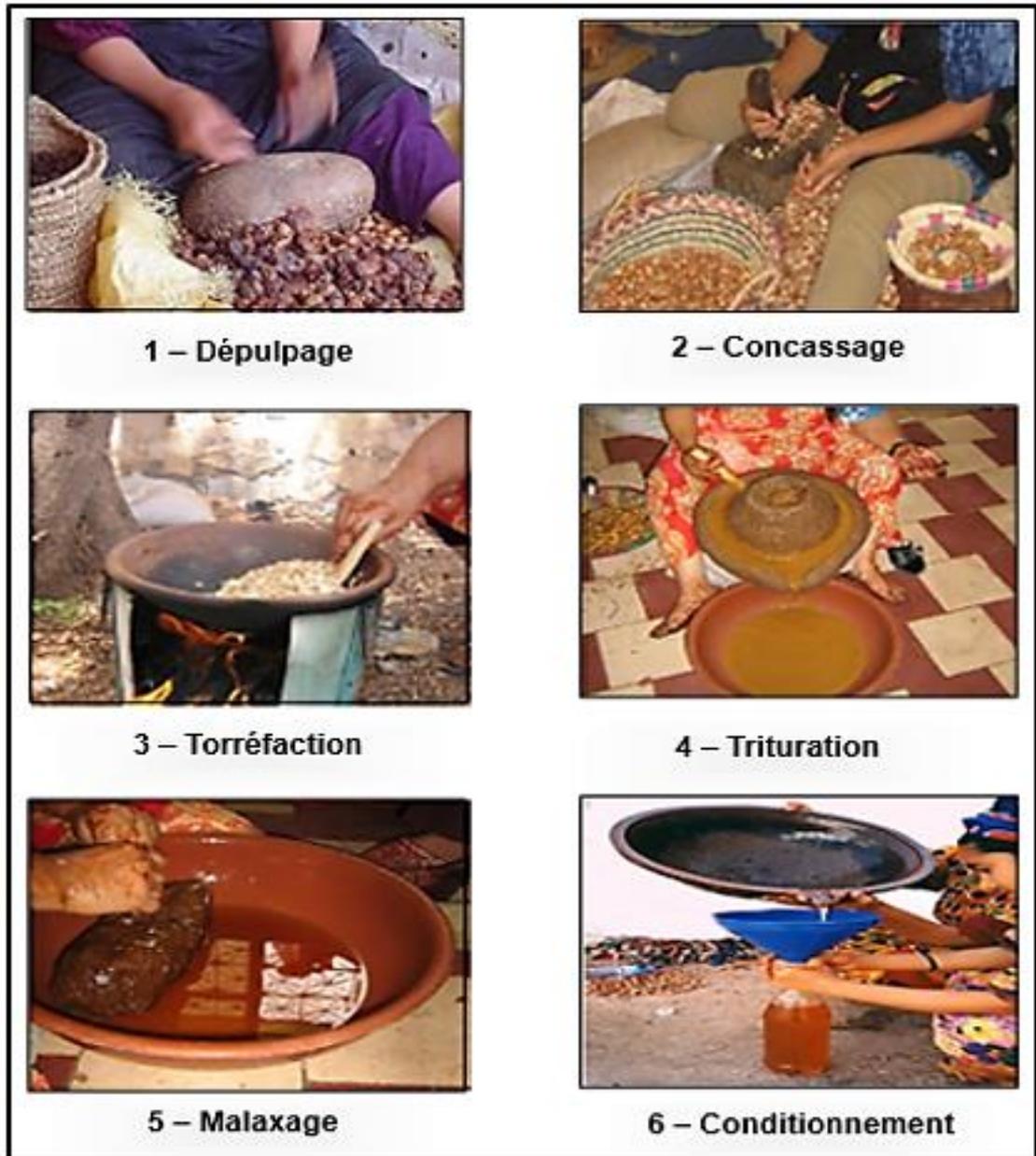


Figure 1.9 : Les étapes d'extraction artisanale de l'huile d'argan [7]

➤ Extraction par presse mécanique

Ce procédé a permis d'introduire la production mécanisée de l'huile d'argan dans le but d'optimiser le rendement en huile et de réduire en même temps la durée de travail nécessaire à l'extraction. Cette méthode d'extraction semi-artisanale qui ne nécessite pas l'ajout d'eau tiède semble donner de bons résultats [30].

Le dépulpage des fruits est réalisé mécaniquement à l'aide d'une « dépulpeuse-gratteuse ». Aucune innovation actuelle n'a été faite sur l'étape de concassage qui reste toujours manuelle, un matériel de torréfaction performant, dans lequel la durée et la température de torréfaction sont rigoureusement contrôlées, est utilisé dans ce procédé, ce qui permet d'obtenir des amandes de couleur homogène.

La trituration et le malaxage se font par une presse à froid où la température ne dépasse pas 60°C lors de l'extraction de l'huile [59,60].

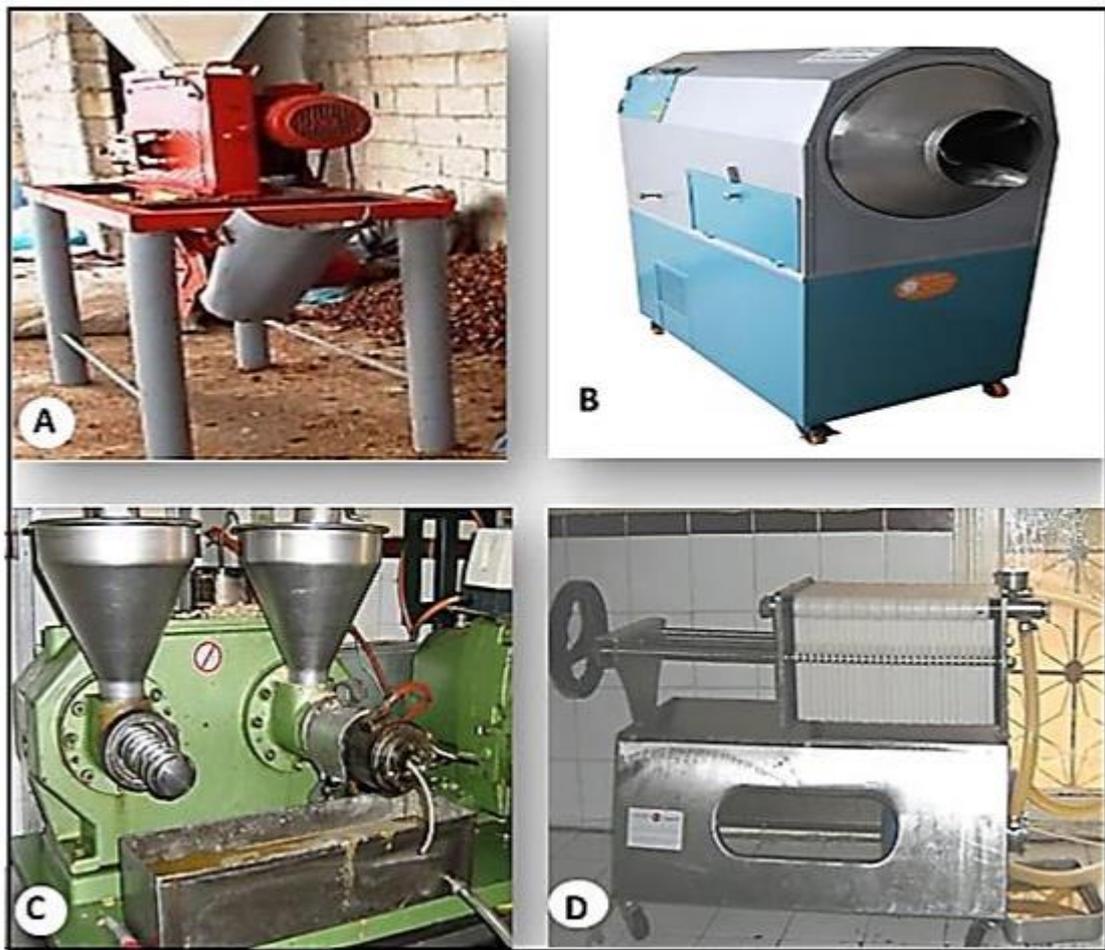


Figure 1.10 : Les machines utilisées pour l'extraction de l'huile d'argan [7]

A : Dépulpeuse-gratteuse ; **B** : Torrificateur à gaz, **C** : Presseuse de pâte ;
D : Appareil de filtration

Le rendement de pressage mécanique a été amélioré par rapport à la méthode d'extraction artisanale via la récupération de 10 % de l'huile restante dans les tourteaux.

L'huile obtenue sera filtrée et mise en bouteille après avoir été décantée pendant 15 jours. Grâce à cette technologie, en l'occurrence la technique par presse mécanique, 4 à 6 litres de l'huile peut être extraite de 100 kg de fruits secs après 13 heures de travail par une seule personne [61, 55].

➤ Extraction par solvant organique

C'est un procédé industriel dont l'huile est principalement destinée à la cosmétologie (préparation des crèmes, shampooings et lotions pour le corps) [62]. Les amandes sont soigneusement séparées des débris du péricarpe, puis réduite en poudre dans un broyeur à meule ou à cylindre. La poudre est ensuite soumise à une extraction avec un solvant apolaire (ex. hexane), dans un appareil d'extraction approprié.

Le solvant est ensuite évaporé afin d'éviter l'oxydation des acides gras dès le premier stade d'extraction. Ce procédé permet d'obtenir un extrait lipidique de couleur jaune paille avec un rendement d'extraction de 50 à 55 %, sans odeur forte et surtout avec une bonne stabilité [61,63,64].

1.2.2. Etude analytique de l'huile d'argan

1.2.2.1. Caractères physico-chimiques de l'huile d'argan

L'huile d'argan se caractérise par un certain nombre de propriétés physicochimiques qui sont légèrement différentes en fonction de plusieurs facteurs tels que l'origine des fruits, la technique d'extraction ou bien le mode de conservation.

Les paramètres physico-chimiques utilisés pour la classification qualitative, et pour préciser l'état de fraîcheur des huiles d'argan « vierges » sont l'acidité libre exprimée en pourcentage d'acide oléique, l'indice de peroxyde et l'absorbance dans l'ultraviolet. Ces analyses assurent aussi la conformité des

dénominations des différentes catégories dont on distingue quatre catégories d'huiles d'argan « vierges », soit par type de qualité décroissante :

- Extra si l'acidité est inférieure ou égale à 0.8%,
- Fine si l'acidité est comprise entre 0.8 et 1.5%,
- Courante si l'acidité est comprise entre 1.5 et 2.5%
- Lampante caractérisée par une acidité élevée (> 2,5 %) qui est impropre à la consommation [65, 66].

Le tableau 1.1 présente les caractéristiques physicochimiques qui classent les types d'huile d'argan « vierge » selon les normes marocaines [67].

Tableau 1.1 : Caractéristiques physicochimiques de l'huile d'argan vierge selon la Norme Marocaine [67]

Constantes	Normes Marocaines
Densité (g/ml)	0,917 - 0,919
Indice de réfraction à 20°C	1,463 - 1,472
Acidité %	≤ 3,3
Indice de peroxyde meq/kg	≤ 20
Indice de saponification	189,0 - 199,1
Teneur en eau et matières volatiles % m/m	≤ 0,2
Indice d'iode	99,0 - 102,0
Insaponifiable %	≤ 1,1%

1.2.2.2. Composition chimique de l'huile d'argan

L'huile extraite des fruits d'*Argania spinosa* est non seulement comestible, utilisée dans les préparations des plats traditionnels, et d'un goût agréable, mais elle possède aussi des propriétés diététiques très intéressantes, car elle est constituée à 80% d'acides gras insaturés dont une bonne proportion est celle d'acide linoléique. Elle est représentée par une fraction saponifiable (99%) constituée essentiellement de triglycérides et une autre insaponifiable (1%) ou

composés mineurs de nature non glycéridique. Ces composants biochimiques de cette huile, possèdent des propriétés biologiques qui peuvent justifier leur utilisation en pharmacie et en cosmétologie [10, 68].

A. Fraction glycéridique (saponifiable)

o Les acides gras

Les acides gras (AG) sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle (R-COOH) dont le radical R est une chaîne aliphatique de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras). Cette chaîne carbonée peut être :

- Dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, les acides gras sont dits « saturés » (AGS),
- Contenir une double liaison, les acides gras sont dits acides gras mono-insaturés (AGMI),
- Contenir plusieurs doubles liaisons, les acides gras sont dits acides gras polyinsaturés (AGPI) (Figure 1.11).

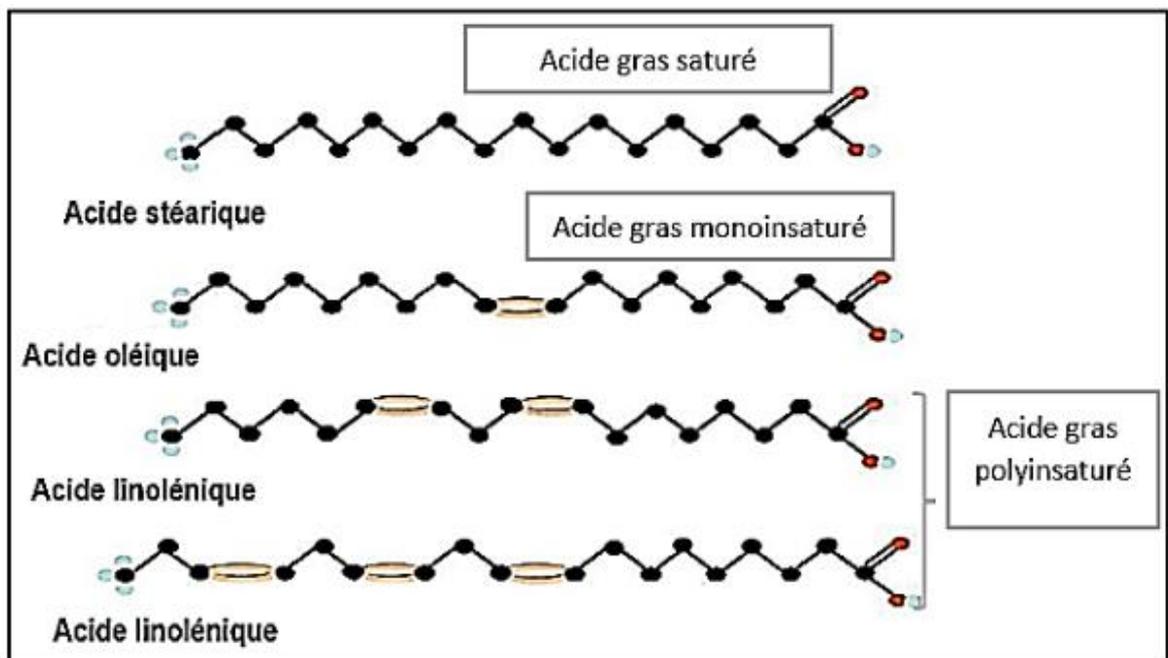


Figure 1.11 : Formules développées des principaux acides gras des huiles végétales [8]

L'huile d'argan est constituée d'environ 80% d'acides gras insaturés (monoinsaturés et polyinsaturés) déterminants dans les échanges membranaires, dans la réduction du taux de cholestérol, réduisant le risque de l'infarctus du myocarde et reconnus pour leurs qualités cosmétiques, diététiques [69].

Les principales valeurs des acides de l'huile d'argan sont présentées dans le tableau (1.2). Les variations observées peuvent être dues à l'origine de l'huile, aux méthodes d'extraction et de conservation de l'échantillon ainsi qu'aux conditions des analyses.

Tableau 1.2 : Pourcentage d'acides gras dans l'huile d'argan selon la norme marocaine [67]

ACIDE	POURCENTAGE (%)
Myristique	≤ 0.2
Pentadecaénoïque	≤ 0.1
Palmitique	≤ 11.5 - 15
Palmitoléique	≤ 0.2
Heptadécaneénoïque	-
Stéarique	4.3 - 7.2
Oleïque	43 - 49.1
Linoléique	29.3 - 36.0
Linoléique	≤ 0.2
Arachidique	≤ 0.5
Gadoléique	≤ 0.5
Béhenique	≤ 0.2

- Les triglycérides

Ce sont des composés lipidiques formés de trois molécules d'acides gras, pas toujours identiques, estérifiant à une molécule de glycérol. Les triglycérides constituent la majeure partie des lipides alimentaires et des lipides de

l'organisme stockés dans le tissu adipeux. On les trouve également dans le sang, où ils sont associés à des protéines spécifiques [30]. Les analyses montrent que les acides gras saturés estérifient majoritairement les positions externes. L'acide linoléique occupe en majorité la position Sn-2, alors que l'acide oléique se distribue plus équitablement entre les trois positions [70].

Distribution des différents triglycérides en pourcentage observé dans l'huile d'argan (Tableau 1.3)

Tableau 1.3 : Les triglycérides de l'huile d'argan [70,49].

TAG	Pourcentage %	TAG	Pourcentage %
LOO	13,7 – 16,3	LLL	5,8 – 8,1
LOP	12,6 – 14,6	LLP	5,8 - 6,6
LLO	11,5 – 16,7	SOO	4,1 - 6
OOO	9 – 14,9	OPP	3,6 – 5,2
POO	14,9- 17,4		

TAG : Triglycérides ; **O** : acide oléique ; **L** : acide linoléique ; **P** : acide palmitique ;
S : acide stéarique

B. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable d'un corps gras est de composition chimique originale. Elle correspond à l'ensemble de ses constituants qui, après hydrolyse basique (saponification), sont très peu solubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Cette fraction représente environ 1 % de l'huile d'argan, cette faible teneur reste suffisante pour attribuer à l'huile des vertus thérapeutiques importantes [53,60].

La fraction insaponifiable contient des hydrocarbures, 37.5% des carotènes, 20% d'alcools triterpéniques, 20% de méthylstérols et de stérols, 7.5% de tocophérols et 6.5% de xanthophylles ainsi que 321mg/100g de squalène [42].

- Pigments caroténoïdes

Les caroténoïdes constituent un groupe de pigments liposolubles de nature terpéniques, dont la couleur varie du jaune au rouge orangé, synthétisés par les plantes et les micro-organismes photosynthétiques. Les caroténoïdes peuvent être des carotènes (hydrocarbures purs : lycopène, β -carotène) ou des xanthophylles qui possèdent un groupement fonctionnel oxygéné (astaxanthine, lutéine) (Figure 1.12) [71, 72]. Ce sont les pigments qui confèrent à l'huile sa coloration. Ils sont connus pour leurs importances nutritionnelles puisqu'ils sont dotés d'activités antioxydantes importantes et qu'ils jouent un rôle dans l'arrêt du développement ou la progression de quelques cancers [73, 55].

Leur teneur dans l'huile d'argan vierge est représentée essentiellement par les xanthophylles (500 mg/kg), constituant ainsi 6,5% de l'insaponifiable de l'huile. L'huile d'argan est pauvre en provitamine A sa teneur en trans- β -carotène est négligeable [65].

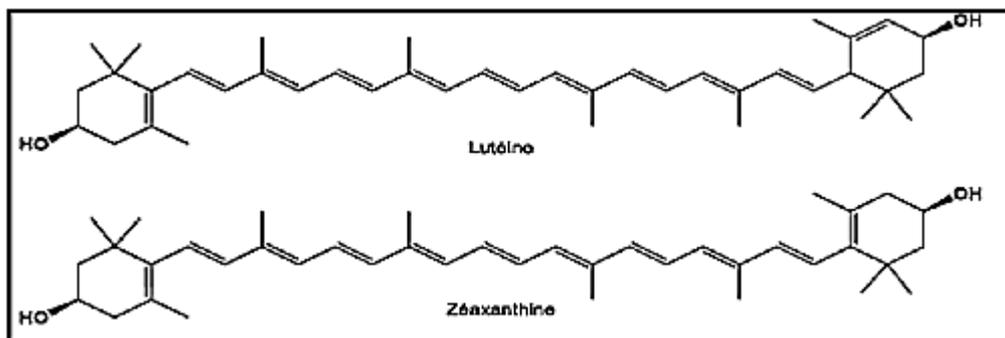


Figure 1.12 : Structure chimique des xanthophylles : lutéine et zéaxanthine [74]

- Stérols

Les stérols des plantes, encore appelés phytostérols, sont des alcools stéroïdes, membres de la famille des terpènes. Ils sont formés d'une combinaison tétracyclique. Le squelette de base est le noyau

cyclopentanophénanthrène renfermant un groupement hydroxyle en position 3 du premier cycle et une chaîne latérale [75, 65].

Les stérols de l'huile d'argan représentent environ 20 % de la fraction insaponifiable [42] dont la composition stérolique est représentée principalement par les D7-stigmastérols (schottérol et l' α - spinastérol).

Ces derniers sont extrêmement intéressants et leur présence est rares parmi les stérols végétaux d'où le schottérol qui est doué d'une activité anticancéreuse remarquable [55]. L'huile d'argan peut acquérir cette activité anticancéreuse grâce aux stérols qu'on retrouve dans sa composition (Figure1.13). L'huile d'argan « vierge » au regard de sa composition chimique et contrairement à la plupart des autres huiles végétales, ne contient pas de D5 stérols, ce qui la rend une huile unique et peut être mis à profit pour la détection des fraudes [55,69].

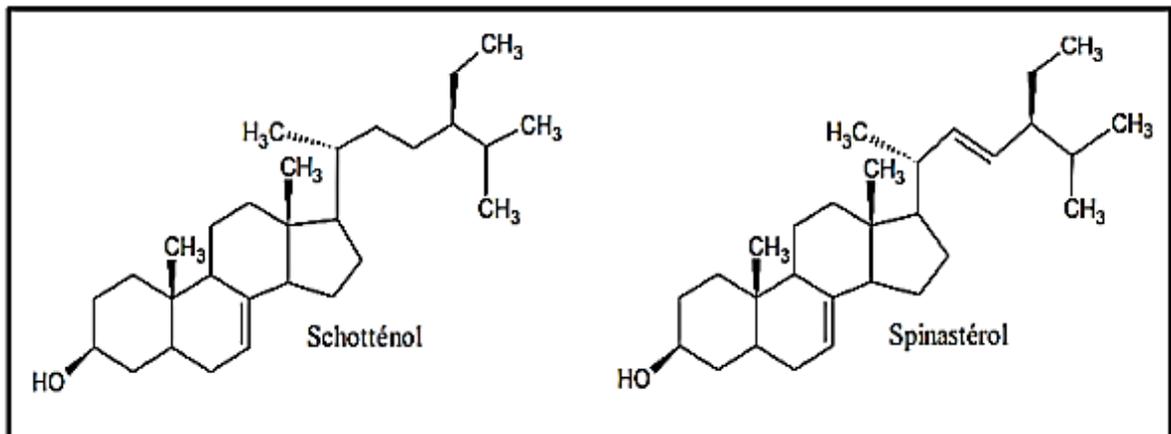


Figure 1.13 : La structure chimique du Schottérol et du Spinastérol [6]

Les différents stérols observés dans l'huile d'argan présentent différents pourcentages avec des valeurs décroissantes schottérol > spinastérol > 7 avénastérol > stigmastadiène > campestérol. (Tableau 1.4).

Tableau 1.4 : Composition en stérols de l'huile d'argan [6]

Stérols	Pourcentage %
Schotténol	44 - 49 %
Spinastérol	34 - 44 %
7 avénastérol	4 – 7 %
Stigmastadiène	3.2 – 5.7 %
Campestérol	0.4 %
Stérols totaux	170 mg/100g

- Tocophérols

Les tocophérols sont des dérivés méthyliques du tocol, Cette structure est constituée d'un noyau hydroxychromane sur lequel est fixée une chaîne phytyl entièrement saturée (Figure 1.14). Ils jouent un rôle crucial étant nutriments liposolubles essentiels. On distingue quatre types de tocophérols : α -tocophérol, β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ - tocophérol qui diffèrent entre eux par le nombre et l'arrangement des groupements méthyle autour du cycle benzène [76].

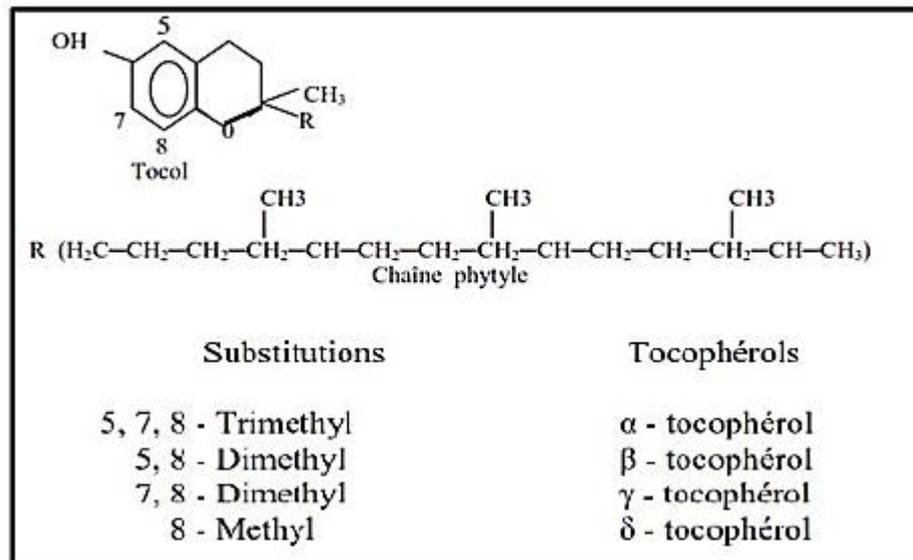


Figure 1.14 : Structure de Tocol et de la chaîne phytyl [77]

Les humains et les animaux ne peuvent pas synthétiser les tocophérols, ils doivent les apporter de la nourriture. Le contenu de l'huile d'argan vierge en ces molécules varie entre 600 et 900 mg / kg, ce qui la rend une source de vitamine E non négligeable. L' α -tocophérol (7%) et le γ -tocophérol (85 %) sont responsables de la principale activité de la vitamine E. Le β et le δ - tocophérols sont en quantité faibles (Figure 1.15) [30,42].

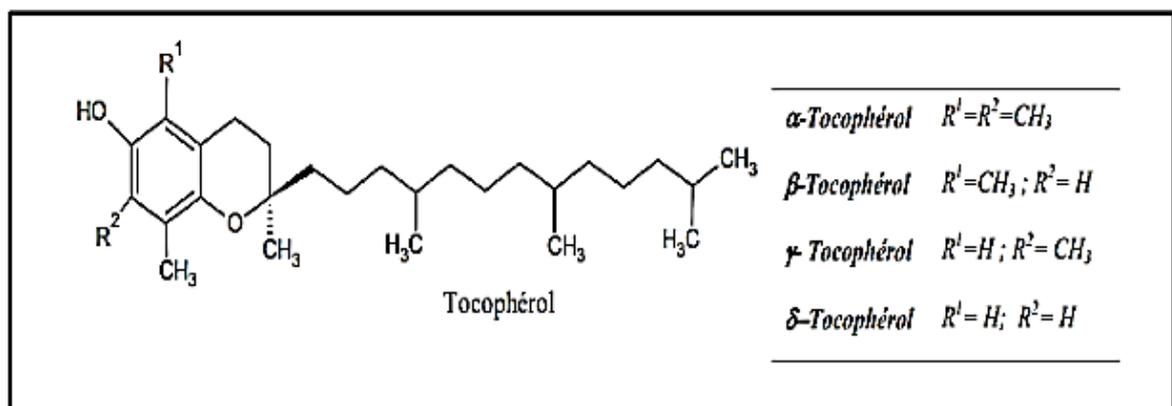


Figure 1.15 : Structure de tocophérols [6]

Les tocophérols ont des effets antioxydants qui confèrent une grande stabilité à l'huile durant sa conservation protégeant ainsi contre les maladies cardiovasculaires [55].

Le tableau (1.5) montre la composition en pourcentage en tocopherols de l'huile d'argan.

Tableau 1.5 : Les tocophérols de l'huile d'argan [6]

Forme	Pourcentage (%)
α -tocophérol	2,4 - 4,8
β -tocophérol	0,1 - 0,2
γ -tocophérol	81 – 89
δ -tocophérol	6,2 - 8,2
Tocophérol Totaux	600 - 700 mg /100 g d'huile

○ Composés phénoliques

Ils renferment de nombreuses substances regroupées en famille. Les différents composés d'une même famille se différencient par la nature et la position des substituants fixés sur un squelette aromatique commun. Les deux classes principales sont les composés non-flavonoïdes et les flavonoïdes. Ils présentent des propriétés antioxydantes intéressantes, traduisant leur rôle dans le maintien de la stabilité des huiles végétales. Ils renforcent les défenses naturelles de l'organisme contre plusieurs maladies liées au stress oxydatif, tels que les maladies cardiovasculaires, les cancers et les processus inflammatoires [78, 42].

En général, les phénols sont présents en faible concentration dans l'huile d'argan alimentaire (3 263 μg / kg). Ils regroupent des composés phénoliques simples notamment l'acide férulique, l'acide syringique, l'acide vanillique et le tyrosol (tableau 1.6 et figure 1.16) [42,78] ont révélé la présence d'autres composés phénoliques dans l'huile d'argan alimentaire ainsi que celle à usage cosmétique notamment le catéchol mais avec des teneurs très faibles.

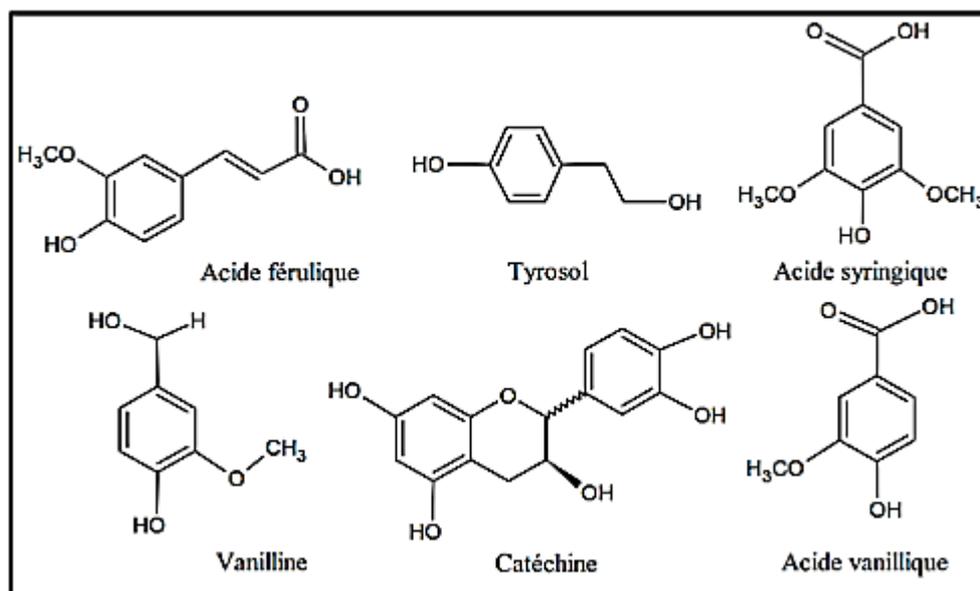


Figure 1.16 : structure chimique de quelques composés phénoliques isolés de l'huile d'argan [6]

Tableau 1.6 : Composés phénoliques quantifiés de l'huile d'argan [42]

Composés phénoliques (µg/kg)	
Acide vanillique	67
Acide syringique	37
Acide ferulique	3147
Tyrosol	12
Total	3263

○ Alcools triterpéniques

Les alcools triterpéniques ou triterpénols sont des composants issus de la molécule de squalène. Ils représentent environ 20 % de la fraction insaponifiable et ils sont utilisés lors de la caractérisation des huiles végétales [79].

Cinq principaux alcools triterpéniques ont été identifiés dans la fraction insaponifiable de l'huile d'argan ils présentent les pourcentages les plus élevés, il s'agit du butyrospermol (18,1%) du turicallol (27,9%) et de la bêta-amyrine (27,3%) (figure 1.17). Tandis que le lupéol et le 24-méthylèncycloartanol qui sont des dérivés du cycloartanol se retrouvent respectivement à des pourcentages de 7,1% et de 4,5% [68, 65].

Ces molécules ont montré leur action sur des cancers de la peau, du colon et du poumon. Elles agissent aussi comme puissants piègeurs de radicaux d'oxygène réactifs à la surface de la peau humaine [80,81,65].

[80,81,65] ont montré que le lupéol est doté de propriétés anti-inflammatoires bien établies.

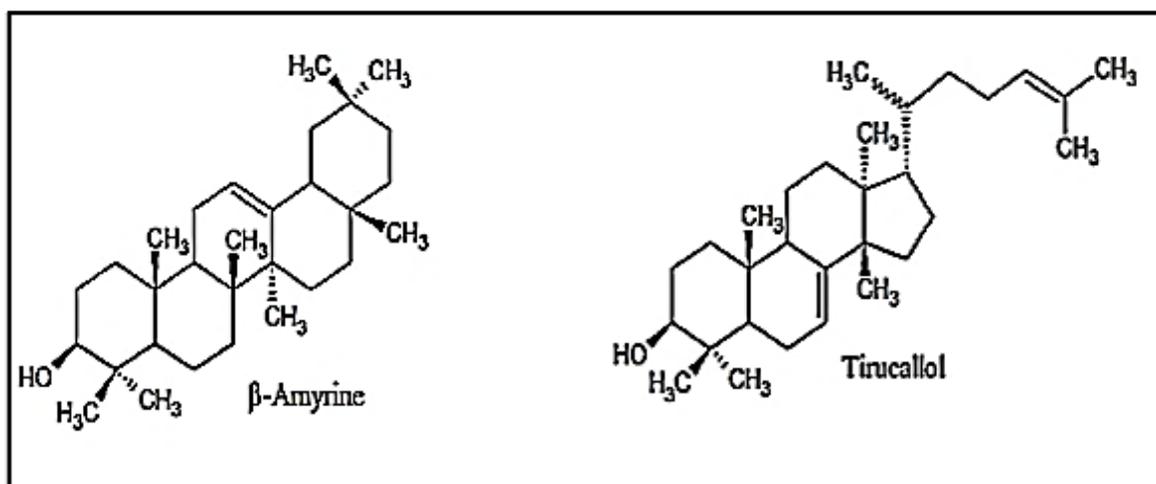


Figure 1.17 : Alcools triterpéniques de l'huile d'argan [6]

1.2.3. Les utilisations de l'huile d'argan

L'huile d'argan est un excellent produit à usage multiple grâce à ses propriétés alimentaires, vertus thérapeutiques et cosmologiques très intéressants.

➤ Utilisation diététique

L'huile d'argan est une huile alimentaire connue depuis des siècles par les populations autochtones. Vu ses qualités organoleptiques et nutritionnelles elle a été, depuis longtemps, exclusivement réservée à la préparation de leurs plats traditionnels [65]. Cette huile et grâce à sa composition qui renferme 80% d'acides gras insaturés, particulièrement sa richesse en acides gras essentiels (acide linoléique 34%), possède des propriétés diététiques et nutritives très intéressantes, assurant la totalité des besoins journaliers en acide linoléique pour environ seulement deux cuillerées à soupe (16 g) d'huile, dont elle constitue un très bon complément lipidique très recherché [10,55].

➤ Utilisation cosmétique

Depuis longtemps, Les autochtones de la région et plus particulièrement les femmes utilisent l'huile d'argan traditionnellement pour nourrir le cuir chevelu, la fortification des angles cassants, le dessèchement cutané et le vieillissement physiologique de la peau. Par la suite, les études ont montré sa richesse principalement en acides gras essentiels et en tocophérols qui sont pourvus des propriétés antioxydantes et antiradicalaires remarquable, ce qui conduit beaucoup d'industries cosmétiques à s'intéresser à cette huile. Mais les caractéristiques physicochimiques et organoleptiques de l'huile artisanale notamment son odeur et la difficulté de sa conservation empêchaient son utilisation en cosmétologie jusqu'à ce que le procédé industriel soit mis au point. Ainsi, depuis quelques années, l'huile d'argan est devenue fortement recherchée par l'industrie de cosmétique et figure dans la composition de certaines crèmes et savons [82, 55,10].

➤ Utilisation en médecine traditionnelle

Au fil des siècles, L'huile d'argan a été réputée comme un remède naturel précieux utilisée pour soulager et atténuer les maux d'oreilles, les symptômes des infections des voies respiratoires et les coliques chez les petits-enfants, proposé comme un traitement et un soulagement des douleurs rhumatismales par simple ingestion de cette huile crue, cette huile est également recommandée pour ses propriétés fortifiantes dans les cas d'asthénie, car il est reconnu qu'elle donne à l'organisme une grande vigueur [27].

1.2.4. Propriétés prouvées scientifiquement de l'huile d'argan

Beaucoup d'études épidémiologiques et cliniques ont été réalisées sur les bienfaits de la consommation de l'huile d'argan sur la santé humaine

➤ Prévention des maladies cardiovasculaires

Les maladies cardiovasculaires peuvent être associés à une pression artérielle élevée et une concentration plasmatique excessive en LDL, des enquêtes épidémiologiques, comparant une population consommant régulièrement l'huile d'argan avec une autre ne la consommant pas, ont mis en évidence un risque inférieur à 50 % de développer une hypertension artérielle chez la population consommatrice d'huile, grâce à son niveau élevé en acides oléique et linoléique et des composés antioxydants [83,84,85,86].

De plus, il a été prouvé que la consommation quotidienne de 25 mL de l'huile d'argan aide à augmenter le niveau du cholestérol HDL et à diminuer le taux de triglycérides chez les hommes sains [83]. Par conséquent, la consommation régulière de l'huile d'argan est associée à une réduction significative de l'indice de la mort subite des infarctus et de AVC [87,88]. L'huile d'argan inhibe également l'agrégation plaquettaire sans provoquer ni une prolongation du temps de saignement, ni un changement au niveau des plaquettes [89].

En effet les stérols, composés mineurs de l'huile d'argan, peuvent être impliqués dans son pouvoir hypocholestérolémiant [42]. Tout de même, la structure moléculaire de ces stérols est très similaire à celle du cholestérol humain, pour cette raison, l'apport en stérols réduit l'absorption du cholestérol par la concurrence avec le cholestérol endogène [90].

[85] ont démontré un effet bénéfique de l'huile sur la glycémie ainsi qu'une bonne amélioration de la vulnérabilité cardiaque à l'ischémie et cela selon une étude sur l'effet de l'huile d'argan sur la contracture ischémique chez le rat recevant un régime enrichi en fructose (33 %) et en huile d'argan (5 ml/kg/jour). Avec cette même dose administrée chez des rats spontanément hypertendus pendant dix jours, a permis la normalisation de leurs pressions artérielles et

une diminution de leurs taux de cholestérol sanguin [91]. Dans un même contexte, une étude porte sur l'effet d'une supplémentation en huile d'argan sur quelques marqueurs du risque cardiometabolique associé à l'obésité chez le rat Wistar rendu obèse par ingestion d'un régime hyperlipidique a montré que l'huile d'argan est pourvue des propriétés hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antioxydantes, et que l'incorporation de cette dernière dans un régime diététique sera efficace pour la prévention des complications cardiovasculaires et d'attaques cardiaques liées à l'obésité, ainsi que pour l'amélioration de l'équilibre glycémique [92].

➤ Prévention des cancers

L'huile d'argan se caractérise principalement par la spécificité de son fraction insaponifiable riche en composés mineurs notamment les antioxydants [93]. Bien qu'elles soient présentes en petites quantités, ces substances attribuent à l'huile d'argan des propriétés pouvant jouer un rôle remarquable dans la prévention du vieillissement tissulaire, de l'athérosclérose et aussi du cancer [51, 94, 95].

Le schotténol et le spinastérol sont les stérols majoritaires de l'huile d'argan. On ne les rencontre qu'exceptionnellement dans d'autres huiles végétales et sont surtout spécifiques à l'huile d'argan dans des proportions significatives [96,97]. Ces deux constituants semblent avoir des effets thérapeutiques très importants. Selon [98], le spinastérol peut prévenir l'apparition des tumeurs. Tandis que le schotténol semble avoir un effet anti-cancérigène avec un potentiel cytotoxique prononcé [99]. L'effet antiprolifératif des composés phénoliques, des tocophérols et des stérols contenus dans l'huile d'argan a été évalué in vitro sur les cellules épithéliales prélevées sur un adénocarcinome prostatique [51]. Cette étude a montré que les polyphénols contenus dans l'huile d'argan auraient, à une concentration de 40 mg / ml, un effet inhibiteur de 30 % sur la prolifération cellulaire. Sur ce même type cellulaire, les stérols de l'huile d'argan auraient une activité inhibitrice de 20 % à une concentration de 20 mg / ml. De plus, la composition chimique spécifique de l'huile d'argan fait que la combinaison des différents facteurs qui la composent pourrait permettre une action antiproliférative [42]. Ces résultats corroborent avec les conclusions

d'autres études scientifiques qui confirment l'action anti-prolifératrice des antioxydants sur les cellules tumorales [99,100, 101].

➤ Dermocosmétique

L'huile d'argan possède un effet revitalisant sur la peau grâce à sa teneur forte en acide linoléique. En effet, ce dernier intervient aussi bien dans l'activité mitotique que dans le maintien de l'intégrité des membranes des kératinocytes épidermiques et de la kératinisation. L'apport équilibré en AG essentiel permet de retarder la sénescence cutanée. Des recherches récentes ont mis en évidence l'importance biologique et pharmacologique du γ tocophérol contenu dans l'huile. La présence de ce constituant confère à l'huile un effet protecteur contre le vieillissement de la peau [102, 103, 42]. D'autres essais ont montré que le squalène pris comme supplément en diététique a des effets préventifs contre la carcinogenèse [104].

Ces composés seraient responsables de l'activité cicatrisante et bienfaitrice de l'huile d'argan sur la muqueuse cutanée. Les effets hydratant, régénérant et structurant de cette huile ont été prouvés par des tests cliniques. L'application cutanée de l'huile d'argan restaure la couche hydrolipidique et augmente la teneur en nutriments des cellules cutanées. Elle stimule aussi l'oxygénation intracellulaire, neutralise les radicaux libres et protège le tissu conjonctif [105].

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Matériel végétal

Les fruits d'*Argania spinosa* (figure 2.1) ont été récoltés de manière aléatoire à partir des arganiers, ainsi que des noyaux dépulpés collectés dans les excréments de chèvres, entre août et septembre 2016. Cette période a été consacrée à l'étude des paramètres physico-chimiques, à l'analyse du profil chromatographique des acides gras et des triglycérides, ainsi qu'à l'évaluation qualitative et quantitative des tocophérols.

Par la suite, entre juillet et août 2019, d'autres analyses ont été effectuées, incluant l'étude du profil chromatographique des acides gras par CG-MS et le dosage colorimétrique des polyphénols, ainsi que des tests sur les activités biologiques. Les recherches ont eu lieu dans la wilaya de Tindouf (sud-ouest de l'Algérie), plus précisément dans le périmètre de Touaref Bou-Aam et le périmètre de Merkala-Targant.



Figure 2.1: Fruits d'*Argania spinosa* mûrs (originale)

2.1.2. Souches microbiennes

L'étude microbiologique a été portée sur sept (07) bactéries : *Salmonella typhi* ATCC 6539, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 4352, *Escherichia coli* ATCC 4157, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* méticillino-résistant « SARM » ATCC 433, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et deux levures : *Candida albicans* ATCC 24433 et *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601.

2.1.3. Matériel non biologique

L'ensemble des équipements, des verreries et des produits chimiques utilisés dans la partie expérimentale est rapporté en annexe (Appendice B).

2.2. Méthodes

Notre étude expérimentale a été effectuée au niveau du :

- Laboratoire de biotechnologies, environnement et santé de l'université de Blida 1.
- Laboratoire de recherche « AGR-130, Bioactive compounds, nutrition and health » de l'institut de la Grasa-CSIC, Séville, Espagne.
- Centre de recherche scientifique et technique en analyses physicochimiques (CRAPC), Bou Ismail. Algérie.
- Laboratoire de physicochimie du complexe Antibiotical, SAIDAL de Médéa, Algérie.
- Laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida, Algérie.

2.2.1. Extraction de l'huile d'argan

L'huile d'argan est extraite d'un mélange des fruits d'arganiers récoltés manuellement à partir des arbres et des noix d'argan dépulées par les chèvres.

➤ Préparation de l'échantillon

Les différentes étapes de la préparation artisanale de l'huile d'argan sont entièrement manuelles. Elle est préparée selon un protocole rigoureux et

accomplie selon un savoir-faire ancestral réservé à certaines femmes de la région. Celle-ci passe par plusieurs étapes distinctes (figure 2.2) à savoir :

- Le dépulpage : La mise au rebut manuellement de la pulpe des fruits secs récoltés des arbres d'arganier.

- Le concassage : écrasement des noix d'argan manuellement par les femmes, en les tenant entre le pouce et l'index le long de la plus longue diagonale de semences et en les frappant violemment avec une pierre. C'est l'étape la plus pénible en raison de l'effort physique qu'elle requiert.

- La torréfaction : Séchage des amandes entre 80 °C et 90 °C pendant 15 à 20 minutes dans le but d'éliminer l'eau et favoriser ainsi l'extraction de l'huile.

- La trituration : Broyage manuel des amandes à l'aide d'un pilon (ou d'une meule en pierre), jusqu'à l'obtention d'une substance pâteuse qui ressemble à la pâte d'amandes mais de couleur brune.

- Le malaxage : la pâte brunâtre qui est mélangée avec de l'eau bouillante et malaxée pendant plusieurs minutes, est ensuite pressée à la main pour libérer une émulsion brune au goût de noisette qui est l'huile d'argan.



Figure 2.2 : Etapes d'extraction de l'huile d'argan traditionnellement (originale)



Figure 2.3 : Huile d'argan obtenue traditionnellement (originale)

2.2.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'*Argania spinosa*

La caractérisation physico-chimique des huiles est une étape essentielle pour assurer sa qualité, pour cela nous avons déterminé les indices physico-chimiques suivants :

2.2.2.1. La densité

La densité relative (g/ml) de l'huile d'argan a été déterminée à 20 °C. Selon la méthode décrite dans la norme NF T 60-214 (AFNOR, 1984) [106].

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C, et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température.

A l'aide d'une balance analytique, effectuer de pesées successives de volume égal d'huile et d'eau à la température de 20°C. La densité relative est donnée par la formule ci-dessous :

$$d_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

Tel que :

M_0 : Masse (g) du pycnomètre vide

M_1 : Masse (g) du pycnomètre rempli d'eau

M_2 : Masse (g) du pycnomètre rempli d'huile

2.2.2.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction (I.R) est le rapport de la vitesse de la lumière sous vide à la vitesse de la lumière dans l'huile ; plus généralement c'est la mesure de la réfringence d'un corps donné par rapport à la raie D du sodium (589 nm). Il varie selon la température et la longueur d'onde. Il augmente avec l'augmentation de l'insaturation et la longueur de la chaîne des acides gras et permet de classer les huiles en huile siccative, semi siccative ou non siccative.

La mesure de l'indice de réfraction se fait par le biais d'un réfractomètre (ATAGO modèle NAR- 1T 922420). Pour mesurer l'indice de réfraction, on commence par nettoyer la surface de prisme du réfractomètre. Ensuite on procède à l'étalonnage du réfractomètre avec de l'eau distillée. À l'aide d'une pipette pasteur on dépose une goutte de l'huile sur le prisme. La fenêtre de lecture donne directement la valeur de l'indice de réfraction à 20°C. (Selon les normes NF T60-212 (11/1984) [106].

2.2.2.3. La couleur

La détermination de la couleur de l'huile est basée sur la détermination de l'absorbance de celle-ci, dans le domaine du visible, selon la recommandation de la société américaine des chimistes des huiles (A.O.C.S.) [107].

Les mesures se font à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible DR6000 HACH LANGE, dans les longueurs d'ondes suivantes 460 nm, 550 nm, 620nm et 670 nm. La valeur de la couleur se calcule par la formule suivante proposée par l'A.O.C.S après obtention des densités optique sur les longueurs d'onde suivantes : 460 nm, 550 nm, 620nm et 670 nm.

$$\text{Couleur (A.O.C.S.)} = 1,29 A_{460} + 69,7 A_{550} + 56,4 A_{670}$$

A : l'absorbance de l'huile

2.2.2.4. Coefficients d'extinction spécifique dans UV

La détermination de l'absorbance d'une huile végétale en UV repose sur la mesure des coefficients d'extinction, aux radiations de deux longueurs d'ondes différentes: 232 nm et 270 nm. Cette analyse renseigne sur la qualité et l'état d'oxydation d'une huile par la détection et l'évaluation des produits d'oxydation primaire et secondaire : les structure diénique conjuguées produites par oxydation primaire des acides gras insaturés absorbent au voisinage de 232 nm, tandis que les conjugués produits secondaires par oxydation absorbent au voisinage de 270 nm.

Le principe de cette méthode repose sur la mesure spectrométrique de l'absorbance d'un échantillon dans un solvant approprié aux longueurs d'onde spécifiées. Une prise d'essai d'environ 0,20 à 0,30 g d'huile d'argan a été dissout dans 10 ml de cyclohexane, l'absorbance du mélange a été mesurée par la suite à 230 nm et 270 nm respectivement.

Calcule des extinctions spécifiques aux différentes longueurs d'onde selon la formule :

$$K\lambda = E\lambda / (c \times s)$$

$K\lambda$: le coefficient distinction spécifique à la longueur d'onde λ

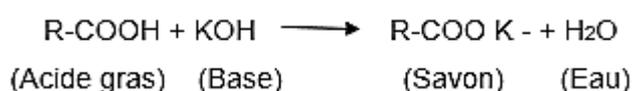
$E\lambda$: l'extinction mesurée à la longueur d'onde λ

C : concentration de la solution en g/100ml

S : épaisseur de la cuve en quartz (1 cm)

2.2.2.5. Indice d'acide et acidité

L'indice d'acide est défini comme étant le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1 gramme de l'huile Le principe de cette analyse est basé selon la réaction suivante :



La détermination de l'indice d'acide (I.A) est réalisée en dissolvant 1 g d'huile dans 20 ml d'éthanol, a cette solution au moment de son utilisation on y ajoute pour la neutraliser une solution éthanolique de potasse 0,05N en présence de phénolphtaléine 1%. Si la solution obtenue n'est pas parfaitement limpide, ajouter une quantité supplémentaire de solvant, ou bien procéder à un léger chauffage. Puis titrer, en agitant avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) éthanolique à 0,05N en présence de la solution de phénolphtaléine à 1%, jusqu'au virage de l'indicateur (coloration rose).

L'indice d'acide (I.A) est exprimé par la relation suivante :

$$I.A = V \times N \times 56,11 / m$$

Où

V : volume de la solution éthanolique de KOH exprimé en ml

N : normalité de la solution éthanolique de KOH

56,1 : masse molaire de KOH

m : masse de la prise d'essai d'huile en gramme

L'acidité exprimée en pourcentage (%) d'acide oléique en poids est donnée par l'équation :

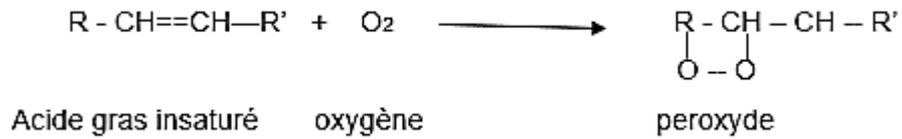
$$A\% = 282 \times 100 \times IA / 56,11 \times 1000$$

Où :

282 : la masse molaire de l'acide oléique (g/mol)

2.2.2.6. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (I.P) est le nombre qui exprime en milliéquivalent d'oxygène actif la quantité de peroxyde contenue dans 1 kg de substance et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode et titration de celui-ci par le thiosulfate de sodium. Il permet d'évaluer la quantité de peroxyde présente dans un corps gras, ce qui renseigne sur le taux d'acide gras rances, comme il est indiqué dans la réaction suivante :



Le principe de cette manipulation est basé sur le traitement d'une prise d'essai de 2 à 5 g de l'huile dans un mélange de chloroforme et d'acide acétique (deux volumes de chloroforme et de 3 volumes d'acide acétique) avec l'ajout de 1 ml d'une solution d'iodure de potassium (IK). Après 5 minutes à l'obscurité, 75 ml d'eau distillée est ajouté au mélange, le titrage se fait par une solution de thiosulfate de sodium (0,01N) en présence d'amidon comme indicateur coloré. En parallèle, Un essai à blanc sans huile est réalisé en même temps et dans les mêmes conditions. Selon le protocole décrit par la norme NFT 60-220 (AFNOR, 1984) [106].

L'indice de peroxyde est calculé selon la formule :

$$\text{I.P. (Meq O}_2 / \text{Kg)} = (\text{V} \times \text{N} \times 1000) / \text{m}$$

Où :

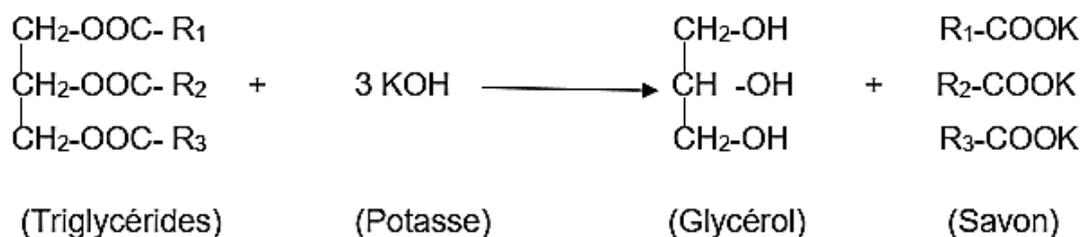
V : le volume de thiosulfate de sodium est utilisé en ml

N : la Normalité de la solution de thiosulfate de sodium

m : la prise d'essais de l'huile testée (g)

2.2.2.7. Indice de saponification

Les corps gras sous l'action des solutions aqueuses basiques se décomposent en donnant de glycérol et des savons (sels des acides gras). Cette réaction s'appelle la réaction de saponification dont l'équation est la suivante :



Les acides libres se transforment sous l'action de la soude en savon d'après la réaction suivante :



L'indice de saponification (I.S) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour saponifier 1 g de corps gras, ou autrement dit, c'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour transformer en savon tous les acides gras libres et les acides gras liés en triglycérides, d'un gramme de corps gras.

Introduire dans un ballon à col rodé de 250 ml 1g de l'huile en question. Ajouter 20 ml de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5N. Munir le ballon d'un réfrigérant à reflux et porter à légère ébullition pendant 1h en agitant de temps à autre.

Après refroidissement du ballon, titrer l'échantillon avec l'acide chlorhydrique HCl (0,5N) en présence de phénolphtaléine 1% Jusqu'à la disparition complète de la couleur rose de la solution.

Effectuer un essai à blanc en parallèle. La méthode d'analyse utilisée est celle recommandée par la norme NFT 60-206 [106].

L'indice de saponification est exprimé par la formule :

$$\text{I.S} = (V_0 - V) \times 56,11 \times N / m$$

Où :

$(V_0 - V)$: la différence des volumes de titrage de l'essai à blanc et celui en présence d'huile

56,1 : la masse molaire de l'hydroxyde de potassium KOH (g/mol)

N : la normalité de HCl

m : la masse de la prise d'essai (g)

2.2.2.8. Indice d'iode

L'indice d'iode (I.I) est le nombre de grammes d'halogène exprimé en iode absorbés par 100 g d'huile, déterminé en utilisant la solution de Wijs. Selon la réaction suivante :



Cet indice renseigne sur le degré d'insaturation (nombre de doubles liaisons) d'un acide gras. Cette insaturation est facilité le rancissement du corps gras.

Le principe de la mesure repose sur le titrage, par du thiosulfate de sodium, de l'excès de réactifs de Wijs transformé en iode par l'addition de l'iodure de potassium.

Peser 0,15 g d'huile dans un erlenmeyer rodé avec bouchon, puis les mettre en solution avec 15 ml de tétrachlorure de carbone et 25 ml de réactif de Wijs (réactif composé de monochlorure d'iode en solution dans un mélange d'acide acétique et de tétrachlorure de carbone) sont ajoutés. Une fois bouché, l'erlenmeyer est agité doucement et placé dans un endroit à l'abri de la lumière pendant 1h (agiter de temps en temps). Après ce temps 20 ml de l'iodure de potassium à 100g/l et 100ml d'eau distillée sont additionnés.

Le mélange obtenu est titré avec le thiosulfate de sodium (0,1N) en utilisant l'empois d'amidon comme indicateur coloré. Le titrage est poursuivi jusqu'au moment où la couleur bleue disparaît, après agitation très vigoureusement. Un essai à blanc sans huile est réalisé en même temps et dans les mêmes conditions. La méthode utilisée et celle décrite par Wolff [108].

L'indice d'iode est calculé selon la formule suivante :

$$\text{I.I} = (\text{V}_0 - v) \times 1,269 / m$$

Où :

V_0 : le volume en ml de thiosulfate de sodium pour titrer le blanc

V_1 : le volume en ml de thiosulfate de sodium pour titrer l'échantillon

m : la masse en (g) de la presse d'essai

2.2.2. 9. Teneur en eau et matières volatiles de l'huile

La teneur en eau et matières volatiles (TE) des corps gras est par définition la perte de masse mesurée dans les conditions d'essai précisées dans la norme NF T 60-201 (AFNOR, 1984) [106]. Elle est exprimée sous forme d'une fraction, en pourcentage, de la masse de l'échantillon initial.

Dans une capsule en verre, peser environ 5 g d'huile et la porter dans l'étuve pendant 1h à une température 103 ± 2 °C. Ensuite retirer et laisser refroidir dans un dessiccateur pendant 1h et peser la masse. Replacer à l'étuve pendant 1h, refroidir et peser. Répéter ce processus jusqu'à ce que le changement de poids entre deux observations successives ne dépasse pas 1 mg.

La teneur en eau et matières volatiles est exprimée en pourcentage de masse par la relation suivante :

$$TE = (M_1 - M_2) \times 100 / M_0 - M_1$$

Tel que :

M_0 : la masse en (g) de la capsule

M_1 : la masse en (g) de la capsule et la prise d'essai

M_2 : la masse en (g) de la capsule et de l'huile après chauffage

2.2.3. Etude de la composition chimique de l'huile d'*Argania spinosa*

2.2.3.1. Identification de la fraction saponifiable

2.2.3.1.1. Caractérisation des acides gras

Pour notre huile nous avons déterminé sa composition en acides gras par deux méthodes :

a. La méthode chromatographique CPG-FID

La composition en acides gras de l'huile d'argan a été déterminée selon la méthode d'analyse décrite dans la norme européenne (EEC) No 2568/91 [109].

Le principe de cette technique repose sur la transformation des acides gras (FAME) contenus dans l'échantillon en question en esters méthylique d'acides gras pour réduire leur polarité et les rendre plus volatils.

- Préparation des esters méthyliques d'acides gras libres

Les esters méthyliques d'acides gras de l'huile d'argan ont été préparés à partir de l'huile d'argan par une trans-estérification avec une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH/ MeOH). Une prise d'essai d'environ 0,1 g d'huile d'argan a été dissoute dans 2ml d'heptane est bien agitée, par la suite 0,2 ml de la solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (2N) ont été ajoutées au mélange après une agitation vigoureuse de 30 secondes, la partie supérieure contenant les d'esters méthyliques d'acides gras a été prélevée à l'aide d'une pipette, pour l'injection dans le système de chromatographie en phase gazeuse.

- Analyse par CPG

Nous avons utilisé un chromatographe en phase gazeuse Agilent 7890 B (Agilent technologies, USA) muni d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), équipé d'une colonne capillaire polaire (DB-FATWAX UI : 30 m × 0,25 mm, 0,25 µm épaisseur du film) et d'un injecteur split automatique.

L'hydrogène était le gaz vecteur à un débit de 1,0 ml/min, la température initiale de four a été à 165 °C (8min), puis augmentée jusqu'à 210 °C à 2 °C/min.

Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été fixées à 225 °C et de 250 °C respectivement et le volume injecté était de 1 µL [109].

A la fin de l'analyse, les données ont été acquises et traitées grâce à un système informatisé Open LAB. L'identification des composés était basée sur la correspondance des temps de rétention des pics effectués avec ceux des FAME standards. Le montant d'un FAME individuel a été exprimé en pourcentage aux lipides totaux.

b. La méthode chromatographique CG-MS

La caractérisation des acides gras de l'huile d'argan a été effectuée par la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse après dérivation de ces derniers en composés volatils.

- Préparation des esters méthyliques d'acides gras libres

La préparation des FAMES à partir de l'huile d'argan a été réalisée également par une transestérifications (même protocole décrit pour la CPG-FID).

- Analyse par CG-MS

Nous avons utilisé un chromatographe en phase gazeuse Hewlett Packard Agilent 6890 plus, couplé avec le spectromètre de masse Hewlett Packard Agilent 5973

- Conditions opératoires

Injecteur :

Température : 250°C

Mode d'injection : Splitless.

Volume injecté : 1µl

Colonne :

Type : HP-5MS

Dimensions : long 30 m * D int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm

Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane. (Autre : Spécifier)

Température du four : 70°C pendant 5 min, 10°C/min jusqu'à 130°C, isotherme pendant 2min ,3°C/min jusqu'à 220°C, isotherme pendant 4 min, 10°C/min jusqu'à 280°C, isotherme pendant 7 min.

Durée d'analyse : 60 min

Gaz vecteur : Hélium pureté : N6; Débit GV : 1 ml/min

Détecteur de masse :

Mode d'analyse : Scan TIC (de 30à 550)

Délai du solvant : 3.5 min

Température de l'interface :270 °C

Type d'ionisation : Impact électronique

Intensité du filament : 70 év

Type de l'analyseur de masse : Quadripôles

Température de la source : 230 °C

- Lecture

L'acquisition des données est effectuée par le logiciel de chemStation. L'identification de la composition en acide gras de l'huile d'argan a été effectuée après avoir comparé les masses expérimentales exactes et les données de la fragmentation MS à une database de spectre de masse NIST11.

2.2.3.1.2. Caractérisation des triglycérides

La composition en triglycérides de l'huile a été déterminée selon la méthode IUPAC 2324 [110]. Le principe de cette analyse est basé sur la séparation des triglycérides selon leur nombre de carbones équivalent (ECN) défini par la formule : $ECN = CN - 2n$, CN est le nombre d'atomes de carbone tandis que n représente le nombre de doubles liaisons d'acides gras constituant les triglycérides, par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

La détermination des triglycérides est réalisée à partir d'une solution de l'huile d'argan dans l'acétone à une concentration de 50mg/ml. L'échantillon a été analysé par RP-HPLC à l'aide d'un système Agilent 1260 Infinity, équipé d'une

colonne Merck Li-Chrospher 100 RP-18 (250 mm × 4 mm i.d. ; 4 µm granulométrie) thermostatée à 20 °C, équipé d'un système de pompage et de détection RI, avec l'utilisation du propionitrile comme une phase mobile à un débit de 0.6 ml/ minute. Le volume injecté de la solution de l'huile d'argan dans l'acétone était 10µl et les données ont été acquises à l'aide d'un système informatisé Open LAB.

2.2.3.2. Identification de la fraction insaponifiable

Les matières insaponifiables d'un corps gras correspondent à l'ensemble des constituants qui, après hydrolyse basique (saponification) par l'hydroxyde de potassium et extraction par un solvant spécifié, ne sont pas volatiles dans les conditions opératoires spécifiées et sont peu solubles dans l'eau [108]. L'insaponifiable représente généralement une fraction mineure (0.5 un 2%), malgré cette infime teneur, il referme un très grand nombre de constituants tels que : les stérols, les hydrocarbures aliphatiques, les tocophérols, les pigments, les alcools aliphatiques et triterpéniques, les squalènes et les caroténoïdes

La détermination de l'insaponifiable a été réalisé suivant la norme AFNOR NF t 60-206 [106]. Le principe de ce dosage repose sur la saponification d'une prise d'essai de 5 g d'huile par 50 ml d'une solution de potasse éthanolique (2N) à chaud, sous reflux pendant 20 min. Après l'ajout de 50 ml d'eau distillée, les substances insaponifiables sont extraites par l'éther diéthylique suivi d'un lavage avec l'eau distillée jusqu'à réaction neutre de lavage.

La phase organique est ensuite filtrée sur le sulfate de sodium anhydre et évaporée sous vide par un évaporateur rotatif. Le résidu ainsi obtenu est séché à 103 °C puis laissé refroidir dans un dessiccateur. Ce résidu constitue la fraction insaponifiable.

La teneur des insaponifiables est déterminée par la relation suivante :

$$\text{Insaponifiable \%} = m_1 / m_0 \times 100$$

Tel que :

m_1 : La masse (g) du résidu séché.

m_0 : La masse (g) de la prise d'essai.

➤ Caractérisation des tocophérols

Les tocophérols sont des composés contenus dans les insaponifiables. Ils sont connus par leur pouvoir vitaminique et antioxydant [111].

La fraction tocophérolique peut être identifiée par les différentes techniques spectroscopiques et chromatographiques, mais la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est la plus recommandée.

Pour cela l'analyse HPLC a été effectuée selon la méthode standard IUPAC 2432 [112]. Une solution de l'huile argan dans l'hexane à une concentration de 10 mg/ml, a été préparée et injectée dans le système de HPLC équipé d'une colonne en gel de silice (250 mm Å x 4 mm i.d.; granulométrie 4 µm taille de particules), et d'un détecteur fluorimétrique de type RF-10AXL Shimadzu, fluorescence detector, Columbia, MD, USA), longueurs d'ondes d'excitation et d'émission étaient à 290 nm et 330 nm respectivement. L'élution a été réalisée avec un mélange de solvants : hexane : 2- propanol (99 : 1, V/V) à un débit de 1ml/min.

Quant à la détermination quantitative et l'identification des pics, des étalons de tocophérols dans l'hexane ont été préparés et injectés à des concentrations de 4 à 6 µg/ml. Les différents vitamères (α , β , γ , et δ) ont été identifiés en comparant les temps de rétention des molécules obtenues avec les temps de rétention des solutions standards. Les résultats de l'analyse ont été traités à l'aide d'un logiciel 32 Karat 5.0 system. Les fractions massiques des différents vitamères sont exprimées en ppm selon la formule suivante :

$$\text{ppm} = [(a \times C) / (A \times m)]$$

Tel que :

a : l'aire de pic du tocophérol obtenu

C : la concentration du tocophérol standard

A : l'aire de pic du tocophérol standard

m : la masse de la prise d'essai de l'huile

➤ Dosage colorimétrique de polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont estimés par la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu [113].

Ce dosage est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture des acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de réactif de Folin-Ciocalteu (de couleur jaune) par les groupements oxydables des composés phénoliques, entraînant la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm. L'intensité de cette couleur bleue renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange.

Le dosage de polyphénols totaux est donné après une comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 μ l d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables. Après 3 min, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium (75 mg / ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 1 h à l'obscurité. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 765nm contre un blanc sans huile (solution de méthanol).

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique (appendice C) préalablement réalisée dans les mêmes conditions, selon l'équation $Y = ax + b$. L'absorbance est proportionnelle à la concentration, d'après la loi de Beer Lambert, dont : **Absorbance = a (concentration d'acide gallique en μ g) + b**

Y : l'absorbance

x : la concentration en phénols

La concentration est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par kilogramme d'huile (mg EAG / Kg d'huile).

2.2.4. Etude des activités biologiques de l'huile d'argan

2.2.4.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion de disque sur milieux solide selon le protocole décrit par [114].

Le principe de cette méthode consiste à déposer un disque en cellulose, imprégné d'une quantité bien définie de l'huile à tester, à la surface d'une géloseensemencée avec le microorganisme à tester. Cette méthode permet la mise en évidence de l'activité antimicrobienne, qui se traduit par la formation de zone d'inhibition autour du disque la substance à tester [115].

- Souches microbiennes étudiées

L'activité antibactérienne d'huile d'*Argania spinosa* est recherchée vis-à-vis de sept (07) souches bactéries-tests. Deux Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) ATCC 43300, cinq Gram négatif : *Salmonella typhi* ATCC 6539, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 4352, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Escherichia coli* ATCC 4157 et deux (2) levures *Candida albicans* ATCC 24433 et *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601.

Les souches utilisées sont des souches de référence (ATCC) fournies par le laboratoire central (unité de microbiologie) du CHU Frantz Fanon de Blida et le laboratoire d'hygiène et de référence de la wilaya de Blida. D'autres proviennent de la collection du CRD SAIDAL. Les souches ont été conservées à une température de +4°C dans des tubes à essai contenant de la gélose inclinée.

➤ Protocol expérimental

- Preparation du milieu de culture

Faire fondre les milieux de culture (Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries et Sabouraud pour les levures) dans un bain Marie puis couler la gélose dans les boites de Pétri sur une épaisseur de 4mm. Laisser sécher avant l'emploi.

- Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune, de 18 heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures, sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées puis décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile de 0,9%, bien homogénéiser la suspension microbienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

- Réalisation de l'ensemencement

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, l'essorer en le pressant en tournant sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée élosée d'un milieu Mueller- Hinton (MH), sèche, de haut en bas en stries serées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boite de 60° à chaque fois.

- Application des disques

Après avoir imprégner les disques celluloseux de 6 mm de diamètre avec 25µl de l'huile à tester, on dépose en pressant les disques chargés par l'huile à l'aide d'une pince stérile sur la surface gélosée.

- Incubation

Laisser les boites de Petri ensemencées pendant 15 min à la température ambiante de 25°C, puis, les incubées dans l'étuve à 37 °C pendant 24h, pour les bactéries, et à 25° C pendant 48h pour les levures.

Un témoin positif consiste à tester l'effet des antibiotiques sur les différentes souches bactériennes a été utilisé. L'eau distillée a été utilisée comme témoin négatif.

Toutes les étapes ont été effectuées dans les conditions stériles. Le test a été réalisé en triplicata pour chaque souche.

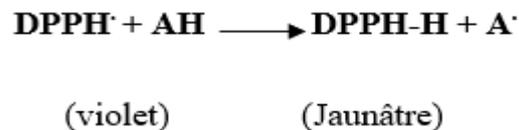
- Lecture des antibiogrammes

L'apparition d'un halo autour de chaque disque traduit l'inhibition de la croissance des bactéries et des levures. La mesure du diamètre d'inhibition permet d'estimer cette activité dont les souches qui présentent un diamètre du halo (zone d'inhibition) supérieure ou égal à 15mm sont dites sensibles [116].

2.2.4.2. Evaluation de l'activité anti-oxydante par DPPH

L'activité antiradicalaire de l'huile entière a été évaluée par la mesure de piégeage du radical DPPH, selon le protocole décrit par FERNANDEZ-OROZC [117]. C'est la méthode indirecte la plus ancienne.

A température ambiante, le radical synthétique 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) présente une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons et se transforme en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH-H) de couleur jaune [117] selon la formule suivante :



Il est donc possible de détecter la diminution de l'intensité de cette coloration par spectrophotométrie. Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [118].

➤ Protocole expérimental

- Préparer la solution de DPPH (0,004 %) par la solubilisation de 4mg de DPPH dans 100ml de méthanol.

- 1ml des solutions de l'huile d'argan à différentes concentrations ou du standard (antioxydant naturel) acide ascorbique (Vit C) sont ajoutés à 2 ml de la solution de DPPH.

- Mesurer le contrôle négatif (1ml de méthanol + 2ml de la solution méthanolique de DPPH) à 517 nm, le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant naturel qui est l'acide ascorbique.

- Après 30 minutes d'incubation à l'abri de la lumière et à 25 °C, la lecture de l'absorbance est faite par comparaison à un blanc préparé pour chaque concentration, la densité optique est lue à 517 nm.

Le test de l'activité antiradicalaire a été réalisé en triplicata.

Le pourcentage d'activité antiradicalaire (AAR) est estimé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ AAR} = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{ech}}) / (A_{\text{blanc}})] \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc à 517 nm

A ech : Absorbance de l'échantillon à 517 nm

La détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50) est effectuée après la détermination de la concentration de l'échantillon étudié (huile et antioxydant de référence) nécessaire pour faire disparaître 50% des radicaux libres. Les valeurs de l'IC 50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire [119].

Tracer la courbe des pourcentages de l'activité antioxydante en fonction des concentrations de l'échantillon testé.

Déterminer l'équation $Y = ax + b$ de la droite linéaire obtenue, dans laquelle AAR % est proportionnelle à la concentration dont Y : représente AAR % et X : représente la concentration de l'échantillon testé.

$$\text{AAR}\% = a (\text{concentration de l'échantillon}) + b$$

2.2.5. Analyses statistiques

Les valeurs ont été exprimées en moyenne \pm SD (nous avons calculé les moyennes des trois essais effectués ainsi que l'écart type). Le logiciel Minitab est utilisé pour l'étude statistique de ce travail.

Le logiciel Excel version 365 est utilisé pour les données qui correspondent aux paramètres physico-chimiques. Les différences entre les huiles, par test ANOVA. Les différences ont été considérées significatives à $P < 0,05$.

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

Par le biais de ce travail nous nous sommes intéressés à la détermination des caractéristiques physico-chimiques qui permet la classification de l'huile d'argan algérienne (de la région de Tindouf) extraite d'amandons des fruits d'*Argania spinosa* par une méthode purement artisanale, de tester son activité antimicrobienne et son pouvoir antioxydant. Ce travail de recherche a pour but la valorisation cette essence végétale locale.

3.1. Propriétés physico-chimiques de l'huile du fruit d'argan

La caractérisation physico-chimique de l'huile d'argan a été réalisée par l'analyses des paramètres suivants : la densité, l'indice de réfraction, la couleur, les coefficients d'extinction spécifique en UV (K_{232} , K_{270}), l'indice d'acide, l'indice de peroxyde, l'indice de saponification, l'indice d'iode et la teneur en eau et matières volatiles de l'huile. Les résultats de ces paramètres sont résumés dans le tableau 3.1.

3.1.1. La densité

La densité est considérée comme un critère de pureté de l'huile, elle dépend de la composition chimique des huiles et de la température [107], la valeur enregistrée pour l'huile d'argan étudié à 20°C est de $0,927 \pm 0,002$ g/ml. Cette valeur indique la richesse de l'huile d'argan en éléments minéraux et autres composés non lipidiques. Elle peut être influencée par l'origine géographique des fruits de l'arganier ou par la procédure d'extraction d'huile.

En effet, KECHEBAR a renseigné une valeur de densité de 0,914 g/ml pour l'huile d'argan de Tindouf (Algérie) extraite par pression à froid [27], tandis que KOUIDRI présentait une valeur de 0,912 g/ml pour une huile similaire obtenue dans la région de Mostaganem (Algérie) [21].

L'extraction par solvant semble donner des huiles d'argan avec des valeurs de densité plus faibles [120]. Approximativement, les valeurs de densité relative des différentes huiles d'argan, quelle que soit leur provenance (Algérie, Maroc ou Tunisie) et quel que soit le procédé d'extraction (extraction par solvant, ou

extraction par pression à froid), se situent dans la fourchette 0,84-0,92 g/ml [120, 121]. Par ailleurs, la norme marocaine [67] fixe un intervalle de densité de 0,906 à 0,919 g/ml.

3.1.2. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction de l'huile d'argan étudiée à 20°C était $1,471 \pm 0,001$. Ce résultat est conforme aux données de la norme marocaine [67] qui détermine l'intervalle 1,463 – 1,472 ainsi qu'aux données de la littérature : [49] qui mentionnent une valeur de 1,4707, [122] donne la valeur 1,4853 et [121] mentionnent une valeur de 1.4685. Cela traduit le taux faible de triènes dans notre huile d'argan étudiée ; nos résultats corroborent avec ceux obtenus par [66]. Cet indice contribue à déceler les fraudes qui existeraient entre l'huile d'argan avec d'autres huiles végétales comestibles [123].

3.1.3. La couleur

L'indice de couleur photométrique donne une valeur égale à 16,71, elle est comprise dans l'intervalle 13-19. Cette Valeur correspond à une coloration jaune à brunâtre de l'huile. Ceci renseigne sur la présence des pigments dans l'huile et se traduit probablement par sa richesse en caroténoïdes et en xanthophylles en plus de la chlorophylle [107, 124].

3.1.4. Coefficients d'extinction spécifique dans UV

Un critère de qualité important pour la classification des huiles végétales est l'extinction spécifique à 232 nm et 270 nm de l'huile [125]. Ceci correspond au maximum absorbance des hydro peroxydes qui résultent de l'oxydation d'un corps gras qui absorbent la lumière au voisinage de 232 nm. Avec le temps lorsque l'oxydation se poursuit, il y aura la formation des produits secondaires d'oxydation en l'occurrence, les dicétones et les cétones insaturées qui absorbent la lumière vers 270 nm. Le coefficient d'extinction spécifique est déterminé par spectrophotométrie dans l'ultraviolet et peut donc être considéré comme une image de son état d'oxydation [126,127].

Les valeurs d'absorbance obtenues à 232 nm (K232) et 270 nm (K270) sont respectivement $1,096 \pm 0,081$ et $0,167 \pm 0,015$. Pour le coefficient d'extinction à

232nm la norme marocaine ne l'a pas encore fixé. Quant à l'extinction K270 la valeur enregistrée corrobore avec celle déterminée par la réglementation marocaine standard [67] qui établit un coefficient d'extinction à 270 nm inférieur à 0,35 pour l'huile vierge extra et inférieur à 0,45 pour l'huile vierge courante .

Ces résultats obtenus sont de bon augure pour l'aptitude de l'huile à la conservation ce qui nous a permis de la classer dans la catégorie des huiles extra vierge [128].

En revanche une étude faite par Hilali et al [66] révèle pour l'absorbance obtenue à 270 nm (K270) la valeurs 0,605 pour une huile extraite traditionnellement, tandis que KOUIDRI [21] révèle des valeurs de 0,29 et 0,19 respectivement pour l'huile d'argan de Mostaganem et celle de Tindouf extraites par solvant.

D'autre part, en comparant notre huile d'argan étudiée à l'huile d'argan étudiée par Drouche [129], extraite au laboratoire, d'une même région (Tindouf), nous pouvons dire que la valeur d'absorbance obtenue à 270 nm (K270) et à 232 nm (K232) ne présente aucune différence significative ($P > 0,05$) sous l'effet de la méthode d'extraction.

3.1.5. Indice d'acide et acidité

L'acidité ou l'indice d'acide est un critère de qualité et de classification qui renseigne sur l'état d'altération et de dégradation de l'huile d'argan par la détermination du taux d'acides gras libres issus de l'hydrolyse des triglycérides [130,65].

Les valeurs de l'indice d'acide et de l'acidité enregistrés sont de $3,346 \pm 0,003$ et $1,673 \pm 0,001\%$ respectivement. La valeur d'acidité nous a permis de classer l'huile d'argan étudiée comme huile "vierge courante" selon la norme marocaine donc elle est consommable en l'état [67].

Les valeurs de l'acidité obtenues au cours de ce travail sont légèrement inférieures à celles observées par [131] où ils enregistrent une valeur d'acidité de l'ordre de 1,8%. D'autre part, [66] ont révélé des valeurs d'acidité comprises entre

0,14 et 1,40 % avec différents types d'extraction de huiles d'argan marocaines. Cette étude a également montré que l'acidité des huiles obtenues des amandes torréfiées était nettement inférieure à celle obtenue à partir des huiles des amandes non torréfiées.

Ces résultats contrastent avec ceux de [132] qui rapportent que, pour une même méthode d'extraction et origine géographique les fruits d'arganier montrent une acidité plus élevée dans les huiles obtenues à partir des amandes torréfiées. De plus, ces auteurs ont montré que l'extraction artisanale donne des valeurs d'acidité jusqu'à quatre fois plus élevées en comparaison avec l'extraction semi-automatique. Ce résultat est probablement dû au long contact entre l'eau et la pâte d'argan qui catalyse l'hydrolyse des triglycérides de l'huile provoquant l'augmentation de l'acidité [53, 66, 133].

En outre, ils ont également souligné l'influence de l'origine géographique des fruits d'arganier sur l'acidité de l'huile, montrant que les huiles des régions intérieures continentales présentaient une acidité plus élevée en comparaison avec les huiles des zones côtières à climat atlantique [132].

Cependant, selon l'analyse statistique, une différence hautement significative a été détectée ($P= 0,0007$) pour la valeur d'acidité de notre huile étudiée et l'huile étudiée par [129] de la même région de Tindouf sous l'effet de la méthode d'extraction.

Dans l'ensemble, ces résultats divergent du rapport final de l'étude marocaine [134] qui ne signale aucune différence significative d'acidité ni par rapport aux traitements d'amandons, ni par rapport à la situation géographique.

3.1.6. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (I.P) est un autre critère de qualité. C'est le paramètre le plus couramment utilisé pour évaluer l'état d'oxydation des huiles alimentaires, il évalue principalement les produits primaires d'oxydation tels que les hydroperoxydes ou les radicaux libres [135].

La valeur de l'indice de peroxyde enregistrée de notre huile d'argan est de $4,066 \pm 0,520$ meq O_2 /kg d'huile, ce qui, selon la norme marocaine, permet de la classer comme une huile vierge, puisque cette norme fixe la valeur maximale de I.P pour cette catégorie à 20 meq O_2 /kg d'huile [67].

L'auto-oxydation des lipides est l'un des processus majeurs de la détérioration de la qualité des huiles alimentaires. Elle peut résulter d'une mauvaise manipulation des fruits de l'arganier et des méthodes d'extraction de l'huile, ainsi que des conditions de stockage inappropriées, avec une influence particulière de la lumière et de la température.

Des valeurs élevées de peroxyde sont généralement associées au rancissement des lipides. Dans la plupart des huiles comestibles, une saveur rance commence souvent à être perceptible lorsque le IP se situe entre 20 et 40 méq O_2 /kg d'huile [127].

Matthäus [136] a étudié la qualité des huiles obtenues à partir des amandes récoltées et digérées par des chèvres ayant été soumises à un stockage à 20 et 60 °C. Cet auteur a rapporté que la torréfaction des graines confère à l'huile une stabilité oxydative plus élevée par rapport à celle obtenue à partir des graines non torréfiées, où il est enregistré une faible augmentation de la valeur de l'IP pendant le stockage. De plus, il a mis en exergue que les huiles provenant des graines d'argan digérées par les chèvres présentaient une légère vulnérabilité quant à la détérioration oxydative. Ainsi, après 35 jours de stockage à 20 °C, la plus faible augmentation de l'indice de peroxyde a été constatée pour les huiles des amandes torréfiées extraites par la méthode traditionnelle (de 0,1 à 1,4 meq O_2 /kg). L'huile extraite des amandes torréfiées par presse mécanique a montré une augmentation de l'indice de peroxyde de 0,5 à 2,8 meq O_2 /kg, tandis que l'huile de graines digérées par la chèvre a augmenté de 0,3 à 2,2 méq O_2 /kg.

De même, une différence significative a été observée pour l'indice de peroxyde ($P= 0,005$) de notre huile étudiée et celle étudiée par [129] de la même région (Tindouf) sous l'effet de la méthode d'extraction.

3.1.7. Indice de saponification

L'indice de saponification d'un corps gras informe sur la longueur de la chaîne carbonée des acides gras. Sa valeur s'accroît quand les chaînes carbonées des acides gras sont courtes [21].

La valeur de cet indice enregistrée est de $192 \pm 0,032$ mg de KOH/g d'huile. Selon ces résultats ainsi que le classement réalisé par [107], notre huile d'argan étudiée est classée dans la catégorie des huiles type acide oléique-linoléique en tenant compte des indices de saponification.

La valeur de l'indice de saponification est conforme à celle décrite par la norme marocaine [67] où elle donne l'intervalle 189,0-199,1 mg de KOH/g d'huile. [30] a également observé une valeur de l'ordre de 191 mg de KOH/g d'huile pour une huile d'argan marocaine extraite par voie traditionnelle et une valeur avoisinant les 195 pour une extraite par voie chimique. De même [66], à travers leur étude, évoquent que la plupart des huiles préparées de manière traditionnelle possèdent une valeur d'indice de saponification comprise entre 192,4 et 199,6.

D'après ces auteurs, l'origine géographique, la torréfaction des graines et le procédé d'extraction exercent une influence majeure sur la valeur de l'indice de saponification de l'huile d'argan [66].

3.1.8. Indice d'iode

L'indice d'iode se présente comme un critère de pureté, il renseigne sur le degré d'insaturation des corps gras, plus cet indice est élevé, plus l'huile est insaturée et elle sera plus sensible à l'oxygène, ce qui permet d'évaluer sa facilité à rancir. D'autre part, la valeur de cet indice permet de classer les huiles végétales en huiles siccatives, semi- siccatives et non-siccatives [137].

La valeur de l'indice d'iode de notre huile soit $106,359 \pm 0,601$ gI₂/100g d'huile permet de classer cette huile parmi les huiles non siccatives, car l'indice d'iode est compris entre 0 à 110 gI₂/100g d'huile. Cette valeur est au-dessus de l'intervalle décrit par la norme marocaine (99 – 102) [67], mais inférieure à celle décrite par [122]. En effet, [122] a enregistré une valeur de 136,32 gI₂/100g d'huile pour une huile d'argan de Tindouf extraite par la voie chimique. De ce fait

et selon ces résultats nous déduisons que notre huile étudiée est bien concentrée en acides gras insaturés.

D'après nos résultats et ceux de Charrouf [30], la valeur de l'indice d'iode paraît varier avec l'origine géographique ainsi que le procédé d'extraction.

3.1.9. Teneur en eau et matières volatiles de l'huile

La teneur en eau et matières volatiles de l'huile étudiée, soit $0,18 \pm 0,070$ % corrobore avec celle de la norme marocaine [67] ainsi que le codex alimentarius [138] qui fixe la teneur maximale à 0,2%. Ce résultat montre une diminution de son rancissement précoce lors de sa conservation et son stockage. Cette valeur est légèrement supérieure à celle décrite par [27] (0,09 %) sur une huile d'argan extraite traditionnellement.

Tableau 3.1 : Caractéristiques physicochimiques de l'huile d'argan étudiée

Paramètres		Huile d'argan de Tindouf	Valeurs limite
Densité à 20°C (g/ml)		0,927±0,002	0,917-0,919
Indice de réfraction à 20°C		1,470 ± 0,001	1,463-1,472
Indice de couleur photométrique		16,71 ± 0,020	-
Extinction spécifique	A 232 nm	1,096 ± 0,081	-
	A 270 nm	0,167 ± 0,015	≤ 0,45
Acidité %		1,673 ± 0,001	≤ 2,5
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)		4,066 ± 0,520	≤ 20
Indice de saponification (mg KOH/g d'huile)		192 ± 0,032	189,0-199,1
Indice d'iode (gI ₂ /100g d'huile)		106,359± 0,601	99,0-102,0
Teneur en eau et matières volatiles %		0,18 ± 0,070	≤ 0,2

3.2. La composition chimique de l'huile d'*Argania spinosa*

Les huiles végétales y compris l'huile d'argan se composent essentiellement d'une fraction saponifiable composée d'acides gras arrangés sous forme de triglycérides et une fraction insaponifiable qui rassemble des substances mineures diverses tels que les glucides, les stérols, les antioxydants et les polyphénols

[139].

3.2.1. La fraction saponifiable

3.2.1.1. Détermination des acides gras

a. Par la CGP-FID

Les résultats de la composition en esters méthyliques d'acides gras de l'huile d'argan de Tindouf obtenue traditionnellement et analysée par GC-FID, sont présentés les résultats dans le tableau 3.2 et figurent dans le profil chromatographique (Figure 3.1).

L'acide oléique est le principal acide gras (44,71 %), suivi par un pourcentage important d'acide linoléique (33,78 %) et d'acide palmitique (13,20 %), et un pourcentage minoritaire mais significatif d'acide stéarique (6,58 %). Ainsi, il existe une nette prédominance des acides gras insaturés (79,06%) par rapport aux acides gras saturés (20,56%).

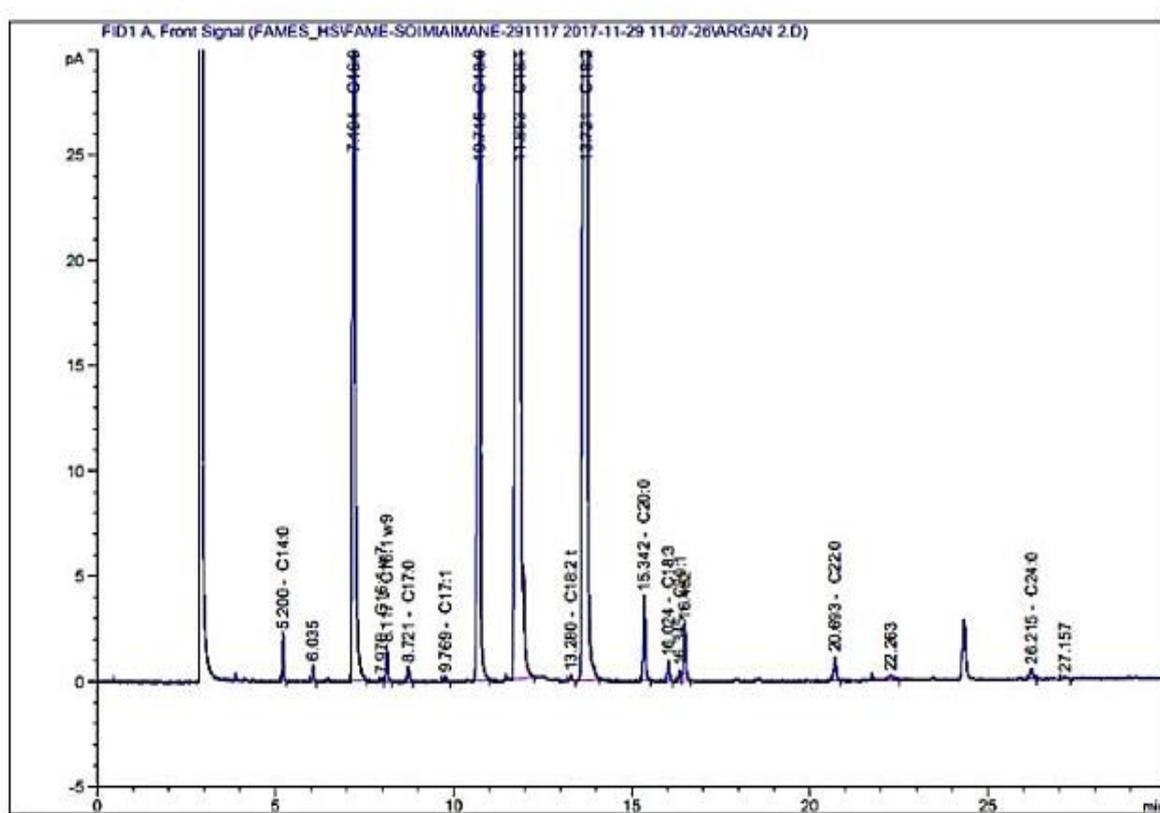


Figure 3.1 : Profil chromatographique de CPG-FID de l'analyse des acides gras de l'huile d'argan

Parmi les acides gras insaturés, nous avons remarqué la présence de petites quantités d'acide palmitoléique, d'acide heptadécénoïque, d'acide α -linoléique et d'acide gadoléique. Néanmoins, il est à souligner que les acides myristique, arachidique, béhénique et lignocérique ont également été identifiés parmi les acides gras saturés. Ainsi, la teneur totale en AGMI est supérieure à 45 % et la teneur totale en AGPI est proche de 34 %.

Tableau 3.2 : Le pourcentage des acide gras de l'huile d'argan

Acide gras	Nomenclature	Pourcentage %	
		CPG-FID	CG-MS
C 14: 0	Acide myristique	0,12	0,15
C 16 : 0	Acide palmitique	13,2	14,19
C 16 : 1	Acide palmitoléique	0,15	0,13
C 17 : 1	Acide margaroléique	0,28	-
C18: 0	Acide stéarique	6,58	6,86
C 18: 1	Acide oléique	44,71	44,66
C 18 : 2	Acide linoléique	33,78	28,36
C 18: 3	Acide α -linoléique	0,09	-
C 20 : 0	Acide arachidique	0,45	0,52
C 20: 1	Acide Gadoléique	0,05	-
C 22 : 0	Acide béhénique	0,14	0,25
C 24 : 0	Acide lignocérique	0,07	0,60
	ΣAGMI	45,19	44,79
	ΣAGPI	33,87	28,36
	ΣAGS	20,56	22,57
Total		99,62	95,73

b. Par la CG-MS

La chromatographie couplée à la spectrophotométrie de masse nous a permis d'identifier plus de 95% de la composition en acides gras de l'huile d'argan analysée. Les résultats sont représentés dans le tableau 3.2 et figurant dans les profils chromatographiques (figure 3.2).

Les acides gras insaturés (AGI) sont prédominants avec environ 80% des acides gras totaux, l'acide oléique et linoléique sont les deux principaux composés de l'huile avec les pourcentages respectifs de 44,66% et 28,36%. Le troisième et le quatrième acide gras principaux détectés dans l'huile d'argan sont l'acide palmitique (14,19%) et l'acide stéarique (6,86%) qui sont des acides gras saturés.

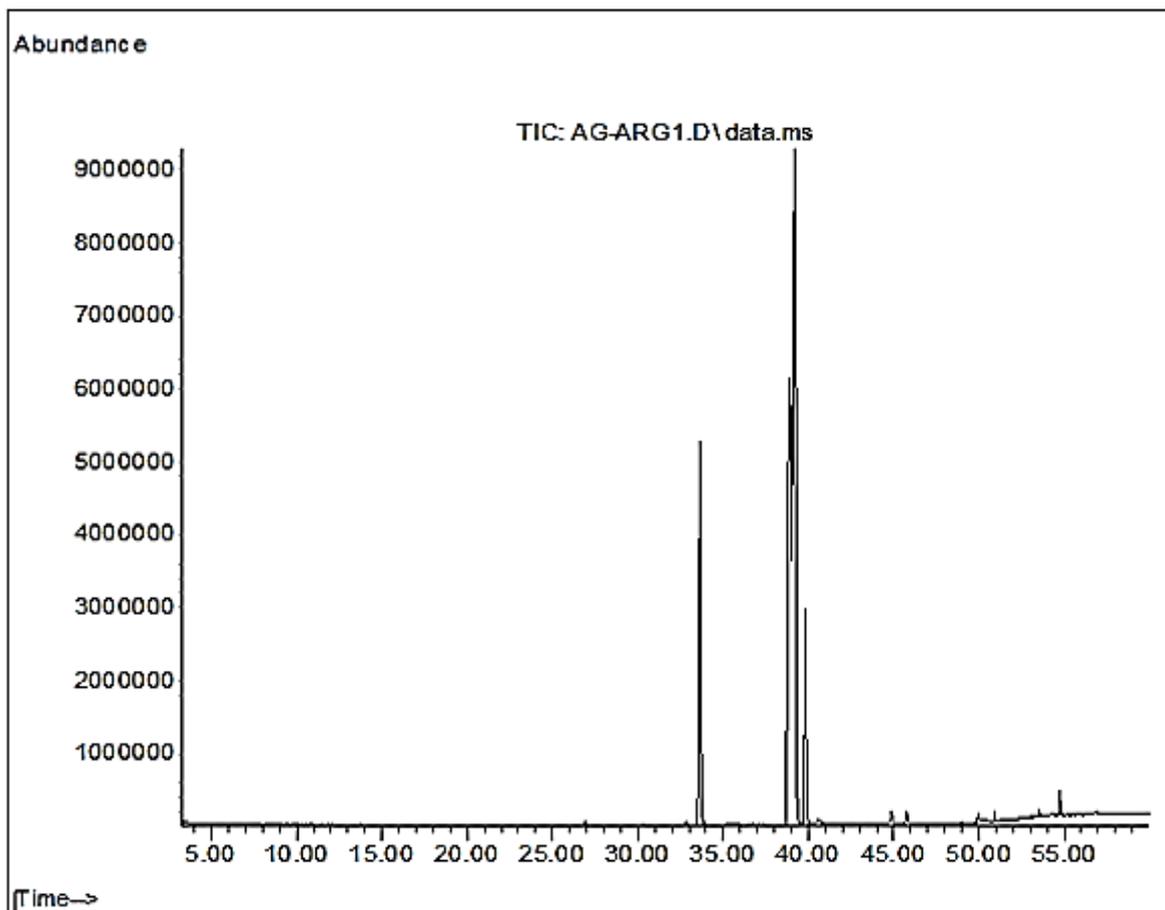


Figure 3.2 : Profil chromatographique de l'analyse des acides gras par la CG-MS de l'huile d'argan

Il est à noter que l'acide palmitoléique, acide gras insaturé a été identifié avec un pourcentage très faible. Nous avons également enregistré des taux très faibles de certains acides gras saturés en l'occurrence, l'acide lignocérique, l'acide arachidique, l'acide béhénique et l'acide myristique.

Cette composition en acides gras est conforme à celle présentée dans la littérature [43,66,30,140], bien qu'elle présente des particularités, probablement dues à des facteurs, notamment les conditions climatiques dans lesquelles poussent les arbres. Certains chercheurs ont noté que le pourcentage d'acide linoléique dans les huiles d'argan peut augmenter avec l'altitude, tandis que le taux d'acide oléique semble augmenter avec le taux de précipitations [49,70].

La richesse de l'huile d'argan en acides gras insaturés (environ 80%) lui confère un effet émollient et revitalisant très important. En effet, ces acides s'introduisent dans la composition des phospholipides membranaires dont ils nourrissent et hydratent la peau [53]. Ces propriétés revitalisantes, dues surtout à la teneur importante en acide linoléique, ont été mis en évidence in vivo chez des animaux de laboratoire sous un régime alimentaire pauvre en acides gras essentiels. Le traitement par l'huile d'argan accélère la reconstitution du stratum corneum dès le 4^{ème} jour de l'expérimentation [131].

Les facteurs génotypiques et les procédés d'extraction de l'huile peuvent également être responsables de ces variations de la composition chimique de l'huile [66,30,65]. [121] ont étudié une huile d'argan extraite à partir d'amandes non torréfiées de la région de Tindouf extraites au n-hexane par Soxhlet. Leurs résultats montrent une teneur en acide oléique de 52,6 % et un taux d'acide linoléique de 18,1 %. Ces données mettent en avant que le procédé d'extraction de l'huile peut influencer sur la composition finale de l'huile.

Plusieurs études évoquent que les acides gras des huiles alimentaires peuvent jouer un rôle positif ou négatif dans la prévention et le traitement des maladies. Ainsi, l'étude de [141], à laquelle 135 335 personnes de 18 pays ont participé où, il a été évalué la consommation des graisses totales et des graisses saturées il a été trouvé qu'il n'y avait pas de relation significative

avec la mortalité totale ou à l'installation des maladies cardiovasculaires. D'autre part, des différences ont été montrées par rapport aux effets d'acides gras saturés à longue chaîne spécifiquement sur le profil lipidique, bien qu'il ne soit pas clair si les effets particuliers se traduisent par des différences dans le risque des maladies cardiovasculaire [142]. Les acides laurique, myristique et palmitique semblent être impliqués dans l'augmentation des concentrations plasmatiques de cholestérol LDL, tandis que l'acide stéarique pourrait réduire le cholestérol total et le rapport cholestérol total/HDL, bien qu'il n'affecte pas le cholestérol HDL [143]. D'autres auteurs ont rapporté que l'apport d'acide stéarique a un effet neutre sur les concentrations plasmatiques de cholestérol total, de LDL et de HDL [144]. De même, la contribution de l'acide oléique ayant un effet cardio-protecteur est encore débattue et aucune conclusion définitive n'a été tirée [145,146]. L'apport d'acide oléique a été lié à l'amélioration du profil lipidique plasmatique, au maintien d'un poids corporel sain, à la prévention du dysfonctionnement mitochondrial et à l'insulinorésistance [147]. L'acide oléique est connu pour sa contribution à la réduction du taux de cholestérol total plasmatiques et du cholestérol LDL et, potentiellement, le risque d'athérosclérose [148]. Certains auteurs [149] soulignent que la substitution des acides gras saturés par l'acide oléique réduit le cholestérol total et le LDL. De plus, il a été souligné que le remplacement des glucides par l'acide oléique diminue les TGs et le cholestérol LDL et donc la réduction du risque cardiovasculaire.

La composition en acides gras a été évaluée pour déterminer le potentiel nutritionnel et pharmacologique des aliments gras. Plusieurs indices basés sur les acides gras ont été développés ces dernières années pour décrire les implications des acides gras sur la santé [150]. Parmi eux, l'indice d'athérogénicité (IA) et l'indice de thrombogénicité (IT) sont les plus couramment utilisés. Les deux indices, IA et IT, ont été développées par [151] comme suit :

$$IA = [C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0] / \Sigma \text{ AGI}$$

$$IT = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0.5 \times \Sigma \text{ AGMI}) + (0.5 \times \Sigma \omega\text{-6 AGPI}) + (3 \times \Sigma \omega\text{-3 AGPI}) + (\omega\text{-3} / \omega\text{-6})]$$

Notre huile d'argan présente des valeurs IA et IT de 0,17 et 0,50 respectivement, soutenant qu'elle pourrait être recommandée comme une huile saine avec le potentiel de protéger de l'obésité, l'insulinorésistance et le syndrome métabolique.

3.2.1.2. Détermination des triglycérides

L'analyse des triglycérides (TG) de notre huile d'argan a été réalisée par HPLC (Figure 3.2). Cette analyse nous a permis d'identifier douze composés bien corrélés avec la composition régnante en acides gras. (Tableau 3.3). Les cinq TG majoritaires sont le OOL (15,78%), LLO (14,55%), SLL (11,95%) ; POO (11,20%) et OOO (11,04%).

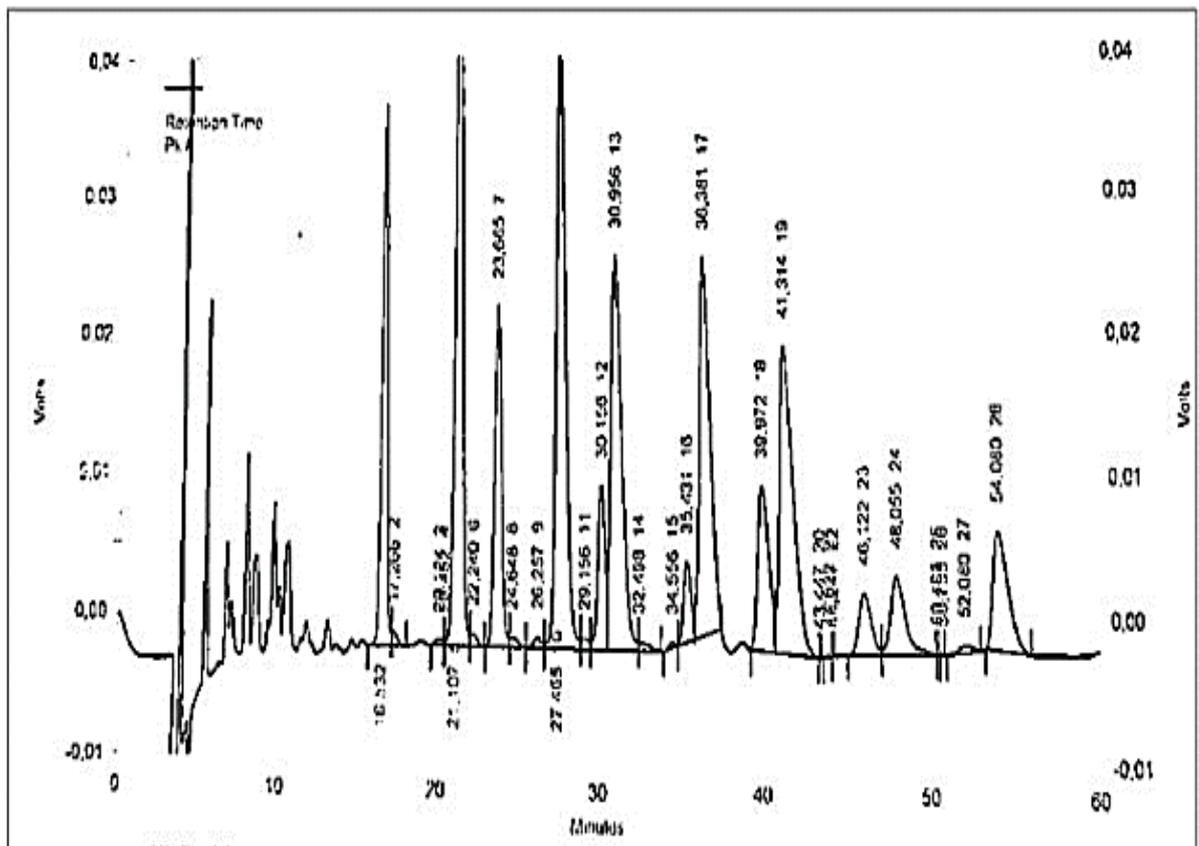


Figure 3.3 : Composition de l'huile d'argan en triglycérides

La comparaison de nos résultats avec d'autres études [21,49,70,152] confirme la présence et la prédominance de OOL, LLO, POO et OOO dans des huiles d'argan de différentes origines géographiques, bien qu'avec des différences en pourcentage. En revanche, nous avons identifié le SLL comme le troisième TG

le plus abondant, avec un taux de 11,95 %. Ce TG semblait absent dans les huiles d'argan analysées par [70,152] ou bien il était enregistré comme un composé mineur (4,4%) pour [122] et (1,52%) pour [153]. Nous avons également déterminé une teneur mineure mais significative en LLL (7,74%), également identifiée dans l'huile d'argan analysée par [70] et [66].

Les triglycérides non majoritaires sont essentiellement : LDL (7,74%), PLL (6,45%), SOL (4,99%), SSL (4,67%), POL (3,22%), POS (3,01%), SOO (1,96%) et PPL (1,62%).

Tableau 3.3 : Composition de l'huile d'argan en triglycérides (%)

TGs	Huile d'argan étudiée	Kouidri, 2008	Maurin, 1992
LLO	14.55	11.98	13.6
LLL	7.74	2.90	7.4
OOL	15.78	15.51	-
OOO	11.04	12.08	12.8
SLL	11.95	-	-
SOL	4.99	-	3.0
SSL	4.67	-	-
SOO	1.96	8.29	3.4
POO	11.20	16.84	-
POS	3.01	3.15	1.8
PLL	6.45	4.22	-
POL	3.22	12.61	13.6
PPL	1.62	2.42	1.6

O: oleic acid L: linoleic acid P: palmitic acid S : stearic acid

La distribution des acides gras au niveau des molécules des triglycérides est particulière et très spécifique en comparaison avec la composition en acide gras seule. De ce fait la caractérisation de la composition en triglycérides est considérée parmi les fondements essentiels pour bien déterminer l'identification d'une huile végétale comestible [154].

Ces différences dans l'analyse qualitative et quantitative des TG de l'huile d'argan pourraient être attribuées à des paramètres liés aux facteurs génotypiques, aux conditions environnementales dans lesquelles pousse l'arganier ou à la méthode d'extraction de l'huile [66,70,65].

3.2.2. La fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable représente une fraction mineure des huiles végétales qui ne dépasse guère les 2% en générale, cependant elle regroupe plusieurs constituants [155, 107].

Dans cette étude, il a été observé une valeur de 0,99 % de la matière grasse de l'huile d'argan. Nos résultats corroborent avec ces données et celles trouvés dans différentes études faites par [30,70,55]. D'autre part, [156] et [129] ont enregistré des valeurs de 1,30% et 1,53% respectivement pour une même variété de Tindouf avec une extraction par soxhlet. De ce fait la méthode d'extraction s'est avérée influencer sur la quantité d'insaponifiables dans l'huile d'argan [66].

➤ Détermination des tocophérols

Les tocophérols font partie des composés les plus intéressants de la fraction insaponifiable de l'huile d'argan, en raison de leurs puissants effets antioxydants et de l'activité de la vitamine E. Ils sont largement distribués dans les plantes et confèrent à l'huile d'argan une grande valeur nutritionnelle et thérapeutique pour l'homme [53,36].

L'analyse des tocophérols de notre huile d'argan élaborée à partir d'amandes torréfiées par la méthode artisanale a été réalisée par HPLC (figure 3.3). La teneur totale de tocophérols enregistré était 750,52 mg/kg d'huile. C'est une valeur significativement plus élevée que celles déterminées pour les huiles marocaines, qui varient habituellement entre 630 et 660 mg/kg d'huile [42].

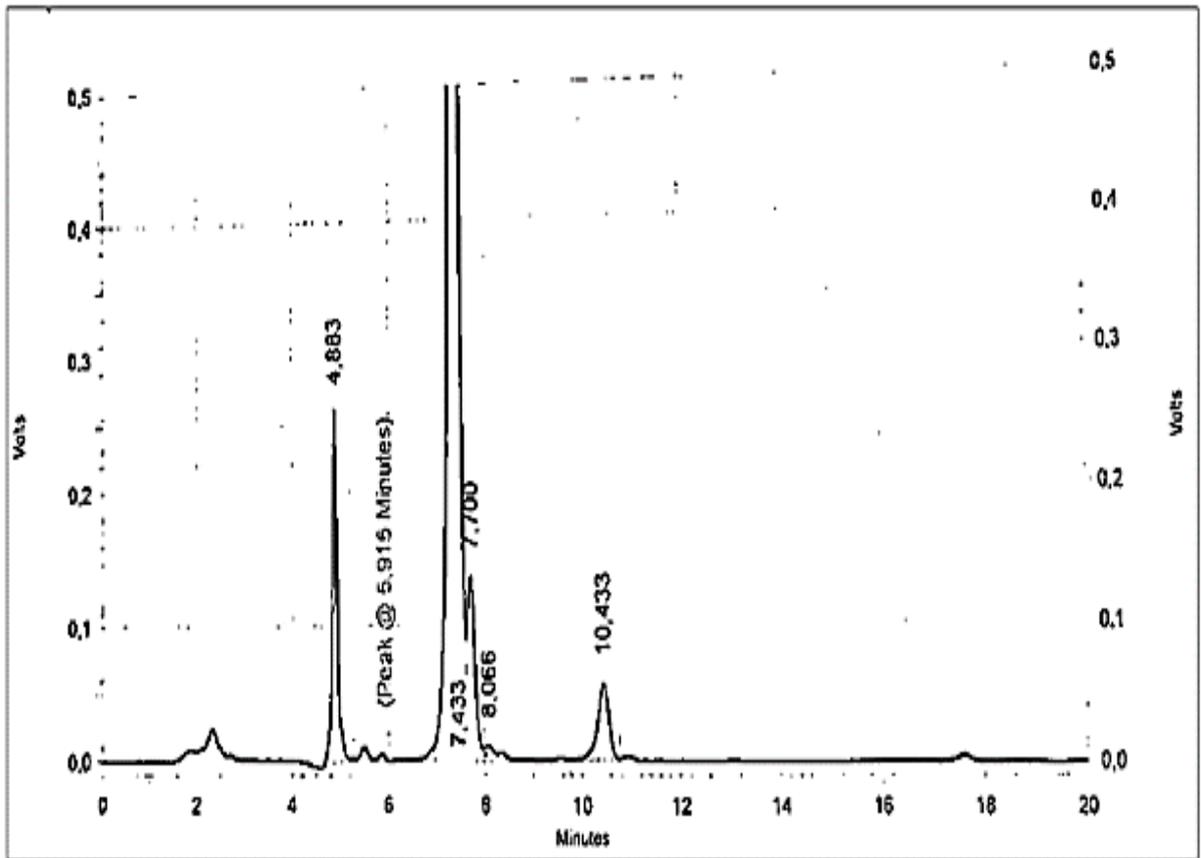


Figure 3.4 : Profil chromatographique des tocophérols de l'huile d'argan

L'analyse nous a également permis d'identifier et de quantifier les différents vitamères des tocophérols (Tableau 3.4). Le γ -tocophérol était le vitamère majoritaire avec une teneur de 640,79 mg/kg d'huile, suivi de α -tocophérol avec une teneur de 75,23 mg/kg d'huile et de δ -tocophérol avec 34,49 mg/kg d'huile. Le β -tocophérol n'a pas été détecté au sein de notre échantillon d'huile d'argan.

Tableau 3.4 : La teneur de l'huile d'argan en tocophérols

	α -Tocopherol	β -Tocopherol	γ -Tocopherol	δ -Tocopherol	Total
mg/kg	75.23	0.00	640.79	34.49	750.52
oil					

D'un point de vue nutritionnel, l'huile d'argan vierge est une source très riche en tocophérols ; en comparaison avec l'huile d'olive, dont les teneurs varient entre 300 et 450 mg/kg d'huile [56,157], bien que la répartition des vitamines soit différente. Dans l'huile d'argan, le principal tocophérol est le γ -tocophérol qui constitue environ 85 % des tocophérols totaux, avec environ 10 % d' α tocophérol, tandis que pour l'huile d'olive vierge, l' α -tocophérol peut représenter 90 à 95 % des tocophérols totaux, le β et le γ tocophérol représentent environ 10% et une très faible teneur de δ -tocophérol [158]. Certains auteurs affirment l'absence de δ -tocophérol dans l'huile d'olive [65, 6].

Les tocophérols sont de puissants antioxydants dans le domaine des lipides, à la fois *in vitro* (graisses et huiles alimentaires) et *in vivo* (membranes biologiques, lipoprotéines et tissus) [159,160, 161]. Le γ -tocophérol diminue le superoxyde, les peroxydes lipidiques et l'ox-LDL dans les artères des rats Sprague Dawley [162]. Il a significativement augmenté l'activité NOS et les nitrites plasmatiques et a également amélioré les activités endogènes de SOD et de la glutathion peroxydase chez les rats spontanément hypertendus (SHR) [163]. Ces effets antioxydants sont cohérents avec le rôle de la vitamine E en tant qu'activateur de Nrf2 [164]. L' α -tocophérol a efficacement réduit les radicaux hydroxyles et superoxydes, De plus, il a éliminé les peroxydes dans différents modèles animaux [165] et il a augmenté également la production de NO [166]. Dans des expériences sur des souris, l' α -tocophérol a amélioré l'hypertriglycéridémie, la résistance à l'insuline et la stéatose hépatique [165].

Les tocophérols agissent aussi contre l'inflammation. Le γ -tocophérol bloque l'activité COX et diminue la synthèse des prostaglandines E2 (PGE2) [167]. De même, l' α -tocophérol inhibe la PKC, la 5-LOX et la PLA2, et active la PP2A et la DAG kinase [168]. Il réprime l'activation du facteur nucléaire- κ B (NF κ B), ainsi que la biosynthèse des cytokines pro-inflammatoires et des molécules d'adhésion [169].

Chez l'homme, les preuves des effets de la vitamine E sur les troubles métaboliques ne sont toujours pas observées. Certains essais ont montré que la vitamine E améliore la dyslipidémie aussi bien chez les patients sous MetSyn [170] que chez les diabétiques [171]. De plus, les tocophérols améliorent le

contrôle glycémique [172], diminuent l'hypertension [173] et augmentent la capacité antioxydante [174]. Des études de cohorte et RCT ont montré une association inverse entre la vitamine E et le risque de cardiomyopathie ischémique [175], d'accident vasculaire cérébral [176], maladie coronarienne [177], infarctus du myocarde [178] et de décès par une insuffisance cardiaque [179].

➤ Dosage colorimétrique de polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux de l'huile d'argan a été réalisé par la méthode colorimétrique au Folin-Ciocalteu. A travers ce dosage spectrophotométrique nous avons pu déterminer la concentration des polyphénols totaux en se référant à la courbe d'étalonnage, les valeurs obtenus ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par kg d'huile. Les résultats révèlent une teneur de $51,01 \pm 0,04$ mg/kg d'huile.

La concentration des composés phénoliques dosée est comparable aux résultats présentés par [140, 180, 135] où ils ont montré des teneurs de 58,57 mg/kg, 52,36 mg/kg, 56,2 mg/kg et 50,01 mg/kg respectivement. Cependant, [42] ont révélé une concentration nettement plus faible (5 mg/kg). D'autre part [129] a trouvé une concentration nettement supérieure à notre résultats estimée de 163,79 mg/kg.

Cette variabilité enregistrée des concentrations en polyphénols peut être attribuée à la température et au temps de torréfaction des amandes, de même la quantité d'eau utilisée l'hors de l'extraction et les conditions de stockage peuvent influencer les teneurs en ces composés [129, 181].

L'huile d'argan est relativement pauvre en polyphénols par rapport aux autres huiles végétales telles que l'huile d'olive qui enregistrent un taux de 133 mg/kg. Toutefois, leur présence reste intéressante car ces composés contribuent activement à sa stabilité, en améliorant sa résistance à l'auto-oxydation, assurant également une longue conservation pour l'huile. D'autre part, ces polyphénols sont ainsi responsables du goût particulier, à la fois amer et fruité de cette huile [182].

La diversité structurale de la famille des polyphénols qui sont connus comme des molécules biologiquement actives valorisent l'huile d'argan en raison de leurs effets anti-inflammatoires, analgésiques et cicatrisant.

3.3. Etude des activités biologiques de l'huile d'argan

3.3.1. Résultats de l'activité antimicrobienne

L'huile d'*Argania spinosa* a été testé in vitro par la méthode de diffusion sur milieu solide afin d'évaluer son effet antimicrobien sur neuf microorganismes dont sept souches bactériennes et deux levures.

Les résultats obtenus représentées par la figure 3.5 montre une absence totale de zones d'inhibitions pour les neuf souches testées en l'occurrence *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*.

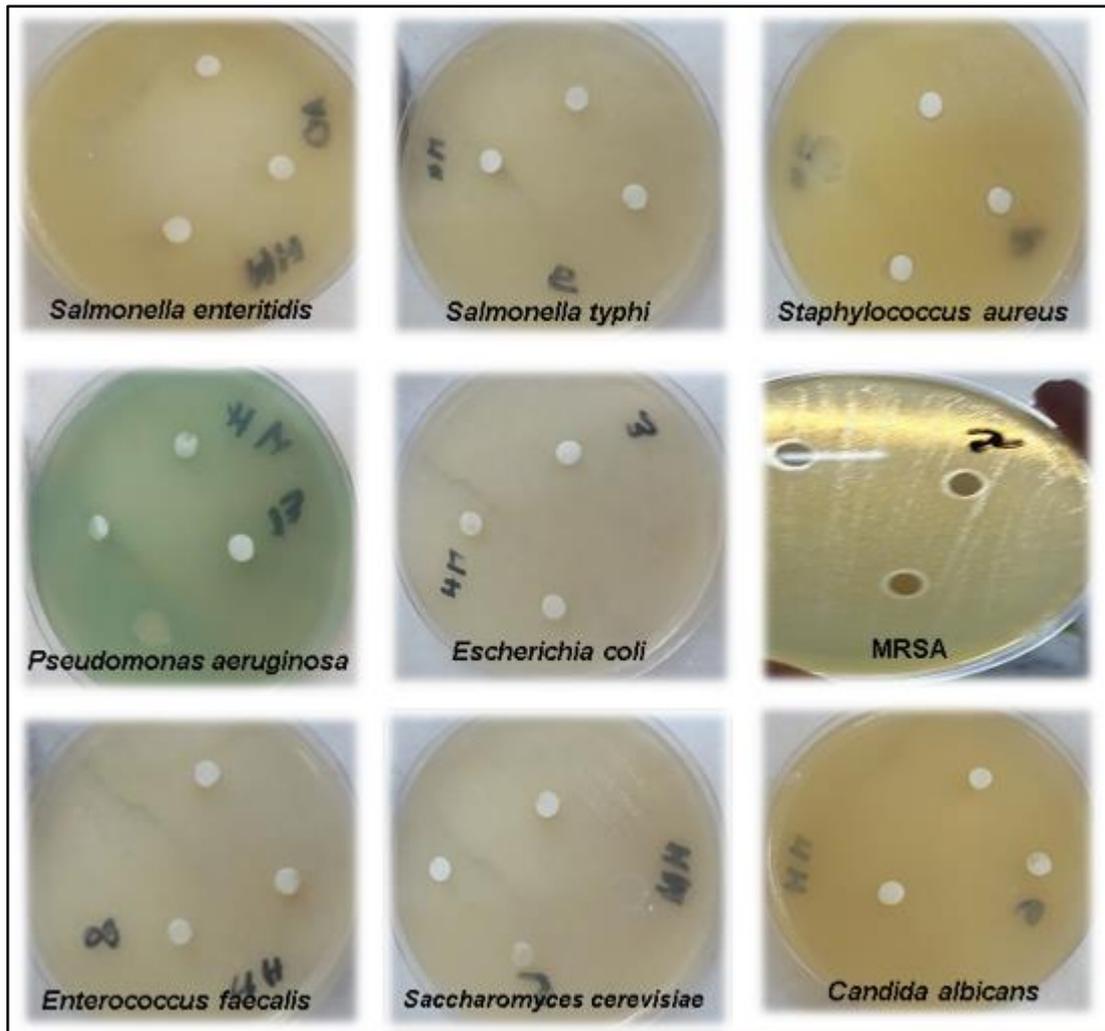


Figure: 3.5 : Antibiogramme sur milieu solide de l'huile d'*Argania spinosa*

Cette absence de zone d'inhibition autour des disques pour les bactéries et les levures, indique l'absence de l'activité antimicrobienne de l'huile d'argan.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par [140]. La faible teneur en molécules ayant un effet antimicrobien, surtout les polyphénols, au sein de cette huile explique l'absence de ce pouvoir inhibiteur. Cela peut ouvrir plusieurs perspectives concernant son application dans le domaine alimentaire et son utilisation comme un complément alimentaire naturel sans qu'elle altère la flore microbienne intestinale.

3.3.2. Résultats de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'huile d'argan a été analysée par le test de piégeage du radical libre DPPH.

Cette technique nous a permis d'exprimer l'IC50, qui est inversement lié à la capacité antioxydante d'une huile. C'est-à-dire plus la valeur de l'IC50 est faible plus l'activité antioxydante est importante.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes de variations des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en huile ou en antioxydant de référence (figures 3. 6 et 3. 7). Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration en huile ou en acide ascorbique qui est l'antioxydant de référence. Les valeurs IC50 ont été calculées à partir des équations des courbes.

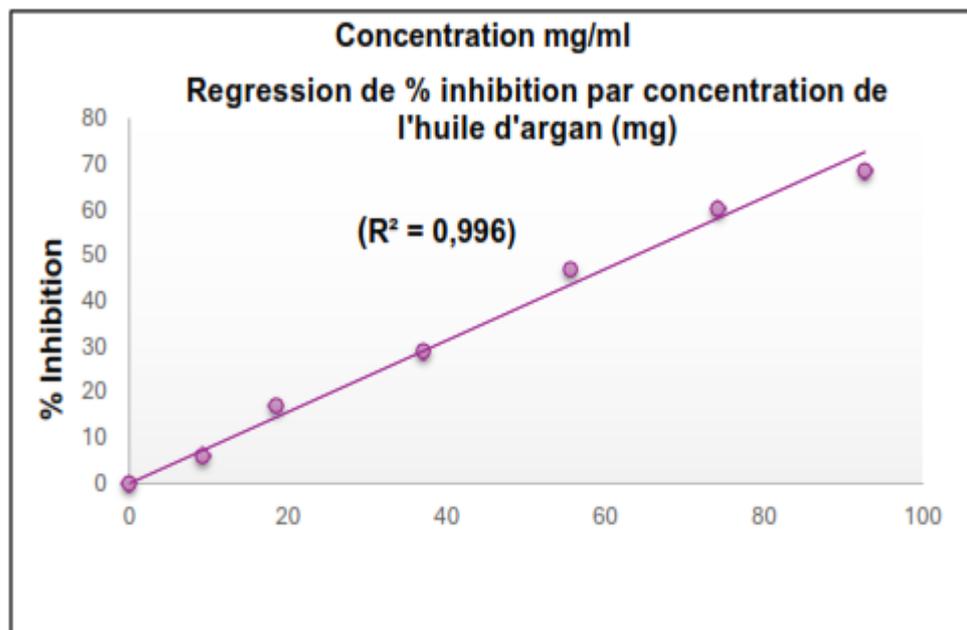


Figure 3.6 : Pourcentage d'inhibition de l'huile d'*Argania spinosa*

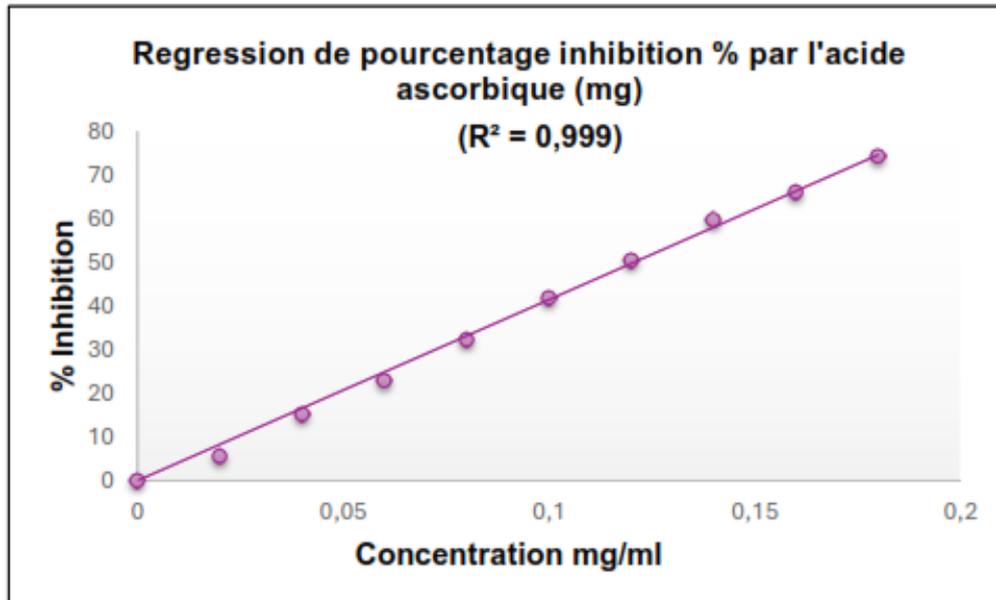


Figure 3.7 : Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique

Comme le montre la figure 3.8 l'antioxydant de référence, acide ascorbique a montré une activité anti-radicalaire puissante témoignée par une valeur d'IC₅₀ égale à $0,120 \pm 00$ mg/ml. L'huile d'argan testée a donné une valeur de l'IC₅₀ de 64.136 ± 0.341 mg/ml. Cette valeur est plus élevée par rapport à la valeur d'IC₅₀ de la référence, l'acide ascorbique. [140] a enregistré une valeur d'IC₅₀ plus élevée en comparaison à celle obtenue dans notre travail qui est de l'ordre de 132 mg/ml, alors que [156] a obtenu des valeurs meilleures qui varient de 14,20 à 16,85 mg/ml.

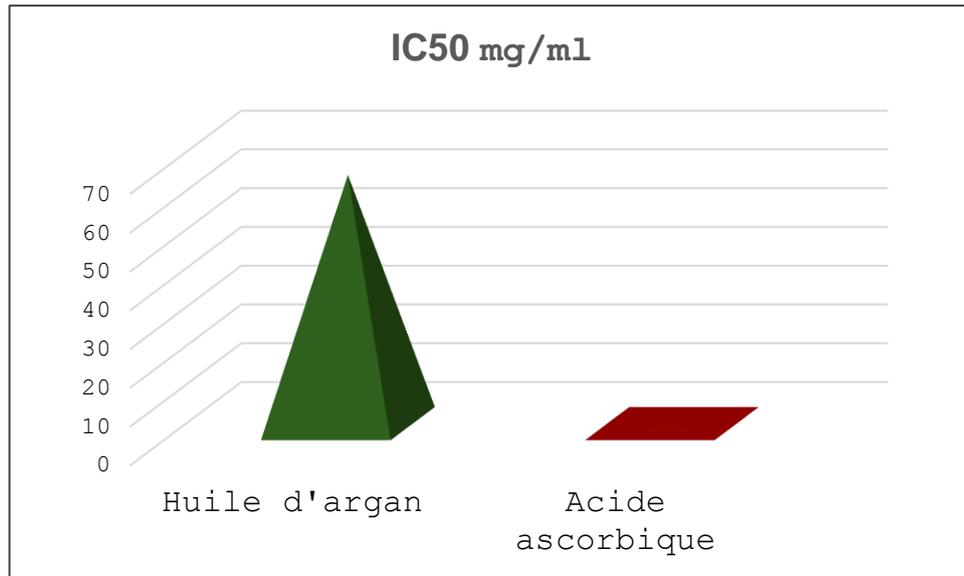


Figure 3.8 : Les valeurs de l'IC50

La faible teneur en fraction insaponifiable de l'huile d'argan notamment les tocophérols et les polyphénols peut expliquer l'effet antioxydant qui se montre très faible en le comparant avec l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique. D'autre part, selon [122] les composés phénoliques présentent la plus grande activité antioxydante vis-à-vis du radical stable DPPH, cela nous permet de déduire que la faible activité antioxydante enregistrée pour l'huile entière est peut-être due aux lipides qui masquent ces composés phénoliques. Il est à noter que, cette huile aide à maintenir les défenses naturelles de l'organisme contre plusieurs maladies liées au stress oxydatif, comme les maladies cardiovasculaires, les cancers et les processus inflammatoires [78].

CONCLUSION

CONCLUSION

La présente recherche s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche du laboratoire de recherche de biotechnologies, environnement et santé (université Blida 1). Elle vise la valorisation et la préservation de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) algérien endémique de Tindouf et essentiellement d'intensifier la valeur de la fameuse huile d'argan algérienne extraite traditionnellement des graines de cet arbre à travers une caractérisation de sa qualité physico-chimique. Pour cela, une étude de sa composition chimique et ainsi qu'une évaluation de quelques activités biologiques ont été réalisées.

Pour la caractérisation des paramètres physiques (densité, indice de réfraction, couleur et extinction spécifique dans l'UV) et chimiques (indice d'acide, indice de peroxyde, indice de saponification, indice d'iode, la teneur en eau et en matière volatiles) de l'huile d'argan de Tindouf extraite traditionnellement, dans l'ensemble, ils répondent aux normes marocaines. Or nous enregistrons une légère élévation de la valeur de la densité. Une différence significative de l'acidité a été détecté en comparant l'huile analysée extraite traditionnellement des amandons torréfiées à une huile extraite des amandons torréfiées par une extraction chimique d'une même région géographique (Région de Tindouf). Ce qui nous permettra de dire que la méthode d'extraction influence sur la qualité de l'huile.

En tenant compte les paramètres de classification des huiles d'argan en l'occurrence, l'acidité, l'indice de peroxyde et l'extinction spécifique à 232 nm et 270 nm, nous pouvant classer l'huile analysée dans ce travail comme une huile « vierge » courante .

Quant à la fraction saponifiable, les analyses ont dévoilé que l'huile analysée est de type oléique-linoléique grâce à sa richesse en acides gras insaturés (44,66% et 28,36% respectivement). Cette valeur importante d'acide linoléique, dit essentiel, rend l'huile d'une meilleure qualité alimentaire. Les acides gras saturés sont représentés essentiellement par l'acide palmitique (14,19%) et l'acide stéarique (6,86%). Pour les triglycérides, parmi les 12 composés détectés

les cinq TG majoritaires qui sont le OOL (15,78%), LLO (14,55%), SLL (11,95%) ; POO (11,20%) et OOO (11,04%), confirme le type oléique linoléique de l'huile.

D'autre part la fraction insaponifiable de l'huile d'argan qui représente 0,99% uniquement, comporte des composés mineurs mais d'une valeur nutritionnelle et thérapeutiques majeurs tels que : les tocophérols et les polyphénols.

- Les tocophérols expriment des valeurs relativement considérables (750,52 mg/kg d'huile). Cette détermination nous a permis de fractionner et d'identifier 03 tocophérols qui sont le γ -tocophérol, le α -tocophérol et le δ -tocophérol avec la prédominance caractéristique de γ -tocophérol avec un taux de 640,79 mg/kg de l'huile.
- Le dosage colorimétrique des polyphénols a montré un faible taux de ces composés ($51,01 \pm 0,04$ mg/kg) mais qui confère à l'huile un rôle remarquable.

L'étude de l'activité antimicrobienne révèle l'absence des zones d'inhibitions autour les disques. Ainsi, l'huile étudiée n'inhibe pas la croissance des microorganismes testés en l'occurrence les bactéries Gram + et Gram - ainsi que les levures. Le test DPPH a révélé que l'huile de Tindouf obtenue traditionnellement présente un pouvoir antioxydant qui permet son utilisation dans différents domaines.

A la lumière de ces résultats, l'huile d'argan de Tindouf extraite d'une manière artisanale est comparable aux huiles commercialisées. Son profil très original traduit son utilisation traditionnelle par les autochtones comme une huile comestible. Par ailleurs, l'absence d'une action antimicrobienne de cette huile, ce qui est le cas de la majorité des huiles végétales comestibles, ouvrent plusieurs perspectives sur son effet sur la microflore intestinale et son application comme additif alimentaire à l'avenir.

Cette huile oléique-linoléique vierge très riche en tocophérols est caractérisée par un faible coefficient d'extinction spécifique et un faible indice de peroxyde avec des qualités diététiques importantes. Cette huile mérite d'être valorisée dans une vision de développement durable.

APPENDICE

APPENDICE A

Liste des symboles et des abréviations

AGI : acide gras insaturé

AGMI : acide gras monoinsaturé

AGPI : acide gras polyinsaturé

ATCC : *American Type Culture Collection*

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

C° : degrés Celsius

CG-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

cm : centimètre

COX : cyclooxygénase

CPG-FID : chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme

DAG : Diacylglycerol

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

FAME : fatty acid methyl ester

g : gramme

h : heure

ha : hectare

HDL : high density lipoprotein

I.A : indice d'acide

I.I : indice d'iode

I.P : indice de peroxyde

I.R : indice de réfraction

I.S : indice de saponification

IA : l'indice d'athérogénicité

IC50 : Concentration effective de l'antioxydant qui correspond à une réduction de % 50 de l'activité du DPPH dans le milieu réactionnel

IT : l'indice de thrombogénicité

kg : kilogramme

Km : kilomètres

l : litre

LDL : Low Density Lipoprotein

5-LOX : 5-lipoxygénase

m : mètre

Me : milléquivalent

mg : milligramme

MH : Mueller-Hinton

min : minutes

ml : millilitres

N : normalité

NO : Oxyde nitrique

NOS : oxyde nitrique synthétase (Nitric Oxide Synthase)

Nrf2 : Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2

ox-LDL : LDL oxydées

PGE2 : prostaglandines E2

PKC : protéine kinase C

PLA2 : Phospholipases A2

PP2A : Protéine phosphatase 2

ppm : parts per million

RP-HPLC : chromatographie liquide à haute performance- phase inversée

SHR : spontaneously hypertensive rats (SHR)

SOD : Superoxyde dismutase

TE : teneur en eau et matières volatiles

TG : triglycéride

UV : ultraviolet

APPENDICE B

Instruments, Appareillages et Réactifs Utilisés

○ Verreries et consommables

- Pince
- Ecouvillon en coton
- Pipettes pasteur
- Micropipette
- Boîte de Pétri
- Poire d'aspiration
- Portoirs pour les tubes
- Tubes à essai
- Papier filtre
- Fioles ,Erlenmeyers et entonnoirs
- Eprouvette graduée
- Ballon
- Disques à imprégnés
- Embouts
- Bécher

○ Appareillage

- Etuve
- Bec Bunsen
- Densitomètre
- Plaque Chauffante
- Réfrigérateur
- Balance de précision
- Microscope
- Appareil de chromatographie CPG-FID Agilent 7890 B (Agilent technologies, USA)
- Appareil de chromatographie en phase gazeuse Hewlett Packard Agilent 6890 plus, couplé avec le spectromètre de masse Hewlett Packard Agilent 5973
- Appareil de chromatographie PR-HPLC (Agilent Technologies 1260 Infinity, USA)

○ **Solvants, Solution stérile et réactifs**

- Acide chlorhydrique
- DPPH
- Hydroxyde de potassium
- Eau distillée
- Eau physiologique stérile
- Ethanol
- Hydroxyde de potassium KOH
- Phénolphaléine
- Acide acétique
- Chloroforme
- Carbonate de sodium
- Folin-ciocalteu
- Méthanol
- Acide ascorbique
- L'iodure de potassium KI
- Thiosulfate de sodium
- Acide gallique
- Sulfate de sodium anhydre
- Cyclohexane
- Acide acétique
- Chloroforme
- Réactifs de Wijs

○ **Compositions des milieux de cultures**

Milieu Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf	300 g
Hydrolysate de caséine	17.5 g
Amidon	1.5 g
Agar	17 g
Eau distillée	1000 g

Milieu Sabouraud pH=6.0

Peptone	10 g
Glucose massé	20 g
Agar-Agar	15 g
Eau distillée (qsp)	1000 g
Vitamine et facteurs de croissance	

Gélose nutritive pH=7.0

Extrait de viande	1.0 g
Extrait de levure	2.5 g
Peptone	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g

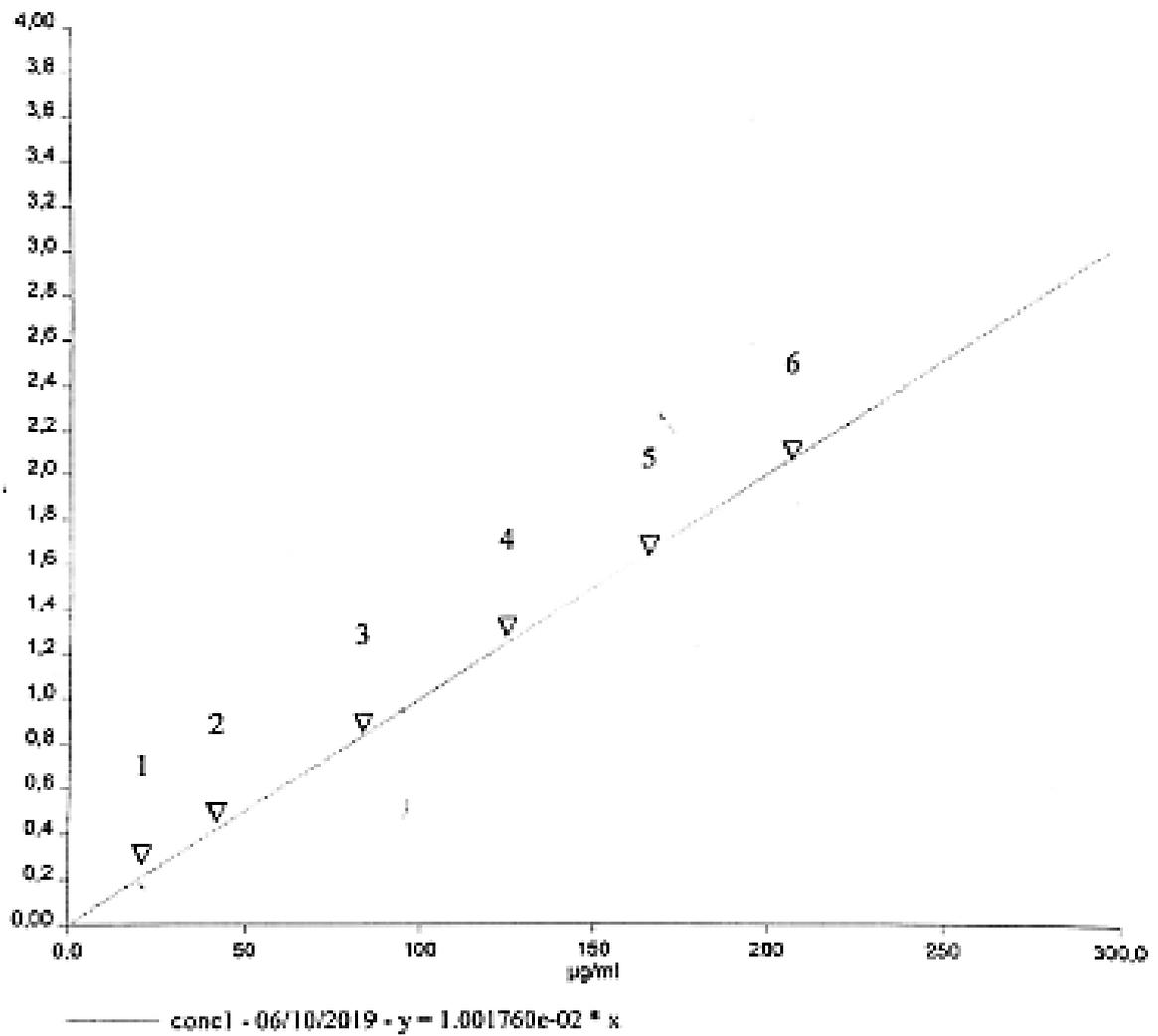
APPENDICE C

Courbes

- Courbe d'étalonnage 'Acide gallique'

Date: 06/10/2019

Time: 15:19:19



Appendice D

Analyse statistique

- Analyse de la variance

- ▲ Indice d'acide

Analyse de la variance						
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F	Prob. > F	
methode d'extraction	1	0,94584675	0,945847	1351,210	0,0007*	
Erreur	2	0,00140000	0,000700			
Total corrigé	3	0,94724675				

Moyennes pour l'ANOVA à un facteur						
Niveau	Nombre	Moyenne	Erreur standard	Limite de confiance inférieure 95 %	Limite de confiance supérieure 95 %	
Chimique (CH)	3	0,55000	0,01528	0,4843	0,6157	
Traditionnelle (M1)	1	1,67300	0,02646	1,5592	1,7868	

L'erreur standard utilise une estimation groupée de la variance de l'erreur.

- ▲ Indice de peroxyde

Analyse de la variance						
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F	Prob. > F	
methode d'extraction	1	6,1089870	6,10899	181,8151	0,0055*	
Erreur	2	0,0672000	0,03360			
Total corrigé	3	6,1761870				

Moyennes pour l'ANOVA à un facteur						
Niveau	Nombre	Moyenne	Erreur standard	Limite de confiance inférieure 95 %	Limite de confiance supérieure 95 %	
Chimique (CH)	3	6,92000	0,10583	6,4647	7,3753	
Traditionnelle (M1)	1	4,06600	0,18330	3,2773	4,8547	

L'erreur standard utilise une estimation groupée de la variance de l'erreur.

▲ Coefficients d'extinction spécifique dans UV

✓ A 232 nm

Analyse de la variance					
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F	Prob. > F
methode d'extraction	1	0,02448033	0,024480	0,4361	0,5769
Erreur	2	0,11226667	0,056133		
Total corrigé	3	0,13674700			

Moyennes pour l'ANOVA à un facteur					
Niveau	Nombre	Moyenne	Erreur standard	Limite de confiance inférieure 95 %	Limite de confiance supérieure 95 %
Chimique (CH)	3	1,27667	0,13679	0,68811	1,8652
Traditionnelle (M1)	1	1,09600	0,23692	0,07660	2,1154

L'erreur standard utilise une estimation groupée de la variance de l'erreur.

✓ 270 nm

Analyse de la variance					
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F	Prob. > F
methode d'extraction	1	0,00081675	0,000817	1,1668	0,3930
Erreur	2	0,00140000	0,000700		
Total corrigé	3	0,00221675			

Moyennes pour l'ANOVA à un facteur					
Niveau	Nombre	Moyenne	Erreur standard	Limite de confiance inférieure 95 %	Limite de confiance supérieure 95 %
Chimique (CH)	3	0,200000	0,01528	0,13428	0,26572
Traditionnelle (M1)	1	0,167000	0,02646	0,05316	0,28084

L'erreur standard utilise une estimation groupée de la variance de l'erreur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES

1. Chiriti A., Belboukhri N., Boulenouari N., Marouf A. et Hocini S. Potentiel ethnopharmacologique et phytochimique de quelques asteraceae du sahara algérien ,6 : 114122, (2011).
2. Djerrou Z. Etude des effets pharmaco-toxicologique de plante médicinales d'Algérie : l'activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine, (2011), 156 p.
3. Gagnon Yancie. Étude de l'extraction des huiles végétales en milieu aqueux assistée par des tensioactifs. Thèse de doctorat, Spécialité : Génie des Procédés : Transformations intégrées de la matière renouvelable (EA-4297). Université Alliance Sorbonne, (2021), 210 p.
4. Charrouf, Z., Guillaume, D., « Ethnoeconomical, ethnomedical and phytochemical study of *Argania spinosa* (L) Skeels », Journal of Ethnopharmacology. V.6 (1999), 7-14.
5. Bumer M. et zeraia L, *La plus continentale des stations d'arganier en Afrique du Nord*, Rev. For. Fr. LI - 3-1999, France, (1999), 450 p.
6. El Monfalouti. H., Contribution à la détermination des propriétés photoprotectrices et anti-oxydantes des dérivés de l'arganier: études chimiques et physiologiques. Thèse en cotutelle entre l'université de Reims champagne Ardennes et faculté de pharmacie- France et l'Université Mohammed V AGDAL, Faculté des sciences Rabat – Maroc, (2013), 188 p.
7. Gharby, S. Contribution à la valorisation de l'huile d'argane Influence de l'origine du fruit (terroir, forme) et de la méthode d'extraction sur la composition chimique, les caractéristiques organoleptiques et la stabilité

de l'huile d'argane, Université Mohammed V- AGDAL. Faculté des sciences, RABAT, Thèse de doctorat, (2012), 241 p.

8. Cherki M., Derouiche A., Drissi A., EL Messam.b, Bamou Y., Idrissi-Ouadghiri A., Khalil A. and Adlouni A., Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, Vol 15, (2005), p 352-360.
9. Guillaume, D., Charrouf, Z., Argan oil and other argan products; use in dermocosmetology. *Eur J Lipid Sci Technol.* (2011), 113, 403-408.
10. RADI N., l'arganier: arbre du sud-ouest Marocain, en péril à protéger, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, université de Nantes (2003).
11. Nouaim R., Chaussod R., Mangin G. and Massillon P. L'arganier, système racinaire et microflore, Colloque : Ligneux des zones arides, Nancy, (1991).
12. Benkheira A., L'arganeraie algérienne. Bulletin d'information, conservation de la biodiversité et gestion durable des ressources naturelles, publication du projet ALG/ G35. (2009), 15p.
13. Benzyane M, 1995,. Le rôle socio-économique et environnemental de l'arganier. Actes des journées d'étude sur l'arganier, Essaouira, 29-30 septembre 1995, 3 p.
14. . El Abed A. Réactivité thermique et cinétique de dégradation du bois d'arganier – Application à l'élaboration de charbon actif par activation chimique à l'acides phosphoriques, thèse de doctorat en chimie, spécialité : Chimie-physique, université Mohammed V- AGDAL, Rabat, (2007), 198p.

15. Wagret, P., « L'Arganeraie du Sud Marocain relique de tertiaire et providence des populations », *Nature Science Progrès*, V. 85, (1962), 390-393.
16. Charrouf Z, D Guillaume,. Sustainable development in North Africa : The argan forest case. *Sustainability*, 1, (2009), 1012-1022.
17. Stussi I., Henry F., Moser PH., Damoux., Jeanmaire CHR., Gillon V., Benoit I., Charrouf Z et Pauly G. How Ecological Farming, Fair Trade and Sustainability Can Drive the Research for New Cosmetic Active Ingredients. *SOFW-Journal*, 131. 10, (2005), 35-46.
18. NOUAIM R. et CHAUSSOD R., L'arganier, le flamboyant, *Bultin liaison réseau arbres tropicaux*, (1994). p 3-8 .
19. Msanda F., El Aboudi A. et Peltier J.P., . Biodiversité et Biogéographie de l'arganeraie marocaine, *Cahiers Agricultures*, vol 14(4), (2005) Pp 357-364.
20. Morsli A . Essai de vitropropagation de l'arganier : *Argania spinosa* (L.)Skeels a partir des vitrosemis, Mémoire de magister, protection de la nature, INA, Alger, (1999). 89p
21. Kouidri .M,. Extraction et caractérisation physico-chimique de l'huile d'argan provenant d'arbres cultivés dans deux régions de l'Algérie (Tindouf et Mostaganem). Mémoire de magistère. Université Hassiba Benouali, Chlef, (2008).79p.
22. Kechairi, ; R, Contribution à l'étude écologique de l'Arganie ; *Argania spinosa* (L.) Skeels. La région de Tindouf (Algérie), Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie, «HOUARI BOUMEDIENE». *Ecologie et Environnement*. (2009), p 76.
23. Mebarki M., Lamhamadi S., Margolis H Ziane el Abidine A., Abourrah M et Taimi A. Mise au point d'un substrat de culture organique par compostage de

la biomasse forestière pour la culture de l'Arganier (*Argania spinosa* L. skeels) en pépinière forestière. Les premières assises de la recherche forestière "l'Arganier : un rempart contre la désertification ". Essaouira : 25 et 26 (2006).

24. Angiosperm Phylogeny Group, 2009.- An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Bot. J. Linn. Soc., 161, 105-121.
25. Badraddine A., Préparation et Caractérisation d'Extraits d'*Argania spinosa* et d'Huile d'Argan Et Evaluation de leurs Effets Neuroprotecteurs In Vivo et In Vitro. These de doctorat en cotutelle, Université hassan I- settat – Maroc ,Université de bourgogne franche-comte – Dijon – France, (2017), 306 p.
26. Bezzala A., Essai d'introduction de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) dans la zone M'doukel et évaluation de quelques parametres de résistance à la secheresse, Mémoire de magistere en science agronomiques –option : Foret et conservation des sols, Université Hadj Lakhdar Batna, (2005) 143p.
27. Kechebar MSA., Carectérisation de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) en Algérie et impact de la salinité. *Thèse de doctorat ; Université Des Frères Mentouri Constantine. (2016), 209p.*
28. Boudy P. Guide forestier en Afrique de Nord, Edition Maison Rustique Paris, (1952).
29. Bani Ameur F., Louali L. et Dupuis P . Maturation et chute des fruits de l'arganier, Actes de l'institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Vol : 18 (3), (1998), Pp 137, 144.

30. Charrouf Z. Valorisation de l'huile d'argan par des groupements de femmes, Colloque international sur les ressources végétales "L'arganier et les plantes des zones arides et semi-aride", Agadir 23-25 Avril, (1998).
31. Emberger L. Les arbres du Maroc et comment les connaître. Paris, Larousse. (1938), pp 271-277.
32. Bani ameur F. Phenological phases of *Argania spinosa* (L.) Skeels flower, For genetics, Vol 7, (2000).Pp 333-338.
33. Mokhtari M. Production rapide de plants d'arganier aptes à la transplantation. Laboratoire d'écophysiologie végétale ; Institut agronomique et vétérinaire Hassan II. Agadir. Bull. d'information et de liaison du PNTTA, n°95. (2002), Pp : 1-3.
34. Aibeche C. et Fartas Z. Les endomycorhises arbusculaires de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) du nord ouest Algérien, Le premier séminaire international d'étude : Agriculture biologique et développement durable (AGRIBIO 2011), Oran, Février (2011).12-15.
35. Aci .L, Smail-Saadoun. N, Saidi, F. Architecture racinaire de l'arganier de touiref bou aam (tindouf, algerie). Algerian journal of arid environment, vol. 8, n°1, Juin 2018: 72-87.
36. Khallouki. F, Spiegelhalder. B, et al. Secondary metabolites of argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. *J. Biotechnol.*, 4: (2005), 381-388.
37. Nouaim, R. « Biologie de l'arganier : Exemple de programme scientifique à vocation appliquée. In : Actes des journées d'étude sur l'Arganier », Septembre 2005), Groupement d'études et de la recherche pour la proportion d'Essaouira (G.E.R.P.E).

38. Errouati A. Problématique de la régénération assistée et des reboisements à base d'*Argania spinosa* dans la région du massif forestier d'Amsitten (Province d'Essaouira). Mémoire de 3 Cycle, ENFI, Salé, Maroc, (2005), 42 p +Annexes.
39. Challot. L'arganier.Revuedebois. (1949),Pp : 7-12.
40. Ehrig R., - Die Arganie: Charakter, Ökologie und wirtschaftliche Bedeutung eines Tertiärreliktes In: Morokko. Ptermanns geographische Mitteilungen. 118 (2). (1974), Pp: 117-125.
41. Calonne C.Maroc : l'huile d'argan, une affaire de femmes in le magazine de voyage reçu (Absolute travail Mag (2007) N° 88.
42. Khallouki F, Younos C, Soulimani R, Oster T, Charrouf Z, Spiegelhalder B, Bartsch H, Owen RW ,. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. European journal of cancer prevention. 12 (1) (2003), 67-75.
43. Bamouh A. Le marché de l'huile d'argan et son impact sur les ménages et la forêt dans la région d'Essaouira. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, 95, (2009), 4p.
44. Zougagh, M., Salghi, R., Dhair, S., and Rios, A.. Nanoparticle-based assay for the detection of virgin argan oil adulteration and its rapid quality evaluation. Anal Bioanal Chem 399, (2011), 2395-2405.
45. Ziane N,. Importances subventions pour le « projet Arganier » pour la sauvegarde d'une grande ressource forestière marocaine. Le portrait smagigh. (2006).

46. Chaussod R, Adlouni A, Christon R., « L'arganier et l'huile d'argane au Maroc : vers la mutation d'un système agroforestier traditionnel ? », Cah Agric, 14, (2005), p. 351-356.
47. Quezel P., Réflexion sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen. Univ. D'Aix-Marseille III. Paris. Ibis Press. (2000),117p.
48. Sandret F.G., La pulpe d'argan, composition chimique et valeur fourragère: Variation au cours de maturation. Annale de la recherche forestière. Maroc. Rabat ; rapport annuel 1956. (1957), Pp : 152-177.
49. Fellat-Zarrouk K. et Smoughen S., Maurin R., - Etude de la pulpe du fruit de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) du Maroc. Matière grasse et latex. Acts Inst. Agro. Vét. Rabat. (1987), Pp :17-22.
50. Benhammou B,. L'arganier un levier du développement durable du milieu rural marocain. Colloque international, Synthèse de communications, 27 et 28 Avril (2007), 15-19.
51. BENNANI H., DRISSI A., GITON F., KHEUANG L., FIET J. and ADLOUNI A.,. Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines, Cancer Investigation, Vol 24 (6), (2007), Pp 588-592.
52. El Kabous A . Contribution à l'étude des flavonoïdes des feuilles de l'arganier. (*Argania spinosa* L.) Sapotaceae. Mémoire CEA. Université Mohammed-V, (1995) Rabat.
53. Charrouf Z,. L'huile d'argan, une prodigieuse vitalité née au désert, Espérance médicale, Tom 9, N : 87 (2002).

54. Moukal, A., *L'arganier, Argania spinosa L.(Skeels), usage thérapeutique, cosmétique et alimentaire*. Phytothérapie, (2004). 2: p. 135-141.
55. Adlouni A., L'huile d'argan, de la nutrition á la sante, article de synthèse, Nutrition, N : 8, (2010), Pp 89-97.
56. Charrouf Z., Guillaume D. Should the Amazigh diet (regular and moderate argan-oil consumption have a beneficial impact on human health? *Crit Rev Food Sci Nutr* (50), (2010), 473-477.
57. Gharby S, Harhar H, Guillaume D, Haddad A, Charrouf Z., The Origin of Virgin Edible Argan Oil High Oxidative Stability Unravelled. *Natural Product Communications* (7), (2012), 1-3.
58. Rahmani M., L'huile des argans: un produit alimentaire et diététique de qualité, formation forestière continue, thème -l'arganier-. Station de Recherches Forestieres. Rabat, 13-17 Mars (1989) ,Pp. 74-81.
59. Rahmani, Production, technologie et commercialisation des noix d'argan Aménagement sylvopastoral et agro-forestier de l'arganeraie et de la tétraclinaie, de la commune rurale idaTrthouma Essaouira, AEFCS/Aboukassim, (1994).43p.
60. Charrouf Z. and Guillaume D., Phenols and polyphenols from *Argania spinosa*, *American Journal of Food Technology*, Vol 2, (2007),Pp679–683.
61. El Monfalouti H, Guillaume D, Denhez C, Charrouf Z. Therapeutic potential of argan oil: a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* (2010) ; 62, 1669-1675.

62. Hatinguais P. ; Trebosc M.T. et Belle R. Extrait lipidique du fruit de l'Arganier, Procédé de préparation et application en Cosmétologie. Brevet Paris (FRA) : INPI, (1983), 5p.-FR 2553 788-B1.
63. Boukhobza M. et Pichon- Prum N., L'arganier : ressource économiques et médicinales pour le Maroc, phytotherapy, N :27, (1988) .Pp 21-26.
64. Charrouf Z. and guillaume D., Ethno economical, ethnomedical, and phytochemical study of *Argania spinosa* (L.)Skeels, JEthnopharmacol, Vol 67, (1999), Pp7–14.
65. Rahmani. M,. Composition chimique de l'huile d'argan « vierge ». Cahiers Agricultures vol. 14, n°5, septembre-octobre, (2005), 461-465.
66. Hilali, M., Charrouf, Z., El Aziz Soulhi, A., Hachimi, L., Guillaume, D., Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition. J. Agric. Food chem. (2005), 53, 2081–2087.
67. Service de normalisation industrielle (SNIMA).Corps gras d'origine animale et végétale- Huiles d'argane. Spécifications, Norme Marocaine NM 08.5.090. Snima, Rabat (Morocco), (2003).
68. Rammal H., Bouayed J. Younos C et Soulimani R., Notes ethnobotanique et phytopharmacologique d'*Argania spinosa* L., phytoyhérapie, Vol 7, (2009), Pp 157-160.
69. Agouzzal. I., Les vertus thérapeutiques de l'huile d'argan : Enquête Menée a la région de SOUS MASSA au Maroc. Université Mohamed V. Faculté de médecine et de pharmacie, Thèse de doctorat, Rabat, Maroc, (2019), 134p.
70. Maurin R. Argan oil *Argania spinosa* (L.) Skeels (Sapotaceae), Fr. Corps Gras, Vol 39, (1992). Pp 139 146.

71. Zia-UI-Haq, M., Dewanjee, S., & Riaz, M., "Caroténoïdes :Structure and Function in the Human Body", Springer Nature, (2021), 859p.
72. Maudet, M.N., "Caroténoïdes et vitamine A", actualités. Oléagineux, Corps Gras, Lipides., V. 7, n° 3, (2000), 266-70.
73. Collier, A. & Lemaire, B., Carotenoids of argan oil. Cahier nutritional diet, 9, (1974), 300-303.
74. Mohd, Y., "Lichen-Derived Products : Extraction and Applications", John Wiley & Sons , (2020), 304p.
75. Zhou W., Kanagasabai, J., Liu P., Jayasimha A., Sinha P., Veeramachanemi M. Miller B. and NES W. D., Mechanism- based enzyme inactivators of phytosterol biosynthesis, Molecules, Vol 9, N 4, (2004), .Pp 185-203.
76. Cuvelier, C., Dotreppe, O., & Istasse, L. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. Ann.Méd .Véte, 147, (2003), 315 – 324.
77. Bertoli P., Cimatti A., Roveri M, and. Traverso P. Planning in Nondeterministic Domains under Partial Observability via Symbolic Model Checking. In Proc. IJCAI-01. AAAI Press, (2001).
78. Rojas L., Quideau S., Pardon P., and Charrouf Z., Colorimetric evaluation of phenolic content and GC-MS haracterizas of phenolic composition of alimentary and cosmetic argane oil and press cake, J. Agri. Food Chem, Vol 53, (2005), Pp 9122-9127.
79. Farines M., Soulier J., Charrouf Z. et Cave A. Etude de l'huile des graines d'*Argania spinosa* (L.) sapotaceae , stérol alcools triterpéniques et méthylstérols de l'huile d'argan, Rev Fr Corps , Vol 11, (1984), Pp443-448.

80. Rao M. B., Tanksale A. M., Ghatge M. S. and Deshpande V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62 (3) (1984),: 597-653.
81. Kohno N., G. Barnes L, and. Hirota K. Miocene fossil pinnipeds of the genera *Prototaria* and *Neotherium* (Carnivora; Otariidae; Imagotariinae) in the North Pacific Ocean: Evolution, relationships and distribution. *The Island Arc* 3: (1995), 285-308.
82. M'HIRIT O., L'arganier: une espèce fruitière à usage multiple, Formation forestière continue, thème « l'arganier », Division de recherche et d'expérimentations forestières, Rabat, (1989), Pp 59–64.
83. Derouiche A., Cherki M., Drissi A., Bamou Y., El Messal M., IDrissi-Oudghiri A., Lecerf J.M. and Adlouni A.,. Nutritional Intervention Study with Argan Oil in Man: Effects on Lipids and apolipoproteins, *Ann Nutr Metab*, Vol 49, (2005), Pp 196-201.
84. Berrada, A. Settaf, K. Baddouri, A. Cherrah, M. Hassar,. Mise en évidence expérimentale des effets antihypertenseurs et hypocholestérolémiantes de l'huile d'argan, *Argania sideroxydon. Thérapie*. 55, (2000), 375–378.
85. Benajiba, S. Morel, F. Boucher, J. De Leiris, N. Mokhtar, H. Aguenou Effet de l'huile d'argan sur la fonction cardiaque au cours d'une séquence d'ischémie/reperfusion chez le rat Wistar recevant un régime enrichi en fructose. *Biol Santé*. 2, (2002), 67–76.
86. Berrougui, M. Cloutier, M. Isabelle, A. Khalil. Phenolic extract from argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*. 184, (2006), 389–396.

87. Cherki, M., Berrougui, H., Drissi, A., Adlouni, A., and Khalil, A.. Argan oil: which benefits on cardiovascular diseases? *Pharmacol Res* 54, (2006), 1-5.
88. Claude, L., "les lipides- nutrition et santé", Lavoisier, (2013), 334 P.
89. Mekhfi, H., ElHaouari, M., Bnouham, M., Aziz, M., Ziyat, A., & Legssyer, A. Effects of extracts and tannins from *Arbutus unedo* leaves on rat platelet aggregation. *Phytotherapy research*, 20(2), (2006), 135-139.
90. Ostland RE. Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition*.;22, (2002), 533-549.
91. Berrougui, H., Eттаib, A., Herrera Gonzalez, M.D., Alvarez de Sotomayor, M., Bennani- Kabchi, N., and Hmamouchi, M. (. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *J Ethnopharmacol* 89, (2003),15-18.
92. Harrat, N. E., Tair,Z., Louala,. Dehiba, F., Laboratoire, M. L., & Clinique, N."La supplémentation en huile d'argan atténue l'hyperglycémie, la dyslipidémie et le stress oxydant, chez le rat obèse", *Aliments et nutriments*, V.04, (2005), 16-26.
93. Uchida K., Mizuno F., Hirota K., Tadeka K., Takeuchi N. and Ishikawa Y.,. Effect of spinastérol and sitosterol on plasma and liver cholesterol levels and biliary and fecal sterol and bile acide excretion in mice, *Japanes jounnl of Pharmaology*, Vol 33, (1983) Pp 103-112.
94. Charrouf Z., Benomar M. et guillaume D.,. Huile d'argan et système cardiovasculaire, revue, *Cœur et vaisseaux*, Vol 4, (2007) Pp 50-55.
95. El Babili F., Bouajila J., Fouraste I., ValentIN A., Mauret S. and Moulis C.,. Chemical study, antimalarial and antioxidant activities, and cytotoxicity to human breast cancer cells (MCF7) of *Argania spinosa*, *Phytmed*, (2009), Pp17, Pp157-160.

96. YAGHMUR A., ASERIN A., MIZRAHI Y., NERDAND A. and GARTI N. Evaluation of argan oil for deep-fat frying, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*, Vol 34, ., (2001), Pp124-130.
97. Benzaria A., Meskini N., Dubois M., Croset M., Némoz G., Lagarde M. and prigent A.,. Effect of dietary argan oil on fatty acid composition, proliferation, and phospholipase D activity of rat thymocytes, *Nutrition*, Vol 22, (2006), Pp 628–637.
98. Villasenor IM. AND Domingo AP., Anticarcinogenicity potential of spinasterol isolated from squash flowers, *Tetragenesis Carcinog Mutagen*, Vol 20, (2000), Pp 99-105.
99. Saleem M., Murtaza I., Witkowsky O., Kohl A.M. and Maddodi N.,. Lupeol triterpene, a novel diet-based microtubule targeting agent: disrupts survivin/cFLIP activation in prostate cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, Vol 388(3), (2009), Pp576-582.
100. hafeeze B., asim M., Siddiqui I., Adhami V., Murtaza I., and mukhtar H.,. Delphinidin, a dietary anthocyanidin in pigmented fruits and vegetables: a new weapon to blunt prostate cancer growth, *Cell Cycle*, Vol 7(21), (2008), Pp 3320-3326.
101. Bennani H., Fiet J. AND adlouni A.,. Impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate : étude de l'effet antiprolifératif des polyphénols, *Rev Fr Lab* , Vol 416 (1), (2009),Pp 23-26.
102. . Charrouf Z., El kabouss A., Nouaim R., Bensouda Y., Yameogo R. et Al Biruniya,. Etude de la composition chimique de l'huile d'argan en fonction de son mode. (1997).

103. Jiang C., Lamblin A., Steller H. and Thummel C., A steroid- triggered transcriptional hierarchy controls salivary gland cell death during *Drosophila* metamorphosis, *Mol. Cell*, Vol 5(3), (2000). 445-455.
104. Newmark HL., . Squalene, olive oil and cancer risk, Review and hypothesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, Vol 889, (1999) Pp193-203.
105. Duke J. Handbook of biologically active phytochemicals and their activities, CRS Press Inc., Boca Raton, Florida. (1992).
106. Association Française de Normalisation (AFNOR). Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuse, produits dérivés, 3^{ème} édition, Paris (1984).
107. Karleskind A. Manuel des corps gras, Ed : Tec et Doc : Lavoisier, Vol 36 (6), (1992). 622p.
108. Wolf. *Manuel d'analyses des corps gras*. Azoulay Ed., Paris, France, (1968) 519 p.
109. European Union Commission Commission regulation (EEC) n^o2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. Annex X B. Determination of the fatty acid methyl ester by gas chromatography. (1991) 59-68.
110. IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) (1992) Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives 1st Suppl. To 7th Edn., Enlarged Edn. Blackwell Scientific Publications, Oxford (UK), Methods 2201, 2205, 2432, 2302, 2324, and 2507
111. Drissi A., Girona J., Cherki M., Godas G., Derouiche A., Elmessel M., Saïle R., Kettani a., Sola R. Masanal. And Adlouni A. ,Evidence of

hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). Clin.Nutr, Vol 23, 2004, Pp1159-1166.

112. IUPAC Standard Method 2432 Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. In: Determination of tocopherol and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC. Blackwell Scientific, Oxford. Ed: A. Diffenbacher and W.D. Pocklington. (1987) 2432/1-2432/7
113. Wong S.P. et al. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry, (2006).
114. Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A., Daferera D., Tepe B, Polissiou M., Sokmen M & Sahin F. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control, 15 (2004), 627-634.
115. Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire, (2005).
116. Hajlaoui H., Denden M., Bouzlama M., Tropicultura 25 (2007) 168.
117. Fernandez-Orozco R., Roca M., Gandul-Rojas B. and Gallardo-Guerrero L. DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv.Arbequina) during ripening, Journal of Food Composition and Analysis, Vol 24, (2011). Pp 858-864.
118. Sanchez-Moreno C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, International Journal of Food Science and Technology, (2002).Vol 8, Pp121-137.
119. Popovici, C., Saykova, I. et Tylkowski, B. Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH", Revue de Génie industriel, (2009), V. 4, 25- 39.

120. Hanana M, Mezghenni H, Ben Ayed R, et al. Nutraceutical potentialities of Tunisian Argan oil based on its physicochemical properties and fatty acid content as assessed through Bayesian network analyses. *Lipids Health Dis* 17,(2018). 138.
121. Belarbi-Benmahdi M, Khaldi D, Beghdad. C, et al. Physicochemical and nutritional study of argan oil (*Argania spinosa* L.) in south-western Algeria. *Pigment Resin Technol*, (2009). 38:96-9.
122. Hamia., C. Contribution à la composition et à l'étude chimique de l'huile des fruits d'Arganier (*Argania spinosa*), Mémoire de Magister en chimie, potion chimie organique physico- chimie et moléculaire, Université d'Ouargla, (2007).112p
123. Ouarach.I, Rada.M, Pérez-Camino. M.C, Benaissa.M & Guinda. A. Detection of argan oil adulterated with vegetable oils : New markers. *GRASAS Y ACEITES*, 63(4), ISSN 0017-3495, (2012). 355-364.
124. Berrada M. Etude de la composition de l'huile d'argan. *Al Awamia*, 42, (1972). 1-14
125. Tanouti K, Serghini-Caid H, Chaieb E, Benali A, Harkous M, Elamrani A. Quality Improvement of Olive Oils Produced in The Eastern Morocco. *Les technologies de laboratoire Volume (6)*. 22, (2011). 1-12.
126. Mohamed FAE. Modélisation de la répartition du transfert des métaux lourds et des oligoéléments dans les sols forestiers, l'huile d'argan et dans les différentes parties d'arganier. Thèse de Doctorat en Chimie Physique. Université Mohammed V- Agdal, Faculté des sciences, Rabat, (2012).122p
127. Harhar H, Gharby S, Guillaume D, et al,. Effect of argan kernel storage conditions on argan oil quality. *Eur J Lipid Sci Technol* 112:9, (2010). 15-20

128. Gharby S, Harhar H, Kartah B, et al., Contrôle de la qualité de l'huile d'argan. Actes de 2eme congrès international de l'arganier, Agadir, (2013).pp. 244-50
129. Drouche I. Extraction en laboratoire, Caractérisation et identification de quelques molécules de l'huile de l'arganier de Tindouf et étude de quelques activités biologiques. Thèse de doctorat en Biologie. Université SAAD DAHLEB, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Blida, (2022). 130p.
130. Gharby S, Harhar H, Bouzoubaa Z, Roudani Z, Chafchaoui I, Kartah B, Charrouf Z,. Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol (Effect of polyphenols extracts from margins on the stability of sun_ower oil). J. Mater. Environ. Sci. 5 (2), (2014). 464-469.
131. Fabre B., Fort-Lacoste L. et Charveron M. L'intérêt de l'huile d'argan vierge et enrichie en insaponifiable ainsi que les peptides extrait de tourteaux en cosmétologie. In :Colloque Internattional sur les roussources végétales « L'Arganier et les plantes des zones arides et semi-arides » Agadir 23-25 Avril 1998.
132. Cayuela JA, Rada M, Pérez-Camino MC, et al Character- ization of artisanally and semiautomatically extracted argan oils from Morocco. Eur J Lipid Sci Technol, (2008). 110:1159-1166.
133. Demnati D, Sánchez S, Pacheco R, Zahar M & Martínez L. Actes du Premier Congrès International de l' Arganier, Agadir 15 - 17 Décembre, (2011). 435-441.
134. Agence de Développement Social du Royaume du Maroc: Etude de qualité des huiles d'argane au maroc Rapport final. Programme d'Appui à l'amélioration de la situation de l'emploi de la femme rurale et gestion

durable de l'Arganeraie dans le Sud-Ouest du Maroc (Projet Arganier).
Projet finance conjointement avec EU. Programme MEDA, (2007).

135. CHIMI H. Conservations comparés de l'huile d'argan et de l'huile d'olive, Cahiers Agricultures, Vol 14 (5), (2005). Pp 467-471.
136. Matthäus B. Quality parameters for cold pressed edible argan oils. Nat Prod Commun 8: (2013). 37-41.
137. Novidzro Kosi Mawuéna, Wokpor Kodjo, Amoussou Fagla Balbine, koudouvo Koffi, Dotse Kokouvi, Osseyi Elolo et Koumaglo Kossi Honoré. Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia*. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 13(4): 2360-2373, August (2019).
138. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, Joint FAO/WHO Food Standards Programme: Codex Alimentarius Commission. CODEX STAN 33-1981 Adoptée en 1981. Révisée en 1989, 2003, 2015, 2017. Amendée en 2009, 2013 : 1–9
139. Van der Vossen, H.A.M. et Mkamilo, G.S. (Editeur), « Ressources végétales l'Afrique tropicale Oléagineux », Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas/Backhuys Publishers, Leiden, Publishers, Leiden, Pays-Bas/ CTA, Wageningen, Pays-Bas, (2007). 261p.
140. Dakiche, H., l'Arganier *spinosa* (L.) : Caractérisation des principes actifs et détermination des activités biologiques et pharmacologiques. Université de Blida 1, Faculté de science de la nature et de la vie. Biotechnologie végétale, Thèse de doctorat (2017), 154 p.
141. Dehghan M, Mente A, Zhang X, et al. Associations of fats and carbohydrate intake with cardiovascular disease and mortality in 18

- countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *Lancet*, (2017). 390, 2050-62.
142. Shramko VS, Polonskaya YV, Kashtanova EV, et al. The short overview on the relevance of fatty acids for human cardiovascular disorders. *Biomolecules* ,(2020). 10:1127
143. Hunter JE, Zhang J, Kris-Etherton PM. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *Am J Clin Nutr*, (2010). 91:46-63.
144. Flock MR, Kris-Etherton PM. Diverse physiological effects of long-chain saturated fatty acids: implications for cardiovascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, (2013).16:133-40.
145. Voelker R. Oleic acid can make heart claim without hardevidence. *JAMA*. (2019). 321:23, 19747.
146. Visioli F, Davalos A, López de las Hazas MC, et al. An overview of the pharmacology of olive oil and its active ingredients. *Br J Pharmacol*, (2020). 177:1316-30.
147. Perona JS, Cabello-Moruno R, Ruiz-Gutierrez V. The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *J Nutr Biochem*, (2006). 17:429-45.
148. Jones PJ, MacKay DS, Senanayake VK, et al. High oleic canola oil consumption enriches LDL particle cholesteryl oleate content and reduces LDL proteoglycan binding in humans. *Atherosclerosis*, (2015). 238(2): 231-8.
149. Gillingham LG, Harris-Janz S, Jones PJ. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Lipids*, (2011). 46:209–28.

150. Chen J, Liu H (2020) Nutritional indices for assessing fatty acids: a mini-review. *Int J Mol Sci* 21:5695.
151. Ulbricht T, Southgate D (1991) Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338:985-92.
152. Charrouf Z. Contribution à l'étude chimique de l'huile d'Argania spinosa (L.) (Sapotaceae), Thèse Sciences Univ. de Perpignon, France, (1984).170p.
153. Coleman MH. The pancreatic hydrolysis of natural fats. III. The influence of the extent of hydrolysis on monoglyceride composition. *J Amer Oil Chem Soc*, (1963). 40:568.
154. Matthäus, B., Brühl,L. "Quality parameters for the evaluation of cold pressed edible argan oils", *Journal Fur Verbraucherschutz Under Lebensmittelsicherheit*, 10 (2), (2015) 143-154.
155. Ucciani, E., Nouveau Dictionnaire des Huiles Végétales. Composition en AcidesGras., Tec et Doc, Lavoisier. Paris, (1995) 125-128.
156. Noui. A. Identification de la fraction insaponifiable stérols, tocophérols, polyphénols,...) de l'huile d'argan (*Argania spinosa* (L.)Skeels). Mémoire de Magister en sciences agronomiques: Ressources phytogénétiques et développement durable. Université Hassiba Ben Bouali Chlef, (2013), 71p.
157. Boskou D, Blekas G, Tsimidou M Olive oil composition. In: Boskou D (ed) *Olive oil, chemistry and technology*, 2nd edn.American Oil Chemists Society, Champaign, (2006) pp 41-72.
158. Castellano JM, Grasas y Aceites En: *Tratado de Nutrición*. Tomo III: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. In: Ángel Gil Hernández,

Reyes Artacho Martín-Lagos, María Dolores Ruiz López (eds) Editorial Médica Panamericana, Madrid. (2017) ISBN: 9788491101925.

159. Kuhad A, Chopra K Tocotrienol attenuates oxidative- nitrosative stress and inflammatory cascade in experimental model of diabetic neuropathy. *Neuropharmacology*. (2009), 57:456–62.
160. Siddiqui S, Rashid Khan M, Siddiqui WA Comparative hypoglycemic and nephroprotective effects of tocotrienol rich fraction (TRF) from palm oil and rice bran oil against hyperglycemia induced nephropathy in type 1 diabetic rats. *Chem Biol Interact* (2010) 188:651-8.
161. Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, et al Vitamin E as a potential interventional treatment for metabolic syndrome: evidence from animal and human studies. *Front Pharmacol* (2017) 8: 444.
162. Saldeen T, Li D, Mehta JL. Differential effects of α - and γ -tocopherol on low-density lipoprotein oxidation, superoxide activity, platelet aggregation and arterial thrombogenesis. *J Am College Cardiol*. (1999), 34:1208-15.
163. Newaz MA, Yousefipour Z, Nawal N, et al Nitric oxidesynthase activity in blood vessels of spontaneously hypertensive rats: antioxidant protection by γ -tocotrienol. *J Physiol Pharmacol*. (2003), 54:319-27.
164. Bozaykut P, Sozen E, Yazgan B, et al The role of hypercholesterolemic diet and vitamin E on Nrf2 pathway, endoplasmic reticulum stress and proteasome activity. *Free Radical Biol Med* (2014). 75: S24.
165. Alcalá M, Sánchez-Vera I, Sevillano J, et al Vitamin E reduces adipose tissue fibrosis, inflammation, and oxidative stress and improves metabolic profile in obesity. *Obesity* (2015) 23:1598-606.

166. Meydani M, Kwan P, Band M, et al Long-term Vitamin E supplementation reduces atherosclerosis and mortality in Ldlr-/Mice, but not when fed western style diet. *Atherosclerosis* (2014). 233:196-205.
167. Yoshikawa S, Morinobu T, Hamamura K, et al The effect of γ -Tocopherol administration on α -tocopherol levels and metabolism in humans. *Eur J Clin Nutr* (2005) 59:900-5.
168. Mathur P, Ding Z, Saldeen T, et al Tocopherols in the prevention and treatment of atherosclerosis and related cardiovascular disease. *Clin Cardiol* (2015) 38: 570-6.
169. Rashidi B, Hoseini Z, Sahebkar A, et al Antiatherosclerotic effects of Vitamins D and E in suppression of atherogenesis. *J Cell Physiol*, (2017). 232:2968-76.
170. Devaraj S, Leonard S, Traber MG, et al (2008) γ -Tocopherol supplementation alone and in combination with α -tocopherol alters biomarkers of oxidative stress and inflammation in subjects with metabolic syndrome. *Free Radical Biol Med* 44:1203–8.
171. Baliarsingh S, Beg ZH, Ahmad J. The therapeutic impacts of tocotrienols in type 2 diabetic patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis*, (2005). 182: 367-74.
172. Irandoost P, Ebrahimi-Mameghani M, Pirouzpanah S. Does grape seed oil improve inflammation and insulin resistance in overweight or obese women *Int J Food Sci Nutr* (2013) 64:706-10.
173. Jain AB, Jain AV Vitamin E, its beneficial role in diabetes mellitus (DM) and its complications. *J Clin Diagnost Res.* (2012), 6:1624–8.
174. Vafa M, Haghghat N, Moslehi N, et al Effect of tocotrienols enriched canola oil on glycemic control and oxidative status in patients

with type 2 diabetes mellitus: a randomized double blind placebocontrolled clinical trial. *J Res Med Sci* (2015) 20:540-7.

175. Venturi F, Testai L, Flori L, et al The nutraceutical value of olive oil and its bioactive constituents on the cardiovascular system. focusing on main strategies to slow down its quality decay during production and storage. *Nutrients*. (2019).11:1962.
176. Boaz M, Smetana T, Weinstein Z, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end stage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* (2000) 356:1213–8.
177. Muntwyler J, Hennekens CH, Manson JE, et al. Vitamin supplement use in a low-risk population of US male physicians and subsequent cardiovascular mortality. *Arch Int Med* 162:14726. doi:10.1001/archinte. (2002) 162.13.1472
178. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, et al. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: the Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* (1996) 347:7816.
179. Eshak ES, Iso H, Yamagishi K, et al. Dietary intakes of fat soluble vitamins as predictors of mortality from heart failure in a large prospective cohort study. *Nutrition* (2018) 47:50-5.
180. Sour. S. Effet hypolipidémiant et antioxydant de l'huile d'*Argania spinosa*. Mémoire de Magister , Biologie : Physiopathologie cellulaire. Université Abu bakr belkaid – Tlemcen- (2009). 127p.
181. Marfil, R. Giménez, R., Martínez,O., Bouzas, P. R., Rufian-Henares, J.A., Mesias, M., and Cabrera-Vique, C., " Determination of polyphenols, tocopherols and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*,

Skeels)" European Journal of Lipid Science and Technology, 113 (7), (2011), 886-893.

182. Baccouri B., Baccouri O., Zarrouk W., Ben Temime S., Taamalli W., Daoud D. & Zarrouk M. Evaluation de la composition des huiles de quelques oléastres sélectionnés : les antioxydants naturels. Revue des Régions Arides. Numéro spécial Actes du séminaire international : Gestion des ressources et applications biotechnologiques en aridoculture et cultures oasiennes, Perspectives pour la valorisation des potentialités du Sahara, (2006).

