

## Composés bioactifs

### Caractérisation de l'huile d'argan algérienne (région de Tindouf) et étude de ses activités antioxydantes et antimicrobiennes en comparaison avec une huile marocaine

Characterization of Algerian argan oil (Tindouf region) and study of its antioxidant and antimicrobial activities in comparison with a Moroccan oil

Mohamed SA. KECHEBAR<sup>1</sup>, Samira KAROUNE<sup>1</sup>, Hanen FALLEH<sup>2</sup>, Mohamed BELHAMRA<sup>3</sup>, Chaabane RAHMOUNE<sup>4</sup>, Riadh KSOURI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides, Campus Universitaire, BP 1682, R.P Biskra 07000 Algeria. <sup>2</sup>Laboratoire des Plantes Aromatiques et Médicinales, Centre de Biotechnologie de Borj-Cédria, BP 901, 2050 Hammam-lif, Tunisia. <sup>3</sup>Laboratoire Diversité des Ecosystèmes et Dynamiques des Systèmes de Production Agricoles en Zones Arides, Département d'Agronomie, Université Mohamed Khider, Biskra 07000, Algeria. <sup>4</sup>Laboratoire d'Ecotoxicologie et Stress Abiotiques, Département Biologie et Ecologie Végétale, Faculté SNV, Université des Frères Mentouri Constantine, Algeria

Auteur correspondant : kechebarmohamed@yahoo.fr

Reçu le 13 décembre, Révisé le 26 décembre, Accepté le 30 décembre 2017

**Résumé Introduction.** L'huile d'argan algérienne, provenant de la région de Tindouf (Extrême sud-ouest algérien), est une huile non valorisée jusqu'à l'heure actuelle. **Objectif.** L'huile d'argan algérienne extraite par méthode traditionnelle est comparée avec l'huile d'argan marocaine, obtenue par presse mécanique, dans le but d'étudier ses qualités pour une éventuelle valorisation. **Matériels et méthodes.** Les caractéristiques physico-chimiques, la composition en acides gras (AG) et en stérols sont déterminées, puis les activités antioxydantes et antimicrobiennes des fractions saponifiable et insaponifiable sont étudiées. **Résultats.** L'huile algérienne est une huile vierge fine, très riche en acide linoléique (35% pour l'huile algérienne et 28% pour l'huile marocaine) et  $\beta$ -sitostérol (64% pour l'huile algérienne et 59% pour l'huile marocaine), caractérisée par une faible teneur en chlorophylles (1,3 et 1,8 mg phéophytine/kg d'huile respectivement pour l'huile algérienne et celle marocaine) et un faible coefficient d'extinction spécifique ( $K_{232}=1,15$  pour l'huile algérienne et 2,34 pour l'huile marocaine). Les résultats des activités antioxydantes ont montré que la fraction insaponifiable pour les deux huiles est plus active, notamment contre le radical DPPH et le blanchiment de la  $\beta$ -carotène. Quant à l'activité antibactérienne, l'huile marocaine a révélé une activité contre trois bactéries et l'huile algérienne contre un champignon. **Conclusion.** Il convient de considérer l'huile d'argan artisanale algérienne, non encore valorisée, comme une huile prometteuse tout comme l'huile industrielle marocaine.

**Mots clés :** *Argania spinosa*, Huile, antioxydant, Antimicrobien, Tindouf, Maroc

**Abstract. Introduction.** Algerian argan oil, from the region of Tindouf (far south-west of Algeria), is an oil that has not been upgraded until now. **Objective.** The Algerian argan oil extracted by traditional method was compared with a Moroccan oil obtained by mechanical press, in order to study its qualities for a possible valorization. **Material and methods.** The physicochemical characteristics, the fatty acid and sterol composition were determined, and the antioxidant and antimicrobial activities of the saponifiable and unsaponifiable fractions were studied. **Results.** The results showed that the Algerian oil, was a fine virgin oil rich in linoleic acid (35% for algerian oil, and 28% for the moroccan), and  $\beta$ -sitosterol (64% for algerian oil and 59% for the moroccan), characterized by a low chlorophyll content (1.3 and 1.8 mg pheophytin/kg oil, respectively for algerian and moroccan oil) and a low specific extinction coefficient ( $K_{232}=1.15$  for algerian oil and 2.34 for the moroccan). The results of the antioxidant activities showed that the unsaponifiable fraction, for the both oils, was more active, in particular against the DPPH radical and the bleaching of  $\beta$ -carotene. As for the antibacterial activity, the Moroccan oil revealed an activity against three bacteria, and the Algerian oil against a fungi. **Conclusion.** The Algerian artisanal argan oil, not yet valued, should be considered a promising oil as the Moroccan industrial oil.

**Keywords:** *Argania spinosa*, Oil, Antioxidant, Antimicrobial, Tindouf, Morocco

## Introduction

L'arganier ou *Argania spinosa*, de la famille des sapotacées, est une essence forestière rustique, xérophile et endémique à l'extrême Sud-ouest de l'Algérie (wilaya de Tindouf). Dans cette région biogéographique saharienne, il est le seul arbre fruitier forestier à statut rare avec un endémisme très marqué (à l'échelle planétaire il se localise seulement en Algérie et au Maroc à l'état naturel). A cette qualité exceptionnelle, s'ajoute ses particularités d'usages uniques et diversifiés dont entre autre la production de fruits, d'huile et de matière ligneuse pour la fabrication de charbon de bois. L'arganeraie algérienne couvre 96940 hectares et se localise à l'extrême sud ouest algérien et plus particulièrement au nord de la région de Tindouf [1]. L'huile d'argan ou « l'or vert » est une huile d'excellente valeur alimentaire, elle est très prisée pour son goût tendre et fruité qui rappelle celui de l'huile de noix. Pour obtenir cette huile, les noix d'argan sont soumises à une série d'opérations : dépulpage des fruits, concassage de la coque, torréfaction à feux doux (sauf pour avoir une huile alimentaire) et enfin malaxage et pressage de la pâte [2]. Généralement, cette huile peut être extraite par 3 différents procédés à savoir traditionnel (artisanal), par presse et industriel. Par ailleurs, la qualité de l'huile d'argan obtenue est variable en fonction de l'origine de l'espèce, des conditions climatiques et/ou des facteurs technologiques notamment le mode d'extraction adopté.

Cette étude vise essentiellement deux aspects, le premier étant l'étude de la qualité de l'huile algérienne de

la région de Tindouf, comparée avec celle du Maroc en faisant, l'analyse des propriétés physico-chimiques, la composition en stérols et en AG. Le deuxième aspect concerne l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des fractions saponifiable et insaponifiable.

## Matériel et méthodes

L'huile algérienne est traditionnellement extraite dans l'extrême Sud-ouest de l'Algérie (Tindouf) dans la localité de Touaref Bou Aam à 120 km au nord-est du Chef lieu de la wilaya de Tindouf (08°05'00" W et 08°20'00" W, 28°25'00" N et 08°45'00" N)

### Extraction de l'huile d'argan

L'huile d'argan d'Algérie, utilisée dans cette étude, est une huile non torréfiée, pressée à froid et extraite de manière traditionnelle. Elle est appelée aussi huile artisanale. Le procédé traditionnel comprend quatre étapes : dépulpage par écrasement des fruits, concassage de la coque entre deux pierres, broyage des amandes à l'aide d'une meule en pierre et expression manuellement de la pâte pour l'obtention de l'huile qui est séparée par décantation. En outre, l'huile végétale d'argan du Maroc est obtenue par presse grâce à une machine à extraire automatique.

### Détermination du degré d'altération (acidité)

La détermination de l'acidité de l'huile a été réalisée conformément au règlement (ISO, 660) [3]. L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique et elle est déterminée par titration directe de l'huile dans l'étha-

nol avec une solution de soude. Cinq g d'huile d'argan sont additionnés à 30 mL d'alcool neutralisé puis agiter vigoureusement. Par la suite, ce mélange est titré par une solution de soude de normalité (0,177 N) en présence d'un indicateur coloré, la phénolphthaléine. Les AG libres sont totalement neutralisés, lorsque la phénolphthaléine vire au rose persistant, durant au moins 10 secondes.

#### **Indice de peroxyde (IP)**

L'indice de peroxyde est le nombre d'hydroperoxydes de l'huile formés au cours de la conservation par auto-oxydation (exprimé en milliéquivalents grammes d'oxygène par kg de corps gras). Un gramme d'huile est additionné de 10 mL d'acide acétique puis d'un mL d'une solution saturée de potassium exempte d'iode et d'iodate. Après agitation, la solution est maintenue pendant 5 min à l'abri de la lumière (ISO, 3960) [4]. Un ajout de 50 mL d'eau distillée et un titrage par une solution aqueuse de thiosulfate de sodium (N/100) en présence d'empois d'amidon (2%) comme indicateur sont ensuite effectués.

#### **Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles**

La teneur en eau et en matières volatiles est la perte de masse subie par le produit après chauffage à  $103 \pm 2$  °C (ISO, 662) [5]. Une vase contenant 5 g d'échantillon est maintenue pendant une heure dans l'étuve à 103 °C. Après refroidissement jusqu'à température ambiante, la vase est pesée. Les opérations de chauffage (à l'étuve pendant 30 min), de refroidissement et de pesée se répètent jusqu'à ce que la perte de masse entre deux pesées successives ne dépasse pas 2 mg.

#### **Détermination du pourcentage insaponifiable**

Les matières insaponifiables sont toutes les substances présentes dans le produit qui, après saponification de celui-ci par l'hydroxyde de potassium et extraction par un solvant spécifié (l'oxyde diéthylique), ne sont pas volatiles dans les conditions opératoires spécifiées. Il s'agit de saponifier le corps gras par traitement à l'ébullition à reflux avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. L'insaponifiable est extrait de la solution de savon par de l'oxyde diéthylique. Suite à l'évaporation du solvant, on procède à la pesée du résidu après séchage.

#### **Analyses en spectroscopie UV : détermination de l'absorbance K232 et K270**

0,25 g de l'échantillon sont dissous avec 25 mL du solvant (cyclohexane) puis mélangés soigneusement. A l'aide du spectromètre, les absorbances aux longueurs d'ondes comprises entre 220 et 320 nm sont mesurées.

Le solvant utilisé pour la dilution (ISO 3656) est utilisé comme référentiel [6].

#### **Analyse des AG**

##### **Obtention des esters méthyliques des AG (EMAG)**

Les EMAG sont préparés à partir de la matière grasse, puis analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur colonne capillaire (Agilent 6890 N). Les AG sont identifiés en fonction de leurs temps de rétention. Leur taux est déterminé par le rapport entre l'aire des pics correspondants et la somme des aires des pics de tous les AG. Une quantité connue d'huile (0,1 g), deux volumes de 3 mL d'hexane et 0,5 mL d'une solution d'hydroxyde de potassium (0.2 N) sont mélangés dans un tube en verre [7]. Après agitation, la phase supérieure qui renferme les esters méthyliques est récupérée puis injectée dans la CPG.

##### **Identification des AG par CPG**

L'analyse des AG par CPG nécessite leur transformation en composés plus volatiles en EMAG. Le principe de la CPG repose sur la fragmentation des composés suite à leur bombardement par un flux d'électrons et leur exposition à des champs électriques. Les ions libérés seront classés selon leur rapport masse/charge. Le gaz vecteur est l'hélium, avec une pression de 11,7 psi et un débit constant à 1,2 mL/min dans la colonne [8]. La température du four au moment de l'injection est de 150°C puis elle suit un gradient linéaire jusqu'à 200 °C à raison de 5°C par min puis maintenue constante à 200°C pendant 5 min. La colonne capillaire utilisée est à phase stationnaire polaire ce qui permet la séparation des EMAG à la fois en fonction de la longueur de leur chaîne carbonée et de leur degré d'insaturation.

##### **Détermination de la composition en stérols**

La matière grasse est saponifiée avec de l'hydroxyde de potassium en solution éthanolique, puis l'insaponifiable est extrait avec de l'éther éthylique. La fraction stérolique est séparée de l'extrait insaponifiable par chromatographie sur plaque de gel de silice basique; les stérols récupérés dans le gel de silice sont transformés en triméthylsilyléthers par le réactif de silylation (mélange de pyridine-hexaméthylidisilazane-triméthylchlorosilane) dans une proportion de 50 µL/mg de stérols et analysés par CPG sur colonne capillaire. L'injection de 1 µL de la fraction stérolique dans la CPG (Agilent 6 890 N) permet de déterminer sa composition stérolique en utilisant de la bétuline comme étalon interne. La température de la colonne est de  $260 \pm 5$  °C, et la vitesse linéaire du gaz vecteur hélium 20 à 35 cm/s [8].

**Dosage des chlorophylles et des caroténoïdes**

Les échantillons d'huiles (7,5 g) sont dilués dans 25 mL de cyclohexane [9]. Le mélange est homogénéisé et la lecture de son absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes (à 470 nm pour les caroténoïdes et à 670 nm pour les chlorophylles). Les teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes sont exprimées en mg de phéophytine/kg d'huile et en mg de lutéine/kg, respectivement.

**Dosage des polyphénols totaux**

*Extraction.* Deux g d'huile sont ajoutés à 4 mL d'hexane et 2 mL d'éthanol à 80% (v/v) puis agiter pendant 30 min. Cette opération est répétée trois fois au bout desquelles, le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 30 min. La récupération des deux fractions saponifiable (glycéridique) et insaponifiable séparément est faite à l'aide d'une pipette pasteur.

*Dosage.* Une prise de 125 µL de chaque fraction insaponifiable est ajoutée à 500 µL d'eau distillée et 125 µL du réactif de Folin-Ciocalteu, le mélange est laissé reposer pendant 3 min. 1250 µL de carbonate de sodium (7%) sont additionnées puis le volume final est ajusté à 3 mL avec de l'eau distillée. Après une incubation de 90 min, la densité optique est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm [10]. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'huile (mg EAG.g<sup>-1</sup>H).

**Mesure des activités antioxydantes****Pouvoir antiradicalaire (test DPPH)**

Le DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical synthétique présentant, à l'état oxydé, une couleur violette intense. La réduction de cette molécule par les protons des substances antioxydantes induit la disparition de la coloration violette. Une prise de 1 mL des deux extraits (saponifiable et insaponifiable) à différentes concentrations est mise en présence de 250 µL d'une solution de DPPH<sup>•</sup> (0,2 mM dans le méthanol) [11]. Le mélange est incubé pendant 30 min, ensuite l'absorbance est mesurée à 517 nm. La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI<sub>50</sub>), la valeur de la CI<sub>50</sub> la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

**Activité contre l'ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique acid))**

L'ABTS<sup>•+</sup> est produit par la réaction entre 5 mL d'une solution d'ABTS (7 mM) et 5 mL d'une solution de persulfate de potassium (2,45 mM). Le mélange ainsi préparé est agité à l'obscurité pendant 16 h. Avant son utilisation, cette solution est diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,7±0,02 à 734 nm. Le

mélange comprend 950 µL de la solution ABTS<sup>•+</sup> et 50 µL de chaque échantillon à des concentrations croissantes. Le mélange est homogénéisé et son absorbance est mesurée après 6 min à 734 nm [12]. Comme pour l'activité contre le DPPH, cette activité est exprimée en CI<sub>50</sub>.

**Test d'inhibition du blanchiment de la β-carotène**

Un aliquote de 2 mg de β-carotène sont dissous dans 20 mL de chloroforme [13]. Pour une prise de 4 mL de cette solution, 40 mg de l'acide linoléique et 400 mg de Tween 40 sont ajoutés. Après évaporation du chloroforme, 100 mL d'eau aérée est ajoutée à la solution. Par la suite, 300 µL du mélange β-carotène/acide linoléique sont placés dans les puits d'une microplaque de 96 puits ainsi que 20 µL des échantillons à différentes concentrations. Après une incubation à 50 °C pendant 120 min, la lecture des échantillons est effectuée à 470 nm à l'aide d'un lecteur ELISA (Biotek ELx808). Les résultats sont exprimés en CI<sub>50</sub> (µg.mL<sup>-1</sup>).

**Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile fixe, des fractions saponifiables et insaponifiables****Microorganismes utilisées**

L'activité antimicrobienne des huiles d'arganier ainsi que leurs fractions saponifiables et insaponifiables, est testée sur huit bactéries (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Klebsiella spp.* CIP Tunis, *Micrococcus luteus* NCIMB 8166 et *Escherichia coli* ATCC 35218) et cinq *Candida* pathogènes pour l'Homme (*Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida tropicalis* 06-085, *Candida kreusei* ATCC6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 et *Candida albicans* ATCC 2091).

**Préparation des milieux de culture**

*Bouillon de Mueller Hinton* : ce milieu liquide est utilisé pour la culture des suspensions bactériennes. Il est constitué d'un mélange de 17,5 g de caséine hydrolysée, 2 g d'infusion de viande de bétail et 1,5 g d'amidon. Vingt et un grammes de ce milieu sont dissouts, à chaud dans un litre d'eau distillée, le pH final étant de 7,2±0,2. Une stérilisation par autoclavage a été réalisée pendant 15 min à 121°C. Enfin le milieu obtenu a été réparti dans des tubes à hémolyse à raison de 10 mL dans chacun. *Gélose de Mueller Hinton* : le milieu solide gélosé de Mueller Hinton est utilisé pour la culture des bactéries. Il est constitué d'un mélange de 17,5 g de caséine hydrolysée, 2 g d'infusion de viande de bétail, 17 g d'agar bactériologique et 1,5 g d'amidon soluble. Trente huit grammes de ce milieu sont dissouts, à chaud dans un litre d'eau distillée, le pH final étant de 7,4±0,2. Une stérilisation par auto-clavage a été réalisée pen-

nant 15 min à 121 °C. Enfin le milieu obtenu a été réparti dans des boîtes de Pétri à raison de 15 mL dans chacune.

**Bouillon de Sabouraud :** le milieu liquide de Sabouraud est utilisé pour la culture de suspensions fongiques. Il est constitué d'un mélange de 5 g de tryptone, 5 g de peptone pepsique de viande de bétail et 20 g de glucose. Trente grammes de ce milieu sont dissout, à chaud dans un litre d'eau distillée, le pH final étant de  $5,7 \pm 0,2$ . Une stérilisation par autoclavage a été réalisée pendant 15 min à 121 °C. Enfin le milieu obtenu a été réparti dans des tubes à hémolyse à raison de 10 mL dans chacun.

**Gélose de Sabouraud :** le milieu solide gélosé de Sabouraud est utilisé pour la culture des levures. Il est constitué d'un mélange de 10 g de polypeptone, 36,4 g de glucose anhydre et 15 g d'agar agar bactériologique. 61,4 g de ce milieu sont dissouts, à chaud dans un litre d'eau distillée, le pH final étant de  $5,7 \pm 0,2$ . Une stérilisation par autoclavage a été réalisée pendant 15 min à 121 °C. Enfin le milieu obtenu a été réparti dans des boîtes de Pétri à raison de 15 mL dans chacune.

### La méthode des disques

#### **Ensemencement par inondation**

Des suspensions bactériennes ou fongiques ont été préparées dans 10 mL d'eau physiologique à partir des colonies pures. L'absorbance de la suspension est ajustée à 0,4 unité à 540 nm pour les bactéries et 0,5 à 630 nm pour les *Candida*. Ensuite, 500 µL du mélange est étalé dans des boites de Pétri de façon à recouvrir la surface gélosée. Afin de fixer les souches bactériennes sur le milieu gélosé, une incubation de 15 min à 37 °C est effectuée. Les boites sont ensuite retirées et l'excès de liquide est rejeté stérilement. Une autre incubation de ces boîtes dans l'étuve à 37 °C pendant 15 min permet leur séchage et l'obtention d'un tapis cellulaire [14].

#### **Application des disques**

Des disques de papier Wattman stériles de 6 mm de diamètre sont placés sur les tapis bactérien ou fongique. Des prises de 10 µL des extraits de l'huile d'argan du Maroc et ceux d'Algérie (huiles fixes, fractions saponifiables et insaponifiables) sont ensuite disposées sur les disques. Après 24 h d'incubation à 37 °C, 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 [15].

### **Méthode des puits et détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI est la plus faible concentration d'extrait, capable d'inhiber toute croissance visible du germe (exprimée en µg/mL). En effet, elle renseigne sur l'effet bactériostatique ou fongistatique de l'extrait et non pas sur l'état de la population bactérienne ou fongique [16]. Le test est effectué sur des plaques stériles de micro-titration à fond rond, à 96 puits. Les puits contiennent un volume final de 200 µl (95 µL de milieu de culture, 5 µL de la suspension microbienne contenant  $2,5 \cdot 10^2$  micro-organismes et 100 µL des différentes concentrations de la substance à tester solubilisée dans le diméthyle sulfoxyde à 10%). La première colonne servira de contrôle négatif, chaque puit contient 195 µL du milieu de culture avec 5 µL de chaque suspension microbienne ( $5 \cdot 10^5$  cellule/mL). Pour le reste des puits, 95 µL de bouillon nutritif ou de Sabouraud sont déposés. Dans le puit n°1, 200 µL de la concentration mère ( $50 \text{ mg/mL}^{-1}$ ) est déposé. A l'aide d'une micropipette, une série de dilution à moitié est réalisée. Enfin 5 µL de la suspension microbienne est ajoutées pour tous les puits. Les boites sont incubées à 37 °C pendant 24 h et puis, la mesure de la CMI s'effectue à l'aide d'un lecteur ELISA.

### **Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

La CMB est la concentration minimale bactéricide de l'extrait capable de tuer la population bactérienne ou fongique après une incubation de 18 à 24 h à 37 °C [17]. Après la détermination de la CMI, un ensemencement est effectué à partir des tous les puits sur des boites de pétris gélosées et on les laisse incuber 24 h à 37 °C. Le puits qui ne montre pas une croissance microbienne, sa concentration correspond la CMB.

### **Analyse statistique**

Pour chaque extrait, 3 répétitions sont utilisées dans les différentes déterminations analytiques décrites ci-dessus. Des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les traitements ont été calculées en utilisant une analyse de variance ANOVA et le test de la comparaison multiple de Duncan en utilisant le logiciel XLSTAT version 2013.

## Résultats

### **Propriétés physico-chimiques de l'huile du fruit d'argan**

**Densité.** Les résultats concernant la densité des huiles à 15 et 20 °C montrent une variabilité entre l'huile algérienne et celle marocaine (Tableau I).

**Tableau I. Propriétés physico-chimiques des huiles d'argan traditionnelle de l'Algérie et pressée du Maroc**

Caractères physicochimiques	Huile du Maroc	Huile d'Algérie
Densité à + 15°C (g/mL)	0,905	0,915
Densité à + 20°C (g/mL)	0,904	0,914
Acidité oléique (exprimé en % d'acide oléique)	0,3	0,8
Indice de peroxyde (még O <sub>2</sub> /kg corps gras)	13,33	16,33
Teneur en eau et matières volatiles (%)	0,136	0,092
Pourcentage insaponifiable	1,0	0,7
Extinction spécifique :		
K232	2,343	1,155
K270	0,248	0,251

En effet, cette densité est plus élevée pour l'huile traditionnelle algérienne (0,915 et 0,914, à 15 et 20 °C, respectivement) comparée à l'huile marocaine (0,905 et 0,904, à 15 et 20 °C, respectivement).

**Acidité oléique.** Comme pour l'étude de la densité, le Tableau I montre une importante variabilité entre les deux huiles. En effet, le taux d'acide oléique de l'huile algérienne est approximativement 3-fois plus élevé que celui de l'huile marocaine, avec des pourcentages de 0,8 et 0,3 %, respectivement.

**Indice de peroxyde.** L'indice de peroxyde des 2 huiles est illustré dans le Tableau I. L'analyse des valeurs obtenues révèle que l'huile artisanale possède l'indice le plus fort (IP = 16,3 MEQ O<sub>2</sub>/Kg corps gras) par comparaison à l'huile industrielle (IP = 13,3 MEQ O<sub>2</sub>/kg corps gras).

**Teneur en eau et en matières volatiles.** Comme pour les caractéristiques précédemment décrites, le Tableau I montre une différence entre les deux huiles étudiées, avec un pourcentage en eau et en matières volatiles assez élevée pour l'huile marocaine que celle algérienne, avec des valeurs égales à 0,14 et 0,09 %, respectivement.

**Pourcentage insaponifiable.** L'analyse du Tableau I concernant le pourcentage des insaponifiables confirme la variabilité qui existe entre les deux huiles étudiées. En effet, cet indice est de 0,7 pour l'huile artisanale alors qu'il atteint 1 pour celle industrielle.

**Extinction spécifique.** L'extinction spécifique d'une huile donnée est mesurée à 4 longueurs d'onde différentes à savoir 232 et 270 (Tableau I). L'extinction de l'huile algérienne à 232 montre qu'elle est nettement moins peroxydée que l'huile marocaine. En effet, l'huile marocaine est 2-fois plus peroxydée (K232 = 2,34) que celle algérienne (K232 = 1,15). Concernant l'extinction spécifique à 270 nm, le Tableau I dévoile que les deux huiles possèdent la même aptitude à la conservation avec une valeur approximative de 2,5.

**Composition en AG**

Les résultats présentés dans le Tableau II montrent une variabilité de la composition en AG de l'huile d'argan en fonction de son origine et de la méthode d'extraction utilisée. Quantitativement, l'huile du Maroc présente des % d'AG saturés et mono-insaturés plus élevés comparés à ceux de l'huile d'Algérie, respectivement de 22,16 et 48,77 pour la première huile et de 18,81 et 44,65 pour la deuxième.

**Tableau II. Compositions en acides gras (%) de l'huile d'argan algérienne et celle marocaine obtenues par CPG**

Nom usuel	Nombre de carbones	% AG huile Maroc	% AG huile Algérie
Acide oléique (mono-INS)	C18:1 ω-9	48,22	44,30
Acide linoléique (poly-INS)	C18:2 ω-6	28,36	35,80
Acide palmitique (S)	C16:0	14,76	13
Acide stéarique (S)	C18:0	6,47	5,20
Acide linoléique (poly-INS)	C18:3 ω-3	0,71	0,74
Acide arachidique (S)	C20:0	0,42	0,34
Acide palmitoléique (mono-INS)	C16:1	0,31	0,19
Acide laurique (S)	C12:0	0,31	0,14
Acide gadoléique (mono-INS)	C20:1	0,17	0,11
Acide margarique (S)	C17:0	0,12	0,07
Acide myristique (S)	C14:0	0,08	0,06
Acide heptadécénoïque (mono-INS)	C17:1	0,07	0,05
Somme des AG (S)		22,16	18,81
Somme des AG (mono-INS)		48,77	44,65
Somme des AG (poly-INS)		29,07	36,54
Somme des AG (INS)		77,84	81,19
Somme des AG		100	100

Par ailleurs, la situation inverse est observée pour les AG polyinsaturés et insaturés où l'huile artisanale (algérienne) présente les valeurs les plus élevées de 36,5 et 81,2 respectivement.

L'identification par CPG montre que les principaux composés des deux huiles marocaine et algérienne sont l'acide oléique (48,22% et 44,3%, respectivement), l'acide linoléique (28,4 et 35,8%, respectivement) et l'acide palmitique (14,8 et 13%, respectivement). En outre, les pourcentages en certains AG mineurs présentent des différences plus ou moins importantes entre les deux provenances. A titre d'exemple, le pourcentage de l'acide laurique dans l'huile marocaine est le double de celui dans l'huile algérienne, 0,31 et

0,14%, respectivement.

### Composition en stérols

Après saponification de la matière grasse, l'analyse par CPG a permis l'identification de 11 composés stérols dans les huiles d'argan traditionnelle et de 11 dans l'huile industrielle. Les stérols identifiés sont le  $\beta$ -sitostérol, le campesterol, le stigmastérol, le campestanol, le  $\Delta$ -7-avénastérol, le  $\Delta$ -7-stigmastérol, le 2-4 méthylcholestérol, le clérostérol, le  $\Delta$ -7-campesterol, le  $\Delta$ -5-24-stigmastédiénol et le cholestérol (Tableau III). Bien que, les composés identifiés sont les mêmes dans les 2 huiles, une variabilité des quantités en stérols a été enregistrée. En outre, le  $\beta$ -sitostérol est le composé majoritaire des huiles algérienne et marocaine, avec un pourcentage atteignant 64,2 et 58,9%, respectivement, suivis par le campesterol et le stigmastérol (19,2 et 8,5% pour la première huile et 17,7 et 17,4% pour la deuxième, respectivement).

**Tableau III. Composition stérolique (en %) de l'huile d'argan algérienne et celle marocaine obtenue par CPG**

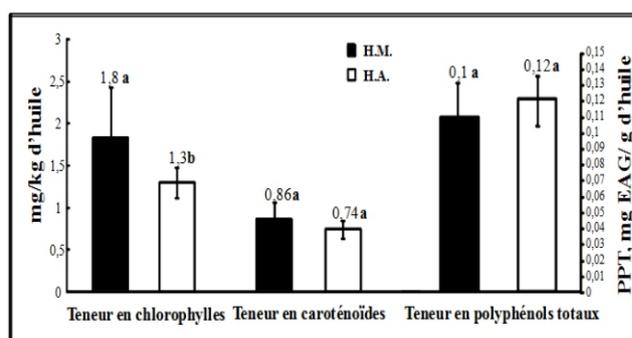
Nom usuel	% stérols	
	huile Maroc	huile Algérie
Béta sitostérol	58,89	64,22
Campesterol	17,69	19,23
Stigmastérol	17,39	8,53
Campestanol	2,56	3,89
Delta7 avénastérol	0,87	0,77
Delta7 stigmastérol	0,73	0,60
2-4 méthylcholestérol	0,46	0,98
Clérostérol	0,44	0,56
Delta7 campesterol	0,36	0,75
Delta5-24 stigmastédiénol	0,51	0,27
Cholestérol	0,06	0,10

### Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques des huiles artisanale et industrielle sont statistiquement les mêmes. En effet, ces teneurs sont de 0,12 mg d'équivalent acide gallique par gramme d'huile pour la fraction algérienne et 0,1 mg EAG.g<sup>-1</sup>H pour celle d'origine marocaine (Fig. 1).

### Teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes

La variation des teneurs en chlorophylles montre que l'huile marocaine est plus riche en ce pigment par comparaison avec l'huile algérienne avec des teneurs égales à 1,8 et 1,3 mg phéophytine/Kg d'huile, respectivement (Fig. 1). Concernant les teneurs en caroténoïdes, les résultats montrent des teneurs relativement comparables entre les deux huiles, aux alentours de 0,8 mg lutéine/kg d'huile.



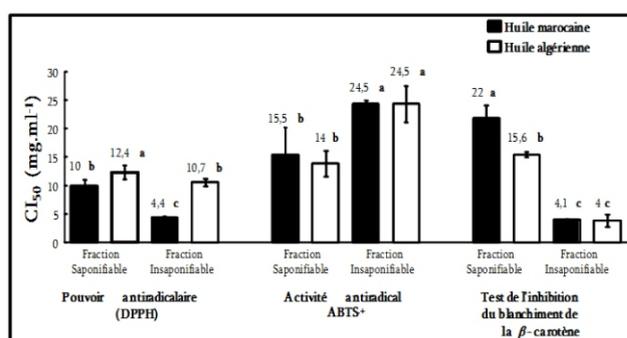
**Fig. 1. Teneurs en chlorophylles (mg phéophytine/kg huile), en caroténoïdes (mg lutéine/kg huile) et en polyphénols totaux (mg EAG/g huile) de l'huile du fruit d'argan marocaine (H.M.) et algérienne (H.A.)**

Les valeurs (moyenne de trois répétitions) suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P < 0,05$ .

### Activités antioxydantes des fractions saponifiable et insaponifiable

**Activité contre le radical DPPH.** Les résultats de la mesure de l'activité antiradicalaire montrent une importante variabilité entre les différents échantillons dans leurs capacités inhibitrices du radical DPPH en fonction de l'origine et de la fraction (Fig. 2).

Considérant l'origine de l'huile, les valeurs de la concentration d'inhibition à 50% ( $CI_{50}$ ) de l'huile marocaine sont les plus faibles, notamment pour la fraction insaponifiable ( $CI_{50} = 4,4 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), correspondant à la capacité antiradicalaire la plus importante. En outre, les résultats montrent que l'effet du fractionnement est plus marqué que celui de l'origine de l'huile. En effet, aussi bien pour l'huile artisanale que celle par presse, l'activité contre le radical DPPH des fractions insaponifiables ( $CI_{50} = 10,7$  et  $4,4 \text{ mg.mL}^{-1}$ , respectivement) est plus significatif que celle des fractions saponifiables (12,4 et  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ , respectivement).



**Fig. 2. Activités contre les radicaux DPPH et ABTS et contre l'inhibition du blanchiment de la  $\beta$ -carotène pour les fractions saponifiable et insaponifiable des huiles d'argan d'Algérie et du Maroc**

Les valeurs (moyenne de trois répétitions) suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P < 0,05$ .

**Activité antiradicalaire (test ABTS<sup>+</sup>).** Indépendamment de la nature de la fraction, les deux huiles présentent

des activités comparables. Par ailleurs, l'étude de la figure 2 indique que les fractions saponifiables des huiles artisanale et par presse possèdent des activités contre l'ABTS significativement plus efficaces que les fractions insaponifiables. En effet, les deux fractions saponifiables sont comparables avec un maximum de la  $CI_{50}$  = 15,5 mg.mL<sup>-1</sup>, par comparaison à celles insaponifiables ( $CI_{50}$  = 24,5 mg.mL<sup>-1</sup>).

*Test de l'estimation de l'inhibition du blanchiment de la  $\beta$ -carotène.* Contrairement à l'activité contre le radical ABTS, l'huile algérienne est la plus efficace contre le blanchiment de la  $\beta$ -carotène notamment au niveau de la fraction saponifiable. En outre, les fractions insaponifiables de cette l'huile d'argan sont plus actives que les fractions saponifiables. En effet, l'analyse des résultats illustrés dans la figure 2 montre une différence dans les valeurs de la  $CI_{50}$  des deux types de fractions allant jusqu'à 5 fois. Les 2 fractions insaponifiables sont statistiquement comparables avec des valeurs de la  $CI_{50}$  proches de 4 mg/mL. Cependant, les 2 fractions saponifiables présentent des activités modérées ( $CI_{50}$  de 15,6 et 22 mg/mL, respectivement pour les provenances algérienne et marocaine).

#### Activités antimicrobiennes des fractions saponifiable et insaponifiable

*Activités antimicrobiennes estimées par la méthode des disques*

Activité antibactérienne. Considérant l'activité antibactérienne, les diamètres d'inhibition obtenus montrent une importante variabilité aussi bien au niveau des 2 huiles qu'au niveau des deux fractions. D'après le tableau IV, les activités les plus importantes sont obtenues avec l'huile par presse notamment par sa fraction insaponifiable. Cette dernière a montré la plus importante activité sur la majorité des bactéries, elle est active contre 7 des 8 bactéries testées et plus particulièrement contre *M. luteus* dont le diamètre de la zone d'inhibition est égale à 14,7 mm.

Cependant, le plus grand diamètre de la ZI de la fraction insaponifiable de l'huile artisanale n'a pas dépassé les 7,8mm contre *Klebsiella spp.* En outre, des effets similaires des deux fractions saponifiables ont été trouvés contre les bactéries testées s'exprimant par une activité inhibitrice presque nulle (ZI=6,3 mm).

Activité antifongique. L'évaluation de cette activité a été également estimée par la mesure du diamètre des halos d'inhibition trouver autour des 5 souches de levures utilisées (Tableau IV).

L'analyse des résultats montre que contrairement à l'activité antibactérienne, la fraction insaponifiable de l'huile artisanale est statistiquement plus active que celle de l'huile par presse. En effet, les diamètres des ZI de la première provenance atteignent 9 mm, alors que

celles de la deuxième ne dépassent pas 8,3 mm, respectivement contre *Candida albicans* et *Candida kreusei*. Par ailleurs, les deux fractions saponifiables ne présentent pas d'activités antifongiques et les diamètres des ZI enregistrées sont égaux à 6 mm (Tableau IV).

**Tableau IV. Activité antibactérienne évalué par la méthode des disques des deux fractions saponifiables (FS) et des deux fractions insaponifiables (FI), exprimée en zone d'inhibition (mm) des huiles algérienne et marocaine**

Bactéries	Huile par presse		Huile artisanale	
	FS	FI	FS	FI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6±0e	7±0,8d	6±0e	6±0e
<i>Selmonella enteritidis</i>	6,3±0de	8,7±0,9c	6±0e	6,7±0de
<i>Serratia marscessens</i>	6±0e	10,3±1,7	6±0e	7±0,8d
<i>Enterococcus feacalis</i> ATCC 29212	6±0e	6±0e	6±0e	6±0e
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	6±0e	9±1,4c	6±0e	7±0 d
<i>Klebsiella spp.</i> CIP Tunis	6±0e	7,3±0,5d	6±0e	7,3±0,5d
<i>Micrococcus luteus</i> NCIMB 8166	6±0e	14,7±1,2a	6±0e	6±0e
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	6±0e	10±2,16b	6±0e	6±0e
<b>Candida</b>				
<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	6±0e	6±0e	6±0e	6±0e
<i>Candida tropicalis</i> 06-085	6±0e	6±0e	6±0e	6±0e
<i>Candida kreusei</i> ATCC6258	6±0e	8,3±0,5c	6±0e	7,7±0,5d
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	6±0e	6±0e	6±0e	6±0e
<i>Candida albicans</i> ATCC 2091	6±0e	6±0e	6±0e	9±1,4c

Les valeurs (moyenne de trois répétitions) suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P < 0.05$ .

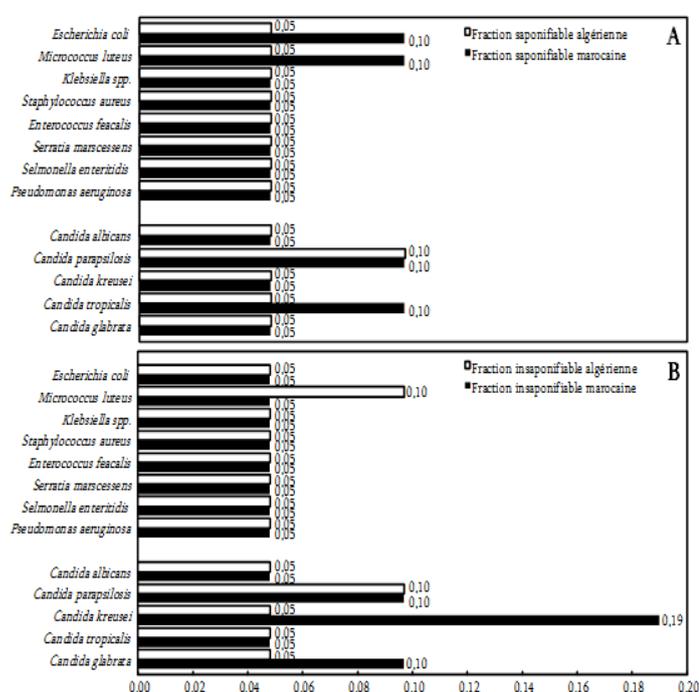
Le diamètre des disques utilisé est de 6 mm. L'activité est absente (-) si la zone d'inhibition (ZI) est < 6mm ; l'activité est faible si (ZI) est de 6 mm ; activité moyenne si (ZI) entre 2 et 3 mm ; l'activité est assez élevée si (ZI) entre 4 et 5 mm ; l'activité est élevée si (ZI) est entre 6-9 mm ; l'activité est très élevée si (ZI) >9 (Rodriguez Vaquero et al., 2007).

#### Activités antimicrobiennes estimées par la méthode des puits

*Concentration minimale d'inhibition de la croissance (CMI).* La CMI est définie comme étant la plus petite concentration de l'échantillon pour la quelle aucune croissance microbienne n'est détectée par le lecteur ELISA. D'après la Figure 3, les CMI varient de 0,05 à 0,1 mg.mL<sup>-1</sup> pour les fractions saponifiables, alors qu'elles atteignent 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> pour celles insaponifiables.

Considérant les fractions saponifiables des deux huiles (Fig. 3A), l'échantillon algérien témoigne d'une meilleure activité antimicrobienne par comparaison à celui

marocain avec des CMI toujours égales à 0,05 mg.mL<sup>-1</sup> (exception pour *C. parapsilosis* où la CMI= 0,1 mg.mL<sup>-1</sup>), alors que celles des fractions marocaines atteignant 0,1 mg.mL<sup>-1</sup> contre 4 pathogènes, à savoir : *E. coli*, *M. luteus*, *C. parapsilosis*, et *C. tropicalis*. Exception faite pour *M. luteus*, les 2 fractions insaponifiables manifestent les mêmes activités antimicrobiennes avec des valeurs des CMI égaux et égales à 0,05 mg.mL<sup>-1</sup> (Fig. 3B). Cependant, cette tendance n'est pas la même pour l'activité antifongique où la fraction insaponifiable de l'huile par presse semble être moins active que celle de l'huile artisanale étant donnée que ces CMI atteignent 0,1 mg.mL<sup>-1</sup> contre *C. glabrata* et *C. parapsilosis* et 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> contre *C. kreusei*, alors que celle de l'huile algérienne ne dépasse pas 0,05 mg/mL (à part contre *C. parapsilosis*).



**Fig. 3. Concentrations minimales inhibitrices de la croissance bactérienne et fongique (CMI) en mg/mL, des fractions saponifiables (A) et insaponifiables (B) de l'huile d'argan marocaine et algérienne**

La méthode des puits a été appliquée sur 8 souches bactériennes et 5 candidas.

**Concentration minimale bactéricide (CMB).** La CMB est la concentration minimale bactéricide (CMB) de l'échantillon capable de tuer une population bactérienne ou fongique. Les résultats obtenus certifient que les valeurs de la CMB des fractions saponifiables et insaponifiables contre les souches de bactéries utilisées sont élevées (>50 mg/mL), tandis qu'elle est plus intéressante contre les levures (Tableau V). En effet, seules les levures *Candida glabrata* se sont avérées relativement sensibles à ces métabolites avec une CMB de l'ordre de 50 mg/mL.

**Tableau V. Concentrations minimales bactéricides de la croissance bactérienne et fongique (CMB) en mg/mL, des fractions saponifiables (FS) et insaponifiables (FI) de l'huile d'argan marocaine et algérienne**

Micro-organismes testés	Huile par presse		Huile artisanale	
	FS	FI	FS	FI
<b>Bactéries</b>				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Selmonella enteritidis</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Serratia marcescens</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Enterococcus faecalis</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Staphylococcus aureus</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Klebsiella spp.</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Micrococcus luteus</i>	>25	>50	>50	>50
<i>Escherichia coli</i>	>50	>50	>50	>50
<b>Levures</b>				
<i>Candida glabrata</i>	50	50	50	50
<i>Candida tropicalis</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Candida kreusei</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Candida parapsilosis</i>	>50	>50	>50	>50
<i>Candida albicans</i>	>50	>50	>50	>50

La méthode des puits a été appliquée sur 8 souches bactériennes et 5 candidas.

## Discussion

Dans la première partie de cette étude, une analyse des caractéristiques physico-chimiques, de la composition en AG et en stérols ainsi qu'une quantification des chlorophylles et des caroténoïdes de deux huiles d'argan, l'une traditionnelle (Algérie) et l'autre par presse (Maroc), a été faite. Les principaux résultats ont montré une différence, plus ou moins marquée, entre ces deux huiles.

Concernant les caractéristiques physicochimiques des deux huiles d'argan, les résultats obtenus montrent une différence des caractéristiques qualitatives entre les deux huiles algérienne et marocaine en fonction de leurs modes de préparation. L'indice de peroxyde, par exemple, est plus élevé pour les huiles extraites traditionnellement par rapport à celles extraites mécaniquement. D'après Clodoveo *et al.*, 2007 [18], cet écart entre les huiles extraites mécaniquement par rapport à celles extraites artisanalement, pourrait être expliqué par le fait que l'eau catalyse l'hydrolyse des triglycérides et donc entraîne une augmentation de l'acidité. La comparaison qualitative entre les deux huiles montre que l'acidité oléique de l'huile marocaine est meilleure que celle de l'huile algérienne (0,3% et 0,8%, respectivement). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés antérieurement par Cayuela *et al.*, 2008 [19] pour les huiles d'argan et par Chimi, 2005 [20] pour les huiles d'olive. D'après ces auteurs, l'oxydation de l'huile commence après que les graines soient concassées et conti-

nue pendant leurs traitements. La différence dans la méthode d'extraction de l'huile induit une différence dans leurs stabilités oxydatives [21]. Dans ce contexte, l'huile produite par le procédé traditionnel présente une acidité initiale beaucoup plus élevée que celle des huiles préparées par presse. Cette différence pourrait être expliquée par les travaux de Charrouf *et al.*, 2011 [21] qui a démontré que la méthode traditionnelle conduit à une hydrolyse supérieure des triglycérides par rapport à la méthode par presse. D'autre part, l'absorbance dans l'ultraviolet à 232 et à 270 nm, indique que l'extinction spécifique des deux huiles étudiées n'excède pas les limites fixées par la norme marocaine ( $K_{232} \leq 2,5$  et  $K_{270} \leq 0,25$ ). L'étude de ce paramètre est très importante étant donné qu'il fournit des informations au sujet de la présence des diènes conjugués ( $K_{232}$ ) et des triènes ( $K_{270}$ ) formés pendant l'auto-oxydation de l'huile [22]. Ces diènes et triènes conjugués sont proportionnels au degré d'oxydation des AG insaturés en particulier à ses teneurs respectives en acides oléiques, linoléique et linoléique [23]. De ce fait, plus l'extinction est forte, plus l'huile est peroxydée et riche en produits d'oxydation secondaires, ce qui traduit une faible aptitude à la conservation. D'après nos résultats, l'huile artisanale ainsi que l'huile de presse présentent des aptitudes élevées et comparables à la conservation. Quant à la teneur en eau des huiles d'argan, nos résultats ont montré qu'elle est influencée par la technologie d'extraction. En effet, l'huile produite traditionnellement a enregistré des valeurs d'humidité faible par rapport à celle préparée par presse mécanique. Dans ce cas, il est possible que le taux d'humidité élevé provoque le phénomène d'oxydation des AG insaturés [2]. Considérant le pourcentage insaponifiable, ce paramètre, est de 0,7 et 0,96% (m/m) d'insaponifiable respectivement pour l'huile de l'arganier d'Algérie et de celle du Maroc. Ces valeurs indiquent que l'insaponifiable est une fraction mineure de l'huile d'argan et sont en bon accord avec ceux de Adlouni, (2010) [24] qui a trouvé que la fraction insaponifiable représente à peu près 1% (m/m) de la matière grasse de l'huile d'argan. Concernant la composition en AG, chaque huile est caractérisée par une composition spécifique en AG qui la différencie des autres huiles. Les résultats obtenus sur les deux échantillons montrent que la composition moyenne des AG des huiles d'argan analysées est variable en fonction de la méthode d'extraction adoptée. Cette inégalité est d'autant plus marquée au niveau des pourcentages moyens des acides dominants à savoir l'acide oléique (48 et 45% pour l'huile de presse et artisanale, respectivement) et l'acide linoléique (28 et 38%, pour l'huile de presse et artisanale, respectivement). Ces variations peuvent être attribuées à différents facteurs notamment à la provenance géographique (effet de l'environnement) et aux méthodes

d'obtention de l'huile [21, 22]. Dans ce contexte, Rahmani, 2005 [27] a rapporté que le taux d'acide oléique enregistre une augmentation avec la pluviosité et que celui de l'acide linoléique s'accroît avec l'altitude. Aussi, d'après Cimato, 1990 [28], la récolte retardée favorise l'augmentation du taux des AG insaturés, notamment l'acide linoléique, au dépend de l'acide palmitique. Néanmoins, certains auteurs tels que Cayuela *et al.*, (2008) [19] et Gharby, (2012) [2] ont rapporté que le mode d'extraction et l'origine géographique ne changent pas la composition en AG des huiles des fruits de l'arganier issus de localités différentes. En effet, l'étude réalisée par ce dernier auteur sur des huiles d'argan de douze différentes localités obtenues par des méthodes d'extraction traditionnelle, semi-mécanique et mécanique, ne montre aucune variation significative des taux d'AG suggérant que la méthode d'extraction et l'origine géographique n'induisent pas de changement dramatique dans la composition en pourcentages des AG de l'huile d'argan, et par conséquent, elles n'altèrent pas ses qualités diététiques. En outre, il est à noter que l'huile d'argan algérienne est plus riche en AG insaturés (mono- et poly-insaturés) avec un pourcentage de 81% contre 78% pour l'huile du Maroc. En effet, les AG mono-insaturés ont une grande importance en raison de leurs implications nutritionnelles et leurs effets sur la stabilité oxydative des huiles [29]. L'huile traditionnelle algérienne contient plus d'acide linoléique que l'huile par presse marocaine, ce qui traduit une meilleure qualité alimentaire de la première considérant que l'acide linoléique est dit essentiel car il ne peut pas être synthétisé par l'organisme et doit donc être apporté par l'alimentation [30]. D'ailleurs, cet AG est indirectement à l'origine des prostaglandines et des leucotriènes des séries 1 et 2. Ces substances jouent un rôle important au niveau du système nerveux, de l'équilibre cardiovasculaire, de l'immunité, de la guérison des blessures et des réactions allergiques et inflammatoire [27]. Quant à la composition en stérols, comme pour les AG, les deux huiles étudiées ont montré que l'huile artisanale est plus riche que celle par presse notamment pour les composés majoritaires tels que le  $\beta$ -sito-stérol (64,2 et 58,9%, respectivement) et le campestérol (19,2 et 17,7%, respectivement). Cette différence entre l'huile algérienne et celle marocaine pourrait être attribuée à l'origine géographique des arganiers étudiés. Ces informations se recoupent avec ceux de Ben Temime *et al.*, 2008 [31] qui ont trouvé que l'origine géographique et les facteurs climatiques influencent significativement la composition stérolique des huiles d'olive. De même, les travaux de Ayerdi-Gotor *et al.*, 2008 [32] suggèrent que les effets génétiques et environnementaux sont les facteurs les plus influant sur les teneurs en phyto-stérols des huiles végétales. Par ailleurs, l'huile algé-

rienne est plus riche en d'autres composés mineurs tels que le  $\Delta 7$  campesterol, le 2-4 méthylcholestérol et le Clérostérol. L'ensemble de ces phytostérols fait de l'huile d'argan une huile de profil original car ces stérols qui appartiennent à la famille  $\Delta-7$  sont rarement rencontrés dans les huiles végétales [33]. Ces phytostérols sont largement étudiés pour leur action anti-cancéreuse, immuno-modulatrice et anti-inflammatoire [32]. Les polyphénols, chlorophylles et caroténoïdes, Nos résultats montrent que l'huile d'argan traditionnelle et par presse contiennent des quantités comparables en substances phénoliques, de l'ordre de 0,11 mg EAG.g<sup>-1</sup> H. Cette égalité entre les deux huiles malgré l'influence de la région et des procédés d'extraction est en accord avec les travaux de Cayuela *et al.*, 2008 [19] qui stipulent que les teneurs en polyphénols totaux dans les huiles d'argan ne dépassent pas les 10 ppm et ceci en raison de leur forte affinité pour les matrices aqueuses plutôt que celles huileuses. Toutefois, il est important de souligner que ces composés sont en grande partie, responsables du goût particulier, à la fois amer et fruité de cette huile et contribuent activement à sa stabilité, en augmentant sa résistance à l'auto-oxydation [34]. Ces polyphénols contribuent à la bonne stabilité d'une huile de deux manières : d'une part ces composés antioxydants naturels vont s'oxyder préférentiellement aux AG insaturés et d'autre part, on attribue aux phénols la capacité de piéger les radicaux OH [35]. Les résultats illustrés précédemment révèlent aussi que l'huile d'argan d'Algérie est moins riche en chlorophylles que celle du Maroc. Les chlorophylles sont non désirables dans les huiles d'argan en raison de leur effet négatif sur la stabilité de l'huile et la perte de ses caractéristiques organoleptiques [36]. Ce résultat additionné à la richesse des deux huiles en caroténoïdes connue pour leur activité antioxydante importante et leur contribution à la stabilité oxydative [37], confirme leurs grandes qualités. A l'image des autres huiles végétales, l'acidification et l'oxydation de l'huile d'argan conduisent à des phénomènes néfastes d'altération qu'il faut combattre depuis la récolte des amandons jusqu'au stockage de l'huile. En conséquence, des critères physico-chimiques ont été sélectionnés pour constituer l'ossature de la détermination de la qualité de l'huile d'argan par la norme marocaine N.M.08.5.090. D'après cette norme, les critères physico-chimiques utilisés pour la classification qualitative des huiles d'argan «vierges» sont l'acidité libre, l'indice de peroxyde et l'extinction spécifique comme décrite dans le Tableau VI.

A la lumière de ces résultats, il apparaît que les huiles algérienne et marocaine sont des huiles vierges conformes à la norme marocaine, en dépit des différences observées selon le mode d'extraction et l'origine géographique.

**Tableau VI. Classification qualitative des huiles d'argan «vierges», selon la norme marocaine (N.M. 08.5.090)**

Critères physico-chimiques	Huile d'argan «vierge» extra	Huile d'argan «vierge» fine	Huile d'argan «vierge» courante	Huile d'argan «vierge» lampante
	Acidité oléique (% d'acide oléique)	≤ 0,8	≤ 1,5	≤ 2,5
Indice de peroxyde (méq O <sub>2</sub> /kg corps gras)	≤ 15	≤ 20	≤ 20	non limité
Absorbance à 270 nm	≤ 0,35	≤ 0,35	≤ 0,45	non limitée

Par ailleurs, les pourcentages d'acidité et les extinctions spécifiques des huiles de presse et celle artisanale ne dépassent pas les limites établies par la norme marocaine pour les huiles vierge extra. Toutefois, les valeurs de l'indice de peroxyde tranchent entre les deux échantillons et permettent de qualifier l'huile marocaine d'huile vierge extra alors que celle algérienne est plutôt une huile vierge fine. Concernant les résultats des activités antioxydantes, ils ont montré une grande différence (tests DPPH, ABTS et blanchiment de la  $\beta$ -carotène) entre les fractions saponifiables et insaponifiables des deux huiles d'argan plus marquée que leur origine (algérienne et marocaine). En outre, la fraction insaponifiable est plus active notamment contre le radical DPPH et le blanchiment de la  $\beta$ -carotène. Il est à noter qu'il y a peu de travaux sur les activités antioxydantes de l'huile d'argan. Terpinc *et al.*, 2009 [38] ont mis en évidence que la polarité et l'hydrophobicité des agents antioxydants sont deux facteurs importants dans les systèmes de biomembranes. De plus, Lopez, 2007 [39] affirment que la mise en œuvre des composés phénoliques, dont la plupart sont polaires, dans les matrices lipidiques est délicate et peut s'accompagner d'une diminution de leur efficacité à protéger les lipides contre l'oxydation. C'est la raison pour laquelle les études de l'activité antioxydante des huiles utilisent préférentiellement le test d'inhibition du blanchiment de la  $\beta$ -carotène comme modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques [40]. A la lumière de nos résultats, les fractions insaponifiables des huiles d'argan, riches en composés phénoliques ont un effet inhibiteur avéré contre la peroxydation lipidique par clivage des réactions de peroxydation lipidique en chaînes par piégeage du radical peroxy, par conséquent ils constituent une source prometteuse à potentiel thérapeutique.

Dans la deuxième partie de ce travail, une analyse des activités antibactérienne et antifongique des fractions saponifiables et insaponifiables de l'huile d'argan artisanale et par presse a été faite. Les principaux résultats

ont montré que ces différents échantillons ne présentent pas les mêmes capacités inhibitrices contre les agents pathogènes et que les fractions insaponifiables se distinguent des autres par leurs fortes activités antimicrobiennes. Cette capacité inhibitrice contre les pathogènes est vraisemblablement due à la richesse de ces fractions en composés très actifs notamment les composés phénoliques et les saponines. D'ailleurs, plusieurs travaux ont indiqué que les polyphénols ont un rôle important comme antibactérien grâce à la toxicité de ces constituants vis-à-vis de ces agents pathogènes [37, 38]. En plus, il est à noter que les saponines de l'huile d'arganier présentent des activités antifongiques et antibactériennes très efficaces tout en exprimant une faible toxicité [43]. D'autre part, l'analyse des résultats a dévoilé la spécificité de leur action sur des germes bien définis. En effet, la majorité des souches de bactéries utilisées telles que *Serratia marscescens*, *Salmonella enteritidis* et *Klebsiella spp.*, ont exprimé une sensibilité contrairement à *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*, qui sont plus résistantes. En outre, les résultats de la CMI et la CMB ont montré clairement que le pouvoir antimicrobien de l'huile d'argan est plutôt bactériostatique que bactéricide. En effet, les valeurs de ces deux paramètres sont très éloignées et par conséquent présentant un rapport CMB/CMI largement supérieur à 2 [44].

## Conclusion

La comparaison des caractéristiques physico-chimiques, des compositions en stérols et en acides gras des huiles d'argan artisanale et par presse, a montré une différence significative entre ces deux huiles au niveau de ces paramètres, de même pour les activités antioxydantes et antimicrobiennes des fractions saponifiable et insaponifiable. D'une manière globale, l'huile artisanale de l'Algérie a dévoilé une meilleure qualité que l'huile marocaine grâce à sa pauvreté en chlorophylles et ses faibles valeurs d'extinctions spécifiques. Par ailleurs, cette huile est plus riche en molécules d'intérêts notamment en acide linoléique, en  $\beta$ -sitostérol et en campestérol. Il est ainsi possible de conclure que bien que l'huile marocaine soit une huile vierge extra, l'huile algérienne traditionnelle, non encore valorisée, fournit de meilleures qualités diététiques lui permettant d'être une huile prometteuse tout comme l'huile marocaine.

## Financement

Ce travail a été financé par les Ministères de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Algérien et Tunisien dans le cadre de la Coopération

Bilatérale Algéro-Tunisienne.

## Conflits d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

## Références

1. Kechebar MSA., Karoune S., Belhamra M., Rahmoune C. Characterization of the argan tree of southwestern Algeria, *Int J Curr Microbiol App Sci* 2013; 2(6):117-26.
2. 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, Thèse de doctorat phytochimie, faculté des sciences, Rabat-Morocco; 2012. Page 43. [www.congresarganier.com/pdf/gharby-these.pdf](http://www.congresarganier.com/pdf/gharby-these.pdf).
3. ISO, 660. Corps gras d'origines animale et végétale- détermination de l'indice d'acide et de l'acidité ; 2009. [www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:660:ed-3:v1:fr](http://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:660:ed-3:v1:fr).
4. ISO, 3960. Corps gras d'origines animale et végétale- détermination de l'indice de peroxyde ; 2007. [www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:3960:ed4:v2:fr](http://www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:3960:ed4:v2:fr).
5. ISO, 662. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles. 2001. [www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:662:ed-2:v1:fr](http://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:662:ed-2:v1:fr).
6. ISO 3656. Corps gras d'origines animale et végétale « Détermination de l'absorbance dans l'ultraviolet, exprimée sous la forme d'extinction spécifique en lumière ultraviolette. 2002. [www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3656:ed-4:v1:fr](http://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3656:ed-4:v1:fr).
7. Stefanoudaki E., Kotsifaki F, Koutsaftaki S. Classification of olive oils of the two major Cretan cultivars based on their fatty acid composition. *J Am Oil Chem Soc* 1999; 76 (5) : 623-6.
8. COI. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olives. Conseil oléicole international, COI/T.20/Doc. n° 10 et 17/Rév.1, Principe de Vergara, 154-28002 Madrid-Espagne; 2001.
9. Romero MP., Tovar MJ., Ramo T., Moltiva MJ. Effect of crop season on the composition of virgin olive oil with protected designation of origin. "Les Garrigues". *J Am Oil Chem Soc* 2003; 80:423-30.
10. Dewanto VWX., Adom KK., Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 310-4.
11. Hatano T., Kagawa H., Yasuhara T., Okuda T. Two new flavonoids and other constituents in cicore

- root : their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem Pharm Bull* 1988 ; 36 : 2090-7.
12. Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K. *et al.*. Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related poly-phenolic constituents. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(8): 2083-91.
  13. Koleva I., Teris A., Beek V., Linssen H., Groot A., Lyuba N., Evstatieva. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal* 2001; 13: 8-17.
  14. Cavallo JD., Chardon H., Chidiac C., Choutet P., Courvalin P., Dabernat H. *et al.* Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie. Communiqué ;2006. [www.sfm-microbiologie.org /UserFiles/files/casfm\\_2004.pdf](http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm_2004.pdf)
  15. Hajlaoui H., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R., Bakhrouf A. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil :A high effectiveness against *Vibrio* spp. Strains. *Food Chem Toxicol* 2010 ; 48: 2186-92.
  16. Hayouni EA. Les métabolites secondaires chez des plantes aromatiques et médicinales: Bioprospection, investigation phytochimique et valorisation technofonctionnelle en bio-industries. École Nationale d'Ingénieurs de Sfax. Thèse de Doctorat en Génie biologique; 2009. Page 52.
  17. Hayouni EA., Chraief I., Abedrabba M., Bouix M., Leveau JY., Mohamed H., Hamdi M. Tunisian *Salvia officinalis* L. And *Schinus molle* L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *Inter. J Food Microbiol* 2008; 125 (3):242-51.
  18. Clodoveo ML., Delcuratolo D., Gomes T., Colelli G. Effect of different temperatures and storage atmospheres on Coratina olive oil quality. *Food Chem* 2007; 102:571–6.
  19. Cayuela JA., Rada M., Pérez-Camino MC., Benaissa M., Abdelaziz E., Guinda A. Characterization of artisanally and semiautomatically extracted argan oils from Morocco. *Eur J Lipid Sci Technol* 2008; 110: 1159-66.
  20. Chimi H. Conservations comparées de l'huile d'argane et de l'huile d'olive. «Cahiers d'études et de recherche francophones». *Agriculture* 2005; 14 (5): 467-71.
  21. Gharby S., Harhar H., Kartah B., El Monfalouti H., Haddad A., Charrouf Z. Analyse chimique et sensorielle de l'huile d'argan, Chemical and sensory analysis of argan oil. *Les Technologies de Laboratoire* 2011; 6 (22): 13-23.
  22. Caponino F., Bilancia M.T., Pasqualone A., Sikorska E., Gomes T. Influence of exposure to light of extra virgin olive oil quality during storage. *Eur Food Res Technol* 2005 ;221 : 92-8.
  23. Sciancalepore M., Savic N., Gyori J., Cherubini E. Facilitation of miniature GABAergic currents by ruthenium red in neonatal rat hippocampal neurons. *J Neuro Physiol* 1998; 80: 2316-22.
  24. Adlouni A. L'huile d'argan, de la nutrition à la santé. *Nutr Phyto* 2010; 8:89-97.
  25. Aranda MP., Villa VM., Trejo L. El portal latino alzheimer's project model program for latino caregivers of alzheimer's disease-affected people. *Social Work* 2003; 48 (2) :259-72.
  26. Ben Temime S., Baccouri B., Taamalli W., Abaza L., Daoud D., Zarrouk M. Location effects on chétoui virgin olive oil stability. *J Food Biochem* 2006;30: 659-70.
  27. Rahmani M. Composition chimique de l'huile d'argane vierge. *Cah Agricult* 2005 ; 5 : 461-5.
  28. Cimato A. La qualité de l'huile d'olive vierge et les facteurs agronomiques. *Sup Agro Ira Montpellier* 1990; 20-31.
  29. Abaza IM., Asar MA., El-Shaarrawi GE., Hassan MF. Effect of using *Nigella* seed, *Chamomile* flowers, *Thyme* flowers and *Harmala* seed as feed additives on performance of broiler. *Egypt J Agric Res* 2003 ; 81:735-49.
  30. Vingerling N., Oseredczuk M., Du Chaffaut L., Ireland J., Ledoux M. Fatty acid composition of commercial vegetable oils from the French market analysed using a long highly polar column. *OCL* 2010; 17:185-92.
  31. Ben Temime S., Manai H., Methenni K., Baccouri B., Abaza I., Sanchez Casas J. *et al.* Sterolic composition of Chétoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chem* 2008;110: 368-74.
  32. Ayerdi-Gotor A., Berger M., Labelette F. Variabilité des teneurs et compositions des composés mineurs dans l'huile de tournesol au cours du développement du capitule. *OCL* 2008 ; 15 : 400-6.
  33. Hilali M., Charruf M., Soulhi A. Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 2081-7.
  34. 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* ; 2006.244-249.
  35. Gutiérrez F., Arnaud T., Garrido A. Contribution of polyphenols to the oxidative stability of virgin olive

- oil. *J Sci Food Agri* 2001 ; 81:1-8.
36. Tan YA., Low KS., Chong CL. Rapid determination of chlorophylls in vegetable oils by high laser- based fluorometry. *J Sci Food Agric* 1994; 59: 519-56.
37. Aparicio R., Roda L., Albi MA., Gutiérrez F. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *J Agri Food Chem* 1994 ; 47: 4150-5.
38. Terpinc P., Bezjak M., Abramovic H. A kinetic model for evaluation of antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chem* 2009; 115:740-4.
39. Lopez G. Lipophilisation de composés phénoliques par voie enzymatique et propriétés antioxydantes des molécules lipophilisées. *OCL* 2007; 14 (1) : 51.
40. Ferreira PH., Ferreira ML., Maher CG., Herbert RD., Refshauge K. Specific stabilisation exercise for spinal and pelvic pain : a systematic review. *Aust J Physiother* 2006; 52:79-88.
41. Romani A., Ieri F., Turchetti B., Mulinacci N., Vincieri F., Buzzini P. Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *J Pharm Biomed Anal* 2006; 41: 415-20.
42. Falleh H., Trabelsi N., Bonenfant-Magné M., Le Floch G., Abdelly C., Magné C., Ksouri R. Polyphenol content and biological activities of *Mesembryanthemum edule* organs after fractionation. *Industrial crops and products* 2013; 42:145-52.
43. Charrouf Z., Fkih-Tétouani S., Rouessac F. Occurrence of erythrodiol in *Argania spinosa*. *Al Biruniya* 1990; 6 (2): 135-8.
44. Boulekbache-Makhlouf L., Slimani S., Madani K. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial crops and products* 2013 ; 41:85-9.