

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES  
DE LA TERRE ET DE L'UNIVIVERS



Département de Biologie

Laboratoire de Produits Naturels « LAPRONA »



THESE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Biologie  
Option : Nutrition et santé

Présentée par : M<sup>me</sup> BEN MENNI Hanane, épouse BENBEKHTI

THEME

**Caractérisation de l'huile d'arganier de l'ouest Algérien  
et ses activités biologiques**

Soutenue le 28 décembre 2019, devant le jury

**Présidente**  
**Directrice de thèse**  
**Co-Directeur de thèse**  
**Examineur**  
**Examineur**

Pr ATIK-BEKKARA Fawzia  
Pr BELARBI Meriem  
Pr KSOURI Riadh  
Pr DJEBLI Noureddine  
Dr. MCA. BENAMMAR Chahid

Université de Tlemcen -Algérie-  
Université de Tlemcen -Algérie-  
Centre de Recherche de Biotechnologie, Borj Cédria -Tunisie-  
Université de Mostaganem -Algérie-  
Université de Tlemcen -Algérie-

Année Universitaire : 2019- 2020

# Remerciements

Avant tout je remercie **Dieu** le Tout Puissant et Miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à ma directrice de thèse, madame **BELARBI Meriem**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour avoir bien voulu encadrer cette thèse et d'être patiente avec moi au cours de ces années, pour le temps qu'elle m'a consacré ainsi que pour l'aide et l'encouragement prodigués tout au long de ce travail de recherche. Je vous remercie pour vos qualités humaines et pédagogiques qui m'ont permis de prendre conscience de mes capacités et ont cultivé en moi le goût de la recherche.

Je suis particulièrement reconnaissante à mon co-directeur de thèse, monsieur **KSOURI Riadh**, Professeur et chercheur au Centre de Biotechnologie de Borj Cédria (Tunisie), pour son accueil et sa disponibilité au sein de son laboratoire. Vos conseils et suggestions, tant scientifiques que techniques, seront de grande valeur à ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent à madame **ATIK-BEKKARA Fawzia**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse. Qu'elle soit assurée de ma respectueuse considération.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à monsieur **DJEBLI Nouredine**, Professeur à l'Université de Mostaganem et chercheur au Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie, pour sa participation à mon jury de thèse, et surtout pour son aide, ses précieux conseils, ses connaissances scientifiques qui m'ont permis d'avancer dans mes recherches. Je vous remercie, tout particulièrement, pour vos grandes qualités humaines.

Que monsieur **BENAMMAR Chahid**, maître de conférence-A à l'Université de Tlemcen, reçoit mes sincères remerciements pour avoir accepté et de juger mon travail. Je vous transmets ma profonde gratitude pour le temps que vous avez consacré à la lecture de ce document.

Ce travail n'aurait pu être mené sans l'aide précieuse des membres du Laboratoire des Produits Naturels, Tlemcen (**enseignants, doctorants, ingénieurs, techniciens...**), de Centre de Biotechnologie, Borj Cédria (particulièrement, **Faten, Majdi et Nesrine**), du Laboratoire de pharmacognosie et phytothérapie, Mostaganem (mes vives remerciement à **BENDIAB Hadjer**), du Laboratoire d'Anatomie, Faculté de médecine, Tlemcen (**Mr KAZI, KHERAF et BENZAZOUA**) et du Laboratoire d'Anatomie Pathologie, CHU, Tlemcen (**Pr DIB et Ilyes**). Je ne saurai assez remercier pour tout ce qu'ils ont fait. Merci pour tous les bons moments passer ensemble.

# *Dédicaces*

À mes très chers *Parents*,

À mes chers sœurs *Selma* et *Dounia*, mon frère *Nassim*, mes neveux *Mehdi* et *Serine* et mon  
beau frère *Yassine*

À mon cher époux *Oussama* et ma belle famille

Que vous Dire? Vous étiez toujours là pour moi ... Tous les mots ne suffiront pas... Je vous remercie de tout mon cœur pour l'amour inconditionnel qui m'accompagne depuis toujours, pour le soutien dans mes choix, les tendres encouragements et les grands sacrifices. Vous vous êtes dépensés pour moi sans compter. Je prie le bon Dieu de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

À mes **tantes, oncles, cousines et cousins**

À mes **amis et camarades** de promo

Vous avez de près ou de loin contribué à ce travail. Merci pour votre soutien sans faille et permanent, Merci pour votre présence. Que dieu vous protège et nous garde toujours unis.

Ainsi qu'à tous celles et ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Résumé

L'huile d'argan figure parmi les huiles les plus chères au monde, du fait de son endémisme en Algérie et au Maroc, de son protocole d'extraction et de sa richesse en composés bioactifs. Cette étude a déterminé les indices physicochimiques, la teneur en acides gras, en stérols et en tocophérols de l'huile d'argan alimentaire de la région de Tindouf (Algérie). L'objectif principal est d'évaluer l'activité antiradicalaire (par le test de DPPH et FRAP) de l'huile et de sa fraction insaponifiable, ainsi que leur activité anti-inflammatoire -in vivo-, par un modèle d'inflammation aigüe induit par la carragénine chez la souris. Les souris ont reçu, par gavage, différentes concentrations d'huile d'argan ou de sa fraction insaponifiable et le Diclofénac est utilisé comme standard.

L'analyse des paramètres physicochimiques a montré que notre huile est classée comme une huile vierge. Elle est composée principalement d'acides gras insaturés (l'acide oléique ( $45,06 \pm 1,54\%$ ) et l'acide linoléique ( $35,87 \pm 1,17\%$ )). La fraction insaponifiable est très riche en tocophérols, principalement le  $\gamma$ -tocophérol ( $576,29 \pm 30,67$  mg / kg) et le  $\delta$ -tocophérol ( $99,41 \pm 7,95$  mg / kg), et en stérols, principalement le schotténol ( $46,86 \pm 0,19\%$ ) et le spinastérol ( $39,78 \pm 0,14\%$ ). D'autre part, l'huile d'argan et son extrait insaponifiable ont révélé une activité antioxydante importante et une inhibition significative de l'œdème. A la 6<sup>ème</sup> heure, après l'induction de l'œdème, l'étude statistique n'a révélé aucune différence significative entre l'effet de l'huile d'argan algérienne testée (5 et 8 mg / kg) et l'extrait insaponifiable (15 mg / kg) par rapport au produit de référence (50 mg / kg). Une consommation soutenue d'huile d'argan pourrait donc contribuer à prévenir les maladies liées à un statut oxydant et/ou inflammatoire.

**Mots clés :** huile d'argan, fraction insaponifiable, antioxydant, antiinflammatoire.

## Summary

Argan oil is one of the most expensive oils in the world because of its endemism in Algeria and Morocco, its extraction protocol and its richness in bioactive compounds. This study determined the physico-chemical indices, fatty acid content, sterols and tocopherols of edible argan oil from the region of Tindouf (Algeria). The main objective is to evaluate the antiradical activity (by the DPPH and FRAP tests) of the oil and its unsaponifiable fraction, as well as their anti-inflammatory activities in vivo, by a model of acute inflammation induced by carrageenan in mice. The mice received, by gavage, different concentrations of argan oil or its unsaponifiable fraction, and Diclofenac is used as a standard.

The analysis of physicochemical parameters has shown that our oil is classified as a virgin oil. It is composed mainly of unsaturated fatty acids (oleic acid ( $45.06 \pm 1.54\%$ ) and linoleic acid ( $35.87 \pm 1.17\%$ )). The unsaponifiable fraction is very rich in tocopherols, mainly  $\gamma$ -tocopherol ( $576.29 \pm 30.67$



mg / kg) and  $\delta$ -tocopherol ( $99.41 \pm 7.95$  mg / kg), and in sterols, mainly the schottenol ( $46,86 \pm 0.19\%$ ) and spinasterol ( $39.78 \pm 0.14\%$ ). in addition, argan oil and its unsaponifiable extract revealed significant antioxidant activity and significant inhibition of edema. At the 6th hour, after the induction of edema, the statistical study revealed no significant difference between the effect of the Algerian argan oil tested (5 and 8 mg / kg) and the extract unsaponifiable (15 mg / kg) relative to the reference product (50 mg / kg). Sustained consumption of argan oil may therefore help to prevent diseases related to oxidative and / or inflammatory status.

**Key words:** argan oil, unsaponifiable fraction, antioxidant, anti-inflammatory.

### ملخص

يعد زيت الأركان من بين أعلى الزيوت في العالم، بسبب عدم توفره إلا في مناطق محدودة (لاسيما الجزائر والمغرب)، البروتوكول المستعمل لاستخلاصه وراثته بالمركبات النشطة بيولوجيا. حددت هذه الدراسة المؤشرات الفيزيائية والكيميائية وكذلك محتوى الأحماض الدهنية، الستيروول والتوكوفيرول لزيت الأركان الصالح للأكل لمنطقة تندوف (الجزائر). الهدف الرئيسي هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت وجزءه الغير القابل للتصين بالإضافة إلى نشاطهما المضاد للالتهاب - في الجسم الحي - بواسطة نموذج الالتهاب الحاد، الناجم عن حقن الكاراجينين في الفئران. تستلم الفئران، عن طريق التزقيم، تركيزات مختلفة من زيت الأركان أو الجزء الغير القابل للتصين والديكلوفيناك كمعيار.

أظهر تحليل المعلمات الفيزيائية والكيميائية أن زيتنا يصنف كزيت بكر. يتكون بشكل أساسي من الأحماض الدهنية الغير المشبعة (حمض الأوليك ( $45.06 \pm 1.54\%$ ) وحمض اللينوليك ( $39.78 \pm 0.14\%$ )). الجزء غير القابل للتصين غني جداً بالتوكوفيرولات، أساساً ،  $\gamma$ -توكوفيرول ( $576.29 \pm 30.67$  ملغ / كلغ) و $\delta$ -توكوفيرول ( $99.41 \pm 7.95$  ملغ / كلغ) وكذلك ستيروولات، خاصة سكوتينول ( $46.86 \pm 0.19\%$ ) وسبينسترول ( $39.78 \pm 0.14\%$ ). من ناحية أخرى، كشف زيت الأركان ومستخلصه غير القابل للتصين عن نشاط كبير مضاد للأكسدة وتثبيط كبير للوذمة. في الساعة السادسة، بعد تحريض الوذمة، كشفت الدراسة الإحصائية عدم وجود فرق كبير بين تأثير زيت الأركان الجزائري الذي تم اختباره (5 و 8 ملغ / كلغ) والمستخلص غير قابل للتصين (15 ملغ / كلغ) بالنسبة للمنتج المرجعي (50 ملغ / كلغ). لذلك فإن الاستهلاك المستدام لزيت الأركان قد يساعد في منع الأمراض المتعلقة بحالة التأكسد و/ أو الالتهابات.

**الكلمات المفتاحية:** زيت الأركان، جزء الغير القابل للتصين، مضاد للأكسدة، مضاد للالتهاب.

## Production scientifique

### ➤ Publication internationale

Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. ISSN: 0963-7486 (Print) 1465-3478 (Online) Journal home page: <https://www.tandfonline.com/loi/ijf20>.

### ➤ Communications internationales

- **5th international Symposium on Medicinal and Aromatic Plants (SIPAM), 2016 (Zarzis-Tunisie)** : Etude de la capacité antioxydante de l'huile d'argan de la région de Tindouf en Algérie.

BEN MENNI Hanane, BELARBI Meriem, ZAR KALAI Feten et KSOURI Riadh.

- **1<sup>er</sup> Congrès Africain de Nutrition, 2017 (Yasmine Hammamet- Tunisie)** : Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'argan de la région de Tindouf (Algérie).

BEN MENNI Hanane, BELARBI Meriem, YAKOUBI Sana et KSOURI Riadh.

- **IV International Congress on Applied Biological Sciences, 2018 (Eskisehir-Turkey)** : In vivo anti-inflammatory activity of argan oil (Algeria).

BEN MENNI Hanane, BELARBI Meriem, BEN MENNI Dounia, BENDIAB Hadjer, DJEBLI Nouredine.

### ➤ Communications nationale

**Journée scientifique des doctorales des sciences de la nature et de la vie, 2018 (Tlemcen-Algérie)** : In vivo antiinflammatory activity and antioxydant activity of argan oil (*Argania spinosa*) from south wester Algeria.

Hanane BEN MENNI, Nouredine Djebli, Riadh KSOURI, Hadjer Bendiab, Dounia BEN MENNI et Meriem BELARBI.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b>	Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	<b>7</b>
<b>Tableau 2</b>	Les principales cellules inflammatoires.....	<b>23</b>
<b>Tableau 3</b>	Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.....	<b>24</b>
<b>Tableau 4</b>	Origines cellulaires et effets des principales cytokines et chimiokines inflammatoires.....	<b>25</b>
<b>Tableau 5</b>	Classification qualitative des huiles d'argan selon les indices physicochimiques.....	<b>40</b>
<b>Tableau 6</b>	Pourcentage des triglycérides majeurs trouvés dans l'huile d'argan.....	<b>40</b>
<b>Tableau 7</b>	Caractéristiques physico-chimiques des microcapsules obtenues par les principaux procédés industriels de microencapsulation.....	<b>50</b>
<b>Tableau 8</b>	Composition en acides gras de l'huile <i>A. spinosa</i> (L.).....	<b>83</b>
<b>Tableau 9</b>	Composition en tocophérols et stérols de l'huile <i>A. spinosa</i> (L.).....	<b>83</b>
<b>Tableau 10</b>	Pourcentage de l'augmentation de l'œdème (%AUG) des groupes : control, traités par l'huile d'argan, extrait insaponifiable et Diclofénac.....	<b>90</b>
<b>Tableau 11</b>	Composition en acides gras de l'huile d'argan encapsulée.....	<b>101</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b>	Localisation cellulaire préférentielle des antioxydants.....	<b>11</b>
<b>Figure 2</b>	Congestion active lors d'une inflammation.....	<b>19</b>
<b>Figure 3</b>	Formation d'un exsudat inflammatoire.....	<b>19</b>
<b>Figure 4</b>	Les étapes de la migration transendothéliale.....	<b>19</b>
<b>Figure 5</b>	Le métabolisme de l'acide arachidonique.....	<b>27</b>
<b>Figure 6</b>	Arganier de la région de Tindouf –Algérie.....	<b>32</b>
<b>Figure 7</b>	Aire de répartition de l'arganier à Tindouf (Algérie).....	<b>32</b>
<b>Figure 8</b>	Photo du fruit de la graine et de l'amande de l'Arganier.....	<b>35</b>
<b>Figure 9</b>	Images en microscope électronique à balayage de microcapsules (a) et de microsphères (b).....	<b>49</b>
<b>Figure 10</b>	Les différentes méthodes d'encapsulations.....	<b>49</b>
<b>Figure 11</b>	Schéma des deux types d'émulsion et l'orientation des tensioactifs.....	<b>53</b>
<b>Figure 12</b>	Les différents phénomènes d'instabilité d'une émulsion.....	<b>53</b>
<b>Figure 13</b>	Les différentes étapes d'extraction artisanale de l'huile d'argan.....	<b>56</b>
<b>Figure 14</b>	Schéma d'extraction des insaponifiables.....	<b>57</b>
<b>Figure 15</b>	Photo de l'injection sub-plantaire de la carragénine.....	<b>65</b>
<b>Figure 16</b>	Photo de mesure de l'œdème par le pléthysmomètre.....	<b>65</b>
<b>Figure 17</b>	Photo de l'Histocentre (Thermo Shandon.....	<b>68</b>
<b>Figure 18</b>	Photo d'un ruban contenant des coupes de prélèvement tissulaire des pattes, formé par un microtome.....	<b>68</b>
<b>Figure 19</b>	Photo du montage des lames.....	<b>70</b>
<b>Figure 20</b>	Photo d'un microscope lié à un ordinateur.....	<b>70</b>
<b>Figure 21</b>	Photographie légendée de l'Ultra Turrax.....	<b>73</b>
<b>Figure 22</b>	Photo d'observation macroscopique des phénomènes d'instabilité des émulsions....	<b>73</b>
<b>Figure 23</b>	Photographie de l'atomiseur (a) et schéma de technique de l'atomisation (b).....	<b>75</b>
<b>Figure 24</b>	Protocole expérimental de la microencapsulation de l'huile d'argan.....	<b>76</b>
<b>Figure 25</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations de l'huile d'argan (H), de l'extrait insaponifiable (EX) et de l'acide ascorbique (AA).....	<b>85</b>
<b>Figure 26</b>	50% d'inhibition du radical DPPH (IC <sub>50</sub> ) de l'huile d'argan (H), de l'extrait insaponifiable (EX) et de l'acide ascorbique (AA).....	<b>85</b>

<b>Figure 27</b>	Pouvoir réducteur du Fer en fonction de la concentration de l'huile d'argan (H), de l'extrait insaponifiable (EX) et de l'acide ascorbique (AA).....	<b>87</b>
<b>Figure 28</b>	Pouvoir réducteur du fer exprimé en EC <sub>50</sub> (mg/ml) de l'huile d'argan (H), l'extrait insaponifiable (EX) et de l'acide ascorbique (AA).....	<b>87</b>
<b>Figure 29</b>	Pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) des groupes traités par l'huile d'argan (H1 et H2) et le Diclofénac (Std).....	<b>90</b>
<b>Figure 30</b>	Pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) des groupes traités par l'extrait insaponifiable (EX1 et EX2) et le Diclofénac (Std).....	<b>91</b>
<b>Figure 31</b>	Pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) des groupes traités par l'huile d'argan (H1 et H2), l'extrait insaponifiable (EX1 et EX2) et le Diclofénac (Std).....	<b>93</b>
<b>Figure 32</b>	Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe contrôle (C), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.....	<b>95</b>
<b>Figure 33</b>	Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe standard (Std), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x10, x20 et x40.....	<b>95</b>
<b>Figure 34</b>	Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'huile d'argan (H1), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.....	<b>96</b>
<b>Figure35</b>	Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'huile d'argan (H2), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.....	<b>96</b>
<b>Figure 36</b>	Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'extrait insaponifiable (EX1), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.....	<b>97</b>
<b>Figure37</b>	Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'extrait insaponifiable (EX2), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.....	<b>97</b>
<b>Figure38</b>	Photo de l'émulsion préparée.....	<b>99</b>
<b>Figure 39</b>	Photo de la formation de la poudre.....	<b>99</b>

## Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribonucléique  
**AFNOR**: Association Française de normalisation.  
**AG** : acide gras  
**AGI**: acide gras insaturé  
**AGPI** : acide gras poly insaturé  
**AGS**: acide gras saturé  
**AINS** : antiinflammatoire non stéroïdien  
**AIS** : antiinflammatoire stéroïdien  
**AP-1** : Activator Protein 1  
**ARN** : acide ribonucléique  
**BHA**: Hydroxyanisole butylé  
**BHT** : Butylhydroxytoluène  
**CAT** : catalases  
**CPG**: chromatographie en phase gazeuse  
**DMSO** : Diméthylsulfoxyde  
**DPPH**: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl  
**EC50**: concentration efficace médiane  
**ERN**: espèces réactives de l'azote  
**ERO**: espèces réactives de l'oxygène  
**EAG**: équivalent d'acide gallique  
**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power  
**GPX** : glutathion peroxydase  
**GR** : glutathion réductase  
**GSH** : glutathion  
**HDL** : lipoprotéine à haute densité  
**HPLC**: chromatographie liquide à haute performance  
**IC50**: concentration inhibitrice à 50%  
**IFN** : interférons  
**IL** : interleukin  
**ISO** : organisation internationale de normalisation  
**LC-MS**: chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse  
**LDL** : lipoprotéine de faible densité  
**NADH** : nicotinamide adénine dinucléotide hydrogéné  
**NADPH** : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogéné  
**NF- $\kappa$ B** : Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells  
**PAL**: phosphatase alcaline  
**PLL**: palmito-dilonoléine  
**PNN** : polynucléaires neutrophiles  
**POL**: palmito-oléo-linoléine  
**POS**: palmito-oléo-stéarine  
**PPL**: lino-dipalmitine  
**PGE2** : prostaglandine E<sub>2</sub>  
**PGI2** : prostacycline  
**RNS** : reactive nitrogen species  
**ROS** : reactive oxygen species  
**SOD**: superoxyde dismutase  
**TGF** : Transforming Growth Factor  
**TG** : triglycéride.

**Th** : T helper

**TNF** : Tumor Necrosis Factor

**UV** : ultraviolet

**VLDL** : lipoprotéine de très faible densité

## TABLE DES MATIERES

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Production scientifique</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1<sup>ERE</sup> PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : LE STRESS OXYDATIF</b>	
I. Définition du stress oxydatif.....	5
II. Radicaux libres et leurs sources.....	5
III. Cibles des radicaux libres et leurs conséquences.....	8
IV. Système de défense antioxydant.....	9
IV.1. Classification des antioxydants selon leurs mécanismes d'action.....	9
IV.2. Classification des antioxydants selon leurs localisations cellulaires.....	10
IV.3. Classification des antioxydants selon leurs natures.....	10
IV.3.1. Les antioxydants synthétiques.....	10
IV.3.2. Les antioxydants naturels.....	10
IV.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	10
IV.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	12
<b>CHAPITRE II : L'INFLAMMATION</b>	
I. Définition de l'inflammation.....	15
II. Inflammation aigue.....	16
II.1. Phase vasculaire.....	17
II.1.1. Congestion active.....	17
II.1.2. Œdème inflammatoire.....	17
II.1.3. Migration transendothéliale (TEM) ou diapédèse leucocytaire.....	18
II.2. Phase cellulaire.....	18
II.3. Phase de résolution.....	21
III. Inflammation chronique.....	21
III.1. Caractères morphologiques communs aux inflammations chroniques.....	22
IV. Acteurs de l'inflammation.....	22
IV.1. Cellules de l'inflammation.....	22
IV.2. Médiateurs de l'inflammation.....	22
V. Antiinflammatoires.....	26
V.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	26
V.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	28
V.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	29
<b>CHAPITRE III : L'ARGANIER ET L'HUILE D'ARGAN</b>	
I. Arganier.....	31
I.1. Historique.....	31



I.2. Répartition géographique.....	31
I.3. Classification et description botanique.....	33
I.4. Importance de l'arganier.....	36
II. Huile d'argan.....	36
II.1. Types d'huile d'argan.....	36
II.2. Procédés d'extraction de l'huile d'argan.....	37
II.2.1. Extraction artisanale de l'huile d'argan.....	38
II.2.2. Extraction semi-artisanal/ par presse (coopératives).....	38
II.2.3. Extraction industrielle.....	38
II.3. Caractéristiques physicochimiques.....	39
II.4. Composition chimique de l'huile d'argan.....	39
II.4.1. Fraction saponifiable (glycérique).....	39
II.4.2. Fraction insaponifiable.....	41
II.5. Intérêt de l'huile d'argan.....	43
II.5.1. Bienfaits diététiques.....	43
II.5.2. Bienfaits cosmétiques.....	43
II.5.3. Bienfaits pharmacologiques et médicinales.....	44

## **CHAPITRE IV : LA MICROENCAPSULATION ET L'EMULSION DES HUILES**

I. Concepts généraux sur l'encapsulation.....	47
II. Concepts généraux sur les émulsions.....	51
II.1. Les tensioactifs.....	51
II.2. Phénomènes d'instabilité présents dans les émulsions.....	52

## **2<sup>EME</sup> PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

I. Récolte des fruits d'arganier.....	55
II. Extraction de l'huile d'argan.....	55
III. Extraction de la fraction insaponifiable.....	55
IV. Détermination des indices physicochimiques.....	58
IV.1. Indice de densité ( $d_{20}$ ).....	58
IV.2. Indice de réfraction ( $n_d^t$ ).....	58
IV.3. Indice d'acide ( $I_A$ ).....	58
IV.4. Indice de saponification ( $I_S$ ).....	59
V. Détermination de la teneur en acides gras.....	59
V.1. Préparation des esters méthyliques.....	60
V.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	60
VI. Détermination de la teneur en tocophérols.....	61
VII. Détermination de la teneur en phytostérols.....	61
VIII. Evaluation de l'activité antioxydante.....	62
VIII.1. Test de DPPH.....	62
VIII.2. Test de FRAP.....	62
IX. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	63
IX.1. Animal expérimental.....	63
IX.2. Test de toxicité.....	63
IX.3. Prétraitement par les extraits.....	63
IX.4. Induction de l'œdème inflammatoire.....	64
IX.5. Mesure de l'œdème.....	64
IX.6. Calcul du pourcentage d'augmentation (%AUG) et d'inhibition (%INH) de l'œdème.....	64
IX.7. Prélèvement des pattes de souris.....	66
X. Préparation des coupes histologiques.....	66

X.1. Fixation.....	66
X.2. Décalcification.....	66
X.3. Déshydratation.....	66
X.4. Inclusion.....	66
X.5. Préparation de la coupe (microtomie) .....	67
X.6. Réhydratation et coloration.....	67
X.7. Montage des lames.....	69
X.8. Observation au microscope optique.....	69
XI. Analyses statistiques.....	69
XII. Microencapsulation de l'huile d'argan.....	71
XII.1. Préparation de l'émulsion.....	71
XII.1.1. Choix du sens de l'émulsion et du tensioactif.....	71
XII.1.2. Formulation de l'émulsion.....	71
XII.1.2.1. Les paramètre influençant la stabilité des émulsions, la distribution de taille et la	
taille des microcapsules.....	72
XII.1.2.2. Tests d'observation visuelle.....	72
XII.1.2.3. Préparation de l'émulsion.....	72
XII.2. Séchage par pulvérisation (Atomisation) .....	74
XII.3. Teneur en eau des particules de la poudre.....	77
XII.4. Teneur totale en huile des particules de la poudre.....	77
XII.5. Détermination de la teneur en acides gras de la poudre.....	77
 <b>3<sup>EME</sup> PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
I. Aspect de l'huile d'argan extraite.....	79
II. La teneur en insaponifiable.....	79
III. Les indices physico-chimiques.....	79
III.1. L'indice de densité.....	79
III.2. L'indice de réfraction.....	79
III.3. L'indice d'acidité.....	79
III.4. L'indice de saponification.....	80
IV. Détermination des teneurs en acides gras.....	80
V. Détermination des teneurs en tocophérols.....	81
VI. Détermination des teneurs en phytostérols.....	81
VII. Etude de l'activité antioxydante.....	84
VII.1. Test de DPPH.....	84
VII.2. Test de FRAP.....	86
VIII. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	88
VIII.1. Test de toxicité.....	88
VIII.2. Induction de l'œdème inflammatoire.....	88
VIII.3. Effet antiinflammatoire de l'huile d'argan.....	89
VIII.3.1. Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) .....	89
VIII.3.2. Pourcentage d'inhibition du volume de la patte (%INH) .....	89
VIII.4. Effet antiinflammatoire de l'extrait insaponifiable.....	89
VIII.4.1. Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) .....	89
VIII.4.2. Pourcentage d'inhibition du volume de la patte (%INH) .....	89
VIII.5. Etude histologique des pattes de souris.....	94
IX. La microencapsulation.....	98
IX.1. Formulation et préparation de l'émulsion.....	98
IX.2. Obtention de la poudre après séchage par pulvérisation.....	98
IX.3. Teneur en eau des particules de la poudre.....	100

IX.4. Teneur en huile des particules de la poudre.....	100
IX.5. Détermination des teneurs en acides gras de l'huile d'argan encapsulée.....	100
	103
<b>Discussion générale</b> .....	<b>105</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>110</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>113</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Article</b>	

## **INTRODUCTION**

---

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique, dont le but est d'éliminer l'agent agresseur et de réparer les lésions tissulaires. Or, en cas d'anomalies, l'inflammation peut s'aggraver et devenir néfaste, du fait de l'agressivité et de la persistance de l'agent agresseur, d'une part, et la surproduction des espèces réactives d'oxygènes d'autre part (**Calder et al., 2009**). Les anti-inflammatoires pharmaceutique, (aspirine, cortisone, diclofenac...) sont puissants et efficaces. Cependant les substances chimiques s'accompagnent souvent d'effets secondaires indésirables, qui rendent leur utilisation problématique (**Sandilands et Bateman, 2016**). Il est dès lors intéressant de savoir que la nature nous offre une foule de plantes médicinales, ainsi que d'autres remèdes à action anti-inflammatoire. L'utilisation des extraits végétaux s'avère utile et sans effets secondaires.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui consiste à mettre en valeur les effets santé de la consommation de l'huile d'argan et de sa fraction insaponifiable, par la confirmation scientifique des propriétés biologiques, à savoir, l'activité antioxydante et anti-inflammatoire. Cela dans le but de trouver une base scientifique à son utilisation en médecine traditionnelle, de rechercher des remèdes naturels dotés de certains pouvoirs préventifs et/ou curatifs présentant le moins d'effets indésirables possibles ainsi que la valorisation de la flore algérienne.

L'huile d'argan étudiée est extraite à partir des amandons issues des arganiers (*Argania spinosa (L.) Skeels*), de la région de Tindouf (Algérie). L'arganier est une espèce endémique Algéro-Marocaine, appartenant à la famille tropicale des sapotacées, une des essences originales de l'Afrique du Nord, tant par son intérêt botanique, écologique, socio-économiques que par sa valeur nutritionnelle, raison pour laquelle il est protégé par l'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture (**UNESCO. Informations sur les réserves de biosphère, 2007**).

Jusqu'à nos jours, les scientifiques ne cessent de valoriser ce fameux arbre, en étudiant l'impact de sa consommation régulière, afin de mieux connaître le mécanisme d'action de son huile et ses activités biologiques pour une valorisation nutritionnelle en termes de prévention contre certaines maladies (**Sour et al., 2015; Ursoniu et al., 2018**). L'huile d'argan représente un produit international mais malheureusement, exportée uniquement par le Maroc.

Les distributeurs en Europe et en Amérique du Nord redistribuent l'huile dans le monde entier sur les marchés étrangers.

Pour ce faire, notre étude est présentée comme suit :

Dans un premier temps, une partie bibliographique apportera les grands concepts relatifs aux stress oxydant et les antioxydants, l'inflammation et les anti-inflammatoires, en plus des rappels sur l'arganier (*Argania spinosa* (L.) *Skeels*) et de son huile, ainsi que la microencapsulation. Dans un second temps, une partie expérimentale présentera les méthodes utilisées. Le premier axe étudié, concerne le criblage phytochimique de l'huile d'argan. Dans le deuxième axe, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'huile d'argan totale et de sa fraction insaponifiable, en utilisant la méthode de DPPH et FRAP. Dans un autre axe, nous sommes intéressés à l'activité anti-inflammatoire -in vivo- des mêmes extraits en utilisant le modèle d'inflammation aiguë, l'œdème de la patte de souris induit par la carragénine. Le dernier axe consiste en des tests préliminaires visant à la microencapsulation de l'huile d'argan par la méthode d'émulsion suivit d'une atomisation. La troisième partie exposera les différents résultats obtenus et leur discussion et on terminera avec une conclusion générale.

## **1<sup>ère</sup> PARTIE**

---

### **Synthèse bibliographique**

## Chapitre 1 : Stress oxydatif

### I. Définition

En 1969, les **Américains Mc Cord et Fridovich** isolent à partir des globules rouges humaines un système enzymatique antioxydant, superoxyde dismutase « SOD », démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit des espèces réactives d'oxygène (ERO) dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants (**Favier, 2003**).

Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène, lorsque l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur des pro-oxydants (**Koechlin-Ramonatox, 2006**). Les défenses antioxydantes, dont une partie est dépendante de l'alimentation, peuvent être insuffisantes pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres (**Valko et al., 2007**).

La production des radicaux libres par l'organisme est un mécanisme maîtrisé par les systèmes antioxydants. Dans des conditions physiologiques, la balance entre la production d'oxydants et l'apport ou la production d'antioxydants est en équilibre, les oxydants endogènes produits à faible dose étant utiles à l'organisme (**Valko et al., 2007**). En effet, les radicaux libres remplissent de nombreuses fonctions utiles comme la transduction des signaux de plusieurs hormones et facteurs de croissance, le cycle cellulaire et l'apoptose, la défense immunitaire, la phagocytose lors d'une inflammation et l'expression de certains gènes par la régulation des facteurs de transcription comme NF- $\kappa$ B et AP-1 (**Kabe et al., 2005**). Les voies thérapeutiques doivent donc prendre en compte l'effet bénéfique des radicaux libres, car une élimination totale pourrait être néfaste.

### II. Radicaux libres et leurs sources

Les radicaux libres endogènes proviennent de la respiration mitochondriale, lors de l'inflammation par la phagocytose et lors de la détoxification. Le stress oxydatif peut être aussi la conséquence de certains troubles métaboliques comme le diabète, les processus infectieux comme le sida ou l'obésité (**Schlienger et al., 2009**). Les sources exogènes des radicaux libres sont les toxiques environnementaux (métaux lourds), les agents cancérogènes, les radiations ionisantes et UV, les champs électriques, ou encore le tabac et l'alcool (**Schlienger et al., 2009**).

Les radicaux libres peuvent donc être générés à partir de nombreux éléments, mais dans les systèmes biologiques, ce sont ceux impliquant l'oxygène et l'azote qui sont les plus importants (**Burton et Jauniaux, 2011**).



L'oxygène, élément indispensable à notre vie, est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération et de dégénérescence. En effet, La chaîne respiratoire mitochondriale a des conséquences doubles et paradoxales sur les cellules aérobies. D'une part, elle fournit à la cellule une source d'énergie importante. Or, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme donnant naissance à des radicaux libres (**Haleng et al., 2007**).

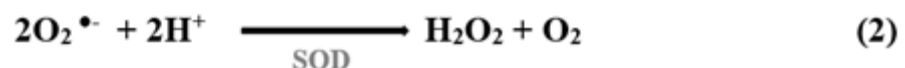
- **Les oxydants primaires** sont soit des dérivés de l'oxygène, on parle d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS), soit des dérivés de l'azote, on parle d'espèces réactives de l'azote (ERN ou RNS). Ils incluent les espèces radicalaires et les espèces non radicalaires.

- **Les oxydants secondaires** sont issus de la réaction des radicaux primaires avec les composés biochimiques de la cellule tel que le radical peroxyde (RO<sub>2</sub>•) et le radical alkoxy (RO•), où R est un substrat organique (**Delattre, 2007**). Le nom de radicaux libres englobe toutes ces espèces. Ils sont présentés dans le (**Tableau 1**).

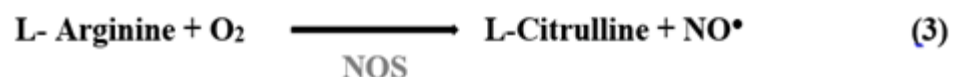
La génération des ERO commence par une molécule d'oxygène, l'activation de la NADPH-oxydase et la production du radical anion superoxyde (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) (**Nimse et Pal, 2015**)(réaction 1). Puis une cascade de réactions se déclenche, dont quelques-unes seront présentées ci-dessous :



L'anion superoxyde (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) est rapidement dismuté en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui n'est pas un radical mais il génère d'autres radicaux libres toxiques (réaction 2).



Par ailleurs, les NO-synthétases (NOS) sont une famille d'enzyme qui transforment l'acide aminé L-arginine en L-citrulline et oxyde azotique (NO•) (**Nimse et Pal, 2015**) (réaction 3).



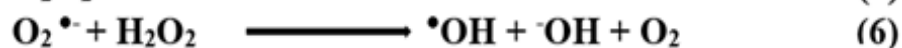
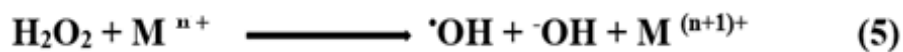
**Tableau 1:** Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Rachel, 2003)

<b>Radicalaires</b>	<b>Non radicalaires</b>
<b>Espèces réactives de l'oxygène (ERO)</b>	
Superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ )	Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )
Hydroxyl ( $OH^{\bullet}$ )	Acide hypochloreux ( $HOCl$ )
Peroxyl ( $RO_2^{\bullet}$ )	Ozone ( $O_3$ )
Alloxyl ( $RO^{\bullet}$ )	Oxygène singulet ( $^1O_2$ )
Hydroperoxyl ( $HO_2^{\bullet}$ )	
<b>Espèces réactives de l'Azote (ERN)</b>	
Oxyde nitrique ( $NO^{\bullet}$ )	Acide nitreux ( $HNO_2$ )
Dioxyde du nitrogène ( $NO_2^{\bullet}$ )	Cation nitrosyle ( $NO^+$ )
	Anion nitrosyle ( $NO^-$ )
	Peroxynitrite ( $ONOO^-$ )

Bien que ni le  $\text{NO}^\bullet$  ni le  $\text{O}_2^{\bullet-}$  ne soient des oxydants puissants, mais lorsqu'ils réagissent ensemble, ils produisent du peroxy-nitrite ( $\text{ONOO}^-$ ), un puissant oxydant polyvalent qui peut attaquer une large gamme de cibles biologiques (Nimse et Pal, 2015) (réaction 4).



Le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ), l'oxydant le plus puissant et instable de l'organisme. Il peut être généré de plusieurs manières différentes : coupure homolytique de  $\text{H}_2\text{O}_2$  sous l'influence de rayonnements UV, réaction de l'acide hypochloreux ( $\text{HOCL}$ ) avec l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), décomposition des peroxy-nitrites ( $\text{ONOO}^-$ ). Toutefois, les principales voies de sa production sont dues aux réactions de Fenton (en présence de métaux  $\text{M}^{n+}$  comme le  $\text{Fe}^{2+}$  ou le  $\text{Cu}^+$ , le  $\text{Co}^{2+}$ , le  $\text{Ti}^{3+}$  (réaction 5) et d'Haber-Weiss (réaction 6).



### III. Cibles des radicaux libres et leurs conséquences

Les radicaux libres sont instables et cherchent à s'apparier avec un électron d'une autre molécule. A des concentrations élevées, ils peuvent être d'importants médiateurs de dommages aux structures cellulaires, lipides, protéines et acides nucléiques (Valko et al., 2006). Ils sont à l'origine de réactions d'oxydation en chaîne responsables de lésions cellulaires à l'origine des défaillances d'organes (Zazzo, 2002), conduisant à l'apparition d'une multitude de maladies, comme le vieillissement accéléré, la cataracte, le syndrome de détresse pulmonaire aigu, le diabète, l'obésité, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et le cancer (Khan et al., 2006) :

- L'oxydation des acides nucléiques (ADN ou ARN) est susceptible d'entraîner des modifications des bases azotées par oxydation des bases et des résidus des sucres, des ruptures des brins et fragmentations de l'ADN ou à des pontages entre des bases ou des pontages ADN-protéine. Cela va engendrer des mutations génétiques, altérant ainsi l'expression génétique pouvant aboutir aux premières étapes de la carcinogénèse ou de l'apoptose de la cellule et le vieillissement (Cooke et al., 2003; Valko et al., 2007).

- La peroxydation des lipides, les acides gras polyinsaturés (AGPI), estérifiés (phospholipides, esters de cholestérol, triglycérides) sont facilement oxydables. Ce qui induit une diminution de la fluidité des membranes, une augmentation de la perméabilité

membranaire, une inactivation des enzymes et des récepteurs membranaires, aboutissant à la désorganisation complète des membranes, altérant de ce fait ses fonctions d'échanges, de barrières et d'informations (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Une autre cible importante est le cholestérol non estérifié qui aboutira à la formation des (oxystérols). Les lipoprotéines telles que les LDL, riches en cholestérol et en phospholipides sont également des cibles privilégiées de la peroxydation lipidique. Les LDL oxydées sont fortement incriminées dans l'athérogenèse. De nombreuses autres pathologies sont associées à la peroxydation des lipides. C'est le cas des maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), du diabète, du vieillissement, des maladies inflammatoires, des cancers...

- L'oxydation des protéines induit une fragmentation de la protéine, une oxydation des chaînes latérales des acides aminés ou une formation de liaisons croisées entre deux protéines. Les fonctions de multiples enzymes, de récepteurs et de protéines de transport cellulaire peuvent ainsi être modifiées, entraînant la perte de leurs fonctions biologiques (**Rubbo et Radi, 2008**).

#### **IV. Système de défense antioxydant**

On peut envisager sous le titre d'antioxydant au sens large, l'ensemble des molécules ayant la capacité de contrôler le niveau des radicaux libres, de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en séquestrant le Fer libre pour former des composés stables, ou en générant d'autres antioxydants (**Halliwell et Gutteridge, 2007 ; Tang et Halliwell, 2010**).

##### **IV.1. Classification des antioxydants selon leurs mécanismes d'action**

Selon leurs modes d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories (**Kouame, 2004**) :

➤ **Les antioxydants primaires:** comme la catalase (CAT) et le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production des ERO en limitant la phase d'initiation. Cette catégorie englobe les chélateurs des métaux pro-oxydatifs, les désactivateurs de l'oxygène singulet, les piègeurs de la molécule d'oxygène, les inhibiteurs des enzymes pro-oxydative.

➤ **Les antioxydants secondaires:** comme les tocophérols et les phénoliques. Ce type d'antioxydant permet d'éviter le passage de formes peu réactives ( $O_2^{\cdot-}$ ) à très réactives ( $OH^{\cdot}$ ), en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives ( $O_2$ ).

## IV.2. Classification des antioxydants selon leurs localisations cellulaires

Selon les caractéristiques physico-chimiques des antioxydants, ils auront une localisation cellulaire préférentielle (**Figure 1**) : les membranes cellulaires pour les substances liposolubles et le cytosol et/ou le milieu extracellulaire pour les substances hydrosolubles (**Furukawa et al., 2004**).

## IV.3. Classification des antioxydants selon leurs natures

### IV.3.1. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que l'acide ascorbique (Vit C), le butylhydroxyanisole (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Ils sont introduits dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés.

Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques en cas d'excès de consommation (**Yu et al., 2000**).

### IV.3.2. Les antioxydants naturels

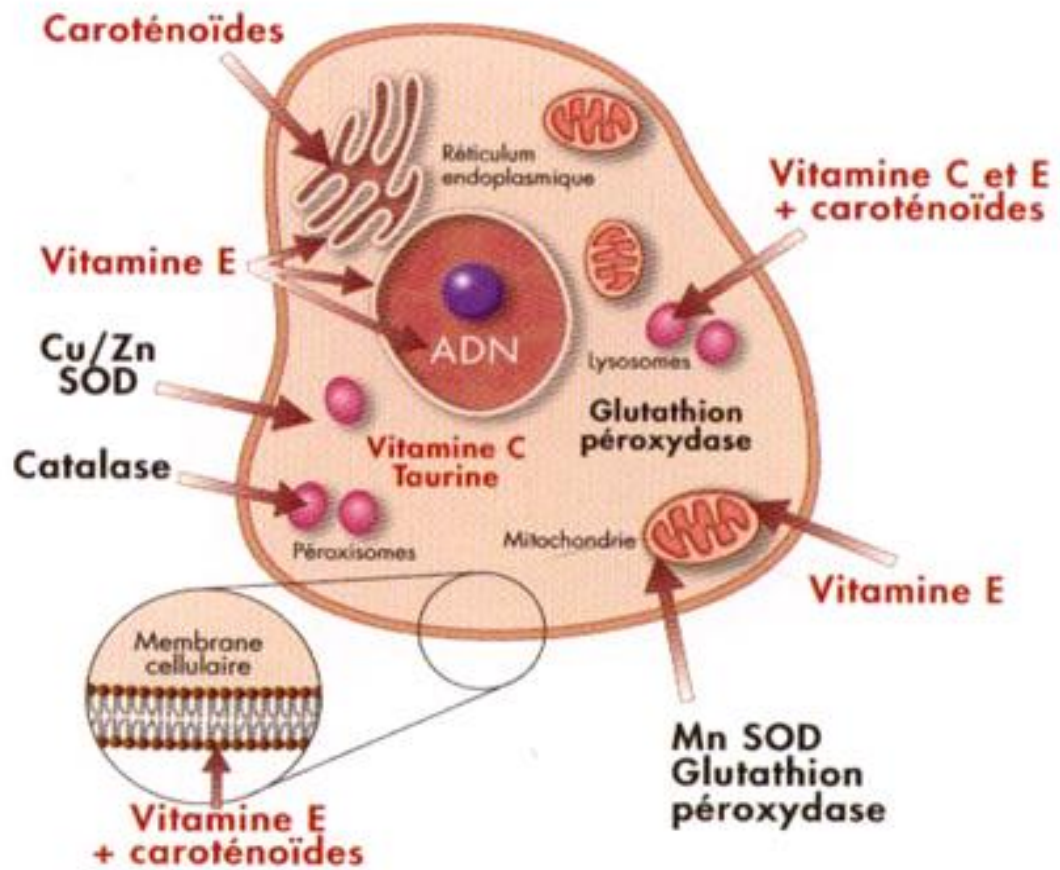
#### IV.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques

Les enzymes antioxydantes sont considérées comme la première ligne de défense de notre organisme contre les radicaux libres (**Pincemail et al., 2000**). Elles ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du ( $O_2^{\bullet-}$ ) et du ( $H_2O_2$ ), conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (**Lehucher-Michelet et al., 2001**).

#### A. La catalase

La catalase est présente dans les peroxysomes d'un grand nombre de tissus, cœur, rate, poumons, mais son activité la plus importante est dans les globules rouges, les hépatocytes et les reins (**Thérond et Bonnefont-Rousselot, 2005**).

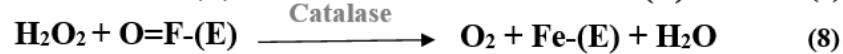
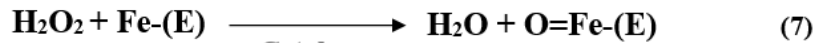
Pour catalyser la réaction, l'atome de fer du groupement hème de la catalase réalise une coupure hétérolytique de la liaison O-O du  $H_2O_2$ , créant de ce fait une molécule d'eau et un



Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir)

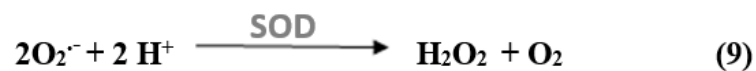
**Figure 1:** Localisation cellulaire préférentielle des antioxydants (Opara, 2002).

groupement Fe=O (réaction 7), ce dernier peut réagir avec une autre molécule de peroxyde d'hydrogène pour donner du dioxygène (Chelikani et Fita, 2004) (réaction 8).



### B. La superoxyde dismutase (SOD)

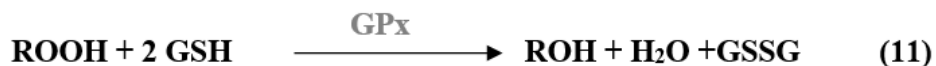
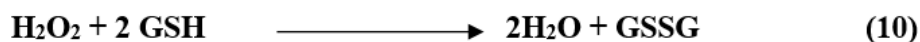
La SOD est une enzyme dont le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permet de distinguer les différentes SODs: la SOD à Cuivre-Zinc (CuZn-SOD), à Manganèse (Mn SOD) et au Fer (Fe SOD) (Barondeau et al., 2004). Son rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>2</sub> (Antwerpen, 2006) (réaction 9).



Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit par les SODs est régulé enzymatiquement par les catalases et les peroxydases afin d'éviter l'augmentation de sa concentration (Blokhina et al., 2003).

### C. La glutathion peroxydase et réductase

Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en molécule d'eau (réaction 10), et les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools et en eau (réaction 11), en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion réduit/glutathion disulfure (GSH / GSSG) (Marfak, 2003).



Le GSSG formé est continuellement réduit en GSH, ce qui est assuré par la glutathion réductase (GR) en présence de NADPH (Souchard et al., 2002) (réaction 12).



#### IV.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation.

### A. Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide, formé par la condensation du glutamate, glycine (endogènes) et de cystéine (acide aminé essentiel).

Par la fonction thiol (-SH) du radical de la cystéine, le glutathion peut exister sous une forme réduite (GSH) ou sous une forme oxydée (GSSG) dans laquelle deux molécules de glutathion sont liées par un pont disulfure.

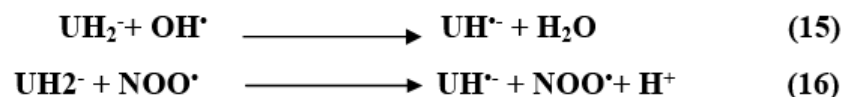
Le GSH réagit très rapidement avec les ROS pour former le GSSG. Ses propriétés antioxydantes sont nombreuses : son rôle protecteur principalement résulte de sa fonction comme coenzyme de glutathion peroxydase (GP<sub>x</sub>) (Birben et al., 2012). C'est un antioxydant réducteur de nombreuses espèces oxydées, en particulier l'eau oxygénée (réaction 13) et les radicaux hydroxyyles (Gardès-Albert et al., 2003) (réaction 14).



Le glutathion est également un régénérateur final des vitamines, telle que la vitamine C et E, en les conservant dans leur état actif. Ces vitamines ne peuvent fonctionner de façon adéquate sans glutathion (Masella et al., 2005).

### B. L'acide urique

L'acide urique constitue le produit terminal majeur du métabolisme des purines. Il est majoritairement présent sous la forme ionisée (urate : UH<sub>2</sub><sup>-</sup>) pouvant interagir avec les radicaux hydroxyyles (OH<sup>•</sup>) et conduisant à la formation de l'espèce radicalaire (UH<sup>•-</sup>) stable (réaction 15), celle-ci est à son tour réduite par l'ascorbate régénérant l'urate. Ce dernier protège aussi les protéines de la nitration en réagissant avec le peroxy-nitrite (NOO<sup>•</sup>) (Dhalla et al., 2000) (réaction 16).



### C. L'acide ascorbique

L'ascorbate (la vitamine C) est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés aussi bien hautement réactifs que très peu réactifs (Curtay et Robin, 2000). En réagissant avec ces divers radicaux, l'ascorbate (AscH<sup>•</sup>) est oxydé en radical ascorbyle (Asc<sup>•-</sup>) qui est relativement inerte vis-à-vis des molécules biologiques. De plus, l'ascorbate est muni d'une propriété importante



qui est la réparation de deux autres antioxydants, le glutathion (GSH) et l' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -TH) à partir de leurs formes radicalaires (reaction 17 et 18, respectivement) (Evans, 2000).



#### D. Les caroténoïdes

Le  $\beta$ -carotène (la vitamine A) est le plus connu des 600 caroténoïdes que l'on trouve dans la nature. Son activité antioxydante est liée à sa longue chaîne possédant de nombreuses doubles liaisons au sein de sa structure, qui lui permet de réagir avec les radicaux ( $\text{ROO}^\cdot$ ,  $\text{HO}^\cdot$ ,  $\text{R}^\cdot$ ) par simple transfert d'électron (Valko et al., 2006).

En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capter l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ), ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire.

#### E. les tocophérols

La vitamine E est le nom commun utilisé pour les quatre isomères du tocophérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), Elle est la molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique (Pincemail et al., 2000). Le  $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -TH), perd un atome d'hydrogène et se transforme en radical  $\alpha$ -tocophéryle ( $\alpha\text{-T}^\cdot$ ), tandis que le radical peroxyde est réduit en une molécule d'hydroperoxyde ( $\text{ROOH}$ ) (Blokhina et al., 2003) (réaction 19).



#### F. Les polyphénols

Les polyphénols, représentés essentiellement par les flavonoïdes, sont dotés de puissantes activités antioxydantes (Ketsawatsakul et al., 2000). L'efficacité des flavonoïdes vis-à-vis des radicaux libres est due à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (Sandharet al., 2011).

Tous ces antioxydants sont indispensables pour contrôler le niveau des radicaux libres dans l'organisme et donc la prévention de la plupart des maladies liées au stress oxydatif, tel que les maladies inflammatoires.

## Chapitre 2 : L'inflammation

### I. Définition de l'inflammation

Le terme « inflammation » est dérivé du latin « *inflammare* » qui se traduit par « mettre le feu ». Elle est définie comme un processus de défense de l'organisme contre une agression d'origine physique, chimique ou biologique, dont le but est de neutraliser, de combattre et d'éliminer l'agent agresseur ainsi que la réparation des lésions tissulaire. Elle s'exprime biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, chaleur, rougeur, douleur, gonflement ou œdème (**Kumar et al., 2003; Majno, 2004**) et éventuellement une altération de l'état général.

Elle se déroule dans les tissus conjonctifs vascularisés (le tissu conjonctif lâche, tissu adipeux, tissu osseux et le tissu sanguin). Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage et cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète (**Ruslan, 2008**).

L'inflammation n'est pas synonyme d'infection, mais l'infection peut être la cause de l'inflammation. De plus, un même agent pathogène peut entraîner des réactions inflammatoires différentes selon l'hôte, en particulier selon l'état des défenses immunitaires et que plusieurs causes peuvent être associées dans le déclenchement d'une réaction inflammatoire (**Rousselet et al., 2005; Abena et al., 2007**).

La survenue de ce phénomène a donc des origines multiples :

Les inducteurs exogènes :

- Infection : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons) ;
- Agents physiques : chaleur, froid, radiation (rayons X, UV) ;
- Agents chimiques : agent caustiques, toxines, venins ;
- Traumatiques : blessure, intervention chirurgicale ;

Les inducteurs endogènes :

- Les cellules tumorales tuées, cristaux formés dans l'organisme (urée), les réactions immunitaires ;
- Défaut de vascularisation : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose ;
- Agression dysimmunitaire : anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité.

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique dans la mesure où elle reste régulée. Toutefois elle peut être néfaste du fait de l'agressivité ou la persistance de l'agent agresseur, par anomalies des régulations du processus inflammatoire tel qu'une réaction inflammatoire insuffisante ou exagérée, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. Cela peut engendrer des dommages irréversibles, en augmentant ainsi la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme la goutte, l'arthrite rhumatoïde, la maladie du Crohn (**Medzhitov, 2008 ; Ashley et al., 2012 ; Furie, 2014**). Ça peut conduire à une immunodéficience pouvant entraîner un cancer. Une inflammation mal contrôlée peut également s'étendre au reste de l'organisme via la circulation sanguine et peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, par exemple, provoquant un choc septique et dans les cas les plus graves le décès (**Nathan, 2002; Barton, 2008**).

Quel que soit son siège et la nature de l'agent agresseur, le déroulement d'une réaction inflammatoire présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs. Néanmoins, les différentes étapes présentent des variations liées à la nature de l'agent pathogène, à l'organe où se déroule la réaction inflammatoire et au terrain physiologique de l'hôte. Tous ces éléments conditionnent l'intensité, la durée de la réaction inflammatoire et l'aspect lésionnel (**Lakhani et al., 2009**). On distingue alors 2 types d'inflammation. Une inflammation aiguë, c'est la première réponse face à une agression. Dès lors que l'inflammation persiste anormalement et en absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique et on retrouve alors les manifestations pathologiques liées à ce mécanisme (**Schwartz, 2011 ; Gattorno et Martini, 2016**).

## **II. Inflammation aiguë**

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses qui se traduisent cliniquement par 4 phénomènes typiques, signes cardinaux de Celsius, qui sont le gonflement (œdème), la douleur, la chaleur et l'érythème (rougeur) (**Weill et Batteux, 2003**). L'inflammation aiguë guérit spontanément ou avec un traitement (**Charles et al., 2010**). Mais elle peut également s'accompagner d'atteintes fonctionnelles régionales selon la gravité de l'agression (**Botting et Botting, 2000**).

L'inflammation aiguë peut être divisée en trois grandes phases ; une phase vasculaire immédiate, caractérisée par des modifications de la microcirculation locale, une phase

cellulaire consécutive caractérisée par la mobilisation de nombreuses cellules immunitaires, et une phase de résolution et de cicatrisation qui en quelques jours conduira à la restauration des tissus (Weill et al., 2003 ; Soehnlein et Lindbon, 2010).

### **II.1. Phase vasculaire (Réaction vasculo-exsudative)**

Ce sont des mécanismes immédiats de l'ordre de la minute qui se mettent en route en réponse à une agression dont le but est d'alerter et de recruter des cellules de l'immunité naturelle. Cette phase est caractérisée par des modifications de la microcirculation locale. Elle est initiée par une vasoconstriction artériolaire locale de courte durée entraînant suite à une lésion tissulaire touchant ou pas les veinules ou les artéioles), une activation des plaquettes, la synthèse de thromboxane A<sub>2</sub>, intervenant dans l'agrégation plaquettaire. Ainsi que la libération de certains médiateurs tels que la sérotonine, l'histamine et des dérivés de l'acide arachidonique. Cette phase participe donc à l'hémostase primaire et permet de limiter l'intégration de l'agent pathogène dans l'organisme (Steinhubl, 2007).

Après la vasoconstriction s'ensuit trois modifications caractéristiques de la phase vasculaire qui sont : la congestion active, l'œdème inflammatoire et les diapédèses leucocytaires.

#### **II.1.1. Congestion active**

La congestion active est due à une vasodilatation déclenchée par les médiateurs libérés à l'étape précédente (vasoconstriction). Elle est artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte, caractérisée par une augmentation du débit sanguin mais un ralentissement circulatoire et se traduit par une accumulation de sang au site inflammatoire formant ainsi une congestion (Tizard et al., 2012) (Figure 2). On observe alors une augmentation du torrent circulatoire responsable des deux premiers signes cardinaux de l'inflammation : la rougeur et la chaleur.

#### **II.1.2. Œdème inflammatoire**

Suite à la vasodilatation, une phase d'augmentation de la perméabilité vasculaire débute. Elle se fait sous l'influence de médiateurs tels que l'histamine, la bradykinine, les leucotriènes les prostaglandines et les facteurs d'activation plaquettaires (PAF). En effet, l'hyperhémie et la stase sanguine entraînent une augmentation de la pression sanguine locale, provoquant une fuite de plasma vers les espaces interstitiels. La contraction des cellules endothéliales provoque une augmentation des espaces entre celles-ci et favorise ainsi le passage de fluide, de protéines plasmatiques et de leucocytes (Figure 3). L'augmentation de la perméabilité vasculaire favorise ainsi la formation d'un œdème, troisième signe cardinal de l'inflammation.

Il s'agit d'un exsudat inflammatoire qui s'accumule dans le tissu conjonctif interstitiel, dans le but de diluer le foyer inflammatoire, de limiter ce foyer par une barrière fibrineuse, de concentrer sur place les moyens de défense humoraux (immunoglobulines, complément), d'apporter des médiateurs chimiques. La distension tissulaire et certains médiateurs chimiques (bradykinine et prostaglandines) participent à l'apparition du quatrième signe cardinal de l'inflammation : la douleur (**Kumar et al.,2014**).

### **II.1.3. Migration transendothéliale (TEM) ou diapédèse leucocytaire**

C'est le passage des leucocytes à travers la paroi des vaisseaux et leurs migrations dans le site inflammatoire. Elle débute tôt après le début de l'inflammation mais elle est variable selon les cellules concernées. Les polynucléaires neutrophiles (PNN) sont prédominants 4 à 6 h après le début de la réaction inflammatoire. Ils atteignent un pic 18 h après alors que les monocytes et les macrophages atteignent un pic vers 24 à 48 h après. Les infiltrats lymphocytaires interviennent plus tardivement selon l'évolution de la réponse inflammatoire. Cette migration transendothéliale s'effectue en quatre étapes successives : la capture, le roulement, l'adhésion cellulaire et la diapédèse (**Muller, 2013**) (**Figure 4**).

## **II.2. Phase cellulaire**

La réaction cellulaire se caractérise par la formation du tissu de granulation inflammatoire ou infiltrat inflammatoire. Le foyer inflammatoire s'enrichit rapidement en cellules provenant du sang ou du tissu conjonctif local.

- Du sang : polynucléaires, monocytes et lymphocytes. Après la diapédèse, ces leucocytes migrent vers le foyer lésionnel par chimiotactisme.
- Du tissu conjonctif local : fibroblastes, cellules endothéliales, mastocytes et macrophages résidents.

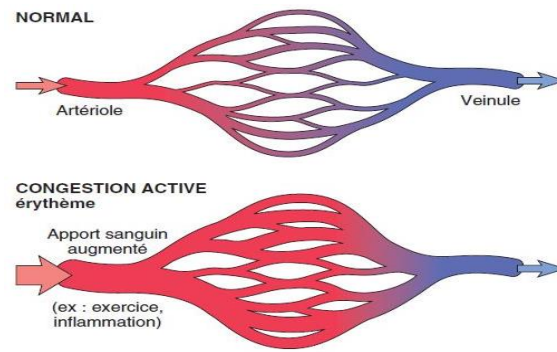


Figure 2 : Congestion active lors d'une inflammation.

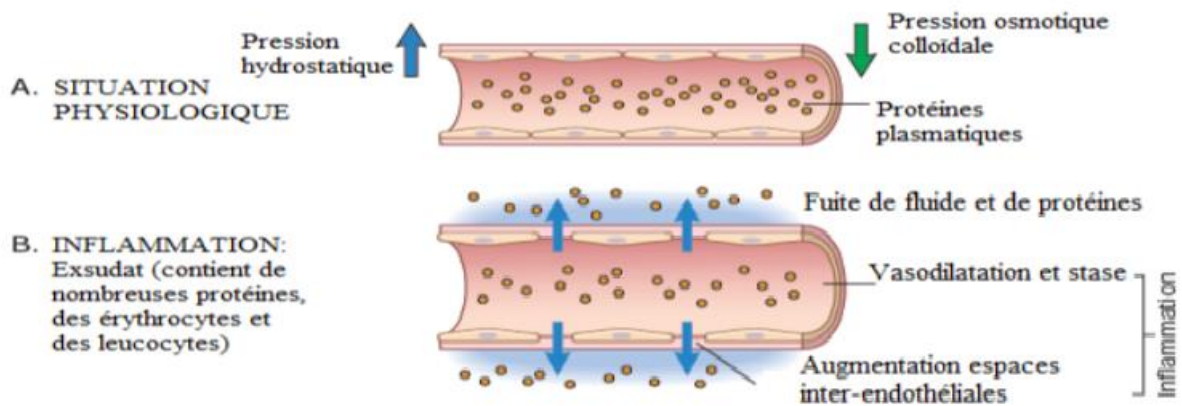


Figure 3 : Formation d'un exsudat inflammatoire (Kumar et al., 2014).

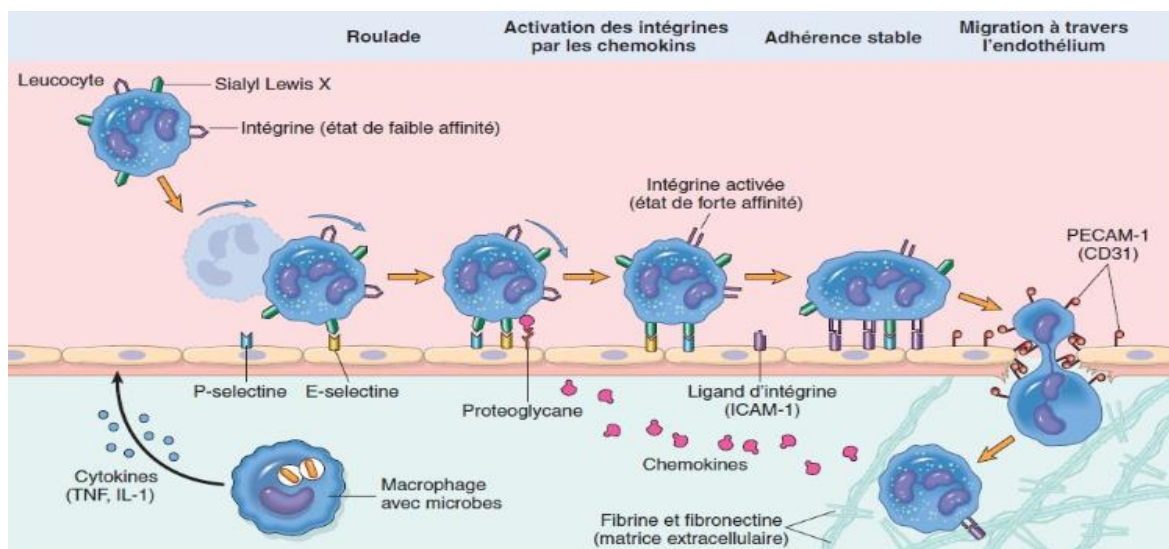


Figure 4: Les étapes de la migration transendothéliale (Kumar et al., 2014).

La composition du tissu de granulation varie en fonction du temps. L'inflammation aiguë est caractérisée par la présence de polynucléaires neutrophiles (pour la phagocytose), mais l'évolution de l'infiltrat inflammatoire fait apparaître plus de cellules inflammatoires mononuclées dont : les monocytes qui deviendront des macrophages activés capables de phagocytose, de sécrétion de nombreux médiateurs et de coopération avec les lymphocytes pour le développement de la réaction immunitaire (présentation de molécules antigéniques aux lymphocytes) ; les lymphocytes B vont se différencier en plasmocytes sécrétant des immunoglobulines (anticorps); les lymphocytes T vont être activés pour la sécrétion de nombreux médiateurs (cytokines, TNF- $\alpha$ ...). Puis progressivement, sous l'influence de facteurs de croissance, le tissu de granulation s'enrichit en fibroblastes qui vont se modifier en myofibroblastes dont le rôle est l'acquisition de propriétés contractiles et la synthèse des constituants de la matrice extra-cellulaire.

La phase cellulaire est donc caractérisée par deux grands phénomènes :

- Le **chimiotactisme** : migration des leucocytes issues de la circulation sanguine vers le site de l'inflammation, grâce à des agents attractifs (**Schmidt et al., 2013**).
- La **détersion** : peut être comparée à un nettoyage du foyer lésionnel. Il s'agit de l'élimination des tissus nécrosés et de certains agents agresseurs (micro-organismes infectieux, corps étrangers) par phagocytose, tandis que le liquide d'œdème est drainé dans la circulation lymphatique et résorbé par les macrophages par pinocytose.

Un autre processus favorise la destruction des bactéries : la formation de radicaux libres par une enzyme de la membrane du phagosome. En effet, cette étape fait appel à des phénomènes oxydatifs qui favorisent la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) à l'intérieur du phagolysosome. C'est l'intervention de la NADPH oxydase qui permet la formation d'un ion super oxyde ( $O_2^-$ ). Ce dernier est dismuté en peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . La myéloperoxydase transforme alors le  $H_2O_2$  en acide hypochloreux (HOCl) qui présente un effet toxique envers les microorganismes ainsi que sur les cellules de l'hôte.

Le monoxyde d'azote ou l'oxyde nitrique (NO) est produit suite à l'activation des neutrophiles, des macrophages, des cellules endothéliales et des neurones. L'oxyde nitrique synthétase (NOS) synthétise le NO à partir de L-arginine, après l'activation par le  $Ca^{2+}$  ou par les cytokines TNF- $\alpha$  et IFN $\gamma$ . Le (NO) réagit avec ( $O_2^-$ ) et le produit de la réaction est le peroxy-nitrite (ONOO $^-$ ). Le peroxy-nitrite est un puissant agent oxydant, il attaque les lipides, les protéines et les acides nucléiques des microbes. Or, la production du NO doit être régulée



car un excès du NO conduit à une vasodilatation massive, cause principale de l'hypotension artérielle rencontrée dans le choc septique.

Les déchets ainsi formés par la digestion des particules sont excrétés par exocytose.

### II.3. Phase de résolution

Le rétablissement de l'homéostasie tissulaire après une agression nécessite d'abord l'arrêt de la réponse inflammatoire, c'est-à-dire une détersion complète (Eming et al., 2007). Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps à la réparation de l'endothélium par prolifération des cellules endothéliales saines situées autour du foyer inflammatoire (Weill et al., 2003). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction tissulaire, il faut donc une réparation tissulaire qui fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes (Eming et al., 2007). Elle se fait soit par :

- **Une cicatrisation** si le tissu lésé ne peut se régénérer (ex : neurones ou cellules musculaires myocardiques) ou lorsque la destruction tissulaire a été très importante et/ou prolongée. Le tissu définitivement détruit est alors remplacé par un tissu conjonctif fibreux (prédominance de collagène) (Gilroy et al., 2015).

- **Une restitution intégrale** du tissu lors d'une agression limitée, brèves, peu destructrices dans un tissu capable de régénération cellulaire. Les macrophages vont intervenir pour réparer le nouveau tissu et participer à l'angiogenèse (formation de nouveaux vaisseaux pour l'apport de nutriments et d'oxygène), mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui produisent les protéines de la matrice intercellulaires comme le collagène, la fibronectine et la laminine, pour permettre la reconstruction des tissus.

### III. Inflammation chronique

Dans le cas où l'inflammation aiguë n'est pas résolue ni par la restitution intégrale ni par la cicatrisation (persistance de l'agent initiateur, réponse inflammatoire inadaptée, facteurs génétiques et/ou environnementaux), une évolution du phénomène inflammatoire vers une chronicité pathologique peut se produire. De telles situations se caractérisent principalement par une dérégulation du système immunitaire de l'individu : celui-ci échappe à son contexte protecteur et réparateur pour occasionner d'importants dommages tissulaires caractéristiques de la gravité de ces maladies. De façon schématique, l'inflammation chronique se différencie de l'inflammation aiguë essentiellement par :

- La coexistence des étapes vasculaires et d'amplification décrites ci-dessus ;



- Une persistance de l'inflammation dans le temps ;
- Des destructions tissulaires importantes.

### III.1. Caractères morphologiques communs aux inflammations chroniques

- Peu ou pas de phénomènes exsudatifs, sauf en cas de poussée inflammatoire aiguë émaillant une évolution chronique (ex : la synovite de la polyarthrite rhumatoïde).
- L'infiltrat inflammatoire contient peu ou pas de polynucléaires neutrophiles et est constitué principalement de cellules mononuclées : lymphocytes, plasmocytes, monocytes-macrophages, fibroblastes, parfois avec des polynucléaires éosinophiles ou basophiles et des mastocytes. La proportion de ces différentes cellules est variable selon l'étiologie de l'inflammation : prédominance de lymphocytes et plasmocytes dans certaines maladies autoimmunes (ex: thyroïdite lymphocytaire) ou dans des pathologies virales (ex: hépatite chronique liée au virus C); prédominance de monocytes-macrophages dans certaines infections chroniques et dans les réactions à corps étrangers.

## IV. Facteurs de l'inflammation

### IV.1. Cellules de l'inflammation

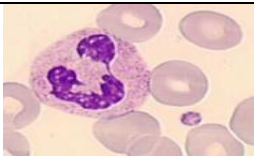
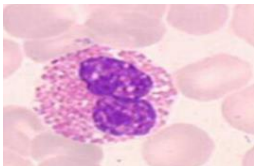
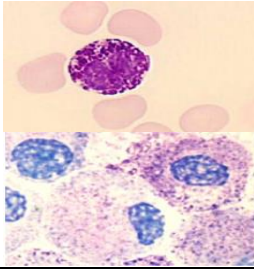
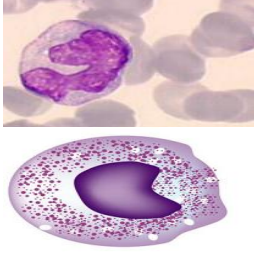
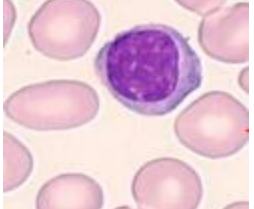
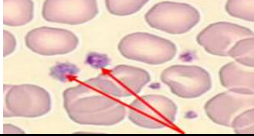
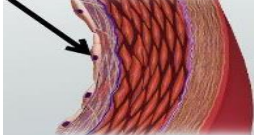
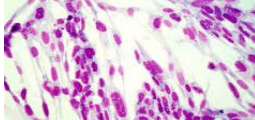
Les cellules de l'inflammation comprennent à la fois des cellules sanguines circulantes (les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles, les monocytes, les lymphocytes et les plaquettes) et des cellules résidentes tissulaires (les macrophages, les mastocytes, les cellules endothéliales et les fibroblastes) (**Tableau 2**).

### IV.2. Médiateurs de l'inflammation

On retrouve un grand nombre de médiateurs chimiques à tous les stades de l'inflammation. La plupart de ces médiateurs exercent leurs actions en se fixant aux récepteurs membranaires des cellules cibles. Ils provoquent des réactions en cascade par libération d'autres médiateurs, entraînant des mécanismes d'amplification ou de résistance à l'action médiatrice initiale (**Male et al., 2007**) (**Tableau 3**).

Le terme **cytokine** regroupe un ensemble de protéines ou de glycoprotéines impliquées dans la communication entre les cellules (**Murphy et al., 2012**) (**Tableau 4**). Les **chémokines** regroupent un ensemble de petites protéines qui jouent un rôle dans le chimiotactisme et l'activation des leucocytes. (**Lakhani et al., 2009 ; Kumar et al., 2014**). Nous ne citerons que quelques-unes dans le (**Tableau 4**).

**Tableau 2** : Les principales cellules inflammatoires.

Cellule	Morphologie	Caractéristiques et rôles	Références
Neutrophiles		- Premiers leucocytes à intervenir dans l'inflammation, ils forment un système de défense cellulaire majeur, non spécifique par leur mobilité, leur sensibilité au chimiotactisme, la synthèse des ROS et leur aptitude à la phagocytose.-Synthétisent des médiateurs inflammatoires (leucotriènes, prostaglandines), et cytokiniques (IL-1 $\beta$ et IL-6 ou le TNF- $\alpha$ ).	(Nathan, 2006); (Lakhani et al.,2009)
Eosinophiles		-Interviennent dans les sites d'allergie, de parasitisme ou d'inflammation fongique et le maintien de la fonction de la barrière épithéliale, affectant le remodelage tissulaire. -Stockage des cytokines, chimiokines et facteurs de croissance préformés pour une utilisation immédiate. - Libération de protéines granulaires toxiques, les ROS, médiateurs inflammatoires: PAF, les leucotriènes (LTB4), cytokines proinflammatoires (IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$ ) et les chimiokines (IL-8).	(Shamri et al., 2011); (Rosenberg et al., 2013)
Basophiles et Mastocytes		-Les basophiles (cellule leucocytaires) et les mastocytes (cellules du tissu conjonctif) ont des ressemblances fonctionnelles. - Interviennent lors de réactions allergiques ou lors de parasitisme. -Cellules présentatrices d'antigènes. -Sécrétion des médiateurs chimiques : histamine, tryptase, sérotonine, prostaglandines, interféron-IFN- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$ et leucotriènes.- Les basophiles sécrètent des cytokines régulatrices (IL-4 et IL-13). -Les mastocytes libèrent des cytokines pro-inflammatoires (IL-1- $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ).	(Caughey, 2011); (Schwartz et al., 2015)
Monocyte et Macrophages		-Les <b>monocytes</b> : cellules jeunes, circulantes du sang, possédant des activités migratoires, chimiotactiques, phagocytaires et sécrétoires (cytokine, TNF- $\beta$ ). A terme, ils migrent dans les tissus où ils se différencient en macrophages tissulaires multifonctionnels. - L'activation des <b>macrophages</b> par un micro-organisme ou produit de dégradation tissulaire entraîne la phagocytose, la sécrétion (PAF, TNF- $\alpha$ , interleukines...). L'activation des macrophages par les lymphocytes T ou par des anticorps produits par les lymphocytes B.	Galask et Larsen, 2012);(Rankin, 2004)
Lymphocytes		-Interviennent tardivement et participent à la réponse immunitaire spécifique. -Les <b>lymphocytes T</b> : principale source de cytokines. <b>CD8</b> (cytotoxiques ou suppresseurs, libèrent essentiellement l'IFN- $\gamma$ et TNF- $\alpha$ ) et des <b>lymphocytes CD4</b> (régulateurs, libèrent des cytokines, des interleukines). -Les <b>lymphocytes B</b> et leurs dérivés, les plasmocytes, produisent des anticorps, les opsonines, facilitant la phagocytose.	(Callahan et al., 2014) ; (DeFranco et al., 2009)
Plaquettes sanguines		-Participent aux phénomènes de coagulation et de réparation (fibronectine, facteurs de croissance). La dégranulation des plaquettes par agrégation de leurs récepteurs libère des médiateurs pro-inflammatoires (éicosanoïdes, thromboxane...).	(Herter et al., 2014) ; (Arman et al., 2015)
Cellules endothéliales		- Possèdent des molécules d'adhésion membranaires pour les leucocytes. - Participent aux phénomènes de réparation tissulaire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases.	(Mittal et al., 2014)
Fibroblastes		-Cellules du tissu conjonctif. -Intervient dans la résolution tissulaire en produisant les protéines de la matrice intercellulaires comme le collagène, la fibronectine et la laminine, pour permettre la reconstruction des tissus.	(Buckley et al., 2004) ; (Naguib et Cui, 2014)

**Tableau 3.** Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004 ; Male et al.,2007).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles, plaquettes	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses
Platelet activating factor (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimulent l'agrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Leucotriènes : -LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>  -LTB <sub>4</sub>	Leucocytes essentiellement  Leucocytes essentiellement	Augmente la perméabilité des micro- vaisseaux  Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS.
Prostaglandines	Leucocytes essentiellement	Provoquent la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	clivage protéolytique de kininogène	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Thrombine	prothrombine	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquettes.
Fibrine	finbrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin et limite le foyer inflammatoire et constitue une matrice sur laquelle les cellules inflammatoires peuvent se déplacer.
Protéines du complément C3a C5a	Fraction C3 du complément Fraction C5 du complément	Interviennent dans la dégranulation des mastocytes et neutrophiles, dans la chimiotaxie et adhésion leucocytaire, la production de leucotriènes.

**Tableau 4** : Origines cellulaires et effets des principales cytokines et chimiokines inflammatoire (Lakhani et al., 2009 ; Murphy et al., 2012 ; Kumar et al., 2014).

<b>Cytokine</b>	<b>Sources cellulaires majeures</b>	<b>Effets biologiques majeurs dans l'inflammation</b>
INF- $\gamma$	Lymphocytes Th1, B	Activation des macrophages, prolifération des lymphocytes B, inhibition de la prolifération des lymphocytes Th2.
TNF- $\alpha$	Monocytes, macrophages, PNN lymphocytes T, mastocytes, fibroblastes	Induit la prolifération des lymphocytes et des fibroblastes, l'adhérence des leucocytes PNN à l'endothélium, synthèse de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, INF- $\gamma$ et la protéine C-réactive (CRP).
IL-1 $\beta$	Monocytes, macrophages, PNN, cellules endothéliales, les lymphocytes B et T	Stimuler les monocytes, les macrophages et les lymphocytes T. Effets biologiques semblables à ceux du TNF- $\alpha$ .
IL-2	Lymphocytes Th1	Prolifération des lymphocytes T, libération de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ et INF- $\gamma$ par les leucocytes.
IL-4	Lymphocytes Th2	Inhibition de la libération des cytokines pro inflammatoires par les monocytes/macrophages. Stimulation de la prolifération des lymphocytes T.
IL-6	Macrophages, lymphocytes T, fibroblastes, neutrophiles, mastocytes, éosinophiles	Synthèse la CRP et la prolifération des lymphocytes T et inhibition la production du TNF- $\alpha$ .
IL-8	Chimiokine libéré par les macrophages, monocytes, lymphocytes T, fibroblastes, cellules endothéliales	Augmentation du chimiotactisme, l'expression de molécules d'adhésion, la dégranulation et l'augmentation du métabolisme oxydatif des PNN.
IL-10	Lymphocytes Th2, Monocytes, macrophages	Inhibition de la libération des cytokines par les lymphocytes Th1, activité anti-inflammatoire générale.
IL-13	Lymphocytes T CD8	Régulation de l'activité des monocytes et macrophages, inhibition de la libération des cytokines inflammatoires.

Les **dérivés de l'acide arachidonique** sont des médiateurs lipidiques de l'inflammation. Lorsqu'une membrane cellulaire est endommagée, la phospholipase A2 (PLA<sub>2</sub>) sera activée. Cette enzyme transforme les phospholipides membranaires en acide arachidonique, qui sera ensuite dégradé, aboutissant à la synthèse de molécules appartenant à la famille des eicosanoïdes, selon deux voies métaboliques principales :

-**La voie des cyclo-oxygénases(COX)** : par l'intermédiaire de deux isoformes de l'enzyme : la COX-1 (constitutive et exprimée dans la plupart des tissus) et la COX-2 (induite lors d'une inflammation) conduit à la formation des prostacycline (PGI<sub>2</sub>) et des prostaglandines (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> et PGF<sub>2</sub>α) et par l'intermédiaire de la thromboxane synthétase produit le thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>).

- **La voie des lipo-oxygénases(LOX)** : rassemble la 5-LOX et la 12-LOX permettant la synthèse de leucotriènes (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> et LTE<sub>4</sub>) et de lipoxines (LXA<sub>4</sub>, LXB<sub>4</sub>) respectivement.

Le métabolisme de l'acide arachidonique est complexe : les métabolites intermédiaires et terminaux ont des effets variables et parfois antagonistes au cours de l'inflammation (**Khanapure et al., 2007**) (**Figure 5**).

## V. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des traitements symptomatiques, c'est à dire qu'ils ne suppriment pas la cause de l'inflammation. Leur but est de réduire les effets indésirables de l'inflammation, sans modifier les effets bénéfiques de réparation.

### V.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens sont des dérivés synthétiques du cortisol naturel, principal glucocorticoïde (GC) qui est une hormone stéroïde produite par les glandes cortico-surrénales (**Ayroldi et al., 2012**).

Les glucocorticoïdes sont des agents anti-inflammatoires très couramment utilisés pour diminuer ou supprimer les effets délétères des réponses inflammatoires aiguës et chroniques, y compris la polyarthrite rhumatoïde, la maladie intestinale inflammatoire, la sclérose en plaques, le psoriasis et l'eczéma, ainsi que dans le traitement de certaines leucémies et dans les régimes immunosuppresseurs après une greffe d'organe (**Simons, 2008 ; Coutinho et Chapman, 2011**).

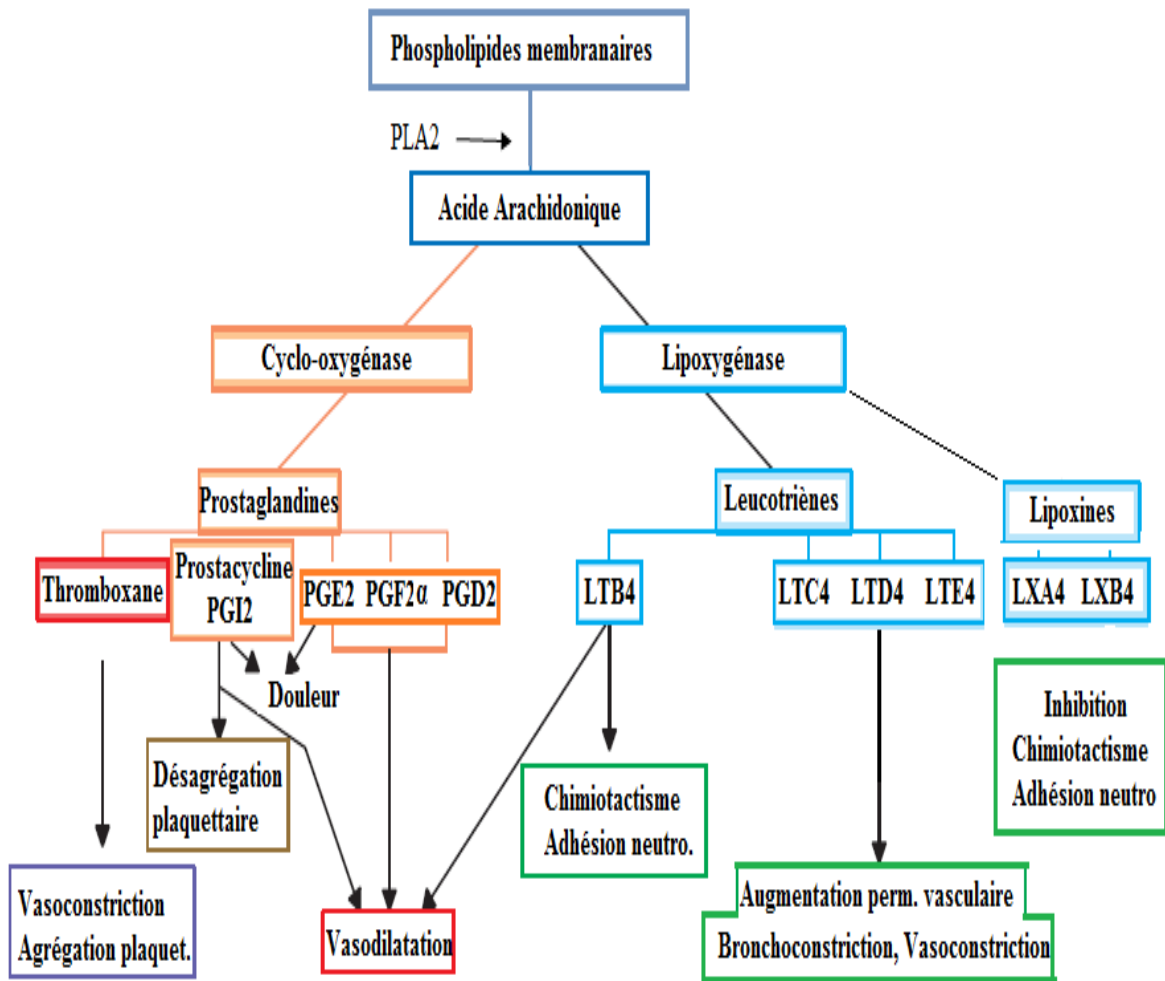


Figure 5 : Le métabolisme de l'acide arachidonique (Lakhani et al., 2009).

De manière aiguë, les glucocorticoïdes inhibent la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité vasculaire et diminuent l'émigration des leucocytes vers les sites enflammés **(Perretti et Ahluwalia, 2000)**.

Le mode d'action des GCs est essentiellement génomique, ils agissent à différents niveaux par régulation (activation ou inhibition) de la transcription de nombreux gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ...), les chimiokines, les molécules d'adhésion cellulaire et les enzymes clés impliquées dans l'initiation et / ou le maintien de la réponse inflammatoire **(Janeway et al., 2009 ; Coutinho et Chapman, 2011)**. Les glucocorticoïdes inhibent également la production de la PLA2 et donc la production d'éicosanoïdes. Cependant ils possèdent de nombreux effets indésirables tels qu'une agressivité vis-à-vis de l'estomac et complications digestives, l'altération de la peau, la fragilité osseuse, l'apparition d'un état diabétique ou d'hypertension artérielle. Les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes agissant sélectivement et qui seraient capables de ne réprimer que le système immunitaire **(Henzen, 2003)**.

## **V.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques. Ils sont principalement utilisés dans les phases aiguës de l'inflammation (douleurs dentaires, postopératoires, post-traumatiques, migraines, pathologie ORL, etc), en rhumatologie (arthrite, poussée inflammatoire d'une arthrose, tendinite) et gynécologie (règles douloureuses). Le mécanisme d'action des AINS repose en grande partie sur l'inhibition compétitive de la cyclooxygénase qui conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation. Cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines **(Carbone et al., 2013 ; Ambriz-Pérez et al., 2016)**. En effet, la production de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale). L'inhibition de ces actions est responsable de la majorité des effets indésirables des AINS, tels que l'irritation de l'estomac, les ulcères gastro-intestinaux et toxicité rénale. **(Sandilands et Bateman, 2016)**.



L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS semblait donc, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères (**Blain et al., 2000**).

### **V.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale**

Les plantes ont été la première source de remèdes dans l'histoire de l'humanité. Depuis leur caractérisation chimique au 19<sup>ème</sup> siècle, les composés bioactifs extraits de plantes ont alimenté le développement des médicaments. De même, de nos jours, de nouveaux agents dérivés de plantes enrichissent continuellement notre arsenal de médicaments. Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand dont les propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. Quelques exemples de plantes dotées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le **(Tableau 5)**.

L'huile d'argan figure également parmi les remèdes naturels utilisés dans la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés antiinflammatoires. Ce qui a incité plusieurs chercheurs à confirmer ces bienfaits scientifiquement.



**Tableau 5.** Exemples de quelques plantes médicinales dotées d'activités anti-inflammatoires (Barnes, 1998 ; Heymonet et al., 2013).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
<i>Helleborus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Oedemes, douleurs rhumatismales
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuilles, Racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs rhumatismales
<i>Laurocerasus officinalis R.</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
<i>Nerium oleander L.</i>	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	Douleurs, maux de tête
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	Arthrose, lombalgie, neuvralgie, maux de tête, fièvre
<i>Rhododendron ponticum L.</i>	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	Oedèmes, états grippaux, mal de dents
<i>Juglans regia L.</i>	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria
<i>Oenothera biennis</i>	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales,

## Chapitre 3 : L'arganier et l'huile d'argan

### I. Arganier

#### I.1. Historique

L'arganier est une espèce millénaire qui daterait de la 1ère tertiaire, à l'époque où vraisemblablement existait une connexion entre la côte marocaine et les îles Canaries, une époque où cette partie du monde était beaucoup plus humide. Puis au quaternaire, l'arganier aurait été refoulé au Sud-Ouest par l'invasion glaciaire, d'où des colonies vers Rabat et au Nord près de la côte méditerranéenne et près d'Oujda (**Radi, 2003**). Il appartient à la famille tropicale des Sapotacées, dont elle est la seule représentante septentrionale à se développer dans une région méditerranéenne (Algérie et Maroc), au lieu d'une zone intertropicale, d'où son endémisme marqué à cette région (**Tabet et al., 2013**).

#### I.2. Répartition géographique

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. L'arganier forme dans la hamada de Tindouf des populations dispersées, le long des berges des oueds où il trouve les compensations hydriques nécessaires (**Kechebar et al., 2013**). La distribution des populations d'arganier a été déterminée sur la carte en trois unités hydro géographiques représentés principalement par les périmètres suivants : Touaref Bou-âam, Merkala et Targant (**Kchairi, 2009**) (**Figure 6**).

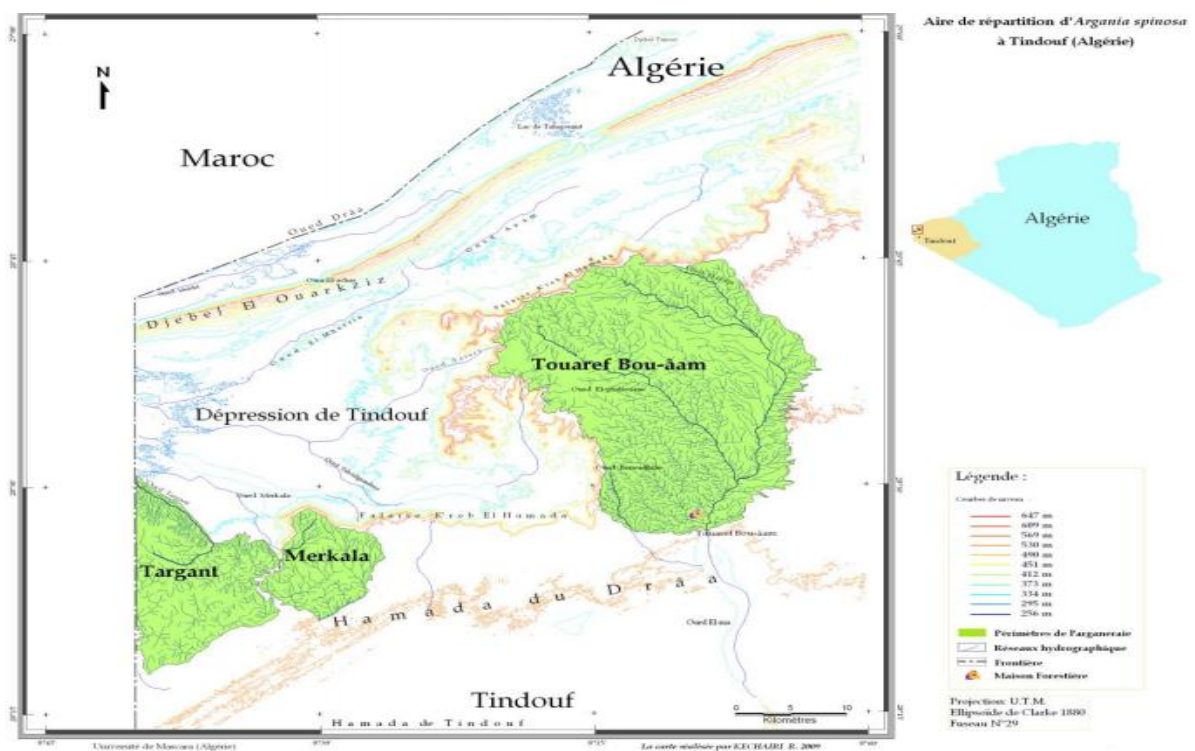
De plus, certains arbres ont été introduits avec succès dans le nord-ouest du pays, notamment dans la wilaya de Mostaganem (**Lakhdari et Khechiri, 2011**) et dans la wilaya de Mascara (**Milagh, 2007**).

Au Maroc, il est localisé principalement dans les zones arides et semi-arides du Sud-Ouest Marocain, où il s'étend sur une superficie de 828 000 ha (**Guillaume et Charrouf, 2011**), principalement sur le long du littoral océanique. Il se développe aussi dans la plaine de Souss, sur le versant sud du Haut-Atlas occidental et sur les versants septentrionaux et méridionaux de l'Anti-Atlas occidental jusqu'à des altitudes de 1300-1500 m (**Msanda, 2005**).

Malheureusement, des signaux d'alarme se multiplient à propos de cet arbre. Sous l'effet conjugué du pâturage, de l'utilisation du bois et le changement climatique, l'arganeraie régresse, en termes de superficie et surtout de densité. Les efforts doivent être multipliés pour reconstituer artificiellement et sauvegarder ce patrimoine national et mondial à la fois.



**Figure 6 :** Arganier de la région de Tindouf (Algérie) (Kechabar, 2016).



**Figure 7 :** Aire de répartition de l'arganier à Tindouf (Algérie) (Kchairi, 2009).

Vu l'importance écologique, économique et sociale que présente l'arganier, certains pays se sont mis à des essais d'introduction de cet arbre dans l'espoir de développer sa culture et l'exploiter en tant qu'espèce à grande valeur ajoutée. Parmi ces pays on peut citer : La Hollande (1697), l'Angleterre (1711), la France (1852), les Etats Unis (1927), et récemment la Tunisie, la Libye et Israël où il semble avoir donné de bons résultats d'adaptation (**Elabed, 2007**).

### **I.3. Classification et description botanique**

*Agrainia spinosa* ; arganier en français, the Argan tree en anglais, die Aganie en allemand, et *Ærguène* (أرفان) en berbère ; désigne le noyau en bois dur du fruit de l'arbre, Selon la troisième version de la classification phylogénétique (**APG III, 2009**), il appartient au :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophytes.

S/Embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones vraies.

S/Classe : Astéridées.

Ordre : Ericales.

Famille : Sapotacées.

Genre : *Argania*.

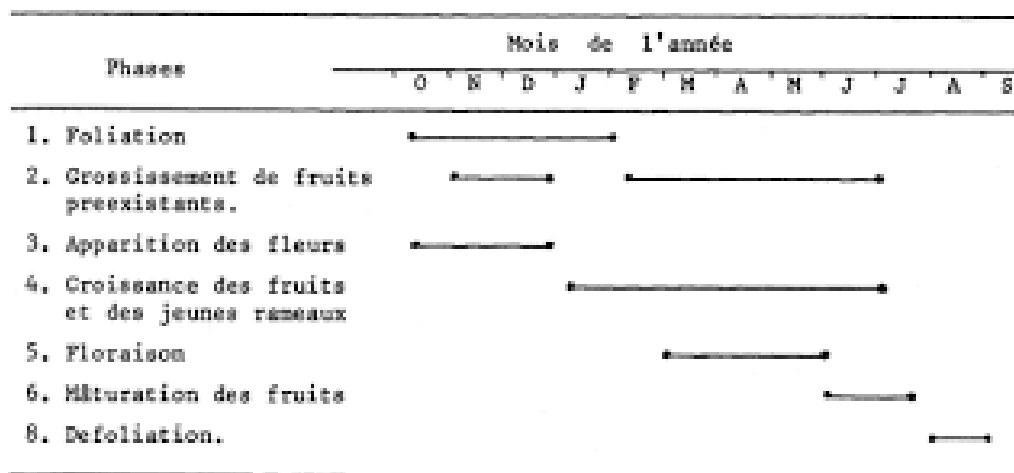
Espèces : *Argania spinosa* L. *Skeels*.

L'arganier est une espèce xéro-thermophile qui peut vivre jusqu'à 250 ans, particulièrement résistante aux conditions sèches et arides. L'arganier peut en effet supporter des températures allant jusqu'à 50 °C et se contenter d'une pluviométrie très faible. Il résiste donc à la sécheresse en adoptant une stratégie d'économie d'eau bien adaptée : longues racines pivotantes (jusqu'à 30 m, représentant 5 fois la partie aérienne), réserve d'eau dans le bois et perte des feuilles transitoirement pour réduire l'évaporation. De plus, l'arbre est doté d'un réseau très dense de racines superficielles ayant de bonnes capacités de renouvellement (**Mokhtari, 2002**).

A l'état adulte, la taille de l'arganier peut atteindre 8 à 10 m de hauteur, son tronc est court et noueux (de 2 à 3 m de hauteur et d'un diamètre de 30cm à 40cm), avec un bois très dur et compact et une écorce rugueuse craquelée en « peau de serpent ». Il possède des rameaux aux extrémités épineuses, d'où son nom « spinosa » et des feuilles hermaphrodites pentamères,

coriaces, alternes ou fasciculées, ovales à lancéolées, atténuées à la base en un court pétiole (Gasmi., 2001).

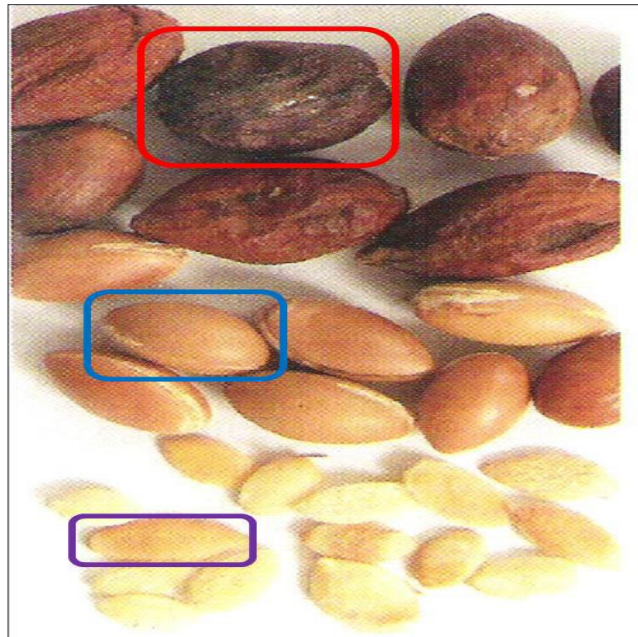
La phénologie de l'arganier est résumée ci-dessous (D'après M'Hirit, 1989) :



L'arganier peut se régénérer par germination par des graines naturelles qui tombent sur le sol nécessitant des conditions écologiques appropriées, mais il semble souffrir d'une absence quasi-totale de régénération naturelle sauf dans de très rares endroits localisés en bordure de cours d'eau, semblant profiter d'un maximum d'humidité (Benkheira, 2009), ou par régénération par boutures mais cette technique montre des difficultés d'enracinement des boutures (Hamiani et Belaroug, 2003). Cependant, une protection doit être assurée par une mise en défens de 6 à 8 ans contre le pâturage (Benkheira, 2009).

Il faut généralement attendre vingt ans avant qu'un arbre produise des fruits. Aujourd'hui, de nouvelles techniques permettent de forcer un peu la nature et l'arganier produit des fruits vers l'âge de cinq ans. Mais celui-ci n'atteindra quand même un rendement optimal qu'à l'âge de vingt ans.

Un arganier produit, chaque année, de 10 à 30 kg de fruits environ (Nouaim, 2005). Les fruits (les affiaches) sont des baies de 30 mm de long environ, d'une couleur jaune parfois veiné de rouge devenant bruns à maturité avec une grosseur d'une noix. La forme du fruit est variable, peut être ovale, arrondie ou en fuseau. Le fruit se compose de 43% de péricarpe, 52.6% de coque et 4.4% d'amandes (le noyau contient une à trois amendons albuminées et huileuses renfermant 50% d'huile) (Charrouf et al., 2007) (figure8).



**Figure 8 :** Photo du fruit de la graine et de l'amande de l'Arganier (Charrouf et al., 2007)  
Le cadre rouge : fruit de l'Arganier ; le cadre bleu : graine de l'Arganier et le cadre violet :  
amande de l'Arganier.



#### **I.4. Importance de l'arganier**

L'arganier est un arbre multifonctionnel, il a un rôle écologique, économique et social. En effet, chaque partie de l'arbre est utilisable.

Grâce à son système racinaire puissant et profond, l'arganier contribue au maintien des sols et permet de les protéger contre l'érosion hydrique et éolienne et de lutter contre l'avancée du désert ce qui lui confère un rôle irremplaçable dans l'équilibre écologique (**Naggari et al., 2006**). Le bois de l'arganier est massivement utilisé en tant que combustible. Il est également utilisé en menuiserie et en matériaux de construction.

La pulpe des fruits et les feuilles de l'arbre constituent un fourrage pour les animaux. Le tourteau (résidu issu de la presse de la pâte d'amandons), riche en glucides et protéines est utilisé pour l'engraissement du bétail (**Charrouf, 1995**).

La richesse principale de l'arganier est la fameuse huile d'argan extraite à partir de ses amandons. Au-delà de sa valeur nutritionnelle et diététique exceptionnelles et son utilisation dans le domaine de la pharmacopée et la cosmétologie, cette huile est indispensable pour la survie de certaines populations qui vivent dans des zones pauvres et difficiles. Celles-ci la consomment quasi quotidiennement pour satisfaire leur demande métabolique en besoin lipidiques (**Adlouni, 2010**). Au Maroc, l'arganier a permis la création de plusieurs emplois via la création de coopératives féminines qui pratiquent un travail fastidieux et manuel pour extraire l'huile d'argan, ce qui permet une stabilité de la population et limite l'exode rural.

## **II. Huile d'argan**

Aujourd'hui, la renommée de l'huile d'argan dépasse largement les frontières du Maroc et de l'Algérie. L'engouement croissant que l'huile d'argan suscite auprès des populations occidentales (Europe, USA) et le Japon en témoigne aisément. Elle est devenue 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 USA et en Europe (**Aboudrare et al., 2009**).

### **II.1 Types d'huile d'argan**

Il existe deux types d'huile d'argan : une huile alimentaire, extraite à partir des amandons torréfiés et une huile cosmétique, extraite à partir des amandons non torréfiés (**Gharby et al., 2012**).

Le temps et la température de la torréfaction jouent un rôle très important dans le développement de la couleur, la flaveur, la texture et l'apparence des amandons. Lors de la torréfaction des amandons, se produit un développement d'arôme de noisette, et un brunissement des graines, ce qui va caractériser le goût et la couleur de l'huile (**Ames, 2001**). Ceci est dû à des réactions non enzymatiques, la plus commune est la réaction de Maillard qui est initialisée par la combinaison entre un sucre réducteur et un acide aminé. Elle conduit essentiellement à la formation des hétérocycles et de composés volatils (pyrazines) ainsi que des pigments bruns (mélanoidines) (**Frauentorfer et Schierberle, 2008 ; Estevez et al., 2011**). Certains produits de réaction de Maillard présentent des capacités antioxydantes qui sont en partie responsables de la plus grande stabilité de l'huile d'argan alimentaire, par rapport à l'huile cosmétique (**Lee YC et al., 2004 ; Matthäus et al., 2010**). Il semble que les mélanoidines sont associées à des propriétés antioxydantes (**Ames, 1988**). Une étude a montré une augmentation de la teneur en polyphénol dans l'huile d'argan alimentaire torréfiée par rapport à l'huile non torréfiée (**Harhar et al., 2013**).

Un autre rôle de la torréfaction est de détruire les microorganismes indésirables. Elle joue également un rôle primordial dans l'extraction des huiles. Elle permet de réduire l'humidité, de favoriser la rupture des lipocytes, et d'accroître la fluidité de l'huile (**Karleskind, 1992**).

Toutefois, la torréfaction des amandons d'argan, entre 110-150°C, ne doit pas se prolonger plus de 25 minutes, sinon l'huile présentera un goût désagréable rejeté par les consommateurs (**Harharet al., 2011**). Un temps de cuisson plus long est responsable de la formation des produits d'oxydation tel que les acides gras qui s'oxydent et génèrent des composés carbonylés de type aldéhydique et la réaction de Maillard peut réduire la valeur nutritionnelle des aliments en dégradant des acides aminés essentiels (**Machiels et Istasse, 2002**).

## **II.2. Procédés d'extraction de l'huile d'argan**

A la maturation des fruits, des toiles sont disposées sous les arbres et les fruits tombent ou plutôt les cultivateurs battent les arbres avec des gaules pour faire tomber les fruits qui sont étendus ensuite au soleil en couches minées afin de faire sécher la pulpe. L'extraction de l'huile d'argan a demeuré pendant longtemps artisanale. Cependant, des coopératives et des chercheurs ont apporté des améliorations et une automatisation de quelques étapes de l'extraction.



### **II.2.1 Extraction artisanale de l'huile d'argan**

Ce procédé ancestral, transmis depuis des siècles, est le plus commun pour l'extraction de l'huile et est généralement utilisé principalement par les femmes de la population locale du milieu rural. Ces différentes étapes (dépulpage, concassage, torréfaction pour l'huile alimentaire, trituration, malaxage, pressage et conditionnement) sont purement artisanales, de ce fait, ce procédé d'extraction est fastidieux. Il requiert huit à dix heures de travail, 38 kg de fruits ou bien 2,6 kg d'amandons pour produire 1 litre d'huile (Nill et Böhnert, 2006 ; Gharbyet al., 2011), avec un rendement d'environ 30 % par rapport aux amandons et qui dépasse rarement 3 % du poids de fruit et des pertes de 20 à 25 % d'huile dans les tourteaux (Charrouf, 2002). Ceci explique aisément pourquoi l'huile d'argan est actuellement l'une des huiles les plus rares et les plus chères du monde.

### **II.2.2 Extraction semi-artisanale / par presse (coopératives)**

Les fruits utilisés par les coopératives sont achetés aux habitants de l'arganeraie. L'étape particulièrement pénible de dépulpage des fruits séchés a été mécanisée par une "dépulpeuse gratteuse" (pour 1 Kg de fruits bruts, il faut en moyenne 4 minutes). Si aucune amélioration n'a pu être apportée à l'étape de concassage, l'étape de torréfaction a été standardisée par l'emploi de torréfacteurs à gaz performant dans lequel la durée et la température de torréfaction sont rigoureusement contrôlées. Finalement, l'étape de malaxage/pressage a été améliorée par recours à la presse mécanique. Cette dernière permet de produire 6 à 8 litres d'huile par heure. L'huile obtenue est fortement chargée en matière solide (restant du tourteau), elle nécessite donc une décantation de 4 à 10 jours avant la filtration sur un filtre presse.

### **II.2.3 Extraction industrielle**

L'huile d'argan extraite par ce procédé est principalement à usage pharmaceutique ou cosmétologique, car ses qualités organoleptiques ne sont pas appréciées par les consommateurs.

Les amandes sont soigneusement séparées des débris du péricarpe, puis réduites en poudre dans un broyeur à meule ou à cylindre. La poudre est ensuite soumise à une extraction avec un solvant organique de type hydrocarbure éventuellement halogéné (exp : hexane), en présence d'un antioxydant lipophile (exp : palmitate d'ascorbyle), représentant 0,02-0,1 % de poids des amandons, afin d'éviter l'oxydation des acides gras dès le premier stade de l'extraction. Le solvant est ensuite évaporé (Adlouni, 2010). Ce procédé permet d'obtenir une

huile stable et sans odeur forte, avec un rendement de 50 à 55 %. Certains conservateurs sont souvent ajoutés pour compenser les agents protecteurs naturels perdus lors de l'extraction (tocophérols, polyphénols, etc.) (**El Monfalouti et al., 2010**).

### **II.3. Caractéristiques physicochimiques**

La qualité et la classification des huiles végétales reposent sur le résultat des indices physicochimiques. Les huiles d'argan sont classées selon leurs indices physico-chimiques par la norme marocaine (**SNIMA, 2003**). Les huiles d'argan vierges sont consommables en état ; les autres, dites lampantes, sont impropres à la consommation (**Tableau 5**).

### **II.4. Composition chimique de l'huile d'argan**

Les caractéristiques de l'huile d'argan en termes de qualité et de composition dépendent de nombreux paramètres: facteurs génétiques et environnementaux (climat et altitude) mais également du processus d'extraction de l'huile, du type du sol, de la température, de la pluie, de la sécheresse et de la maturité du fruit (**Hilali et al., 2005**).

Comme toutes les huiles végétales, l'huile d'argan comprend deux fractions : une fraction saponifiable (ou glycéridique) et une fraction insaponifiable (composés mineurs) (**Khallouki et al., 2005 ; Rahmani, 2005**).

#### **II.4.1. Fraction saponifiable (glycéridique)**

L'huile d'argan referme 99 % de la fraction saponifiable dont les triglycérides sont largement majoritaires avec 95 %. Quelques rares acides gras libres peuvent être trouvés et témoignent de l'hydrolyse des triglycérides (**Harhar et al., 2010**).

- **Les triglycérides**

Les triglycérides appelés aussi "graisses neutres", sont les constituants les plus abondants d'une huile végétale. Ce sont des triesters du glycérol avec trois molécules d'acides gras. Selon **Hilali et al. (2005)**, les principaux triglycérides trouvés dans l'huile d'argan sont décrits dans le (**Tableau 6**).

**Tableau 5** : Classification qualitative des huiles d'argan selon les indices physicochimiques (SNIMA, 2003).

Critères physico-chimiques	Huile d'argane «vierge» extra	Huile d'argane «vierge» fine	Huile d'argane «vierge» courante	Huile d'argane lampante
Acidité oléique (exprimé en % d'acide oléique)	≤ 0,8	≤ 1,5	≤ 2,5	> 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 limité

**Tableau 6** : Pourcentage des triglycérides majeurs trouvés dans l'huile d'argan (Hilali et al., 2005).

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

TG : Triglycérides ; O, acide oléique ; L, acide linoléique ; P, acide palmétique ; S, acide stéarique

- **Les acides gras**

L'huile d'argan est composée principalement d'acides gras insaturés (AGI), les acides gras mono- et polyinsaturés représentent environ 80% des acides gras totaux, notamment l'acide oléique et l'acide linoléique, lui conférant une très bonne qualité nutritionnelle et diététique.

La teneur en acides gras saturés (AGS) est relativement faible (16 - 20 %) par rapport aux AGI. Ils sont représentés essentiellement par l'acide palmitique et l'acide stéarique. Les autres acides gras sont à l'état de traces (**Hilali et al., 2005 ; Harhar et al., 2010**).

#### **II.4.2. Fraction insaponifiable**

La fraction insaponifiable représente en moyenne 1 % des constituants totaux de l'huile d'argan. C'est une teneur qui reste suffisante pour attribuer à l'huile des vertus thérapeutiques importantes (**Charrouf, 2002**). Elle contient des composés nobles tel que les stérols (20%), les tocophérols (7.5%), les polyphénols (0,7%), les alcools triterpéniques (20%), les carotènes (37.5%), les xanthophylles (6.5%) ainsi que 313mg/100g de squalène (**Khallouki et al., 2003 ; Charrouf et Guillaume, 2007**).

- **Les stérols**

Les phytostérols ou stérols naturels sont des lipides végétaux, des analogues botaniques du cholestérol animal. Ce sont des composés triterpéniques tétracycliques avec généralement 27,28 à 29 atomes de carbone, avec un groupement hydroxyle en C-3 qui est caractéristique pour le stérol. Ils diffèrent du cholestérol par la présence d'un groupement méthyle ou éthyle dans leur chaîne latérale en C-17.

L'huile d'argan « vierge » peut contenir jusqu'à 180 mg de stérols totaux (de type  $\delta$ -7 stérols) pour 100 g d'huile (**Snima, 2003**). Les stérols présents dans cette huile sont uniques au regard de leur combinaison. Contrairement à la plupart des autres huiles végétales, l'huile d'argan « vierge » ne contient pas de  $\delta$ -5 stérols. Les  $\delta$  7-stigmastérols (schotténol et le spinastérol), les stérols les plus abondants dans cette huile, sont extrêmement intéressants et très rares parmi les stérols végétaux (**Adlouni, 2010**).

- **Les tocophérols**

Les tocophérols sont des substances aromatiques regroupés sous le terme de vitamine E. Ce sont des dérivés méthyliques du tocol (structure de base des tocophérols). Cette structure est constituée d'un noyau hydroxychromane sur lequel est fixée une chaîne latérale saturée à

seize atomes de carbone. La position des groupements méthyles sur le noyau chromane permettent la différenciation de 4 isomères ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ ).

L'huile d'argan est remarquablement riche en tocophérols contient une teneur considérable, 600 à 900 mg/kg (**Charrouf et Guillaume, 2010**), comparativement à l'huile d'olive qui renferme seulement 300 mg / kg (**Adlouni, 2010**).

Les quatre principaux tocophérols isolés de l'huile d'argan sont :  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol et  $\delta$ -tocopherol.

- **Les polyphénols**

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des molécules organiques caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatique benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (groupements phénols). La désignation « polyphénols » est habituellement utilisée pour l'ensemble de ces composés et pas que les molécules portant plusieurs fonctions hydroxyles phénoliques.

De manière générale, les phénols sont présents en faible concentration dans l'huile d'argan alimentaire. D'après la bibliographie leur teneur varie entre 4 à 60 mg / kg (**Khallouki et al., 2003; Belarbi-Benmahdi et al., 2009**). Malgré cette faible teneur, les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et pour leur intérêt nutritionnel (**Visioli et Galli, 2002 ; Crespo et al., 2018**).

- **Le squalène**

Les hydrocarbures sont généralement retrouvés en faible quantité dans les lipides d'origine naturelle, ils sont aliphatiques saturés ou insaturés de 15 à 33 atomes de carbone. Le principal hydrocarbure d'origine terpénique est le squalène qui est le précurseur des triterpènes. Peu de travaux sont effectués sur l'identification et la quantification du squalène dans l'huile d'argan. D'après **Khallouki et al. (2003)**, il existe de 303 à 321 mg de squalène par 100 g d'huile.

- **Les alcools triterpéniques**

Les alcools triterpéniques ou triterpénols sont des molécules synthétisées par cyclisation de l'époxysqualène. Leur squelette chimique contient 30 ou 31 atomes de carbone pour les plus courants. Les Methyl stérols, également connu sous le nom d'alcool triterpénylique, ont un groupe méthyle supplémentaire sur le carbone 4.

Selon **Rahmani. (2005)**, l'huile d'argan renferme cinq alcools triterpéniques et deux méthylstéroïdes (citrostradiénol et cycloeucalénol).

- **Les pigments**

Les caroténoïdes constituent une importante famille de pigments de nature terpénoïdes. Ce sont les pigments qui confèrent à l'huile sa coloration. Ils sont présents à 37,5% dans la fraction insaponifiable de l'huile d'argan (**Khallouki et al., 2003**), représentés essentiellement par les xanthophylles qui constituent 6,5 % de l'insaponifiable (500 mg/kg) et les carotènes (315 mg/kg) (**Charrouf et Guillaume, 2002**).

## **II.5. Intérêt de l'huile d'argan**

L'huile d'argan est depuis longtemps utilisée par les populations locales pour l'alimentation et les soins corporels, voir pour le traitement de certaines pathologies.

La popularité et la grande valeur ajoutée caractérisant actuellement l'huile d'argan revient aux innombrables vertus prodigieuses qu'elles recèlent (diététiques, cosmétiques et médicinales) (**Chriqi et al., 2003**).

### **II.5.1. Bienfaits diététiques**

Le goût d'amande et de noisette, de l'huile d'argan, rehausse la saveur des plats, comme le couscous, les poissons, les tagines, la harira, la soupe et les salades. Elle constitue un élément essentiel à côté du miel et des amandes grillées, une recette, appelée « Amlou », très consommée au sud du Maroc (**Charrouf et Guillaume, 2010**),

L'huile d'argan constitue un complément lipidique pour les populations locales du sud du Maroc (25 % de l'apport en corps gras, surtout en AGMI et en AGPI). Environ deux cuillères à soupe (16 g) assurent la totalité des besoins journaliers en acide linoléique. D'après l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (**Afssa, 2001**), la consommation d'huile d'argan devrait être au maximum de 30 g par jour. Sa contribution au rapport du pourcentage des AGPI /AGS, fait que cette huile est recommandée par les nutritionnistes (**Hamia, 2007**).

### **II.5.2. Bienfaits cosmétiques**

Depuis quelque temps, l'huile d'argan est devenue fortement recherchée par l'industrie du cosmétique et figure dans la composition de certains savons, shampoings et crèmes. (**Guillaume et Charrouf, 2011**).

Son application régulière sur la peau est conseillée pour hydrater la peau, le traitement des gerçures, des problèmes d'acné et les brûlures superficielles. A long terme, l'application d'huile d'argan conduit à une réduction de la vitesse d'apparition des rides et à la disparition des cicatrices provoquées par la rougeole ou la varicelle. C'est un produit de soin complet avec des propriétés nutritives, protectrices, désinfectantes, adoucissantes et régénératrices de la peau. Elle est également utilisée pour les soins des cheveux et du cuir chevelu et les angles cassants (**Charrouf et al., 2007 ; Guillaume et Charrouf, 2011**).

L'activité cosmétologique de l'huile d'argan est probablement liée à sa forte teneur en acides gras insaturés tel que : l'acide linoléique qui intervient aussi bien dans l'activité mitotique dans la kératinisation et dans la biosynthèse des prostaglandines, hormones régulatrices des échanges membranaires qui jouent un rôle prépondérant dans la perméabilité de l'épiderme (**Chriqi et al., 2003**), et en agents antioxydants tel que : le  $\gamma$ -tocophérol et les composés phénoliques qui activent les fonctions vitales des cellules en augmentent les défenses naturelles de la barrière cutanée face aux agressions extérieures (**Khallouki et al., 2003**).

### **II.5.3. Bienfaits pharmacologiques et médicinales**

L'huile d'argan s'est forgée, au fil des siècles, la réputation d'un remède naturel précieux en médecine traditionnelle. Tout récemment et suite à plusieurs études épidémiologiques ou cliniques, l'huile d'argan est préconisée dans la prévention de plusieurs pathologies.

L'huile d'argan est utilisée dans le traitement des maux d'oreilles et des infections des voies respiratoires, elle est préconisée pour soulager les coliques des petits enfants.

Une consommation de cette huile associée à des massages à l'huile d'argan au niveau des articulations permettent aussi une réduction des douleurs rhumatismales.

Elle pourrait également être utilisée dans une approche de prévention nutritionnelle des maladies cardiovasculaires, en agissant sur ses facteurs de risques tels que l'hypertension artérielle, la glycémie, hyperlipémie. En effet, une étude réalisée sur des modèles d'animaux hypertendus, a montré que le gavage quotidien des animaux avec l'huile d'argan, à raison de 5ml/Kg/j durant 8 semaines, diminue significativement les pressions artérielles systolique et diastolique. Cet effet hypotenseur est associé à une diminution du taux de cholestérol totale et des LDL plasmatiques (**Berrada et al., 2000**) ; un effet confirmé par plusieurs études telle que celle de **Adlouni et al., (2010)** qui ont constaté que l'ingestion de deux cuillérées à soupe d'huile d'argan induit une baisse de cholestérol de 7,9 % pour les femmes et de 13,1 % pour

les hommes au bout d'un mois de traitement. **Sour et al., (2015)** ont enregistré une diminution significative des taux de TG-VLDL, du cholestérol plasmatique et du C-LDL chez les rats nourris au régime hypergras enrichi en huile d'argan. Ils ont montré également une amélioration des troubles métaboliques chez les rats soumis au régime hypergras enrichi en huile d'argan, en entraînant une perte de poids reflétée par une adiposité plus faible sans perte de masse maigre.

L'impact de la consommation de l'huile d'argan sur le statut antioxydant chez les animaux et les hommes a également été bien étudié. Ces propriétés sont dues essentiellement à ses composés mineurs (**Khallouki et al., 2005 ; Sour et al., 2015**). Une enquête épidémiologique a permis de mettre en évidence un taux plasmatique élevé de vitamine E chez les sujets consommateurs d'huile d'argan (**Drissi et al., 2004**).

Des études sur les animaux indiquent que cette huile pourrait avoir des effets antidiabétiques. Des résultats ont montré une diminution du taux de glucose dans le sang, une augmentation du glycogène hépatique et la prévention de la perte de poids chez les rats diabétiques prétraités avec l'huile d'argan (2 ml / kg) pendant 7 jours avant l'induction d'un diabète de type 1 (**Emonard et al., 1999 ; Bellahcen et al., 2012**).

L'huile d'argan pourrait avoir aussi une action préventive contre la prolifération cancéreuse (**Khallouki et al., 2003**). L'étude de l'effet antiprolifératif des tocophérols, des polyphénols et des stérols de l'huile d'argan a révélé une activité cytotoxique et un effet inhibiteur dose-dépendant sur la prolifération des trois lignées tumorales prostatiques testées DU145, PC3, LNCaP (**Bennani et al., 2007**).

Ce sont les raisons pour lesquelles l'huile d'argan pourrait être classée parmi les nutraceutiques (ou aliments fonctionnels), familles de composés alimentaires dont la consommation régulière procure une amélioration générale de l'état de santé des consommateurs.

Ces dernières années, les huiles (végétales ou animales) ont gagné une grande popularité et un grand intérêt scientifique. Bien que plusieurs tentatives ont été faites pour exploiter le plein potentiel de ces huiles, elles sont chimiquement instables et sensibles à la détérioration oxydative et la perte de composés volatils, en particulier lorsqu'elles sont exposées à



l'oxygène, la lumière, l'humidité et la chaleur. La qualité des huiles peut se détériorer en raison de la dégradation oxydative et la génération de radicaux libres formant ainsi des goûts et des saveurs désagréables. Ces changements ont un effet négatif sur la stabilité au stockage, les propriétés sensorielles, et l'acceptabilité globale de ces produits (**Velasco et al., 2003**).

Pour développer des produits de santé naturels (alimentaires ou cosmétiques) contenant des huiles bioactives, l'incorporation de ces huiles dans un système d'encapsulation pourrait être une bonne approche pour préserver ces composés et maintenir leurs caractéristiques biologiques et fonctionnelles.

## I. Concepts généraux sur l'encapsulation

L'encapsulation est une technologie en constante évolution. Elle est définie comme un processus visant à piéger une substance active dans une autre substance (matériau de la paroi). La substance encapsulée, peut aussi être appelée le noyau, la phase active, la phase interne ou la charge utile. La substance qui encapsule est souvent appelée le revêtement, la membrane, l'enveloppe, la capsule, le matériau de support, la phase externe ou la matrice (**Wandrey et al., 2009 ; Fang et Bhandari, 2010**). L'intérêt de l'encapsulation est de :

- Protéger l'espèce encapsulée, éviter sa détérioration et augmenter sa durée de vie.
- Masquer l'odeur et le goût de l'espèce encapsulée.
- Augmenter la biodisponibilité de l'espèce encapsulée.
- Contrôler la libération de l'espèce encapsulée et le lieu de celle-ci.
- Faciliter la manipulation ou le transport de l'espèce encapsulée.

Pour être performante, l'encapsulation doit répondre à des défis techniques. Tout d'abord, la protection de l'espèce encapsulée vis-à-vis du milieu extérieur doit être assurée. Le processus de rétention de l'espèce encapsulée doit être suffisamment performant pour permettre l'utilisation des capsules dans un temps donné (**Destribats et al., 2010**). Et finalement, la libération de l'espèce encapsulée au moment et à l'endroit voulus est essentielle quand on parle d'encapsulation (**Destribats et al., 2010 ; Bône et al., 2011**). Pour cela, les capsules doivent pouvoir s'accrocher à différents substrats.

Il existe trois voies de libération :

1. La rupture de la paroi ou de la matrice et libération de l'espèce. La rupture peut se faire lors d'une augmentation de la pression intérieure de la capsule, d'une contrainte mécanique telle qu'un frottement. Pour avoir ce genre de libération, la paroi doit être cassante et suffisamment fine (**Destribats et al., 2010**).
2. La diffusion de l'espèce encapsulée à travers la paroi. Cela peut arriver si le matériau constituant les capsules est poreux ou perméable (**Choi et al., 2007**).
3. Une augmentation de la température (la matrice fond), par dissolution lors de l'ajout d'un nouveau solvant dans le milieu, par une hydrolyse enzymatique ou chimique (**Zelikin et al., 2007**).

Les propriétés fonctionnelles et les applications potentielles des produits encapsulés dépendent en grande partie de la taille et la forme de la capsule, qui elles même dépendent spécifiquement de la composition des matériaux de la paroi et des méthodes utilisées pour les

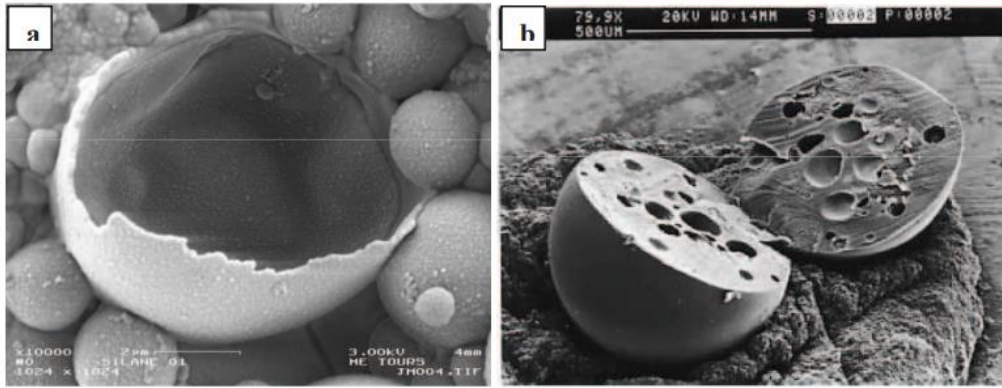
préparer. Dans le domaine de la santé, la fonctionnalité est un des éléments clés du développement des systèmes de délivrance des molécules avec une activité thérapeutique.

Les structures fonctionnelles peuvent présenter des configurations variées (**Benoît et al., 2013**). Les structures les plus utilisées sont :

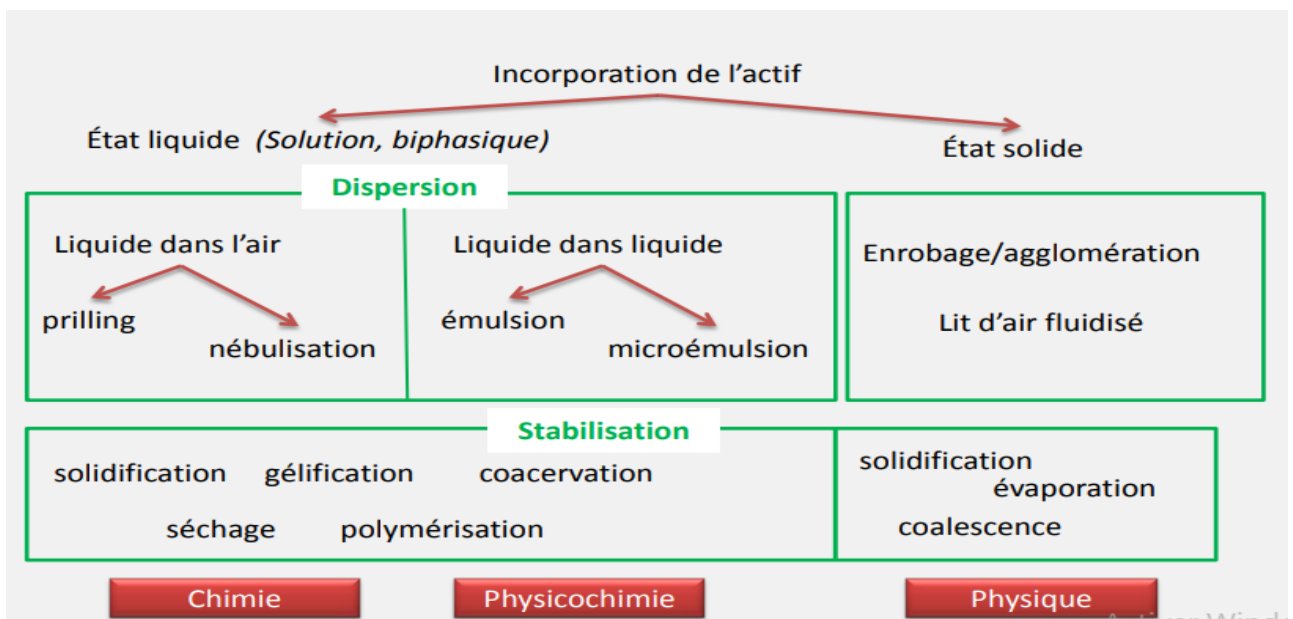
- **Les capsules** (micro ou nanocapsule) : elles se distinguent par la présence d'une membrane polymère qui enrobe le principe actif. C'est une structure qui agit comme un système réservoir (**Figure 9-a**).
- **Les sphères** (micro ou nanosphère) quant à elles, contiennent le principe actif dispersé plus ou moins finement dans une matrice. C'est le système matriciel (**Figure 9-b**).

La même technologie d'encapsulation peut avoir des noms différents selon des domaines différents. **Poncelet et Dreffier. (2007)** proposent un processus d'encapsulation générale et simplifié, dans lequel la plupart des technologies s'intègrent sans ambiguïté. Ce processus d'encapsulation se divise en trois étapes (**Figure 10**) :

1. La première étape consiste à incorporer les principes actifs dans une formulation liquide. Cela peut être sous forme de solution, d'émulsion ou de suspension. Ça peut impliquer des procédés de mélange ou de dispersion.
2. La deuxième étape est une opération mécanique.
  - Pour une matrice liquide, réalisation d'une dispersion liquide-dans-l'air (prilling ou pulvérisation) ou liquide (émulsification ou micro-émulsification).
  - Pour une matrice solide, pulvériser une solution sur des particules sous agitation (lit fluidisé ou pan coating ou agglomération).
3. La dernière étape consiste à stabiliser / solidifier les gouttelettes ou la solution de revêtement par un processus chimique (polymérisation), un processus physico-chimique (gélification, coacervation) ou un processus physique (séchage ou atomisation, solidification).



**Figure 9 :** Images en microscope électronique à balayage de microcapsules (a) et de microsphères (b) (Richard et Benoît, 2000).



**Figure 10 :** Les différentes méthodes d'encapsulation (Poncelet et Dreffier, 2007).

Le tableau ci-dessous récapitule les différentes techniques d'encapsulation en indiquant pour chacune, les tailles et distribution de tailles obtenues, le taux d'encapsulation ainsi que le type de libération.

**Tableau 7 :** Caractéristiques physico-chimiques des microcapsules obtenues par les principaux procédés industriels de microencapsulation (Richard et Benoît, 2000).

Procédés	Domaine de tailles typiques ( $\mu\text{m}$ )	Morphologie	Taux d'encapsulation (%)	Type de libération
Polymérisation en milieu dispersé (émulsion, miniémulsion, microsuspension...) par voie radicalaire ou anionique	0,1 à 15	Microsphère	< 50	Libération prolongée par diffusion à travers la membrane ou la matrice Libération déclenchée (effet de pH, déshydratation, effet mécanique, dissolution, attaque enzymatique)
Polycondensation interfaciale	0,5 à 50	Microcapsule	< 80	
Polyaddition interfaciale	0,2 à 5	Microcapsule	< 80	
Nébulisation/séchage ( <i>spray-drying</i> )	1 à 50	Microsphère	< 40	
Coacervation complexe	5 à 200	Microcapsule	70 à 90	Libération prolongée
Coacervation simple	20 à 200	Microsphère Microcapsule	< 60	
Émulsion - extraction de solvant (avec ou sans évaporation)	0,5 à 200	Microsphère	< 25	
Gélification thermique d'émulsions (ou <i>hot melt</i> )	10 à 100	Microsphère	< 20	
Extrusion/sphéronisation	> 200	Microsphère	< 50	
Enrobage en lit fluidisé ( <i>spray-coating</i> )	> 100	Microcapsule	60 à 90	Libération déclenchée par effet thermique ou effet de pH
Gélification ou congélation de goutte ( <i>prilling</i> )	> 200	Microsphère	< 30	

## II. Concepts généraux sur les émulsions

Une émulsion est un mélange de deux phases non miscibles, telles que l'eau (E) et l'huile (H) par exemple. Une des deux phases, appelée phase dispersée, étant dispersée dans l'autre phase, dite continue, sous forme de gouttelettes. Cette répartition des deux liquides s'explique par la présence d'une énergie de surface au niveau de l'interface appelée tension interfaciale. Les émulsions sont des systèmes qui ne sont pas à l'équilibre thermodynamique mais dans un état métastable. Il existe deux types d'émulsions (**Wehrlé et Pascal, 2007**):

- Les émulsions simples : il en existe deux sortes (**Figure11**):
  - Les émulsions directes (H/E) : constituées d'une phase huile dispersée dans une phase aqueuse.
  - Les émulsions inverses (E/H) : composées d'une phase aqueuse dispersée dans une phase huileuse.
- Les émulsions doubles : il en existe également deux sortes:
  - Les émulsions doubles directes (E/H/E) : c'est la dispersion d'une émulsion (E/H) dans une phase aqueuse.
  - Les émulsions doubles inverses (H/E/H) : c'est la dispersion d'une émulsion (H/E) dans une phase huileuse.

Pour formuler une émulsion il faut donc une phase hydrophile et une phase lipophile. Ces deux phases étant naturellement non miscibles, on utilise des émulsifiants, qui sont généralement des tensioactifs.

### II.1. Les tensioactifs

Un tensioactif (aussi appelé surfactant ou agent de surface) est une molécule qui modifie la tension interfaciale entre deux phases, d'origine naturelle ou synthétique, dont la structure chimique est amphiphile, constituée d'une tête polaire (ou chargée) hydrophile et d'une queue hydrocarbonée hydrophobe qui se dissout dans les huiles ou certains solvants organiques. C'est grâce à cette propriété qu'ils s'adsorbent aisément aux interfaces entre deux milieux de polarités différentes et permet de faire chuter la tension interfaciale et par conséquent, solubiliser les deux phases initialement non miscibles et stabiliser ces interfaces.

En fonction du type d'émulsion, l'orientation des tensioactifs ne sera pas la même (**Figure 11**). En effet, dans le cas d'une :

-Emulsion directes (H/E) : on utilise un tensioactif hydrophile (TH), la tête hydrophile est placée à l'extérieur des gouttelettes.

-Emulsion inverse (E/H) : on utilise un tensioactif lipophile (TL).

## II.2. Phénomènes d'instabilité présents dans les émulsions

Les émulsions sont des systèmes métastables qui tendent à évoluer vers un état thermodynamiquement stable, qui est la séparation de phase macroscopique entre les deux fluides (**Figure 12**). Plusieurs phénomènes peuvent entrer en jeu pour le déphasage des émulsions :

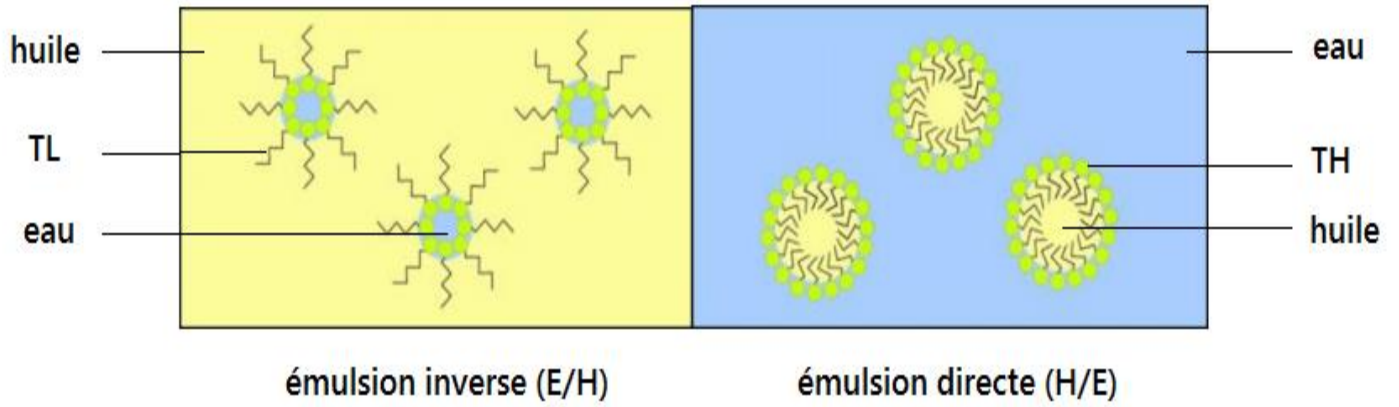
**-Le crémage et la sédimentation** sont des phénomènes réversibles liés à la gravité. La différence de densité entre les phases continue et dispersée entraîne la migration de cette dernière. Le sens de la migration dépend des valeurs relatives des masses volumiques des deux phases.

**-La floculation** est un phénomène réversible qui conduit à la formation de « floccs » ou agrégats de gouttes de phase dispersée d'une émulsion et altère l'état de dispersion des gouttelettes tout en conservant leur intégrité et forment des entités séparées (**Bibette, 1999**).

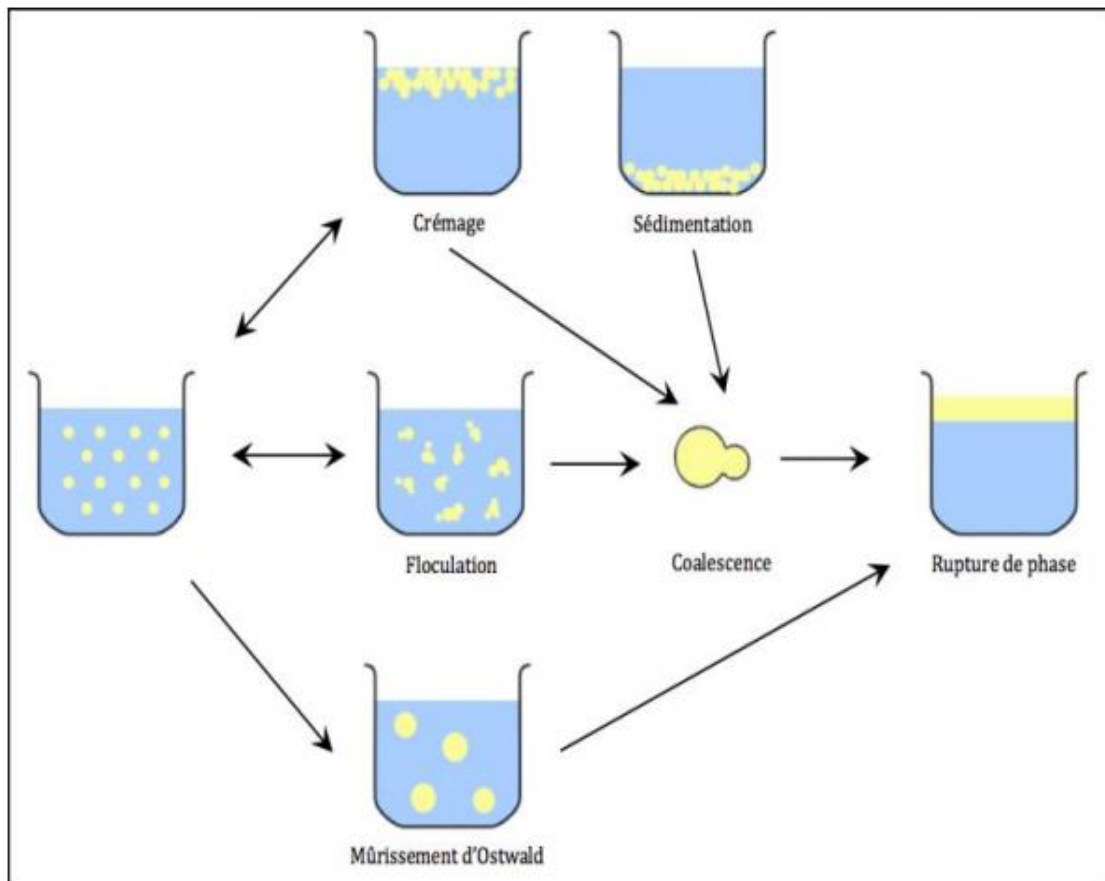
**-Le mûrissement d'Ostwald** est un phénomène irréversible pendant lequel les plus petites gouttelettes en solution dans la phase continue se dissolvent et se déposent sur des gouttelettes plus grosses (**Taylor, 1998**).

**-La coalescence** est un phénomène destructif. Il consiste en la fusion de deux gouttes de la phase dispersée qui sont entrées en contact. Celles-ci fusionnent en raison de la rupture du film séparant les deux gouttes (**Schmitt et al., 2004**).





**Figure 11** : Schéma des deux types d'émulsion et l'orientation des tensioactifs (Caullet et al., 2018).



**Figure 12** : Les différents phénomènes d'instabilité d'une émulsion (Caullet et al., 2018).



## **2<sup>ème</sup> PARTIE**

---

### **Matériel et méthodes**

## I. Récolte des fruits d'arganier

Les affiaches (fruits d'*Argania spinosa*) mures ont été récolté durant le mois de juillet 2016, à partir d'arganiers de la région de Tindouf.

## II. Extraction de l'huile d'argan

Après récolte, séchage et torréfaction des fruits, l'huile d'argan alimentaire est extraite par les femmes de la région, selon une méthode purement artisanale (**Harhar, 2010**) (**Figure13**).

## III. Extraction de la fraction insaponifiable

L'insaponifiable d'un corps gras correspond à l'ensemble des constituants qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques.

L'extraction de l'extrait insaponifiable a été réalisée suivant la norme **AFNOR NF t 60-206** (**Figure 14**). Le principe de cette méthode 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. Elle permet ici de transformer le corps gras (triglycérides) en savon qui se retrouve donc soluble dans la phase aqueuse, et permet, par conséquent, d'extraire les composés non saponifiables par un solvant apolaire.

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.

La phase organique est ensuite filtrée sur le sulfate de sodium anhydre et évaporée sous vide par un évaporateur rotatif. Ce résidu constitue l'extrait insaponifiable qui va servir pour l'évaluation de l'activité antioxydante et antiinflammatoire.

La teneur des insaponifiables est déterminée par la relation suivante :

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

$m_1$ : La masse (g) du résidu séché.

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



1-Dépluage



2- Concassage



3-Torréfaction



4-Isituration

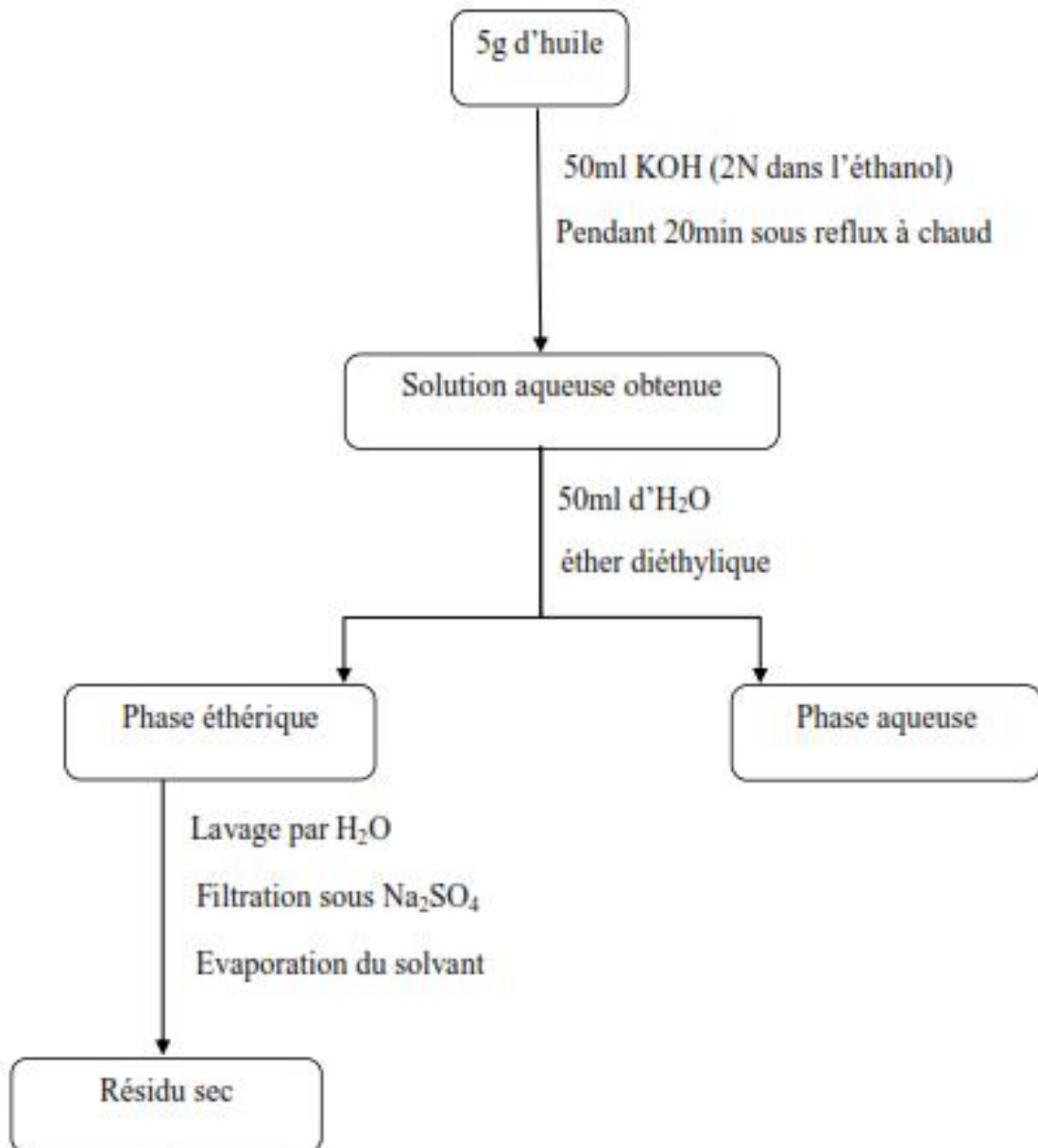


5-Malaxage



6-Conditionnement

**Figure 13** : Les différentes étapes de l'extraction artisanale de l'huile d'argan (Harhar, 2010).



**Figure 14** : Schéma d'extraction des insaponifiables.

## IV. Détermination des indices physicochimiques

### IV.1. Indice de densité ( $d_{20}$ ) (AFNOR, 1984)

L'indice de densité ( $d_{20}$ ) est considéré comme un critère de pureté des huiles. Il consiste à déterminer le rapport de la masse d'un volume donné d'huile d'argan à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température, en utilisant un pycnomètre, muni d'un thermomètre gradué et étalonné à 20°C.

La densité relative est calculée par la formule suivante :

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

$m_0$  : la masse du pycnomètre vide

$m_1$  : la masse du pycnomètre rempli d'eau distillée

$m_2$  : la masse du pycnomètre rempli d'huile d'argan

### IV.2. Indice de réfraction ( $n_d^t$ ) (AFNOR, 1984)

L'indice de réfraction est relié au poids moléculaire des acides gras et renseigne sur le profil des acides gras insaturés des huiles. Il a été réalisé à l'aide d'un réfractomètre et il consiste à déterminer le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, à une température de 20° C. Il est calculé selon la formule suivante :

$$n_d^{20} = n_d^t + 0.00035 (t - 20)$$

$n_d^{20}$  : indice de réfraction à 20 ° C

$n_d^t$  : valeur de lecture à la température donnée

$t$  : température (20°C)

### IV.3. Indice d'acide ( $I_A$ ) (AFNOR 60-204)

L'indice d'acide est un critère de fraîcheur et de pureté des huiles. L'huile d'argan renferme naturellement très peu d'acides gras libres. La détermination de l'acidité va donc renseigner sur le degré éventuel d'altération des huiles par hydrolyse des triglycérides en acides gras.

Cet indice consiste à déterminer le nombre de milligramme de KOH nécessaire pour neutraliser l'acidité due aux acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras.

(0,5 g) d'huile est diluée dans (20 ml) d'une solution de éthanol /n-butanol (v/v). Un témoin est effectué en contenant la même quantité des solvants. Chaque teste est titré par du KOH

(0.1 N) en présence de phénolphthaléine à (1%) comme indicateur coloré.

L'indice d'acidité est calculé par la formule suivante :

$$I_A = ((V_1 - V_2) \times M \times N) / m$$

$V_1$  : volume (ml) de KOH utilisé pour l'échantillon

$V_2$  : volume (ml) de KOH utilisé pour le témoin

$M$  : masse molaire du KOH (56.11 g / mol)

$N$  : normalité de la solution de KOH (0,1 N).

$m$  : masse de l'huile d'argan utilisée.

#### IV.4. Indice de saponification ( $I_S$ ) (AFNOR60-206)

L'indice de saponification est une mesure indirecte de la masse molaire et la longueur de la chaîne des acides gras. Il décroît avec l'augmentation de la longueur de cette chaîne. Cet indice consiste à déterminer le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et saponifier les acides gras estérifiés contenus dans un gramme de matière grasse. La quantité de KOH utilisée varie avec la masse molaire des acides gras. Plus cette dernière est élevée et plus l'indice de saponification est faible.

(1g) d'huile d'argan est saponifié sous reflux avec (25 ml) d'une solution de KOH éthanolique (0.5 N) pendant 1heure. L'échantillon est ensuite titré avec (0.5N) d'HCl, en présence de phénolphthaléine à (1%) comme indicateur coloré. Un témoin est préparé dans les mêmes conditions sans l'huile d'argan.

L'indice de saponification est calculé par la formule suivante :

$$I_S = ((V_1 - V_2) \times M \times N) / m$$

$V_1$  : volume (ml) d'HCL utilisé pour le témoin

$V_2$  : volume (ml) d'HCL utilisé pour l'échantillon

$M$  : masse molaire de KOH (56.11 g / mol)

$N$  : normalité de la solution KOH (0,5 N).

$m$  : la masse (g) de l'huile d'argan.

#### V. Détermination de la teneur en acides gras de l'huile d'argan

La teneur en AG a été déterminée selon la norme **AFNOR NF 60-233**. Le principe de cette technique est basé sur la transformation des acides gras en dérivés d'esters d'acides gras ou d'esters méthyliques et leur analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

### V.1. Préparation des esters méthyliques

Les acides gras totaux de l'huile d'argan ont été transformés en leurs esters méthyliques correspondants, comme décrit par **Cecchi et al. (1985)**.

La transméthylation a été réalisée par addition de 2 ml d'hexane, 0,5 ml de méthylate de sodium à 3%, 0,2 ml de Sulfate d'ammonium (1 NH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et 1,5 ml de chlorure de sodium à 10%. La phase hexanique contenant des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) a été récupérée et son volume a été réduit au moyen d'un courant d'azote avant l'analyse.

### V.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'analyse des EMAG a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Un appareil Hewlett – Packard 6890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'un injecteur à régulation de pression électronique (EPC) (Agilent Technologies, Palo Alto, Californie). Colonne capillaire HP – Innowax (polyéthylène glycol: 30 m, diamètre 0,25 mm, Une épaisseur de film de 0,25 mm; Agilent Technologies, Hewlett-Packard) a été utilisée, dans les conditions suivantes :

- Gaz vecteur : (N<sub>2</sub>, U) était de 1,6 mL / min et le rapport de division de 60: 1 ;
- Programmation du four : 150 ° C pendant 1 minute,  
150 ° C à 200 ° C en 15 ° C / min,  
200 à 225 ° C en 2 ° C / min,  
225 ° C pendant 2 minutes.
- Température du détecteur : 275 ° C ;
- Température de l'injecteur : 250 ° C.

Les EMAG ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention avec ceux d'étalons de référence purs (Sigma – Aldrich, Steinheim, Allemagne). Le chromatographe en phase gazeuse a été connecté à un logiciel HP Chemstation (Rev.A.0401) pour le calcul de la surface du pic et du pourcentage d'acide gras.

## VI. Détermination de la teneur en tocophérols

Les différents vitamères des tocophérols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, et  $d$ -) ont été identifiés et déterminés selon la méthode prescrite par la norme **ISO 9936**, par chromatographie liquide haute performance HPLC de marque WATERS muni d'un détecteur UV-Visible.

L'identification (des différents tocophérols) se fait en comparant les temps de rétention des molécules obtenues avec les temps de rétention des solutions standards.

Le principe consiste à dissoudre une prise d'essai de 0,2 g d'huile dans 4 ml d'hexane et la préparation d'une solution standard mère ( $\alpha$ -,  $\gamma$ -, et  $d$ - tocophérol) en faisant dissoudre 10 mg de l'étalon dans 100 ml d'hexane. Partant de cette solution mère, des solutions standards de travail ont été préparées. Pour cela, 10 ml de la solution mère sont transférés dans un évaporateur rotatif afin d'éliminer l'hexane. Une fois évaporé, l'hexane est immédiatement remplacé par 10 ml de méthanol. Après cette préparation, un volume de 20  $\mu$ l sera prélevé des solutions puis injecté dans l'HPLC dans les conditions suivantes :

- La colonne en acier de longueur de 25 cm.
- Phase stationnaire  $C_{18}$ .
- Solvant d'éluion : solution à 0,5 % d'isopropanol dans l'hexane.
- Débit : 1,5 ml/min.
- Longueur d'onde : 292nm.
- Boucle d'injection : 20  $\mu$ l.
- Détecteur : UV-Visible.

## VII. Détermination de la teneur en phytostérols

Les stérols ont été identifiés à partir de la fraction insaponifiable de l'huile d'argan selon la méthode de **Sanchez-Machado et al. (2004)**. Les stérols ont été mesurés par une HPLC de marque WATERS équipée d'un détecteur UV-Visible.

L'analyse s'effectue selon les conditions opératoires suivantes :

- La colonne en acier de longueur de 25 cm.
- Phase stationnaire  $C_{18}$ .
- Solvant d'éluion : méthanol/acétonitrile (30/70 V/V).
- Longueur d'onde : 205 nm.
- Boucle d'injection : 20  $\mu$ l.
- Détecteur UV-Visible.



## VIII. Evaluation de l'activité antioxydante

### VIII.1. Test de DPPH

L'activité du piégeage du radical DPPH de l'huile entière et de l'extrait insaponifiable a été évaluée selon le protocole décrit par (Lee et al., 2007).

Le DPPH· (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est pratiquement, le radical libre le plus stable, caractérisé par une couleur violette, en présence d'antioxydants (donneurs d'hydrogène), il est réduit en une forme non radicalaire (diphénylpicryl-hydrazine) de couleur jaune (Sanchez-Moreno, 2002).

Des séries de concentrations d'huile d'argan totale (H) et de l'extrait insaponifiable (EX) sont préparées dans l'isooctane et dans l'éthanol, respectivement. 56 µl de chacune sont ajoutés à 5 ml d'une solution de DPPH à 0,1 mM. Pour chaque concentration un blanc est préparé (56µl d'huile d'argan+ 5 ml solvant correspondant). Le contrôle est préparé en parallèle, en mélangeant 56 µl du solvant avec 5 ml de DPPH. Après une période d'incubation de 30 min à 25 °C, l'absorbance a été lue à 517nm. L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (% I DPPH) a été calculée par la formule suivante :

$$\% \text{ I DPPH} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

**A<sub>C</sub>**: absorbance du contrôle.

**A<sub>T</sub>** : absorbance de l'échantillon testé.

L'activité antioxydante est comparée à celle de l'acide ascorbique (AA).

### VIII.2. Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'activité réductrice du fer a été déterminée selon la méthode décrite par (Oyaizu, 1986), basée sur la réaction chimique de réduction du fer ferrique (Fe<sup>+3</sup>) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en fer ferreux (Fe<sup>+2</sup>).

Différentes concentrations d'huile d'argan totale (H) et de l'extrait insaponifiable (EX) sont préparées dans le DMSO. 1ml de chaque concentration est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%. Le tout est incubé à 50°C/20 minutes, puis refroidi à la température ambiante. 2,5 ml de l'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis il est centrifugé à 3000 rpm/10 minutes. 2,5 ml du surnageant sont ajoutés à 2,5ml d'eau distillée puis 500µl d'une solution de FeCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O (0,1%) sont ajoutés au mélange. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience, aux mêmes concentrations choisies.

## **IX. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo***

Cette partie expérimentale a été réalisée au niveau de Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie (Mostaganem), sous la direction de **Pr DJEBLI Noureddine**.

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile d'argan totale et de sa fraction insaponifiable, un modèle d'inflammation aigüe a été sélectionné : test d'œdème inflammatoire de la patte chez la souris, induit par la carragénine, selon la méthode décrite par (**Trovato et al., 2001**). Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration du produit de référence et du produit anti-inflammatoire à tester.

### **IX.1. Animal expérimental**

Des souris NMRI femelles, de poids corporels ( $27 \pm 3$  g), ont été utilisées dans cette étude. Elles ont été obtenus auprès du service des animaux du laboratoire de l'Institut Pasteur d'Alger -Algérie-. Les souris ont été élevées dans des cages en polypropylène et maintenues dans des conditions standards de laboratoire : Température de ( $20 \pm 2$ ) ° C ; humidité relative de (60% à 70%) et une photopériode de 12 heures/ 12 heures.

### **IX.2. Test de toxicité**

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser un test de toxicité. Ce dernier a été réalisé selon la méthode décrite par l'Organisation de la coopération Economique et Développement (OECD) (**Ejebe et al., 2010**).

Après 24 h de jeûne, l'huile d'Argan (5 et 8 mg/kg) et la fraction insaponifiable (10 et 15 mg/kg) ont été administrées aux souris par voie orale (v.o). Les animaux sont observés pendant 15 jours, pour toute manifestation anormale, hyperactivité, convulsion, mortalité....

### **IX.3. Prétraitement par les extraits**

Les souris ont été acclimatées au moins une semaine avant le début des expériences. Elles avaient libre accès à l'eau et à un régime alimentaire standard. Toutes les expériences ont été menées après une nuit de jeûne (l'eau était disponible).

Pour ce test, 18 souris ont été réparti en six lots, ayant reçue par voie orale:

Lot control(C) : Tween 80 (15%, dissous dans du NaCl 0.9%) ;

Lot standard (STD) : Diclofénac (50 mg / kg dissous dans du NaCl 0.9%) ;

Lot traité (H1) : l'huile d'argan totale, (5mg / kg) ;

Lot traité(H2) : l'huile d'argan totale, (8mg / kg) ;

Lot traité (EX1) : l'extrait insaponifiable (10 mg / kg), dissous dans (Tween 80 à 15 %) ;

Lot traité (EX2) : l'extrait insaponifiable (15 mg / kg), dissous dans (Tween 80 à 15 %).

#### **IX. 4. Induction de l'œdème inflammatoire**

Une heure après l'administration orale des extraits, l'œdème est provoqué par l'injection de (0,1 ml) de solution de carragénine (1% dans NaCl 0,9%), dans la région sous-plantaire de la patte postérieure droite de toutes les souris (**Figure 15**).

#### **IX.5. Mesure de l'œdème**

L'œdème provoqué sera traduit en volume et mesuré par un pléthysmomètre, avant et après l'injection de la carragénine, à des intervalles d'une heure pendant six heures (**Figure 16**). Cela permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire de 1h à 6h après l'injection de l'agent phlogogène.

#### **IX.6. Calcule du pourcentage d'augmentation (%AUG) et d'inhibition (%INH) de l'œdème**

A partir des mesures de l'œdème prises par le pléthysmomètre, nous avons pu calculer le pourcentage d'augmentation et d'inhibition de l'œdème pour chaque heure (de 1h à 6h):

- Le pourcentage d'augmentation de l'œdème (%AUG) est calculé par la formule suivante:

$$\text{AUG (\%)} = ((V_t - V_0)/V_0) * 100$$

$V_t$  : volume de la patte arrière droite au temps t après injection de la carragénine.

$V_0$  : volume de la patte de la souris avant injection de la carragénine.

- Le pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH) est calculé par la formule suivante:

$$\text{INH (\%)} = ((\text{AUG}_c - \text{AUG}_t) / \text{AUG}_c) * 100$$

$\text{AUG}_c$  : pourcentage d'augmentation de l'œdème du lot control.

$\text{AUG}_t$  : pourcentage d'augmentation de l'œdème des lots traités.



**Figure 15 :** Photo de l'injection sub-plantaire de la carragénine



**Figure 16:** Photo de mesure de l'œdème par le pléthysmomètre

### **IX.7. Prélèvement des pattes de souris**

Six heures après l'injection de la carragénine, les souris sont anesthésiées au chloroforme et les pattes sont prélevées et mises dans des flacons stériles et étiquetés, contenant du formol tamponné neutre à 10%, pour une éventuelle étude histologique afin de confirmer l'activité antiinflammatoire de nos échantillons.

## **X. Préparation des coupes histologiques**

Les coupes histologiques, ont été réalisées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie du CHU de Tlemcen-Algérie.

### **X.1. Fixation**

Après prélèvement, les pattes des souris sont fixées dans le formol (à 10%). Le but de la fixation est : l'immobilisation des constituants tissulaires/cellulaires ; la prévention de l'autolyse cellulaire et de la putréfaction bactérienne post-mortem.

### **X.2. Décalcification**

Le tissu osseux nécessite un traitement à l'aide d'agents chimiques permettant de chélater le calcium. La décalcification facilite l'obtention de coupes fines exploitables d'un point de vue microscopique. Pour cela les pattes sont décalcifiées dans l'acide nitrique (2%). Les pattes sont ensuite placées dans des cassettes étiquetées, puis remises 1 nuit dans le formol.

### **X.3. Déshydratation**

Les cassettes sont passées dans 3 bains d'alcool, 2 bains d'acétone, puis 3 bains de xylène afin d'éliminer le fixateur et surtout l'eau contenue dans les échantillons et le remplacer par la paraffine. Les cassettes sont ensuite mises dans la paraffine et placées dans l'étuve (70 °C/2h). La chaleur provoque l'évaporation du solvant (et sa dissolution dans la paraffine) : les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine.

### **X.4. Inclusion**

Le principe de l'inclusion consiste à infiltrer et à enrober les tissus à examiner avec de la paraffine pour donner une consistance solide aux tissus mous. De cette manière, les échantillons peuvent être découpés en fines coupes.

A l'aide d'un appareil d'inclusion : l'Histocentre 2 (Thermo Shandon) (**Figure 17**), les échantillons sont placés dans des moules et enrobés avec de la paraffine à une température basse, ce qui provoque son durcissement. Ainsi, on obtient des fragments tissulaires inclus dans des blocs de paraffine, qui seront ensuite placés 1 nuit au réfrigérateur.

#### **X.5. Préparation de la coupe (microtomie)**

Les blocs contenant les échantillons sont réduits en de fines couches (de 3-4 $\mu$ m). Pour cela On a utilisé un microtome, qui fait avancer le bloc sur un rasoir. L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire (**Figure 18**). Ces rubans sont étalés sur des lames, sur une plaque chauffante afin que la paraffine fonde et le tissu se colle. Les lames sont ensuite séchées à l'étuve puis déparaffinées directement dans le xylène.

#### **X.6. Réhydratation et coloration**

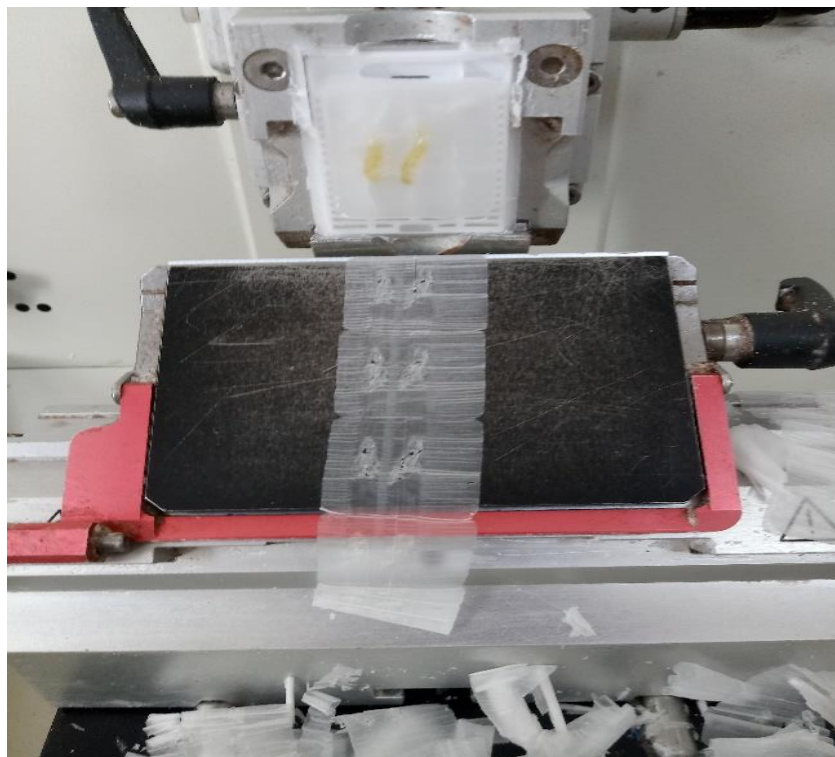
Les lames préparées sont plongées dans une série de bains afin de procéder à la coloration hématoxyline/éosine :

2 bacs de xylène, 3 bacs d'alcool, 2 bacs d'eau, 1 bac d'hématoxyline d'Harris, 2 bacs d'eau, 1 bac d'Hcl, 1 bac d'eau, 1 bac d'ammoniac, 1 bac d'éosine et enfin rinçage dans 3 bacs d'alcool et 2 bacs de xylène.

L'hématéine est une substance qui colore les noyaux en bleu violet, en se fixant sur les acides nucléiques. L'éosine est une substance qui colore plutôt les cytoplasmes en rose en se fixant sur les protéines.



**Figure 17 :** Photo de l’Histocentre (Thermo Shandon).



**Figure 18 :** Photo d’un ruban contenant des coupes de prélèvement tissulaire des pattes, formé par un microtome.

### **X.7. Montage des lames**

On colle des lamelles de verre par-dessus des lames, grâce à un produit de montage (EUKITT), afin de préserver les préparations et la coloration. Les lames ainsi montées peuvent être conservées pendant plusieurs dizaines d'années (**Figure 19**).

### **X.8. Observation au microscope optique**

Le microscope optique repose sur trois systèmes de lentilles. Le premier condense la lumière sur l'objet à examiner, tandis que le second constitue l'objectif : les lentilles élargissent l'image et la projettent vers le troisième système de lentilles qui lui constitue l'oculaire. Les lames préparées sont observées par un microscope optique avec des grossissements de (x10,20,40 et 100). Les images sont captées par un ordinateur relié au microscope (**Figure 20**).

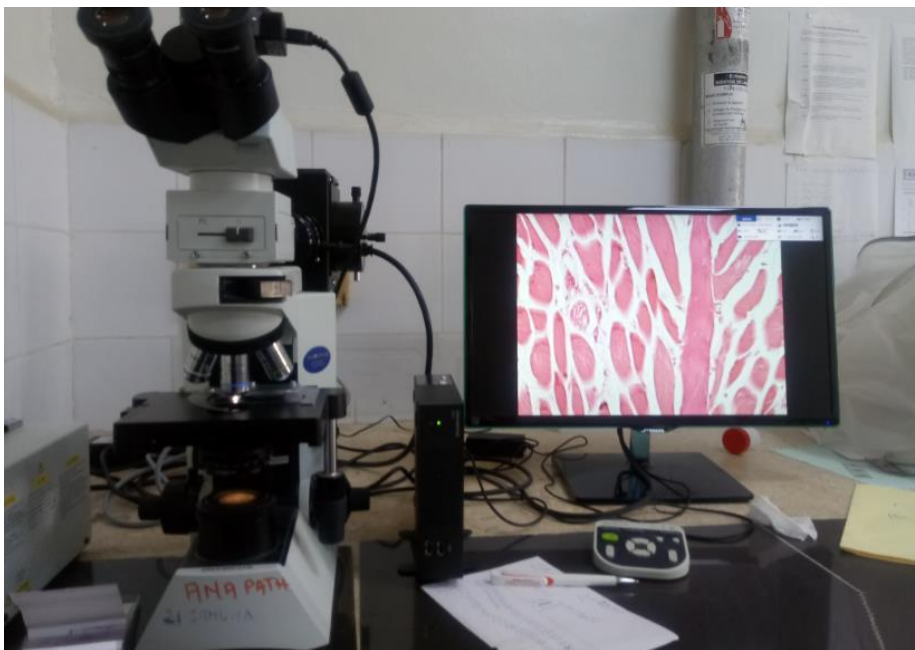
## **XI. Analyses statistiques**

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT 2018 et analysée par le test t de Student et one-way ANOVA. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SEM (n = 3). Valeurs de  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  étaient considérés respectivement comme significatifs (\*) et très significatifs (\*\*).





**Figure 19** : Photo du montage des lames.



**Figure 20** : Photo de prise d'image par un microscope lié à un ordinateur.

## **XII. Microencapsulation de l'huile d'argan**

Cette partie de notre expérience a été réalisée en Tunisie, dans le laboratoire du centre de Biotechnologie de Borj Cédria (Tunisie), sous la direction de **Pr Ksouri Riadh** et **Dr Mahfoudi Nesrine**.

Parmi les différentes méthodes d'encapsulation, nous avons choisi la méthode d'émulsification suivit d'une pulvérisation par atomisation.

### **XII.1.Préparation de l'émulsion**

#### **XII.1.1. Choix du sens de l'émulsion et du tensioactif**

Afin d'anticiper la formation de notre émulsion, nous avons suivi la règle de **Bancroft**: « la phase continue de l'émulsion sera celle qui solubilise préférentiellement le tensioactif ». C'est le type d'émulsion (directe ou inverse) qui va imposer le choix du tensioactif. L'émulsion directe exige un tensioactif hydrophile. Dans le cas d'une émulsion inverse, le tensioactif sera lipophile (**Besnard et al., 2014**).

Nous avons voulu concevoir une émulsion directe (H/E) et naturelle, pour cela, nous avons opté pour la gomme arabique qui est un tensioactif alimentaire et hydrophile.

L'émulsion est préparée en mélangeant l'eau et l'émulsifiant puis l'huile. Le tout est homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur: l'Ultra Turrax (**Figure 21**).

Le principe de la dispersion avec l'Ultra Turrax est de cisailer une émulsion. Cela consiste à réduire les gouttes d'émulsion, de taille d'environ 100 µm, en gouttelettes de diamètre d'environ un 1-10 µm ([http://ressources.unisciel.fr/formulation\\_cosmetique/co/2-2.html](http://ressources.unisciel.fr/formulation_cosmetique/co/2-2.html)).

#### **XII.1.2. Formulation de l'émulsion**

Les paramètres de procédés et de formulation ont une influence sur la stabilité des émulsions et sur la distribution de taille et la taille des microcapsules (**Zhang et al., 1995 ; Richard et Benoit, 2000**).

Pour cela, nous avons utilisé 9 échantillons d'émulsions différentes, dans lesquelles nous avons fixé la concentration de l'huile d'argan à (5%) et la durée d'agitation à (10min) et on a varié la concentration de la gomme arabique (5%, 7,5%, 10%) et la vitesse d'agitation (10 000, 15 000, 20 000 rpm).

Nous nous sommes basés sur les paramètres qui influencent la stabilité des émulsions, les tests d'observation visuelle et l'utilisation d'un logiciel SPSS version 20.0 pour l'optimisation de la formulation de l'émulsion, c'est-à-dire choisir la concentration du tensioactif et la vitesse d'agitations optimales pour stabiliser au mieux l'émulsion.

### **XII.1.2.1. Les paramètres influençant la stabilité des émulsions, la distribution de taille et la taille des microcapsules**

Pour la formulation de l'émulsion, nous avons suivi les paramètres à tenir en compte lors de la préparation des émulsions, cités par **Zhang et al. (1995)** et **Vandamme et al. (2007)** et qui sont :

- La vitesse et la durée d'agitation : l'augmentation de la vitesse et de la durée d'agitation entraîne une diminution de la taille des microcapsules.
- La nature du tensioactif et sa concentration : l'augmentation de la concentration en tensioactif, abaisse la tension interfaciale entre les gouttelettes et diminue la taille des microcapsules.

Il existe cependant une concentration et une vitesse seuils à partir desquelles, la taille ne diminue plus.

- Le rapport volumique des deux phases non miscibles : la taille et la distribution de taille des gouttelettes peuvent aussi être diminuées en abaissant la fraction volumique de la phase dispersée.
- La température : l'augmentation de la température permet une diminution de la taille mais peut aussi avoir un effet négatif sur les composants du système (hydrolyse du monomère, destruction des tensioactifs...).

### **XII.1.2.2. Tests d'observation visuelle**

L'observation visuelle à l'œil nu est l'une des méthodes les plus classiques de l'étude de la stabilité des systèmes d'émulsions, qui sont des systèmes métastables qui tendent à évoluer vers un état thermodynamiquement stable. Le principe de ce test consiste à placer verticalement les différents échantillons dans des conditions de repos, afin de déterminer leurs stabilités en fonction de la séparation des phases (**Figure 22**). Plusieurs phénomènes d'instabilité peuvent être observés tel que: le crémage et la sédimentation, la floculation... (**Herrera et al.,2012**).

### **XII.1.2.3. Préparation de l'émulsion**

En tenant compte des paramètres cités ci-dessus et en faisant des tests d'observations macroscopiques de quelques phénomènes de déstabilisation des émulsions (crémage ou floculation) et en utilisant le logiciel SPSS, la concentration du tensioactif et la vitesse d'agitation optimales ont été choisies.



**Figure 21 :** Photographie légendée de l'Ultra Turrax.



**Figure 22:** Photo d'observation macroscopique des phénomènes d'instabilité des émulsions.

Une fois la formulation réalisée, une émulsion de 500 ml est préparée. Cette dernière est pulvérisée dans un atomiseur afin de la réduire en poudre.

## **XII.2. Séchage par pulvérisation (Atomisation)**

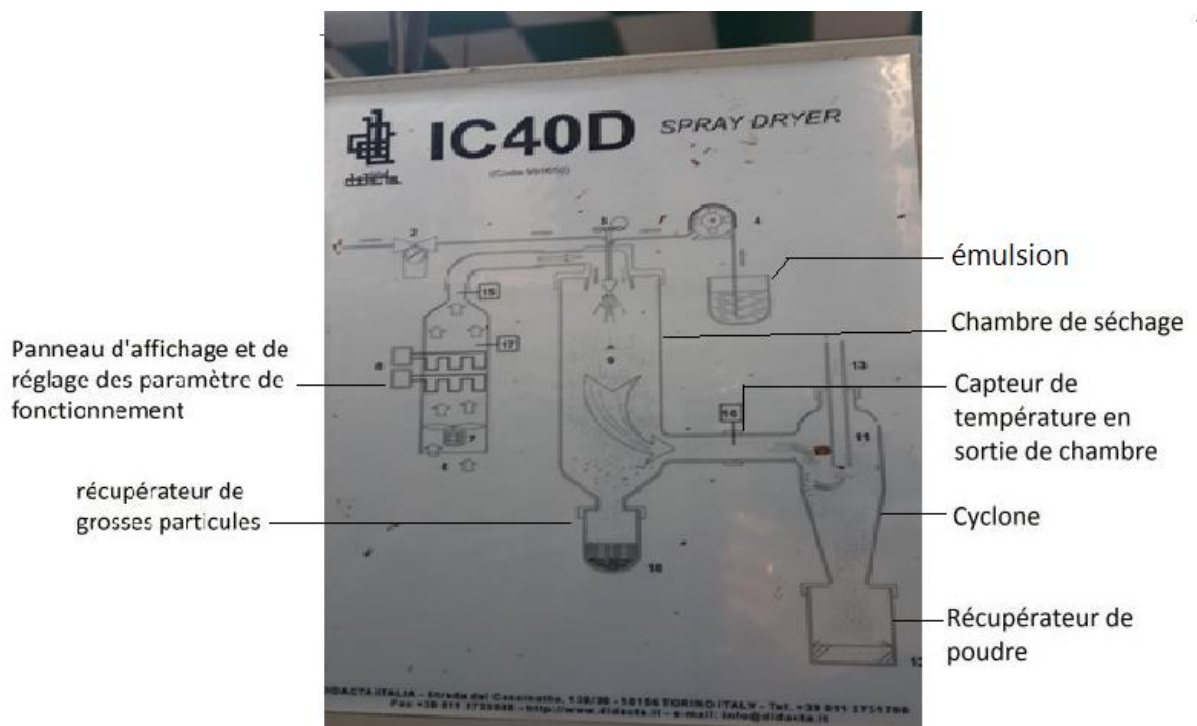
L'atomiseur utilisé est de marque **IC 40D spray drayer (Figure 23)**. Le séchage par pulvérisation (nébulisation ou Spray-drying) implique l'atomisation des émulsions dans une chambre de séchage à une température relativement élevée, ce qui conduit à une évaporation très rapide de l'eau, et par conséquent, la croûte formée à une vitesse rapide permet le piégeage quasi instantané des huiles (solidification de la capsule) (**Tonon et al., 2011**). Le séchage par pulvérisation nécessite également des conditions de fonctionnement bien ajustées, ainsi qu'une composition correcte de la solution contenant les principes actifs afin d'obtenir une haute efficacité d'encapsulation (**Gallo et al., 2011**). L'émulsion formée doit être stable sur une certaine période de temps, avant l'étape de séchage par pulvérisation. La température d'alimentation, la température d'entrée, et de sortie de l'air doivent être optimisées dans ce procédé (**Liu et al., 2004**).

Lorsque la température d'alimentation est augmentée, la taille des gouttelettes devrait être diminuée. Cependant, l'évaporation ou la détérioration de certains composants thermosensibles peuvent être provoqués par les hautes températures. Pour s'assurer que chaque gouttelette pulvérisée atteint le niveau de séchage souhaité, le débit d'alimentation de l'atomiseur est ajusté, avant de pulvériser dans la chambre de séchage (**Zbicinski et al., 2002**). La température d'entrée de l'air est directement proportionnelle à la vitesse de séchage des microcapsules et à la teneur en eau du produit final. Cependant, une haute température d'entrée de l'air peut provoquer une évaporation excessive et entraîner des fissures sur la membrane induisant la libération prématurée et la dégradation de l'ingrédient encapsulé ou une perte des substances volatiles (**Zbicinski et al., 2002**). La température de sortie de l'air doit être contrôlée par la température d'entrée de l'air et le débit d'alimentation. Si la température de sortie de l'air est élevée, cela aidera à former une structure compacte de paroi (**Liu et al., 2004**). Il est assez difficile de prévoir cette température de sortie de l'air pour un produit donné, car elle dépend des caractéristiques de séchage de la matière. Le choix des conditions opératoires du séchage par atomisation dépend strictement du type de matière première utilisée et elles sont souvent déterminées par l'expérience.





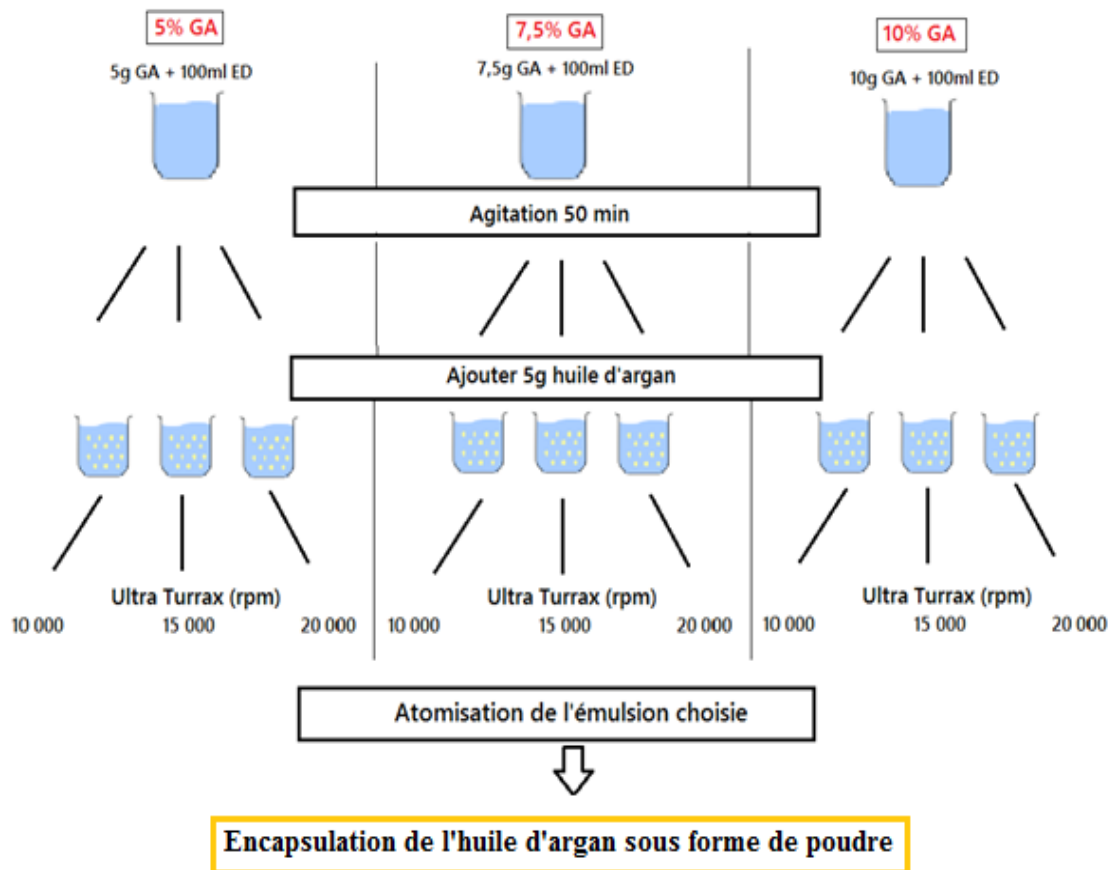
(a)



(b)

**Figure 23 :** Photographie de l'atomiseur (a) et schéma de la technique d'atomisation (b).

Les différentes étapes utilisées dans le protocole de l'encapsulation de l'huile d'argan par la méthode d'émulsification suivit d'un séchage par atomiseur sont résumées ci-dessous (**Figure 24**).



GA : gomme arabique ; ED : eau distillée

**Figure 24 :** Protocole expérimental de la microencapsulation de l'huile d'argan.

### **XII.3. Teneur en eau des particules de la poudre**

La teneur en eau des particules a été déterminée selon la méthode normalisée du codex Alimentarius de la **FAO (1999)**.

0.5g (P1) de la poudre est pesé dans une boîte de pétri en verre sans couvercle déjà pesée (P0) avec une balance de précision. La boîte de pétri, contenant l'échantillon, est ainsi pesée (P2) puis incubé dans une étuve à 100°C pendant 24H. La boîte de pétri est ensuite pesée une deuxième fois (P3). La teneur en eau des particules de la poudre a été calculée par la formule suivante :

$$\frac{(P2 - P3)}{(P2 - P0)} * 100$$

**P0** : Poids de la boîte de pétri vide (g)

**P2** : Poids de la boîte de pétri +poudre, avant séchage (g)

**P3** : Poids de la boîte de pétri +poudre, après séchage (g)

### **XII.4. Teneur totale en huile des particules de la poudre**

La teneur totale en huile dans les particules a été réalisée selon le protocole décrit par **Desobry et al. (1997)** et rapporté par **Ax et al. (2003)**. Dans un bêcher, 1g de poudre est pesé (P1), auquel sont ajoutés 15mL d'eau distillée. Après agitation pendant 30min, le mélange est placé dans un tube de centrifugation puis 20mL d'hexane sont ajoutés. Le tube est vortexé pendant 30 seconde puis centrifugé à 4000rpm pendant 10min. Ensuite avec une pipette pasteur la phase organique de l'hexane est prélevée et placée dans une boîte de pétri en verre sans couvercle déjà pesée (P0). La boîte de pétri, contenant la phase organique de l'hexane, est placée dans une étuve (à 50°C) jusqu'à disparition de l'hexane puis pesée, après séchage (P2).

La teneur de l'huile d'argan dans les particules de la poudre a été calculée par la formule suivante :

$$\frac{(P2 - P0)}{(P1)} * 100$$

**P0** : Poids de la boîte de pétri vide (g)

**P1** : Poids de la poudre (g)

**P2** : Poids de la boîte de pétri +phase organique, après séchage (g)

### **XII.5. Détermination de la teneur en acides gras de la poudre**

La composition en acides gras de la poudre a été déterminé par analyse chromatographie en phase gazeuse (CPG), en utilisant le même principe suivit pour l'huile d'argan brute.



## **3<sup>ème</sup> PARTIE**

---

### **Résultats et discussion**

## **I. Aspect de l'huile d'argan extraite**

L'huile d'argan extraite des amandons a une couleur dorée ambrée (jaune pâle) et une odeur de noisette caractéristique de l'huile d'argan alimentaire.

## **II. La teneur en insaponifiable**

La teneur en insaponifiable de l'huile d'argan étudiée est de (1.1%), ce qui est en accord avec les teneurs en insaponifiable des huiles d'argan vierges dont la teneur est ( $\leq 1,1\%$ ), valeur fixée par la norme marocaine N.M. 08.5.090 (SNIMA, 2003)

## **III. Les indices physico-chimiques**

### **III.1. L'indice de densité**

L'indice de densité ( $d_{20}$ ) est considéré comme un critère physique contrôlant la pureté de l'huile (Karleskind, 1992). La valeur obtenue (0,909) corrobore avec la norme marocaine dont les valeurs sont comprises entre 0.906-0.919 (SNIMA., 2003). Selon Karleskind, (1992), l'huile étudiée est de type oléique-linoléique puisque sa densité se rapproche de celle de l'huile d'olive (0.910 – 0.916).

### **III.2. L'indice de réfraction**

L'indice de réfraction donne des informations sur les propriétés des acides gras insaturés de l'huile. En effet, il augmente avec l'insaturation des huiles (Oile, 2002). La valeur enregistrée est de 1,469 Meq O<sub>2</sub>/kg d'huile, elle se trouve dans l'intervalle fixé par la norme marocaine (1.463-1.472 Meq O<sub>2</sub>/kg d'huile) (SNIMA., 2003).

### **III.3. L'indice d'acidité**

L'indice d'acidité permet à la fois de classer les huiles et de donner une idée sur l'évolution d'altération de l'huile (Gharby et al., 2014). Cet indice, estimé à 1,12% d'acide oléique, est nettement inférieure à la limite fixée par la norme marocaine ( $\leq 2,5\%$ ) (SNIMA., 2003). Il est à signaler que notre huile est classée comme « vierge fine » puisqu'elle présente un degré d'acidité inférieur à 1,5%.

### III.4. L'indice de saponification

L'indice de saponification permet d'estimer les longueurs des chaînes carbonées. En effet, il décroît avec la longueur de ces chaînes. Notre résultat est égal à (192,681mg KOH/g d'huile). Cette valeur est entre l'intervalle établi par la norme marocaine (189.0–199.1mg KOH/g d'huile) (**SNIMA., 2003**).

Il convient de noter que les valeurs de l'analyse physicochimique de l'huile répondant aux exigences de la norme marocaine 08.05.090 (**SNIMA., 2003**). On peut donc en déduire que l'huile étudiée est vierge, pure, fraîche, non siccatrice, riche en acide gras insaturés et non toxique.

## IV. Détermination des teneurs en acides gras de l'huile d'argan (Tableau 8) (Figure A1 en annexe)

L'identification de la composition en acide gras de l'huile d'argan a été réalisée par CPG. Les résultats montrent que les acides gras insaturés, l'acide oléique (45,06%) et l'acide linoléique (35,87%) représentent les constituants prédominants. Suivi par deux acides gras saturés, l'acide palmitique (11,99 %) et de l'acide stéarique (6,17 %). Les autres acides gras sont rencontrés à l'état de trace (<0,5 %). Ces résultats, sont conformes à ceux de **Charrouf et al. (2002)**, **Khallouki et al. (2003)** et **Belarbi-Benmahdi et al. (2009)**, ainsi qu'à la norme marocaine (**SNIMA, 2003**). L'huile étudiée est donc de type oléique-linoléique ce qui lui confère d'excellentes valeurs nutritionnelles et nutraceutiques (**Charrouf et Guillaume., 2008**).

L'acide linoléique est trouvé à l'état de traces. **Hilali et al. (2005)** et **Harhar et al. (2010)** ont rapporté des proportions de 0,030 à 0,10% et de 0,10 à 0,20%, respectivement. La faible teneur en acide linoléique (>0,2%) est un critère de pureté de l'huile (**SNIMA, 2003**). Elle permet d'identifier sans équivoque la présence d'autres huiles telles que l'huile de soja ou de colza (5.0-14.0) (**Codex, 2003**). Les autres acides gras n-3 de cette série tels que l'acide éicosapentaénoïque (C20: 5n-3) et le docosahexénoïque DHA (C 22: 6n-3) ne sont pas détectés dans l'huile d'argan (**Radi, 2003**). Par conséquent, l'alimentation en huile d'argan devrait être complétée par d'autres sources supplémentaires d'oméga 3, comme l'huile de noix ou de colza ou par le poisson gras (**Rahmani, 2005**). L'absence d'acide érucique (C22: 1) indique que l'huile d'argan est une huile non toxique et comestible (**Rahmani, 2005**).

## V. Détermination des teneurs en tocophérols (Tableau 9) (Figure A2 en annexe)

L'huile d'argan est particulièrement riche en tocophérols. L'analyse chimique effectuée par HPLC, nous a permis de déterminer une teneur estimée à 742,35 mg/kg. Cette valeur est conforme à la norme marocaine (SNIMA, 2003). Cependant, elle est plus élevée que celle de Tindouf, extraite par l'hexane (657,42mg/kg) (Kouidri et al, 2015). L'huile d'argan algérienne est également plus riche en tocophérols que l'huile d'argan marocaine estimées à 636mg/Kg (Khallouki et al., 2003) et 415,83 mg/Kg (Marfil et al., 2011).

Le tocophérol majoritaire est le  $\gamma$ -tocophérol (576,29 mg/kg). Bien que cette concentration est inférieure à la norme marocaine (SNIMA, 2003), elle reste supérieure à certaines trouvées dans la littérature, à savoir celle de l'étude de Khallouki et al. (2003) (480 mg/kg) et Kouidri et al. (2015) (555,83 mg/kg). Suivi par le  $\delta$ -tocophérol (99,41mg/Kg) et l' $\alpha$ -tocophérol (66,65 mg/Kg). Le  $\beta$ -tocophérol, se trouve à l'état de trace. Ces résultats se trouvent dans les intervalles établis par la norme marocaine (SNIMA, 2003). Khallouki et al. (2003) ont rapporté que le  $\delta$ -tocophérol et l' $\alpha$ -tocophérol, de l'huile d'argan alimentaire marocaine, représentent des taux de 122 mg/kg et 35 mg/kg, respectivement. Quant à Belarbi-Benmahdi et al. (2009), ils ont rapporté une valeur de 20 mg/Kg pour le  $\alpha$ -tocophérol pour l'huile d'argan de Tindouf extraite par le soxhlet.

Les tocophérols ont une grande importance pour la stabilité de l'huile d'argan, mais ils se dégradent lorsqu'ils sont exposés à des conditions de stockage inappropriées. Ainsi, il est possible que la teneur en tocophérol de l'huile d'argan soit améliorée en assurant de bonnes procédures d'extraction et de stockage. Les différences de niveaux de tocophérols varient également en fonction de l'origine géographique des fruits, de l'altitude, du climat, des cultivars et des facteurs génétiques (Hilali et al., 2005).

## VI. Détermination des teneurs en phytostérols (Tableau 9) (Figure A3 en annexe)

L'analyse chromatographique, par HPLC, des stérols de l'huile d'argan de la région de Tindouf a décelé la présence de quatre stérols.

Les stérols présents dans l'huile d'argan sont uniques au regard de leur combinaison. Ce sont des  $\Delta$ -7-stérols, qu'on rencontre rarement dans les huiles végétales (Adlouni, 2010). Selon les résultats, les stérols majoritaires identifiés dans notre huile sont le schotténol (46,86 %) et le Spinastérol (39,78%). Quant aux stigma-8-22-diène- $\beta$ -ol, et le  $\Delta$ -7 avénastérol, leurs

valeurs enregistrées sont de (8,76 % et 4,26 %, respectivement). Nos teneurs sont conformes aux normes marocaines (**SNIMA, 2003**), malgré une légère augmentation de la teneur du stigma-8-22-diène- $\beta$ -ol. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par (**Khallouki et al., 2003**). En effet, les principaux stérols de l'huile marocaine identifiés, par GC-MS, sont : le schotténol (48%) et le spinastérol (40%), avec des quantités mineures pour le stigma-8-22-diène- $\beta$ -ol. Nos résultats concordent également avec l'étude de **Badr Eddine et al. (2015)**, qui ont identifié le schotténol (46,54 %) et le spinastérol (39,03%) comme stérols majoritaires. Les stigmasta-8,22- diène et le delta 7-Avenasterols sont estimés à une teneur faible (<à 7 %).

**Tableau 8 :** Composition en acides gras de l'huile d'argan

Acides gras	Huile d'argan de la région de Tindouf	Norme marocaine SNIMA, 2003
A. Oléique, C18:1 $\omega$ -9	45,06 $\pm$ 1,54 %	43-49 %
A. Linoléique, C18:2 $\omega$ -6	35,87 $\pm$ 1,17 %	29,3-36 %
A. Palmitique, C16:0	11,99 $\pm$ 0,12 %	11,5-15 %
A. Stéarique, C18:0	6,17 $\pm$ 0,39 %	4,3-7,2 %
A.Linolénique, C18:3 $\omega$ -3	Trace	$\leq$ 0.2 %
A.Gadoléique, C20:1	0,46 $\pm$ 0,06 %	$\leq$ 0,5 %
A.Arachidique, C20:0	0,45 $\pm$ 0,12 %	$\leq$ 0,5 %
A.Palmitoléique, C16:1	-	$\leq$ 0.2 %

**Tableau 9 :** Composition en tocophérols et stérols de l'huile d'argan

	Huile d'argan de la région de Tindouf	Norme marocaine SNIMA, 2003
<b>Total tocophérol</b>	742,35 $\pm$ 16,64 mg/kg	600-900 mg/Kg
$\alpha$ -tocophérol	66,65 $\pm$ 15,76 mg/kg	2.4–4.8% 18-75 mg/Kg
$\beta$ -tocophérol	trace	0.1–0.2% 1-5 mg/kg
$\gamma$ -tocophérol	576,29 $\pm$ 30,67 mg/kg	81-89% 640-810 mg/kg
$\delta$ -tocophérol	99,41 $\pm$ 7,95 mg/kg	6.2–8.2% 54-110 mg/kg
<b>Total sterol</b>	99,66 $\pm$ 0,24 %	$\leq$ 180 mg/100 g
Schotténol	46,86 $\pm$ 0,19 %	44–49%
Spinastérol	39,78 $\pm$ 0,14 %	34–44%
Stigmasta 8-22-dien- $\beta$ -ol	8,76 $\pm$ 1,03 %	3.2–5.7%
$\Delta$ -7 avénastérol	4,26 $\pm$ 0,84 %	4–7%

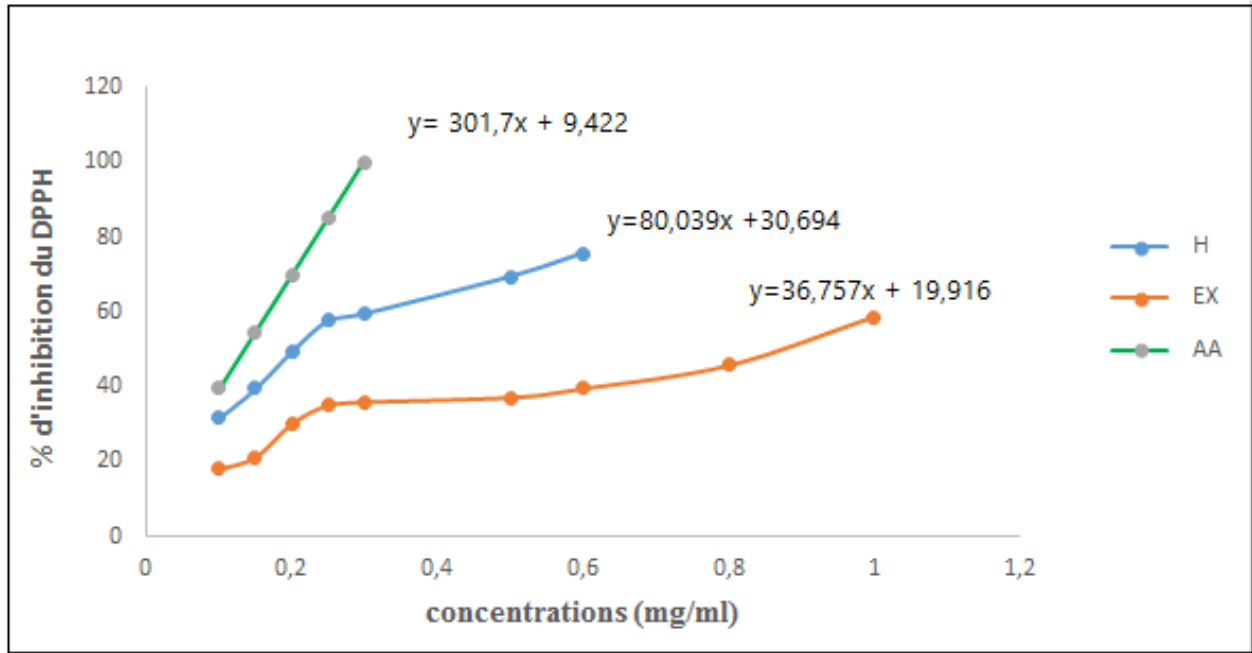
## VII. Evaluation de l'activité antioxydante

Conventionnellement une grande capacité de piégeage ou de réduction des radicaux libres est considérée comme une grande activité antioxydante (Lee et al., 2007).

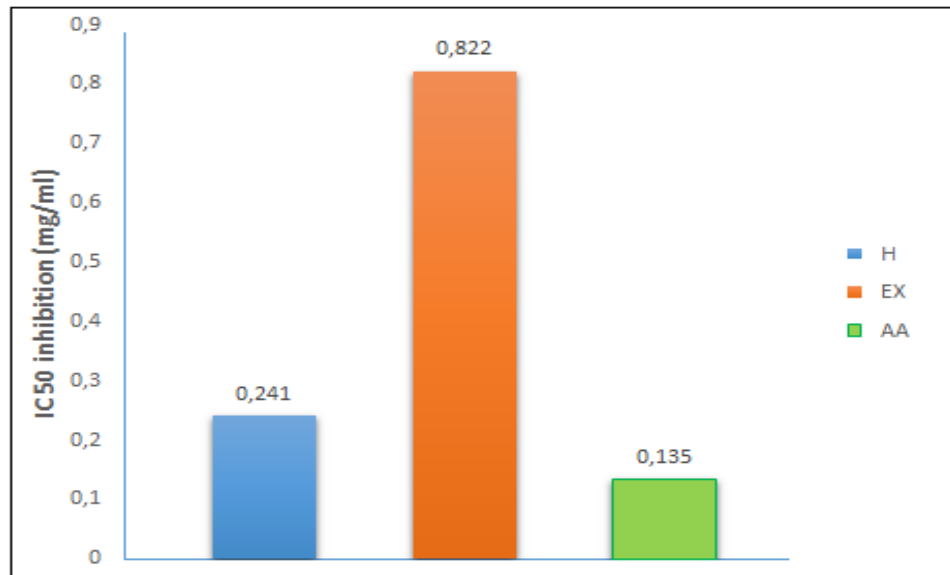
### VII.1. Test de DPPH (Figures 25 et 26), (Tableau A1 en annexes)

Les valeurs obtenues, par une analyse spectrophotométrique à 517 nm, ont permis de tracer les courbes de la variation de la réduction du DPPH en fonction de la concentration en échantillons ou en antioxydant de référence et qui se traduit par le passage de la couleur violette à la couleur jaune. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> ont été calculées à partir de ces courbes. La valeur d'IC<sub>50</sub> reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50% la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Elle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé.

Les résultats illustrent l'efficacité de l'huile d'argan totale et de l'extrait insaponifiable à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition (% I DPPH) en fonction des différentes concentrations. L'évolution de l'activité anti-radicalaire est dose-dépendante, car elle augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel. Les valeurs des IC<sub>50</sub> nous ont permis d'évaluer et de comparer l'efficacité entre nos différents échantillons. Il ressort des résultats enregistrés que l'huile d'argan avec une IC<sub>50</sub>=0,241 mg/ml à une meilleure activité antiradicalaire que l'extrait insaponifiable (IC<sub>50</sub>=0,822mg/ml). Nous constatons également que l'IC<sub>50</sub> de l'huile d'argan totale est assez proche de celle de l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de IC<sub>50</sub>=0,135 mg/ml.



**Figure 25 :** Pourcentage d’inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l’huile d’argan (H), de l’extrait insaponifiable (EX) et de l’acide ascorbique (AA).



**Figure 26 :** 50% d’inhibition du radical DPPH (IC<sub>50</sub>) de l’huile d’argan (H), de l’extrait insaponifiable (EX) et de l’acide ascorbique (AA).



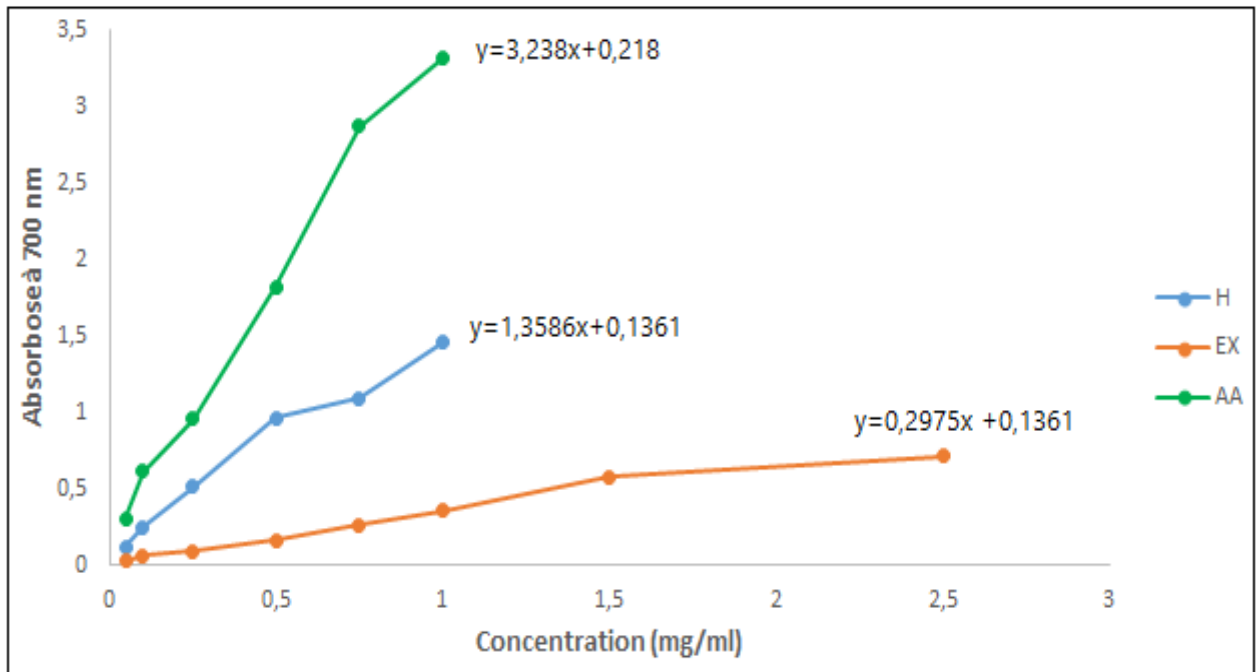
## VII.2. Test de FRAP (Figures 27 et 28), (Tableau A2 en annexes)

La mesure de la densité optique à 700nm des différentes concentrations de l'huile d'argan totale, de l'extrait insaponifiable et de l'antioxydant de référence, nous ont permis de tracer des courbes pour chaque échantillon, à partir desquelles nous avons calculé la valeur  $EC_{50}$ , qui est définie comme étant la concentration effective à laquelle l'absorbance est égale à 0,5 nm. Elle est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante.

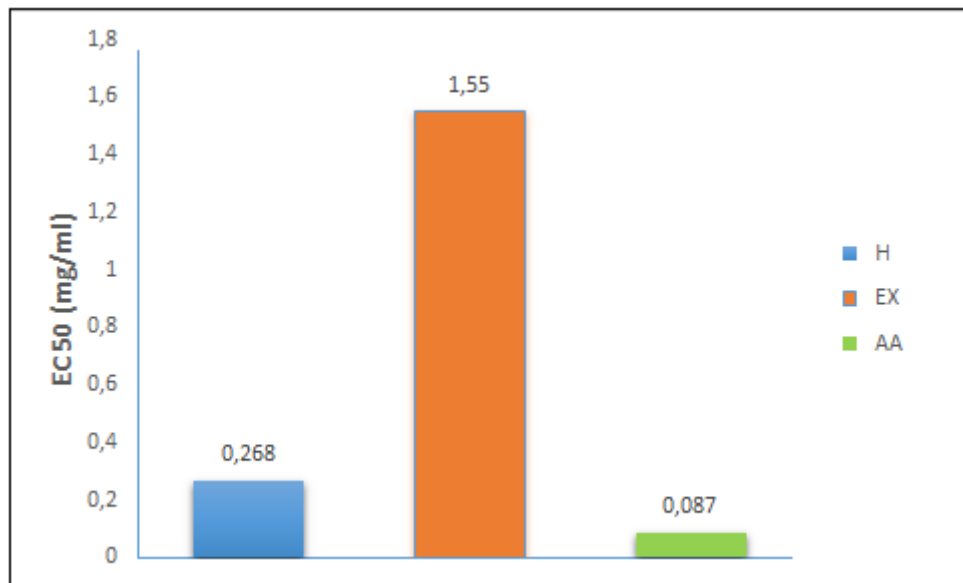
Les résultats indiquent clairement que le pouvoir réducteur du fer varie linéairement avec la variation de la concentration en extrait. D'autre part, les  $EC_{50}$  confirment que l'huile d'argan totale, avec une ( $EC_{50}= 0,268$  mg/ml) à une meilleure activité que l'extrait insaponifiable ( $EC_{50}=1,55$  mg/ml), mais qui reste inférieure à celle de l'acide ascorbique ( $EC_{50}=0.087$  mg/ml).

A la lumière de nos résultats, l'huile d'argan totale et l'extrait insaponifiable présentent des activités considérables vis-à-vis de l'inhibition du radical DPPH et la réduction du fer ferrique en fer ferreux, correspondant à une bonne capacité antiradicalaire. Cependant, l'huile a révélé une meilleure activité antioxydante que sa fraction insaponifiable. Ce qui n'est pas en accord avec les travaux de **Noui et al. (2013)**. Or, nos résultats sont meilleurs que leur extrait insaponifiable ( $IC_{50}= 4,80$  mg/ml) et leur huile totale extraite par le soxhlet ( $IC_{50}= 15,33$  mg/ml). Cela peut être expliqué par la différence du mode d'extraction de l'huile.

La forte synergie entre les composés de la fraction saponifiable et insaponifiable de l'huile d'argan peut expliquer la plus grande efficacité antiradicalaire de l'huile que l'extrait insaponifiable. Dans des travaux antérieurs, menés par **Kechebar et al. (2017)**, ont montré que les fractions saponifiables de l'huile artisanale Algérienne, avec une ( $IC_{50}= 15,5$  mg/ml), possède une activité contre l'ABTS significativement plus efficace que la fraction insaponifiable ( $IC_{50} = 24,5$  mg/ml). Contrairement aux tests de DPPH et l'inhibition du blanchiment de la  $\beta$ -carotène. En outre, ils ont révélé que la fraction saponifiable de l'huile d'argan issue par extraction artisanale est plus efficace contre le l'ABTS et l'inhibition du blanchiment de la  $\beta$ -carotène que la fraction saponifiable de l'huile d'argan extraite par presse mécanique.



**Figure 27 :** Pouvoir réducteur du Fer en fonction de la concentration de l’huile d’argan (H), de l’extrait insaponifiable (EX) et de l’acide ascorbique (AA)



**Figure 28 :** Pouvoir réducteur du fer exprimé en EC<sub>50</sub> (mg/ml) de l’huile d’argan (H), de l’extrait insaponifiable (EX) et de l’acide ascorbique (AA)

## VIII. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo

L'induction de l'œdème par la carragénine chez le rat et la souris est un modèle animal expérimental standard, approprié pour évaluer l'effet antiœdémateux de divers composés bioactifs de plantes (**Santos et Rao, 2000**) et pour l'étude de nouveaux médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (**Yin et al., 2000; Ziyen et al., 2007**).

### VIII.1. Test de toxicité

Après l'administration orale de l'huile d'argan à des doses de (5 et 8 mg / kg) et de la fraction insaponifiable (10 et 15 mg / kg), aucun changement de comportement ni de mortalité n'ont été enregistrés chez tous les animaux observés 15 jours après l'administration des échantillons.

### VIII.2. Induction de l'œdème inflammatoire (Tableau 9)

Une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots a été notée dès l'injection de la carragénine. Cependant, l'inflammation est plus accentuée chez le lot témoin qui n'a reçu aucun traitement. Prouvant ainsi que la carragénine a bien induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème.

La carragénine, est un produit naturel dérivé d'algues rouges appartenant à une famille de polysaccharides sulfatés linéaires. Son injection sous cutanée conduit au développement d'une réponse inflammatoire (locale) caractérisée par des signes cardinaux bien connus ; gonflement, rougeur, chaleur et une hypersensibilité locale (**Nantel et al., 1999, Meira et al., 2014**). L'inflammation induite est un événement biphasique : la phase initiale, survient entre 0 et 2,5 h après l'injection de l'agent phlogistique, elle est caractérisée par l'action de médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine (1,5 h) et la bradykinine (2,5 h) sur l'augmentation de la perméabilité vasculaire. La phase tardive peut survenir de 2,5 h à 6 h après l'injection de la carragénine, elle est caractérisée par l'infiltration de leucocytes et médiée uniquement par les prostaglandines (**Gomes et al., 2008; Wang et al., 2010**).

L'œdème induit par la carragénine est sensible aux inhibiteurs de la cyclooxygénase, mais pas aux inhibiteurs de la lipooxygénase. Ce test est donc utilisé pour évaluer l'effet des anti-inflammatoires non stéroïdiens, inhibiteurs compétitifs du site actif de la cyclooxygénase, et par conséquent l'inhibition de la synthèse de la prostaglandine (**Ricciotti et al., 2011**). Sachant toutefois que la plupart des anti-inflammatoires sont cliniquement efficaces dans la deuxième phase de l'inflammation (**Olajide et al., 2000 ; Mehmood et al., 2016**).

### **VIII.3. Effet antiinflammatoire de l'huile d'argan**

#### **VIII.3.1. Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) (Tableau 9)**

Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) est plus important chez le groupe control (C) que chez les groupes traités avec l'huile d'argan. 4h après l'injection de la carragénine, une différence significative (\*) est notée entre les groupes de souris ayant reçus (5 et 8 mg / kg d'huile d'argan) et le groupe (C) et une différence très significative (\*\*) après 5h et 6h, entre les trois groupes traités (H1, H2 et Std) comparés aux témoins.

#### **VIII.3.2. Pourcentage d'inhibition du volume de la patte (%INH) (Figure 29)**

Les résultats ont montré que l'huile d'argan (H1), à 4h, avait une inhibition significative par rapport au Diclofenac (Std). Après 4h, aucune différence significative n'a été indiquée entre l'effet de l'huile d'argan algérienne testée (H1 et H2) et celui du produit de référence (Std), avec une meilleure efficacité pour l'huile à la dose de 5 mg/kg que la dose de 8 mg/kg.

### **VIII.4. Effet antiinflammatoire de l'extrait insaponifiable**

#### **VIII.4.1. Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) (Tableau 10)**

Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG) est plus important pour le groupe control (C) que les groupes traités avec l'extrait insaponifiable. Après 5h d'injection de la carragénine. Nous constatons une différence très significative entre le groupe (EX2) traité avec l'extrait insaponifiable (15 mg/kg) et le groupe contrôle (C).

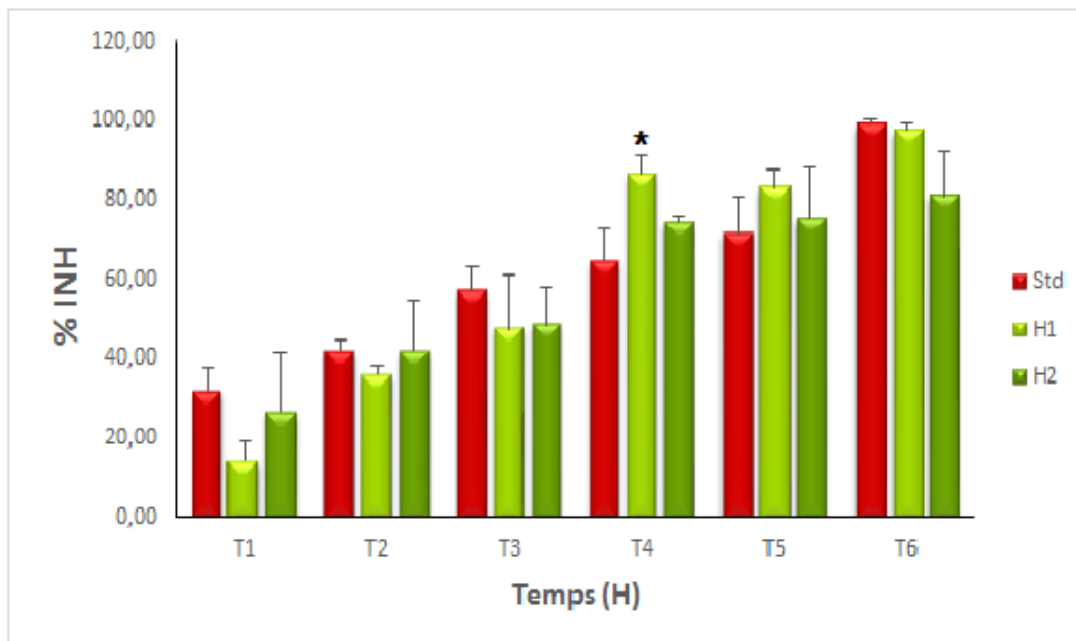
#### **VIII.4.2. Pourcentage d'inhibition du volume de la patte (%INH) (Figure 30)**

En ce qui concerne le pourcentage d'inhibition (%INH) du volume de la patte, nos résultats ont indiqué que, jusqu'à la 4<sup>ème</sup> heure, la fraction insaponifiable de l'huile d'argan à la dose de (10 mg/kg) du lot (EX1) était plus efficace que le lot (EX2), mais elle avait atteint son activité maximale à la 4<sup>ème</sup> heure après l'injection de la carragénine. L'extrait insaponifiable à (15 mg/kg) possède une meilleure activité. En effet, à la 5<sup>ème</sup> heure, il présente un pourcentage d'inhibition de l'œdème plus efficace que celui du Diclofénac (Std) à (50 mg/kg) et aucune différence significative n'a été observée par rapport au groupe standard après la quatrième heure.

**Tableau 10 :** Pourcentage de l'augmentation de l'œdème (% AUG) des groupes : control, traités par l'huile d'argan, l'extrait insaponifiable et le Diclofénac.

Traitement	Doses	1H	2H	3H	4H	5H	6H
Control	(C)	53,93±11,16	39,45±10,41	34,32±10,35	31,95±10,92	23,48±3,29	19,89±4,08
Huile d'argan	5mg/Kg (H1)	46,22±2,61	25,28±0,93	18,01±4,69	4,33±1,34*	4,01±1,17**	0,49±0,41**
	8mg/Kg (H2)	39,16±7,41	34,69±11,59	18,52±2,11	10,08±2,36*	7,93±0,05**	4,13±1,88**
Extrait insaponifiable	10mg/Kg (EX1)	43,57±0,47	26,22±4,80	18,78±3,07	14,97±3,65	20,01±2,56	18,83±0,70
	15mg/Kg (EX2)	40,05±4,64	32,26±4,08	24,78±3,78	15,39±0,93	4,63±3,07**	3,48±2,17**
Diclofenac	50mg/Kg (Std)	36,85±3,285	22,95±1,11	14,75±2,08	11,3±2,59	6,71±2,19**	0,16±0,23**

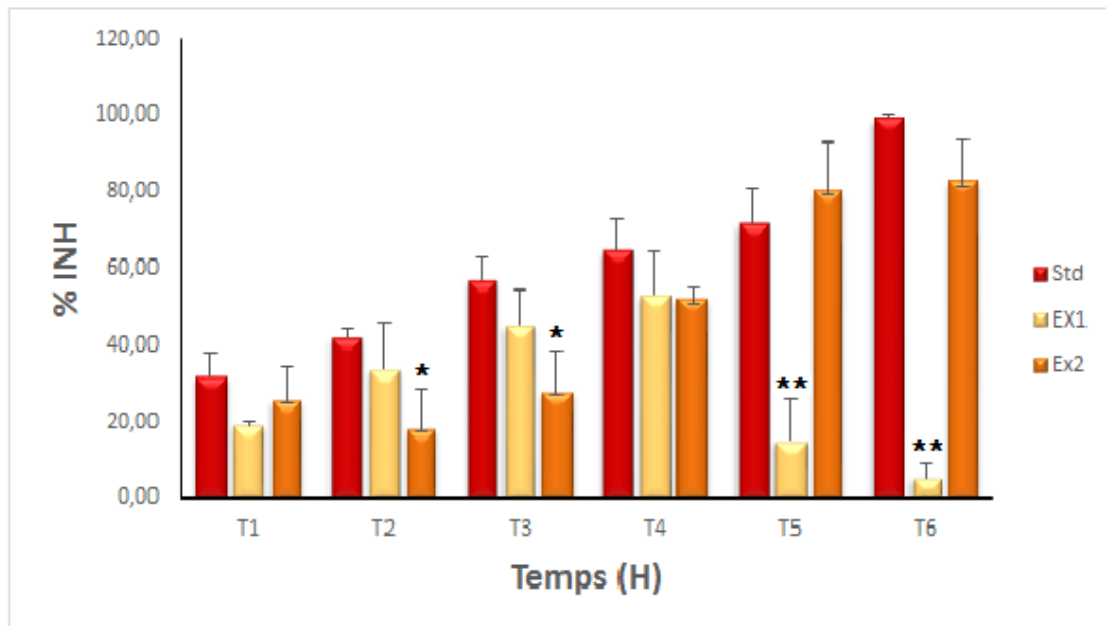
Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM(n=3) ; \* P <0,05 ; \*\*P<0,01



Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=3) ; \* P <0,05 ; \*\*P<0,01

Std : Diclofenac (50mg/Kg) ; H1 : Huile d'argan (5mg/Kg) ; H2 : Huile d'argan (8mg/Kg)

**Figure 29 :** Pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) des groupes traités par l'huile d'argan (H1 et H2) et le Diclofénac (Std).



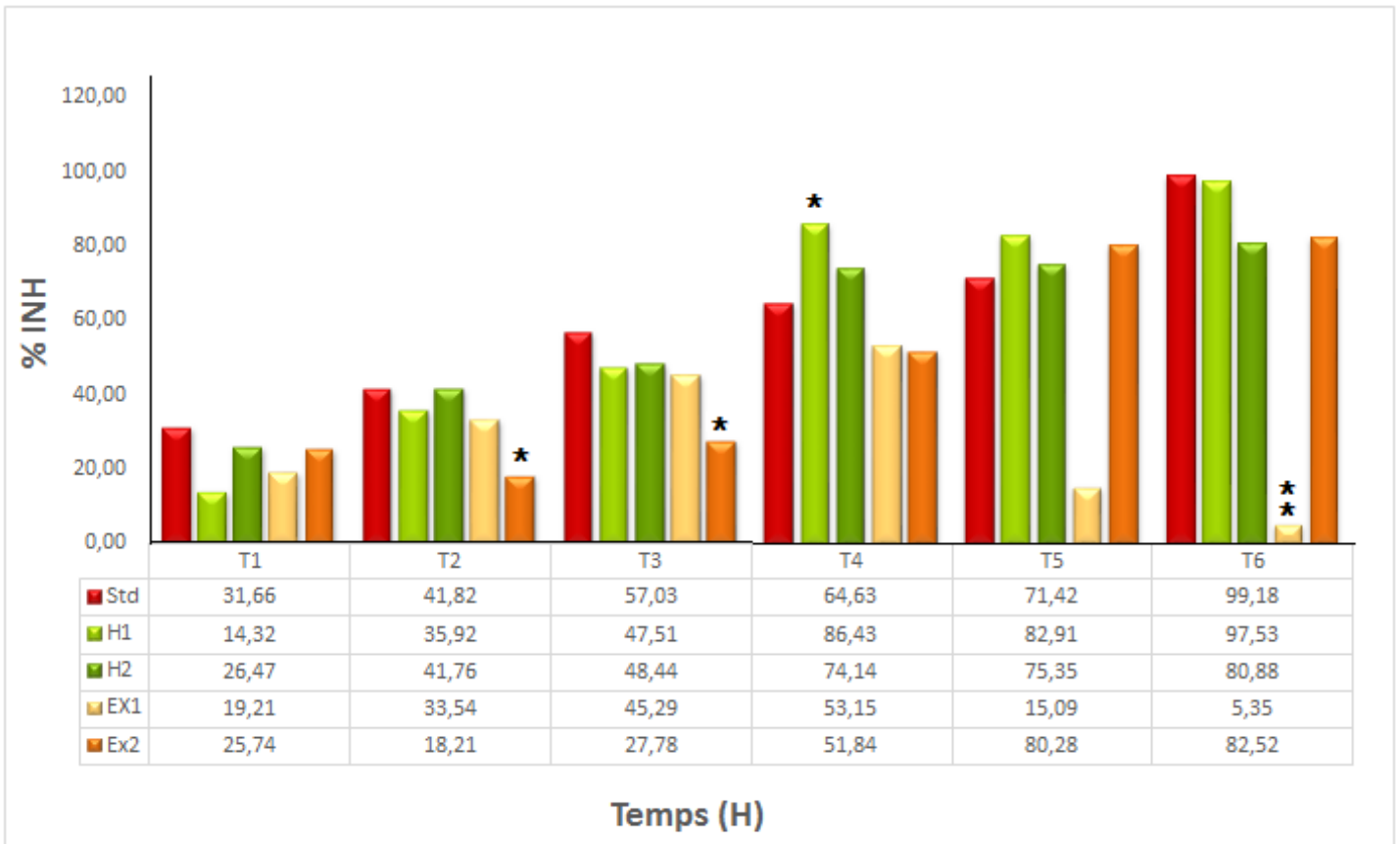
Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n=3); \* P < 0,05 ; \*\*P < 0,01

**Std** : Diclofenac; (50mg/Kg) ; **H1** : Huile d'argan (5mg/Kg) ; **H2** : Huile d'argan (8mg/Kg) ; **EX1** : Extrait insaponifiable (10mg/Kg) ; **EX2** : Extrait insaponifiable (15 mg/Kg)

**Figure 30** : Pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) des groupes traités par l'extrait (EX1 et EX2) et le Diclofénac (Std).

En faisant la comparaison de tous les lots à la 6<sup>ème</sup> heure (**Figure 31**), nous constatons que l'huile d'argan à la dose de 5 mg/kg a induit une inhibition presque totale de l'œdème (%INH= 97,53%), un pourcentage très proche de celui de l'antiinflammatoire de référence, le Diclofenac (%INH= 99,18%), ce qui reflète que l'huile d'argan, même avec une faible dose (5 mg/kg), possède un excellent potentiel d'inhibition de l'inflammation aigüe, meilleur que celui de l'extrait insaponifiable. Quant aux lots (H2) et (EX2), leurs (%INH) se sont avérés un peu plus faibles, mais leur activité inhibitrice reste non négligeable. En effet, l'huile d'argan à la dose de 8mg/ml et la fraction insaponifiable à la dose de 15mg/Kg ont inhibé l'œdème avec des pourcentages de 80,88% et 82,52%, respectivement. Alors que la dose de 10mg/Kg de l'extrait insaponifiable a montré un effet inhibiteur négligeable par rapport aux autres lots.

De ces résultats, nous pouvons déduire qu'un ajustement de dose (une dose légèrement inférieure à 5mg/Kg ou entre 5-8mg/Kg de l'huile d'argan et une concentration supérieure à 15mg/Kg pour la fraction insaponifiable), peut peut-être donner de meilleurs résultats. Une autre suggestion, c'est l'utilisation de tween 80 plus dilué qu'à 15%. En effet, selon des études de **Bony. (2010)**, Le traitement oral, de l'extrait insaponifiable d'huile d'awara dissout dans du Tween 80 à 15%, n'a montré aucun effet inhibiteur sur l'œdème de la patte induit par le carragénine. Alors que **Chaik. (2003)** ont montré que l'administration par voie orale de l'extrait insaponifiable, de la même huile, dissout dans du Tween 80 à 2% induit une inhibition maximale de 60%. Cette différence d'activité pourrait être liée au faible pourcentage de Tween 80 utilisé, permettant une meilleure biodisponibilité des molécules actives.



Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n=3) ; \* P <0,05 ; \*\*P<0,01

**Std** : Diclofenac; (50mg/Kg) ; **H1** : Huile d'argan (5mg/Kg) ; **H2** : Huile d'argan (8mg/Kg) ; **EX1** : Extrait insaponifiable (10mg/Kg) ; **EX2** : Extrait insaponifiable (15 mg/Kg)

**Figure 31** : Pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH) des groupes traités par l'huile d'argan (H1 et H2), l'extrait insaponifiable (EX1 et EX2) et le Diclofénac (Std)

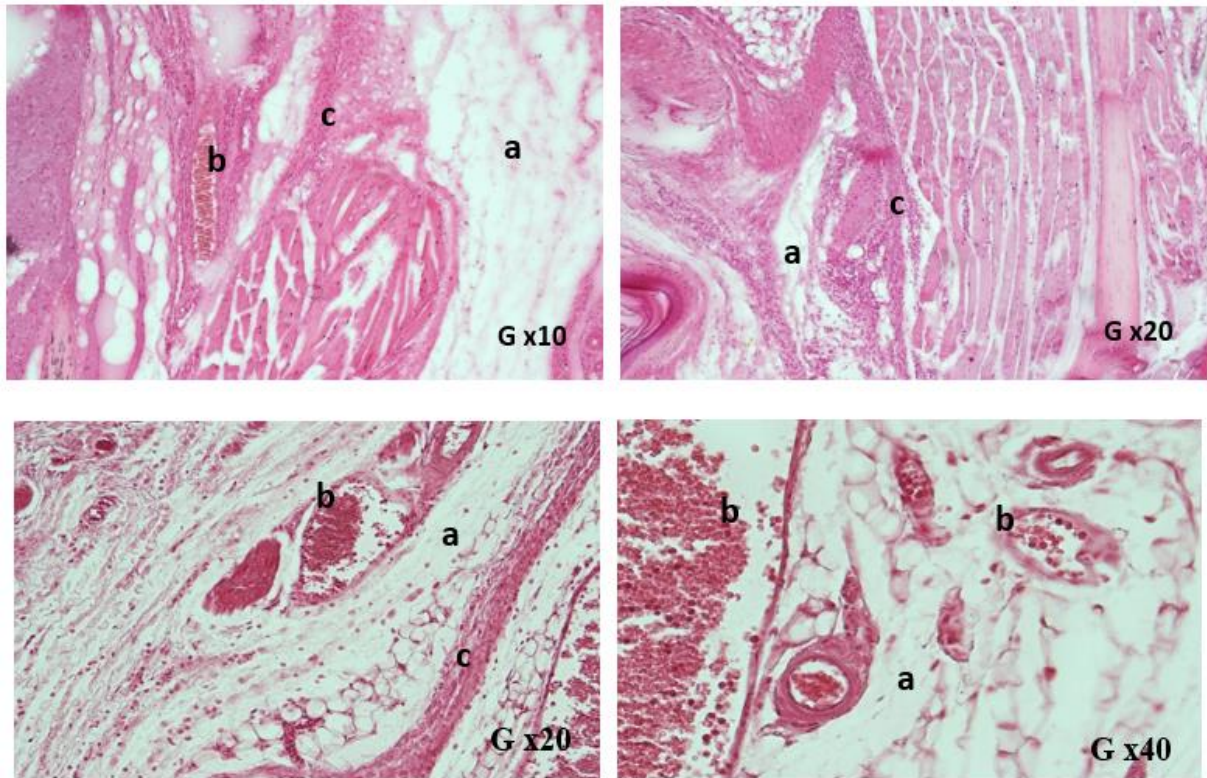


### VIII.5. Etude histologique des pattes de souris (Figures 32 à 37)

L'étude histologique vient confirmer les résultats de pourcentage d'augmentation et d'inhibition de l'œdème (%AUG et %INH). En effet, ils montrent que l'injection de la carragénine a induit une réaction inflammatoire aiguë, représentée par la présence de 3 phénomènes : œdème (a), congestion (b) et infiltrat inflammatoire (c). Cette inflammation est plus importante chez les souris non traitées (C), diminuée chez les groupes traités (H2 et EX1) et beaucoup moins intense chez les groupes traités (Std, H1 et EX2).

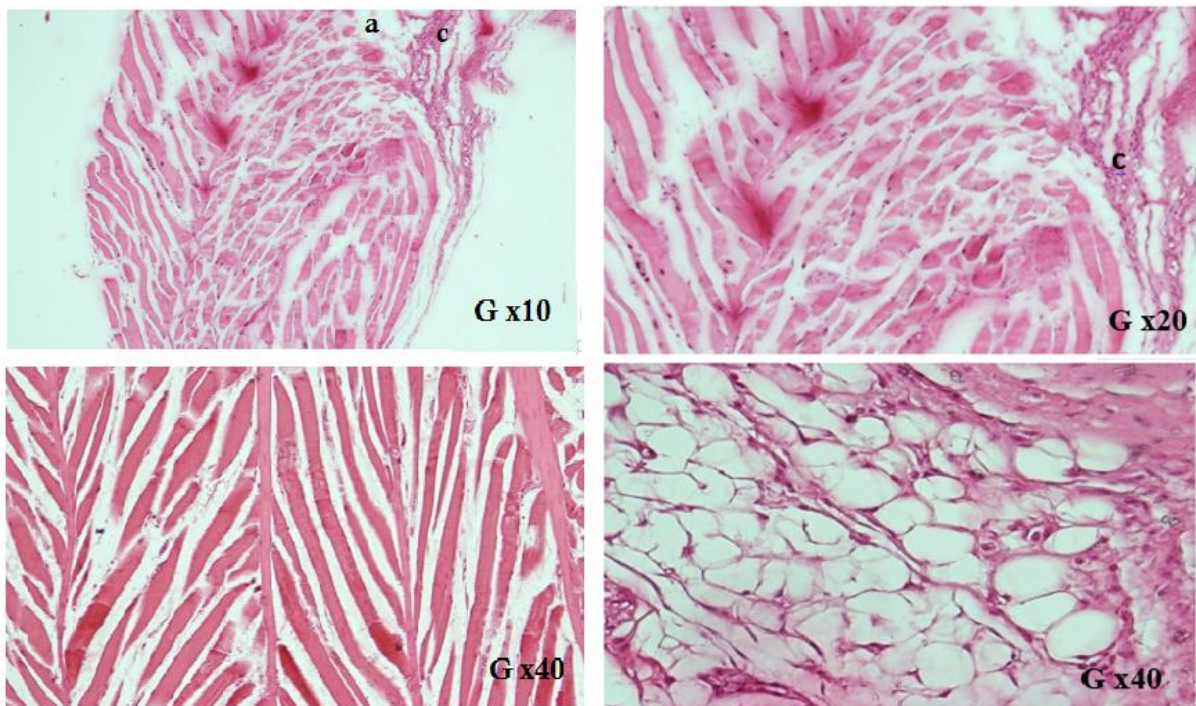
Les phénomènes (œdème, congestion et infiltrat inflammatoire) observés sont en accord avec les travaux de **Rousselet et al. (2005)**, qui ont montré que l'inflammation aiguë entraîne trois phénomènes :

- La congestion active, qui correspond à une vasodilatation artériolaire puis capillaire dans la zone touchée. Au niveau local, cela entraîne une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. Les petits vaisseaux sont alors dilatés et pleins de globules rouges.
- Un œdème inflammatoire qui, au microscope, donne au tissu conjonctif une apparence pâle, immuable et distendue. C'est un exsudat qui s'échappe de la circulation sanguine vers l'espace interstitiel.
- L'infiltrat inflammatoire qui est due à la diapédèse des leucocytes. Il s'agit principalement des cellules polynucléaires, puis un peu plus tard des monocytes et des lymphocytes. Le degré d'accumulation de ces cellules dans les sites inflammatoires est lié au flux sanguin local (**Muller, 2013**).



a: œdème; b: congestion ; c: infiltrat inflammatoire

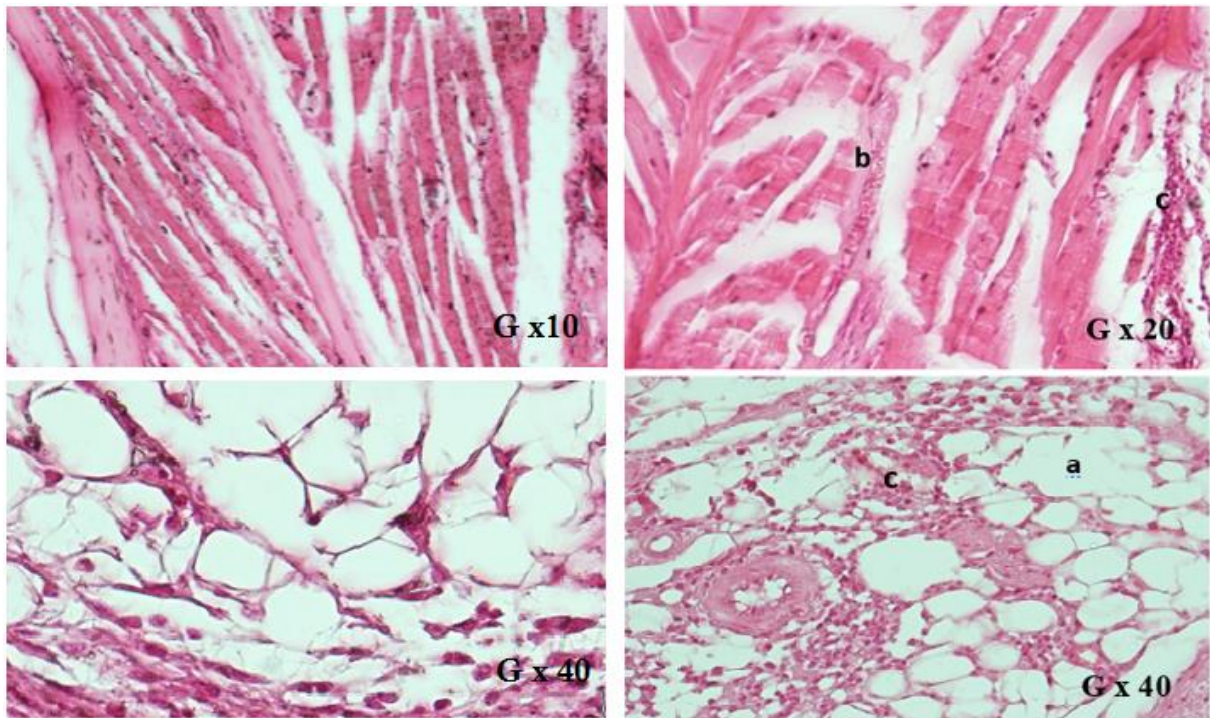
**Figure 32:** Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe contrôle (C), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.



a: œdème ; b: congestion ; c: infiltrat inflammatoire

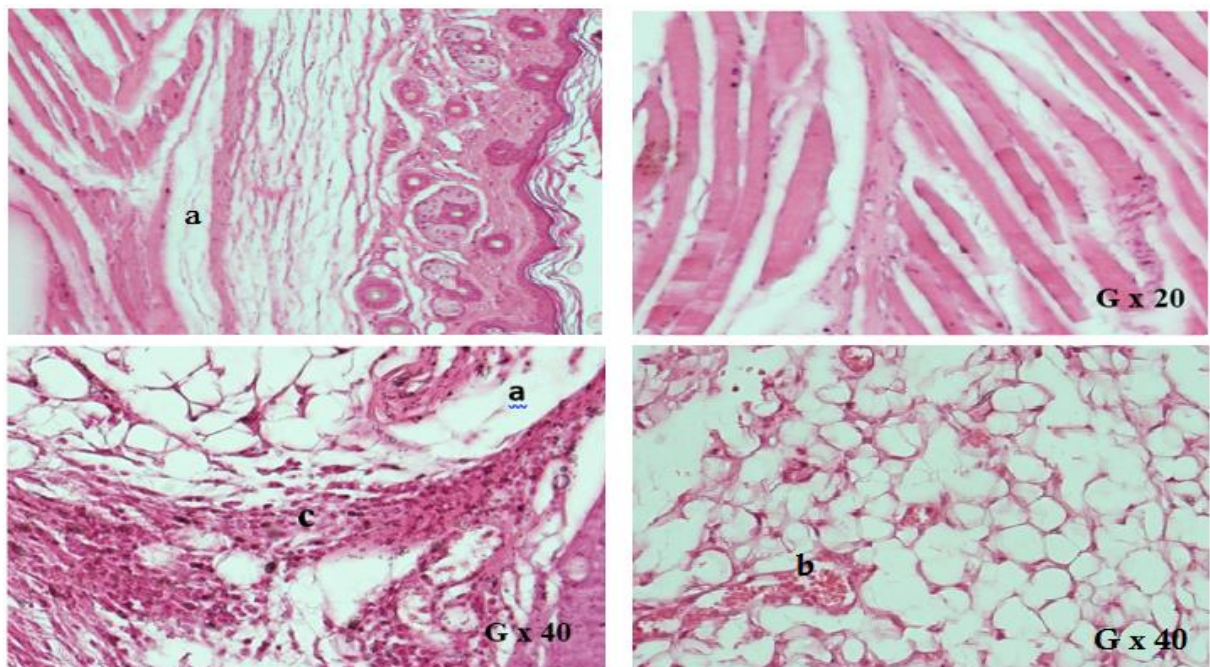
**Figure 33 :** Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe standard (Std), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.





a: œdème ; b: congestion ; c: infiltrat inflammatoire

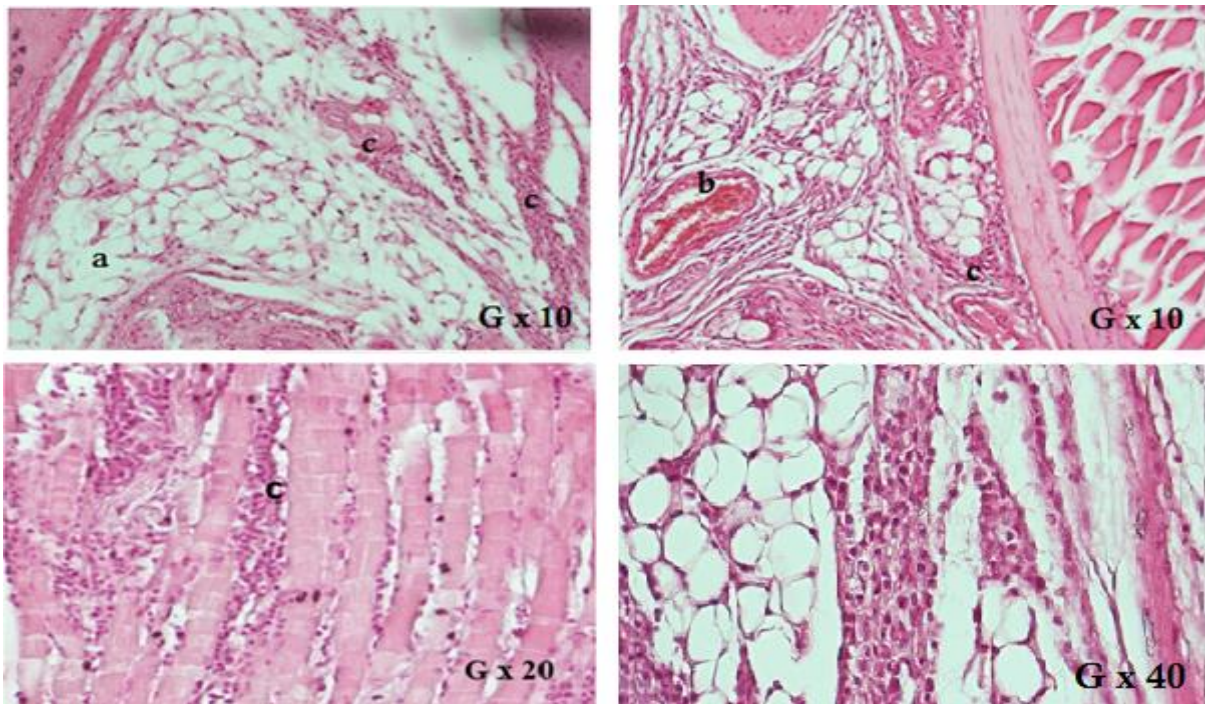
**Figure 34 :** Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'huile d'argan (H1), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.



a: œdème ; b: congestion ; c: infiltrat inflammatoire

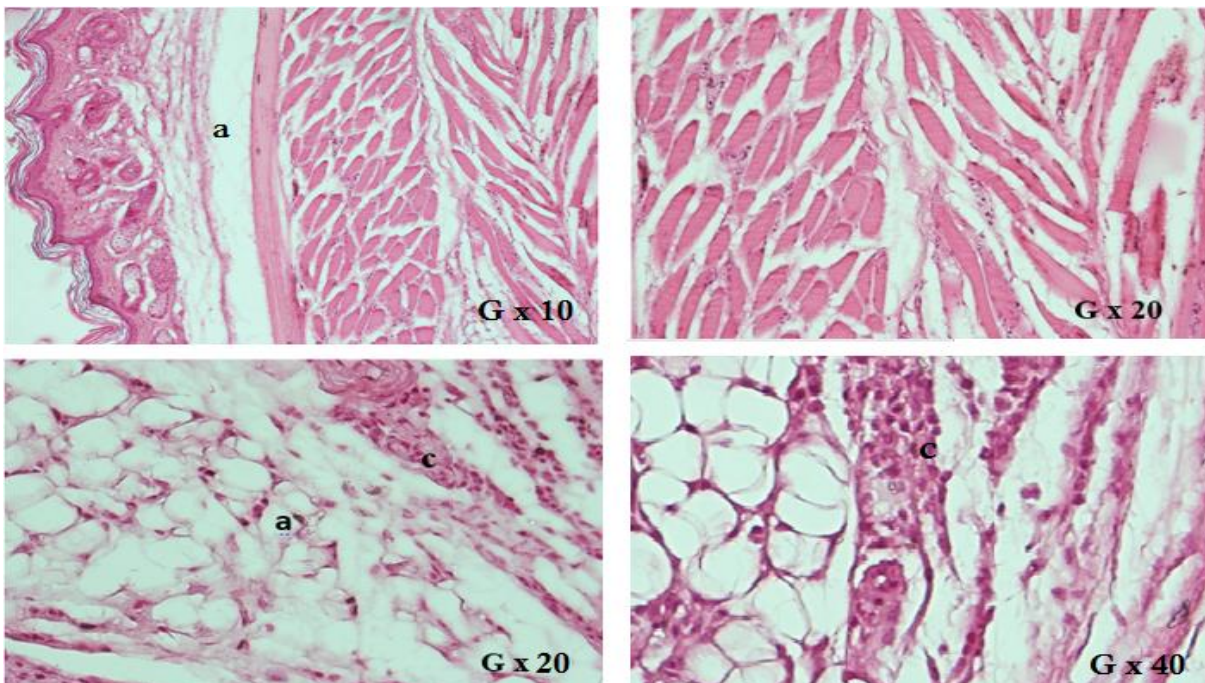
**Figure 35 :** Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'huile d'argan (H2), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.





a: œdème; b: congestion ; c: infiltrat inflammatoire

**Figure 36 :** Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'extrait insaponifiable (EX1), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.



a: œdème ; b: congestion ; c: infiltrat inflammatoire

**Figure 37 :** Observation au microscope optique des tissus des pattes de souris du groupe traité par l'extrait insaponifiable (EX2), après coloration Hématoxyline/Eosines, grossissement x 10, x20 et x40.

## **IX. La microencapsulation**

### **IX.1. Formulation et préparation de l'émulsion**

Après avoir fait l'optimisation de la formulation des émulsions par des tests d'observations macroscopiques de quelques phénomènes de déstabilisation des émulsions (crémage ou floculation) et en utilisant le logiciel (SPSS version 20.0), tout en tenant compte des paramètres qui influent sur la stabilité des émulsions et sur la taille des microcapsules, la concentration du tensioactif et la vitesse d'agitation optimales ont été choisies. Et donc l'émulsion a été préparée avec un mélange de l'huile d'argan à une concentration de (5%) et le tensioactif qui est la gomme arabique avec une concentration de (7,5%). L'émulsion a été homogénéisée en utilisant l'Ultra Turrax à une vitesse de 15000 rpm pendant 10min. l'émulsion obtenue est présentée dans la (**Figure 37**).

L'émulsification est une étape clé dans la microencapsulation des huiles. Elle est généralement utilisée pour l'encapsulation de composés bioactifs dans des solutions aqueuses, qui peuvent soit être utilisées directement à l'état liquide ou être séchées par pulvérisation ou lyophilisation pour former des poudres (**Richard et Benoit, 2000**).

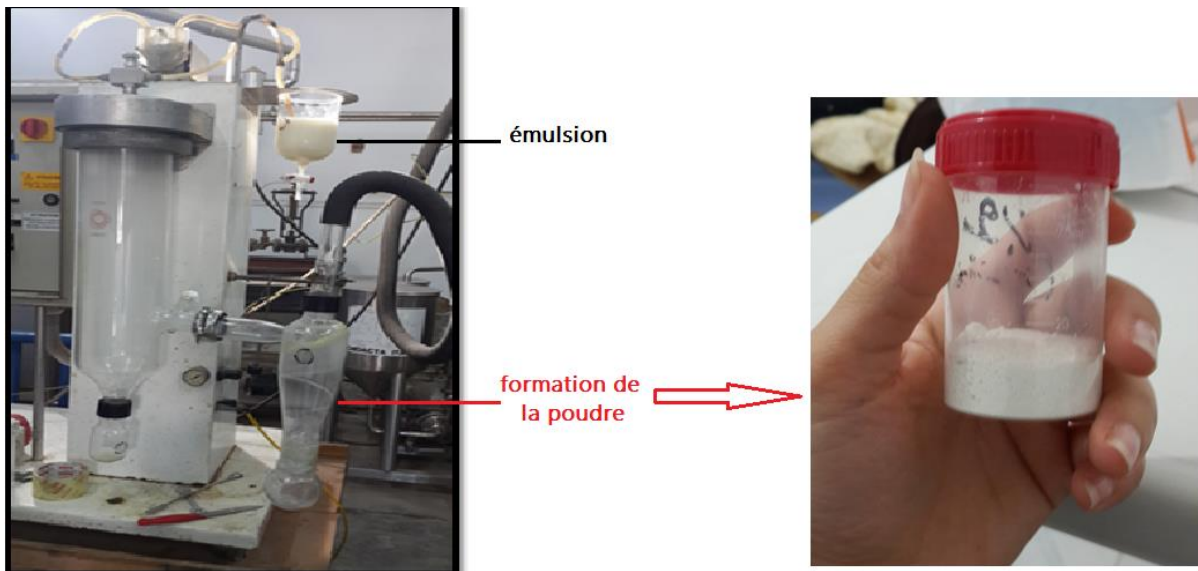
### **IX.2. Obtention de la poudre après séchage par pulvérisation (Figure 38)**

La pulvérisation de l'émulsion, par l'atomiseur de marque **IC 40D spray drayer**, a conduit à l'évaporation très rapide de l'eau, ce qui a induit la solidification de l'émulsion et par conséquent, la formation d'une poudre (l'huile d'argan encapsulée). Les microparticules obtenues par nébulisation-séchage sont généralement des microsphères de taille très petite (1-50 $\mu$ m), avec un taux d'encapsulation limité à 40% (**Richard et Benoit, 2000**).

Le séchage par pulvérisation est une technique qui a été utilisée avec succès depuis plusieurs décennies pour encapsuler diverses huiles dans l'industrie alimentaire, cosmétiques, médicamenteuse (**Liu et Yang, 2011**). Elle permet de produire des microparticules d'une manière relativement simple et peu coûteuse, par rapport à d'autres techniques de microencapsulation. De plus, elle aide à obtenir un produit avec des propriétés fonctionnelles, évite le risque de dégradation des produits chimiques et / ou biologiques. C'est une approche pour maintenir la stabilité des composants et contrôler leurs libérations et finalement, réduit les volumes de stockage et les frais de transport (**Gharsallaoui et al., 2007**). Ceci justifie son utilisation préférée dans le secteur industriel (**Schafroth et al., 2012**).



**Figure 38 :** Photo de l'émulsion préparée.



**Figure 39 :** Photo de la formation de la poudre.



### **IX.3. Teneur en eau des particules de la poudre**

La méthode normalisée du codex Alimentarius de la **FAO (1999)**, nous a indiqué une teneur en eau des particules d'une valeur de **6,986 %**.

### **IX.4. Teneur en huile dans particules de la poudre**

La teneur totale en huile dans les particules, réalisée selon le protocole décrit par **Desobry et al. (1997)** et rapporté par **Ax et al. (2003)**, est de **5, 2%**.

### **IX.5. Détermination des teneurs en acides gras de l'huile d'argan encapsulée (Tableau 11), (Figure A4 en annexe)**

Le profil en acides gras insaturés est représenté principalement par l'acide oléique (40,28%) et l'acide linoléique (31,98%), ce sont les constituants dominants. Ces deux valeurs sont légèrement inférieures à celles trouvées, précédemment, dans l'huile d'argan brute (45,06% et 35,87, respectivement). Il en suit deux acides gras saturés, l'acide palmitique (15,07 %) et l'acide stéarique (8,43%). Les teneurs de ces deux acides gras sont, par contre, augmentées par rapport à l'huile d'argan brute (11,99 % et 6,17 %, respectivement). Les valeurs des autres acides gras trouvées, l'acide gadoléique et arachidique (2,17% et 2,07%, respectivement) sont également plus présents que dans l'huile brute (0,46% et 0,45%, respectivement).

La poudre obtenue (microencapsulation de l'huile d'argan) est un test préliminaire, qui après plusieurs tests complémentaires, peut servir à la fabrication des compléments alimentaires à base d'huile d'argan, sous forme de comprimés ou de gélules, comme moyen de prévention contre les maladies du au stress oxydatif et les maladies inflammatoires.

**Tableau 11** : Composition en acides gras de l'huile d'argan encapsulée.

Acides gras	Huile d'argan encapsulée
A. Oléique , C18:1 $\omega$ -9	40,28 $\pm$ 2,185
A. Linoléique, C18:2 $\omega$ -6	31,98 $\pm$ 1,44
A. Palmitique, C16:0	15,07 $\pm$ 0,075
A. Stéarique, C18:0	8,43 $\pm$ 0,72
A.Linolénique, C18:3 $\omega$ -3	Trace
A.Gadoléique, C20:1	2,17 $\pm$ 1,475
A.Arachidique, C20:0	2,07 $\pm$ 1,5



# **DISCUSSION GENERALE**

---

Les plantes médicinales sont considérées comme une source importante pour la découverte de nouvelles substances anti-oxydantes et anti-inflammatoires potentielles.

C'est dans ce contexte que nous avons réalisé un screening phytochimique de l'huile extraite des graines torréfiées d'*Argania spinosa* (L.) Skeels, de la région de Tindouf, nous avons évalué son activité antioxydante par le test de DPPH et FRAP et nous nous sommes intéressés à l'étude de son effet antiinflammatoire. Cette étude consiste en des tests préliminaires, in vivo, visant à déterminer l'effet de l'administration, par voie orale, de l'huile d'argan et de son extrait insaponifiable sur l'inflammation aigue induite par la carragénine.

La composition en acides gras (représentant environ 99%) de l'huile d'argan, ainsi que les composants de la fraction insaponifiable (représentant environ 1%), font d'elle une huile aux propriétés uniques. Ils contribuent à ses caractéristiques organoleptiques, ses propriétés nutritionnelles, diététiques et pharmaceutiques (**Khallouki, 2003; Maril et al., 2008 ; Ursoniu et al., 2018**).

L'impact de la consommation de l'huile d'argan sur l'amélioration du statut antioxydant chez le rat et l'homme est bien confirmé. Des études ont montré que la consommation régulière de l'huile d'argan diminue de manière significative les peroxydes des lipides plasmatiques (58,3%) et augmente la concentration de l' $\alpha$ -Tocophérol (13,4%) par rapport à un groupe non consommateur de l'huile d'argan (**Drissi et al., 2004**). Les résultats de **Cherki et al. (2005)** ont montré que la consommation de 25 ml / jour d'huile d'argan pendant 3 semaines induit une augmentation significative de la concentration de vitamine E (16%) et diminue de façon significative les peroxydes lipidiques et la formation de diène conjugué (18 et 8%, respectivement), chez les hommes sains. Une consommation quotidienne d'huile d'argan a montré une augmentation significative des teneurs en vitamine E chez des sujets sains, des femmes ménopausées, des patients hémodialysés, ainsi que chez des rats soumis à un régime hypergras (**Sour et al., 2012; El Monfalouti et al., 2013 ; Eljaoudi et al., 2015 ; Sour et al., 2015**). D'autre part l'huile d'argan a montré une réduction de la peroxydation lipidique (hydropéroxydes, malondialdéhyde et des diènes conjugués) au niveau du plasma, des érythrocytes et de certains tissus, associée à une augmentation significative des activités enzymatiques de la catalase et la superoxyde dismutase au niveau des érythrocytes, du foie et du muscle (**Sour et al., 2012 ; Eljaoudi et al., 2015 ; Sour et al., 2015**).

L'inflammation et le stress oxydatif sont étroitement liés. En effet, Selon l'origine de la réaction inflammatoire, son évolution diffère pour aboutir au même résultat final c'est-à-dire à une accumulation de polynucléaires neutrophiles au site inflammatoire et à des lésions cellulaires et tissulaires dues aux espèces réactives d'oxygène (ERO) et aux enzymes protéolytiques libérées par les neutrophiles activés. Si la production de ERO est trop importante et que les systèmes naturels d'épuration sont insuffisants, les cellules sont soumises à un stress oxydatif qui entretient l'état inflammatoire (**Pasquier, 1999 ; Calder et al., 2009**).

L'huile d'argan pourrait donc réduire l'inflammation induite par la carragénine par l'inhibition de la libération des médiateurs inflammatoires; la sérotonine et l'histamine ou la prostaglandine et la cytokine. Comme elle pourrait avoir une activité antiinflammatoire via ses activités antioxydantes dues essentiellement aux composants antioxydants de sa fraction insaponifiable.

En fonction de nos résultats, à savoir les calculs des (%AUG) et (%INH) ainsi que l'étude histologique, nous avons déduit que l'huile d'argan dans sa totale globalité a une bonne activité anti-inflammatoire, dont l'efficacité peut être comparable à celle des anti-inflammatoires commercialisés. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Dakiche et al. (2017)**, qui ont testé l'effet de l'application locale de l'huile d'argan, sur les oreilles des souris NMRI, sur la réduction de l'œdème induit par l'huile de croton. Leurs résultats ont révélé que l'huile d'argan est dotée d'une excellente activité antiinflammatoire locale avec une efficacité est similaire à celle des médicaments anti-inflammatoires. En effet, le pourcentage de réduction de l'œdème a été calculé avec un taux de (39,68%) pour le groupe traité à l'huile d'argan et de (38,31%) pour le groupe traité avec le médicament de référence (Indométacine).

Leurs tests d'incisions et d'excisions de plaies des oreilles ont montré que l'huile d'argan facilite le processus de guérison sans aucune irritation et possède une excellente activité cicatrisante comparable à l'effet du Madecassol (anticicatrisant de référence).

Les travaux de **Avsar et al. (2016)** ont confirmé que l'huile d'argan, utilisée deux fois par jour pendant 14 jours, avait un meilleur effet anti-inflammatoire et une meilleure régénération épithéliale et un meilleur facteur de remodelage (guérison) par rapport à la sulfadiazine d'argent (agent topique utilisé dans le traitement des brûlures).

Les lipides alimentaires exercent une action immunomodulatrice et de nombreuses études ont mis en évidence leur rôle important dans le contrôle de la réponse immunitaire. La quantité et la nature des lipides dans l'alimentation modulent les fonctions immunitaires et leur régulation (**Kelley, 2001 ; Calder et al., 2002 ; Yaqoob, 2004**).

Les principaux acides gras identifiés, par CPG, sont les acides gras insaturés, essentiellement l'acide oléique ( $45,06 \pm 1,54\%$ ) et l'acide linoléique ( $35,87 \pm 1,17\%$ ). Ils sont connus pour avoir un potentiel thérapeutique dans l'inflammation. Certaines études ont suggéré que l'administration de ces acides gras joue un rôle dans la réponse inflammatoire et améliore la cicatrisation en régulant plusieurs facteurs, dont le système d'expression de la cyclooxygénase-2 et en activant le système immunitaire comme les neutrophiles et les macrophages, réduisant ainsi la réponse inflammatoire (**Park et al., 2010; Rodrigues et al., 2010 ; Cardoso et al., 2011**).

**EL Kebbaj et al. (2012)** ont indiqué que l'huile d'argan, du fait de sa composition riche en acide gras mono et polyinsaturés et en antioxydants, a des effets hypolipémiants et antiinflammatoires au niveau hépatique, supérieures à ceux de l'huile d'Olive, qui se traduisent par une régulation de l'expression à la fois de récepteurs nucléaires et de leur gènes cibles ainsi que de certaines cytokines. L'huile d'Argan a montré un effet anti-inflammatoire illustré par l'atténuation de l'effet de la lipopolysaccharide (LPS) sur l'expression des biomarqueurs pro-inflammatoire TNF- $\alpha$  et IL-6 et par l'activation des biomarqueurs antiinflammatoire IL-10 et IL-4.

Initialement caractérisé comme composant anticancéreux, l'acide linoléique exerce également une grande variété de fonctions physiologiques telles que des propriétés antidiabétiques, antihypertensives et antiobésités, jouant ainsi un rôle important dans le système nerveux, l'équilibre cardiovasculaire et module les réponses immunitaires et / ou inflammatoires (**Kim et al., 2016**). Cela signifie que l'huile d'argan, principalement représentée par l'acide linoléique, serait efficace pour prévenir les maladies liées au mode de vie ou les syndromes métaboliques. Ils estiment que 17 à 21 g d'huile d'argan suffisent à couvrir les besoins quotidiens en acide linoléique (**Rahmani, 2005**).

Les composés mineurs de la fraction insaponifiable sont : les polyphénols, les caroténoïdes, le squalène, les alcools triterpéniques, les tocophérols et les stérols

(**Khallouki et al., 2003 ; Rahmani, 2005**). Malgré la faible concentration de la fraction insaponifiable, elle attribue à l'huile des vertus thérapeutiques importantes (**Charrouf, 2002**).

Les composés phénoliques sont estimés à un taux variant de 4 à 60 mg / kg (**Khallouki et al., 2003; Chimi, 2005; Belarbi-Benmahdi et al., 2009, Dakiche et al., 2017**). Les polyphénols jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et leur valeur nutritionnelle (**Brenes, 2002; Visioli et Galli, 2002**). Selon **Valavanidis et al. (2004)**, les polyphénols présents dans les huiles comestibles sont avantageux car leur activité antiradicalaire peut protéger contre la dégradation des tocophérols pendant le stockage et la cuisson. En tant que tels, ils sont principalement responsables de la prévention de l'auto-oxydation des acides gras insaturés, en augmentant la durée de vie de l'huile. L'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leur capacité à donner des atomes d'hydrogène aux radicaux libres, à leur propriété redox, en plus de leur potentiels chélateur des ions métalliques pro-oxydants (**Harbone et Williams, 2000 ; Deba et al., 2008**).

En raison de leur nature chimique, ces composés bioactifs peuvent agir en tant qu'antioxydants et aider à maintenir les défenses naturelles de l'organisme contre de nombreuses maladies associées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les processus inflammatoires (**Rojas et al., 2005**).

L'étude de **Santangelo et al. (2007)** s'est intéressée à l'effet bénéfique de l'huile d'olive extra-vierge (EVOO), en se focalisant principalement sur l'effet anti-inflammatoire des composés phénoliques présents dans l'EVOO. L'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et le tyrosol sont les principaux composants phénoliques, ils ont pu inhiber l'inflammation en bloquant les enzymes de production des eicosanoïdes (prostaglandine I<sub>2</sub>, leucotriène B<sub>4</sub>) comme la COX-2, la lipoxigénase (LOX) et la phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) dans des cellules animales et humaines. D'autres études *in vitro* et *in vivo* ont permis de montrer que les polyphénols pouvaient agir sur les activités enzymatiques du métabolisme de l'acide arachidonique (AA) : phospholipase A<sub>2</sub>, cyclooxygénase et lipoxigénase. Ils agissent également sur la production du monoxyde d'azote (NO<sup>·</sup>) en modulant l'activité des NO synthétases. Une inhibition de ces enzymes par les polyphénols réduit ainsi la production l'acide arachidonique, de NO<sup>·</sup>, de prostaglandines et de leucotriènes, médiateurs de l'inflammation (**Kim et al., 2004**).

Les huiles végétales sont la principale source de vitamine E. Elles assurent non seulement une bonne conservation de l'huile, mais présentent également un avantage pharmacologique pour piéger les radicaux libres oxygénés produits lors des réactions d'oxydo-réduction physiologiques (**Radi, 2003**). Parmi les tocophérols (vitamine E) présents dans l'huile d'argan vierge, le  $\gamma$ -tocophérol représente la plus grande proportion (81-89%), suivi du  $\delta$ -tocophérol, de l' $\alpha$ -tocophérol et du  $\beta$ -tocophérol (**SNIMA, 2003**). Les tocophérols sont considérés comme les antioxydants solubles dans les lipides les plus efficaces. Il est bien connu que les tocophérols ont des efficacités différentes en tant qu'antioxydants:  $\delta$  tocophérol >  $\gamma$ -tocophérol  $\approx$   $\beta$ -tocophérol >  $\alpha$ -tocophérol (**Espin et al., 2000 ; Valavanidis et al., 2004**).

Les tocophérols possèdent également des propriétés anti-inflammatoires *in vivo* et *in vitro*. En effet, certaines formes de vitamine E inhibent les enzymes impliquées dans la formation des eicosanoïdes (COX-2, 5-LOX) comme le  $\gamma$  tocophérol (**Zingg et Azzi, 2004**), activité que l' $\alpha$  -tocophérol ne semble pas posséder (**Jiang et al., 2000, Jiang et Ames, 2003**). Il a également été démontré que les tocophérols réduisaient l'inflammation des voies respiratoires chez les modèles animaux (**Okamoto et al., 2006**).

En général, la composition totale en stérols de l'huile d'argan est caractérisée par l'absence du bêta-sitostérol et la présence de Spinasterol, Schotenol, Stigmasta 8-22-dien-3 $\square$ -ol et Delta7 avénastérol, en particulier. Elle contient également 5 alcools triterpéniques: tirucallol,  $\beta$ -amyrine, butyrospermol, lupéol et 24-méthylène cycloatanol et deux méthylsérois: citrostadiénol et cycloeucalénol (**Khallouki et al., 2003; Rahmani, 2005**). Tous ces phytostérols font de l'huile d'argan une huile de profil unique car ces stérols appartenant à la famille des  $\Delta$ -7 sont rarement rencontrés dans les huiles végétales (**Hilali, 2005**). Les phytostérols sont largement étudiés pour leur action anticancéreuse, immunomodulatrice et anti-inflammatoire (**Bouic et Lamprecht, 1999; Bradford et Awad, 2007**). Les stérols sont des biomolécules performantes aussi bien dans le domaine de la revitalisation et de la protection antiradicalaire de l'épiderme que dans le relancement de l'activité cellulaire (**Jiang et al., 2000**). Ils ont déjà montré des activités anti-inflammatoires *in vivo* en diminuant l'œdème induit par la carragénine ou le TPA (**Navarro et al., 2001**).

Malgré leur efficacité incontestable dans le traitement des maladies inflammatoires, les traitements actuels utilisés depuis plusieurs décennies présentent de nombreuses limites. Les effets secondaires liés aux médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens ont été largement documentés par de nombreux essais cliniques (**Bhala et al., 2013; Wang et al., 2014**).

Il est donc nécessaire de découvrir de nouveaux anti-inflammatoires qui ne présenteront aucun effet indésirable.

D'après ces données nous estimons que l'huile d'argan de la région de Tindouf possède potentiellement des pouvoirs antioxydants et antiinflammatoires qui justifieraient son utilisation dans la médecine traditionnelle et nous incite à la considérer comme un traitement alternatif particulièrement dans la prévention de l'inflammation.

# CONCLUSION

---



L'huile d'argan possède un potentiel important au niveau nutritionnel, mais également au niveau cosmétique et pharmaceutique, vue sa composition chimique particulière. Cependant, il n'existe que très peu de données scientifiques décrivant les propriétés antiradicalaire et antiinflammatoire de l'huile d'argan de la région de Tindouf (Algérie). L'objectif de ce travail a donc été de caractériser chimiquement l'huile d'argan et sa fraction insaponifiable et de mettre en évidence leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires dans des modèles expérimentaux.

En conclusion, les résultats de notre étude fournissent une base scientifique pour l'utilisation traditionnelle de l'huile d'argan algérienne pour la gestion des douleurs inflammatoires.

La présente étude indique clairement que l'huile d'argan de la région de Tindouf présente des qualités remarquables. Les indices physicochimiques et la détermination des teneurs en acide gras répondant aux exigences de la norme marocaine (**SNIMA. 2003**). On déduit alors que c'est une huile vierge, pure, fraîche, non siccative, riche en acide gras insaturés, essentiellement l'acide oléique et l'acide linoléique, et non toxique (absence de l'acide erucique).

L'analyse chimique a indiqué des teneurs élevées en tocophérols et en  $\Delta$ -7-stérols, qu'on rencontre rarement dans les huiles végétales. Ce qui montre, en plus des autres constituants qui la composent (polyphénols, caroténoïdes...), la richesse de la fraction insaponifiable de l'huile.

Il ressort également de ce travail que l'huile d'argan de la région de Tindouf (Algérie) et son extrait insaponifiable présentent une grande capacité de piégeage du radical DPPH et de réduction du fer, correspondant à une activité antioxydante remarquable. Ils sont dotés également d'une activité antiinflammatoire très intéressante, comparable à celle de l'antiinflammatoire non stéroïdien le « Diclofenac ». Toute fois l'huile d'argan totale est plus efficace que la fraction insaponifiable, pour les deux activités. Ceci pourrait être dû à la richesse de cette huile d'argan comestible, en différents constituants chimiques, les acides gras w-9 et w-6, les phytostérols, les tocophérols, les caroténoïdes et les composés polyphénoliques. Cela semble être lié à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité à stimuler le système immunitaire tout en réduisant la réponse inflammatoire.

Ces résultats appuient la candidature prometteuse de l'huile de graine *Argania spinosa* L. de la région de Tindouf (Algérie) en tant qu'un composé de substitution, notamment pour la prévention de l'inflammation ou son application en tant qu'agent thérapeutique anti-inflammatoire.

Toutefois, l'argan, d'origine algérienne, et son huile ne sont pas bien exploités en raison du manque d'extractions et des techniques de production modernes et appropriées. Malgré ces avantages, l'arbre n'a pas fait l'objet d'une attention particulière ni de la part des pouvoirs publics, ni des experts scientifiques ou des producteurs en vue d'assurer sa promotion et sa valorisation en Algérie. L'arganier, qui est doté d'effets remarquables sur la santé et qui pourrait représenter une source de revenus pour les habitants du sud-ouest du pays (Algérie), et qui joue un rôle irremplaçable dans l'équilibre écologique, voire économique, est menacé d'extinction par les aléas naturels et les actes de prédation.

En perspectives, il serait intéressant de faire :

- Des études plus approfondies sur la composition chimique qui permettraient d'identifier d'autres familles de molécules potentiellement impliquées dans les effets anti-inflammatoires observés ou pour isoler le principe actif et comprendre le mécanisme d'action correct.
- Etudier d'autres modèles inflammatoires expérimentaux et d'autres activités biologiques.
- La microencapsulation de l'huile d'argan pourrait quant à elle être valorisée au niveau thérapeutique en tant qu'un complément alimentaire ou un traitement adjuvant dans certaines pathologies à composante oxydante et/ou inflammatoire. Toutefois, des études complémentaires sur la structure, la composition, la biodisponibilité, les effets antioxydants et antiinflammatoire et d'autres études expérimentales et cliniques sont nécessaires afin d'évaluer le rapport bénéfice/risque d'un tel traitement complémentaire.

Les secrets de l'huile d'argan ne sont pas tous dévoilés, un trésor sur lequel les recherches doivent se poursuivre afin de profiter de toute la potentialité inconnue.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

**Abena AA, Gbenou JD, Yayi E, Moudachirou M, Ongoka RP, Ouamba JM et Silou T (2007).** Comparative chemical and analgesic properties of essential oils of *Cymbopogon nardus* (L) Rendle of Benin and Congo. *Afr. J. Trad. Compl. Alt. Med*, 4(3) : 267-272.

**Aboudrare A, Lybbert T et Magnan N (2009).** Le marché de l'huile d'argan et son impact sur les ménages et la forêt dans la région d'Essaouira. Enquête diagnostic, Bulletin mensuel de liaison et d'information du PNTTA, MAPM. 175.

**Adlouni A (2010).** L'huile d'argan, de la nutrition à la santé. *Nutrition*, 8: 89–97.

**Aggarwal B, Shishodia S (2006).** Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical pharmacology*, 71(10) : 1397-142.

**Ambriz-Pérez DL, Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva Ep et Heredia JB (2016).** Phenolic compounds : Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1) :1131412.

**Ames JM (1988).** The Maillard browning reaction : an update. *Chem. Ind*, 5: 558-561.

**Ames JM (2001).** Melanoidins as pro- or antioxidants. *Cerevisia*, 26: 210-216.

**Arman M, Payne H, Ponomaryov T, Brill A (2015).** Role of Platelets in Inflammation. In The Non-Thrombotic Role of Platelets in Health and Disease. *In Tech*. DOI : 10.5772/60536

**Ashley NT, Weil ZM, Nelson RJ (2012).** Inflammation : mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43: 385- 406. Doi : <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-040212-092530>.

**Avsar U, Halici Z, Akpınar E, Yayla M, Avsar U, Harun U, Harun U, Hasan Tarik A et Bayraktutan Z (2016).** The Effects of Argan Oil in Second-degree Burn Wound Healing in Rats. *Ostomy Wound Manage*, 62: 26-34.

**Ax K, Miebach EM, Link B, Schuchmann H et Schubert H (2003).** Stability of lycopene in oil-in-water emulsions. *Engineering in Life Sciences*, 3(4) : 199–201.

**Ayerdi-Gotor A, Berger M et Labelette F (2008).** Variabilité des teneurs et compositions des composés mineurs dans l'huile de tournesol au cours du développement du capitule. *OCL*, 15:400-6.

**Ayroldi E, Cannarile L, Migliorati G, Nocentini G, Delfino DV et Riccardi C (2012).** Mechanisms of the anti-inflammatory effects of glucocorticoids : genomic and nongenomic interference with MAPK signaling pathways. *The FASEB Journal*, 26 (12) : 4805-4820.

**Badr Eddine K (2015).** Thèse de Doctorat Contributions à la valorisation de l'arganier : *Argania Spinosa* (L.) Skeels, Sapotaceae : valorisation de l'huile d'Argane et des feuilles de l'arganier. Université de Rabat (Maroc).

**Barnes PJ (1998).** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94(6) :557–572.

- Barondeau DP, Kassmann CJ, Bruns CK, Tainer JA et Getzoff ED (2004).** Nickel superoxide dismutase structure and mechanism. *Biochemistry*, 43(25) : 8038-8047.
- Barton GMA (2008).** A calculated response : control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of clinical investigation*, 118 (2) : 413-420.
- Belarbi-benmahdi M, khaldi D, Beghdad C, Gouzi H, Bendimerad N and Hammouti B (2009).** Physicochemical and nutritional study of argan oil (*Argania spinosa* L.) in southwestern Algeria. *Emerald*, 38 (2): 96-99.
- Bellahcen S, Mekhfi H, Ziyat A, Legssyer A, Hakkou A, Aziz M, Bnouham M (2012).** Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by virgin argan oil. *Phytother Res*, 26 (2):180-5.
- Ben Temime S, Manai H, Methenni K, Baccouri B, Abaza I, Sanchez Casas J et al (2008).** Sterolic composition of Chétoui Virgin olive oil : Influence of geographical origin. *Food Chem*, 110: 368-74.
- Benkheira A (2009).** L'arganeraie algérienne. Bulletin d'information, conservation de la biodiversité et gestion durable des ressources naturelles, publication du projet ALG/ G35.
- Bennani H, Drissi A, Giton F, Kheuang L, Fiet J et Adlouni A (2007).** Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detect Prev*, 31(1) :64-9.
- Benoit JP, Richard J, Venier-Julienne MC (2013).** Microencapsulation. Techniques de l'ingénieur, J2210, 1–22.
- Berrada Y, Settaf A, Baddouri K, Cherrah A et Hassar M (2000).** Experimental evidence of an antihypertensive and hypocholesterolemic effect of oil of argan. *Thérapie journal*, 55: 375-378.
- Besnard L et al (2014).** Breaking of the Bancroft rule for multiple emulsions stabilized by a single stimuable polymer. *Soft Matter*, 10 (36): 7073-7087.
- Bhala et al (2013).** Effets vasculaires et gastro-intestinaux supérieurs des anti-inflammatoires non stéroïdiens : méta-analyses de données de participants individuels issues d'essais randomisés. 382 (9894) : 769–779. [Doi : 10.1016 / S0140-6736 \(13\) 60900-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60900-9).
- Bibette J, Leal Calderon F et Poulin P (1999).** Emulsions Basics principes. *Rep Prog Physi*, 62 : 968-1033.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O (2012).** Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ*, 5(1): 9- 19.
- Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt K V (2003).** Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress : a Review. *Annals of Botany*, 91: 179-194.

- Bône S, Vautrin C, Barbesant V, Truchon S, Harrison I, et Geffroy C (2011).** Microencapsulated fragrances in melamine formaldehyde resins. *Chim. Int. J. Chem*, 65 (3) : 177–181.
- Bony E (2010).** Composition chimique et propriétés anti-inflammatoires de l'huile de pulpe d'awara (*Astrocaryum vulgare* M.). Thèse de doctorat. Université Montpellier 2 Sciences ET Techniques du Languedoc.
- Botting RM et Botting JH (2000).** Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clinical Drug Investigation*. 19: 1-7.
- Bouic P et Lamprecht JH (1999).** Plant Sterols and Sterolins : A Review of Their Immune-Modulating Properties. *Altern. Med. Rev*, 4: 170-177.
- Bradford PG et Awad AB (2007).** Phytosterols as anticancer compounds. *Mol Nutr Food Res*, 51: 161-170.
- Brenes M, Garcia A, Rios J.J, Garcia P, Garrido A (2002).** Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils, *The International Journal of Food Science and Technology*, 37(6): 615-625.
- Buckley CD, Filer A, Haworth O, Parsonage G et Salmon M (2004).** Defining a role for fibroblasts in the persistence of chronic inflammatory joint disease. *Annals of the rheumatic diseases*. 63 (2) : 1192-1195.
- Burton GJ and Jauniaux E (2011).** Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 25(3) : 287-299. Doi : <http://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016>.
- Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA et Miles EA (2002).** Fatty Acids and Lymphocyte Functions. *Br J Nutr*, 87 (1): 31-48.
- Calder PC, Albers R, Antoine M, Blum S, Bourdet-Sicard R, Ferns GA, Folkerts G, Friedmann PS, Frost GS et al (2009).** Inflammatory Disease Processes and Interactions with Nutrition. *British Journal of Nutrition*, 101 :1-45.
- Callahan GN et Robin MY (2014).** Inflammation and repair Basic Veterinary Immunology. University Press of Colorado. 67-109.
- Carbone C, Musumeci T et Pignatello R (2013).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Drug–Biomembrane Interaction Studies*, 281-303. Doi : <https://doi.org/10.1533/9781908818348.281>
- Cardoso CR, Favoreto SJ, Oliveira LL, Vancim JO, Barban GB and Ferraz DB (2011).** Oleic acid modulation of the immune response in wound healing : a new approach for skin repair. *Immunobiology*, 216: 409–415.
- Caughey GH (2011).** Mast cell proteases as protective and inflammatory mediators. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 716: 212–234.

**Caullet L, Dos SA, Knipper G, Rusalen M et Seigneur M (2017-2018).** Les émulsions alimentaires et cosmétiques. Projet Professionnel. Université de Lorraine.

**Cecchi G, Biasini S and Castano J (1985)** Méthanolyse rapide des huiles en solvant. Note de laboratoire. *Rev. Franç. Corps. Gras*, 4: 163–164.

**Chaik A (2003).** Activité anti-inflammatoire des composés insaponifiables d'*Astrocaryum vulgare*. Thèse de Sciences, Paul Sabatier, Toulouse.

**Charles NS, Peter AW et Derek WG (2010).** *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press. 2-3.

**Charrouf Z (1995).** Valorisation des produits de l'arganier. Acte des journées d'étude sur l'Arganier « groupement d'études et de la recherche pour la promotion d'ESSAOUIRA ». ESSAOUIRA 29-30 septembre, Maroc.

**Charrouf Z (2002).** L'huile d'argan, une prodigieuse vitalité née au bord du désert. In *Espérance médicale*, 9 (87).

**Charrouf Z et Guillaume D (2002).** Secondary metabolites from *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Phytochem Rev.* 1: 345–354.

**Charrouf Z et Guillaume D (2007).** Phénols et polyphénols d'*Argania spinosa*. *Journal américain de la technologie alimentaire.* 2 (7): 679-683.

**Charrouf Z et Guillaume D (2008).** Argan oil : occurrence, composition and impact on human health. *Eur J Lipid Sci*, 110 : 632– 636.

**Charrouf Z et Guillaume D (2010).** The rebirth of the argan tree or how to give a future to Amazigh women. In : Harpelle RL, Muirhead B, eds. *Long-Term Solutions for a Short Term World : Canada and Research Development*. Waterloo : WLU Press.

**Charrouf Z et Guillaume D (2010).** Should the amazigh diet (regular and moderate argan-oil consumption) have a beneficial impact on human health?. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 50: 473–477.

**Charrouf Z, Hilali M, Jauregui O, Soufiaou M et Guillaume D (2007).** Separation and characterization of phenolic compounds in argan fruit pulp using liquid chromatography negative electrospray ionization tandem mass spectroscopy. *Food Chemistry*, 100 : 1398-1401.

**Chelikani P, Fita I and Loewen C (2004).** Diversity of structure and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Science.* 61: 192-208.

**Cherki M, Derouiche A, Drissi A, El Messal M, Bamou Y, Idrissi-Ouadghiri A, Khalil A, and Adlouni A (2005).** Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status : Intervention study in healthy men. *Nutr Metab Cardiovas*, 15: 352-360.

- Chriqi A, Balouk A, Houjjaji A, Adnan A, Bacha L et Addebbous R (2003).** L'huile d'argan un produit de terroir : Quelle stratégie pour sa valorisation ?. *Terre et vie*, (70): 1-5.
- Codex Alimentarius Commission. (2003).** Stan 33, 1981, revised 2.
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M et Lunec J (2003).** Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*, 17(10): 1195-1214.
- Coutinho AE et Chapman KE (2011).** The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and cellular endocrinology*, 335 (1) : 2-13. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.04.005>.
- Coutinho AE et Chapman KE (2011).** The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and cellular endocrinology*, 335 (1): 2-13. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.04.005>.
- Crespo MC, Tome-Carneiro J, Davalos A et Visioli F (2018).** Pharma-nutritional properties of olive oil phenols. Transfer of new findings to human nutrition. *Foods*, 7(6):90.
- Curtay JP et Robin JM (2002).** Intérêt des complexes antioxydants. Centre d'étude et développement de la nutrithérapie.
- Nil D et Böhnert E (2006).** Value Chains for the Conservation of Biological Diversity for Food and Agriculture - Potatoes in the Andes, Ethiopian Coffee, Argan Oil from Morocco and Grasscutters in West Africa [archive]. *Global Facilitation Unit for Underutilized Species*, 37-55.
- Dakiche H, Mustapha K et Houcine B (2017).** Phytochemical Characterization and *in vivo* Anti-inflammatory and Wound-healing. Activities of *Argania spinosa* (L.) Skeels Seed Oil *Rec. Nat. Prod*, 11:2:171-184.
- Deba F, Tdang X, Yasuda M et Tawata S (2008).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*, 19: 346.
- DeFranco AL, Robertson M et Locksley RM (2009).** Immunité : La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. De Boeck Université.
- Delattre J (2007).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques, 2 ed. Tec & doc. Médicales internationales, Londres, Paris, New York. *Dermatol*, 132: 208–215.
- Desobry S, Netto FM, Labuza TP (1997).** Comparison of spray-drying and freeze-drying for beta-carotene encapsulation and preservation. *Journal of Food Science*. 62(6): 1158-1162.
- Destribats M, Schmitt V et Backov R (2010).** Thermostimulable Wax@SiO<sub>2</sub> Core–Shell Particles, *Langmuir*. 26 (3): 1734-1742.



- Dhalla NS, Temsah RM et Netticadan T (2000).** Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens*, 18: 655-73.
- Drissi A, Girona J, Cherki M, Godas G, Derouiche A et El Messal M (2004).** Evidence of hypolipemiant and antioxydant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin Nutr*, 23:1159-66.
- Ejebe DE, Siminialayi IM, Emudainowho JOT, Ofesi U et Morka L (2010).** Analgesic and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of the leaves of *Helianthus Annus* in Wistar rats. *Asian Pac J Trop*, 3(5) : 341-347.
- El Abed A., 2007.** 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.
- EL Kebbaj et al (2012).** Base moléculaire des effets de l'huile d'Argan sur le métabolisme mitochondrial et peroxysomal des acides gras et sur l'inflammation. Thèse de doctorat.
- El Monfalouti H, Guillaume D, Denhez C, Charrouf Z (2010).** Therapeutic potential of argan oil : a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62: 1669-1675.
- Eljaoudi R, Elkabbaj D, Bahadi A, Ibrahimi A, Benyahia M et Errasfa M (2015).** Consumption of argan oil omproves anti-oxydant and lipid status in hemodialysis patients. *Phytother Res*, 29(10) :1595-9. [Doi : 10.1002/ptr.5405](https://doi.org/10.1002/ptr.5405).
- Eming SA, Krieg T et Davidson JM (2007).** Inflammation in Wound Repair : Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127: 514- 525.
- Emonard H, Marcq V, Mirand C, Hornebeck W (1999).** Inhibition of gelatinase A by oleic acid. *Ann NY Acad Sci*, 878: 647–649.
- Espin, JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ (2000).** Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem*, 48: 648–656.
- Estevez M, Ventanas S, Heinonen M (2011).** Formation of Streker aldehydes between protein carbonyls ( $\alpha$ aminoadipic and  $\gamma$ -glutamic semialdehydes) and leucine and isoleucine. *Food Chem*, 128: 1051-1057.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM (2002).** Oxidative stress and stress-activated signaling pathways : a unifying hypothesis of type 2 diabets, *Endocr rev*, 23: 599-622.
- Fang Z et Bhandari B (2010):** Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends Food Sci Technol*, 21: 510-23.
- FAO/WHO (1999).** Compendium of Food Additives, 7: 49–50.

- Favier A (2003).** Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*, 6: 108-115.
- Frauentorfer F et Schierberle P (2008).** Changes in key aroma compounds of criollo cocoa beans during roasting. *J. Agric. Food Chem*, 56: 10244-10251.
- Furie MB (2014).** An Overview of Inflammation. A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms, reference module in Biomedical Sciences, 226-230. Doi : <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.01801-3>.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M et Shimomura I (2004).** Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 114(12): 1752–1761.
- Galask RP et Larsen B (2012).** Infectious diseases in the female patient. *Springer Science & Business Media*, p61.
- Gallo L, Llabot JM, Allemandi D, Bucala V et Pina J (2011).** Influence of spray-drying operating conditions on Rhamnus purshiana (C'ascara sagrada) extract powder physical properties. *Powder Technol*, 208: 205–14.
- Gardès-Albert M, Bonnefont-Rousselot D, Abedinzadeh Z et Jore D (2003).** Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. *L'actualité chimique*, 91-96.
- Gasmi K (2001).** Contribution à l'étude de l'Arganier (*Argania spinosa (L) Skeels*) : croissance et mycorhization. Mémoire d'ingénieur d'état en science Agronomique. Mostaganem.
- Gattorno M, Martini A (2016).** Inflammation and its mediators. In: Petty R., Ronald Laxer R., Lindsley C., Wedderburn L., ed. Textbook of pediatric rheumatology. 7th Edition. Philadelphia : *Elsevier*, 14–32.
- Gharby S, Harhar H, Bouzoubaa Z, Roudani Z, Chafchaoui I, Kartah B, Charrouf Z (2014).** Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol (Effect of polyphenols extracts from margins on the stability of sunflower oil). *J. Mater. Environ. Sci*, 5 (2) : 464-469.
- Gharby S, Harhar H, Guillaume D, Haddad A, Charrouf Z (2012).** The Origin of Virgin Edible Argan Oil High Oxidative Stability Unravelled. *Natural Product Communications*, (7): 1-3.
- Gharby S, Harhar H, Kartah B, El Monfalouti H, Haddad A, Charrouf Z (2011).** Analyse chimique et sensorielle de l'huile d'argan. *Les Technologies de Laboratoire*, 6 (22): 13-23.

- Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R (2007).** Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients : An overview. *Food Res Int*, 40: 1107–21.
- Gilroy D, DE Maeyer et Roel (2015).** New insights into the resolution of inflammation. *Semin Immunol*, 27(3):161-8.
- Gomes MP, Millen TA, Ferreira PS, Silva NL, Vieira TC, Almeida MS, Silva JL et Cordeiro Y (2008).** Prion protein complexed to N2a cellular RNAs through its N-terminal domain forms aggregates and is toxic to murine neuroblastoma cells. *J Biol Chem*, 283: 19616-25.
- Guillaume D et Charrouf Z (2011).** Argan oil and other argan products ; use in dermocosmetology. *Eur J Lipid Sci Technol*, 113: 403-408.
- Rodrigues HG, Vinolo MA, Magdalon J, Fujiwara H, Cavalcanti DM et Farsky SH (2010).** Dietary free oleic and linoleic acid enhances neutrophil function and modulates the inflammatory response in rats. *Lipids*, 45: 809–819.
- Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*. 62 (10) : 628-638.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (2007).** Free Radicals in biology and medicine. Fourth Edition New York, Oxford University Press.
- Hamia C (2007).** 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.
- Hamiani M et Belaroug I (2003).** Contribution à l'étude de la multiplication végétative in vitro de l'arganier : *Argania spinosa (L.) Skeels*, Mem. Ing. Dep. Biotech. Fac. Science, Univ. U.S.T.O., Oran.
- Harborne JB, Williams CA (2000) :** advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55:481-504.
- Harhar H, Gharby S, Kartah B, El Monfalouti H, Guillaume D et Charrouf Z (2011).** Influence of Argan Kernel Roasting-time on Virgin Argan Oil Composition and Oxidative Stability. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*, (66):163-168.
- Harhar H, Gharby S, Kartah B, Guillaume D, Charrouf Z (2013).** Influence de la manipulation des fruits sur la qualité de l'huile d'argan. Acte du 2<sup>ème</sup> congrés International de l'arganier. Décembre 2013, Agadir.
- Harhar H (2010).** Contribution à la valorisation de l'arganier : *Argania spinosa (L.) Skeels* Sapotaceae : Evaluation des déterminants de la qualité de l'huile d'argan et de la Composition chimique de la pulpe du fruit de l'arganier. Thèse de Doctorat National, Faculté des Sciences, Université Mohammed V-Agdal.

- Henzen C (2003).** Traitement aux glucocorticoïdes : risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19: 442-446.
- Herrera ML (2012).** Analytical Techniques for studying the physical properties of lipid emulsions. SpringerBriefs in Food, Health, and Nutrition 3. DOI : [10.1007/978-1-4614-3256-2-2](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3256-2-2).
- Herter JM, Rossaint J et Zarbock A (2014).** Platelets in inflammation and immunity. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 12 (11) :1764-1775. Doi : [https://doi.org/ 10.1111/jth.12730](https://doi.org/10.1111/jth.12730).
- Heymonet (2013).** Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie. Université De Lorraine.
- Hilali M, Charrouf Z, Soulhi A, Hachimi L, Guillaume D (2005).** Influence of Origin and Extraction Method on Argan Oil Physico-Chemical Characteristics and Composition. *J. Agric. Food Chem*, 53 (6): 2081–2087.
- Hilali M, Charrouf Z, El Soulhi A, Hachimi L and Guillaume D (2005).** Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition, *J. Agric, Food Chem*, 53: 2081-2087.
- ISO 9936, 2006.** Corps gras d'origines animale et végétale -- Détermination des teneurs en tocophérols et en tocotriénols par chromatographie en phase liquide à haute performance.
- Janeway CA, Murphy K, Walport M (2009).** Immunobiologie. De Boeck.
- Jeon G, Park M, Yoon D, Shin C, Sin H et UM S (2005).** Antitumor activity of spinasterol isolated from Pueraria roots. *Exp Mol Med*, 37(2) : 111-120.
- Jiang Q et Ames B (2003).**  $\gamma$ -tocopherol, but not  $\alpha$ -tocopherol, decreases proinflammatory eicosanoids and inflammation damage in rats. *FASEB J*, 17: 816-822.
- Jiang Q, Elson-Schwab I, Bedord C et Ames B (2000).**  $\gamma$ -Tocopherol and its major metabolite, in contrast to  $\alpha$ -tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 97: 11494-11499.
- Kabe Y, Ando K, Hirao S, Yoshida M et Handa H (2005).** Redox regulation of NF- $\kappa$ B activation : distinct redox regulation between the cytoplasm and the nucleus. *Antioxid. Redox Signal*, 7: 395-403.
- Karleskind A (1992).** Manuel des corps gras. Tome II, Ed. Tec et doc. Paris, 1-1565.
- Kechairi R (2009).** Contribution à l'étude écologique de l'Arganier *Argania spinosa (L.) Skeels*, dans la région de Tindouf (Algérie). Mémoire de magister, université des sciences et de la technologie, Houari Boumediene.
- Kechebar (2016).** Caractérisation de l'arganier (*Argania spinosa L.*) en Algérie et impact de la salinité. Doctorat Ecologie et Environnement. Université Des Frères Mentouri Constantine (Algérie).

- Kechebar M, Karoune S, Falleh H, Belhamra M, RAhmoune C, Ksouri R (2017).** Caractérisation de l'huile d'argan algérienne (région de Tindouf) et étude de ses activités antioxydantes et antimicrobiennes en comparaison avec une huile marocaine. *Nutr Santé*, 6(2) : 82-95. DOI : [10.30952/ns.6.2.5](https://doi.org/10.30952/ns.6.2.5)
- Kechebar MSA, Karoune S, Belhamra M, Rahmoune C (2013).** Characterization of the argan tree of southwestern Algeria, *Int J Curr Microbiol App Sci*, 2(6):117-26.
- Kelley DS (2001).** Modulation of Human Immune and Inflammatory Responses by Dietary Fatty Acids. *Nutrition*, 17(7-8) : 669-673.
- Ketsawatsakul U, Whiteman M and Halliwell B (2000).** A reevaluation of the peroxynitrite scavenging activity of some dietary phenolics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279: 692-699.
- Khallouki B. Spiegelhalder et al (2005).** Secondary metabolites of argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. *J. Biotechnol*, 4: 381-388.
- Khallouki F, Younos C, Soulimani R, Oster T, Charrouf Z et al (2003).** La consommation d'huile d'argan (Maroc) avec son profil unique d'acides gras, de tocophérols, de squalène, de stérols et de composés phénoliques devrait conférer de précieux effets chimioprotecteurs contre le cancer. *EUR. J. Cancer Prev*, 12: 67-75.
- Khan NI, Naz L, Yasmeen G (2006).** Obesity, an independent risk factor for systemic oxidative stress. *Pak J Pharm Sci*, 19(1):62-5.
- Khanapure SP, Garvey DS, Janero DR et Letts LG (2007).** Eicosanoids in inflammation : biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers. *Curr. Top. Med. Chem*, 7: 311-340.
- Koechlin-Ramonatox C (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 (4) :165-177.
- Kouame A (2004).** Etude de la migration des antioxydants phénoliques dans les boissons en sachet (Abidjan- cote d'ivoire). Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh anta diop de Dakar.
- Kouidri M, Saadi AK, Noui A et Medjahed F (2015).** The Chemical Composition of Argan Oil. *International journal of advanced studies in Computer Science and Engineering IJASCSE*, 4 (1).
- Krinsky NI et Johnson EJ (2005).** Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(6):459-516. DOI :[10.1016/j.mam.2005.10.001](https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.10.001).
- Kumar V, Cotran RS et Robbins SL (2003).** Robbins Basic Pathology. Saunders.
- Kumar V, Abbas Abul K and Aster Jon C (2014).** Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. Elsevier Health Sciences.

- Lakhani SR, Dilly SA et Finlayson CJ (2009).** Basic pathology : an introduction to the mechanisms of disease. Fourth edition. London : Hodder Arnold.
- Lakhdari A et Khechairi R (2011).** La faune de l'arganier de Tindouf (Algérie). Actes du séminaire international sur la biodiversité faunistique en zones arides et semi-arides, 207-2011.
- Lee HH, Lin CT et Yang LL (2007).** Neuroprotection and free radical scavenging effects of *Osmanthus fragrans*. *J Biomed Sci*, 14(6) : 819-827.
- Lee JM, Chung H, Chang PS et Lee JH (2007).** Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using DPPH. *Food Chemistry*, 103: 662-669.
- Lee YC, Oh SW, Chang J et Kim IH (2004).** Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. *Food Chem* 84:1-6.
- Lehucher-Michel MP, Lesagards JF, Delubaco O, Stocker P, Durand P et Prost M (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*, 30: 1076-1081.
- Liu TT et Yang TS (2011).** Optimization of emulsification and microencapsulation of evening primrose oil and its oxidative stability during storage by response surface methodology. *J Food Qual*, 34: 64-73.
- Liu ZQ, Zhou JH, Zeng YL et Ouyang XI (2004).** The enhancement and encapsulation of *Agaricus bisporus* flavor. *J Food Eng*, 65:391-6.
- Machiels D et Istasse L (2002).** La réaction de Maillard : importance et applications en chimie des aliments. *Ann. Méd. Vét*, 146: 347-352.
- Majno G et Joris I (2004).** Cellules, tissus et maladies. Oxford Univ. Press.
- Male D, Roitt Y, Brostoff J et Roth DB (2007).** Mécanisme de l'immunité innée. Immunologie. Eds, Masson (France), p155.
- Marfak A (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.
- Marfil R, Gimenez R, Martinez O et al (2011).** Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*). *Eur J Lipid Sci Technol*, 113: 886-893.
- Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C et Giovannini C (2005).** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems : Involvement of glutathione and glutathione related enzymes. *J. Nutr. Biochem*, 16: 577-586.
- Matthäus B, Guillaume D, Gharby S, Haddad A, Harhar H et Charrouf Z (2010).** Effect of processing on the quality of edible argan oil. *Food Chem*, 120:426-432.



- Medzhitov R (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203): 428- 435.
- Mehmood A, Hamid I, Sharif A, Akhtar MF, Akhtar B, Saleem A, Iqbal J, Shabbir M, Ali S (2016).** Evaluation of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of aqueous and ethanolic extracts of seeds of *Buchanania Lanza* Spreng, in animal models. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 73:1601-1608.
- Meira NA, Klein LC et Rocha LW (2014).** Anti-inflammatory and antihypersensitive effects of the crude extract, fractions and triterpenes obtained from *Chrysophyllum cainito* leaves in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, (151) :975– 983.
- M'hirit O (1989).** L'arganier une espèce fruitière forestière à usage multiple. Station de recherches forestière, Agadir. 31-57.
- Milagh M (2007).** L'arbre vert du désert menacé. El Watan, p21.
- Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP et Malik AB (2014).** Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & redox signaling*, 20 (7): 1126-1167.
- Mokhtari M (2002).** 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, (95) : 4.
- Msanda FAEA et Peltier JP (2005).** Biodiversité et biogéographie de l'arganeraie marocaine. Cahiers Agricultures, p14.
- Muller WA (2013).** Getting leukocytes to the site of inflammation. *Veterinary pathology*, 50 (1): 7-22. Doi : [10.1177/0300985812469883](https://doi.org/10.1177/0300985812469883).
- Murphy K, Travers P, Walport S, Mark et Janeway Jr (2012).** Janeway's immunobiology. New York : Garland Science.
- Naggar M et Mhirit O (2006).** L'arganeraie : un parcours typique des zones arides et semi-arides marocaines. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 17(1): 314-317.
- Naguib YW et Cui Z (2014).** Nanomedicine : The promise and challenges in cancer chemotherapy. *Nanomaterial*. Springer, Dordrecht, 207-233. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-8739-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-8739-0_1).
- Nantel F, Denis D et Gordon R (1999).** Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *British Journal of Pharmacology*, 128: 853– 859.
- Nathan C (2002).** Points of control in inflammation. *Nature*, 420 (6917): 846- 852. Doi : [10.1038/nature01320](https://doi.org/10.1038/nature01320).
- Nathan C (2006).** Neutrophils and immunity : challenges and opportunities. *Nature reviews immunology*, 6 (3) : 173-182. Doi : [10.1038/nri1785](https://doi.org/10.1038/nri1785).

**Navarro A, De Las Heras B, Villar A (2001).** Anti-Inflammatory and Immunomodulating Properties of a Sterol Fraction from *Sideritis foetens* CLEM. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24(5): 470-473.

**Nimse S.B, Pal D (2015).** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances*, 5 (35): 27986-28006. Doi : <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>.

**Norme Marocaine NM 08.5.090 Rabat, SNIMA, 2003.** Service de normalisation industrielle (SNIMA), Huile d'argane, Spécifications.

**Nouaim Rachida (2005).** L'Arganier au Maroc, entre mythes et réalité : une civilisation née d'un arbre, éd. L'Harmattan, Paris, (ISBN 2-7475-8453-4).

**NOUI A (2013).** Identification de la fraction insaponifiable (stéroïdes, tocophérols, polyphénols...) de l'huile d'argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels). Mémoire de Magister en sciences agronomiques.

**Okamoto N, Murata T, Tamai H, Tanaka H, Nagai H (2006).** Effects of  $\alpha$ -tocopherol and probucol supplements on allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of allergic asthma. *Int. Arch. Allergy Immunol*, 141: 172-180.

**Olajide OA, Awe SO, Makinde JM, Ekhelar AI, Olusola A, Morebise O et Okpako DT (2000).** Studies on the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of *Alstonia boonei* stem bark. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1-2): 179-186. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00200-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00200-7).

**Ollé M (2002).** Analyse des corps gras. Bases documentaires : techniques d'analyses; Référence P3325; Ed. Techniques de l'ingénieur. <http://www.techniques-ingenieur.fr>

**Opara ES (2002).** Oxidative stress, micronutriments, diabetes mellitus and its complications. *J of the Royal Soc for the promotion of health*, 122: 28-34.

**Oyaizu M (1986).** Studies on products of browning reactions : antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.

**Park NY, Valacchi G, Lim Y (2010).** Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation on early inflammatory responses during cutaneous wound healing, *Mediators Inflamm*, 17 : 1-8.

**Pasquier (1999).** Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française des Laboratoires*, 1995 (276) Doi : [S0338-9898\(95\)80364-5](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(95)80364-5).

**Perretti M et Ahluwalia A (2000).** The microcirculation and inflammation : site of action for glucocorticoids. *Microcirculation*, 7(3) :147-161. Doi : <https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2000.tb00117.x>

**Pincemail J, Siquet J, chapel JP, Cheramy-Bien JP, Paulssen G, chantillon AM, Christians G, Gielen J, Limet R et Defraigne JO (2000).** Evaluation des concentrations



plasmatiques en antioxydants, anticorps contre les Ldl oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise. *Ann. Biol. Clin.* 85: 178-185.

**Poncelet D et Dreffier C (2007).** Les méthodes de microencapsulation de A à Z (ou presque), in: *Microencapsulation: Des Sciences Aux Technologies*. Editions Tec&Doc, Paris, 23– 33.

**Quezel P et Santa S (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, p 738.

**Radi N (2003).** L'arganier arbre de Sud-ouest marocain, en péril, à protéger. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, Université de Nantes.

**Rahmani M (2005).** Composition chimique de l'huile d'argane « vierge ». *Cahiers Agricultures*, 14 (5): 461-465.

**Rankin JA (2004).** Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care*, 15 (1): 3-17.

**Ricciotti E et FitzGerald GA (2011).** Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31(5): 986-1000.

**Richard J et Benoit JP (2000).** Microencapsulation. Techniques de l'Ingénieur. *Traité Génie des procédés J*, 2210 : 1–20.

**Rodrigues HG, Vinolo MA, Magdalon J, Vitzel K, Nachbar RT and Pessoa AF (2012).** Oral administration of oleic or linoleic acid accelerates the inflammatory phase of wound healing. *Invest. J, Dermatol*, 132 : 208–215.

**Rojas LB, Quideau S, Pardon P et Charrouf Z (2005).** Évaluation colorimétrique du contenu phénolique et caractérisation par GC-MS de la composition phénolique d'huile d'argan alimentaire et cosmétique et de tourteau. *Agric. Food Chem J*, 53:9122-9127.

**Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS (2013).** Eosinophils : changing perspectives in health and disease. *Nature Reviews of Immunology*, 13 (1) : 9–22. [Doi : 10.1038/nri3341](https://doi.org/10.1038/nri3341)

**Rousselet M C, Vignaud J M, Hofman P, Chatelet F P (2005).** Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP, 1-57.

**Rousselet MC, Vignaud JM, Hofman P, Chatelet FP (2005).** Inflammation et Pathologie Inflammatoire. Paris Maloine, 320-331.

**Rubbo, H, Radi R (2008).** Protein and lipid nitration : role in redox signaling and injury. *Biochim. Biophys. Acta*, 1780: 1318-1324.

**Ruslan M. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454: 428- 435.

**Sanchez-Machado DI, Lopez-Hernandez J, Paseiro-Losada P and Lopez-Cervantes J (2004).** An HPLC method for the quantification of sterols in edible seaweeds. *Biomed Chromatogr*, 18 (3) :183-190.

- Sanchez-Moreno C (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*, 8: 121-137.
- Sandhar H K, Kumar B, Prasher S, Tiwari P, Salhan M and Sharma P (2011).** A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1): 25-41.
- Sandilands EA, Bateman DN (2016).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Medicine*, 44 (3): 185-186.
- Santangelo C, Vari R, Scazzocchio B, Di Benedetto R, Filesi C et Masella R (2007).** Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, 43 (4).
- Santos FA et Rao VS (2000).** Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytoterapy Research*. DOI :[10.1002/10991573\(200006\)14:4<240::aid-ptr573>3.0.co;2-x](https://doi.org/10.1002/10991573(200006)14:4<240::aid-ptr573>3.0.co;2-x)
- Schafroth N, Arpagaus C, Jadhav UY, Makne S et Douroumis D (2012).** Nano, and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. *Colloid Surf B-Biointerfaces*, 90: 8–15.
- Schlienger JL, Luca F, Vinzio S et Pradignac A (2009) :** Obésité et cancer. *Rev. Med. Int*, 30: 776- 82.
- Schmitt V, Cattelet C Leal-Calderon F (2004).** Coarsening of Alkane-in-Water Emulsions Stabilized by Nonionic Poly (oxyethylene) Surfactants : The Role of Molecular Permeation and Coalescence. *Langmuir*, 20 (1) : 46-52.
- Schwartz Ketty (2011).** Inflammations et maladies : clés de compréhension. Inserm, p 74.
- Schwartz C, Eberle JU et Voehringer D (2015).** Basophils in inflammation. *European Journal of Pharmacology*.
- Shamri R, Xenakis J.J, Spencer L (2011).** Eosinophils in innate immunity : an evolving story. *Cell and Tissue Research*, 343 (1) : 57–83.
- Simons SS (2008).** What goes on behind closed doors : physiological versus pharmacological steroid hormone actions. *Bioessays*, 30 (8) : 744–756.
- SNIMA (Service de normalisation industrielle Marocain) (2003).** Corps gras d'origine animale et vegetale- Huiles d'argan. Spécifications, Norme Marocaine NM 08.5.090. Snima, Rabat (Morocco).
- Soehnlein O, Lindbom L (2010).** Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 10 (6) : 427–439. [Doi : 10.1038/nri2779](https://doi.org/10.1038/nri2779).
- Souchard JP, Arnal JF, Rochette L (2002).** Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie*, 23: 245-257.

- Sour S, Belarbi M, Sari N, Benammar CH, Baghdad CH, Visioli F (2015).** Argan oil reduces, in rats, the high fat diet-induced metabolic effects of obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 25(4):382–387.
- Steinhubl S.R (2007).** Platelets as Mediators of Inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 21:115-121.
- Tabet S, Kechebar M.S.A, Karoune S, Belhamra M (2013).** Journal Algérien des Régions Arides.
- Tang S Y, Halliwell B (2010).** Medicinal plants and antioxidants : What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies ? . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394: 1-5.
- Taylor P (1998).** Ostwald ripening in emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci*, 75 (2): 107–163.
- Thérond P, Bonnefont-Rousselot D (2005).** Systèmes antioxydants endogènes. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier, p 87-111.
- Tizard PhD Bsc, BVMS, Ian R (2012).** Veterinary Immunology, 9<sup>ème</sup> edition. St. Louis, Mo: Saunders.
- Tonon RV, Grosso CRF, Hubinger MD (2011).** Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Res Int*, 44: 282–9.
- Trovato A, Raneri E, Kouladis M, Tzakou O, Taviano MF et Galati EM (2001).** Antiinflammatory and analgesic activity of *Hypericum Empetrifolium* Willd. (Guttiferae). *II Farmaco*, 56 (5-7): 455- 457.
- UNESCO (2007).** Biosphere Reserve Information. Retrieved November 10, 2007. <http://www.unesco.org>.
- Ursoniu S, Sahebkar A, Serban MC, Banach M, Lipid Blood Pressure Meta A et Collaboration G (2018).** The impact of argan oil on plasma lipids in humans : systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytother Res*, 32(3):377–383.
- Valavanidis A, Nisiotou C, Papageorgiou Y, Kremli I, Satravelas N, Zinieris N et Zygalki H (2004).** Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *Agric. Food Chem J*, 52(8): 2358-2365.
- Valko M, Rhodes CJB, Moncol J, Izakovic M et Mazur M (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1-40.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39: 44-84.

- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1) :1-40.
- Vandamme T, Poncelet D, Subra-Paternault P (2007).** Microencapsulation. Tec&Doc, lavoisier.
- Velasco J, Dobarganes C, Marquez-Ruiz G (2003).** Variables affecting lipid oxidation in dried microencapsulated oils. *Grasas Aceites*, 54:304–14.
- Visioli F, Galli C (2002).** Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22: 65-75.
- Choi W.S, Koo H.Y, Zhongbin Z, Li Y, Kim D. Y (2007).** Templated Synthesis of Porous Capsules with a Controllable Surface Morphology and their Application as Gas Sensors. *Adv. Funct. Mater*, 17(11): 1743-1749.
- Wandrey C, Bartkowiak A, Harding SE (2009).** Materials for Encapsulation In: Zuidam N.J., Nedovic, V.A. (Eds.) Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing, Springer : Dordrecht, The Netherlands, 31-100.
- Wang BS, Leu K.L, Huang GJ, Yeh CF, Tai HM, Ho WY, Huang MH (2014).** Protective effects of an aqueous *Pericarpium granati* extract against inflammatory damage in mice. *Journal of Functional Foods*, 9.
- Wang R, Ding Y, Liu R, Xiang L, Du L (2010).** Pomegranate, Bioactivities and Pharmacokinetics. *Fruits, Vegetables and Cereal Science and Biotechnology*, 4(2).
- Wehrlé et Pascal (2007).** Pharmacie galénique formulation et technologie pharmaceutique. Paris.
- Weill B, Batteux F et Dhainaut J (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris). 12-23.
- Yaqoob P (2004).** Fatty Acids and the Immune System : From Basic Science to Clinical Applications. *Proc Nutr Soc*, 63(1): 89-104.
- Yin ZZ, Jin HL, Yin XZ, Li TZ, Quan JS et Jin ZN (2000).** Effect of *Boschniakia rossica* on expression of GST-P, ras proteins in early stage of chemical hepatocarcinogenesis and its anti-inflammatory activities in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 6: 812–818.
- Yu R, Mandlekar S et Tony kong AN (2000).** Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity : induction of apoptosis through direct release of cytochrome c. *Molecular pharmacology*, 58: 431-437.
- Zazzo JF (2002).** Stress oxydant au cours des états inflammatoires aigus et des états d'agression : implications pour la pratique clinique. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16: 268-274.

**Zbicinski I, Delag A, Strumillo C et Adamiec J (2002).** Advanced experimental analysis of drying kinetics in spray drying. *Chem Eng J*, 86:207–16.

**Zelikin AN, Becker AL, Johnston APR, Wark KL, Turatti F et Caruso F (2007).** A General Approach for DNA Encapsulation in Degradable Polymer Microcapsules. *ACS Nano*, 1(1): 63-69.

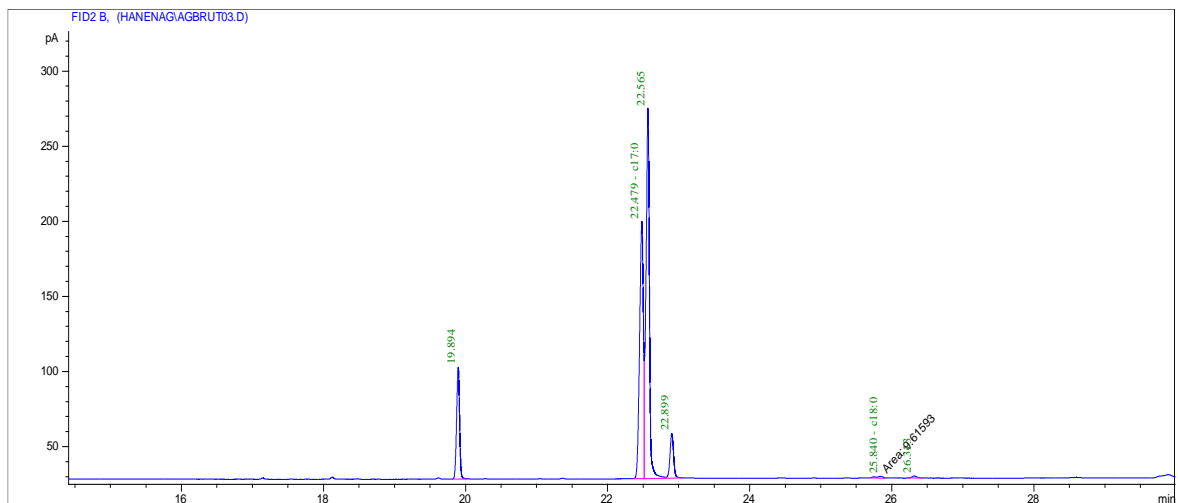
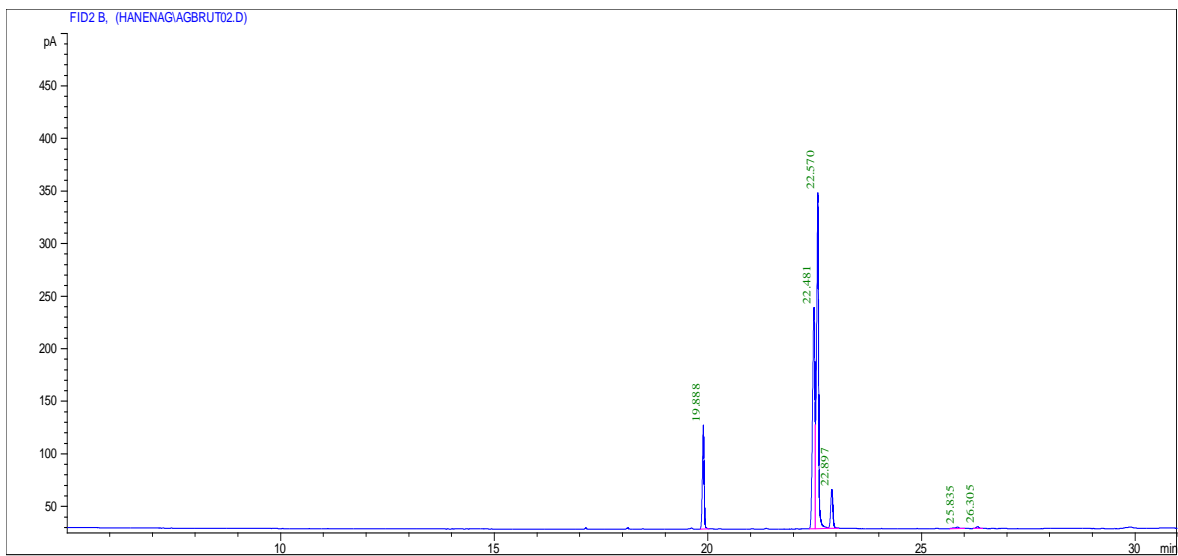
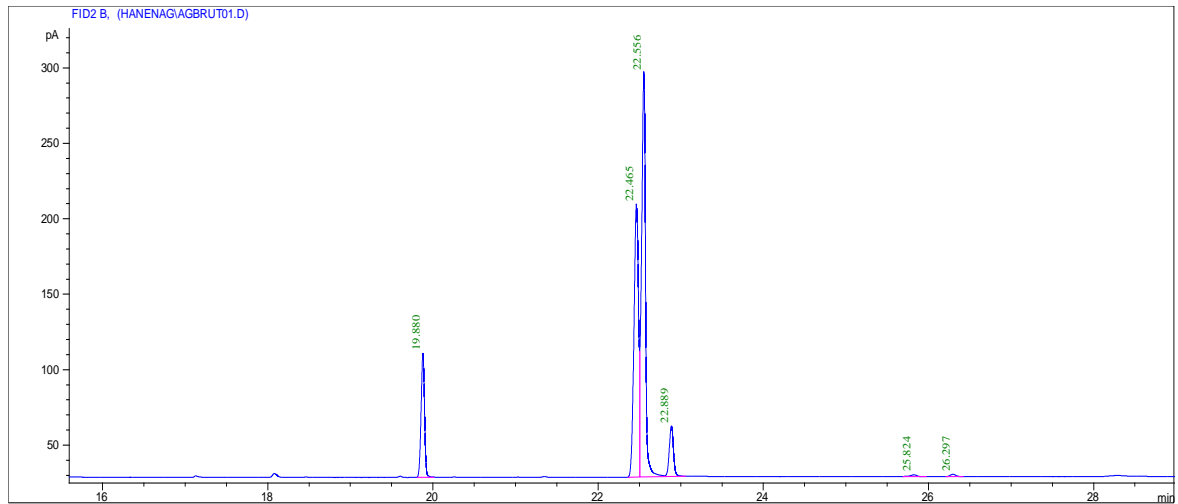
**Zhang MZ, Ni PH et Yan NX (1995).** Effect of Operation Variables and Monomers on the Properties of Polyamide Microcapsules. *Journal of Microencapsulation*, 12(4): 425-435.

**Zingg J, Azzi A (2004).** Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr. Med. Chem*, 11: 1113-1133.

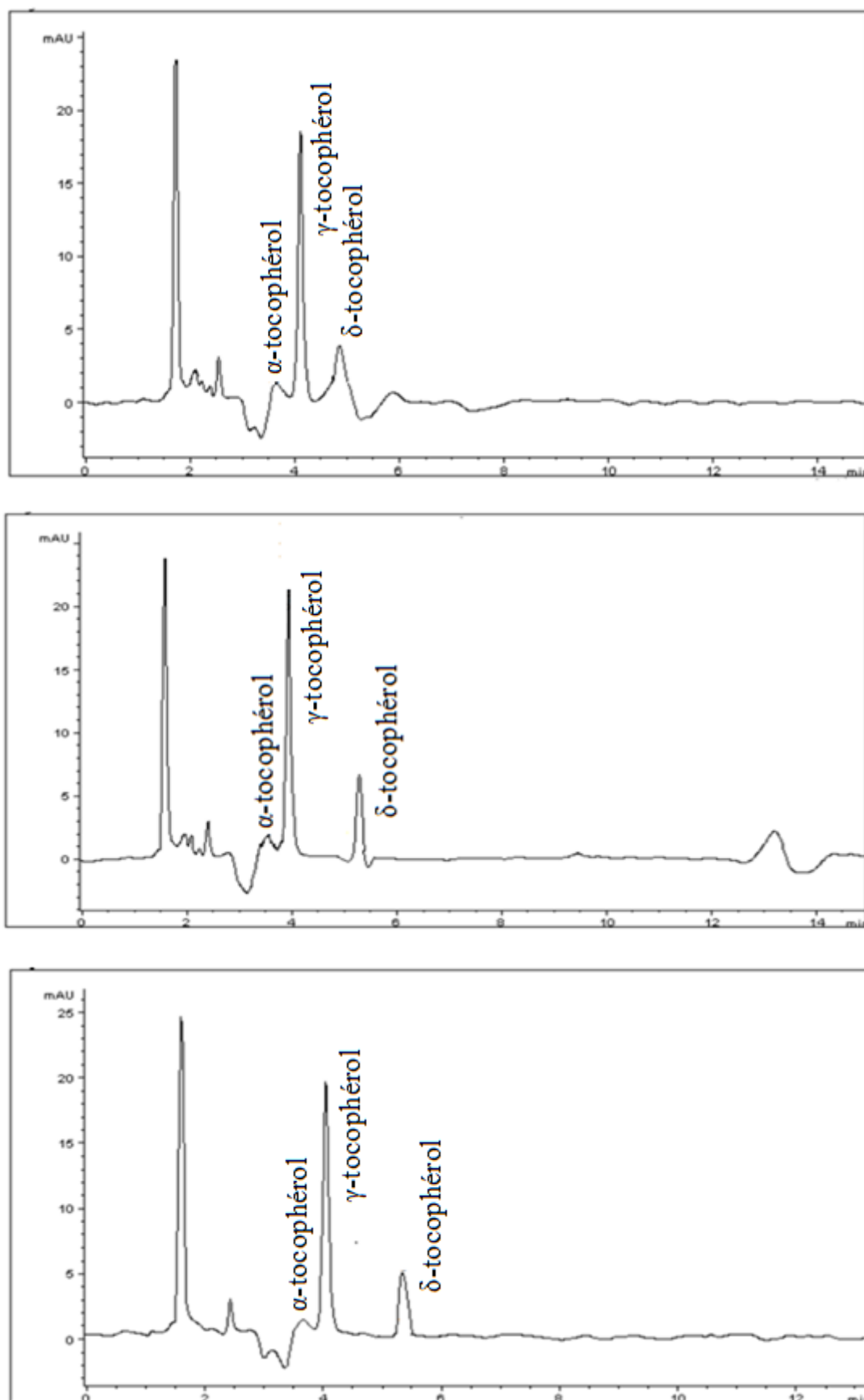
**Ziyan L, Yongmei Z, Nan Z, Ning T, Baolin L (2007).** Evaluation of the antiinflammatory activity of luteolin in experimental animal models. *Planta medica*, 73: 221–226.

# **ANNEXES**

---

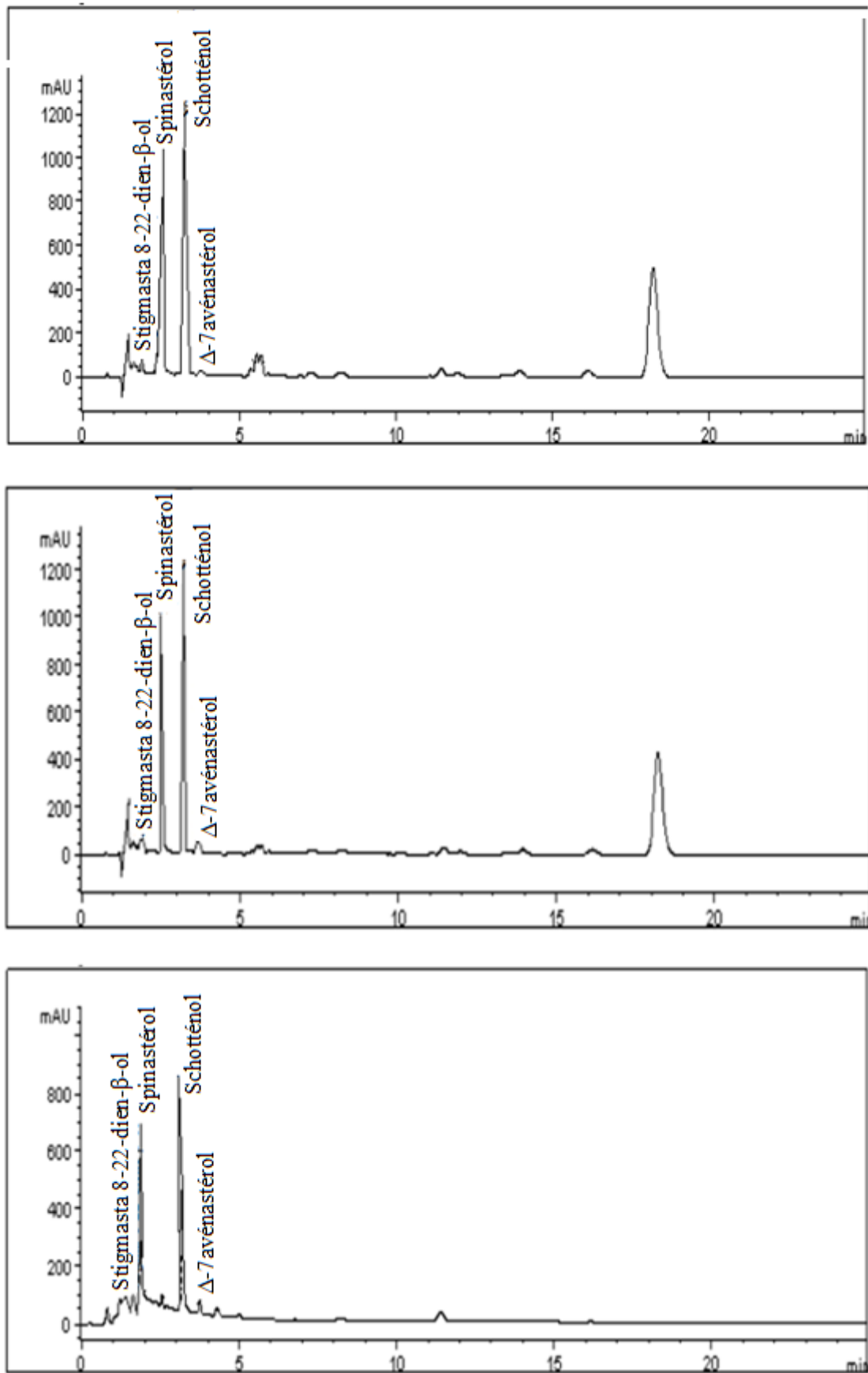


**Figure A1** : Profils chromatographiques des AG de l'huile d'argan de la région de Tindouf



**Figure A2 :** Profils chromatographiques des tocophérols de l'huile d'argan de la région de Tindouf





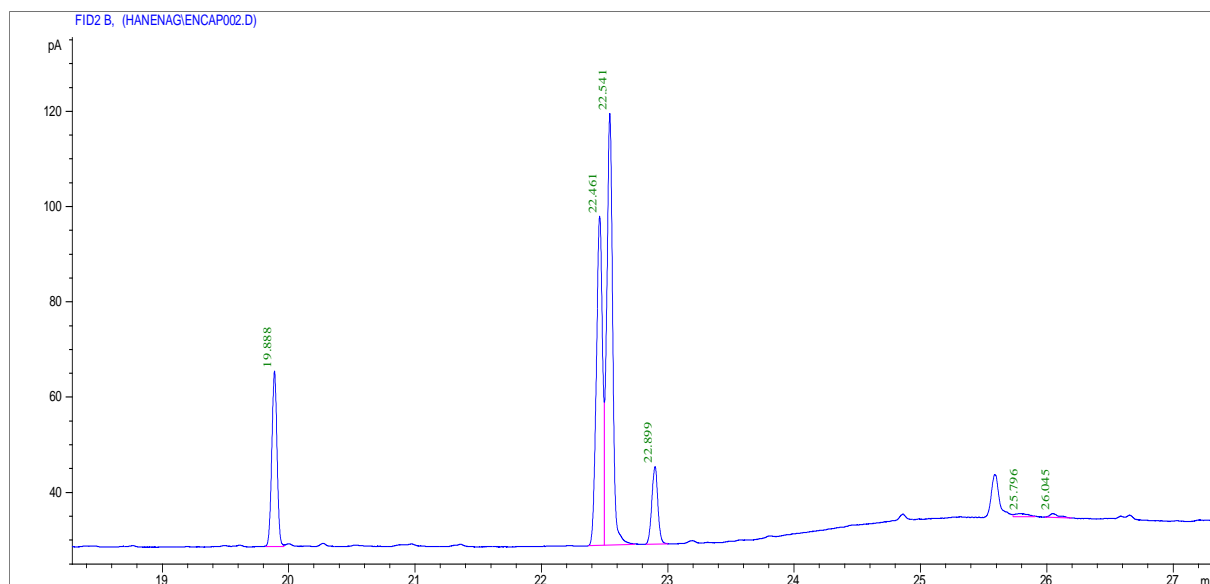
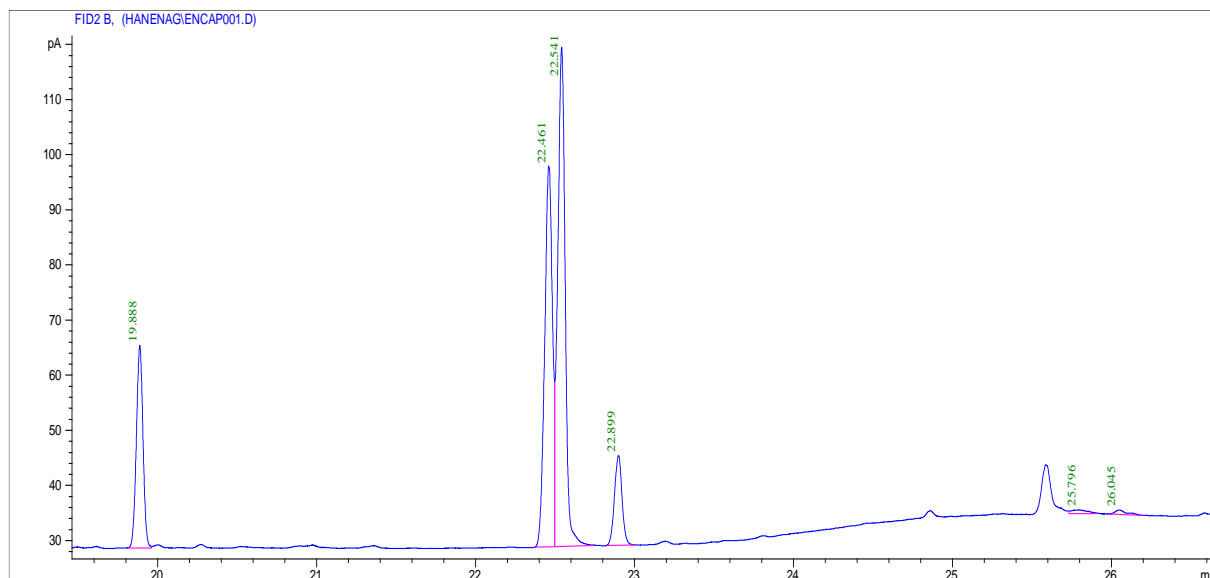
**Figure A3 :** Profils chromatographiques des stérols de l'huile d'argan de la région de Tindouf

**Tableau A1 :** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'huile d'argan (H), de l'extrait insaponifiable (EX) et de l'acide ascorbique (AA)

(C)	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.5	0.6	0.8	1
% I DPPH H	31.78	39.59	48.43	54.70	59.54	69.35	74.54		
% I DPPH EX	18.09	21,33	33.25	35,15	35,97	37.16	39,54	45.72	58.68
% I DPPH AA	39.59	54.68	69.76	84,85	99.93				

**Tableau A2 :** Pouvoir réducteur du Fer en fonction de la concentration de l'huile d'argan (H), de l'extrait insaponifiable (EX) et de l'acide ascorbique (AA)

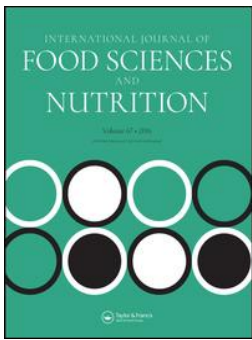
C mg/ml	0,05	0,1	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2,5
H	0,126	0,253	0,517	0,966	1,095	1,46		
EX	0,032	0,064	0,095	0,167	0,27	0,36	0,58	0,72
AA	0,31	0,62	0,96	1,82	2,87	3,31		



**Figure A4 :** Profils chromatographiques des acides gras de l'huile d'argan encapsulée de la région de Tindouf

# ARTICLE

---



## Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components

Hanane Ben Menni, Meriem Belarbi, Dounia Ben Menni, Hadjer Bendiab, Yamina Kherraf, Riadh Ksouri, Nouredine Djebli & Francesco Visioli

To cite this article: Hanane Ben Menni, Meriem Belarbi, Dounia Ben Menni, Hadjer Bendiab, Yamina Kherraf, Riadh Ksouri, Nouredine Djebli & Francesco Visioli (2019): Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components, International Journal of Food Sciences and Nutrition, DOI: [10.1080/09637486.2019.1650005](https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1650005)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1650005>



Published online: 08 Aug 2019.



Submit your article to this journal [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



## Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components

Hanane Ben Menni<sup>a</sup>, Meriem Belarbi<sup>a</sup>, Dounia Ben Menni<sup>a</sup>, Hadjer Bendiab<sup>b</sup>, Yamina Kherraf<sup>c</sup>, Riadh Ksouri<sup>d</sup>, Noureddine Djebli<sup>b</sup> and Francesco Visioli<sup>e,f</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Produits Naturels (LAPRONA), Département de Biologie, Université de Tlemcen, Tlemcen, Algeria; <sup>b</sup>Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie, Université de Mostaganeme, Mostaganem, Algeria; <sup>c</sup>Laboratoire d'Histologie Embryologie et Génétique Clinique, CHU de Tlemcen, Tlemcen, Algeria; <sup>d</sup>Centre de Biotechnologie de Borj-Cédria, Laboratoire des Plantes et Médicinales (LPAM), Tunis, Tunisia; <sup>e</sup>IMDEA-Food, CEI UAM + CSIC, Madrid, Spain; <sup>f</sup>Department of Molecular Medicine, University of Padova, Padova, Italy

### ABSTRACT

Argan oil is thought to be the most expensive edible oil worldwide. It is difficult to produce and the argan tree only grows in a limited geographical area, notably Morocco and Algeria. Because it is produced by mechanical means, argan oil contains “minor” components that might be endowed with healthful effects. We investigated in vivo the anti-inflammatory activities of argan oil and its unsaponifiable fraction, using diclofenac as the control, in a carrageenan-induced rat model of inflammation. Rats were given different amounts of argan oil or its unsaponifiable fraction, by gavage. We report that argan oil and its “minor” components effectively lessen the inflammatory actions of carrageenan. Far from being “pharmacological” the actions of argan oil are comparable with those of diclofenac in the short, i.e. 4 h term. Sustained consumption of argan oil might, therefore, contribute to lessen the burden of degenerative diseases associated with higher inflammatory status.

### ARTICLE HISTORY

Received 31 May 2019  
Revised 20 July 2019  
Accepted 26 July 2019

### KEYWORDS

Argan oil; inflammation; phytosterols; tocopherols; atherosclerosis

### Introduction

Inflammation, especially the low-grade/chronic one can potentially trigger or facilitate the onset of several diseases, such as atherosclerosis and other cardiovascular diseases; metabolic syndrome, type 2 diabetes and obesity; sarcopenia and osteoporosis; neurodegeneration; major depression and impaired mental well-being; and cancer (Calder et al. 2017). This becomes especially important during aging. Indeed, aspirin or ibuprofen extend longevity in different organisms, e.g. *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. However, the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is associated with untoward effects such as increased GI bleeding (Lanas 2016). An alternative, more viable approach is that of a proper diet, rich in anti-inflammatory compounds such as (poly)phenols, prebiotics, and polyunsaturated fatty acids (Calder et al. 2017). Healthy eating patterns are indeed associated with lower circulating concentrations of inflammatory markers including C-reactive protein and several cytokines (Calder et al. 2017).

Argan (*Argania spinosa* L.) is a tropical tree that belongs to the sapotaceae family. In 1998, the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organisation (UNESCO) designated the Argan forest in South-Western Morocco a UNESCO biosphere reserve because of its ecological and socioeconomic benefits ([www.unesco.org](http://www.unesco.org)). This plant mostly grows in Morocco and Southwestern Algeria (Tindouf area), where it is the second most common tree after *Acacia radianna*. Other trees are successfully grown in various parts of the country, particularly in the North-West (Stidia in the region of Mostaganem) (El Abbassi et al. 2014).

The argan tree produces oleaginous fruits, whose oil has nutritional and pharma-nutritional properties that are being explored (Sour et al. 2012, 2015; Ursoniu et al. 2018). Edible argan oil is prepared from roasted kernels, whereas unroasted kernels are used in the production of cosmetic argan oil (Harhar et al. 2010). In addition to being employed in cosmetics, in fact, argan oil is consumed by humans as part of their diet or as folk medicine (Charrouf and Guillaume 2010).

In addition to fatty acids (mostly polyunsaturated), argan oil contains approximately 1% of “minor components” such as tocopherols, (poly)phenols, sterols, carotenoids, and xanthophylls (Harhar et al. 2010). This is due to the fact that argan oil is obtained by physical means, similarly to olive oil, without the use of solvents. Therefore, most of the unsaponifiable components of the seeds are transferred to the final product. Argan oil’s quality and composition, hence, depend on numerous parameters, namely genetic and environmental factors (climate and altitude), but also the oil extraction process, soil type, temperature, climate during harvest (e.g. rain vs. drought), fruit maturity, and harvest timing (Chakhchar et al. 2017).

We aimed at studying the anti-inflammatory activity of a well-characterized edible argan oil and its unsaponifiable fraction, in a mouse model.

## Materials and methods

Mature fruits of *Argania spinosa* were collected during July 2016 from trees of the Tindouf areas (South-Western Algeria).

Argan oil was obtained via traditional methods of pulping, crushing, roasting, trituration, kneading, and conditioning (Harhar et al. 2011). The resulting oil was analysed as follows.

### Density index

It is the ratio of the mass of a given volume of argan oil at 20 °C and the mass of an equal volume of water distributed at the same temperature. We used a pycnometer with a graduated thermometer and calibrated at 20 °C. The relative density  $d_{20}$  is given by the following formula:  $d_{20} = (m_2 - m_0)/(m_1 - m_0)$ , where  $m_0$  is the mass of the empty pycnometer;  $m_1$  is the mass of the pycnometer filled with distilled water; and  $m_2$  is the mass of the pycnometer filled with oil (AFNOR 1984).

### Refractive index ( $n_d^t$ )

We measured the oil’s refractive index using a refractometer at 20 °C. The refractive index was calculated by the following formula:  $n_d^{20} = n_d^t + 0.00035(t - 20)$ , where  $n_d^t$  is the refractive index at which the determination was made;  $n_d^{20}$ : refractive index at 20 °C;  $t$ : temperature at which the determination was made (AFNOR 1984)

### Acidity index ( $I_A$ )

Argan oil (0.5 g) was dissolved in 20 ml of ethanol/n-butanol solution (60:40; v/v). A control container was put in parallel with the same amount of solvent used. Each test was titrated with KOH (0.1 N) in the presence of phenolphthalein as the detector.

We calculated acidity by the following formula:  $I_A = ((V_1 - V_2) \times M \times N)/m$ , where  $V_1$  is the volume (ml) of KOH used for the test sample;  $V_2$  is the volume (ml) of KOH used for the control;  $M$ : the molecular weight of KOH (56.11 g/mol);  $N$ : the normality of KOH solution (0.1 N);  $m$ : the weight (g) of the oil sample (AFNOR 1985).

### Saponification index ( $I_S$ )

We saponified 1 g of oil under reflux with 25 ml of ethanolic KOH (0.5 N) for 1 h. The sample was titrated with 0.5 N HCl, in the presence of phenolphthalein the detector. Controls did not contain the oil.

We calculated the saponification index by the following formula:  $I_S = ((V_1 - V_2) \times M \times N)/m$ , where  $V_1$  is the volume (ml) of HCL used for the control;  $V_2$  the volume (ml) of KOH used for the test sample;  $M$  the KOH molecular weight (56.11 g/mol);  $N$  the normality of KOH solution (0.5 N);  $m$  the weight (g) of the oil sample (AFNOR 1990).

### Fatty acid analysis

Total fatty acids were derivatized into their corresponding methyl esters as described by Cecchi et al. (1985). Transmethylation was performed by the addition of 2 ml of hexane, 0.5 ml of 3% sodium methylate, 0.2 ml of 1 N  $H_2SO_4$ , and 1.5 ml of 10% sodium chloride. The hexanic phase, containing fatty acid methyl esters (FAME), was recovered and its volume reduced using a stream of nitrogen, prior to analysis. We analysed FAMES by gas chromatography (GC) using a Hewlett–Packard 6890 apparatus equipped with a flame ionisation detector (FID) and an electronic pressure control (EPC) injector (Agilent Technologies, Palo Alto, CA). A HP–Innowax capillary column (polyethylene glycol: 30 m 0.25 mm i.d., 0.25 mm film thickness; Agilent Technologies, Hewlett–Packard) was used; the flow of the carrier gas ( $N_2$ ) was 1.6 ml/min and the split ratio 60:1. Analyses were performed by using an oven temperature of 150 °C for 1 min, followed by an increase from 150 °C to 200 °C at a rate of 15 °C/min, and then from 200 to 225 °C at a rate of 2 °C/min and finally held as such for an additional 2-min period.

The detector and injector temperatures were set at 275 and 250 °C, respectively.

FAMES were identified by comparison of their retention times with those of pure reference standards (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany). The GC apparatus was connected to a HP Chemstation (Rev.A.0401) software for peak area and fatty acid percentage calculation.

### **Unsaponifiable fraction**

The unsaponifiable fraction was extracted and determined according to the AFNOR NF t 60-205 method (AFNOR 1984).

Five grams of oil were saponified with an ethanolic solution of potassium hydroxide (2 N) by refluxing for 20 min. After cooling and addition of 50 ml of distilled water, the unsaponifiable fraction was extracted with diethyl ether and then washed with water until neutral pH was reached. The extract was then filtered through anhydrous sodium sulphate and evaporated under vacuum using a rotary evaporator. The residue was dried and allowed to cool.

The content of unsaponifiable compounds was determined as: Unsaponifiables (%) =  $(m_1/m_0) \times 100$ , where  $m_1$  is the mass (g) of the dried residue and  $m_0$  the mass (g) of the test sample.

### **Analysis of tocopherols**

We quantified  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -tocopherols according to the method described by the ISO 9936:2016 publication (ISO 2016). For this, 0.2 g of oil was dissolved in 4 ml of hexane. Tocopherols' separation was carried out by a Waters HPLC equipped with a UV-Visible detector and a 25 cm long  $C_{18}$  column. Elution was performed with 0.5% isopropanol in hexane at a flow rate of 1.5 ml/min. Wavelength: 292 nm and injection loop 20  $\mu$ l.

All analyses were carried out in triplicate. Values are expressed as means  $\pm$  SD.

### **Analysis of phytosterols**

Sterols have been identified according to Sanchez-Machado et al. (2004). After saponification and removal of unsaponifiables with hexane, sterols were measured by a Waters HPLC equipped with a UV-Visible detector and a 25 cm long  $C_{18}$  column. Elution was performed with a mixture of methanol/acetonitrile (30/70; V/V). Wavelength: 205 nm, an injection loop: 20  $\mu$ l.

### **In vivo potential anti-inflammatory activity**

The experimental procedures and protocols used in this study were approved by the Institutional Animal Ethics Committee (1205/c/08/CPCSEA, on 21.04.08). The animals were obtained from the laboratory animal service of the Pasteur Institute of Algeria. We used female NMRI mice weighing 24–30 g. Mice were housed in polypropylene cages and maintained under standard laboratory conditions, i.e.  $20 \pm 2$  °C and relative humidity of 60–70%. All animals had free access to water and standard diet. They were acclimatised for least 1 week before the experiments started. All experiments were conducted after an overnight fast (water was available).

### **Acute toxicity**

Argan oil (5 and 8 g/kg) and its unsaponifiable fraction (10 and 15 g/kg) were administered to six mice by gavage. All animals were observed for 15 d after administration.

### **Inflammatory paw oedema test**

We used the method of Trovato et al. (2001). Eighteen mice were divided into six groups of three animals each. Two groups (H1) and (H2) received argan oil, orally, at doses of 5 and 8 g/kg, respectively. The unsaponifiable extract of argan oil was dissolved and dispersed in Tween 80 (15%) and administered to the (EX1) and (EX2) groups of mice at doses of 10 and 15 g/kg, respectively. The same amount of Tween 80 (15%) was administered to the control group (C). The anti-inflammatory activity of argan oil and its unsaponifiable fraction was compared to that of a reference group (SD) that was given 50 g/kg of diclofenac. One hour after oral administration, oedema was induced by the injection of 0.1 ml of carrageenan solution (0.5%) into the sub-plantar region of the right hind paw of all mice. The size of the oedema was measured by a plethysmometer from 1 to 6 h after injection.

The percentage increase and inhibition of oedema was calculated from the formula: Percentage of oedema increase (%) =  $(V_1 - V_0/V_0) \times 100$  and percentage of oedema inhibition (%) =  $(E_c - E_t/E_c) \times 100$ , where  $V_1$  is the paw volume of the rat after carrageenan injection;  $V_0$  the paw volume of the rat before carrageenin injection;  $E_c$  the oedema rate of the control group;  $E_t$  the oedema rate of the treated group.



## Histological study

Mice were anaesthetised with chloroform 6 h after the injection of carrageenan and their legs were removed, fixed in 10% neutral buffered formalin, and incased in paraffin. Four-micrometer sections were cut, stained with haematoxylin-eosin, and observed for histopathological changes under an optical microscope.

## Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the XLSTAT 2018 software, a one-way ANOVA, and a Student's *t*-test. The results are expressed as mean  $\pm$  SEM ( $n = 3$ ). Values of  $p < .05$ ;  $p < .01$  were considered significant (\*) and very significant (\*\*), respectively.

## Results

### Physicochemical indexes

The oil we used had density of 0.91, a refractive index of 1.47, an acidity of 1.12, and a saponification index of 192.7 (Table 1).

### Fatty acids profile

The fatty acid composition of the argan oil we studied is shown in Table 1. Unsaturated fatty acids are the

predominant components and account for more than 80% of the total. The most abundant fatty acids were oleic and linoleic acid, ( $45.06 \pm 1.54$  and  $35.87 \pm 1.17\%$ , respectively), followed by the saturated palmitic ( $11.99 \pm 0.12\%$ ) and stearic ( $6.17 \pm 0.39\%$ ) fatty acids. Argan oil is not a good source of omega 3 acids and, indeed, we only recorded traces of  $\alpha$ -linoleic acid.

### Unsaponifiable fraction

The unsaponifiable fraction represented 1.1% of the oil and was composed as follows (Table 1).

Schottenol is the predominant ( $46.86 \pm 0.19\%$ ) sterol, followed by spinasterol, stigmasta 8-22-dien-3 $\beta$ -ol and Delta7 avenasterol ( $39.78 \pm 0.14$ ,  $8.76 \pm 1.03$ , and  $4.26 \pm 0.84\%$ , respectively).

Tocopherol analysis (Table 1) shows that the predominant ( $576.29 \pm 30.67$ ) tocopherol is  $\gamma$ -tocopherol, followed by  $\delta$ -tocopherol ( $99.41 \pm 7.95$ ) and  $\alpha$ -tocopherol ( $66.65 \pm 15.76$ ).

### Acute toxicity

After oral administration of either oil (5 and 8 g/kg) or its unsaponifiable fraction (10 and 15 g/kg), no behavioural change and no mortality were recorded for any animal observed 15 d after treatment.

**Table 1.** Composition of the argan oil at study with reference to Moroccan standards.

	A. spinosa from Tindouf (Algeria)	Moroccan standards (NM 08.5.090), SNIMA, 2003
Density index 20 °C	0.909	0.906–0.919
Refractive index	1.469	1.463–1.472
Acidity index	1.12	$\leq 1.60$
Saponification index	192.68	189.0–199.1
Oleic acid (18:1 $\omega$ -9)	$45.06 \pm 1.54\%$	43–49%
Linoleic acid (18:2 $\omega$ -6)	$35.87 \pm 1.17\%$	29.3–36%
Palmitic acid (16:0)	$1.99 \pm 0.12\%$	11.5–15%
Stearic acid (18:0)	$6.17 \pm 0.39\%$	4.3–7.2%
Linolenic acid (18:3 $\omega$ 3)	Traces	$\leq 0.2\%$
Gadoleic acid (20:1)	$0.46 \pm 0.06\%$	$\leq 0.5\%$
Arachidic acid (20:0)	$0.45 \pm 0.12\%$	$\leq 0.5\%$
Palmitoleic (16:1)	Traces	$\leq 0.2\%$
TOTAL sterols	$9.66 \pm 0.24\%$	$\leq 180$ mg/100 g
Schottenol	$46.86 \pm 0.19\%$	44–49%
Spinasterol	$39.78 \pm 0.14\%$	34–44%
Stigmasta 8-22-dien-3 $\beta$ -ol	$8.76 \pm 1.03\%$	3.2–5.7%
$\Delta$ -7 avenasterol	$4.26 \pm 0.84\%$	4–7%
Total tocopherols	$742.35 \pm 16.64$ mg/kg	600–900 mg/kg
$\alpha$ -tocopherol	$66.65 \pm 15.76$ mg/kg	2.4–4.8% (18–75 mg/kg)
$\beta$ -tocopherol	Traces	0.1–0.2% (1–5 mg/kg)
$\gamma$ -tocopherol	$576.29 \pm 30.67$ mg/kg	81–89% (640–810 mg/kg)
$\delta$ -tocopherol	$99.41 \pm 7.95$ mg/kg	6.2–8.2% (54–110 mg/kg)
(Poly)phenols (mg/kg)		
Hydroxytyrosol	Traces	
Tyrosol	$2.01 \pm 0.04$	
Vanillic acid	$0.90 \pm 0.12$	
Syringic acid	Traces	
Vanilline	$0.81 \pm 0.06$	
Ferulic acid	$0.54 \pm 0.14$	

Phytosterol are percentages  $\pm$  SEM from triplicate analyses. Tocopherols are mg/kg  $\pm$  SEM from triplicate analyses.

### Anti-inflammatory activity of whole argan oil

The carrageenan-induced increase of paw volume was significantly reduced at 4 h, as compared with controls, in groups of mice that received argan oil (both 5 and 8 g/kg) and was very significantly at 5 and 6 h in the three groups treated (Table 2).

Argan oil (H1) was significantly more efficacious than diclofenac 4 h from the injection of carrageenan. At that time point, there was no significant difference between the effect of the argan oil tested (H1 and H2) and that of the reference product, with better efficacy for oil at a dose of 5 g/kg than 8 g/kg.

### Anti-inflammatory activity of the unsaponifiable fraction

After 5 h from the injection of carrageenan, the paw volume was very significantly reduced in the group treated with the unsaponifiable extract of argan oil (EX2, 15 g/kg), compared with controls (C) (Table 2).

The unsaponifiable fraction of argan oil at the dose of 10 g/kg reached its maximum activity 4 h after the injection of carrageenan and was more effective at 15 g/kg. Indeed, at the 5<sup>th</sup> hour, its effects on paw oedema were slightly stronger than those of diclofenac given at 50 g/kg; no significant difference was observed compared to the standard group after the fourth hour, when the anti-inflammatory effects of diclofenac peaked.

### Histological study of mouse paws

The results obtained in the histological study (Figure 1) confirm – at the tissutal level – those (percentage increase and inhibition of oedema) recorded with the plethysmometer. In particular, we evaluated oedema, congestion, and inflammatory infiltrates. We recorded that carrageenan-induced inflammation was greater in the untreated, control mice (group) than in the treated groups (H2 and EX1). Groups Std, H1, and EX2 exhibited the lowest degree of inflammation.

### Discussion

Argan oil is thought to be the most expensive edible oil worldwide. It is difficult to produce and the argan tree only grows in a limited geographical area, notably Morocco and Algeria. Yet, argan trees are important to the ecosystem and protect local land from desertification, as acknowledged by the UNESCO. Because it is produced manually without the use of solvents, argan oil retains most of the components found in kernels. In this respect, argan oil is similar to olive oil, also exclusively produced by mechanical means. In particular, argan oil is more than fatty acids and contain “minor” components that might be endowed with healthful effects. It is important to study edible argan oil because it provides a substantial portion of energy and essential fat to several indigenous people, which is in line with the UN Sustainable Development Goals.

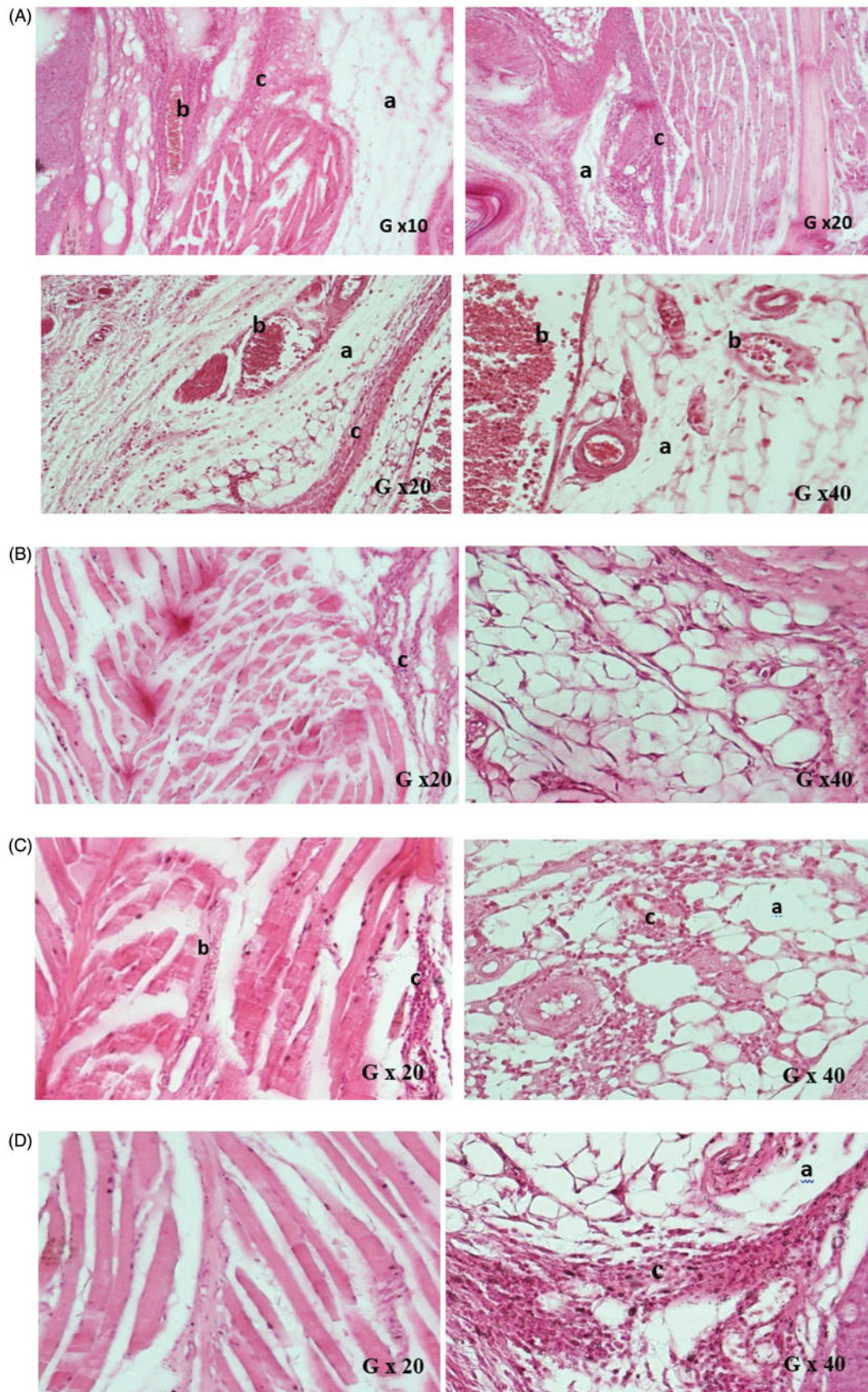
In this study, we investigated the anti-inflammatory activities of argan oil and its unsaponifiable fraction, by administering low, physiological doses and using diclofenac as a representative NSAID control. We report that argan oil and its “minor” components effectively lessen the inflammatory actions of carrageenan.

In terms of fatty acids, linoleic acid (of which argan oil is quite rich) is being scrutinised by the scientific community because of its theoretical pro-inflammatory effects, being it the precursor of arachidonic acid and, in turn, eicosanoids. However, the results of human epidemiological studies and some intervention trials argue against this hypothesis and actually show that the intake of linoleic acid results in anti- rather than pro-inflammatory actions (Marklund et al. 2019). Notable examples come from observation and intervention trials, whose pooled data clearly indicate that linoleic acid counterintuitively lowers systemic inflammation (Poli and Visioli 2015). In addition, for every 5% increase in polyunsaturated fatty acids replacing saturated ones, the effects on the total: HDL-C ratio would predict a 9% lower risk of CHD. For the same 5% replacement, prospective cohort studies have observed a 13% lower risk of CHD. The pooled analysis of randomised trials also indicates that

**Table 2.** Time-dependent increases (%) in paw oedema.

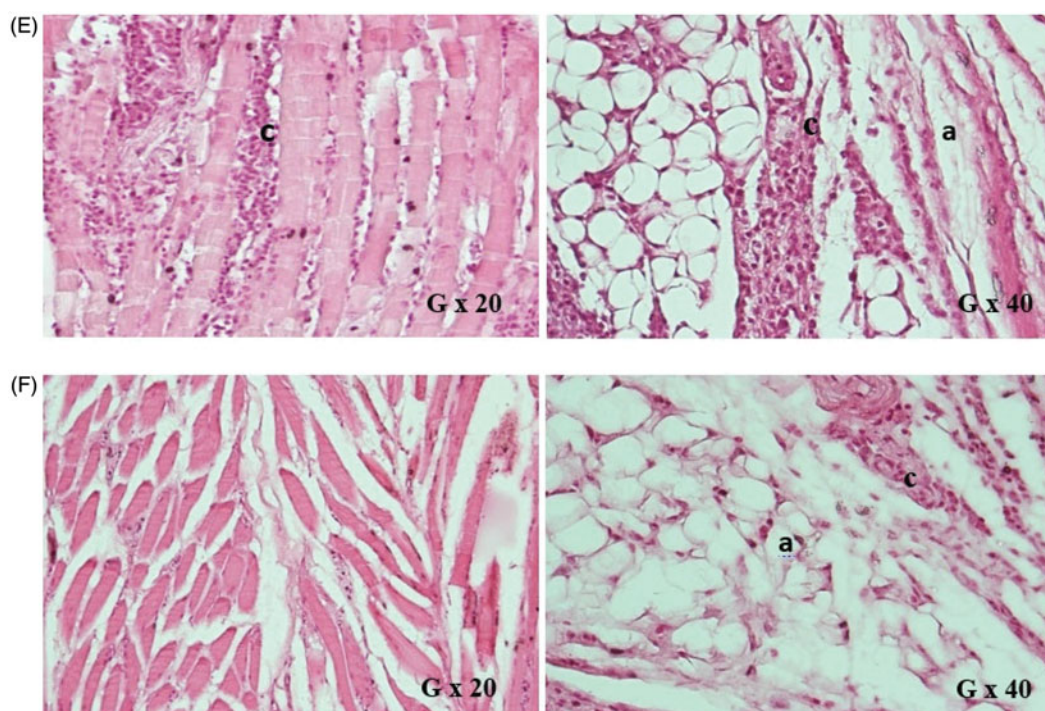
Treatments	Dose	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Control		53.93 ± 11.16	39.45 ± 10.41	34.32 ± 10.35	31.95 ± 10.92	23.48 ± 3.29	19.89 ± 4.08
Argan oil	5 mg/kg (H1)	46.22 ± 2.61	25.28 ± 0.93	18.01 ± 4.69	4.33 ± 1.34*	4.01 ± 1.17**	0.49 ± 0.41**
	8 mg/kg (H2)	39.16 ± 7.41	34.69 ± 11.59	18.52 ± 2.11	10.08 ± 2.36*	7.93 ± 0.05**	4.13 ± 1.88**
Unsaponifiable fraction	10 mg/kg (EX1)	43.57 ± 0.47	26.22 ± 4.80	18.78 ± 3.07	14.97 ± 3.65	20.01 ± 2.56	18.83 ± 0.70
	15 mg/kg (EX2)	40.05 ± 4.64	32.26 ± 4.08	24.78 ± 3.78	15.39 ± 0.93	4.63 ± 3.07**	3.48 ± 2.17**
Diclofenac	50 mg/kg	36.85 ± 3.285	22.95 ± 1.11	14.75 ± 2.08	11.3 ± 2.59	6.71 ± 2.19**	0.16 ± 0.23**

Data are means ± SEM (n = 3); \* p < .05; \*\*p < .01.



**Figure 1.** Haematoxylin–eosin staining of mouse paws. Representative images are shown. (a) oedema; (b) congestion, (c) inflammatory infiltrate. (A) Control; (B) diclofenac; (C) argan oil 5 g/kg; (D) argan oil 8 g/kg; (E) argan oil's unsaponifiable extract 10 mg/kg; (F) argan oil's unsaponifiable extract 15 mg/kg.





**Figure 1.** Continued

for the same 5% shift, a 10% lower risk of CHD could be expected (Mozaffarian et al. 2010).

Worth of discussion is the anti-inflammatory effect of the unsaponifiable fraction.

(Poly)phenols are anti-inflammatory products of plants' secondary metabolism (Del Rio et al. 2013). Argan oil does not contain (poly)phenols in relevant amounts (4–50 mg/kg and Table 1). Even though some of them, e.g. hydroxytyrosol are effective anti-inflammatory agents (Crespo et al. 2018), the true contribution of argan oil's (poly)phenols to the observed effects requires ad-hoc investigations. Tocopherols, namely  $\gamma$ -tocopherol, are abundant in argan oil. Even though the true effects of tocopherols, especially  $\alpha$ -tocopherol on the cardiovascular system are equivocal, basic evidence indicates that these molecules modulate signal transduction and might play anti-inflammatory roles in disorders such as allergy (Galli et al. 2017).

Finally, part of the anti-inflammatory effects might be consequent to the actions of phytosterols. Whereas there is sufficient basic science evidence that these compounds are anti-inflammatory in arrange of conditions, human evidence is inconclusive (Vilahur et al. 2018). Therefore, we think it unlikely that argan oil's phytosterols are chiefly responsible for the anti-inflammatory actions we report.

In conclusion, we report that argan oil (sourced from Algeria) and its unsaponifiable fraction have anti-inflammatory actions at nutritionally relevant doses.

These effects, far from being “pharmacological” are comparable with those of diclofenac in the short, i.e. 4 h term. Sustained consumption of argan oil (alone or in combination with, e.g. the more affordable virgin olive oil) might, therefore, contribute to lessen the burden of degenerative diseases associated with higher inflammatory status and further studies should be directed to identify its most active components.

### Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

### Funding

This study was supported in part by POR FESR 3S4H.

### References

- Association Française de Normalization [AFNOR]. 1984. Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuses produits dérivés. 3rd ed. Paris, France: AFNOR.
- Association Française de Normalization [AFNOR]. 1985. Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité (méthodes titrimétriques). Paris, France: AFNOR.
- Association Française de Normalization [AFNOR]. 1990. Détermination de l'indice de saponification. Paris, France: AFNOR.

- Calder PC, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Capuron L, Delzenne N, Dore J, Franceschi C, Lehtinen MJ, Recker T, Salvioni S, et al. 2017. Health relevance of the modification of low grade inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition. *Age Res Rev.* 40:95–119.
- Cecchi G, Biasini S, Castano J. 1985. Méthanolyse rapide des huiles en solvant. Note de Laboratoire. *Rev Franç Corps Gras.* 4:163–164.
- Chakhchar A, Haworth M, El Modafar C, Lauteri M, Mattioni C, Wahbi S, Centritto M. 2017. An assessment of genetic diversity and drought tolerance in argan tree (*argania spinosa*) populations: potential for the development of improved drought tolerance. *Front Plant Sci.* 8:276.
- Charrouf Z, Guillaume D. 2010. Should the amazigh diet (regular and moderate argan-oil consumption) have a beneficial impact on human health? *Crit Rev Food Sci Nutr.* 50(5):473–477.
- Crespo MC, Tome-Carneiro J, Davalos A, Visioli F. 2018. Pharma-nutritional properties of olive oil phenols. Transfer of new findings to human nutrition. *Foods.* 7(6):90.
- Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. 2013. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal.* 18(14):1818–1892.
- El Abbassi A, Khalid N, Zbakh H, Ahmad A. 2014. Physicochemical characteristics, nutritional properties, and health benefits of argan oil: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 54(11):1401–1414.
- Galli F, Azzi A, Birringer M, Cook-Mills JM, Eggersdorfer M, Frank J, Cruciani G, Lorkowski S, Ozer NK. 2017. Vitamin E: emerging aspects and new directions. *Free Radic Biol Med.* 102:16–36.
- Harhar H, Gharby S, Ghanmi M, El Monfalouti H, Guillaume D, Charrouf Z. 2010. Composition of the essential oil of *argania spinosa* (sapotaceae) fruit pulp. *Nat Prod Commun.* 5(6):935–936.
- Harhar H, Gharby S, Kartah B, El Monfalouti H, Guillaume D, Charrouf Z. 2011. Influence of argan kernel roasting-time on virgin argan oil composition and oxidative stability. *Plant Foods Hum Nutr.* 66(2):163–168.
- ISO. 2016. Animal and vegetable fats and oils – determination of tocopherol and tocotrienol contents by high-performance liquid chromatography. Vol. 9936. Geneva, Switzerland: ISO.
- Lanas A. 2016. Advances in gastrointestinal bleeding. *Gastroenterol Hepatol.* 39(Suppl 1):53–61.
- Marklund M, Wu JHY, Imamura F, Del Gobbo LC, Fretts A, de Goede J, Shi P, Tintle N, Wennberg M, Aslibekyan S, et al. 2019. Biomarkers of dietary omega-6 fatty acids and incident cardiovascular disease and mortality: an individual-level pooled analysis of 30 cohort studies. *Circulation.* 139(21):2422.
- Mozaffarian D, Micha R, Wallace S. 2010. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS Med.* 7(3): e1000252.
- Poli A, Visioli F. 2015. Recent evidence on omega 6 fatty acids and cardiovascular risk. *Eur J Lipid Sci Technol.* 117(11):1847–1852.
- Sanchez-Machado DI, Lopez-Hernandez J, Paseiro-Losada P, Lopez-Cervantes J. 2004. An hplc method for the quantification of sterols in edible seaweeds. *Biomed Chromatogr.* 18(3):183–190.
- Sour S, Belarbi M, Khaldi D, Benmansour N, Sari N, Nani A, Chemat F, Visioli F. 2012. Argan oil improves surrogate markers of cvd in humans. *Br J Nutr.* 107(12):1800–1805.
- Sour S, Belarbi M, Sari N, Benammar CH, Baghdad CH, Visioli F. 2015. Argan oil reduces, in rats, the high fat diet-induced metabolic effects of obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 25(4):382–387.
- Trovato A, Raneri E, Kouladis M, Tzakou O, Taviano MF, Galati EM. 2001. Anti-inflammatory and analgesic activity of hypericum *empetrifolium* willd. (guttiferae). *Farmaco.* 56(5–7):455–457.
- Ursoniu S, Sahebkar A, Serban MC, Banach M, Lipid Blood Pressure Meta A, Collaboration G. 2018. The impact of argan oil on plasma lipids in humans: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytother Res.* 32(3):377–383.
- Vilahur G, Ben-Aicha S, Diaz E, Badimon L, Padro T. 2018. Phytosterols and inflammation. *Curr Med Chem.* DOI:10.2174/0929867325666180622151438

## Résumé

L'huile d'argan figure parmi les huiles les plus chères au monde, du fait de son endémisme en Algérie et au Maroc, de son protocole d'extraction et de sa richesse en composés bioactifs. Cette étude a déterminé les indices physicochimiques, la teneur en acides gras, en stérols et en tocophérols de l'huile d'argan alimentaire de la région de Tindouf (Algérie). L'objectif principal est d'évaluer l'activité antiradicalaire (par le test de DPPH et FRAP) de l'huile et de sa fraction insaponifiable, ainsi que leur activité anti-inflammatoire -in vivo-, par un modèle d'inflammation aigue induit par la carragénine chez la souris. Les souris ont reçu, par gavage, différentes concentrations d'huile d'argan ou de sa fraction insaponifiable et le Diclofénac est utilisé comme standard.

L'analyse des paramètres physicochimiques a montré que notre huile est classée comme une huile vierge. Elle est composée principalement d'acides gras insaturés (l'acide oléique ( $45,06 \pm 1,54\%$ ) et l'acide linoléique ( $35,87 \pm 1,17\%$ )). La fraction insaponifiable est très riche en tocophérols, principalement le  $\gamma$ -tocophérol ( $576,29 \pm 30,67$  mg / kg) et le  $\delta$ -tocophérol ( $99,41 \pm 7,95$  mg / kg), et en stérols, principalement le schotténol ( $46,86 \pm 0,19\%$ ) et le spinastérol ( $39,78 \pm 0,14\%$ ). D'autre part, l'huile d'argan et son extrait insaponifiable ont révélé une activité antioxydante importante et une inhibition significative de l'œdème. A la 6<sup>ème</sup> heure, après l'induction de l'œdème, l'étude statistique n'a révélé aucune différence significative entre l'effet de l'huile d'argan algérienne testée (5 et 8 mg / kg) et l'extrait insaponifiable (15 mg / kg) par rapport au produit de référence (50 mg / kg). Une consommation soutenue d'huile d'argan pourrait donc contribuer à prévenir les maladies liées à un statut oxydant et/ou inflammatoire.

**Mots clés :** huile d'argan, fraction insaponifiable, antioxydant, antiinflammatoire.

## Summary

Argan oil is one of the most expensive oils in the world because of its endemism in Algeria and Morocco, its extraction protocol and its richness in bioactive compounds. This study determined the physico-chemical indices, fatty acid content, sterols and tocopherols of edible argan oil from the region of Tindouf (Algeria). The main objective is to evaluate the antiradical activity (by the DPPH and FRAP tests) of the oil and its unsaponifiable fraction, as well as their anti-inflammatory activity in vivo, by a model of acute inflammation induced by carrageenan in mice. The mice received, by gavage, different concentrations of argan oil or its unsaponifiable fraction, and Diclofenac is used as a standard.

The analysis of physicochemical parameters has shown that our oil is classified as a virgin oil. It is composed mainly of unsaturated fatty acids (oleic acid ( $45.06 \pm 1.54\%$ ) and linoleic acid ( $35.87 \pm 1.17\%$ )). The unsaponifiable fraction is very rich in tocopherols, mainly  $\gamma$ -tocopherol ( $576.29 \pm 30.67$  mg / kg) and  $\delta$ -tocopherol ( $99.41 \pm 7.95$  mg / kg), and in sterols, mainly the schottenol ( $46.86 \pm 0.19\%$ ) and spinasterol ( $39.78 \pm 0.14\%$ ). In addition, argan oil and its unsaponifiable extract revealed significant antioxidant activity and significant inhibition of edema. At the 6th hour, after the induction of edema, the statistical study revealed no significant difference between the effect of the Algerian argan oil tested (5 and 8 mg / kg) and the extract unsaponifiable (15 mg / kg) relative to the reference product (50 mg / kg). Sustained consumption of argan oil may therefore help to prevent diseases related to oxidative and / or inflammatory status.

**Key words:** argan oil, unsaponifiable fraction, antioxidant, anti-inflammatory.

## ملخص

يعد زيت الأركان من بين أعلى الزيوت في العالم، بسبب عدم توفره إلا في مناطق محدودة (لأسيما الجزائر والمغرب)، البروتوكول المستعمل لاستخلاصه وثرائه بالمركبات النشطة بيولوجيا. حددت هذه الدراسة المؤشرات الفيزيائية والكيميائية وكذلك محتوى الأحماض الدهنية، الستيرول والتوكوفيرول لزيت الأركان الصالح للأكل لمنطقة تندوف (الجزائر). الهدف الرئيسي هو تقييم النشاط المضاد للأوكسدة للزيت وجزءه الغير القابل للتصبن بالإضافة إلى نشاطهما المضاد للالتهاب - في الجسم الحي - بواسطة نموذج الالتهاب الحاد، الناجم عن حقن الكاراجينين في الفئران. تستلم الفئران، عن طريق التزقيم، تركيزات مختلفة من زيت الأركان أو الجزء الغير القابل للتصبن والديكلوفيناك كمعيار.

أظهر تحليل المعلمات الفيزيائية والكيميائية أن زيتنا يصنف كزيت بكر. يتكون بشكل أساسي من الأحماض الدهنية الغير المشبعة (حمض الأوليك ( $45.06 \pm 1.54\%$ ) وحمض اللينوليك ( $39.78 \pm 0.14\%$ )). الجزء الغير القابل للتصبن غني جداً بالتوكوفيرولات، أساساً،  $\gamma$ -توكوفيرول ( $576.29 \pm 30.67$  ملغ / كلغ) و $\delta$ -توكوفيرول ( $99.41 \pm 7.95$  ملغ / كلغ) وكذلك ستيرولات، خاصة سكوتينول ( $46.86 \pm 0.19\%$ ) وسبينسترول ( $39.78 \pm 0.14\%$ ). من ناحية أخرى، كشف زيت الأركان ومستخلصه غير القابل للتصبن عن نشاط كبير مضاد للأوكسدة وتنشيط كبير للوذمة. في الساعة السادسة، بعد تحريض الوذمة، كشفت الدراسة الإحصائية عدم وجود فرق كبير بين تأثير زيت الأركان الجزائري الذي تم اختباره (5 و 8 ملغ / كلغ) والمستخلص غير قابل للتصبن (15 ملغ / كلغ) بالنسبة للمنتج المرجعي (50 ملغ / كلغ). لذلك فإن الاستهلاك المستدام لزيت الأركان قد يساعد في منع الأمراض المتعلقة بحالة التأكسد و/ أو الالتهابات.

**الكلمات المفتاحية:** زيت الأركان، جزء الغير القابل للتصبن، مضاد للأوكسدة، مضاد للالتهاب.