

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

N°:.....



FILIERE : BIOTECHNOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour
l'obtention du diplôme de Master Académique

Par :

Mokadem Lynda & Djerrare Leila & Daoud Chahrazed

Intitulé

**Caractérisation chimique et biologique de
l'arganier**

Soutenu le : 21 /06 /2023 devant le jury composé de :

Mr.Merabti Karim	MAA Université de M'sila	Président
Dr. Bendif Hamdi	MCA Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
Mr. Harrar Abdenasser	MAA Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2022 /2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENT

Nous remercions avant tout Allah tout puissant, de nous avoir guidé toute la carrière d'étude et nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

*On tient à exprimer notre profonde gratitude et sincères remerciements à notre encadreur **Dr. BENDIF Hamdi** Maître de conférences A, à l'université de M'sila, d'avoir proposé et dirigé ce travail ; on le remercie infiniment pour ses importantes remarques, ses orientations et ses conseils, sa patience, sa confiance, tout au long de ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre Président de jury, **Mr Karim Merabti**. Nous vous remercions vivement d'avoir accepté de juger ce travail. Nous sommes particulièrement honorés de vous avoir vu assurer la présidence de ce Jury de mémoire. Nous sommes particulièrement honorés de vous avoir vu assurer la présidence de ce Jury de mémoire.*

*Nous tenons à remercier tout particulièrement **Mr. Abdenassar Harrar**, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.*

Nos vifs remerciements vont aussi aux ingénieurs de laboratoire : D. Leila, A. Samiha, et T. Fayrouze.

Nous adressons nos remerciements également à tous notre enseignants, pour les informations et les aides au coures des années de nos études et à toutes ces personnes qui ont participé par leur disponibilité, leur gentillesse et leur aide chaque jour.

Finalement je remercie tous ceux qui n'ont pas été cités dans ces quelques lignes et qui ont contribués de près ou de loin par leur aide au bon déroulement de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts à ceux que j'aime le plus au monde :

Mon père, que Dieu ait pitié de lui, qui a toujours rêvé de me voir exceller.

Ma mère, que Dieu la protège.

Mon cher marie, qui m'a donné le coup de pouce aux moments difficiles et m'a donné la force et le courage.

Mes chers enfants (Nada, Rassim, Iyad).

Ma grande sœur qui m'a aidé dans mes études depuis l'enfance et à toutes ma famille.

Mon grand frère qui m'a encouragé à étudier cette filière.

Mes trinôme qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

Merci pour votre amour, votre soutien, vos encouragements, vos sacrifices.

LYNDA.M

Dédicace

Je Dédie ce modeste travail :

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents, leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation

A mon chéri : En témoignage de mon affection et reconnaissance pour tout ce qu'il m'a donné ; Sans toi je ne serais jamais arrivé jusqu'au là, et ce mémoire n'aurait jamais vu le jour ; je te remercie pour ton soutien et ton amour inconditionnel.

A mes chères enfants : Nourssine, Mayassine, Firasse

A ma belle-famille

A mes amis, cette mémoire est la vôtre

Leila.D

Dédicace

*Je voudrais exprimer ma profonde gratitude à Dieu
qui m'a donné la force, la patience, le courage et la volonté
pour élaborer ce travail*

Je dédie ce travail à :

- ⌘ A moi même*
- ⌘ A ma chère famille*
- ⌘ A mon encadreur Monsieur **BENDIF Hamdi***
- ⌘ A tous mes collègues de la promo 2023*
- ⌘ A tous ceux qui sont très chers pour moi*

DAOUD Chahrazad

Résumé

Les végétaux constituent une source importante de métabolites actifs avec un important potentiel thérapeutique. Notre travail vise à étudier le pouvoir antioxydant, antifongique, antimicrobienne et insecticide des extraits des feuilles et des amandes récoltés de la région de Tindouf. L'extraction par solvant (éthanol, éther de pétrole) permet d'obtenir les composés actifs présents dans la plante, avec des rendements variantes selon plusieurs facteurs (le solvant, la méthode, la période de récolte.....). Le criblage phytochimique et chromatographiques a permis de mettre en évidence la présence de substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques (flavonoïdes, alcaloïdes.....etc). L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les tests du DPPH, ABTS+,CUPRAC a montré que l'extrait de feuille a une activité antioxydante très intéressante sauf l'extrait d'amande qui présente une activité antioxydante faible. Les deux extraits présente une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des activités insecticides et des germes testés. *Escherichia coli*, *Pseudomas* , *Salmonela* sont des souches très sensibles à l'extrait d'argan. Quant à *l'Aspergillus flavus*, *l'Aspergillus niger* et *le Fusarium*, ce sont des souches sensibles à l'extrait d'argan. Enfin, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus thermophilus* sont des souches extrêmement sensibles à l'extrait d'argan.

Mots clés: Arganier, amande , feuilles, polyphénols, pouvoir antioxydant, insecticide, antibactérien

ملخص

تعتبر النباتات مصدرًا مهمًا للأيضات النشطة ذات الإمكانيات العلاجية الكبيرة. يهدف عملنا إلى دراسة القوة المضادة للأكسدة والفطريات والميكروبات والمبيدات الحشرية لمستخلصات أوراق وحبوب شجرة الأركان التي يتم حصادها من منطقة تندوف. الاستخلاص بالمذيبات (الإيثانول، الأثير البترولي) يجعل من الممكن الحصول على المركبات النشطة الموجودة في النبات، مع عوائد متفاوتة اعتمادًا على عدة عوامل (المذيب، الطريقة، فترة الحصاد، إلخ). مكن الفحص الكيميائي النباتي والكروماتوغرافي من إبراز وجود مواد ذات قيم علاجية كبيرة (مركبات الفلافونويد، والقلويدات، وما إلى ذلك). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام اختبارات DPPH و ABTS + و CUPRAC التي أظهرت أن مستخلص الأوراق له نشاط مضاد للأكسدة مثير للاهتمام باستثناء مستخلص اللوز الذي يحتوي على نشاط مضاد للأكسدة ضعيف. تم اختياره. الإشرافية القولونية، الأورام الزائفة، السالمونيلا هي سلالات حساسة للغاية لمستخلص الأركان. أما بالنسبة لـ *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* و *Fusarium*، فهذه سلالات حساسة لمستخلص الأركان. أخيرًا، المكورات العنقودية الذهبية والعقدية الحرارية هي سلالات حساسة للغاية لمستخلص الأركان.

الكلمات المفتاحية: شجرة الأركان ، اللوز، الأوراق، البوليفينول، القوة المضادة للأكسدة، مبيدات الحشرات، مضاد للجراثيم.

Liste des figures

Figure 1: Aspect générale de l'arganier.....	4
Figure 2: Les racines de l'arganier(Kechebar2016.).....	5
Figure 3 : Ecorce de l'Arganier (Kechebar., 2016).....	5
Figure 4 : Feuille de l'arganier	6
Figure 5 : Fleur de l'arganier.....	6
Figure 6: Rameau d'Arganier et fruits à maturité	7
Figure 7: Le noyau de fruit de l'arganier.....	7
Figure 8: Aire de répartition de l'arganier au Maroc(M'HIRIT et al., 1998).....	9
Figure 9: Localisation de l'argenterie en Algérie.....	10
Figure 10: l'acide hydroxycinnamique.....	15
Figure 11 : Acide caféique	16
Figure 12: Structure de flavonoïde	17
Figure 13 : feuilles d'Arganier	23
Figure 14 : amandes d'Arganier	23
Figure 15 : Aire de répartition géographique de l'arganier de Tindouf D'après (KECHAIRI, 2009).	24
Figure 16: feuilles et amande d'Arganier en poudre	26
Figure 17 : Les étapes d'extraction par macération.....	28
Figure 18: Montage d'une chromatographie sur couche mince	32
Figure 19: représentation graphique du rendement d'extraction (R%).....	36
Figure 20 : Les larves de farine morte.....	45
Figure 21: Résultats d'isolement des souches à partir du l'A.spinosa	47

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique de l'Arganier	10
Tableau 2: Rendement des extraits d' <i>Arganier</i>	36
Tableau 3: Résultats de screening phytochimique d' <i>Arganier</i>	38
Tableau 4 : les solvants d'extraction et système de chromatographie sur couche mince. ...	43
Tableau 5 : Evaluation de la cytotoxicité de l'extrait des parties de l'argan sur les larves.	45
Tableau 6: Taux de croissance de l'activité antifongique des extraits sur les souches	48
Tableau 7 : diamètre inhibitrice des quatre extraits pour 7jours à différents concentration souche <i>Aspargilus niger</i>	49
Tableau 8: diamètre d'inhibition des quatre extraits pour 7jours à différents concentration sursouche <i>Aspargilus flavus</i>	50
Tableau 9 : Les valeurs IC50 de l'extrait de feuilles et amande d'Arganier	51
Tableau 10 : Activité antibactérienne des extraits de feuilles et d'amande d'Arganier Par la méthode de diffusion sur milieu solide.	53

Liste des abréviations

ATCC :	American type culture collection.
MH :	Muller Hinton
BHT :	Butylhydroxytoluène.
CCM :	Chromatograie sur couche mince.
CMI :	Concentration minimale inhibitrice.
DPPH :	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.
Hcl :	Acide chlorhydrique.
IC50 :	Concentration inhibitrice de 50 %.
MeOH :	Méthanol
mg/ml :	Milligramme par millilitre.
mm :	Millimètre.
Cm :	centimètre
Rf :	Rapport frontal.
R :	Le rendement.
UV :	Ultraviolet.
µl :	Microlitre
H2SO4 :	Acide sulfurique
% :	pourcentage
G :	Gramme
J :	Jour
D :	Diamètre
Nm :	Nanomètre
NaOH :	Hydrox ide de sodium

Table des matières

REMERCIEMENT	
Dédicace	
Résumé	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Sommaire.....	
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	3
1- La plante d'Arganier	3
1-1- Historique de l'Argan :	3
1-2- Présentation botanique de l' <i>Arganier</i>	4
1-3- Caractérisation climatique et phyto-édaphique de l'Arganier	7
1-4- Reproduction de l'Arganier	8
1-5- Répartition de l'arganier :	9
1-6- Classification de l'arganier	10
1-7- Intérêt de l'Arganier.....	11
1-8- Importance écologique et économique de l'Arganier.....	12
1-9- Utilisations et effets thérapeutiques de l'arganier :.....	12
2 - Substances naturelles et les différentes méthodes d'extraction et d'analyses :.....	14
2-1- Métabolites secondaires :	14
3- Composition chimique de l'Arganier.....	18
3-1- Feuille :	18

3-2- Bois :	18
3-3-Pulpe :	18
3-4- Tourteau :	19
4- Différentes méthodes d'extraction :	19
4-1- Généralités :	19
4-2- Extraction liquide-liquide :	19
4-3- Extraction solide-liquide.....	19
4-4- Macération :	19
4-5- Micro-onde :	20
4-6- Extraction par fluide pressurisé :	20
4-7-Extraction à chaud en continu (Soxhlet):.....	20
5- Méthodes d'analyses :	20
5-1- Chromatographie En Couche Mince.....	20
5-2- Spectrophotometrie Uv-Visibles :	21
5-3- La chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	21
Chapitre II : Matériels et méthode.....	23
1- Matériel Végétal :	23
2-La récolte d' <i>Arganier</i> :.....	23
3- Matériels de laboratoire et produits utilisés :	24
3-1- Appareils :	24
3-2- Verrerie et petits matériels :	25
3-3- Produits et réactifs :	25
4- Méthodes :	25
5- Détermination du rendement d'extractions.....	28
6- Criblage photochimique :	29
7- Analyses chromatographiques par CCM (Chromatographie sur couches minces).....	31

7-1- Définition :	31
7-2- Principe :	31
7-3- Mode Opérateur :	31
8- Activités biologiques :	32
8-1- Activité antifongique	32
8-2- Activité insecticide :	33
8-3- Activité anti-oxydante :	34
8-4- Activités antimicrobiennes.....	35
Chapitre III : Résultats et discussions	36
1- Rendement des extractions :	36
2- Screening phytochimique :	38
3- Analyses chromatographiques par CCM.....	43
4- Activité biologique :	45
4-1- Evaluation de l'insecticide :	45
4-2- Activité antifongique :	47
4-3- Activité anti-oxydante :	51
4-4- activité antibactérienne.....	53
CONCLUSION	57
Références :	58
Annexes	65

INTRODUCTION

Introduction

L'Algérie est renommée pour sa biodiversité exceptionnelle en raison de sa situation géographique privilégiée et de sa vaste étendue s'étendant de la Méditerranée à l'Afrique subsaharienne. La flore L'Algérie est renommée pour sa biodiversité exceptionnelle en raison de sa situation géographique abrite un potentiel important de plantes médicinales et aromatiques, parmi lesquelles des nombreuses espèces endémiques (**Quezel et al.1963**). Ces espèces représentent une véritable richesse pour le pays et il est crucial de les préserver et de les valoriser afin de découvrir de nouveaux métabolites et principes actifs (**Bruneton, 1999**). Malheureusement, peu d'efforts ont été consacrés au développement thérapeutique de ces plantes, ce qui suscite notre intérêt pour une espèce endémique du sud-ouest de l'Algérie, *l'Arganier*.

L'arganier est un arbre aux multiples usages qui joue un rôle socio-économique et environnemental très important, où il est la deuxième essence forestière avec plus de 800 000 hectares. Mentionné dès 1219 par Ibn El-Beïthar dans son ouvrage "Traité des simples"(**Leclerc, 1989**) et en 1510 par Jean-Léon L'Africain dans sa "Description de l'Afrique"(**Radi, 2003**). C'est pourquoi nous avons décidé de nous intéresser spécifiquement à cette espèce endémique afin de démontrer sa présence dans notre pays, avec une aire de répartition en expansion grâce aux efforts des spécialistes.

Les études phytochimiques réalisées ont porté essentiellement sur les caractéristiques organoleptiques, chimiques et cosmétiques de l'huile (**Farines et al. 1984 ; Boukhobza et Pichon-Prum, 1988 ; Maurin, 1992 ; Maurin et al.1992 ; Chimi et al., 1994**)

Plusieurs travaux scientifiques ont été réalisés au Maroc, mais peu d'études ont été consacrées à l'arganier algérien. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris l'étude de la composition chimique non seulement de l'huile d'argan, mais aussi des sous-produits de l'arganier tels que les feuilles et l'amande. L'utilisation limitée de ces sous-produits représente une perte économique réelle, il est souvent riche en saponines, qui sont des composés naturels présents dans de nombreuses plantes. (**Charrouf et al., 1991 ; Charrouf et al., 1992 ; Bellakhdar, 1997**).

L'objectif principal de notre étude était l'utilisation des méthodes d'extraction et d'analyse, ainsi que de déterminer les composés chimiques des extraits étudiés et leurs activités biologiques.

Ce mémoire est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre présente une revue bibliographique de base, divisée en quatre parties abordant la phytothérapie, les métabolites secondaires et les huiles végétales en général, ainsi que l'arganier en particulier.
- Le deuxième chapitre décrit le matériel utilisé et les différentes méthodes et les techniques employées lors de notre travail expérimental.
- Le troisième chapitre est parti : des résultats obtenus ainsi que leur interprétation avec une discussion pour chaque résultat.
- Et enfin une conclusion.

CHAPITRE I

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1- La plante d'Arganier

1-1- Historique de l'Argan :

L'arganier est très anciennement connu et utilisé par l'homme, au X^{ème} siècle, auraient utilisé l'huile qu'il produit dans leur comptoir installé le long de la côte atlantique (**Kenny et De Zborowski, 2007**). L'histoire de l'exploitation et de l'utilisation de l'arganier pendant les premiers temps a été documentée par très peu de sources arabes écrites (**Ruas et al., 2016**). Les savants et les géographes arabes, notamment **Ali-Ibn Roudhouan, El Beckri** et **El Idrissi**, sont les premiers à avoir mentionné l'existence de l'arganier aux X^{ème}, XI^{ème} et XII^{ème} siècles (**M'herit et al., 1998**).

Ibn-Al-Baytār en 1219, a décrit dans son ouvrage « Traité des simples » l'arganier comme « un arbre de haute taille, épineux, donnant un fruit du volume d'une amande et contenant un noyau que l'on recueille, que l'on triture et on extrait l'huile pour l'employer dans les préparations alimentaires».

Ali-Ibn Roudhouan (988-1061), il a signalé que l'arganier, Amandier de berbère, se provient des arbres vigoureux du Maghreb Occident, et qu'il a un fruit similaire au bouton de chêne, de couleur jaunâtre, son contenu est semblable des semis de pinastre.

L'historique de l'Arganier est bien présent dans l'ouvrage "Arganier" de M'herit et ses collaborateurs (**M'herit et al, 1998**).

La première description spécifique fut donnée En **1737** par **Linné** à part seulement de rameaux séchés et sans fleurs dans son "Hortus Cliffortianus" sous le nom sidéroxyton spinosum du genre Rhamnus (sapotacées).

En **1791**, **Hosst** mentionna l'utilisation de l'huile dans les usines, notamment à Marseille, dans la fabrication de savon.

En **1888**, **Coton** isole un principe actif du tourteau du fruit de l'arbre, l'identifie comme un mélange de saponines et l'appelle Arginines.

En 1929, **Battino**, s'intéresse à l'huile d'argan et d'autres produits de l'arganier en particulier Arganine isolé par Coton et à laquelle il prête une action hémolytique vitro et in vitro (**Charrouf et Guillaume, 1999**).

1-2- Présentation botanique de l'Arganier

L'arganier est une espèce endémique méditerranéenne (**Radi ; 2003**). Elle est connue sous plusieurs noms vernaculaires dont l'arganier, l'argane, l'argan et le bois de fer (**Rammal et al., 2009**). L'arganier est un arbre dont la taille ne dépassant guère 8 à 10 m. et présente des rameaux épineux (**M'herit, Benzyane et al., 1998**). Cette essence forestière occupe la troisième place à l'échelle nationale après le chêne vert et le thuya (**Radi, 2003**). C'est un arbre fruitier qui peut vivre de 150 à 200 ans. L'arganier pousse d'une façon sauvage et en abondance dans les zones arides et semi-arides, où il joue un rôle irremplaçable dans l'équilibre écologique et dans la préservation de la biodiversité. Il est très résistant à la sécheresse et à la chaleur.



Figure 1: Aspect générale de l'arganier

Ses racines profondes permettent la récupération de l'eau à partir des couches très profondes. Ceci permet à l'arganier de jouer un rôle très important dans la stabilisation du sol et de constituer un obstacle important à l'avancement des déserts (**Wagret, 1962**).



Figure2: Les racines de l'arganier (Kechebar2016.)

Sa cime est large, étalée, dense et ronde. Son tronc est court, noueux, tourmenté, même souvent multiple et forme plusieurs tiges entrelacées. (Nouaim et al., 1993).

Le bois de l'arganier est très dur et compact, de densité variant de 0,9 à 1, appelé bois de fer, de couleur blanc-jaunâtre. Il est utilisé comme bois de chauffage (Jaccard, 1926 ; Nouaïm et al ., 1991).

Selon Agouzzal, (2019), son tronc est court de 2 à 3 mètres, noueux, tourmenté, même souvent multiple et formé alors de plusieurs tiges entrelacées. Le caractère polymorphe de l'arganier est très frappant : en effet, on trouve des formes extrêmement variées selon les ont secteurs et le stade de développement de l'arbre. Parfois il présente l'apparence majestueuse d'un chêne, d'autres fois son tronc noueux et ses rameaux le font ressembler à un olivier.



Figure 3 : Ecorce de l'Arganier (Kechebar., 2016)

L'âge de l'arganier est difficile à estimer car les cernes sont peu visibles et la croissance du bois est irrégulière (Boudy, 1950 ; Berthier, 1966). Il a été évalué à

250-300 ans (**Ehrig, 1974**), et peut dépasser 300 à 350 ans (**Boudy, 1950**). Certains auteurs rapportent que l'âge de l'arbre est plus de 400 ans, voire plus 1000 ans (**Githens et Wood, 1943**).

Les feuilles sont petites, alternes, simples ou regroupées sous forme de rosettes, vert-sombre à la face supérieure et claires en dessous. Elles sont persistantes et ne tombent qu'en cas de sécheresse sévère

(**Lenz, 1886**)



Figure 4 : Feuille de l'arganier

Les fleurs hermaphrodites, sont groupées en petits glomérules axillaires et sont de couleur jaune-verdâtre ou parfois blanche. (**Boudy, 1952**). La floraison a lieu en Mai-Juin.



Figure 5 : Fleur de l'arganier

D'après **Emberger (1960)** le fruit appelé "noix d'argan" est une baie sessile, de taille et de forme variables (sphérique, ovale, ovale apiculée, goutte, fusiforme, formes

intermédiaires), renfermant un noyau très dur qui contient une à trois amandes oléagineuses d'où est extraite l'huile d'argan. L'amande représente environ 3% du poids du fruit et comprend approximativement 60% d'huile. La production fruitière varie selon l'âge de l'arbre.



Figure 6: Rameau d'Arganier et fruits à maturité

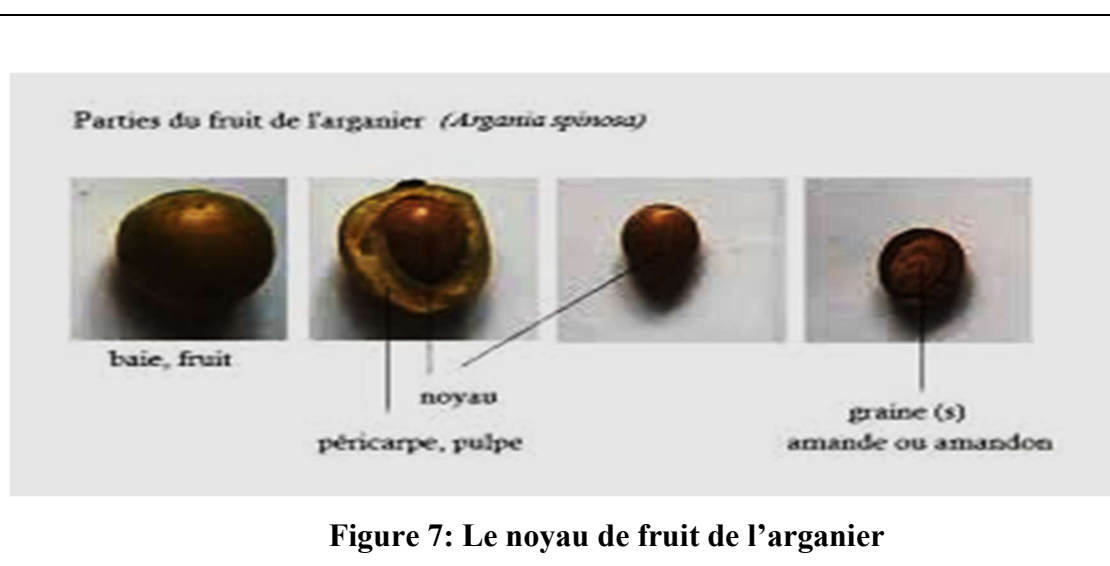


Figure 7: Le noyau de fruit de l'arganier

Suivant le degré de maturation du fruit, la pulpe change de couleur. Elle passe du vert au jaune veiné de rouge à la maturation puis au brun foncé une fois desséchée. Le fruit d'Arganier renferme une graine composée, appelée noyau. Ce dernier est très dur et renferme une ou plusieurs amandes (ElMonfalouti 2013).

1-3- Caractérisation climatique et phyto-édaphique de l'Arganier

L'arganier est une essence thermophile et xérophile qui pousse de façon sauvage et spontanée ou sud-ouest marocain. Le climat de cette région est de type

méditerranéen aride où la pluviosité se répartit inégalement sur l'année (**Ferradous et al., 1996 ; Zahidi et Bani-Aameur, 1998**). Cet arbre est particulièrement résistant aux conditions sèches et arides du sud-ouest marocain et peut en effet supporter des températures qui peuvent atteindre 50°C, et se contenter d'une pluviométrie très faible. Le minimum de pluviométrie requis pour son développement est de 120 mm par an. En effet, les arbres adultes peuvent survivre dans des conditions très sèches pendant des longues périodes en adoptant des stratégies bien accommodées : longues racines pivotantes, réserve d'eau dans le bois et réduction de l'évaporation par perte des feuilles. Il s'accommode à tous les sols sauf aux sables mobiles, étant donné que l'érosion éolienne du sol nuit au bon développement de son système racinaire (**Nouaim et Chaussod, 1993**). La densité du peuplement, le milieu et la pluviométrie (**Radi, 2003**).

1-4- Reproduction de l'Arganier

La reproduction de l'arganier peut être par :

- **Germination naturelle** : Elle se fait par la chute de graines sur le sol mais nécessitent un sol approprié et des conditions climatiques favorables ; surtout pour la survie des plantules après germination.
- **Le reboisement** : Il consiste à récolter et sélectionner des graines et semis en pépinière. L'élevage des plants en pépinière est la seule alternative pour augmenter les chances de réussite de la plantation.
- **Rejets de souche** : La régénération par des rejets est très rapide après un incendie ou des coupes mais nécessite une mise en défens pendant 6 à 8 ans pour protéger les rejets contre le pâturage.
- **Bouture** : Cette technique est en cours d'essais, reporte que l'Arganier peut se multiplier par boutures à partir des jeunes pousses mais cette technique nécessite la mise en œuvre d'un brunissement. Les boutures peuvent être obtenues à partir de rameaux prélevés sur des adultes ou sur de jeunes arbres maintenus en serre.

1-5- Répartition de l'arganier :

Le Maroc est l'un des rares pays d'Afrique du Nord à disposer d'un ensemble d'écosystèmes endémiques d'une biodiversité remarquable (El fasskaoui, 2009). L'arganier est un endémique spécifiquement marocain (Baudy, 1950), c'est une espèce rustique, xéro-thermophile, dont elle est la seule représentante septentrionale dans la région méditerranéenne (Algérie et Maroc) d'où son endémisme marqué à cette région (Tabet *et al.*, 2013 ; Ait Hamouda *et al.*, 2013).

En Algérie, son aire de répartition géographique couvre un territoire relativement important dans le nord-ouest de la wilaya de Tindouf (Hamada de Tindouf), où cette espèce constitue la deuxième essence forestière après l'Acacia raddiana, il forme dans ce territoire des populations dispersées, regroupées selon un mode contracté, le long des berges des oueds où il trouve les compensations hydriques nécessaires (Benkheira, 2009).

L'arganier de Tindouf formait, probablement, à l'origine une même unité écologique avec celle du Maroc qui couvrait de vastes territoires. A l'avènement des périodes glaciaires, un déplacement de la totalité de l'aire à arganier qui couvrait le territoire marocain s'est opéré vers le sud marocain (Kechebar *et al.*, 2013).



Figure 8: Aire de répartition de l'arganier au Maroc (M'HIRIT *et al.*, 1998)

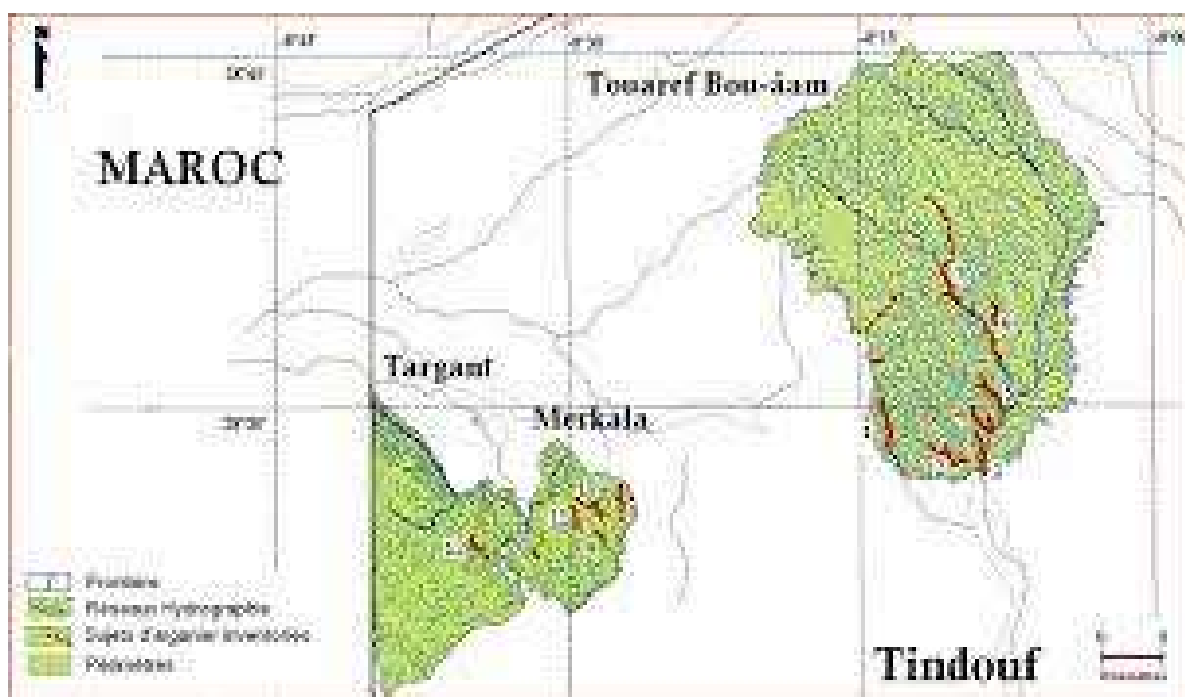


Figure 9: Localisation de l'argenterie en Algérie.

1-6- Classification de l'arganier

L'arganier espèce endémique de l'Algérie et du Maroc, appartient à la famille des Sapotacées qui renferme environ 600 espèces et 40 genres. C'est le représentant le plus septentrional d'une famille essentiellement tropicale (Radi, 2003).

Tableau 1: Classification botanique de l'Arganier

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement.	Angiospermes.
Classe	Dicotylédones.
Sous-classe.	Gamopétales.
Série	Superovariées pentacycliques.
Ordre	Ebénales.
Famille	Sapotacées
Genre.	Arganier.

Noms vernaculaires : Arganier, argane, bois de fer (Bezzala, 2003)

1-7- Intérêt de l'Arganier

L'arganier représente une source de revenu non négligeable par ses productions d'huile, de fourrage et de bois de chauffage et d'outillage (Nouaim et al., 2002). Les dérivés de l'arganier sont utilisés à plusieurs fins thérapeutiques, cosmétiques et alimentaires (Moukal., 2004). Les feuilles constituent un pâturage apprécié par les caprins et les camelins, tandis que le tourteau ainsi que la pulpe du fruit sont utilisés pour l'engraissement des moutons et des bovins (M'Hirit et al., 1989 ; Benchekroun, 1990). Mais son principal intérêt réside dans son fruit qui donne une huile très précieuse à usage cosmétique et alimentaire (Nouaim et al., 2002). Il joue également un rôle très important dans l'équilibre écologique. Grâce à son système racinaire puissant et profond, il maintient le sol et permet de lutter contre l'érosion (Esmail, 2012). De même, grâce à son ombrage étendu, il peut permettre une production agricole familiale.

L'huile d'argan est riche en matières grasses du type oléique-linoléique, elle contient environ 80% d'acides gras insaturés l'épiderme (Abdullah et Mohammed., 2012). qui ne présentent aucun problème d'assimilation et de digestion par l'organisme humain. La proportion des acides gras de l'huile d'argan dépasse celle du lait de la femme qui ne titre que 10% d'acide linoléique, ainsi que celle du lait de vache, de la viande, et du poisson. L'acide linoléique, bien représenté (environ 34%), intervient dans la biosynthèse des prostaglandines, hormones régulatrices des échanges membranaires qui jouent un rôle prépondérant dans la perméabilité de l'épiderme (Abdullah et Mohammed, 2012).

L'arganier est en effet, un arbre multi-usager, chaque partie ou production de l'arbre est utilisable, et elle est une source de revenu ou de nourriture pour la population qui doit sa subsistance à l'Arganerais. Ce patrimoine qui offre 1.470.000 journées de travail familial par an pour la seule opération d'extraction d'huile (la production d'un litre d'huile nécessite une journée et demie de travail). (Negaz., 2018) et constitue un support alimentaire permanent pour plus de 250.000 petits ruminants (caprins, ovins) (Negaz., 2018) représentant une importante source de vie pour des centaines de milliers d'autochtones. Tout en les stabilisant dans leurs campagnes, cette forêt a fortement limité le phénomène d'exode rural. Au point de vue production, l'Arganier offre une triple vocation : forestière, pastorale et fruitière (Negaz., 2018).

Cet arbre a des propriétés écologiques et physiologiques, et il est le seul pratiquement adapté aux régions arides et semi-arides où il pousse (Negaz., 2018). Dans ces zones, l'arganier est pratiquement irremplaçable pour la conservation des sols et des pâturages, la lutte contre l'érosion et la désertification, la protection de la biomasse en assurant ses besoins à travers les phénomènes (évaporation, condensation) et la contribution à l'alimentation de la nappe phréatique. Grâce à ses racines, qui peuvent atteindre plusieurs mètres de long, cet arbre très rustique participe à la fixation des sols qu'ils enrichissent par ailleurs en matières organiques issus des feuilles mortes. Certains chercheurs ont inventorié jusqu'à cent variétés végétales (Negaz., 2018).

1-8- Importance écologique et économique de l'Arganier

Le rôle écologique et socio-économique de l'Arganier est remarquable dans ces milieux subdésertiques. Son importance peut être appréciée sur les plans suivants : Sur le plan écologique, l'Arganier assure l'équilibre écologique, grâce à son système racinaire puissant et profond, permettant la protection et la conservation des sols contre les processus d'érosion hydrique et éolienne, particulièrement dans la région de Tindouf.

Sur le plan socio-économique, l'Arganier constitue un modèle de rentabilité à condition que son exploitation soit rationnelle : en effet, le bois est expressément recherché pour sa solidité aussi bien comme bois d'œuvre que comme source d'énergie. Les feuilles sont utilisées comme pâturage, ses fruits sont également utilisés par les chèvres qui les consomment soit sur le site même, soit au niveau des habitations et campements après extraction de la graine oléagineuse dont l'huile occupe une place soit dans l'alimentation, soit pour les soins et autre phytothérapie ou encore comme une ressource complémentaire à l'économie des populations qui s'installent dans l'aire de l'arganeraie.

1-9- Utilisations et effets thérapeutiques de l'arganier :

L'huile d'argan est utilisée depuis des siècles par les marocains dans l'alimentation, dans la médecine traditionnelle et en cosmétique (Moukal 2004). L'huile cosmétique extraite des amandes non torréfiées est utilisée par voie externe pour des problèmes dermatologique tels que l'acné juvénile, les brûlures, l'eczéma, la

varicelle (**Moukal 2004**). Elle est également reconnue pour l'hydratation de la peau, pour prévenir les vergetures et comme antirides (**Moukal 2004**). Elle permet aussi de nourrir les cheveux, empêcher leur chute et garder leur éclat (**Moukal 2004**). Par voie orale, l'huile d'argan, extraite des amandes torréfiées, est conseillée pour soigner les rhumatismes, les troubles des graisses, pour réduire le taux de cholestérol (**Bellakhdar 1997 ; Moukal 2004**). De plus, sa consommation avec l'amande est connue pour ses effets aphrodisiaques et spermatogènes (**Bellakhdar 1997 ; Moukal 2004**).

Les autres dérivés de l'arganier sont également utilisés à des fins thérapeutiques. Par exemple les feuilles sont conseillées en infusion pour traiter les gastrites, la dysenterie, la fièvre, les migraines et en cataplasme en cas d'entorse, de plaies surinfectées ou de la gale même pour les animaux (**Moukal, 2004**). De même, le péricarpe est conseillé, en usage externe, dans le cas d'urticaire, contre les champignons, les parasites, la pellicule et la gale. On l'utilise aussi pour le tannage des cuirs (**Moukal, 2004**). Le tourteau qui est le résidu de l'extraction de l'huile a été utilisé par les marocains comme shampooing et comme fortifiant des cheveux. Il est aussi conseillé en cas d'entorses, de blessures ou de gale, que ce soit pour l'usage humain ou vétérinaire. En plus, l'écorce d'arganier est utilisée sous forme de décoction en cas de gastrite ou d'ulcère et en cas de colopathie (**Moukal, 2004**).

Selon **Moukal et al. (2004)**, la feuille d'arganier est utilisée pour ses propriétés tannantes et médicinales. Elle est conseillée aussi en infusion pour traiter les gastrites, la dysenterie, la fièvre, les migraines et en cataplasme en cas d'entorse, de plaies surinfectées ou de la gale même pour les animaux (**Moukal et al, 2004**).

Le péricarpe en usage externe est préconisé contre l'urticaire, les champignons, les parasites, la pellicule et la gale. On l'utilise aussi dans le tannage des cuirs (**Moukal et al, 2004**).

Les amendons sont utilisés contre le diabète à raison d'un amendons par jour. La pâte issue de leur broyage est conseillée contre les états squameux du cuir chevelu, la chute de cheveux, l'eczéma. Elle protège, nourrit et adoucit la peau (**Moukal et al, 2004**).

2 - Substances naturelles et les différentes méthodes d'extraction et d'analyses :

2-1- Métabolites secondaires :

2-1-1- Généralités :

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Un métabolite secondaire est une molécule qui par exclusion n'appartient pas au métabolisme primaire. Les métabolites secondaires sont historiquement plus spécifiques aux plantes, bactéries et champignons, mais on découvre également des métabolismes spécifiques à certains groupes animaux. Généralement, les tissus végétaux se caractérisent par de faibles concentrations de ces composés (généralement quelques pourcents du carbone total) si l'on exclut la lignine de cette catégorie (**Newman et Cragg, 2012**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**).

Les métabolites secondaires biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (**Peeking et al., 1987**).

2-1-2- Classification

Les composés photochimiques sont les molécules issues du métabolisme des végétaux (métabolites). On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires (**Bruneton et al., 2009**). D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes : Polyphénols ; terpénoïdes et alcaloïdes (**Hennebelle et al., 2004**).

a- Polyphénols :

Les « polyphénols » ou « composés phénoliques » sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé, largement distribués dans le règne végétal. Ils sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle(C6) et d'un hydroxyle(-OH). Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes. On peut nommer dans cette famille les acides phénoliques les flavonoïdes et les tanins (et lignines). La plupart de ces composés phénoliques dérivent d'acides aminés aromatiques : la tyrosine et la phénylalanine. Les poly phénols sont des produits du

métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, Hétéroside...etc (**Bruneton, 1999**).

La classification de ces substances a été proposée par **Harborne, (1980)**, On peut distinguer les différentes classes des poly phénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes : acides phénoliques (acides hydrox benzoïques, acides hydrox cinnamiques), flavonoïdes et tanins et lignines.

a-1- Acides phénoliques :

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool (**Barboni, 2006**). On distingue : Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones). Les dérivés d'esters hydrox cinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) (**Barboni, 2006**).

Acides cinnamiques : possèdent une structure du type C6-C3. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-comarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique (**Figure**) (**Ribereau, 1968**).

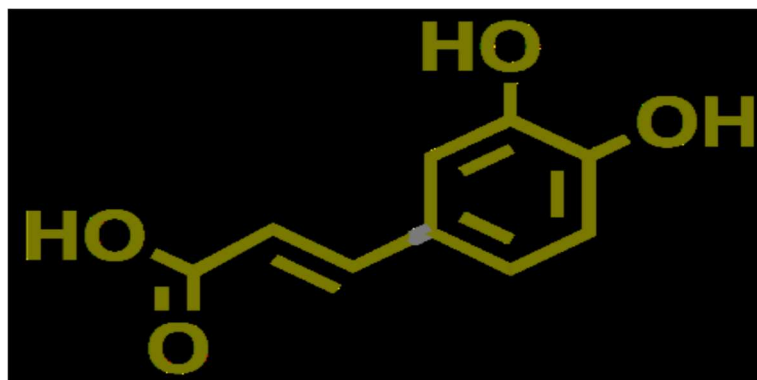


Figure 10: l'acide hydrox cinnamique

a-2- Coumarines :

Sont parmi les composés phénoliques les plus connus (**Figure11**). Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle.

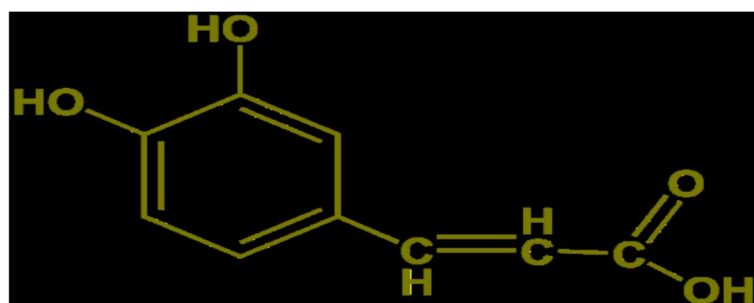


Figure 11 : Acide cafféique

a-3- Tanins :

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux. Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**). Les tanins sont divisés en deux groupes : Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères) et tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

a-4- Saponines :

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal (**Vincken et al., 2007**). En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante. C'est d'ailleurs sur leur tensio-activité qu'est fondée l'utilisation multiséculaire de certaines plantes qui renferment : la saponaire (**Bruneton, 2009**).

a-5- Les Lignanes :

Les lignanes constituent une classe importante de substances naturelles du règne végétale. Il s'agit des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique. Le sécoisolaricirésinol et le matairesinol constituent les principales lignanes d'origine végétale (**Axelsson et al., 1982**).

a-6- Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique

commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane).

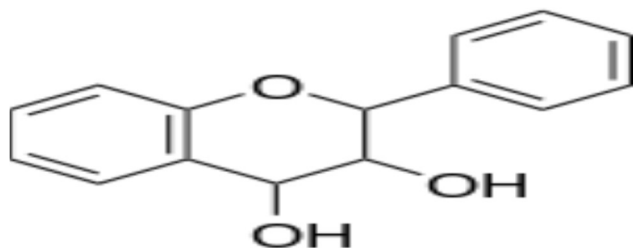


Figure 12: Structure de flavonoïde

b- Alcaloïdes :

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe (Hemingwayet *al.*, 1980).

- Les **alcaloïdes vrais**, qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle : exemple la strychnine dérivée du tryptophane.

- Les **proto-alcaloïdes** sont des aminés simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique (exemple : la caféine) (Bruneton, 2009).

- Les **pseudo-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels

L'azote est en dehors des structures cycliques.

c- Terpènes :

Les composés terpéniques formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-méthylebutadiène, appelées unités isopréniques (Paris et *al.*, 1965). Les trapézoïdes sont la plus large famille de produits naturels, et sont présents et souvent abondants dans tous les phylums du vivant. Un nombre relativement faible mais quantitativement important des trapézoïdes sont impliqués dans le métabolisme primaire. Cependant, la grande majorité des trapézoïdes sont classés comme des métabolites secondaires composés non-requis pour la croissance et le développement cellulaire, mais présumés avoir une fonction écologique (Harborne, 1991).

c-1- Classification des composés terpéniques :

Pour n = 2 les mono terpènes (C10)

Pour n = 3 les sesquiterpènes (C15)

Pour n =4 les di terpènes (C20)

Pour n = 5 les ses terpènes (C25)

Pour n =6 les tri terpènes (C30) et n=8 le caoutchouc naturel : les poly terpènes

3- Composition chimique de l'Arganier

3-1- Feuille :

Les feuilles servent de pâturage suspendu pour les caprins. D'après (El kabouss *et al.*, 1995) ; la feuille d'Arganier est très riche en composés poly phénoliques principalement les flavonoïdes. L'extrait lipidique représente 4.4% des feuilles avec un taux d'insaponifiable de 27%. Ce dernier renferme des stérols (5%), des méthylstérols (1%), des triterpènes monohydroxylés (32%) et dihydroxylés (22%) ainsi que des hydrocarbures et des tocophérols (16%). Les principaux composés isolés sont T- amyrine, N-amyrine, lupéol, i- taraxastérol, érythrodiol, spin stérol et schotténol.

3-2- Bois :

Le bois est utilisé pour le chauffage, son étude phytochimique (Oulad-Ali *et al.*, 1995). Le bois de l'Arganier est particulièrement riche en saponines, celles-ci étant retrouvées à une concentration d'environ 6 %. L'étude phytochimique du bois de ce dernier a permis d'identifier trois nouvelles Saponines triterpéniques nommées Arganine **G, H et J. Récemment**, on a pu isoler cinq nouvelles saponines à partir du bois de l'arganier,

3-3-Pulpe :

La pulpe du fruit de l'arganier riche en glucide constitue un excellent aliment pour le cheptel vivant dans l'arganeraie. Caractérisée par une forte teneur en cellulose, glucides et protide. L'extrait lipidique de la pulpe est constitué de glycérides composées essentiellement d'acide gras myristique et linoléique ; de latex comme le Poly isoprène et d'insaponifiables qui sont triterpènes, des stérols, et les saponosides. Des poly phénols ont été également mis en évidence dans la pulpe du fruit de l'Arganier, la (+) -catéchine, la (-) -épicatéchine, la rutine, l'acide phydroxybenzoïque et les dérivés hydroxycinnamiques. L'érythrodiol, le lupéol, l'T-et la N- amyrine,

d'autres triterpènes ont été isolés dans l'insaponifiable de la pulpe ; il s'agit du taraxastérol, i- taraxastérol, bétulinaldéhyde et bétuline. Les stérols identifiés dans la pulpe du fruit de l'Arganier sont le schotténol et le spinastérol, leur teneur dans l'insaponifiable est inférieure à 0.4%.

Les substances volatiles de la pulpe du fruit de l'Arganier ont été analysées, le résorcinol a été identifié comme étant le composé majoritaire (73,5%)

3-4- Tourteau :

C'est les résidus d'extraction de l'huile, de couleur blanchâtre très amer. Il est riche en glucides et en protéines, il renferme un important groupe pharmacodynamique à large spectre d'activité biologique constitué de poly phénols et saponosides.

4- Différentes méthodes d'extraction :

4-1- Généralités :

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques (**Herodez et al.2003**). Il s'agit dans notre étude d'extraire des phytochimiques, présente dans un solide (mélange de poudres de feuilles sèches) pour les faire passer dans un solvant liquide (chloroforme, méthanol et eau).Le choix de la méthode d'extraction est basé sur des données préalables sur les caractéristiques physicochimiques des métabolites à extraire

4-2- Extraction liquide-liquide :

L'extraction liquide-liquide est la plus simple des méthodes de séparation. Elle consiste à faire passer des métabolites (solutés) dissous dans une phase liquide, dans une seconde phase liquide non miscible avec la première (**Bouziid., 2011**).

4-3- Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire « solide », et un solvant d'extraction « liquide ». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant (**Clémentine 2012**).

4-4- Macération :

Dans ce processus, le médicament brut est placé dans un récipient avec le solvant et on laisse reposer à la température ambiante pendant une période d'au moins 3 jours en agitant fréquemment jusqu'à ce que la matière soluble soit dissoute.

Le mélange est alors tendu, le marc (la matière solide humide) est pressé, et les liquides combinés sont clarifiés par filtration ou décantation après repos (**Handa et al., 2008**).

4-5- Micro-onde :

L'extraction assistée par micro-ondes correspond à une soumission du mélange solvant/matrice à un champ électromagnétique de 2,45 GHz. Sous l'influence du courant alternatif (**Letellier et al., 1999**).

4-6- Extraction par fluide pressurisé :

Aussi appelée extraction accélérée par solvant, permet quant à elle de réaliser des extractions à température élevée (jusqu'à 200 °C) et surtout à pression élevée. L'échantillon à extraire est placé dans une cellule, complétée par de la terre de diatomée. La cellule est ensuite remplie de solvant, puis maintenue sous pression (100 bars) pendant une certaine durée grâce au solvant. Puis le solvant, chargé en métabolites, est collecté et l'échantillon rincé avec une quantité souhaitée de solvant frais, qui sera également collecté. Successivement, plusieurs cycles d'extraction peuvent être réalisés sur un même échantillon (**Murga, et al., 2000**).

4-7-Extraction à chaud en continu (Soxhlet):

Un extracteur soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait (**Herodez et al., 2003**).

5- Méthodes d'analyses :

5-1- Chromatographie En Couche Mince

La chromatographie est une méthode permet de séparer les constituants d'un mélange de par leurs différences d'interactions entre une phase stationnaire et une phase mobile ; Cette technique repose principalement sur des phénomènes d'adsorption et d'interaction. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium (**Gobbi et al., 2014**)

5-2- Spectrophotometrie Uv-Visibles :

La spectroscopie d'absorption moléculaire dans ultraviolet, le visible et l'infrarouge est largement utilisée pour l'identification et le dosage d'innombrables espèces inorganiques et organiques.

5-3- La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est la plus puissante de toutes les techniques chromatographiques. Il peut souvent facilement réaliser des séparations et des analyses qui seraient difficiles ou impossibles avec d'autres formes de chromatographie. D'un autre côté ; il y a probablement plus de pièges en HPLC que dans toute autre forme de chromatographie. Pour les éviter, vous devez avoir le genre d'expérience qu'il est difficile d'obtenir en lisant des manuels (**Lindsay, 1992**).

Chapitre II

Chapitre II : Matériels et méthode

1- Matériel Végétal :

Nous avons utilisé la partie aérienne (feuille et amande) provenant de la région nord-ouest de la wilaya de Tindouf (Hamada de Tindouf).



Figure13 : feuilles d'Arganier



Figure 14 : amandes d'Arganier

2-La récolte

L'arganier utilisé a été récolté sur un même arbre originaire de la région Tindouf (30°37'13,1"N, 08°06'35,2" O). Les graines ont été trempées pendant 48 heures dans de l'eau courante et ont subi une scarification dans des sacs de jute gorgés d'eau et recouverts de film plastique pendant une à deux semaines, jusqu'à éclatement de la coque et apparition

de la racine. Elles ont ensuite été transférées dans des conteneurs remplis de substrat. La fertilisation a été assurée de manière hebdomadaire avec une solution d'engrais de type 20-20-20 à 100 ppm d'azote, à hauteur d'environ 100 mg d'azote par plant durant toute la période de croissance (Ferradous, 2008)

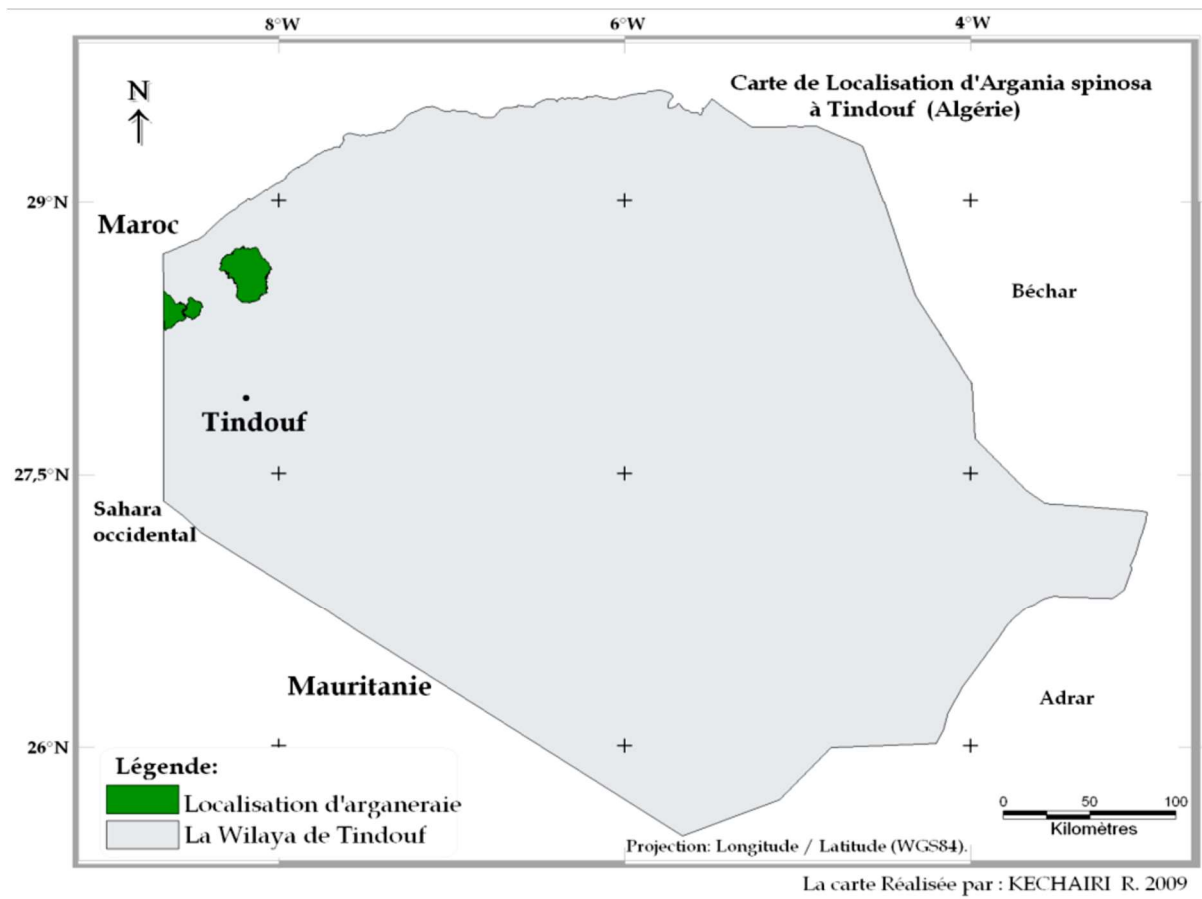


Figure 15 : carte géographique de la répartition d'arganier de Tindouf D'après (KECHAIRI, 2009).

3- Matériels de laboratoire et produits utilisés :

3-1- Appareils :

- Balance de précision
- Etuve
- plaque de chromatographie sur couche mince(CCM)
- Lampe UV
- Agitateur
- La hotte
- Agitateur vortex

- Rotavapeur
- Soxhlet

3-2- Verrerie et petits matériels :

- Spatule
- Un erlenmeyer
- Un bécher
- Papier filtre
- Eprouvettes
- Micropipettes
- Pipettes pasteur
- Boîtes pétrie en verre et plastique stériles
- Entonnoir
- Anse de platine
- Porte pièce

3-3- Produits et réactifs :

- Eau distillée
- Ethanol
- Ether de pétrole
- Acétone
- Chloroforme
- HCL
- KOH
- Iode dilué
- H₂SO₄
- Heptane
- Révélateurs (chlorure d'aluminium, Dragendoff, Fehling A et B)

4- Méthodes :

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau de Laboratoire de Faculté de biologie, pôle universitaire de M'sila.

Le matériel végétal utilisé sont des feuilles et des amandes de l'arganier, Après le nettoyage, le séchage à température ambiante (20 – 25°C) et à l'abri de la lumière solaire pendant quelques jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, ces parties aériennes sont broyées grossièrement à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre. Les échantillons ont été récupérés dans des flacons fermés et stockés à l'abri de la lumière et d'humidité jusqu'à l'utilisation.



Figure 16: feuilles et amande en poudre

Notre méthode de travail a été inspirée des travaux de Jonas Gullberg et coll., les solvants utilisés pour l'extraction globale sont de polarité différente, un solvant apolaire (l'éther de pétrole) pour extraire les composés apolaires, un solvant polaire (l'éthanol) pour extraire les composés polaires.

4-1- Préparation des extraits :

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Afin d'étudier les propriétés biologiques, la préparation suivante a été réalisée :

Par macération :

- Extraction successive avec un solvant apolaire (éther de pétrole) et un solvant polaire (éthanol)

- 1- Peser 5 g du mélange de poudre (feuille / amande)
- 2- Introduire dans un bicher de 250ml.
- 3- Ajouter 50ml de solvant
- 4- Couvrir le bicher avec un papier d'aluminium
- 5- Agiter à l'aide d'un agitateur pendant 24 heures à 25°C
- 6- Filtrer à l'aide d'un papier filtre dans un ballon de 500ml

7- Récupérer le résidu solide à nouveau dans un bicher et rajouter une quantité de solvant (moins de 50ml).- Après 24 heures, filtrer le mélange et répéter cette opération 3 fois.

8- Verser Les extraits obtenus dans des boîtes pétris que vous avez pesés avant. et mettre dans l'étuve à 30 c pour évaporer et sécher jusqu'à obtenir une masse solide visqueuse (extrait des feuilles) et un extrait huileux visqueux (extrait d'amandes).





Figure 17 : Les étapes d'extraction par macération

Les extraits bruts obtenus ont été pesés et stockés à 40 ° C pour les analyses. Le pourcentage de rendement a été calculé

4-1-2- Par soxhlet :

- Placer 15g de matériel végétal broyé (feuille) dans une cartouche qui sera exposée au 150ml de solvant d'extraction (éther de pétrole) mené à une température d'évaporation de 40°C.
- Après environ 4 cycles d'extraction, la cartouche est retirée et le solvant chargé d'extrait de la plante est récupéré pour être concentré à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif.

5- Détermination du rendement d'extractions

Le rendement exprimé en pourcentage est déterminé par le rapport poids matériel végétal et extrait sec qui est obtenu après évaporer à siccité d'une quantité de la préparation à une température adéquate pendant certain un temps jusqu'à poids constant.

Ce rendement est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Rendement (R) \%} = \frac{M0}{M1} \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M0 : Masse en gramme du résidu sec évaporé ;

M1 : Masse en gramme de la matière végétale sèche initiale

6- Criblage photochimique :

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques. A cet effet, plusieurs types de réactifs ont été utilisés.

➤ **Les tests du criblage photochimique sont mentionnés comme suivant :**

- Détection des alcaloïdes par Teste de Dragendroff/ Kraut

Dans un tube à essai on met quelque mL de l'extrait avec 1 ou 2 mL du réactif de Dragendroff.

Le résultat positif est l'apparition d'un précipité brun rougeâtre. (Silva et al., 2017 ; Singh et Kumar, 2017).

- Détection des glucides par le test starch

On met l'extrait aqueux avec 5mL de solution de KOH à 5%. Le résultat positif est l'apparition d'une coloration cinaire.

- Détection des sucres réducteurs

Leur détection consiste à introduire quelques ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

- Détection des saponines par test d'huile d'olive

Dans un tube à essai, on met l'extrait et on ajoute 5 ml d'eau distillée puis on secoue vigoureusement et on rajoute quelques gouttes d'huile d'olive (on secoue vigoureusement). Le résultat positif est l'apparition de la mousse

- Détection de composés phénoliques par Test d'iode

Dans un tube à essai, on met 1mL d'extrait avec quelques gouttes de Sol d'iode Dilué.

Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge passagère (Singh et Kumar, 2017).

- Détection des phytostérols par Test de Salkowski

Dans un tube à essai, on met quelques ml de l'extrait et on ajoute quelques gouttes de H₂SO₄ concentré (on secoue bien et on laisse reposer).

Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge en couche inférieure (**Singh et Kumar, 2017 ; Tiwari et al., 2011**).

- Détection des tepinoides

Dans un tube à essai, on met 2 ml de chloroforme et on ajoute 5 ml d'extrait de plante (évaporé sur le bain-marie) puis on ajoute 3mL de H₂SO₄ concentré (bouilli au bain-marie). Le résultat positif est l'apparition d'une solution de couleur grise.

-Détection des Flavonoïdes par Test de réactif alcalin

Méthode 1 : Dans un tube à essai, on met 1mL d'extrait avec 2mL de solution NaOH à 2% (on ajoute quelques gouttes de l'HCl dilué)

Le résultat positif est l'apparition d'une couleur jaune intense, devient incolore par addition d'acide dilué (**Audu et al., 2007 ; Singh et Kumar, 2017 ; Gul et al., 2017**).

- Détection des huiles et graisses fixes par test ponctuel

On presse une petite quantité d'extrait de plante entre les papiers filtres. Le résultat positif est l'apparition d'une tache d'huile sur le papier.

- Détection des Coumarines par test de NaOH

Dans un tube à essai, on met 0,5 mg d'extrait humidifié, puis on recouvert l'embouchure du tube par un papier filtre traité au NaOH 1N, puis on chauffe pendant quelques minutes au bain-marie.

Le résultat positif est l'apparition d'une fluorescence jaune du papier sous la lumière UV (**Kumar et al., 2018**).

7- Analyses chromatographiques par CCM (Chromatographie sur couches minces)

7-1- Définition :

La chromatographie sur couche mince est une technique physico-chimique et analytique rapide utilisée pour la séparation et la purification des composés. Elle est applicable soit pour les composés purs pour les identifier ou pour des mélanges (les extraits et les échantillons biologiques) pour identifier leur composition. Elle repose principalement sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité entre les molécules en tenant compte de leurs poids et les solvants utilisés

7-2- Principe :

Dans un support solide remplie d'un solvant (phase mobile) on place un mélange de composés qu'on souhaite séparer et que l'on appelle phase stationnaire. Par capillarité, la phase mobile se déplace le long de la phase stationnaire (**Diallo, 2005**) et va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile. L'identification des composés se fait selon la distance parcourus qu'on appelle rapport frontal RF (RF est le rapport de la distance de migration du composé par rapport à celle du solvant).

7-3- Mode Opérateur :

Pour la mise en évidence des composés phénolique par la chromatographie sur couche mince, on va suivre le protocole décrit par **Wagner (1996)** et repris par **Bengag (2009)**.

1- La cuve de migration est partiellement remplie du mélange de solvant (phase mobile) afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant qui facilite et améliore la migration.

2- On trace sur la plaque CCM une ligne de dépôt à 1,5 cm du bord, les échantillons y sont de poses séparément sur cette ligne,

3- La plaque est mise en contact avec la phase mobile dans la cuve jusqu'à migration de la phase mobile à 0,5 cm du bord supérieur de la plaque.

4- Séchage de la plaque

5- Révélation des taches (lampe U.V., iode ou réactifs chimiques spécifiques)

6- Calcule des Rf et interprétation des résultats.

Différents systèmes solvants sont utilisés, la lecture des résultats des CCM se fait à l'aide d'une lampe UV (à 254 et 356 nm).

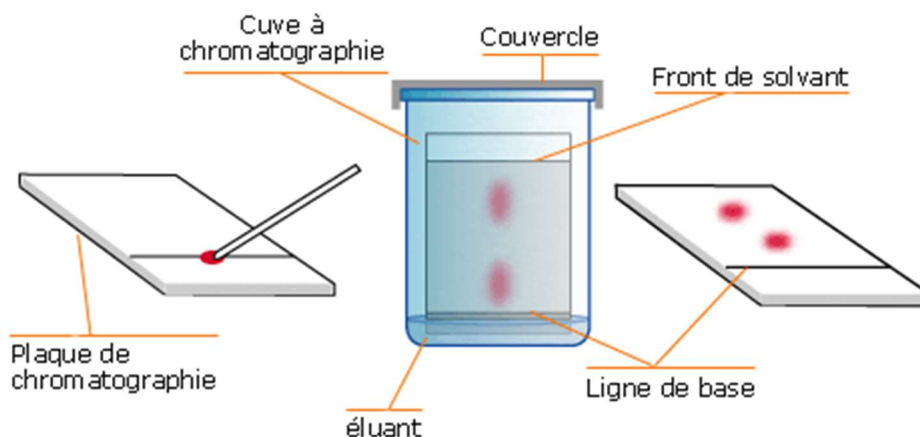


Figure 18: Montage d'une chromatographie sur couche mince

8- Activités biologiques :

8-1- Activité antifongique

8-1-1- Généralités sur Les champignons :

Les champignons (fungi ou mycètes) constituent un groupe d'organismes hétérotrophes ubiquistes, possèdent à 120000 espèces, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées, adaptés au mode de vie saprophyte, parasitaire ou symbiotique (Senal et al. 1993 ; Kirk et al. 2001).

Les champignons du genre *Aspergillus* ont été décrits pour la première fois en 1729. Ce sont des champignons saprophytes, c'est-à-dire qui tirent leur nourriture de substances organiques en décomposition. Ce sont des moisissures à filaments hyalins, cloisonnés, et ils sont haploïdes.

8-1-2- Exemples des champignons

a- *Aspergillus flavus* (Link 1809) :

Il est un agent responsable d'aspergillose pulmonaire ou généralisée chez l'immunodéprimé. D'un point de vue morphologique, il se distingue des autres espèces d'*Aspergillus* par la couleur vert jaune de ses colonies et par ses conidiophores à paroi verruqueuse (DE 1984).

b- Aspergillus niger (Van Tieghem 1867) :

Ce champignon peut provoquer chez le sujet non immunodéprimé des aspergillomes, mais aussi des otites ou des sinusites. On le rencontre plus rarement chez l'immunodéprimé il est responsable d'infections cutanées, pulmonaires ou généralisées. Au niveau morphologique, il se caractérise par des têtes aspergillaires radiées, bisériées, noires à maturité (DE 1984).

8-1-3- Mode opératoire :

Les mêmes opérations ont été effectuées avec les souches fongiques, mais dans ce cas le milieu de culture utilisé est le milieu PDA. Les moisissures ont été réactivées pendant 7 jours à une température de 28°C avant le test. L'inhibition de la croissance mycélienne a été déterminée en coupant des disques d'environ 5cm de diamètre de bord d'une jeune colonie de culture de champignons et placer le disque au centre d'une boîte de Pétri sur PDA contenant 20 mg ml⁻¹ d'extraits préalablement stérilisés à partir de feuilles et tiges de *A. spinosa* (Bautista-Banos et al., 2002). Les boites ont été laissés à incuber à température ambiante et l'expérience s'est terminée lorsque la culture témoin (PDA sans extrait) a complètement colonisé la surface de la gélose. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de l'inhibition de la croissance radiale dans les milieux contenant des extraits par rapport au contrôle selon la formule de (Leroux et Credet 1978).

$$PI (\%) = (D - d) / D \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition.

D : croissance mycélienne dans les boîtes de Pétri témoins.

d : croissance mycélienne dans les boîtes essais.

8-1-4- Conservation des souches

Les souches sont conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

8-2- Activité insecticide :

- Sur les larves de farine

Le test de cytotoxicité a été déterminée selon la méthode développée par (van der Valk & van der Meijden, 2014). Les vers de farine ont été sélectionnés pour cette

expérience car elles sont facilement disponibles, robustes et relativement petites. Huit lots de vers ont été préparés, chaque lot contient cinq vers de poids proche. Une solution de concentration de 4mg/ml de volume 3 µl a été injecté aux larves à l'aide d'une seringue Hamilton de 10 ml (Hamilton, Bonaduz, Suisse) .Les injections ont été faites caudalement dans la face ventrale des larves, latéralement à la ligne médiane, car cela évite les systèmes d'organes les plus essentiels. Les larves ont ensuite été incubées à température ambiante pendant 10 jours supplémentaires. La mortalité a été évaluée par la décoloration.

8-3- Activité anti-oxydante :

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques purs ou d'extrait. Dans notre étude nous avons utilisé des tests chimiques qui mesurent la réduction du radical stable le DPPH.

L'activité antioxydant des extraits végétaux traduit leur aptitude à piéger les radicaux libres de l'organisme. Trois méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité anti radicalaire des extraits : DPPH (2,2 diphényl -1-picrylhydrazyl, ABTS (2,2 -azynobis - [3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]).

8-3-1- Principe de pouvoir anti radicalaire

Le test de DPPH est un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité anti-radicalaire de l'extrait.

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie.

Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques

8-3-2- Mode opératoire :

Pour évaluer l'activité antioxydant, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) selon le protocole décrit par D'angleset *al.* (1999).

8-3-3- Préparation du DPPH

3.15 mg de DPPH est dissous (2,2-diphényle-1-picrylhydrazine) est dissoute dans 100ml du méthanol pure (CH₃-OH) pour obtenir une solution de DPPH.

8-3-4- Préparation des échantillons

2ml de notre extrait est dissout dans 1 ml de méthanol (CH₃-OH) ; à partir de cette concentration ; on prépare 4 tubes moins concentré que le premier ; on prépare (100 ; 50 ; 20 ; 10) en ajoutant 1 ml de DPPH.

Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de lumière à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture de la densité optique à 517nm. On prépare des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de différentes concentrations et le même protocole que pour les échantillons est réalisé.

8-4- Activités antimicrobiennes

8-4-1- Test de l'activité antimicrobienne :

- Le test a été effectué selon la méthode de diffusion par disques pour but de tester l'activité antimicrobienne des extraits bruts de nôtres plantes étudiée contre les souches ATTC utilisé.

-Souche ATCC utilisés (ATCC = American Type Culture Collection) :

-E. coli ATCC 8739.

-Staphylococcus aureus ATCC 25923.

-Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

- Streptococcus thermophilus ATCC 8190.

- Salmonella.

-Fusarium. Oxysporum f. sp. lycopersici ATCC 201828T

-Ces souches sont fournies par l'Institut Pasteur d'Oran.

8-4-2- Repiquage des espèces bactériennes :

-Dans des conditions stériles, on prélève une colonie isolée et représentative de chaque souche utilisée à l'aide d'une pipette pasteur stérile, puis on étale en stries sur des nouvelles boites de pétri qui contient de la gélose nutritive et ensuite on les cultive dans l'étuve à 37C pendant 24h et pour le Fusarium L'incubation se fait à 27C pendant 3j. Cela pour obtenir des colonies jeunes qu'on peut utiliser.

8-4-3- Préparation des milieux de culture :

- Après la préparation de milieu de culture Muller Hinton, on le coule en surfusion dans les boîtes de Pétri de façon à obtenir une épaisseur de 3mm. Laisser refroidir et solidifier le milieu gélosé en plaçant les boîtes avec les couvercles sur une surface horizontale.

8-4-4- Préparation de l'inoculum :

- Des colonies bien séparées des espèces bactériennes utilisées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans un Eppendorf qui contient 1ml de l'eau distillée stérile.

8-4-5- Ensemencement par écouvillonnage :

- A partir de l'inoculum qu'on a déjà préparé, on a plongé un écouvillon stérile dans la suspension et bien sur l'essorer doucement sur les parois, par la suite on a ensemencé toute la gélose de la boîte pour que les bactéries puissent bien se répartir.

8-4-6- applications de méthode de diffusion par disque :

Tout d'abord, des disques de 6 mm de diamètre préparés par papier wathman et autoclavés à 120°C pendant 20 minutes. Les souches bactériennes sont ensemencées préalablement en gélose nutritive et incubés à 37°C pendant 24 heures pour optimiser leur croissance et obtenir des colonies jeunes. Ensuite, des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et homogénéisées dans l'eau distillée stérile. Le milieu Muller Hinton déjà préparé est coulé dans des boîtes de pétri stériles. Ces dernières sont séchées à une température ambiante avant l'utilisation. Puis, un ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries serrées de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur toute la gélose de la boîte. Les disques sont déposés sur le milieu à l'aide d'une pince stérile. Ensuite 15µl d'extrait à tester sont mis sur les disques et dans chaque boîte on a déposé trois disques selon les 9 extraits qu'on a avec deux témoins un disque comme témoin négatif (soit de l'éthanol ou l'Ether de pétrole selon notre extraits) et le disque d'antibiotique le chloramphénicol comme témoin positif. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h.

-Pour le *Fusarium* est ensemencé sur la gélose de milieu PDA et incubés à 27°C pendant 3j.

CHAPITRE III

Chapitre III : Résultats et discussions

1- Rendement des extractions :

Le rendement des extraits sont mentionnés dans le tableau 2 et la figure 19 ci-dessous. Le rendement est exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante fraîche.

Tableau 2: Rendement des extraits d'Arganier

	Extraits éthanolique %	Extraits d'éther de pétrole %
Feuilles	10.8	4.2
Amandes	5.7	11.4

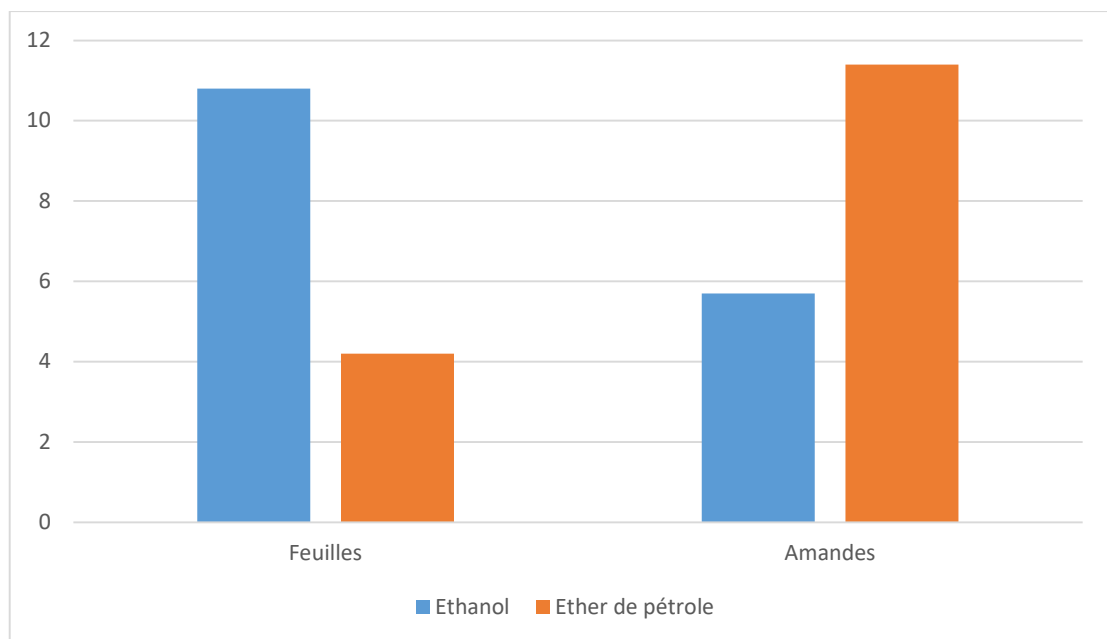


Figure 19: Le rendement d'extraction

Notre matériel végétal extrait par la méthode de macération a donné des rendements de l'ordre de 4.2% pour la feuille et 11.4% pour l'amande. On constate que l'amande est plus riche en concrète apolaire compare aux feuilles. Par contre L'extrait éthanolique des feuilles et des amandes a donné des rendements de l'ordre de 10.8% pour la feuille et 5.7% pour l'amande, donc dans ce cas la feuille est plus riche que l'amande.

L'étude de **Dakiche (2017)** a donné des rendements de l'ordre de 7, 90% pour la feuille et 12,74% pour l'amande par la méthode d'ultrason. Alors l'amande est plus riche en concrète polaire comparé aux feuilles donc nos résultats est peu inférieure de lui.

Selon les travaux de **Negez (2018)** l'extrait d'amande obtenue à partir de l'amande broyée, est réalisé par la méthode traditionnelle. Le rendement obtenu est de 49.58%. Ce rendement est proche de celui obtenu par **Charrouf (1984)** au Maroc et qui est de 50% à 55%, et il est compris dans l'intervalle de la norme marocaine qui est fixé entre 35% et 55%.



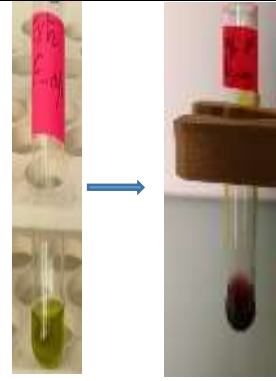

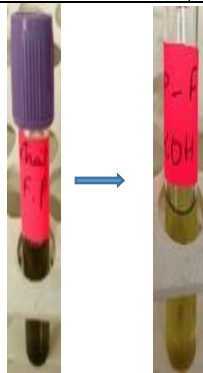
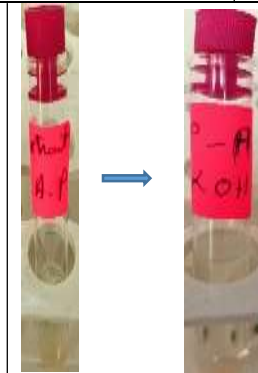
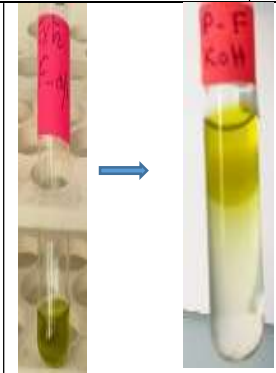
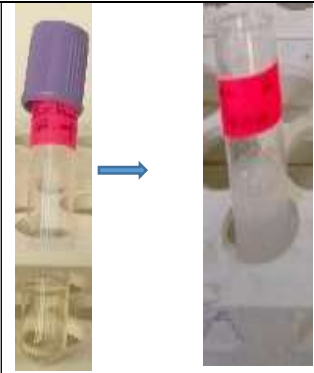
L'extraction par ultrason a donné un rendement en huile d'Argan de **39%**, les résultats sont légèrement supérieurs à ceux obtenus par **Mountasser et Elhadek (1999)** estimés à **34.9%**, cette différence peut être liée à la méthode d'extraction, sachant que **Mountasser et Elhadek (1999)** ont utilisé dans leur étude la méthode du Soxhlet. Contrairement au Soxhlet qui nécessite un chauffage à des hautes températures pendant longues durées ce qui peut altérer la composition chimique du produit d'extraction, la méthode d'ultrason est plus économique de point de vue temps (30 minutes maximum) et énergie (basses températures) tout en donnant des rendements élevés.

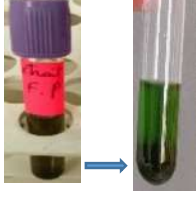
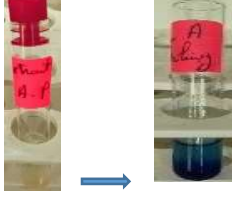
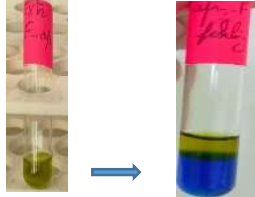
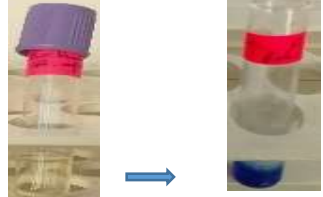


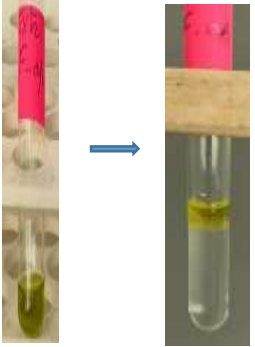
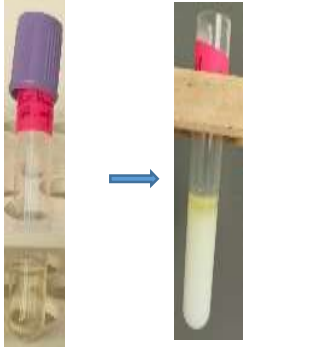
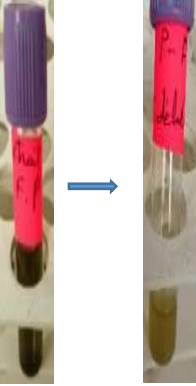
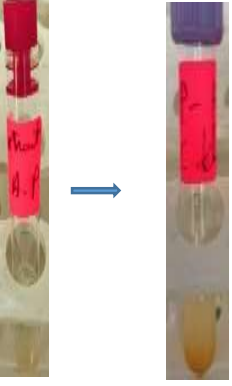
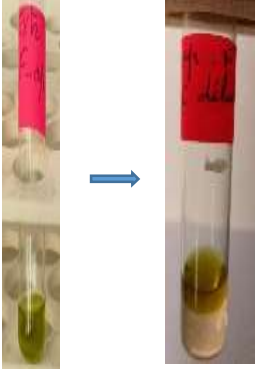
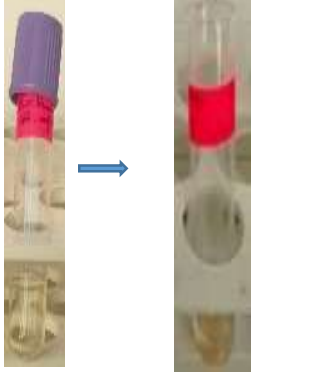

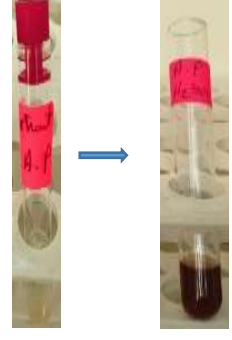
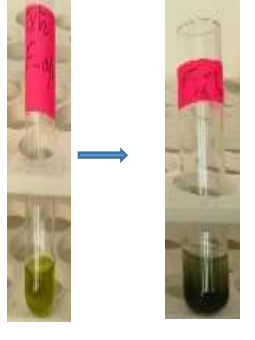

Donc d'une manière générale, le rendement dépend de plusieurs facteurs tel que le temps d'extraction, la température, ainsi que la localisation géographique, la période de récolte, le climat et la durée de stockage (**SU et al., 2006**). Et aussi il dépend de nature du solvant utilisé (**Zhao et al., 2006**) et la méthode d'extraction appliquée (**Wojdylo et al., 2007**).

2- Screening phytochimique :

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'extrait aqueux sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3: Résultats de screening phytochimique

Groupes chimiques	Extraits éthanoliques		Extraits d'éther de pétrole	
	Feuille	Amande	Feuille	Amande
<u>Alcaloïdes</u> Dragendorff				
	+++	++	+++	++
<u>Glucides</u> Test Starch				
	-	-	++	++

<p align="center">Sucres réducteurs</p> <p align="center">Test de Fehling</p>				
	+++	+++	-	-
<p align="center">Saponines</p> <p align="center">Test d'Huile d'olive</p>				
	+++	+++	+++	+++
<p align="center">composés phénoliques</p> <p align="center">Test d'iode</p>				
	+	+++	+	+++
<p align="center">Phytostérols</p> <p align="center">Test de Salkowski</p>				

	-	+++	-	++
Terpinoïdes				
	+++	+++	+++	+++
Flavonoïdes				
Test de réactif alcalin				
	-	-	+++	++
Coumarines				
Test de NaOH				
	+++	-	+++	-

1-Réaction très positive (+++), 2-Réaction positive (++), 3-Réaction moyennement positive (+), 4-Réaction négative (-)

Les résultats expérimentaux des tests photochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé de deux parties de la plantes étudiées mentionnés dans le Tableau 2, montrent la présence des alcaloïdes, des composés phénoliques ; flavonoïdes ; terpinoïdes ;

saponines ; phytotrons ; sucre réducteurs ; glucides et des coumarines avec des intensités variables.

- Les alcaloïdes dans les extraits éthanolique et éther de pétrole sont confirmées par l'apparition d'un précipité brun rougeâtre au contact avec le réactif de Dragendroff dans la feuille, par contre dans l'amande est légèrement apparues. La présence des Alcaloïdes était observée chez les deux parties de plante, donc cette plantes est dotée de propriétés thérapeutiques, notamment antimicrobiennes qu'à des doses très élevées, conférés par ces alcaloïdes qui possèdent des propriétés antiparasitaires, antispasmodiques et anti diarrhéiques (**Paris et Moyes, 1965**).

-Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence des composés phénoliques ceci est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge passagère dans l'amande et légèrement dans la feuille, Mais Les résultats obtenus au cours des travaux antérieures montrent que l'Arganier est une plante riche en polyphénols dans toute sa partie aérienne. Selon (**Ebel, 2009**) la teneur élevée des feuilles d'A.spinosa en composés phénoliques et leurs localisations très périphériques, pourrait expliquer la relation difficile et complexe entre l'accumulation des polyphénols et la résistance aux phytopathogènes comme cela a déjà été démontré chez d'autre plantes

-Le test positif des phytostérols dans les deux extraits d'amande avec une apparition d'une couleur rouge en couche inférieure. Par contre dans la feuille le test est négatif. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par les travaux de (**Khallouki et al., 2003** de spinastérol et de schotténol. Et la quantité totale des stérols dans l'amande varie de 272 à 357 mg/100g (**Khallouki et al., 2003**).

-Les tests phytochimiques réalisés ont montrés la présence des flavonoïdes dans les les feuilles et les amandes qui extraites par éther de pétrole, ceci est confirmé par l'apparition d'une couleur jaune intense, devient incolore par addition d'acide dilué. Mais l'absence de ces résultats dans l'extrait éthanolique. Les études antérieures ont décrit que La partie aérienne de l'arganier est particulièrement riche en flavonoïdes. Cette fraction métabolique peut aller jusqu'à composer 17 % des feuilles et tiges mélangées (**Tahrouche et al ; 1998, Charrouf et al ; 2002**). Même selon (**Alilou.h et al ; 2016**) les flavonoïdes sont présent de fortes teneurs dans les feuilles, ce qui est en accord avec nos résultats et les résultats obtenus par **Tahrouch (2000)** .ces résultats sont confirmés aussi par l'étude de CLHP qui montre l'existence en quantité de flavonoïdes dans les extraits des feuilles de l'arganier de Tindouf

(**Tamagone, 2009**) et quel que soit la période de récolte (**Fahmi et al ; 2013**). Les résultats obtenus montrent que la pulpe est la partie la plus riche en flavonoïdes. A l'opposé, l'amande contient que des quantités minimales en flavonoïdes par rapport à d'autres parties de l'arganier (**Fahmi et al., 2013**).

- Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence de Composés réducteurs dans les 2 parties de plante extraient par éthanol, ceci est confirmé par l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs, le résultat est négatif dans l'extrait d'éther de pétrole.

- Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence de saponines et de terpinoïdes dans deux parties de plante. En plus de ces métabolites secondaires parfois omniprésents, d'après **charrouf (2002)** l'arganier est une source de saponines ce qui confirme nos résultats obtenus, Il est riche en saponines et la structure de quinze de ces composés, issus de différentes parties de l'arbre, a été identifiée (**D. Guillaume ; 2005**). Mais certains d'autres pensent que La pulpe des fruits de l'arganier est pauvre en saponines, dont la concentration n'est que de 0,02 %. L'extraction des saponines a été réalisée à partir de la pulpe séchée et dégraissée. Une seule saponine, de nature bidesmosidique et nommée arganine K, a été isolée de la pulpe des fruits de l'arganier (**Alaoui et al ; 2001**).

- La fraction terpénique supérieure des feuilles d'*A. spinosa* a également été étudiée (**Chahboun, 1993**). Cela a conduit à l'identification de terpènes ont été aussi isolés. De la pulpe des fruits de l'arganier, le même des terpènes ont également été identifiés (**Charrouf ; 1990**).

- On remarque aussi la présence des coumarines dans la feuille et l'absence dans l'amande.

- on note aussi la présence de glucides seulement dans l'extrait d'éther de pétrole, tandis que l'absence dans l'extrait éthanolique. Malgré (**Zarrouk et al ; 1987**) est confirmé que l'amande d'arganier est riche en glucides.

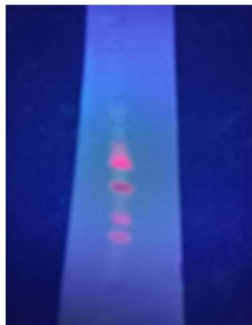


Une grande diversité de métabolites secondaires y compris les triterpènes, les stérols, les flavonoïdes, les composés volatils, les phénols, les coumarines et les saponines ont été isolés jusqu'à présent de diverses parties de l'arganier


3- Analyses chromatographiques par CCM

Pour compléter la caractérisation par criblage phytochimique, une analyse de séparation a été réalisée à l'aide de la chromatographie sur couche mince (CCM). Dans cette étude, une plaque de gel de silice (20 × 20 cm, 60 F254) a été utilisée comme support, et différents solvants de migration ont été utilisés pour développer les chromatogrammes ont été observés dans le visible ou dans l'UV / 356 nm, avec ou sans l'utilisation de révélateurs appropriés.

Les résultats obtenus à partir des différentes parties de la plante (feuilles, amande) de l'arganier ont révélé la présence de plusieurs taches présentant une coloration différente sur les chromatogrammes. Cette observation indique la présence de différents composés chimiques dans les extraits des parties de la plante étudiée.

Tableau 4 : les solvants d'extraction et système de chromatographie sur couche mince.

Plantes	Extraits+ systèmes de solvant	N de taches	Coleure	Rf	Composé chimiques	résultats des CCM 356 nm
Feuilles	Ethanol Chloroforme/ Acétone/ Méthanol 7/7/0.5	11	Bleu Bleu Rouge Rouge Rouge Rouge Bleu Bleu Bleu Bleu Bleu	0.96 0.81 0.68 0.62 0.58 0.55 0.52 0.43 0.41 0.17 0.15	Tanin Acide phénol Tanin Tanin Tanin Flavonol Flafonol Coumarin Acide phénol No identifie No identifie	
	Ether de pétrole Heptane/ Acétate d'éthyle 2/6	01	Rouge	0.35	Flavonoïde	
	Ether de pétrole Heptane/ Acétate d'éthyle 2/6	03	Rouge Rouge Bleu	0.96 0.81 0.35	Coumarine Flavonoïde Tanin	

Amande	Ethanol Chloroforme/ Acétone/ méthanol 7/7/0.5	03	Rouge Rouge Bleu	0.25 0.35 0.81	Flavonoïde Tanin Acide phénole	

Le système solvant chloroforme /acétone/ méthanol était le meilleur système de séparation pour les échantillons des feuilles avec l'apparition de 11 taches pour les extraits éthanolique, par contre des molécules avec seulement 3 taches pour l'amande.

Système solvant heptane/acétate d'éthyle une seule tache pour l'extrait d'éther de pétrole des feuilles d'arganier. L'extrait de l'éther de pétrole n'a montré aucune tache avec les différents systèmes, et par le non solubilité des molécules de cette plante dans ce solvant.

Le chromatogramme sur le tableau des taches de rapports frontaux différents (tache rouges de $rf=0,35$; $rf=0,68$ $rf=0,5$; $rf=0,85$; $rf=0,90$). Ces taches pourraient être des composés phénoliques de type flavonoïdes, tannins, acide phénol et coumarines. Ces composés sont plus importants au niveau de l'extrait éthanolique.

L'absence des taches orangées suppose que les alcaloïdes n'ont pas été détectés par la chromatographie sur couche mince (**H.Dekich.2017**)

Les flavonoïdes ont également été dosés dans les deux extraits et présentent un taux de 11 taches dans les feuilles et 3 taches dans l'amande. Considérant les organes, les feuilles accusent des teneurs plus importantes en polyphénols et flavonoïdes, la répartition

inégal de ces derniers dans les différents organes d'une même plante a été rapporté par plusieurs auteurs (El Hacı et al., 2012),(Falleh et al., 2007)

La richesse des feuilles en tanins en conformité avec les conclusions de (Jado et al. 1979), Toute coloration bleue noire signifie la présence de tanins (Rizk, 1982). Selon lesquelles les feuilles et amande sont le siège de la biomasse de ces substances secondaires.

4- Activité biologique :

4-1- Evaluation de l'insecticide :

La toxicité a été réalisée sur le modèle de vers de farine connu scientifiquement par le nom de ténébrion Molitor. Les résultats sont présentés au-tableau.

Les variations temporelles des taux de mortalité des larves exposées à l'effet des 4 concentrations accroissances des extraits éthanoliques et étheriques montrent un effet toxique graduel. Cet effet s'étale sur une période de 10 jours successifs

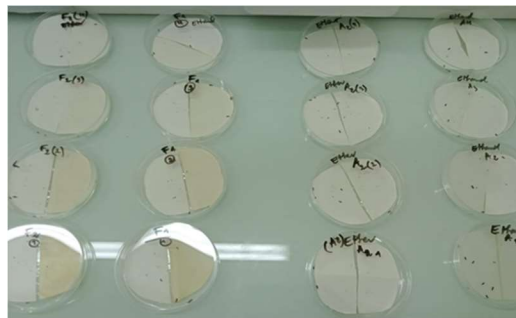


Figure 20 : Les larves de farine morte

Tableau 5 : Evaluation de la cytotoxicité de l'extrait des parties de l'argan sur les larves

Partie de la plante	Les extraits	Concentration mg /ml	Taux de mortalité des larves %/jours									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Feuille	Ether de pétrole	0.62	30	40	45	55	60	70	80	80	100	100
		1.25	40	50	55	55	70	75	80	80	100	100
		2.50	50	60	60	60	70	70	80	85	100	100
		5	60	70	70	80	90	100	100	100	100	100
		0.62	10	15	20	20	30	30	40	80	100	100
		1.25	10	15	20	20	30	40	40	80	100	100

	Ethanol	2.50	15	15	20	20	30	40	40	80	100	100
		5	15	15	20	20	30	40	40	80	100	100
Amande	Ether de pétrole	0.62	30	40	45	55	60	70	80	80	100	100
		1.25	40	50	55	55	70	78	80	81	100	100
		2.50	50	60	60	60	70	70	80	80	98	100
		5	60	70	70	80	90	100	100	100	100	100
	Ethanol	0.62	12	15	22	25	30	30	40	70	98	100
		1.25	12	15	20	20	20	30	40	70	98	100
		2.50	15	15	20	20	30	40	40	80	90	100
		5	15	15	20	20	30	40	40	80	90	100

La mortalité des larves a été observée après la fuite de ces derniers du solvant vers l'extrait pour toutes les concentrations dès le premier jour. En revanche, la mortalité dans le témoin négatif a débuté après 24 heures du traitement. D'après les observations, l'extrait utilisé n'affecte pas le développement et la croissance des larves, mais il présente un autre phénomène par lequel les substances végétales contenus dans l'extrait sont capables, même à une faible concentration, de ralentir ou d'arrêter le fonctionnement des organes des larves. Par conséquent après leur exposition à l'extrait, les larves n'arrivent plus à se nourrir et présentent une hypoactivité, et ne bougeant presque pas ; elles perdent leur activité et mobilité. Les larves sont restées sur cet état jusqu'à 48 heures avant leur mort. Le tableau illustre l'évolution des taux de mortalité des larves par rapport aux témoins en fonction du temps et de la dose de l'extrait des deux parties de la plante.

On observe une variation du taux de mortalité avec les doses de l'extrait testé et le temps d'exposition. Comparées au témoin, les 16 doses montrent un effet insecticide plus ou moins important après 72 heures de l'exposition en revanche la mortalité du témoin a été estimée dès le premier jour de l'exposition. Ce test est considéré comme un outil utile pour l'évaluation préliminaire de la toxicité des extraits de l'argan feuille et amande.

L'évaluation de l'effet insecticide par inhalation a été réalisée à l'aide d'une nouvelle technique. Par ailleurs, la même expérience a donné des résultats différents

lorsque nous avons suivi la mortalité des larves en fonction du temps. Un taux de mortalité de 100% a été enregistré le 10ème jour. (Protopopoff N et al., 2015)

La mortalité causée par les deux extraits de girofle était fortement dépendante de la dose, avec une mortalité plus élevée observée avec l'utilisation de doses plus élevées de chaque extrait de feuilles et d'amande. Malgré sa dépendance à la dose, (Kweka EJ, 2011)

4-2- Activité antifongique :

4-2-1- Les cultures fongiques :

L'isolement des moisissures nous permet d'avoir une variété des souches avec différents aspects macroscopiques et microscopiques.

Pour identifier un champignon, c'est d'abord lui reconnaître l'appartenance à un genre, qui est un groupement d'organismes liés entre eux par des caractères communs (Cahagnier, 1998). Selon (Barnett et Hunter 1972) et on se basant sur l'étude des caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie et le revers des boîtes ...) et microscopiques (forme de thalle et des spores...) des souches fongiques isolées, nous avons identifié plusieurs genres sur Le milieu PDA.

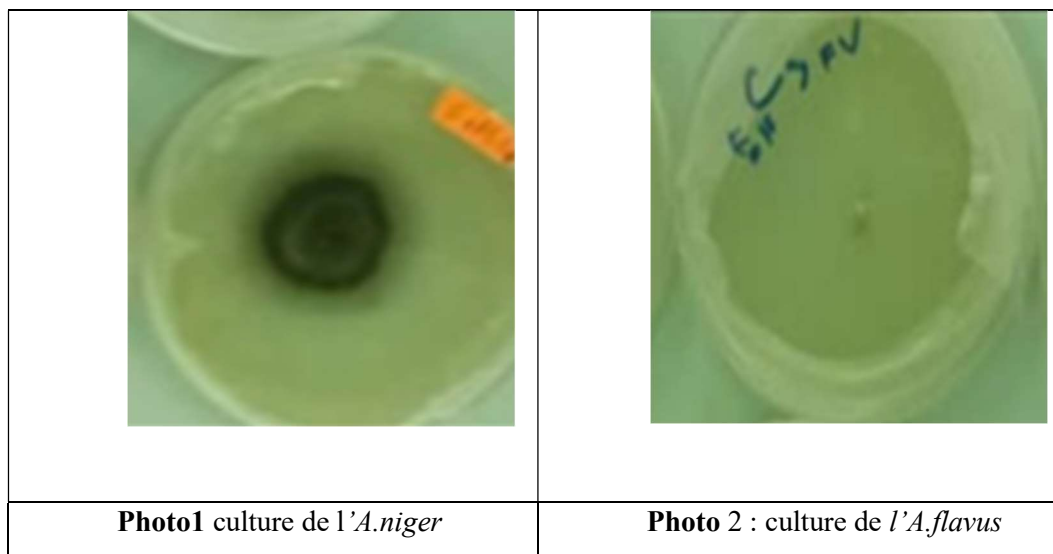


Figure 21: Résultats d'isolement des souches à partir du l'A.spinosa

4-2-2- Taux cinétique de la croissance des souches microbienne :

Ex plain 'effet des extraits éthanoliques et ether de petrole des feuilles et des amandes de A. spinosa sur la croissance des souches comparativement au par une diminution et une modification de l'aspect macroscopique en fonction du temps et de la concentration des extraits.

Tableau 6: Taux de croissance de l'activité antifongique des extraits sur les souches

Extrait		Concentration de l'extrait	Taux de croissance %	
			Aspergillus Niger	Aspergillus Flavus
Feuilles	Ether de pétrole	1.25	31	31
		2.5	43	37
		5	/	50
		10	31	41
	Ethanole.	1.25	12.5	3.75
		2.5	6.25	2.5
		5	13.75	3.75
		10	27.5	18.75
Amande	Ether de pétrole	1.25	/	/
		2.5	50	93
		5	43.75	31.25
		10	/	81
	Ethanole	1.25	27.5	3.75
		2.5	13.75	3.75
		5	6.25	5
		10	/	/

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut être symbolisés par des croix. Les résultats obtenus montrent que parmi les différents extraits de la plante, l'extrait éther de pétrole représente le taux de croissances le plus élevé (93%), suivi par l'extrait éthanoliques (2.5%) plus faible, les extraits obtenus ont été caractérisés par des couleurs et des aspects différents.

plantes	Extraits	jours Concentration de l'extrait mg/ml	1	2	3	4	5	6	7
			Feuilles	Ether de pétrole	1.25	0.4	1.4	2	2.2
2.5	0.4	1.4			2.5	2.5	3.3	3.3	/
5	0.4	1.5			2.5	2.5	3.5	4	/
10	0.4	1.4			2	2.3	3.3	3.3	/
Éthanol	1.25	0.3		0.3	0.3	0.3	/	/	/
	2.5	0.2		0.2	0.2	0.2	/	/	/
	5	0.3		0.3	0.3	0.3	/	/	/
	10	0.3		0.5	0.7	1.5	/	/	/
Amande	Ether de pétrole	1.25	0.4	1.5	3	4.5	5.5	6	/
		2.5	0.4	01	4	4.7	2.5	3	/
		5	0.4	1.5	3.7	4.6	5.6	6.5	/
		10	0.4	1.5	3.5	04	5.8	6.5	/
	Éthanol	1.25	0.4	0.4	0.4	0.3	/	/	/
		2.5	0.3	0.3	0.3	0.3	/	/	/
		5	0.4	0.4	0.4	0.3	/	/	/
		10	0.5	1.3	/	/	/	/	/

Tableau 7 : diamètre inhibitrice des quatre extraits pour 7jours à différents concentration souche *Aspargilus niger*

Tableau 8: diamètre d'inhibition des quatre extraits pour 7 jours à différentes concentrations sursouche *Aspergillus flavus*

		Les jours	1	2	3	4	5	6	7
		Concentration de l'extrait mg/ml							
Feuille	Ether de pétrole	1.25	0.4	0.8	1.8	1.8	2.5	/	/
		2.5	0.5	1.3	2.5	3.5	3.5	/	/
		5	0.5	0.7	1.5	1.5	2.5	/	/
		10	0.5	0.7	2.5	2.5	3.5	/	/
	Éthanol	1.25	0.5	0.5	0.7	/	2.3	2.2	2.2
		2.5	0.6	0.5	0.6	/	/	/	/
		5	0.3	0.5	0.5	/	/	/	/
		10	0.5	0.6	0.8	/	/	/	/
Amande	Ether de pétrole	1.25	0.6	1	/	/	/	/	/
		2.5	0.2	0.3	3.5	/	/	/	/
		5	0.2	0.3	3	/	/	/	/
		10	0.7	0.7	/	/	/	/	/
	Éthanol	1.25	0.6	0.4	0.6	0.6	1.1	1.1	1.2
		2.5	0.5	0.6	0.8	0.9	0.8	0.8	0.8
		5	0.6	0.8	1.1	1.1	0.1	0.1	0.1

Entre le 4^{ème} et le 7^{ème} jour d'incubation dans une boîte de Pétri, on observe ce qui suit :

Les souches de champignons *A. niger* et *A. flavus* montrent une croissance légèrement lente lorsqu'elles sont exposées à des extraits éthanoliques de feuille et d'amande. Il faut généralement 5 à 7 jours pour observer une croissance significative de ces champignons.

En revanche, lorsque les souches de champignons *A. niger* et *A. flavus* sont exposées à des extraits éther de pétrole de feuille et d'amande, on observe une croissance élevée. Dans ce cas, les champignons peuvent atteindre un niveau de croissance significatif en seulement 5 à 7 jours. Cela est en comparaison avec d'autres extraits, comme l'extrait éthanolique, qui n'ont pas le même effet stimulant sur la croissance fongique.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut-être symbolisés par des croix. La souche ayant un diamètre :

- $D < 0.8\text{cm}$: Souches résistante
- $0.99\text{cm} \leq D \leq 1.4\text{cm}$: Souches sensible
- $1.5\text{cm} \leq D \leq 1.9\text{cm}$: Souches très sensible
- $D > 2\text{ mm}$: Souches extrêmes sensible (**Ponce et al 2003**).

Selon Ponce l' *Aspergillus flavus* sont des souches sensibles à de l'argan.

Aspergillus. Niger sont des souches extrêmes sensibles à de l'argan, (Nagaze.M, 2018).

4-3- Activité anti-oxydante :

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et des différentes fractions des feuilles et d'amande est testée selon trois essais complémentaires à savoir

- L'activité antiradicalaire pour le radical libre DPPH•
- L'activité antiradicalaire pour le radical-cation ABTS+
- Le pouvoir réducteur de cuivre CUPRAC

Les résultats des tests ont été enregistrés à la concentration d'inhibition de 50% (IC₅₀), à l'exception du dosage CUPRAC et du pouvoir réducteur. L'activité antioxydante des extraits testés a été comparée à celle des standards, tels que le BHA (Butylhydroxyanisole), qui est un composé largement utilisé comme référence pour son activité antioxydante.

Cette comparaison a été effectuée dans le but d'évaluer l'efficacité des extraits par rapport à un composé bien établi en termes d'activité antioxydante. En utilisant le BHA comme étalon, il est possible de déterminer si les extraits présentent une activité antioxydante comparable ou supérieure.

Il est important de noter que les résultats obtenus lors de cette comparaison peuvent fournir une indication de l'efficacité relative des extraits testés. Toutefois, il convient également de prendre en compte d'autres facteurs tels que la biodisponibilité et la sécurité des extraits lors de leur évaluation globale en tant qu'antioxydants potentiels.

Tableau 9 : Les valeurs IC₅₀ de l'extrait de feuilles et amande d'Arganier

Extracts		Activitéantioxydante		
		DPPH	ABTS ⁺	CUPRAC
		IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)
Extraits Méthanol	<i>feuilles</i>	11.80 ± 0.23	3.411 ± 2.59	20.91 ± 0.80
	<i>amande</i>	>400	301.6 ± 5.66	>400
Extraits éther de pétrole	<i>amande</i>	NA	NT	NT
Standard	BHA ^b	3.44 ± 0.09	1.88 ± 0.06	5.62 ± 0.08

Abbreviation: BHA, 2-tert-Butyl-4-hydroxyanisole and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole.

NT: non teste. NA: non active.

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits. La complexité chimique des extraits, la polarité et le comportement chimique, pourraient conduire à des résultats positifs, en fonction du test utilisé. Dans cette étude, l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique et éther de pétrole par trois méthodes il est bien claire qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le potentiel antioxydant d'un échantillon (feuilles, amande)

L'extrait des feuilles et d'amande d'Arganier a été évalué pour sa capacité à piéger les radicaux libres à l'aide du test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

Les résultats obtenus au cours de notre travail montrent que *l'Arganier* est une plante riche en polyphénols dans toute sa partie aérienne.

Les résultats obtenus ont révélé une activité intéressante, avec des valeurs d'IC50 faibles pour l'extrait des feuilles, tandis que l'extrait d'amande n'a pas montré d'activité significative. L'IC50 représente la concentration nécessaire pour réduire de moitié l'activité du radical DPPH. Ainsi, plus l'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est élevée.

Dans ce cas, les résultats suggèrent que l'extrait méthanolique des feuilles présente une meilleure activité antioxydante que celui de l'amande, car son IC50 est inférieur. Cela suggère que les composés présents dans les feuilles peuvent jouer un rôle plus important dans la neutralisation des radicaux libres et la protection contre les dommages oxydatifs.

Il convient de noter que d'autres études ont été réalisées par **(Djidel et al. En 2014)**, où ils ont évalué l'extrait des feuilles d'Arganier récoltées dans la région de Tindouf.

En résumé, les résultats de votre étude indiquent que l'extrait méthanolique des feuilles d'Arganier présente une meilleure activité antioxydante que celui de l'amande. Cependant, d'autres études ont montré des résultats variables, ce qui souligne la complexité des composés bioactifs présents dans les plantes et la nécessité de poursuivre les recherches pour mieux comprendre leur potentiel antioxydant **(Caïetal.,2004)**.

4-4- Activité antibactérienne :

Les extraits de feuilles et d'amande ont été examinés pour leur activité antibactérienne contre les bactéries (*Escherichia coli*, *Pseudomonas*, ST. Aureus, salmonella, streptococcus, fusarium. Le pouvoir inhibiteur de l'extrait de feuilles et d'amande a été évalué par la présence ou absence des zones d'inhibition et les diamètres de ces zones, les résultats sont présentés :

Tableau 10 : Activité antibactérienne des extraits de feuilles et d'amande Par la méthode de diffusion sur milieu solide.

Bacteries	Ether de pétrole amande	Methanol amande	methanol Feuille
E.coli ATCC 8739	6.00	6.00	6.00
ST. Aureus ATCC 25923	6.00	8.00	6.00
Pseudo ATCC 27853	6.00	6.00	6.00
Salmonella ATCC	6.00	6.00	6.00
Streptococcus Thermophilus ATCC 8190	7.00	6.00	7.00
Fusarium	6.00	6.00	6.00

Les résultats obtenus révèlent que la croissance bactérienne des bactéries fixe avec des diamètres de zone d'inhibition fixée à 6 mm pour tous les extraits et l'extrait d'amande d'arganier de méthanol 8 à 6 mm de bactéries ST. Aureus, et Streptococcus Thermophiles .

La zone d'inhibition maximale qui a été enregistrée est de 7 mm sur Streptococcus Thermophilus (extrait feuilles méthanol et amande éther de pétrole) Cependant, on a observé la zone d'inhibition la plus faible Streptococcus 6 mm.

$\emptyset < 1$ mm : extrait sans action inhibitrice

$1.6 > \emptyset \geq 1$ mm : extrait à une action inhibitrice intermédiaire

$2.5 > \emptyset \geq 1.6$ mm : extrait à une action inhibitrice importante

$\emptyset \geq 2.5$ mm : extrait à une action inhibitrice très efficace (Sadou, Seridi et al. 2015)

Certaines études ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries (Kchaou, W, 2016). La résistance d'une certaine bactérie peut être attribuée à la

capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar (**Tomás-Menor, 2013**).

L'activité antimicrobienne des extraits de feuilles et d'amande a été évaluée sur six espèces bactériennes pour déterminer leurs effets. À ce jour, aucune étude n'a été réalisée dans la littérature sur le pouvoir antibactérien des feuilles et de l'amande. Dans cette étude, il a été observé que l'extrait des feuilles possède des propriétés inhibitrices contre toutes les bactéries testées, tandis que l'extrait d'amande a montré une activité très faible, voire nulle, sur certaines souches bactériennes (**Nagaze, 2018**).

À la lumière des résultats de l'étude phytochimique, qui indiquent une plus grande quantité de composés phénoliques dans l'extrait de feuilles par rapport à l'amande, il est possible de déduire que la teneur en polyphénols peut jouer un rôle dans l'inhibition de la croissance bactérienne (**Tomás-Menor, 2013**).

CONCLUSION

CONCLUSION

Ce travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire de biotechnologie végétale de l'Université de M'sila qui vise notamment à étudier les plantes endémiques algériennes. Nous avons choisi une espèce végétale endémique, peu connue chez nous, dans le but de contribuer à sa connaissance et à sa valorisation.

L'Arganier, en raison de ses caractéristiques botaniques, physiologiques, écologiques et de son intérêt économique croissant. Ainsi, cette étude vise à extraire et à caractériser phytochimiquement deux organes de l'Arganier : les feuilles et les amandes.

- Une fois leur composition chimique déterminée, nous nous sommes intéressés à leur valorisation en mettant en évidence leurs propriétés biologiques et pharmaco-toxic.
- notre travail est consacré à étudier et analyser les composés chimiques des feuilles et d'amande d'arganier. Par chromatographie de couche mince que ces extraits sont riches en composés phénoliques, en particulier les dérivés de flavonols, tannins, coumarines.

L'évaluation des propriétés biologiques, notamment insecticides ; et antimicrobiennes, réalisée pour la première fois, s'est avérée très intéressante. Cette étude a permis de mettre en évidence le potentiel cytotoxique des feuilles et d'amande de l'Arganier sur les insectes.

L'activité antimicrobienne des extraits d'Arganier s'est également révélée intéressante, en particulier l'extrait de feuilles qui a montré un effet positif sur la plupart des souches testées. Cela est probablement dû à sa teneur élevée en composés phénoliques, dont l'action antimicrobienne est déjà prouvée. L'étude du pouvoir anti radicaire a confirmé le fort pouvoir antioxydant des extraits de feuilles et d'amande dans le piégeage des radicaux libres, dont l'intensité dépend du contenu en polyphénols.

REFERENCES

Référence :

1. Alaoui A, Charrouf Z, Dubreucq G, Maes E, Michalski JC, Soufiaoui M. Saponins from the pulp. (L.) Skeels (sapotaceae). International Symposium of the Phytochemical Society : Lead compounds from higher plants. Lausanne, 2001.
2. Axelson, M., Sjoval, J., Gustafsson, B. E. & Setchell, K.D.R. (1982) Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants. Nature (Lond.) 298: 659-660.
3. B. El Fasskaoui, Études Caribéennes, 12 (2009).
4. Barboni, T. (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.
5. Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems.
6. – Battino (1929) Recherches sur l'huile et sur quelques autres produits de l'arganier. Librairie le Français, Paris, 132 p
7. Bellakhdar J., 1997.- La pharmacopée marocaine traditionnelle (Médecine arabe
8. Benchekroun, M. N., Catroux, P., Montaudon, D., Robert, J. (1990). Development of mechanisms of protection against oxidative stress in doxorubicin-resistant rat tumoral cells in culture. Free radical research communications, 11(1-3): 137-14
9. Berrougui H, Ettaib A, Herrera Gonzalez MD, Alvarez de Sotomayor M, Bennani-Kabchi N, Hmamouchi M. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil in Meriones shawi rats. J Ethnopharmacol 2003 ; 89 : 15-8
10. -Bezzala, A., "Essai d'introduction de l'arganier dans la zone de M'doukeletévaluation de quelques paramètres de résistance à sécheresse", Mémoire de Magister en sciences agronomiques, Université El Hadj Lakhdar, Batna, (2005) *Chemist's Society*, 69 (2), 141-145 *Comments on Toxicology*. 9, 5-21. d'Artemisia campestris L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. derivatives. In: L'ant polyphenols: synthesis, propriétés, significande. Laks des Huiles Essentielles des aiguilles de Pinus halepensis Mill. du Nord est Algérien."

11. Boudjouref M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits
12. Boukhobza M. & N. Pichon-Prum, 1988.- L'arganier, ressource économique et
13. Bouzid w.,M.yahia 1,M.Abdeddham,M.C.Aberkane et Ayachi (2011),Evaualuation de l'activité antioxydant et antimicrobiene des extraits de l'aubepine monogyne
14. Bruneton J (2009) Kowalska T (2008) .Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme.
15. Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, 4eme Edition Lavoisier (2009).
16. Bruneton,J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie - plantes médicinales. 3èmeEdit. Paris.
17. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. et Corke, H., "Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer", Life Sci., V. 74,(2004),2157– 2184.
18. - Charrouf Z, Guillaume D. Secondary metabolites. Phytochem Reviews 2002 ; 1 : 345-54.
19. - Charrouf M., 1984. Contribution à l'étude chimique de l'huile (Sapotaceae). Thèse Sciences Univ. de Perpignon. France
20. Charrouf Z., S. Fkih-Tetouani, M. Charrouf & B. Mouchel, 1991.- Triterpenes and
21. Chimi H., J. Gillard & P. Gillard, 1994.- Autoxydation de l'huile d'Argan Djidel, S., Chater, C.F., Khennouf, S., Baghiani, A. et Harzallah, D., "Evaluation of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant properties of Argan Skeelsleaf extracts", Glob. J Res Med Plants Indig Med., V.3, (2014), 416– 426.
22. Dominique Guillaume « Cahiers Agricultures vol. 14, N° 6, novembre-décembre 2005 »
23. ElKabouss,A.,Charrouf,Z.,Touati,D.,Cherrah,Y.,Nouaim.R.,etAnton,R.,"Etudedesflavonoïdesdesfeuillesdel'arganier",Incolloque«LaForetàdésertification:casdesArganes »,essential oils on the native microfora of organic Swiss chard. Lebensmittel Wissenschaft und -Technologie, 36: 679–684,(2003).
24. - El Kabous A (1995) Contribution a` l'e'tude des flavonoïdes des feuilles de l'arganier. Sapotaceae. Me'moire CEA. Universite' Mohammed-V, Rabat
25. Emberger, L., 1955. Une classification biogéographique des climats. Rec. Trav. Lab. Géol. Bot. Zool. Fac. Sci. Montpellier 7 : 1-47.

26. Esmail, H., Barry, C. E., Wilkinson, R. J. (2012). Understanding latent tuberculosis: the key to improved diagnostic and novel treatment strategies. *Drug discovery today*, 17(9) : 514-521.
27. F. Fahmi, S. Tahrouch, A. Hatimi Laboratoire de Biotechnologies Végétales. Université Ibn Zohr, Faculté des sciences Agadir, BP 8106 cité Dakhla, Agadir 80000, Maroc. Received 8 Feb 2013, Revised 20 May 2013, Accepted 20 May 2013
28. Fadila ETHALI et Djoumana HAMMOU. 2022. L'étude de l' activité antioxydante d'Argan, laboratoire des Microorganismes bénéfiques, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
29. Farines, M., Soulier, J., Charrouf, M., Gavé, A., "Etude de l'huile des graines. Sapotaceae.II- Stérols,Alcoolstriterpéniquesetméthylstérolsdel'huiled'Argan".Revu. Franç.Corps Gras, V.11: (1984), 443-448.
30. Fellat-Zarrouk, K., S. Smoughen, and R. Maurin. 1987. Etude de la pulpe du fruit de l'arganier du Maroc. Matière grasse et latex. Actes Ins. Agro. Vet. Rabat 7:17-22.
31. Fournet, 1992.- Triterpenoid saponines frome *Argan*. *Phytochemistry*, 31
32. Gobbi Rabia et Khebbaz Warda, 2014, traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux.
33. H. Rammal, J. Bouayed, C. Younos, R. Soulimani Ethnobotanique et pharmacologie-anxié'te', stress oxydant et bioactivité', université' Paul-Verlaine de Metz, BP 4102, F-57040 Metz cedex 01, France Correspondance : Hasanrammal@hotmail.com ; soulimani@univ-metz.f
34. Hakim Alilou Bouchaïb Bencharki Laboratoire d'Agroalimentaire et Santé, Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan 1er, Route de Casablanca, Settat, Maroc. Lalla Mina Idrissi Hassani Rachida Rouhi Laboratoire de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Faculté des Sciences Université Ibn Zohr, BP 28/S-Dakhla, Agadir, Maroc. Nouredine Barka Laboratoire des Sciences des Matériaux, des Milieux et de la Modélisation (LS3M), Faculté Polydisciplinaire de Khouribga, Khouribga, Morocco doi: 10.19044/esj.2016.v12n33p442. European Scientific Journal November 2016 edition vol.12, No.33 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431 442 Effet De La Pollution Minière Sur La Phytochimie
35. Hanan A., 1995.- Place de l'arganeraie dans la fore marocaine. Colloque international
36. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD (2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High

- Technology,
37. Hanebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). *Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif*. phytothérapie Numerol:36.
 38. Harborne, J. B. (1991). Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In *Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids*, Harborne, J.B. and Tomas-Barberan, F.A. eds (Oxford.: Clarendon Press.), pp 396-426.
 39. Hemingway, R.W. (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance*. Laks P.E, Hemingway R.W New York.
 40. Hemingway, S.R. and Phillipson, J.D. Alkaloids of the Rubiaceae. In: J.D. Phillipson and M.H. Zenk (Eds.), *Indole and Biogenetically Related Alkaloids*. Academic Press, (1980) London, pp. 62-90.
 41. Jado AI., Hassan MM., Ezmirly ST. & Muhtadi FJ., 1979. The chemical investigation of *Peganum harmala* L. growing in Saudi Arabia. *Pharmazie*. 34 (2), 108-109.
 42. KECHAIRI R. 2009. Contribution à l'étude écologique de l'Arganier dans la région de Tindouf (Algérie). Mémoire de magistère, Université des sciences et de la technologie «Houari Boumediene». 61p+Annexe.
 43. Khaulhy-7., W., Abbès, F., Ben-Mansour, R., Blecker, C., Attia, H. et Besbes, S., "Phenolic profile, antibacterial and cytotoxic properties of second grade date extract from Tunisian cultivars (*Phoenix dactylifera* L.)", *Foodchem.*, V. 194, (2016), 1048–1055.
 44. Kweka EJ, Nyindo M, Mosha F, Silva AG. Insecticidal activity of the essential
 45. La forêt face à la désertification "Cas de l'arganeraie", Agadir, octobre 1995.
 46. Leclerc, L., "Traduit de l'arabe de Al Baytar, Ibn Al Baytar, XIIIe siècle – *Zami' al-mufradatou* Traité des Simples", I-III (1re éd. 1877-1883). (1989).
 47. Lenz O., 1886.- Timbuctou. Voyage au Maroc, au Sahara et au Soudan, I-II, Paris, Librairie Hachette et C*.
 48. M'HIRIT O., BENZEYANE M., BENCHEKROUN F., ELYOUCFI M., BENDAANOUN M., (1998). L'arganier : une espèce fruitière-forestière à usage multiple. Edition Mardaga, Sprimont (Belgique), 11p

49. Maurin R , K. Fellat-Zarrouk & R. Ksir, 1992.- Positional analysis and determination
50. Maurin, R., “L’huile d’argane., Sapotaceae : Mise au point”, Revu.Franç. Corps Gras.V.39. (1992).139-46.
- médicinale pour le Maroc. *Phytothérapie*, 27, 21-26of tri-acylglycerol structure of Argan seed oil. *Journal of the American Oil* oil from fruits and seeds of Schinus terebinthifolia Raddi against African malaria vectors. *Parasit Vectors*. 2011;4:129.
51. M'hirit O. (1989) L'arganier une espèce fruitière forestière à usage multiple. in Formation Forestière Continue, thème "l'Arganier", Station de Recherches Forestière, Agadir, 13-17 mars: 31-57
52. Moukal, A. (2004). L’arganier, usage thérapeutique, cosmétique et alimentaire. *Phytothérapie*, 2(5), 135-141.
53. Mountasser, A. et El Hadek, “Optimisation des facteurs influençant l’extraction del’huile d’argan par presse”, *OCL.*,V. 6,n° 3, (1999), 273-279.
54. Negaz, M. (2018). Activités biologiques de l’extrait des grains de *L’Argan* récolté de la région de Tindouf. Mémoire de Master : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie. Bouira : Université Akli MouhandOulhadj Bouira ,
55. Nouaim,R.etChaussod,R.,“L’arganier,LeFlamboyant bulletin de liaison des membres du réseau arbres tropicaux n°27. (Septembre,1993).
56. Nouaim, R., Mangin, G., Breuil, M. C., & Chaussod, R. (2002). The argan tree in Morocco: Propagation by seeds, cuttings and in-vitro techniques. *Agroforestry systems*, 54(1), 71- 81.
57. Oulad-Ali. ; Kirchner V. ; Lobstein A. ; Weniger B. ; Anton R. ; Guillaume B. and Charrouf Z. 1996 Structure elucidation of three triterpene glycosides from the trunk of Argan. *J.Nat.Prod.* 59, 193-195
58. P. Boudy, Economie forestière nord-africaine : Monographies et traitements des essences forestières, Vol. 2, Larose, Paris, 1950.
59. P.E, Hemingway R.W New York. Paris R.R, Moyse H., 1965, Précis de matière médicale, Tome 1, Masson et Cie, Editeurs. *Phytother.*, 25 (2-3), 112-117.Protopopoff N, Wright A, West PA, Tigererwa R, Mosha FW, Kisinza W, et al. Combination of insecticide treated nets and indoor residual spraying in northern Tanzania provides additional reduction in vector population density and malaria transmission rates compared to insecticide treated nets alone: a randomised control trial. *PLoS One*. 2015;0:e0142671.
60. Paris. R. et Moyse. M., 1965« Précis de matière médicale », Masson édit, Paris, 450p

61. Phytothérapie (2009) 7: 157–160 © Springer 2009 DOI 10.1007/s10298-009-0386-7
62. Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E., Roura S.I. Antimicrobial activity of
63. Quezel, P., Santa, S., “Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales”, V. II, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. (1963), 1170p.
64. Radi, N., “L’Arganier arbre du sud ouest marocain, en péril, à protéger”, Thèse Doctorat en pharmacie, Université de Nantes, (2003), 59-62
65. Rammal H., Bouayed J., Younos C., Soulimani R. (2009). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique d’Argan. *Phytothérapie*. 7, 157–160.
66. Research. 22, 375-383. *spinosa* (L.) du Maroc. *Sciences des aliments*, 14 (1), 117-124
67. Ribereau, G.P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, R. Murga, R. Ruiz, S. Beltrán, J.L. Cabezas. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (2000), pp. 3408-3412 Paris, p254.
68. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M. et Pridham, J. B. (1995).
69. Rizk AM., 1982. Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*. 52 (2), 35-42.
70. S. S. Herodez, M. Hadolinb, M. Skergeta and Zeljko Knez, Solvent extraction
71. S. Tabet, M.S.A. Kechebar, S. Karoune, M. Belhamra, *Journal Algérien des Régions Arides*, 12 (2013) 39.
72. - Tahrouch S, Rapior S, Bessière JM, Andary C. Les substances volatiles d’Argan (Sapotaceae). *Acta Bot Gallica* 1998 ; 145 : 259-63.
73. Sadou, N., R. Seridi, et al. (2015). "Composition chimique et activité antibactérienne
74. Seguracarretero, A. et Micol, V., “Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species”, *Food Chem Toxicol.*, V. 55, (2013), 313–322.
- sterols extracted from the pulp of *Argan*, *Sapotaceae*. *Plant. Med* study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, *Food Chemistry*,
75. Su X., Duan J., Jian Y., Shi J., Kakuda Y. 2006. Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of Oolong tea’s food composition *Anal.* 19: 348- 353.
- Synthèse: *Revue des Sciences et de la Technologie* 30 (1): 33-39.
76. T. Aït Hamouda, S. Bendou, F. Abdoun, 2013. Congrès International de l’Arganier, Agadir, Maroc, 9-11 Décembre 2013. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical*

77. Vincken, J.-P., Heng, L. DE groot, A., Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68:275–297.
78. Wojdylo A., Oszmian´ski J., Czemerys R. 2007. Antioxidant activity and phenolic Compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105: 940–949.
79. Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., shan L., Lin Y., Fan W., Gu G. 2006. Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and Selectivity for free phenolic compounds in barley *Hordeum vulgare* L. *J. Agric. Food Chemistry* 54: 7277–7286.
80. ZIANI, S. (2014). Multiplication de l'Arganier par vitro semis, microbouturage, microgreffage, organogenèse et/ou embryogenèse somatique, SAADI A
81. Zoubida Charrouf1,* & Dominique Guillaume2 1Laboratoire de Chimie des Plantes et de Synthèse Organique et Bioorganique, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, BP 1014, Rabat, Maroc; 2Laboratoire de Chimie Thérapeutique, 1 rue des Louvels 80000 Amiens, France. (6), 2079-2086. (Octobre 1995). 80 (2003) 275– 282. Algérie. 99 p. ancienne et savoirs populaires). Edit. Ibis Press, Saint-Étienne, 776p

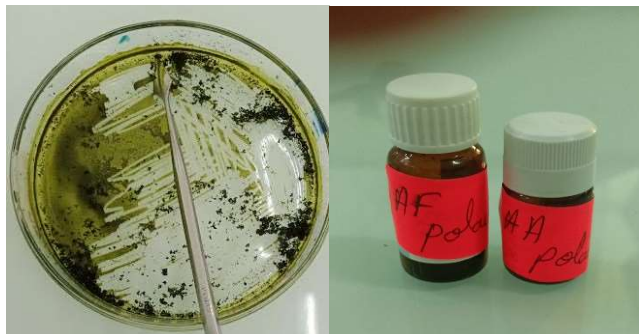
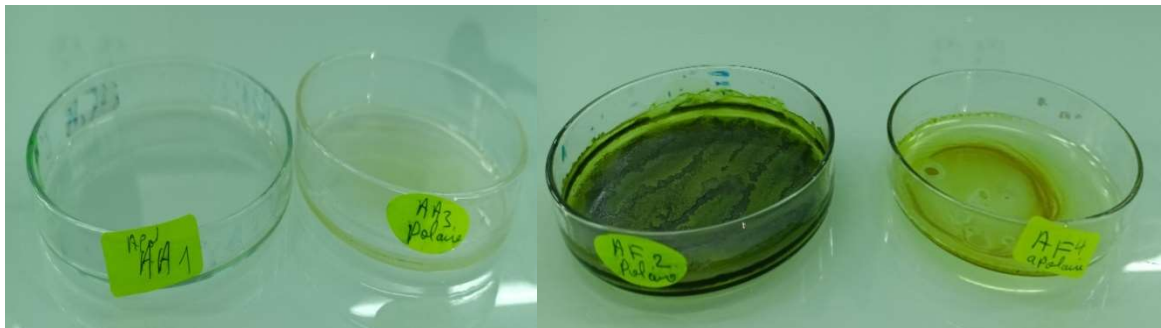
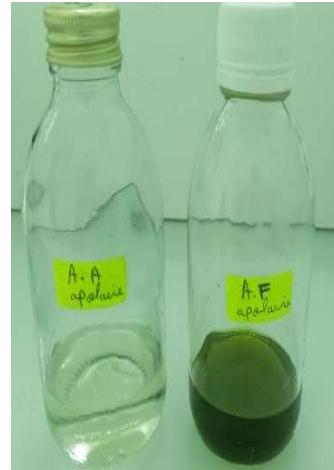
ANNEXES

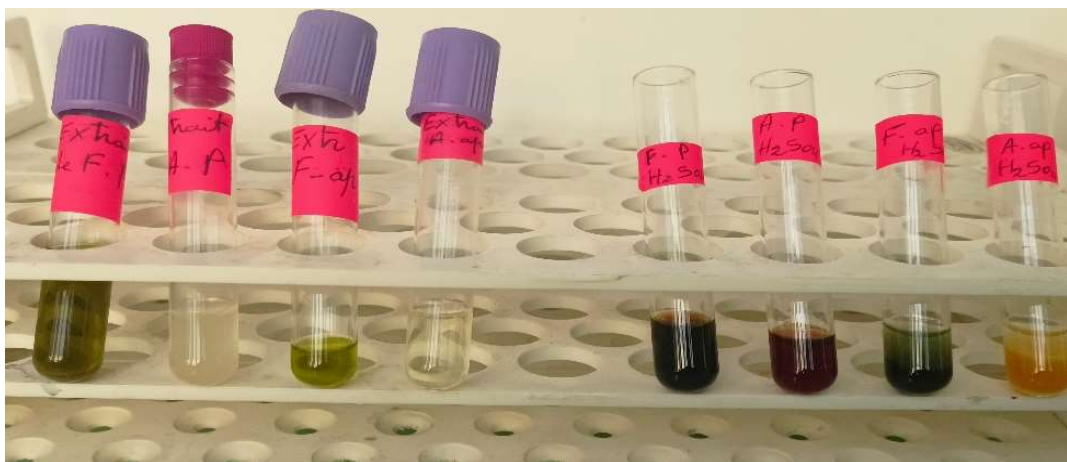
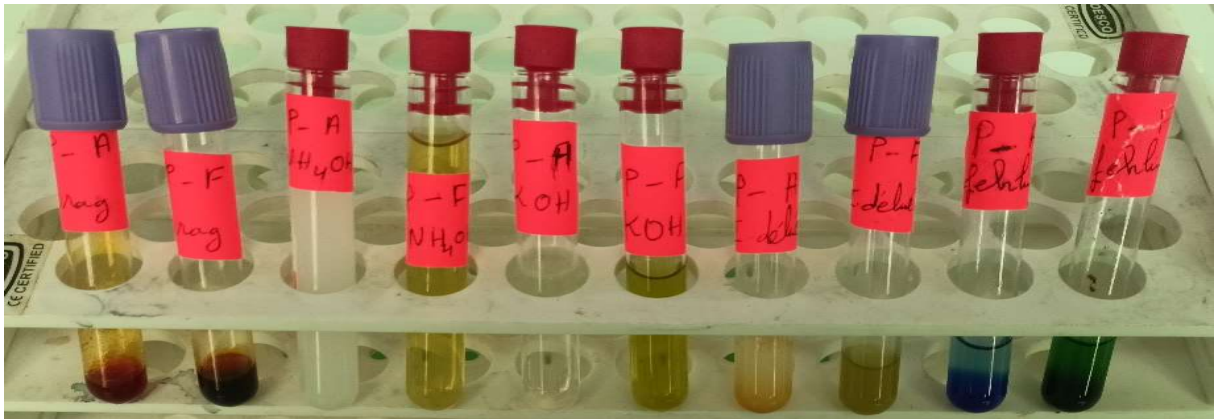
Annexes

- Appariages et matériels de laboratoire :

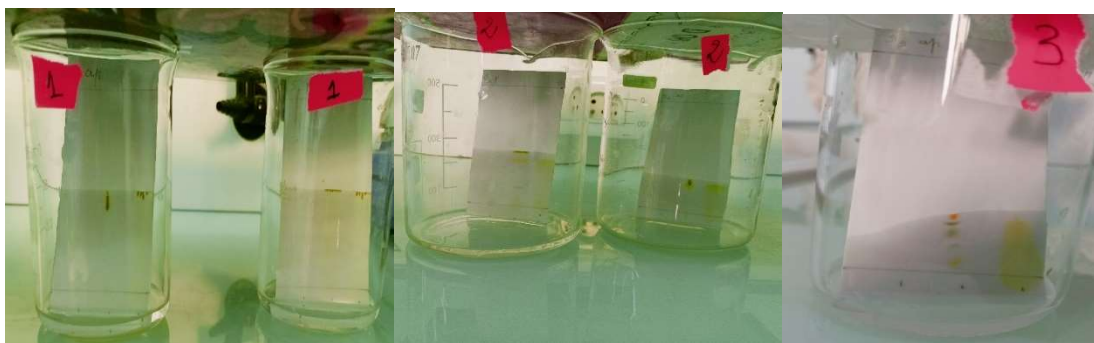
		
<p>Plaque chauffante</p>	<p>Balance analytique</p>	<p>Etuve</p>
		
<p>Rotavap</p>	<p>Soxhlet</p>	<p>Agitateur Vortex</p>
		
<p>Agitateur magnétique</p>	<p>Lahotte</p>	<p>Chambre uv</p>

			
<p>Tubeepindorf</p>	<p>Micropipette</p>	<p>Boitedeconservation</p>	<p>Flacons</p>
			
<p>Erlenmeyer</p>	<p>Boitesdepetri</p>	<p>portoirs</p>	<p>Pipette Pasteur</p>
			
<p>Eprouvette</p>	<p>Papierfilm</p>	<p>Spatules</p>	<p>Papier aluminium</p>
			
<p>Béchers</p>	<p>Papier filtre</p>	<p>Cuve</p>	<p>PlaquesCCM</p>





Photos : les étapes de macération et de criblage phytochimique



Photos : Les 3 systèmes de chromatographie sur couche mince (CCM)

