

Projet UE / MEDA / ADS

« Appui à l'amélioration de la situation de l'emploi de la femme rurale et gestion durable de l'arganeraie dans le sud-ouest du Maroc »

Volet recherche
Contrat n° AR05A061P704
entre
Agence de développement social (Maroc) et Agropolis International

Thème 1
Valorisation du fruit d'arganier
Huile d'argan: qualité, diversification

RAPPORT FINAL

Coordinateurs scientifiques

Zoubida Charrouf, Professeur, Université Mohamed V, Rabat
Daniel Pioch, Dr HDR, Cirad, Montpellier

SOMMAIRE

	Page
RESUME	3
REMERCIEMENTS	4
INTRODUCTION	7
METHODOLOGIE	9
PARTIE A - COMPOSITION - PROPRIETES DES PRODUITS	
A-1 Synthèse bibliographique	
A-1.1 Composition chimique de la pulpe	12
A-1.2 Composition de la graine	16
A-1.3 Composition du bois	20
A-1.4. Composition de la coque du fruit	20
A-1.5. Composition des feuilles	21
A-1.6 Conclusion de l'étude bibliographique	24
A-2 Collecte de fruits typés/IAV-Agadir – Mise au point méthodologique	
A-2.1 Préparation de la collecte d'échantillons	28
A-2.2 Collecte des échantillons	30
A-2.3 Préparation et transport des échantillons	31
A-2.4 Résultats de la collecte à l'IAV-A gadir	33
A-2.5 Conclusion de la collecte à l'IAV-Agadir	36
A-3. Paramètres biométriques - Maturité - Composition chimique des fruits collectés à l'IAV-AGADIR	
A-3.1 Paramètres biométriques – Maturité et Composition de l'huile d'argan	37
A-3.2 Influence des paramètres biométriques et de la maturité des fruits sur la composition de la pulpe	40
A-3.3 Conclusion - Influence des paramètres biométriques et de la maturité	51
A-4. Recherche de l'influence du terroir	
A- 4.1.Collecte des échantillons	52
A- 4.2 Influence du terroir sur les caractéristiques du fruit	52
A- 4.3 Influence du terroir sur la composition de l'huile	56
A- 4.4 Conclusion – Effet de la forme et du terroir	57
A-5 Valorisation de l'huile d'argan	
A-5.1 Lutte contre l'adultération de l'huile d'argan par d'autres huiles Végétales	58
A-5.2 valorisation de l'huile d'argan en cosmétique	59
A-6 Valorisation de la fraction polyisoprénique de la pulpe	
A-6.1 Extraction du polymère	62
A-6.2 Caractérisation du polymère	65
A-6.3 Applications potentielles pour le caoutchouc de pulpe d'argan	71
A-6.4 Conclusion – perspectives de valorisation du latex de pulpe	73

A-7 Valorisation de l'extrait hydrosoluble de pulpe	
A-7.1 Polyphénols et autres composés hydrosolubles	74
A-7.2 Activité de l'extrait aqueux obtenu à partir de pulpe des fruits verts	74
A -7.3 Activité de l'extrait aqueux à partir de la pulpe de fruits mûrs	74
A -7.4 Conclusion des tests d'activité	75

A-8 Conclusion - Valorisation de la biomasse d'arganier	77
--	----

PARTIE B – PROCÉDES ET DETERMINANTS DE LA QUALITE

B-1 Filière actuelle huile d'argan-Amélioration des procédés

B-1.1 Stabilisation et stockage des fruits	79
B-1.2 Amélioration des procédés actuels d'extraction de l'huile	81
B-1.3 Amélioration de la conservation de l'huile	86
B-1.4 Conclusion - Possibilités d'amélioration des procédés actuels	90

B-2. Procédé pour la valorisation du fruit frais entier

B-2.1 Essais de séchage des fruits	91
B-2.2 Fractionnement mécanique des fruits -dépulpage	94
B-2.3 Conclusion des essais du dépulpage mécanique	102

B-3. Attributs et déterminants de la qualité de l'huile et d'autres produits	103
---	-----

CONCLUSION DES TRAVAUX – THEME 1	107
---	-----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	112
------------------------------------	-----

ANNEXES	118
----------------	-----

Préparation des arbres, collecte à l'IAV-Agadir

Protocoles expérimentaux

Publication de FSR-UMV sur la détection de l'adultération de l'huile

Comptes-rendus de missions

RESUME

Le thème I du projet avait pour but de mettre en valeur le fruit de l'arganier (huile d'argan, tourteau, pulpe). Les travaux sur la valorisation de l'huile et d'autres produits de l'arganier ont été conduits avec les objectifs suivants :

- faire une synthèse bibliographique de la composition des produits de l'arganier ;
- Identifier la qualité de l'huile issue de l'amande, en fonction de divers paramètres, attributs et déterminants de la qualité (préparation des amendons, procédé d'extraction détection de fraudes, stockage), pour rationaliser les pratiques chez les acteurs actuels de la filière afin de mettre sur le marché des produits correspondant à la demande ;
- Identifier un procédé de dépulpage en étudiant l'influence de la conservation du fruit (fruit frais, fruit partiellement séché) dans la perspective d'une nouvelle filière ;
- explorer le potentiel de la pulpe en tant que co-produit de la filière actuelle ou produit à part entière d'une nouvelle filière, par l'analyse de différents composants, et au plan technologique via le fractionnement et l'extraction, afin de proposer des alternatives à l'usage traditionnel pour l'alimentation caprine, dans le but d'améliorer le bilan économique.

L'étude bibliographique montre qu'il y a une différence importante entre le niveau des connaissances disponibles pour chacune des parties composant le fruit de l'arganier, justifiant pleinement le présent programme. Le fruit est composé à plus de 50 % de matière grasse, l'huile d'argan, de type oléique-linoléique, riche en antioxydants naturels. Le résidu d'extraction ou tourteau est constitué d'environ 50 % de protéines et renferme des métabolites secondaires d'un grand intérêt (cosmétique, nutraceutique). La pulpe, qui représente au moins 50 % du fruit frais, est constituée de près de 5 % de matière grasse et de 10 % de protéines. Le taux d'insaponifiable dans la matière grasse de la pulpe est très élevé. La pulpe est également riche en polyphénols et en saponosides et renferme un latex dont la structure est comparable à celle du polyisoprène. Certains composés sont retrouvés dans la pulpe et dans la graine, notamment les triglycérides et certains métabolites secondaires, mais il existe des différences notables entre l'amendon et la pulpe qui justifient pleinement l'étude de cette dernière. Les métabolites secondaires, bien que composants minoritaires, sont susceptibles d'apporter des propriétés recherchées, notamment dans le domaine pharmacologique (anticancéreux, anti-inflammatoire, antiviral, antioxydant). Le déficit global de connaissances du point de vue chimique et surtout des procédés contraste avec l'engouement actuel pour l'huile d'argan au plan international.

Les études de la littérature ne précisent en général pas l'origine exacte, ni les étapes de collecte et de préparation des fruits. Une méthodologie inédite de collecte d'échantillons dans des conditions maîtrisées a été expérimentée au Conservatoire de l'arganier de l'IAV-Agadir. Elle consiste à collecter les fruits tombés sous un arbre donné chaque jour (sol recouvert d'un film) et à les stabiliser par séchage solaire en tunnel à l'abri des UV. L'opération est poursuivie pendant plusieurs jours. Ainsi plusieurs dizaines de kilogrammes de fruits ont été recueillis, correspondant à des formes ou à des états de maturité donnés. Les fruits ont été caractérisés au plan biométrique et de la proportion des différentes parties, puis acheminés vers les laboratoires des deux partenaires. Un protocole moins contraignant a été suivi pour la collecte dans des lieux éloignés, la réalité du terrain nécessitant des adaptations importantes des objectifs afin de pouvoir mener à bien l'échantillonnage des fruits.

Une série de plusieurs dizaines de tests et d'analyses a été réalisée en fonction des besoins afin d'accéder à une caractérisation chimique assez poussée de la trentaine d'échantillons obtenus.

L'étude morpho-biochimique a montré l'influence des paramètres biométriques, celle de la maturité dans les semaines qui précède la chute, ainsi qu'un probable effet de terroir.

Par exemple, pour ce qui est de l'huile d'argan, la proportion d'amande et sa teneur en huile sont plus élevées dans les fruits jugés les moins murs peu avant leur chute, mais la stabilité oxydative

de l'huile est maximale au moment de la chute. De même le rapport acide oléique/acide linoléique dépend aussi de la forme du fruit. Ces résultats recourent les rares données disponibles dans ce domaine dans la littérature (composition en acides gras et en stérols).

Pour les fruits murs (le jour de leur chute) on retiendra que la teneur en lipides de la pulpe varie peu en fonction de la forme du fruit pour les trois formes étudiées (4,8-5,7%) ; la teneur en caoutchouc quant à elle est nettement plus élevée pour le type sphérique (2,7%) par comparaison aux deux autres (0,7-0,8%). La forme du fruit a aussi une influence notable sur la teneur de la pulpe en sucres et en matière azotée (protéines) laquelle est de 50% plus élevée pour des fruits de type apiculé par comparaison aux fruits sphériques par exemple. Dans les fruits portés par un même arbre le même jour, donc à des stades différents de maturité, la teneur en lipides varie de 5,7 à 8,3% et celle du polyisoprène de 2 à 3,6% /pulpe sèche.

A ce stade il semble aussi qu'un effet de terroir puisse être invoqué (proportions pulpe/coque/amande, poids de l'amande, lipogénèse dans l'amande et dans la pulpe).

Evidemment ces tendances méritent d'être confirmées par l'étude d'une population plus large afin de déconvoluer effet terroir et déterminants phénotypiques.

Cette étude ouvre un questionnement quant à l'évolution de la synthèse des lipides et du polymère durant les derniers jours où semaines avant la chute des fruits

Dans le volet amélioration de la filière existante, un premier résultat concerne la détection de l'adultération de l'huile d'argan via une méthode originale faisant intervenir un stérol caractéristique (campésterol) basée sur un protocole analytique normalisé (insaponifiable).

Les essais ciblés sur les problèmes de pollutions gênant les débouchés en cosmétique permettent de proposer des améliorations : la filtration avec un matériel adapté élimine les microorganismes (contamination par excrément de chèvre), la présence de phtalates, dont la provenance d'emballages en plastiques récupérés a pu être prouvée, peut être résolue en n'utilisant que des contenants adaptés ; la présence de métaux lourds a aussi été considérée.

Après étude quasi-systématique des paramètres influents à chaque étape, les résultats ont conduit à compléter les recommandations ci-dessus pour toutes les étapes du procédé actuel de production de l'huile d'argan, depuis le fruit jusqu'au produit commercialisé.

Concernant la pulpe, un potentiel de développement par rapport à la seule utilisation actuelle comme fourrage a été montré. On a trouvé que le polymère du latex est principalement du polyisoprène de structure trans-1,4, semblable à la gutta percha plutôt qu'au caoutchouc de l'hévéa. Parmi les débouchés potentiels on suggère de considérer des utilisations en odontologie (traitement de racines de canal) et en agro-alimentaire (chewing-gum).

Une autre application potentielle fait suite à la découverte d'un effet relaxant musculaire des extraits de pulpes de fruits à différents stades de maturité.

L'exploitation de ces fonctionnalités suppose des itinéraires adaptés, permettant de préserver la qualité des composés de la pulpe alors que celle-ci n'est pas considérée dans la filière actuelle et une méthode de dépulpage mécanique a été testée avec succès. La suite de opérations incluant un minimum d'étapes d'extraction a été imaginée (eau, CO₂ supercritique, simple pressage).

L'orientation résolument appliquée du projet a conduit à faire une analyse des opérations en termes d'attributs (caractéristiques chimiques principalement) et de déterminants (paramètres importants dans la conduite des procédés) de la qualité des produits, huile d'argan en priorité.

Ces résultats sont destinés à être mis à disposition de la communauté scientifique (publication déjà débutée) et des acteurs et décideurs de la filière, afin de contribuer au développement de l'arganier, via des filières viables au plan économique, dans son contexte environnemental, social et culturel.

REMERCIEMENTS

Les coordonateurs tiennent à remercier les scientifiques qui ont collaboré à la réalisation de ce travail :

- IAV-Complexe d'Agadir pour la collecte des fruits, l'accueil d'étudiants (Professeurs A Benismail, M C Mohktari, Lhacen Kenny)
- UMR GPEB / Cirad : Serge Palu (spécialiste des polymères naturels), Daniella Pingret de Sousa (stagiaire, Université de pharmacie de Brazilia), François-Nicolas Buland, stagiaire de la faculté de Pharmacie, UM1
- UMR Qualisud / Cirad : technologie agroalimentaire Dr J-C Dumas, chimie analytique Noel Durand
- UMR Qualisud / UM1, Laboratoire de Pharmacologie et Physiopathologie Expérimentales : Karine Portet, Dr Florence Bichon, Professeur Alain Michel
- UMR Qualisud / Université Montpellier 1, Laboratoire de chimie analytique : professeur Michel Larroque
- UMR IATE / Cirad, caractérisation de polymères : Dr Frédéric Bonfils, Christine Char-Raluy
- Université de Montpellier 2, Laboratoire des polymères, professeurs JJ Robin et André Cotet
- US / Cirad, analyses minérales : Gisèle Héral-Llimous
- UPR Systèmes d'élevage / Cirad, analyse des fibres : Dr Denis Bastianelli, Laurent Bonal.
- UMR SPO / INRA-SupAgro Montpellier : Plateforme polyphénols Dr Véronique Cheynier et Dr Emmanuelle Meudec ; analyse des sucres, Dr Thierry Doco.
- Sociétés Aromaproces (J-P Martel) et Phytatec-UK (Dr Steve Bowra) pour les aspects technologiques,
- Les étudiants du Laboratoire de Chimie des Plantes et de Synthèse Organique et Bioorganique, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat : Miloudi Hilali, Hicham Harhar, Badr Eddine Kartah, Hanae El Mounfalouti, Nadia El Fakhar, Said Gharbi, Bachir Quaboul
- Lesieur-Cristal : Dr Aziza El Haddad et Said Gharbi
- Laboratoire officiel d'Analyse et de Recherche chimiques : Dr El Mâati Benazzouz, Mme Nadia Mâata, Prof Hachimi

- Coopératives Amal et Ajddigue de la province d'Essaouira, Taitmatine de la province de Taroudant, Targant de la province de Chtouka Ait Baha et le GIE Targanine de la Province d'Agadir.
- Tous les membres de l'Association Ibn Al Baytar, Agadir
- Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, UMR 8576-CNRS, IFR 118, Université des Sciences et Technologies de Lille, Prof Jean Claude Michalski. Dr Bernadette Coddeville, Yves Leroy, pour les analyses de spectrométrie de masse.
- Laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie, Université Champagne Ardennes, Reims : Prof Dominique Guillaume pour la RMN et les discussions scientifiques.
- Laboratoires sérobiologiques, Pulnoy, France
- Fondation Slow Food, Bra, Italie pour les analyses sensorielles.
- Max Rubner-Institute, Münster, Allemagne : Dr. Bertrand Matthäus
- Istituto di Scienze dell'Alimentazione, Avellino, Italie : Dr. Gian Luigi Russo et Prof Antonio Malorni
- Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique, Docteur Jean-Luc Hornick

INTRODUCTION

Présentation générale, arganier et arganeraie

L'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeel, appartient à la famille des Sapotacée et est la seule espèce de cette famille de plantes tropicales qu'on rencontre en zone subtropicale. Le genre *Argania* est la seule espèce endémique au Maroc: *Argania spinosa* (syn. *Argania syderoxylon* L, *Sideroxylon spinosum* L *Elaerandronargan* Retz). Etymologiquement, le mot Argan (l'arbre) vient du mot berbère arjân qui dérive de rajnah qui signifie en dialecte berbère "rester fermer" dans un espace limité. En fait , l'arganier est un arbre endémique au Maroc, principalement sur la côte ouest du haut Atlas, mais il a été aussi introduit dans les déserts en Israël, en Algérie, Tunisie et récemment au Koweït.

L'arganier est un arbre adapté aux régions arides du sud du Maroc, du niveau de la mer à 1400-1500 mètres d'altitude, où il couvre environ 800 000 ha. Il fructifie abondamment quand il n'est pas brouté par les chèvres, ou attaqué par les Cératites (mouche du fruit). C'est une espèce sauvage, à peine domestiquée. Les savoirs traditionnels font état de deux variétés principales: l'une à coque mince qui est cassée aisément à la main par les femmes; l'autre qui est cassée plus difficilement, produisant un mésocarpe qui sèche en une seule pièce et qui est récoltée et stockée pour les troupeaux en période sèche. Les trois principaux produits de l'arganier sont :

- l'huile d'argan extraite de l'amande (contenue dans une coque ou endocarpe)
- le tourteau résultant de l'huile par pression
- le mésocarpe ou pulpe consommé par les dromadaires et les chèvres
- les jeunes feuilles mangées par les dromadaires et les chèvres.

Certains fruits de l'arganier sont consommés par les chèvres qui rejettent les noyaux après avoir mangé la pulpe. L'huile produite à partir des graines de ces noyaux est peu appréciée hors du Maroc.

La valorisation économique de l'arganier par le biais de ses produits est un moyen de relancer durablement une foresterie rurale intégrée. L'arganier fournit une alimentation au bétail (un million de ruminants s'en nourrissent), du bois pour le feu et la menuiserie, une huile alimentaire diététique, recherchée par l'industrie cosmétologique pour ses substances bienfaisantes. Malgré ces divers usages, l'arganier reste insuffisamment exploité car il renferme des potentialités jusque là inconnues et dont la mise à jour pourrait donner à cet arbre un nouvel essor dans son contexte socio-économique et culturel. Les recherches effectuées sur l'arganier ont fait l'objet d'un grand nombre de publications.

Le projet Arganier est conduit par l'Agence de Développement Social (ADS) dans le cadre de mesures d'accompagnement financières et techniques à la réforme des structures économiques et sociales dans le cadre du partenariat euro-méditerranéen (programme européen MEDA). Ce projet comporte un volet sur la recherche sur l'arganeraie, l'arganier et ses produits pour un développement durable (projet RARGA PROD 2).

Dans ce volet, Agropolis International joue le rôle de porteur de projet et de gestionnaire pour le compte des équipes scientifiques impliquées. Deux contrats ont été signés entre ADS et Agropolis International pour traiter respectivement de la *valorisation du fruit de l'arganier et de la qualité et de la diversification de l'huile d'argan (thème 1)* d'une part et

d'autre part de *la multiplication végétative et symbiose racinaires de l'arganier et optimisation des agroécosystèmes à base d'arganier (thème 2)*.

Le thème I fait l'objet du présent rapport..

Les objectifs de la thématique I peuvent être classés selon les axes suivants :

- **Vers une meilleure connaissance de la composition chimique des produits et de leurs propriétés (axe A) :**
 - mieux connaître les fruits, par des analyses chimiques
 - influence du type de fruit sur la composition chimique et les propriétés organoleptiques de l'huile et sur la composition de la pulpe
 - définition d'attributs de qualité (huile, tourteau, pulpe) pour plusieurs usages.
- **Procédés et qualité des produits (axe B)**

Cette démarche passe par l'évaluation des paramètres sur la chaîne de production depuis la collecte jusqu'au stockage des produits finis en vue de permettre l'amélioration ou l'adaptation des procédés :

 - étude des procédés existants, vers des résultats utiles pour la filière actuelle (séchage, dépulpage par chèvre....)
 - exploration d'un procédé dans l'optique de la valorisation plus complète des co-produits (dépulpage et fractionnement en continu de la pulpe).

In fine le travail réalisé souhaite contribuer :

- d'une part, à la confiance des acheteurs d'huile d'argan via une qualité améliorée et ciblée par rapport aux diverses utilisations (sécurisation du marché) et un itinéraire technique optimisé
- d'autre part, à montrer des voies potentielles de diversification des usages commerciaux
- finalement à accroître les revenus des acteurs de la filière et à justifier un intérêt accru pour l'arganier et l'araganeraie.

Plusieurs caractéristiques différencient ces travaux de recherche de ceux réalisés antérieurement, contribuant à la fois à une meilleure connaissance de la diversité de l'arganier et de l'influence des procédés sur la qualité des produits :

- aspect intégratif faisant de cette étude l'une des plus larges connues, portant à la fois sur des aspects phénotypiques, chimiques et technologiques,
- collecte d'échantillons de fruits de forme déterminée, de maturité connue, de plusieurs dizaines de kilogrammes, provenant d'arbres référencés, malgré les contraintes imposées par le caractère sessile,
- réalisation d'un ensemble d'analyses très variée donnant accès à une grande diversité de composants et pour des fruits d'origine, de formes et de degré de maturité connus,

- suivi pendant plusieurs années de la qualité d'échantillons d'huiles, représentatifs de la production réelle et obtenus selon des protocoles différenciés et bien identifiés.

METHODOLOGIE

Partenariat

Deux partenaires principaux ont collaboré pour la réalisation des travaux :

- le Laboratoire de Chimie des plantes et de synthèse organique et biorganique Faculté des Sciences de l'Université Mohammed V-Agdal, Rabat
- l'Unité Mixte de Recherche GPEB du Cirad, Montpellier (Génie des procédés, eau-bioproducts).

Le Laboratoire Chimie des Plantes et de Synthèse Organique et Bioorganique de la Faculté des Sciences de l'Université Mohammed V-Agdal de Rabat et l'un des plus anciens laboratoires de cette Faculté. Il est dirigé par Prof Soufiaoui et regroupe plus de 20 professeurs et selon l'année, entre 15 à 25 étudiants. Le Laboratoire est divisé en 3 sections : synthèse organique, photochimique et Chimie des Plantes. C'est dans la section de Chimie des plantes que se font les recherches sur l'Arganier sous la responsabilité du professeur Zoubida Charrouf.

Les travaux ont donné lieu à plusieurs collaborations avec des laboratoires extérieurs et des industriels. Plusieurs étudiants ont participé à cette étude, certains en thèse et d'autres en master ou projet de fin d'étude.

L'Unité Mixte de Recherche Génie des Procédés – Eau, Bioproducts, UMR Cirad 016 GPEB, regroupe un effectif de plus de 50 personnes, dont 25 chercheurs ou enseignants-chercheurs des Universités de Montpellier 1 et 2 et du Cirad. Dirigée par le professeur Alain Grasmick elle est spécialisée dans l'étude de procédés de traitement de l'eau (dépollution) et de bioproducts (co-produits des industries de transformation des productions agricoles ou produits issus de cultures encore peu exploitées). Le projet ARQUADI a été pris en charge par Serge Palu (Ingénieur, polymères naturels) et Daniel Pioch (Dr HDR, procédés, lipochimie ; coordination du sous-thème).

Les travaux ont donné lieu à plusieurs collaborations avec des laboratoires extérieurs à l'UMR GPEB : IAV-Complexe d'Agadir pour la collecte des fruits, UMR Qualisud/Cirad technologie agroalimentaire et UMR Qualisud/Faculté de Pharmacie pour l'analyse et l'activité biologique d'extraits ; sociétés Aromaprocess et Phytatec-UK pour les aspects technologiques ; UMR SPO INRA-SupAgro Montpellier pour l'analyse des polyphénols et des sucres, US du Cirad pour les analyses minérales, UPR du Cirad Systèmes d'élevage pour l'analyse des fibres.

La thématique I a interagi avec la thématique II (agroforesterie) notamment pour élaborer le plan de collecte d'échantillons dans l'arganeraie sur différents phénotypes (Institut Agronomique vétérinaire Hassan II-Complexe d'Agadir) via l'accueil et l'encadrement de trois stagiaires de GPEB-Cirad et FS-UMV.

Organisation des travaux

Suite à différents aléas lors de la signature des textes servant de cadre à la collaboration (ADS-Agropolis puis Agropolis-Départements du Cirad), la notification du financement a été faite par le Cirad à l'UMR GPEB courant avril 2007, c'est-à-dire lors de la deuxième année décomptée à partir de la date théorique de début du projet (janvier 2006). Juste avant le début de la récolte il n'était plus possible d'organiser le travail prévu pour la première année du projet compte-tenu des contraintes pratiques : disponibilité et sélection d'étudiants chargés d'une part de la collecte et de la stabilisation des échantillons (pulpes et amandes) sur le terrain selon les protocoles prévus, et d'effectuer ensuite les travaux de laboratoire d'autre part. Certains travaux sur l'huile avaient pu néanmoins être entrepris par FS-UMV en 2006.

Une prolongation de la durée du programme de travail jusqu'à la mi-novembre 2008 a été accordée suite à la réunion de fin de contrat « théorique » en novembre 2007 à Rabat, afin de tenir compte de la saisonnalité de la production de l'arganier et des différentes contraintes pratiques citées ci-avant.

Un nouveau plan de travail a donc été établi, avec pour conséquence la concentration de la majeure partie du programme initial sur une seule saison de production 2008 ; ce qui n'a laissé que 5 mois pour caractériser ces échantillons réaliser les tests, extractions et analyses. En effet les travaux réalisés courant 2007 par le Cirad avaient porté principalement sur l'expérimentation des difficultés sur le terrain (collecte, transport d'échantillons de fruits frais, procédures réglementaires en rapport avec ce matériel végétal) et sur la mise au point de protocoles de laboratoire. Certains travaux portant sur l'huile produite dans des ateliers dont on avait une traçabilité des fruits provenant d'un endroit précis : village, province etc, mais dont on ne connaissait pas de quel arbre les fruits provenaient, ont néanmoins pu être programmés fin 2006, dès la notification de la subvention par la FS-UMV.

Si l'étude systématique a été maintenue autant que possible, le nouveau programme de travail a été élaboré en tenant compte de l'objectif final très appliqué, c'est-à-dire afin de fournir des informations utiles sur l'amélioration de la qualité de l'huile d'une part et sur les possibilités de valorisation de composants

Les travaux de recherche ont donc porté à la fois sur :

- la qualité de l'huile issue de l'amande (professeur Zoubida Charrouf ; FS-UMV), en fonction de divers paramètres, attributs et déterminants de la qualité (préparation des amendons ; procédés d'extraction / traditionnel, pressage mécanique ; détection de fraudes, stockage). Ces résultats visent à rationaliser les pratiques chez les acteurs actuels de la filière afin de mettre sur le marché des produits correspondant à la demande,
- L'exploration du potentiel technologique de la pulpe en tant que co-produit (Dr Daniel Pioch ; GPEB-Cirad), via d'une part l'analyse de différents composants de la pulpe, l'influence de la conservation du fruit (pulpe détachée du fruit frais ; pulpe sèche) et d'autre part la recherche d'une technique adaptée à la séparation de la pulpe. Ces résultats visent une revalorisation de ce co-produit, alternative à l'usage

traditionnel de la pulpe pour l'alimentation caprine, via le fractionnement (composés actifs, polymère), afin de tenter d'améliorer le bilan économique.

Le programme de travail a donc été effectué en combinant plusieurs approches :

- missions dans l'arganeraie (FS-UMV et GPEB-Cirad) auxquelles ont participé les chercheurs responsables du Thème 1 ARQUADI et plusieurs étudiants de ces deux laboratoires,
- essais en atelier de production et halle de technologie, incluant d'autres chercheurs du Cirad et des étudiants ainsi que des partenaires privés technologues,
- études en laboratoire (extractions, analyses, activité biologique) incluant des étudiants, des chercheurs du Cirad et de FS-UMV, d'autres chercheurs et enseignants-chercheurs intervenant plus ponctuellement sur le projet.

PARTIE A

A - COMPOSITION - PROPRIETES DES PRODUITS

A-1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

L'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) est de la famille des Sapotacées. Le fruit de l'Arganier est constitué de 2 parties, la pulpe et la noix, cette dernière contenant une à trois amandes à l'intérieur d'une coque dure. L'huile d'Argan est extraite des amendons. Aujourd'hui, en raison de l'amélioration et de l'échelle de sa production, de sa haute valeur diététique et des bénéfices pour la santé humaine, l'huile d'argan se retrouve dans tous les pays industrialisés [Charrouf 2002].

La pulpe du fruit de l'arganier est utilisée seulement pour l'alimentation du cheptel, la coque est utilisée localement comme source d'énergie pour la cuisine et les bains maures. La production annuelle est de 2.500 à 4.000 tonnes.

A-1.1 Composition chimique de la pulpe

La composition chimique de la pulpe selon [Fellat-Zarrouk 1987, Sandret (1976), Dupin 1949] donnée dans le tableau 1 montre une certaine variabilité ; malgré l'imprécision due à la teneur en eau variable, cellulose et glucides représentent 28 à 34% de la matière humide. L'extrait lipidique de la pulpe quant à lui est constitué de glycérides 33,3 %, d'insaponifiable 3,3 % et d'un latex (caoutchouc et percha) 63,4% [Fellat-Zarrouk 1987].

Le tableau 1 résume les données de la littérature concernant la composition chimique de la pulpe. La pulpe du fruit de l'arganier riche en glucide constitue un excellent aliment pour le cheptel vivant dans l'arganeraie. Une analyse récente de la pulpe par notre équipe a donné les valeurs ci-dessous. La matière sèche représente 86,3 % de l'aliment, elle est constituée de fibre, protéine, extrait étheré et d'un extractif non azoté (Tableau 2) ainsi que d'éléments minéraux (tableau 3).

La valeur alimentaire (UF) est de 0,90 (100 kg de pulpe équivalent à 90 kg d'orge). La pulpe est un aliment énergétique grâce à sa teneur élevée en glucides.

Tableau 1 : Composition chimique de la pulpe (% / poids frais)

	Battino 1929	Dupin 1949	Sandret 1957	Fellat-Zarrouck 1987
Humidité	20-21	21-23	15-25	20-50
Cendres	0,23	4,67	2-4	4,10
Cellulose	5,68	5,95	6-12	12,90
Composés azotés	7,75-7,87	6,60	6-8	5,95
Extrait lipidique	-	5,00	5-10	6,00
Glucides réducteurs	25-28	12,00	15-25	15,70
Glucides saccharifiables		11,50	5-15	2,80

Tableau 2 : Composition de la pulpe [Charrouf 2009]

Matière organique	Fibres ADF	Protéine brute	Extrait étheré	Extractible non azoté
92,7 %	34,5%	8,7%	6,6%	42,9%

Tableau 3 : Composition en éléments minéraux de la pulpe

Ca g/kg	P g/kg	Na g/kg	K g/kg	Mg g/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Mn mg/kg	Fe mg/kg
4,8	0	2,4	23,2	0,7	2,3	7,5	7	111,2

a) Les lipides de la pulpe

La composition en acides gras de l'extrait lipidique est résumée dans le tableau 4. La différence entre les valeurs citées dans la littérature pourrait être due à la grande variabilité génétique de l'arganier mais aussi aux méthodes d'analyse : dans un cas l'huile est de type acide oléique-linoléique, très courant, alors que dans l'autre elle est riche en acides gras à chaîne moyenne. Cette différence laisse tout de même perplexé.

Tableau 4 : Composition en acide gras de l'extrait lipidique de la pulpe (%p)

Acides gras	Fellat-Zarrouck 1987	Hamdouch 1995	Charrouf 2009 (publication en cours)
Myristique C14 : 0	4,3	51,9	14-22
Pentadécanoïque C15 : 0	0,8	-	-
Palmitique C16 : 0	18,4	31	27-31
Heptadécanoïque C17 : 0	0,5	-	-
Palmitoléique C16 : 1	1,3	-	1-3
Stéarique C18 : 0	6,3	2,5	6-7
Oléique C18 : 1	42	3	15-18
Linoléique C18 : 2	18,8	2,7	20-23
Linoléique C18 : 3	4,6	0,4	4-5
Nonadécénoïque C19 : 1	0,5	-	-
Arachidique C20 : 0	1	1,2	-
Gadoléique C20 : 1	1	-	-

b) Insaponifiable

L'étude de l'insaponifiable de la pulpe (3,3 %) montre qu'il est constitué de triterpènes et de stérols. L'érythrodiol est le triterpène majoritaire, avec 24% de l'insaponifiable [Charrouf et al.1990]. Les autres triterpènes sont le lupéol et l' α - et la β -amyrine [Charrouf 1991a ; Charrouf et al. 1991 b]. D'autres triterpènes minoritaires ont été mis en évidence dans l'insaponifiable de la pulpe, il s'agit du traxastérol, Ψ -traxastérol, bétulinaldéhyde et bétuline [Charrouf 1991a]. Les stérols identifiés sont le schottérol et le spinastérol, leur teneur dans l'insaponifiable est inférieure à 0,4% [Charrouf 1991a].

Polyphénols

Des dérivés phénoliques ont également été isolés de la pulpe du fruit : la (+)-catéchine, l'épicatéchine, la rutine et l'acide *p*-hydroxybenzoïque [Charrouf 2002, Chernane 1999]. En plus de ces derniers, [Charrouf *et al.* 2007] ont pu identifier 14 autres dérivés phénoliques, mais l'acide *p*-hydroxybenzoïque n'a pas été identifié (tableau 5).

La teneur en flavonoïdes de la pulpe de fruits varie selon le degré de maturité et en fonction des critères plus complexes, génotypiques semble-t-il, dont l'impact se refléterait également dans la forme du fruit [Tahrouch 1998 ; Chernane 1999, Chernane 2000].

Tableau 5 : Dérivés phénoliques de la pulpe du fruit d'arganier

Dérivés simples de l'acide phénolique	- Acide gallique - Acide protocatechique
Flavonoid O-rhamnoglucosides	- Quercetin-3-O-rutinoside (rutine) - Rhamnetin-O-rutinoside -Apigenin-7-O-rutinoside (isorhoifoline) -Hesperetin-7-O-rutinoside (hesperidine)
Flavonoides glycosidés	-Quercetin-3-O-galactoside(hyperoside) -Quercetin-3-O-glucoside (isoquercetine) - Naringenin-7-O-glucoside - Quercetin-3-O-arabinose,11
Autres composés phénoliques	- Catechine - Epicatechine - Procyanidine - Quercetine - Luteoline - Naringenine - Procyanidine

Parmi les substances volatiles de la pulpe des fruits de l'arganier [Tahrouch 1998], le résorcinol a été identifié comme composé majoritaire (73,5 %).

Saponosides

La pulpe des fruits de l'arganier est pauvre en saponines, dont la concentration n'est que de 0,02 %. Ce mélange de saponines est assez complexe. Seules deux ont été isolées et identifiées : la Mi-saponine A et l'Arganine K (un nouveau saponoside). Ils sont de nature bidesmosidique. La génine de l'arganine K, isolée par [Alaoui 2001], est l'acide 16 α hydroxyprotobassique aussi rencontré dans les saponines du tourteau.

La fraction glycosidique de cette saponine est constituée d'un enchaînement glucose3-1glucose étherifiant la position 3 de la génine et du tétrasaccharide arabinose2-1rhamnose4-1xylose3-1rhamnose, estérifiant la position 28 de l'acide 16 α -hydroxyprotobassique (Figure 1).

Figure 1 : Arganine K

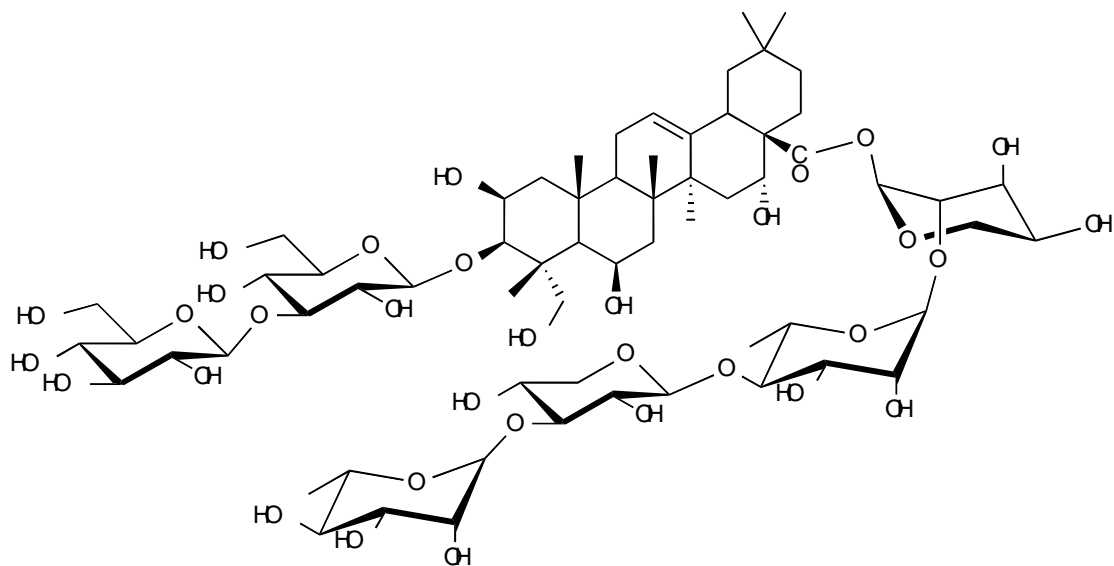
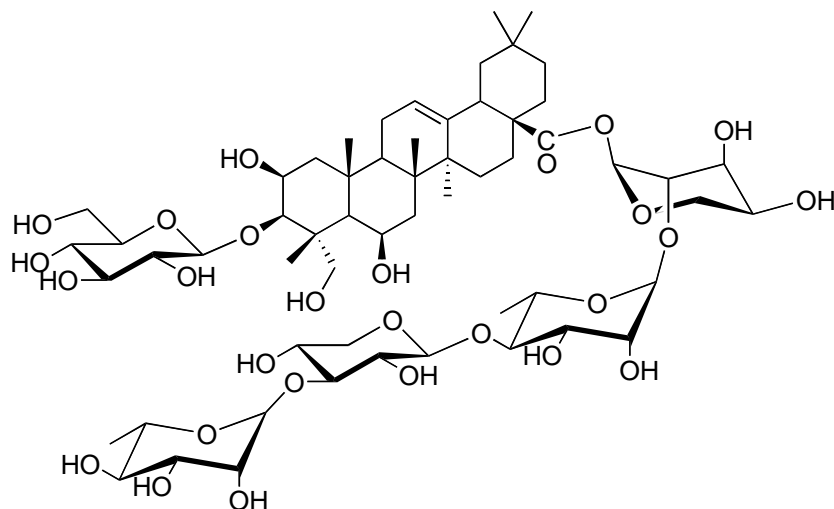
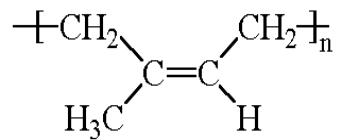


Figure 2 : Mi-saponine A



c) Le latex

Une goutte de latex apparaît lorsque la cuticule qui recouvre la pulpe elle-même est percée. Il est constitué de polyisoprène à 86% de forme cis (caoutchouc) et 14% de forme trans (gutta percha) [Battino 1929; Fellat Zarrouck 1987].



A-1.2 Composition de la graine

La graine du fruit de l'arganier est composée essentiellement de l'huile, de protéines, de fibres, de glucides et de métabolites secondaires.

A-1.2.1. Composition chimique de l'huile d'argan

Comme toutes les huiles, l'huile d'argan est constituée essentiellement de glycérides et d'une fraction insaponifiable. La fraction glycéridique est composée majoritairement de triglycérides. Leur structure chimique comporte un glycérol et trois acides gras. Pendant longtemps on pensait que seule la composition d'une huile en acides gras lui confère ses qualités nutritionnelles, ses particularités et sa texture, mais les recherches actuelles ont démontré que les constituants de l'insaponifiables jouent un rôle non négligeables en nutrition et préventions d'un certains nombre de maladie. Les deux principaux acides gras poly-insaturés (AGPI) rencontrés dans les huiles sont l'acide linoléique (18 C et deux doubles liaisons C=C) et l'acide alpha-linolénique (18 C et 3 doubles liaisons). L'acide gras mono-insaturé (AGMI) le plus courant est l'acide oléique (18 C et une double liaison).

a) Fraction glycéridique

C'est la fraction la plus étudiée pour ce végétal. L'huile d'argan est nettement insaturée : les acides gras mono-et poly-insaturés représentent 80 % environ des acides gras totaux : l'acide oléique (C 18:1), représentant 45 % des acides gras, l'acide linoléique (C 18:2 n-6), dont la part est de 35 %, l'acide palmitique (C 16:0) avec 12 % environ et l'acide stéarique (C 18:0), à hauteur de 5 % environ [Farines 1984a ; Charrouf 1984]. Les teneurs des autres acides gras sont trouvées à l'état de traces. Sur la base de ces données, l'huile d'argan possède une composition en acides gras proche de celle de l'huile d'arachide ou de sésame, commercialisées en Europe occidentale.

b) Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable d'un corps gras correspond à l'ensemble de ses constituants qui, après hydrolyse basique (saponification à l'aide de la potasse alcoolique ou aqueuse), sont très peu solubles dans l'eau et solubles dans les graisses. Généralement l'insaponifiable des huiles contient des molécules de hauts poids moléculaires non volatiles et qui possèdent une solubilité faible dans les solvants aqueux.

Ces composés sont constitués majoritairement d'hydrocarbures, alcools aliphatiques, phytostérols, triterpènes et de tocophérols.

En ce qui concerne la composition de cette fraction insaponifiable, l'huile d'argan contient les molécules suivantes.

- Caroténoïdes et hydrocarbures

Parmi les caroténoïdes, on trouve des xanthophylles, mais il n'y a pas de bêta-carotènes [Collier et Le Maire 1974].

Les hydrocarbures en plus des carotènes représentent 37,5% de l'insaponifiable, le taux du squalène est à raison de 320 mg/100 g. Les hydrocarbures dans les huiles sont présents en quantité généralement inférieure à 0,2 %, l'exception est faite sur l'huile d'olive qui contient 0,5 % et constitué aussi et principalement de squalène [Charrouf et Guillaume 2008].

- Tocophérols

L'huile d'argan constitue une ressource de vitamine E non négligeable. L' α -tocophérol (7%) et le γ -tocophérol (85 %) sont responsables de la principale activité de la vitamine E. le β et le d- tocophérols sont en quantité faibles [Khallouki et al. 2003].

- Phytostérols et alcools triterpéniques

La fraction insaponifiable contient aussi 20 % de stérols, le schotténol et le spinastérol étant majoritaires, et 20% de méthylstérols et triterpéniques. Les structures identifiées dans l'huile d'argan sont :

- cinq alcools triterpéniques, c'est-à-dire le butyrospermol, le tirucallol et la β - amyryne (ces trois alcools triterpéniques étant les plus abondants), le lupéol et le 24-méthylèncycloartanol (dérivé du cycloartanol).
- quatre stérols dérivés du stigmastane, essentiellement du spinastérol et du schottenol (environ 88 % de cette fraction stérolique à eux deux), ainsi que du Δ^7 -avénastérol et du stigmasta-8,22-diène-3-beta-ol en proportion plus faibles.
- deux méthylstérols (citrostradiénol, cycloeucaalénol). Contrairement à la composition en acides gras, la composition en phytostérols est différente de celle des huiles d'arachides ou de sésame. Il relève également les points suivants : Les quatre dérivés du stigmastane (essentiellement des Δ^7 stérols) sont des phytostérols inhabituels dans les huiles végétales.

Cependant, quelques uns sont présents dans certains autres végétaux (spinastérol dans les feuilles d'épinard, avénastérol dans l'avoine). Les cinq alcools triterpéniques sont de distribution plus courante dans certains végétaux : le butyrospermol est présent dans le beurre de karité, le tirucallol est présent dans certains latex d'Euphorbiacées, le 24-méthylèncycloartanol est présent dans de nombreuses parties aériennes de plantes telles que les feuilles de salade, le lupéol est présent dans certaines plantes comme les fleurs de camomille romaine, la bêta-amyryne est présente dans certaines feuilles comme celle de la myrtille. En revanche, les deux 4-méthylstérols sont de distribution relativement rare.

- Composés phénoliques

La classe des phénols présents dans l'huile d'argan regroupe des composés phénoliques simples comme les acides vanillique, ferulique, syringique, p-hydroxybenzoïque et

protocatéchique. De même que le tyrosol, le resorcinol, le cathecol, la cathéchine, l'épicathéchine et la vanilline. Ces phénols simples sont présents en faible concentration dans l'huile alimentaire et presque nulle dans l'huile à usage cosmétique [Rojas et al. 2005].

A-1.2.2. Composition chimique du tourteau

Le tourteau, résidu de l'extraction de l'huile d'argane, est utilisé comme aliment pour bovins à l'engraissement. Il est riche en glucides et protéines et renferme un important groupe pharmacodynamique constitué de saponosides ainsi que des polyphénols.

La composition chimique du tourteau décrite par Battino en 1929 (26,3% d'humidité) et celle récente par notre équipe (8,6% d'humidité) sont données dans le tableau 6. Il ressort que le tourteau de l'arganier renferme une quantité importante de protéine, variant de 23 à 41% (Maallah et al 1995 ; Igmoullan 1999). La matière grasse (18 à 28%) dépend évidemment du type d'extraction de l'huile qui a été pratiqué. Les éléments minéraux sont donnés au tableau 7: Calcium, Sodium, Potassium et Magnésium

Tableau 6 : Composition du tourteau (% pondéral par rapport à la matière sèche)

	Cendres	Fibres ADF	Protéines brutes	Extrait éthéré	Extractible non azoté	Lipides	Autres glucides
[Charrouf 2009]	5,3	20,7	48,4	6,9	18,7	-	-
[Battino 1929]	4,54	22,2	31,0	-	23,7	23,7	11,3

Tableau 7 : Composition en éléments minéraux du tourteau [Charrouf 2009]

Ca g/kg	P g/kg	Na g/kg	K g/kg	Mg g/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Mn mg/kg
6,9	6,4	0,4	10,4	3,3	13,7	71,7	59,7

Les saponosides

La recherche des métabolites secondaires s'est principalement focalisée sur les saponosides, annoncés dès 1888 par Cotton puis par [Battino 1929].

L'extrait hydroalcoolique du tourteau représente 24 %, il est riche en saccharose et renferme 4 % de saponosides [Charrouf 1991].

La séparation du mélange des saponosides s'est achevée par HPLC et leur élucidation structurale par les méthodes chimiques et spectroscopiques. Ce sont des hétérosides bidesmosidiques ayant comme aglycone un triterpène de la famille β -12 oléane : l'acide protobassique ou acide 16- β -hydroxyprotobassique. Sept saponosides ont été isolées et identifiées dont cinq sont de nouvelles substances naturelles : Arganine A, B, C, D, E, F, la Mi-Saponin et Arganine C. Les deux dernières sont déjà décrites dans la littérature. Leur structure est représentée par le schéma ci-dessous (figure 3, tableau 8)

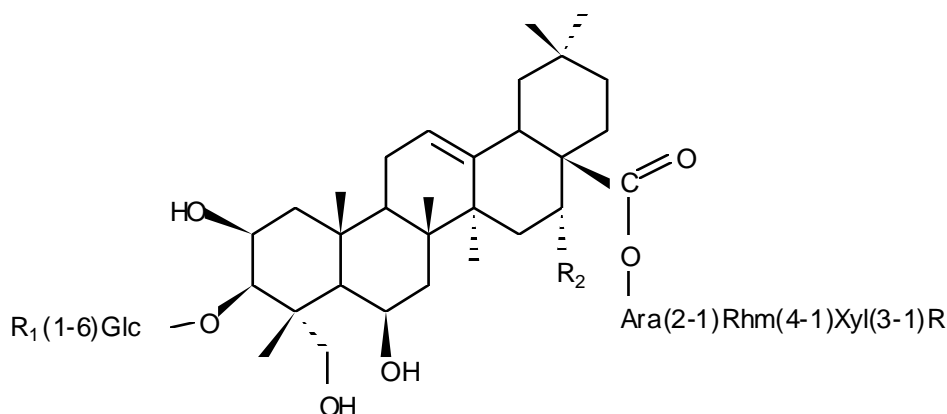


Figure 3 : Structure des saponines du tourteau de l'arganier

Tableau 8 : Arganines du tourteau d'argan

Nom	R1	R2	R3
Arganine A	Glc	OH	Rhm
Arganine B	Glc	OH	Api
Arganine C	H	OH	Rhm
Arganine D	Glc	H	Rhm
Arganine E	Glc	H	Api
Arganine F	H	H	Api
Mi-saponin A	H	H	Rhm

Glc : □-D-Glucopyranose

Xyl: □-D-xylopyranose

Rhm : □-L-Rhamnopyranose

Api : □-D-Apiofuranose

Ara: □L-Arabinopyranose

Les polyphénols

Le dosage des polyphénols dans le tourteau peut atteindre 500 mg/kg. Les aglycones obtenus après hydrolyse acide ont été analysés par GC/MS (Tableau 9 ; [Rojas et al 2005])

Tableau 9 : Les polyphénols du tourteau d'arganier

Composé phénolique	Concentration (mg/kg)
Catéchol	1.4
Résorcinol	1.3
Alcool 4-hydroxybenzylique	8.6
Vanilline	1.1
Tyrosol	6.2
Acide p-hydroxybenzoïque	14.1
Acide (4-hydroxyphénylacétique)Alcool	1.0
alcool vanillique	3.6
Alcool 3.4-dihydroxybenzylique	0.9
3.4-dihydroxybenzoate de méthyle	1.6
Acide vanillique	16.3
Hydroxytyrosol	0.9
Aide protocatéchiue	15.2
Acide syringique	6.6
Epicatéchine	110.1
Catéchine	11

A-1.3 Composition du bois

Le bois est utilisé pour le chauffage, son étude phytochimique [Oulad-Ali et al 1995 ; El Fakhar et al 2007] a révélé la présence de nouvelles saponines triterpéniques : Arganine G, H, J, L, O, P, Q et R (tableau 10, figure 4), des hétérosides de l'acide bayogénine.

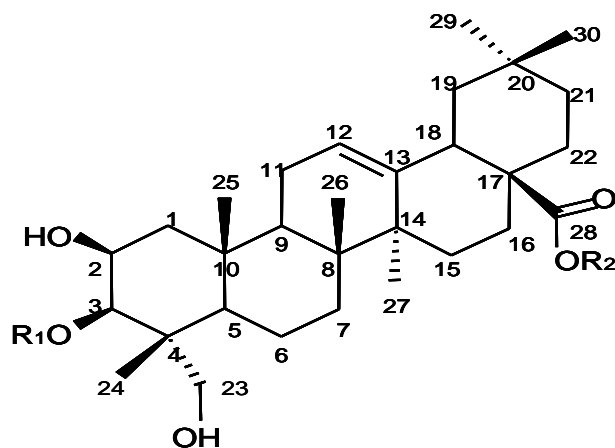


Figure 4 : Structure générale des saponines du bois de l'Arganier

Tableau 10 : Les saponines du bois d'arganier

Composé	Nom	R1	R2
1	Arganine G	Api-6Glc	Glc
2	Arganine H	Api-6Glc	Ara
3	Arganine J	Api-6Glc	Api-3Xyl-4Rha-2Ara
4	Arganine L	Xyl-4GlcA	Api-3Xyl-4Rha-2Ara
5	Arganine O	Xyl-4GlcA	Api-3Ara
6	Arganine P	Xyl-4GlcA	Ara
7	Arganine Q	Xyl-4GlcA	H
8	Arganine R	Api-4Glu	Xyl-4Rha-2Ara

A-1.4. Composition de la coque du fruit

La composition chimique de la coque s'est révélée riche en fibres ADF [Charrouf 2009]. L'extrait non azoté est assez important et renferme probablement plusieurs classes de métabolites secondaires comme les polyphénols et les saponosides (tableau 11). De la coque notre équipe a isolé 4 saponosides dont 2 (Arganines M et N) sont nouvelles [Alaoui et al 2002]. Les autres sont aussi présentes dans la pulpe du fruit (arganine K et Mi-saponine A). Ces saponosides ont la même aglycone que celle du tourteau et diffèrent uniquement par la partie osidique (figure 5).

Les éléments minéraux sont donnés au tableau 12.

Tableau 11 : Composition de la coque du fruit (% pondéral / matière sèche)

Matière organique	Fibres ADF	Protéines brutes	Extrait éthéré	Extractif non azoté
99.1	73.6	3.3	2.7	19.5

Tableau 12 : Composition en éléments minéraux de la coque du fruit

Ca g/kg	P g/kg	Na g/kg	K g/kg	Mg g/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Mn mg/kg	Fe mg/kg
0.9	0	0.6	4.5	0.2	1.7	6.1	7.8	143.3

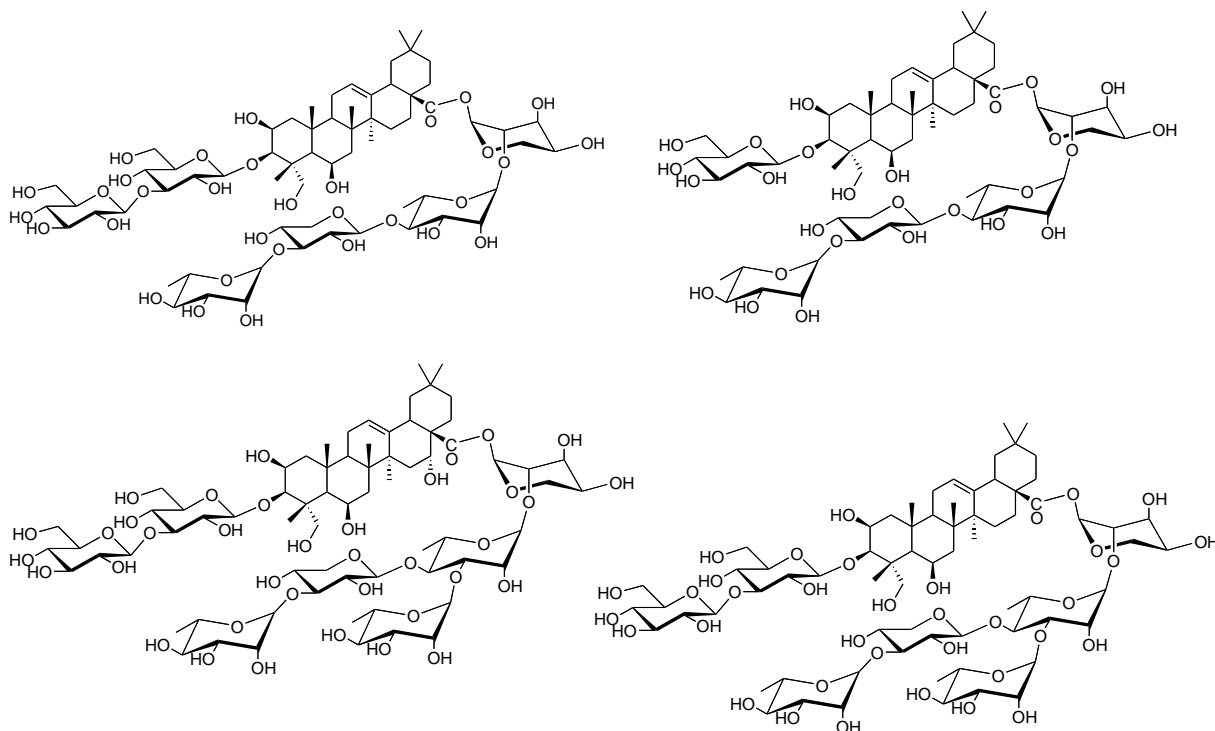


Figure 5 : Arganine K, Mi-saponin A, Arganine M, et Arganine N

A-1.5. Composition des feuilles

Les feuilles servent de pâturage suspendu pour les caprins. La composition chimique globale des feuilles est donnée au tableau 13. Le dosage des minéraux est regroupé dans le tableau 14.

Tableau 13 : Composition des feuilles (% pondéral / matière sèche)

Matière organique	Fibres ADF	Protéines brutes	Extrait éthéré	Extractible non azoté
92.2	19.1	17.4	5.5	50.3

Tableau 14 : Composition en éléments minéraux des feuilles

Ca g/kg	P g/kg	Na g/kg	K g/kg	Mg g/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Mn mg/kg	Fe mg/kg
23.9	2	3.2	11.9	2.9	7.6	19	19	173.7

L'extrait lipidique

L'extrait lipidique représente 4.4 % des feuilles. Sa composition en acide gras est donnée au tableau 15. Avec plus de 25% d'acides linoléique, ces lipides sont beaucoup plus insaturés que l'huile d'argan elle-même. L'extrait lipidique des feuilles renferme 27 % d'insaponifiable. Les triterpènes constituent la fraction majoritaire de ce dernier. Les monohydroxylés représentent 32% et les dihydroxylés 22% de l'insaponifiable. Les autres fractions sont constituées de stérols (5%), des méthylstérols (1%), des hydrocarbures et des tocophérols (16%). Les principaux composés isolés sont : alpha-Amyrine, beta-Amyrine, lupéol, taraxastérol, erythrodiol, spinastérol et scottérol [Chahboun 1993].

Tableau 15 : Composition en acides gras des lipides des feuilles

C14:0	C16 :0	C16 :1	C18 :0	C18 :1	C18 :2	C18 :3	C20 :4
2-3	16-17	5-7	4-5	17-19	22-25	26-27	0,7-1,4

Les Polyphénols

Les principaux flavonoids rencontrés dans les feuilles de l'arganier sont la Quercétine, la Myricitine et leurs glycosides (Quercétrine, la Myricitrine, l'Hyperoside, et la Myricitine-3-O-galactoside). Les glycosides de la Myricitine sont majoritaires et représentent 20 mg/g de matière sèche [Tharouch *et al.* 2000]. Ceux de la quercétine font 8mg/g de matière sèche. Les dérivés de ces aglycones représentent 16,5 % des flavonoids totaux et donc 2,8% de la matière sèche.

L'analyse du profil flavonoidiques d'une centaine d'échantillons de l'Arganeraie a montré que tous ses échantillons renferment des glycosides de la myricitine et de la quercétine a des teneurs variables [Tharouch *et al.* 2000].

L'extrait flavonoidique des feuilles présente une activité anti-radicalaire et anti-oxydante très intéressante. Il est actuellement commercialisé comme actif cosmétique protecteur des macromolécules extra cellulaire de la peau comme le collagène, les glycoprotéines etc. De plus l'activité d'inhibition des protéases de cet extrait permet de proposer un actif à protection globale intéressante contre les effets de vieillissement cutané induits par l'irradiation UV [Stussi *et al.* 2005].

L'huile essentielle

L'huile essentielle représente 0.03 à 0.05 % des feuilles sèches. Parmi les 33 constituants trouvés, 26 composés ont été identifiés par leur temps de rétention et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [El Kabouss *et al.* 2002].

Le tableau 16 montre que les sesquiterpènes oxygénés représentent une fraction importante de l'huile essentielle des feuilles de l'arganier et le 1,10-di-épi-cubérol (20.5%) est le composé majoritaire. D'autres alcools sesquiterpéniques ont été également identifiés, le viridiflorol (6.0%), τ -cadinol (1.7%), α -cadinol (1.5%), 1-épi-cubérol (1.2%) et lcamphre (1.3%). Les hydrocarbures sesquiterpènes constituent une fraction appréciable, le sélina-3,7(11)-diène (5.1%), le δ -cadinène (2.3%) et germacrène B (1.1%) sont particulièrement abondants.

Des trois monoterpènes existant, deux d'entre eux ont été identifiés comme le camphre (2.6%) et l'acétate de bornyle (1.8%).

Tableau 16 : Composition Chimique de l'huile essentielle des feuilles

Composés	Indices de Rétention DB-5	Indices de Rétention Supelcowax 10	Pourcentage ¹
Camphore	1149	1486	2.6
acétate de bornyle	1293	1554	(1.8)
N.I 1	1332	1662	1.9
Cis-muuro-la-4(14),5-diène	1466	1643	0.7
germacrène D	1485	1682	1.0
β-sélinène	1491	1691	1.0
épi-cubébol	1500	1863	(0.5)
α-muuro-lène	1509	1700	(0.3)
δ-cadinène	1529	1733	(2.3)
Cis-calaménène	1529	1797	(1.1)
N.I 2	1539	-	1.0
N.I 3	1542	-	1.3
sélin-3,7(11)-diène	1545	1750	(5.1)
α-calacorène	1545	1915	(0.6)
germacrène B	1559	1791	1.1
N.I 4	1565	2055	1.1
oxide de caryophyllène	1581	1980	(0.7)
Globulol	1581	2044	(0.3)
Viridiflorol	1595	2049	6.0
N.I 5	1602	-	2.4
1,10-di-épi-cubébol	1615	2022	20.5
1-épi-cubébol	1629	2028	1.2
τ-cadinol	1644	2139	(1.7)
τ-muuro-lol	1644	2154	(1.0)
Cubébol	1644	2142	0.6 ²
α-muuro-lol	1649	-	0.6
β-eudesmol	1653	2188	0.7
α-cadinol	1658	2194	1.5
Cadalène	1680	2188	1.2
cis-14-muuro-l-5-ène-4-one	1689	2234	1.7
juniper camphore	1700	-	1.3
N.I 6	1715	-	1.1
N.I 7	1850	2466	10.1

Les composés volatiles

Ils représentent 98 mg/g des feuilles sèches : nonane, acide 3-methylbutyrique, octan-3-one, decane, methylbenzoate, undecane, pulegone undecan-2-one, tridecane, *p*-hydroxyphenylethanol, pentadecane, heptadecane, hexahydrofarnesyl acetone, 14-methylidene-2,6,10-trimethylhexadecene, octanol, (*Z*)- and (*E*)-2,6,10-trimethyl hexadeca-1,3-diene, and phytol. Le 14-methylidene-2,6,10-trimethylhexadecene est majoritaire (51%) suivi du (*Z*)- et (*E*)-2,6,10-trimethyl hexadeca-1,3-diene (12 et 17% respectivement). L'acide palmitique est présent en concentration variable [Tahrouch et al. 2000].

Les Saponosides

Une étude par couplage LC/ESI-MS a permis d'identifier les Arganine A, B, C, D, E et la Mi-saponine A parmi les saponosides des feuilles de l'arganier [El Kabouss 2002].

A-1.6 Conclusion de l'étude bibliographique

Le tableau 17 récapitule l'ensemble des composés identifiés dans les 21 références bibliographiques répertoriées traitant de la composition chimique du fruit de l'arganier, ainsi que les propriétés de ces composés connues par ailleurs.

Il y a une différence importante entre le niveau de connaissances disponibles pour chacune des parties composant le fruit. En effet la composition chimique de la graine est décrite par plusieurs auteurs. Elle est composée à plus que 50 % de matière grasse, l'huile d'argan, de type oléique-linoléique et riche en antioxydants naturels. Le résidu d'extraction ou tourteau est constitué d'environ 50 % de protéines et renferme des métabolites secondaires d'un grand intérêt (cosmétique, nutraceutique).

Par contre, ces connaissances sont disparates pour le péricarpe ou pulpe et l'endocarpe (coque). On sait tout de même que la pulpe, qui représente qui 50 % du fruit frais, est constituée de près de 5 % de matière grasse et de 10 % de protéines et le taux d'insaponifiable dans la matière grasse de la pulpe est très élevé (40 %). La pulpe est également riche en polyphénols et en saponosides et renferme un latex dont la structure est comparable à celle de la gutta percha. La coque, très peu étudiée, représente plus de 40 % du fruit et sert essentiellement à des fins énergétiques. La présence de polyphénols et saponosides avait été signalée par FS-UMV.

La bibliographie montre donc un déficit global de connaissances du point de vue chimique et surtout du point de vue des activités biologiques et des procédés, les procédés traditionnels ayant été améliorés par différents acteurs, sans pour autant avoir fait l'objet d'une approche formalisée en tant qu'objet de recherche. De plus il est pour l'instant impossible de faire le lien entre phénotype, terroir, propriétés technologiques et composition des produits.

Cette situation contraste avec l'engouement actuel pour l'huile d'argan à l'extérieur du Maroc. Si certains composés sont retrouvés dans la pulpe et dans la graine, notamment pour les triglycérides et certains métabolites secondaires, il existe tout de même des différences notables entre et l'amendon et la pulpe qui justifient pleinement l'étude de cette dernière proposée a priori. On voit en effet que les métabolites secondaires, bien que composants minoritaires, sont susceptibles d'apporter des propriétés recherchées, notamment dans le domaine pharmacologique. Ces propriétés, étudiées sur d'autres plantes, se situent par exemple dans le domaine anticancéreux, anti-inflammatoire, antiviral, anti-oxydant etc.

Il ne fait donc pas de doute que l'arganier présente un intérêt potentiel en tant que source de composés naturels susceptibles de trouver des applications pérennes, à commencer par l'huile d'argan elle-même. Mais ces applications et donc les marchés se stabiliseront ou s'ouvriront, suivant le cas considéré, à la condition de répondre à la demande en termes de qualité des produits, laquelle doit être appréciée en fonction de critères objectifs (attributs de qualité), eux-mêmes fonction des procédés et des conditions d'obtention (déterminants de la qualité).

Tableau 17 : Composants de la pulpe et de l'huile d'argan
(Pingret de Sousa 2008). Références bibliographiques du tableau en annexe)

Components	Concentration (%)		Properties
	Pulp	Oil	
Cellulose	30,0 ⁷	-	
Glucids	20,0 ⁷	-	
Lipids			
C14:0	Myristic acid	< 0,1 ¹⁰⁵	Antiviral ^{7,18} , Anti-trypanosoma ¹⁹ , Antiatherogenic ²⁰
C15:0	Pentadecanoic acid	4,3 ⁷	
C16:0	Palmitic acid	0,8 ⁷	<0,1 ¹⁰⁶
C17:0	Margaric acid	18,4 ⁷	14,0 ⁴
C18:0	Stearic acid	0,6 ⁷	traces ¹⁰⁶
C19:0	Tuberculoheptanoic acid	6,3 ⁷	5,0 ⁴
C20:0	Arachidic acid	0,5 ⁷	inhibits thrombosis ²¹
C16:1	Palmitoleic acid	1,3 ⁷	0,5 ¹⁰⁵
C18:1	Oleic acid	42,0 ⁷	12,5 ¹⁰⁵
C18:2	Linoleic acid	18,8 ⁷	45,0 ⁴
C18:3	Linolenic acid	4,6 ⁷	35,0 ⁴
C20:1	Gadoleic acid	1,0 ⁷	0,25 ⁷
Latex			0,1 ¹⁰⁵
Cis-polyisoprene		86,0 ⁷	-
Trans-polyisoprene		14,0 ⁷	-
Unsaponifiables			
Triterpens			
Erythrodiole	x		Anti-inflammatory ²⁵ , Antihypertensive ³² , Antioxidant ^{25,33}
Lupeol	x	7,1 ⁴	Anti-inflammatory ^{38,39} , Antiarthritic ^{40,41} , Anticarcinogenic ^{34,35,37} , Antimutagenic ⁴² , Disinfectant ¹⁰⁴
α-amyrin	x		Antispasmodic, anticholinergic, anti-inflammatory, analgesic ^{43,38}
β-amyrin	x	27,3 ⁴	Antispasmodic, anticholinergic, anti-inflammatory, analgesic ⁴³
Taraxasterol	x		Anti-inflammatory ^{38,45} , Antitumoral ⁴⁴
ψ-taraxasterol	x		Anti-inflammatory ^{38,45} , Antitumoral ⁴⁴
Tirucallole	-	27,9 ⁴	
Butyrospermol	-	18,1 ⁴	
24-methylenecycloartanol	-	4,5 ⁴	
Citrostadienol	-	3,9 ⁴	
Cycloeucaenol	-	1,6 ⁷	
Betulinaldehyde	x		Antiviral, anti-inflammatory, easily transformed in betulinic acid (anti-inflammatory, antimalarial, Antiviral, anti-inflammatory, easily transformed in betulinic acid (anti-inflammatory, antimalarial, antimalarial, ... ^{107,43,26,46}
Betuline	x	5,0 ⁴	
α-tocopherol			
β-tocopherol	x	83,0 ⁴	
γ-tocopherol		12,0 ⁴	
δ-tocopherol			
β-caroten		50,0 ⁷	
Carotenoids			
schottenol	x	48,0 ⁷	Anticarcinogenic and cytotoxic ⁵⁸
spinasterol	x	44,0 ⁷	Anticarcinogenic ⁵⁶ , Inhibition of cholesterol absorption ⁵⁷
Δ ⁷ -avenasterol	x	4,0 ⁷	inhibition of 5α-reductase ²²
stigmata-8-22-dien-3-ol	x	4,0 ⁷	

Tableau 17 (suite) Composants de la pulpe et de l'huile d'argan.

Components	Concentration (%)		Properties
	Pulp	Oil	
Phenolic Compounds	Phenolic acid simple derivatives		
	Galic acid	5,0 ⁶⁸	Action in obesity ⁷¹ , Antioxidant ⁷¹ , Antimutagenic ⁷¹ , Anticarcinogenic ⁷¹
	Protocatechuic acid	21,8 ⁶⁸	Anticarcinogenic ⁷⁸⁻⁸¹ , Antimicrobial ⁷⁶ , Chemopreventive ⁷⁸ , Hepatoprotective ⁷⁷
	Caffeic acid	-	
	Oleuropein	-	
O-Glycosidic flavonoids	Vanilic acid	-	
	Ferulic acid	-	
	Tyrosol	-	
	Syringic acid	-	
	Rutin	0,1 ⁶⁸	Possible effect antiatherogenic ⁷⁵ , Cardio protective ⁶⁶ , Antioxidant ³⁵ , Anti-allergic ³⁵ , Anti-
Glycosidic flavonoids	Ramnetin-7-O-rutinoside	0,5 ⁶⁸	
	Isorhoifoline	7,2 ⁶⁸	
	Hesperidin	4,5 ⁶⁸	Hypoglycemic effect ³⁵ , Possible antiatherogenic ⁷⁵ , Anti-inflammatory ^{73, 74} , Anticarcinogenic ^{73, 74} , Antioxydant ¹⁰³
	Hyperoside	13,4 ⁶⁸	
	Isoquercitrin	10,0 ⁶⁸	
Others	Quercetin-3-O-arabinose	15,3 ⁶⁸	
	Naringenin-7-O-glucoside		
	Catechin	2,8 ⁶⁸	Antioxidant ³⁵ , Anti-allergic ³⁵ , Anti-inflammatory ³⁵ , Neuroprotective ³⁵
	Epicatechin	14,7 ⁶⁸	Apoptosis induction ⁶⁹ , Antitumoral ⁷⁰
	Procyanidin	2,7 ⁶⁸	
Volatil Compounds	Myricetin	-	
	Quercetin	1,6 ⁶⁸	Antioxidant ^{35, 66} , Anti-allergic ³⁵ , Anti-inflammatory ³⁵ , Neuroprotective ^{72, 35} , Cardio protective ⁶⁶ , Inhibits Antioxidant ⁷¹
	P-hydroxybenzoic acid	X	
	Naringenin	0,07 ⁶⁸	
	Luteolin	0,2 ⁶⁸	Anticarcinogenic ⁸⁰
	(Z)-but-Z-enol	X	
	(E)-but-Z-enol	X	
	N-octane	X	
	3-methyl butiric acid	X	
	Resorcinol	73,5 ²	
Decane	X		
Saponins	14-methylidene-2,6,10-trimethylhexadecene	X	Monooxygenase synthesis inducer, Methemoglobinizer, Hematotoxic ^{65, 93, 94}
	Arganin K	X	
	Arganin C		

x: Present in unknown concentration

- : Not present

A-2 COLLECTE DE FRUITS TYPES/ IAV-AGADIR - MISE AU POINT METHODOLOGIQUE.

Le fruit est une baie (fausse drupe) sessile de différentes formes (Figure 6) : ronde, ovale, apiculée, fusiforme ou intermédiaire (croisement entre les précédentes formes). La baie est composée d'amendons (1 à 3) séparés par un cartilage ligneux : le pseudo-endocarpe, et recouverts d'un péricarpe charnu. Ce dernier contient de nombreux canaux laticifères produisant un latex collant blanc. Le fruit peut être à maturité de couleur verte, jaune, rouge, ou de couleur intermédiaire, voire jaune veiné de rouge. Ces fruits sont portés par des arbres eux-mêmes de forme variable, à port érigé ou retombant, avec des piquants ou inermes.

La collecte a été effectuée selon deux protocoles, l'un portant sur des fruits de maturité homogène et de même origine, contraignant, fait l'objet de la présente partie (A-2) [Buland 2008]; l'autre, intégrant l'aspect terroir, donc hors du centre de recherche d'Agadir, a dû être adapté (cf partie A-3).

La nécessité de prélever les fruits quotidiennement sous chaque arbre, au fur et à mesure de leur chute, supposés dans un état de maturité semblable d'un jour à l'autre, oblige en effet à opérer dans une zone fermée au pâturage. Ces conditions sont rassemblées dans le périmètre du Conservatoire de l'arganier de la station d'Agadir de l'IAV qui a donc été choisie comme site de collecte en 2008.

Si une grande variété de sujets présentant des différences phénotypiques importantes a été rassemblée par les chercheurs, il a été décidé de tenir compte seulement de la différence de forme du fruit, afin de ne pas multiplier le nombre d'échantillons à prélever ; de plus il n'aurait pas été possible en pratique de collecter une quantité suffisante pour chaque phénotype au sein du Conservatoire.

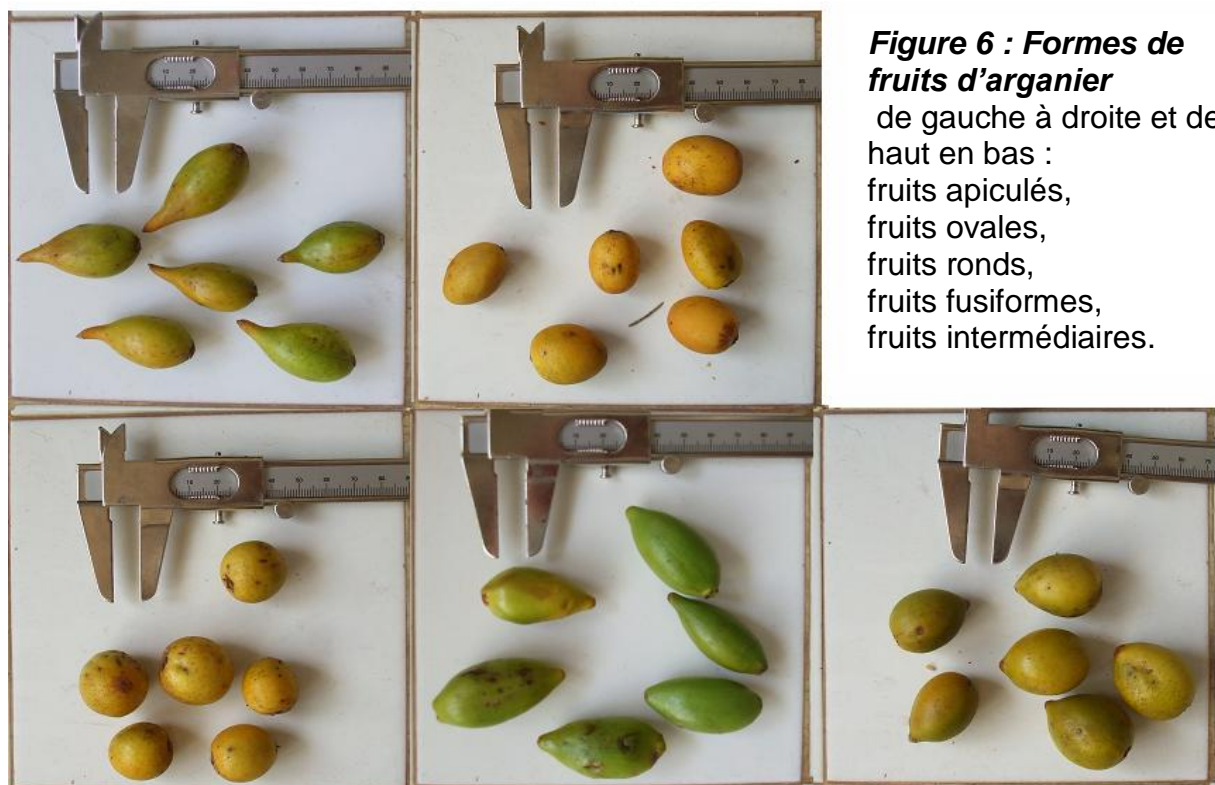


Figure 6 : Formes de fruits d'arganier
de gauche à droite et de haut en bas :
fruits apiculés,
fruits ovales,
fruits ronds,
fruits fusiformes,
fruits intermédiaires.

A-2.1 Préparation de la collecte d'échantillons

Durant la première année de l'étude, malgré la date tardive de début effectif du programme de travail (avril 2007), plusieurs essais de collecte et de transport d'échantillons ont été faits. La majorité des fruits n'était pas dans un état de conservation suffisant pour les qualifier de « fruits frais », déjà du fait du mode de collecte (par le biais de coopératives), mais aussi du transport. Seuls sont reportés ici les résultats issus de la collecte de la deuxième saison (2008) [Buland 2008].

Les quantités minimales nécessaires, avec une marge de sécurité pour chaque analyse ou essai prévu ont été estimées (tableau 18).

Un protocole d'échantillonnage a été établi (tableau 19) en collaboration avec les chercheurs de l'IAV-Agadir, tenant compte des contraintes de terrain, des différents lots à constituer pour la réalisation de l'ensemble des essais prévus.

Les arbres choisis pour constituer chaque lot ont été répertoriés en fonction de leur aspect et de celui de leurs fruits. Les conditions détaillées de préparation des arbres et de réalisation de la collecte sont données en annexe. En résumé, la réalité du terrain a demandé des adaptations importantes des objectifs afin de pouvoir mener à bien l'échantillonnage des fruits, notamment l'absence de pâturage ayant pour corollaire la présence de nombreux rejets et autres buissons couvrant le sol sous les frondaisons. Avant installation des films en plastique sous les arbres évitant le contact des fruits avec le sol, il a donc fallu réaliser un travail de nettoyage du sol consommateur de temps et de main d'œuvre, avec l'aide d'étudiants de l'IAV.

Tableau 18 : Prévion des quantités nécessaires par lots pour réaliser les analyses

Fruits Frais déulpés séchés	Latex 125g	Humidité 2g	M minéral 2g	M grasse 10g	D. E minéraux	Stérol /ocophérol 2g	Protéine et A	Glucides 4g	Sucre totaux	Cellulose 1g	Lignocellulose	Acidité 1g	Indice de	UV 0,25g	Acide gras 0,1g	Masse échantillon Nécéssaire Au minimum
Pulpe+ Tegument (séche seule) Huile de Pulpe	X	X	X	X	X	x	X	X	X	X	X	X	x	X	x	150gpulpe 25g huile 1200pulpe
Coque		X	X		X		X			X	X					39g
Amandes		X		X	X											27+90
Huile						X						X	X	X	X	25g huile
Tourteaux			X		X		X	X	X	X	X					40g tourteaux

Tableau 19 : Prévision des lots de fruits à collecter à l'IAV-Agadir (2008)

	Groupes d'échantillons à collecter	types d'échantillon
semaine 1	groupe 1	fruits secs (séchage traditionnel)
	pour analyses 5kg/lot	fruits congelés
semaine 2	groupe 2	fruits secs
	pour analyses 5kg/lot	fruits semi-secs
		fruits congelés
	groupe 3	fruits secs
pour essais technologiques 20kg/lot	fruits semi-secs	
semaine 3	groupe 1	fruits secs (séchage rapide)
	pour analyses 5kg/lot	fruits frais
	groupe 3	fruits frais
	pour essais technologiques 20kg/lot	
	groupe 4 (zone de pâturage)	fruits frais sur bâche
	pour essais microbiologiques 0,5kg/lot	fruits frais sans bâche
groupe 2	fruits frais sur bâche	
pour essais microbiologiques 0,5kg/lot	fruits frais sans bâche	

A-2.2. Collecte des échantillons

a) Echantillons ciblés

Les échantillons -fruits et pulpe destinés au Cirad ; graines destinés à FS-UMV- ont été divisés en quatre groupes :

Essais technologiques (essais de dépulpage mécanique)

- Echantillon de fruits entiers secs (forme intermédiaire) : 10kg
- Echantillon de fruits entiers semi-secs (forme intermédiaire) : 10kg
- Echantillon de fruits entiers frais (forme intermédiaire) : 10kg

Lors du séchage, les fruits ont été considérés comme secs quand la perte de masse, provoquée par le séchage, fut stabilisée pendant au moins trois jours de suite.

Pour le semi-séchage, les fruits ont été considérés comme semi-secs quand la perte de masse, provoquée par le séchage, fut égale à la moitié de la masse perdue lors du séchage complet.

Etude en fonction de la maturité (évolution de la composition de la pulpe)

- Echantillon de pulpe issue de fruits sphériques mûrs : 5kg
- Echantillon de pulpe issue de fruits sphériques presque mûrs : 5kg
- Echantillon de pulpe issue de fruits sphériques presque verts : 5kg
- Echantillon de pulpe issue de fruits sphériques verts : 5kg

Cet essai a été réalisé sur des arbres portant des fruits de la forme la plus courante.

Essais sur formes (comparaison de la composition selon la forme du fruit)

- Echantillon de pulpe de fruits fusiformes sèche : 5kg
- Echantillon de pulpe de fruits fusiformes congelée : 5kg
- Echantillon de pulpe de fruits fusiformes fraîche : 5kg
- Echantillon de pulpe de fruits apiculés congelée : 5kg
- Echantillon de pulpe de fruits ronds congelée : 5kg

Essais bactériologiques

- Echantillon de 20 fruits mûrs cueillis dans un lieu de pâturage
- Echantillon de 20 fruits mûrs cueillis dans un lieu abrité du pâturage
- Echantillon de 20 fruits mûrs ramassés au sol dans un lieu de pâturage
- Echantillon de 20 fruits mûrs ramassés au sol dans un lieu abrité du pâturage

b) Sélection des arbres

Les arbres sélectionnés ont été repérés sur une photo satellite du centre (annexe), préparés (taille des branches très basses, débroussaillage du sol, pose du film), décrits et identifiés par la pose d'une étiquette portant un numéro.

c) Récolte quotidienne

A cause du caractère sessile, il a été décidé de récolter les fruits tombés au sol chaque jour afin d'obtenir une relative homogénéité de l'échantillon du point de vue maturité du fruit pour chaque arbre. Toutefois d'autres paramètres, tel que le vent, peuvent faire chuter précocement les fruits. Afin de faciliter cette récolte et de limiter l'attaque par les insectes rampants, les fruits sont récupérés sur des bâches fixes, tous les matins pour obtenir les fruits les plus frais possibles, la chaleur et le vent durant la journée pouvant rapidement assécher les fruits au sol en mai-juin.

La masse de fruits collectés et le cas échéant celle de pulpe et de noix ou graines dérivées a été mesurée pour chaque arbre tous les jours.

A-2.3 Préparation et transport des échantillons

a) Dépulpage

Pour la préparation de ces échantillons destinés à des analyses, le dépulpage a été fait en laboratoire à l'aide de couteaux en inox en évitant de malaxer et d'écraser la pulpe (Figure 7). Cette étape prend beaucoup de temps puisqu'il faut compter en moyenne cinquante secondes pour dépulper un fruit. Elle a été effectuée par le stagiaire responsable (FN Buland), avec la contribution d'un agent technique de l'IAV et d'un autre stagiaire (Badr Eddine Kartah), ce dernier étant plus particulièrement responsable de la préparation des noyaux issus du dépulpage destinés à FS-UMV.

Figure 7 : Dépulpage

Photo 1 : Calibrage et dépulpage de fruits

Photo 2 : Poste de dépulpage manuel



b) Séchage

Un séchage destiné à stabiliser les fruits, a été réalisé à l'aide d'un tunnel fabriqué sur place.

Il s'agissait d'une longue table recouverte de film plastique, portant des arcs métalliques couverts de film plastique noir. A une extrémité a été placé un ventilateur électrique, l'autre extrémité portant une ouverture pour évacuer l'air soufflé (Figure 8). Les fruits sont placés sur des plateaux constitués de tasseaux de bois et d'un grillage en plastique type « moustiquaire » disposés dans le tunnel. Le tunnel a été placé au soleil afin d'obtenir une température interne proche de 30°C dans la journée. Les fruits étaient pesés tous les jours pour suivre l'évolution du séchage (Figure 8).

c) Transport

Les fruits et les pulpes ont ensuite été envoyés au Cirad (en France) via une société de transport international (DHL). Les fruits secs et semi-secs étaient stockés dans des sacs plastiques dans une caisse, les frais et les pulpes dans des glacières avec un pain de glace. Les pulpes étaient conditionnées dans des boîtes hermétiques, qui comme les glacières et la caisse, étaient fermées par du ruban adhésif pour limiter le risque d'ouverture du couvercle. Le coli était accompagné de deux lettres, une d'un responsable du Cirad et l'autre d'un responsable de l'IAV, attestant que les fruits ont été collectés dans le but de réaliser en France des analyses et non à des fins commerciales (cf. annexe). Nous avons aussi joint un certificat Phytosanitaire obtenu à la Direction du Contrôle et de la Qualité aux Postes Frontières de la Wilaya d'Agadir, Service de la Protection des Végétaux, du Contrôle des Semences et des Plants.

Les fruits ont alors voyagé de nuit (pour éviter la forte chaleur) en camion vers Casablanca puis en avion vers Marseille où malgré les précautions prises, ils ont été retenus en douane. Cela est dû au fait qu'il faut un DI (Demande d'Importation), les fruits entiers contenant des graines, formulaire pourtant non signalé par les correspondants à Casablanca et Marseille. Du fait, les fruits sont restés bloqués pendant deux semaines (transporteur international puis transitaire) dont la deuxième en milieu réfrigéré, le temps d'obtenir le DI, avant d'être acheminés au CIRAD en camion réfrigéré par l'entreprise transitaire GéodisWilson. A la réception les fruits avaient exsudé un peu de liquide de couleur jaune orangée, récupéré et pesé afin de tenir compte lors du calcul de la teneur en eau et matière volatile ultérieurement.

Figure 8 : Dispositif mis en place pour le séchage à l'IAV-Agadir

Photo 1 Vue interne du tunnel



Photo 2 Tunnel en place

Photo 3 Pesée quotidienne



A-2.4. Résultats de la collecte à l'IAV-Agadir

a) Evolution quotidienne de la collecte

A partir du troisième jour, les fruits ont été collectés tous les matins, pesés et comptés. Deux allures de courbes ont été observées pour la variation des masses et quantités de fruits collectés, sachant que pour un même arbre, ces deux courbes ont la même allure.

Le premier type correspond à une production à peu près continue et décroissante. Il est souvent associé à des arbres en fin de production pour l'année, comme dans le cas de l'arbre 01 (figure 10). La deuxième allure correspond à une production comportant des pics certains jours. Ces pics font suite généralement à des jours avec très peu de vent et de forte chaleur, ou inversement, correspondent à des jours de grand vent. On trouve ce type de courbe pour les arbres en début ou en milieu de production.

On voit sur la figure 10 que la variation au sein de l'échantillon journalier, pour l'arbre 02 pris en exemple, reste faible.

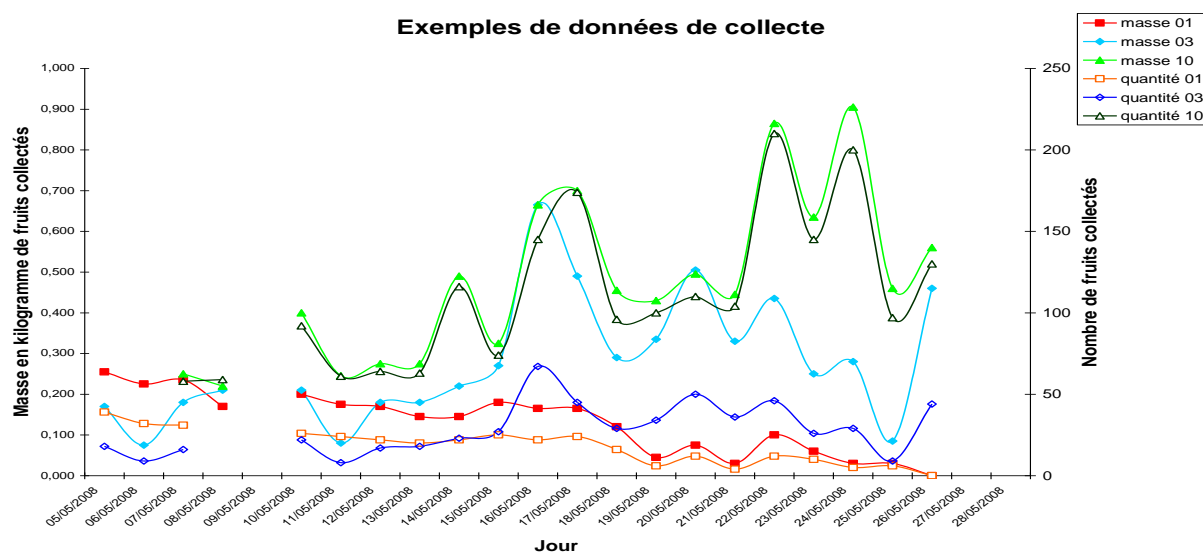


Figure 9 : Masse et nombre de fruits récoltés par arbre et par jour (arbres 01 ; 03 ; 10)

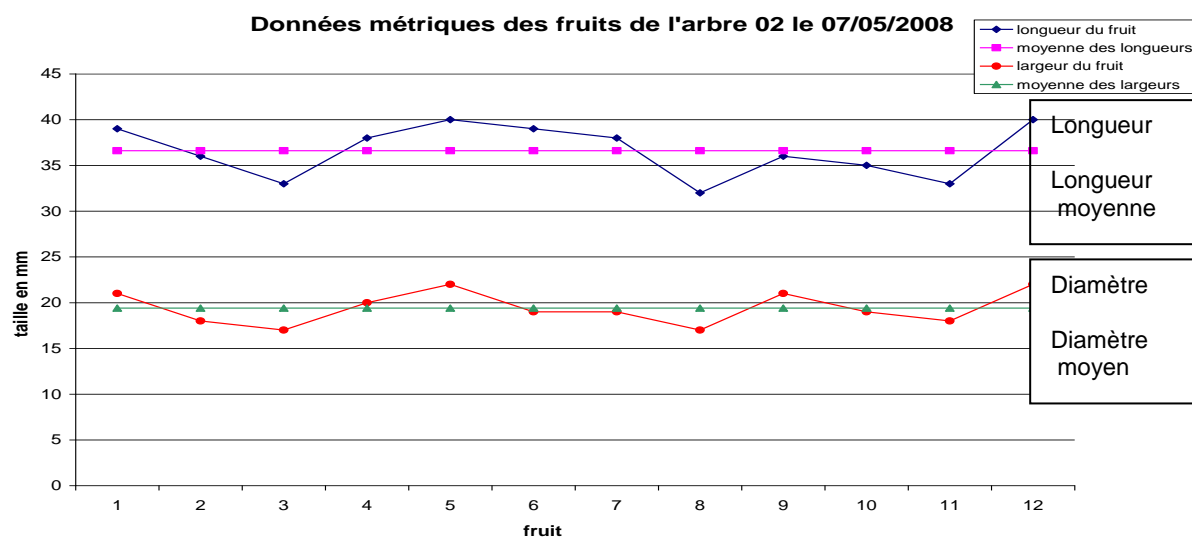


Figure 10 : Données métriques des fruits collectés sous l'arbre 02 le 07/05/2008.

Tableau 20 : Données métriques moyennes pour l'ensemble des arbres collectés

Forme du fruit	Numéro d'arbre	Moyenne par arbre					Moyenne et écart-type par forme de fruit	
		Longueur moyenne	Largeur moyenne	Rapport Long. / Largeur	Ecart type longueur	Ecart type largeur	longueur	largeur
Rond	A04 mûr	23,7	22,4	1,06	1,6	1,5	1,6	1,7
	A04 vert	21,0	17,5	1,20	1,6	1,9		
Apiculé	A13	42,3	19,7	2,15	2,9	1,3	2,9	1,3
Fusiforme	A08	37,4	15,8	2,37	2,3	1,2	3,6	1,8
	A12	42,9	20,4	2,11	4,6	2,5		
	A14	43,2	21,3	2,03	3,8	1,7		
Ovale	A06	35,0	23,9	1,46	2,2	1,4	1,9	1,3
	A07	26,4	23,8	1,11	1,6	1,2		
Intermédiaire	A01	32,0	20,1	1,59	2,2	1,6	2,2	1,8
	A02	36,2	19,3	1,88	2,7	1,5		
	A03	32,0	23,7	1,35	1,8	2,1		
	A05	29,6	22,6	1,31	2,3	2,1		
	A10	25,0	18,4	1,36	2,2	1,5		
	A11	30,8	21,3	1,45	1,8	1,7		

Les données biométriques moyennes relatives aux différents arbres collectés sont rassemblées dans le tableau 20.

Conformément à l'approche de nos prédécesseurs [Chernane et al. 2000 ; Zahidi 2004 ; Maallah 1992] les fruits ont été caractérisés par le rapport longueur / largeur. Il apparaît que la forme ronde (sphérique) et la forme fusiforme possèdent, comme attendu d'après la littérature ci-dessus, le rapport respectivement le plus faible (1,06) et le plus élevé (2,07 ; moyenne de 2 arbres), à comparer respectivement à 1,08 et 2,08 selon Chernane. Cette conclusion est appuyée par l'écart-type faible, en général inférieur à 10% de la mesure.

Mais ce rapport est aussi élevé pour le seul arbre à fruits apiculés disponible (2,15 à rapprocher de 1,92 trouvé Chernane et al). Dans les autres cas, l'écart type est en général faible et le rapport a une valeur intermédiaire, ce qui ne permet pas de différencier ces autres formes sur ce seul critère. En effet une étude chimio-taxonomique et morpho-biochimique très poussée de la bibliographie a montré que les fruits sphériques se distinguent via deux variables morphologiques (rapport et longueur du noyau) et trois variables chimiques (teneur de l'huile en insaponifiable, en acide linoléique, en schotténol). L'autre forme bien individualisée, fusiforme, se distingue par 2 variables morphologiques (longueur du fruit, longueur du noyau) et 4 variables chimiques liées à la composition phénolique de la pulpe [Chernane et al. 2000].

Seulement dans ce dernier cas (fusiforme) trois arbres ont pu être sélectionnés au Conservatoire et récoltés (IAV-Agadir), aussi il n'a pas été prioritaire d'effectuer une caractérisation semblable aussi poussée nécessitant un volet analytique lourd pour l'ensemble de la collecte.

Une telle étude nécessiterait en premier lieu un nombre d'arbres significatif pour chaque forme typée, indisponibles sur le site. Mais le but de l'étude était ailleurs. Néanmoins la forme des fruits a été établie et le fait d'avoir travaillé au sein du Conservatoire présente l'avantage de permettre un suivi annuel précis, contrairement à des études antérieures basées sur des arbres non identifiés ou collectés dans des conditions moins contrôlées.

b) Etude de la pulpe

Le terme « pulpe » comprend dans le cas présent la pulpe et la « peau » du fruit. A partir des pesées quotidiennes (tableau 21), il a été possible d'évaluer le pourcentage massique que représente la pulpe par rapport au fruit entier. La proportion de pulpe fraîche varie déjà de 48,8 à 55,9 d'un arbre à l'autre au sein d'une même forme (fusiforme). Elle représente en moyenne 55,6% de la masse du fruit frais mur (fusiforme + apiculé + rond). Contrairement à la bibliographie qui laisse entendre que le pourcentage de pulpe sur fruit frais est nettement plus élevé pour la forme ronde (tableau 21), on ne peut confirmer ici cette tendance, faute d'un nombre suffisant d'arbres inclus à l'étude dans chaque groupe. Toutefois la forme ronde reste la plus riche en pulpe.

On constate par ailleurs que pour les fruits ronds, le pourcentage de pulpe augmente de 52,1 à 59,4% entre les deux stades, vert et mur, pour l'arbre 04. Mais il semble que cette évolution ne soit pas progressive au cours de la maturation, les mesures paraissant fiables au vu des écarts-types.

Tableau 21 : Pourcentage de pulpe dans le fruit frais en fonction de l'arbre et de la forme du fruit (moyenne sur fruits murs : 55,6%)

	Dénomination abrégée	Arbre (numéro)	Maturité apparente du fruit	Pulpe dans le fruit frais (%)	Bibliographie
Fusifforme	FM	08	mûr	48,8	54-59
		12		59,3	
		14		55,9	
Apiculé	AM	13	mûr	56,5	
Rond	RM	04	mûr	59,4	70
	RPM		presque mûr	54,6	
	RPV		presque vert	58,1	
	RV		vert	52,4	

A-2.5 Conclusion de la collecte à l'IAV-Agadir - Méthodologie

Les échantillons ont pu être collectés, caractérisés et stabilisés dans des conditions satisfaisantes, transposables dans le cas d'une production artisanale.

Seul le transport pour la suite de l'étude a subi un incident, sans que cela mette en péril la suite de l'étude. Ce point paraît maintenant suffisamment exploré pour disposer d'une procédure fiable à l'avenir.

L'expérience acquise sur le terrain et en laboratoire, a priori inédite, couvrant collecte, conditionnement-stabilisation, transport est intéressante, ce qui a justifié sa description suffisamment détaillée. En effet les études reportées dans la littérature à ce jour ne précisent que rarement l'origine exacte des fruits (localisation de l'arbre), ni ne détaillent les étapes de collecte et de préparation. Or ces procédures conditionnent à l'évidence la qualité des produits, fruit et pulpe notamment, donc les résultats d'analyses.

Les quantités collectées sont récapitulées ci-après :

Essais technologiques :

- Fruits entiers secs : 11,720kg (10kg)
- Fruits entiers semi-secs : 9,755kg (10kg)
- Fruits entiers frais : 11,555kg (10kg)

(Quantité souhaitée lors de la préparation de la collecte entre parenthèses)

Essais sur maturité :

- Pulpe saine de fruits mûrs ronds congelée : 1,425kg (5kg)
- Pulpe infestée de fruits mûrs ronds congelée : 3,880kg (5kg)
- Pulpe de fruits presque mûrs ronds congelée : 1,925kg (5kg)
- Pulpe de fruits presque verts ronds congelée : 1,765kg (5kg)
- Pulpe de fruits verts ronds congelée : 2,415kg (5kg)
- Graine et amande de fruits ronds presque murs 1150g / 142g
- Graine et amande de fruits ronds presque verts 990g / 119g
- Graine et amande de fruits ronds verts 1450g / 178g

Essais sur formes (fruits murs) :

- Pulpe de fruits fusiformes sèche : 0,580kg (5kg)
- Pulpe de fruits fusiformes congelée : 3,240kg (5kg)
- Pulpe de fruits apiculés congelés : 3,285kg (5kg)
- Graine et amande de fruits apiculés 848g / 88g
- Graine et amande de fruits ronds 992g / 138g

Essais microbiologiques :

- Echantillon de 20 fruits mûrs ramassés au sol dans un lieu abrité du pâturage
- Echantillon de 20 fruits mûrs cueillis dans l'arbre, hors pâturage

Il a été jugé utile de différencier pour une forme donnée (fruit rond mur) l'état apparent d'infestation par la cératite avant la chute des fruits, notée RM i.

A-3. PARAMETRES BIOMETRIQUES - MATURITE - COMPOSITION CHIMIQUE DES FRUITS COLLECTES A L'IAV-AGADIR

A-3.1 Paramètres biométriques - Maturité et composition de l'huile d'argan

Les fruits collectés à l'IAV-Agadir, provenant donc d'un seul terroir, ont été traités comme déjà indiqué : dépulpés manuellement, séchés à 40°C maximum afin d'être stabilisés en limitant la dégradation. L'amande et la pulpe ont ensuite été étudiées séparément.

Pour ce qui est de la forme du fruit mur, la proportion représentée par l'amande se différencie nettement entre forme apiculée et sphérique, cette dernière étant plus élevée, comme trouvé par [Chernane et al. 2000] (tableau 22). Par contre il n'y a pas de différence pour la teneur en huile de l'ordre de 53-54%

C'est dans le fruit mur (rond) que la proportion d'amande est la plus élevée avec 14% contre 12% environ dans le fruit vert, par contre la teneur en huile la plus élevée est observée pour les fruits jugés les moins murs au jour de la collecte de la totalité de l'arbre. Bien que la littérature rapporte l'augmentation de la teneur en huile au cours de la maturation du fruit, il faut remarquer que cette observation s'entend sur la totalité des stades de développement du fruit, alors que dans le cas présent, il s'agit de fruits tous proches de la maturité. On se souvient en effet que nous avons fixé arbitrairement le critère de pleine maturité à la chute du fruit, faute de mieux. Il est tout à fait concevable que ce stade (chute ne corresponde pas à la teneur la plus élevée en huile). Seule une étude très précise de la lipogénèse en termes de date de collecte et d'analyses chimiques permettra de confirmer cette tendance. Si tel était le cas, gaulage de l'arbre entier enterait le rendement global en huile.

Tableau 22 : Etude de l'amande en fonction de la maturité et de la forme des fruits récoltés à l'IAV

	Apiculé mur	Rond mur	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Proportion Amande / noix (%)	10,4 (12,2)*	14,0 (17,3)	12,4	12,0	12,3
Humidité des amandes (%)	4,75	4,95	6,16	5,72	5,03
Huile / amande (% p sec)	54,4 (53,4)*	53,5 (52,9)	52,3	50,9	54,1

* : valeurs entre parenthèses : résultats de [Chernane et al 2000]

Du point de vue de la qualité de l'huile d'argan, le tableau 23 indique que l'acidité des huiles obtenues à partir des fruits de l'IAV-Agadir était très faible (0,16 - 0,18%), ce qui confirme l'intérêt des protocoles très stricts qui ont été appliqués pour la collecte, le séchage, le stockage des fruits puis des amandes. Les travaux de référence de [Chernane et al 2000] considèrent que l'acidité comprise entre 0,58 et 0,82% est faible dans leurs conditions de collecté des fruits ; Maalah 1992 est le seul à avoir

mesuré des acidités aussi faibles comprises entre 0,1 et 0,4%, donc de l'ordre de grandeur de nos résultats. Les autres résultats rapportés par ailleurs se situent vers 1,1 – 2,04% [Farines et al 1984 ; Fellat-Zarrouck 1987 ; Huyghebaert et Hendrickx 1974].

L'étude de la stabilité oxydative (Rancimat) montre qu'elle augmente avec la maturité des fruits, probablement grâce à la formation d'antioxydants.

Enfin l'extinction spécifique en UV à 232 et 270 nm qui reflète l'état de détérioration oxydative et la pureté de l'huile, montre que les huiles obtenues à partir des états intermédiaires (presque mur et presque vert) sont le siège de la formation de diènes et triènes conjugués en tant que processus biologiques, sans lien avec le traitement des fruits, lesquels ont été traités exactement selon le même protocole au quotidien. On retiendra aussi que la qualité des fruits est voisine, la forme apiculée donnant une huile un peu moins résistante que la sphérique (tableau 23).

La composition en acides gras quant à elle (tableau 24) montre une variation au niveau des deux acides principaux, la forme apiculée étant moins riche en acide oléique que la ronde (47,6 et 51,4% respectivement). Cette variation de près de 3% qui paraît significative n'a pas été mentionnée par [Chernane et al. 2000] qui ont trouvé une teneur de 45,4 à 47,6% pour les quatre formes étudiées. Cette teneur en acide oléique dépassant les 50% est d'ailleurs la plus élevée rapportée pour l'huile d'argane, ce qui montre des possibilités de variation, utilisables pour une sélection variétale.

L'acide linoléique accuse une variation inverse avec 32,1 et 30,4% respectivement pour les formes apiculée et sphérique.

Par contre l'état de maturité n'a pas d'influence sur la composition en acide gras dans les conditions de l'étude.

Tableau 23 : Qualité de l'huile d'argan en fonction de la maturité et de la forme des fruits récoltés à l'IAV-Agadir

	Apiculé mur	Rond mur	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Acidité (%)	0,185	0,160	0,164	0,166	0,185
Absorption UV E232nm	1,25	1,29	1,43	1,5	1,22
E270nm	0,2	0,2	0,24	0,26	0,16
Rancimat (h)	11,0	13,7	9,87	8,84	7,54

Tableau 24 : Composition en acides gras de l'huile d'argan en fonction de la maturité et de la forme des fruits récoltés à l'IAV-Agadir

	Apiculé mur	Rond mur	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Palmitique	13,6	12,6	13,0	13,3	13,3
Stéarique	5,55	4,54	4,51	4,56	4,56
Oléique	47,6	51,4	51,0	50,7	59,3
Linoléique	32,1	30,4	39,5	30,4	30,7

Le tourteau après extraction de l'huile par l'hexane a été caractérisé en raison de son intérêt comme aliment du bétail. L'activité de l'eau (tableau 25), supérieure à 0,5 laisse attendre une faible stabilité du point de vue microbiologique, témoin d'un séchage insuffisant des amandes à l'échelle du laboratoire. Parmi les éléments minéraux (tableau 26), la teneur en phosphore, Cu et Mn montrent une augmentation notable entre apiculé et rond, de 30 à 50% ; ces valeurs sont globalement de l'ordre de grandeur trouvé par [Charrouf 2009]. Par contre à l'exception de K et Mg, qui restent stables, le tourteau s'appauvrit au cours de la maturation.

Tableau 25 : Activité de l'eau des tourteaux après extraction par l'hexane

	Apiculé mur	Rond mur	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Activité Aw	0,68	0,68	0,72	0,77	0,64
Ecart type	0,00	0,01	0,00	0,20	0,12
Température de mesure (°C)	22,7	22,9	22,0	21,6	22,5
Ecart type	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1

Tableau 26 : Composition des éléments minéraux du tourteau

	P %	K %	Ca %	Mg %	Na %	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm
Apiculé mur	0,648	1,00	0,407	0,405	0,021	7,7	135	76,3	57,8
Rond mur	0,861	1,03	0,436	0,431	0,016	14,0	155	113	77,6
Rond presque mur	0,837	0,96	0,430	0,414	0,020	13,6	149	109	72,3
Rond presque vert	0,867	0,97	0,466	0,422	0,025	15,0	164	113	76,0
Rond vert	0,936	1,02	0,529	0,464	0,025	17,4	176	128	91,0
[Charrouf 2009]	0,64	1,04	0,69	0,33	0,04	13,7	-	59,7	71,7

A-3.2 Influence des paramètres biométriques et de la maturité des fruits sur la composition de la pulpe

a) Eau et matières volatiles

Le tableau 27 donne les résultats de la teneur en eau et en matières volatiles des fruits d'argan. L'eau exsudée et collectée pendant le transport des boîtes en deux semaines représente moins de 10% de la teneur en eau initiale de la pulpe (sauf pour les fruits ronds verts), et cette eau a été prise en compte dans le calcul de l'humidité. On remarque que la teneur en eau des fruits murs, comprise entre 74,8% et 76,9%, varie peu d'une forme à l'autre. Par contre quand l'état de maturation des fruits est observé, on constate la moindre teneur en eau pour les fruits murs. On a remarqué que la couleur de la pulpe fraîche passe du jaune brillant au marron après exposition selon la norme à 103°C et à l'air dans l'étuve, montrant la présence de composants oxydés, probablement des polyphénols. Pour cette raison le séchage en vue de l'analyse chimique de la pulpe a été effectué à 40°C.

Tableau 27: Teneur en eau et matières volatiles de la pulpe des fruits collectés à l'IAV-Agadir

	Apiculé mur	Fusifforme	Rond Mur	Rond mur infesté	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Eau et matières volatiles (%)	76,9	74,8	76,7	76,5	80,8	82,6	80,3

b) Analyse chimique des composés volatiles

Les fruits non congelés ont été triés d'après leur couleur (vert, jaune marron foncé) supposée correspondre à des états physiologiques (maturité, conservation) différents, bien que provenant d'un lot homogène frais collecté à l'IAV-Agadir et conservés au congélateur (-20 °C). L'extraction des composés volatils a été réalisée en espace de tête (SPME) en flacon en verre bouché par papier d'aluminium, avec une fibre de Polydimethylsiloxane / Divinylbenzène (PDMS/DVB) conditionnée 30min à 260°C avant premier usage.

3 g de pulpe de fruits de couleur verte, jaune ou marron ont été prélevés, la chair a été coupée en petits morceaux. Plusieurs essais ont été effectués afin d'optimiser le protocole. L'augmentation de la température de 70 à 90°C améliore les résultats, donnant des sensibilités plus grandes. Les résultats joints prouvent que l'augmentation de la température n'amène pas la formation de nouvelles espèces chimiques. Finalement, l'extraction des composés volatils a été faite en chauffant les échantillons à 90°C pendant une heure. Il est important de noter que la température de l'espace de tête était de 49° C et celle à l'intérieur du solide (pulpe) était de 57° C. En fin d'adsorption des composés volatils sur la fibre, la désorption est faite thermiquement (2 min à 260°) dans l'injecteur du GC couplé à un spectromètre de masse (annexe).

Abstraction faite de l'éthanol qui marque l'évolution des fruits pendant le transport international, sur-représenté à cause de sa volatilité élevée, on trouve (tableau 28) du laurate d'éthyle et d'autres esters légers, de la décanolactone, des aldéhydes et des alcanes, toutes classes contribuant aux propriétés aromatiques de la pulpe,

caractéristique de ce fruit. La couleur marque des différences de composition, mais globalement ces pulpes ont des compositions assez voisines (travaux réalisés en collaboration avec le professeur Larroque, Faculté de Pharmacie-UM1, Montpellier).

Tableau 28 : Composés aromatiques de pulpes d'arganier par SPME

Fruit brun				
Noms des substances	Temps de rétention	Surface	(%)	Hors éthanol (%)
Ethanol	1,23	153167349	61,1	-
Nonaldehyde	9,34	2322547	0,9	2.4
Octanoic acid, ethyl ester (Ethylcaprylate)	10,71	2149839	0,9	2.2
2-Decenal	11,85	5819970	2,3	6.0
2-Undecenal	13,30	2030946	0,8	2.1
Decanoic acid, ethyl ester (Ethylcaprate)	13,57	3255031	1,3	3.3
Decanolactone	14,85	14735120	5,9	15.1
Alpha farnesene	15,02	2094387	0,8	2.1
Lauric acid ethylester	16,11	17206212	6,9	17.6
1-Heptadecene (hexahydroaplotaxene)	17,03	8839469	3,5	9.1
Alcane (<i>Nonadecane, Heneicosane...</i>)	17,27	2770153	1,1	2.8
Tetradecanoic acid, ethyl ester	18,38	11489222	4,6	11.8
Salicylic acid, pentylester	18,67	1475979	0,6	1.5
1-Octadecene	19,20	4354545	1,7	4.5
Alcane (<i>Nonadecane, Eicosane...</i>)	19,44	6563898	2,6	6.7
Dibutyl phtalate	20,27	1564389	0,6	1.6
Docosanoic acid, ethyl ester	20,44	4123244	1,6	4.2
Heneicosane	21,42	6798207	2,7	7.0
	Somme	250760507	100	100

Fruit jaune				
Noms des substances	Temps de rétention	Surface	%	%
Ethanol	1,23	250866227	75,9	-
Ethylcaprylate	10,71	3066661	0,9	3.9
Ethylcaprate	13,57	2933348	0,9	3.7
Alcane (Tetradecane ?) + Furanone	14,83	7466614	2,3	9.4
Alpha Farnesene (Farnesol)	15.00	2584263	0,8	3.2
<i>Pentadecanoic acid, ethyl ester (Dodecanoic...?)</i>	16,10	9693197	2,9	12.2
1-Heptadecene	17,03	12524006	3,8	15.7
Heptadecane	17,26	3751432	1,1	4.7
<i>Tetradecanoic acid, ethyl ester (Pentadecanoic...?)</i>	18,38	8927548	2,7	11.2
9-Nonadecene	19,18	4006907	1,2	5.0
Heneicosane	19,44	9700756	2,9	12.2
Eicosadecanoic acid, ethyl ester	20,44	4426909	1,3	5.6
Alcane (<i>Heneicosane, Eicosane, Octadecane...</i>)	21,4	5573119	1,6	7.0
Linoleic acid, methyl ester	22,06	2296352	0,7	2.9
Squalene	32,19	2668810	0,8	3.4
	Somme	330486149	100	100
Fruit de couleur verte				

Noms des substances	Temps rétention	Surface	(%)	(%)
Ethanol	1,24	85884381	59,7	-
Mequinol (phenol, 4-methoxy)	9,26	1466310	1,0	2.5
Ethylcaprylate	10,71	1678401	1,2	2.9
2-Decenal	11,85	2851720	2,0	4.9
Ethyl caprate	13,57	3616689	2,5	6.2
Caryophyllene	14,05	1134429	0,8	2.0
Alpha Parnesene	15,00	2075466	1,4	3.6
Lauric acid, ethylester	16,10	9677845	6,7	16.7
1-Heptadecene	17,03	10397183	7,2	17.9
Alcane (<i>Hexadecane, Nonadecane, Heptadecane...</i>)	17,26	1841830	1,3	3.2
Tetradecanoic acid, ethyl ester	18,38	8818624	6,1	15.2
1-ndecene (1-Octadecene, 1-Nonadecene)	19,18	3454562	2,4	6.0
Eicosane	19,44	4030401	2,8	6.9
Stearic acid, ethylester	20,44	3277595	2,3	5.7
Alcane (<i>Heptacosane, Heneicosane, Docosane...</i>)	21,44	3658969	2,5	6.3
	Somme	143864405	100	100

c) Composés de la pulpe extraits par le dichlorométhane

Quatre solvants ont été utilisés pour extraire des fractions de différentes polarités : hexane, dichlorométhane, méthanol, eau. Les trois premiers types d'extraits sont obtenus à reflux du solvant, en cascade sur le tourteau issu du traitement par le solvant précédent. La composition de la fraction hexanique étudiée en détail sera exposée plus loin (fraction composés non polaires).

Les extraits de pulpe par le dichlorométhane ont été étudiés sur les types de fruits RM (rond mûr) et RV (rond vert). Les extraits ont été solubilisés avec 50 mL de dichlorométhane et une aliquote (2 µL) a été injectée et analysée par la GC-MS.

Le tableau 29 montre que la pulpe verte donne un extrait moins diversifié mais les deux sont riches en butylène glycol. Le type RV se singularise par la présence des amyriènes et de lupéol et lupanol. Le RM présente des hydrocarbures à longue chaîne (squalène..) ainsi que des lipides, malgré le traitement préalable par l'hexane : acides palmitiques et linoléiques, cire en C35, stigmastérol, vitamine E (tocophérol).

d) Conclusion / composés volatils et extraits CH₂Cl₂ de la pulpe

Les fractions volatiles et l'analyse des extraits obtenus par le dichlorométhane (tableau 30) montrent une très grande diversité de composition chimique de la pulpe. L'accent a été mis sur les fractions de faible polarité, lesquelles avaient été peu sinon pas étudiées auparavant.

Ces résultats ne peuvent être que parcellaires, une thèse suffirait à peine à étudier un petit nombre d'échantillons, et l'exploration de la diversité des composants en fonction des différentes origines et types de fruits serait pourtant nécessaire pour tirer le

meilleur parti de cette diversité.

L'étude de la fraction contribuant aux propriétés aromatiques de la pulpe, même incomplète, faciliterait l'exploitation d'extraits aromatiques pour l'agroalimentaire, toujours à la recherche de produits exotiques. De plus il n'est pas exclu que ces extraits aient une activité biologique par ailleurs.

Tableau 29: Analyse par SPME/GC-MS d'extraits dichlorométhaniques de pulpe

Extrait RV avec le dichlorométhane			
Noms des substances	Temps de rétention	Surface des pics	%
Butylène glycol	4,16	442228682	29,1
Pyrocatechol	18,62	171200318	11,3
Bis(2-ethylhexyl) phtalate	45,25	3580474	0,2
Beta-amyrin ou Alpha amyrin	48,05	172840880	11,4
Lupenylacetate	51,47	521013590	34,3
Lupan-3-ol, acetate	56,56	209342428	13,8

Extrait RMD avec le dichlorométhane			
Noms des substances	Temps de rétention	Surface des pics	%
Butylène glycol	3,8	62071272	30,4
Alcane (<i>Nonadecane, Eicosane...</i>)	33,92	4136274	2,0
Acide palmitique	35,72	18450048	9,0
Alcane (<i>Heneicosane, Eicosane, Octadecane...</i>)	37,78	13654868	6,7
Linoleic acid	39,03	34974207	17,1
Alcane (Nonadecane, Heptacosane, Heneicosane...)	41,31	6342010	3,1
Alcane (Docosane, Nonadecane, Heneicosane,...)	44,58	1741806	0,8
Phtalic acid, diisooctyl ester	45,28	2766303	1,4
Squalène	49,21	18700740	9,2
Pentamethyl eicosapentaene	52,47	28940388	14,2
Vitamine E	56,19	5992842	2,9
Stigmasterol	62,47	6387621	3,1

Tableau 30 : Résumé/ composants de pulpe par SPME ou dans extraits CH₂Cl₂

Substances	SPME Fruit vert	SPME Fruit jaune	SPME Fruit brun	Extrait CH ₂ Cl ₂ fruit vert	Extrait CH ₂ Cl ₂ fruit brun	Bibliographie
Butylène glycol				29.1	30.4	
Pyrocatechol				11.3		
Beta-amyrin ou Alpha amyrin				11.4		+
Lupenylacetate				34.3		
Lupan-3-ol, acetate				13.8		+
Alcane (Nonadecane, Eicosane...)	10.1	23.9	16.5		11.8	+
Acide palmitique					9.0	+
Linoleic acid					17.1	+
Phtalic acid, diisooctyl ester					1.4	
Squalène		3.4			9.2	
Pentamethyl eicosapentaene					14.2	
Vitamine E					2.9	+
Stigmasterol					3.1	
Ethanol	59.7	75.9	61.1			
Nonaldehyde			2.4			
Octanoic acid, ethyl ester (Ethylcaprylate)	2.9	3.9	2.2			
2-Decenal	4.9		6.0			
2-Undecenal			2.1			
Decanoic acid, ethyl ester (Ethylcaprate)	6.2	3.7	3.3			
Decanolactone			15.1			
Alpha farnesene	3.6	3.2	2.1			
Lauric acid ethylester	16.7		17.6			
1-Heptadecene (hexahydroaplotaxene)	17.9	15.7	9.1			
Myristic acid ethyl ester	15.2	11.2	11.8			
Salicylic acid, pentylester			1.5			
Dibutyl phtalate			1.6			
Docosanoic acid, ethyl ester			4.2			
Alcane (Tetradecane ?) + Furanone		9.4				
Pentadecanoic acid, ethyl ester (Dodecanoic...?)		12.2				
9-Nonadecene		5.0				
Eicosadecanoic acid ethyl ester		5.6				
Linoleic acid, methyl ester		2.9				
Mequinol,phenol, 4-methoxy	2.5					
Caryophyllene	2.0					
1-ndecene (1-Octadecene, 1-Nonadecene...)	6.0		4.5			
Stearic acid, ethylester	5.7					+

b) Analyse des sucres

Les extraits aqueux obtenus directement sur pulpe – types rond mûr RM ; rond vert RV- ont été étudiés par SPME afin de vérifier l'absence de composés volatiles parmi les sucres qui font l'objet de cette partie du travail. Les extraits méthanoliques obtenus sur solide délipidé par l'hexane puis le dichloroéthane, ont aussi été joints à cette partie de l'étude.

Les extraits aqueux ont été repris dans 1 mL de dichlorométhane (60 mg/mL). Après agitation (10 min), les échantillons ont été centrifugés (5 min) et la phase organique injectée (2 µL) et analysée par couplage GC-MS. Les extraits méthanoliques RM et RV ont été solubilisés (méthanol 50 mL) injectés (2 µL) comme précédemment.

Il a été vérifié que les extraits aqueux ne contiennent pas de substances volatiles. La présence du pyrocatechol et de l'acide 5-hydroxypipécolique a été détectée dans l'extrait méthanolique RV ; l'extrait RM ne contient pas d'extractibles par SPME.

Parmi les composants minoritaires hydrosolubles d'intérêt, figurent les phénols et polyphénols, et les saponides présents dans les différentes fractions. Les propriétés de ces classes de composés sont bien connues pour des applications en agroalimentaire, nutraceutique et cosmétique. La présence de ces composés a déjà été signalée y-compris par notre équipe dans la coque, la pulpe [Alaoui 2002, Chernane 1999]. Les saponines enfin ont déjà été étudiées en détail par le partenaire FS-UMV.

Le dosage des sucres extraits de la pulpe du fruit par l'eau à 90°C et séparés par HPLC (détecteur électrochimique Au), montre une composition très variable d'une pulpe à l'autre (tableau 31). Tous les échantillons contiennent glucose, fructose et saccharose, mais variant respectivement de 2,2 à 14%, 0,6 à 5,0%, 1,0 à 7,5%. Si le glucose est le sucre principal pour apiculé et fusiforme, c'est le saccharose dans le cas des fruits ronds. On trouve donc jusqu'à 14% de glucose dans la pulpe apiculée mure. De plus une faible proportion de rhamnose a été trouvée dans la pulpe de fruit rond vert. La figure 11 montre la différence entre la composition des sucres de la pulpe et du tourteau

La forme du fruit a donc une influence notable sur la teneur en sucres de la pulpe, pour les échantillons étudiés provenant d'un même lieu, avec 23,8 ; 18,0 ; 16,7% du poids de la pulpe sèche respectivement pour apiculé, fusiforme et sphérique.

La proportion de sucres solubles croît avec le degré de maturité, passant de 3,0 à 16,7% du poids sec de la pulpe du fruit rond ; celle de saccharose qui croît avec la maturation du fruit, passant de 1,0 à 2,7 ; 7,0 ; 7,5%, pourrait donc être utilisée comme marqueur de l'état de maturité du fruit en période de récolte.

Ces différences confirment que le critère visuel utilisé pour trier les fruits lors de la récolte totale d'un arbre un jour donné, est suffisant pour différencier effectivement les fruits. Non seulement les fruits tombés ce jour là sont bien différents de ceux restés sur l'arbre et plus riches en sucres comme attendu, mais ceux issus du gaulage peuvent aussi être différenciés entre eux. En particulier les fruits supposés les plus verts se distinguent par une composition de cette fraction sucre très différente : présence de rhamnose, et glucose majoritaire contrairement au fruit presque vert ou mur.

La composition des polysaccharides de la pulpe, pour les fruits ronds, montre un quasi doublement entre les stades vert et mur (tableau 31) mais aussi une différence notable de composition. Le stade vert contient principalement par ordre décroissant, glucose, rhamnose et xylose, alors que la pulpe mure contient glucose et arabinose. Ce dernier sucre pourrait aussi être utilisé comme marqueur de l'état de maturité, ce qui n'était

pas le cas pour les sucres solubles.

Ces déterminations ne recoupent pas celles de [Aboughe-Agone *et al.* 2008] qui se sont intéressés plus particulièrement aux polysaccharides pariétaux, isolés selon une procédure spécifique, donc différente de la notre qui a consisté principalement en une hydrolyse sur la pulpe, sans étapes d'extraction-fractionnement préalables. Ces auteurs ont trouvé que les polysaccharides pariétaux sont riches en arabinose, galactose et xylose. Néanmoins, ces auteurs ont trouvé après hydrolyse par l'acide TFA, comme ici une forte proportion de glucose d'origine cellulosique.

Mais on peut aussi regretter que les analyses très approfondies de ces auteurs n'aient pas été effectuées sur des fruits d'origine connue avec précision, notamment à propos du degré de maturité. En effet on ne sait même pas si les fruits ont été prélevés au sol ou sur l'arbre et il n'y a aucune mention d'ordre phénotypique.

Figure 11 : Chromatogrammes de l'analyse des sucres extractibles
Exemple de pulpe (gauche) et tourteau (droite) (2007)

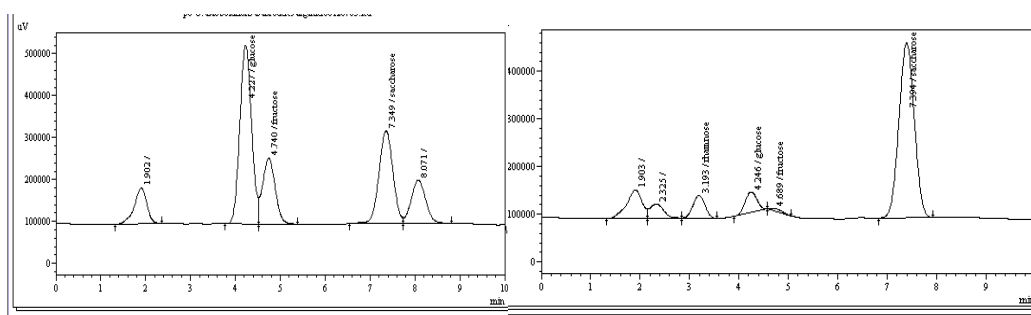


Tableau 31 : Teneur en sucres des pulpes de fruits collectés à l'IAV-Agadir

		Apiculé mur	Fusifor -me mur	Rond mur	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Extrait aqueux à 90°C	Rhamnose	-	-	-	-	-	0,065
	Glucose	14	9,1	5,6	3,9	6,2	2,2
	Fructose	5,8	5,9	3,6	2,7	3,0	0,6
	Saccharose	4,0	3,0	7,5	7,0	2,7	1,0
(% p sec)	Total	23,8	18,0	16,7	13,6	11,9	3,9
Sucres totaux après hydrolyse CF3CO2H	Rhamnose			6,1			22,6
	Fucose			-			-
	Arabinose			13,8			16,5
	Galactose			3,9			3,4
	Glucose			69,6			36,0
	Mannose			1,8			1,0
	Xylose			4,8			20,6
(% mole)	Total (mg/g)*			249,9			138,4

* mg de polysaccharides par g d'extrait sec

d) Matières non extractibles

Le tableau 32 donne les résultats des teneurs de cendres, cellulose et lignocelluloses en % de la biomasse sèche (%DMC). La teneur en matière azotée (protéines) est de 50% plus élevée dans la pulpe des fruits de forme apiculée par comparaison aux fruits ronds. De même la proportion de matière azotée et de fibres décroît au fur et à mesure de la maturation du fruit, en raison de la synthèse d'huile et de sucres.

Le tableau 33, (composition des cendres) montre que les tourteaux sont beaucoup plus riches en P, Ca, Mg, Cu, Mn que les pulpes. Pour ces dernières, certains éléments peuvent varier de 100% en fonction de la forme du fruit ; par contre les minéraux ne varient pas en fonction du stade de maturité, à l'exception de Fe qui est stocké au fur et à mesure de la maturation. Ce constat est conforme aux résultats de Kenny et Bakali-Kacimi in [Kenny 2007] qui font état de l'arganier comme « l'arbre à fer ».

Tableau 32 : Teneur en cendres, cellulose et lignocellulose de la pulpe des fruits collectés à l'IAV-Agadir (% pulpe sèche, sauf matière sèche exprimée en % de la matière fraîche)

	Apiculé mur	Fusif orme	Rond mur	Rond mur infesté	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Matière sèche	87,1	89,6	88,7	90,7	91,0	90,8	91,9
Matière azotée	9,78	7,74	6,43	7,00	8,13	8,85	10,1
Cendres	5,93	5,79	5,55	7,02	7,30	6,95	7,63
NDF	18,4	19,5	19,1	20,7	24,2	24,6	30,9
ADF	13,4	12,5	12,7	14,0	16,9	17,4	22,7
ADL	6,59	6,42	5,92	6,55	9,16	9,65	15,0

NDF: Neutral detergent fiber; **ADF:** Acid detergent fiber; **ADL:** Acid detergent lignin

Tableau 33 : Composition des éléments minéraux de la pulpe et du tourteau

		P %	K %	Ca %	Mg %	Na %	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm
Pulpe	Apiculé mur	0,049	1,711	0,199	0,078	0,227	0,8	66,1	9,0	5,3
	Fusif. mur	0,075	2,116	0,153	0,066	0,180	1,5	99,3	4,7	5,6
	Rond mur	0,065	2,096	0,193	0,079	0,142	1,5	165,5	8,5	4,2
	Rond presq. mur	0,082	2,583	0,246	0,091	0,180	1,6	100,6	9,1	4,7
	Rond presq. vert	0,077	2,653	0,258	0,091	0,189	1,7	57,7	9,7	5,5
	Rond vert	0,085	2,799	0,285	0,104	0,202	1,5	75,6	11,2	6,9
Tourteau	Apiculé mur	0,648	1,008	0,407	0,405	0,021	7,7	135,7	76,3	57,8
	Rond mur	0,861	1,030	0,436	0,431	0,016	14,0	154,7	113,9	77,6
	Rond presq. mur	0,837	0,968	0,430	0,414	0,020	13,6	148,7	109,6	72,3
	Rond presq. vert	0,867	0,973	0,466	0,422	0,025	15,0	164,3	113,8	76,0
	Rond vert	0,936	1,020	0,529	0,464	0,025	17,4	176,5	128,2	91,0

e) Composants non polaires

L'extraction a été faite à l'échelle analytique (essais en double) pour la détermination de la teneur en composés non polaires (matière grasse et polyisoprène) selon une méthode normalisée. Mais le poids total de l'extrait étant inférieur à 2g donc insuffisant pour les nombreuses analyses prévues, une autre série d'extractions a été faite dans un équipement soxhlet de plus grand volume (500mL et 1000mL) avec en moyenne 500g. Des différences de rendement ont été constatées, pouvant être attribuées à la différence de taille du soxhlet et de la prise d'essai qui est 25 fois supérieure dans le dernier cas.

L'extrait hexanique brut contient les lipides et le polyisoprène. Comme indiqué sur la figure 12, on constate dans le cas des fruits murs une différence en fonction de la forme du fruit, le fusiforme étant le plus pauvre (5,5%), le rond le plus riche (8,4%), tandis que le type apiculé montre une teneur en composés non polaires intermédiaire. Le stade de maturité exerce une influence sur fruit ronds. Les types presque mur et vert présentent la pulpe la plus riche (11,9-10,7%), tandis que presque vert et mur ont la plus basse (8,7-8,4%). Le rendement d'extraction ne suit pas une séquence chronologique du fait de la complexité de la synthèse biologique entre les deux voies, lipides et polyisoprène.

Après précipitation des polymères insolubles dans l'hexane par l'ajout de méthanol et répétition de l'opération, selon un protocole décrit en annexe, il a été possible d'accéder aux deux fractions, lipides et polyisoprène (tableau 34). Ce protocole a été adapté après essais de précipitation par le méthanol et l'éthanol, le premier solvant permettant de précipiter la totalité du polymère dès la première étape, alors que l'éthanol ne précipite que 75% environ à ce stade. Ce protocole n'est encore pas idéal car il introduit des erreurs expérimentales importantes ; aussi afin de pouvoir discuter

les traits les plus marquants des résultats, les bilans insatisfaisants (non polaires = lipides+polyisoprène) ont été lissés.

Pour les fruits murs (chute) on retiendra que la teneur en lipides de la pulpe varie peu en fonction de la forme du fruit pour les trois types étudiés (4,8-5,7%) ; la teneur en caoutchouc quant à elle est nettement plus élevée pour le type sphérique (2,7%) par comparaison aux deux autres (0,7-0,8%). La teneur en lipides varie de 5,7 à 8,3% et celle du polyisoprène de 2 à 3,6% dans les fruits portés par un même arbre le même jour ; il n'est pas possible avec ces premiers résultats de discuter la signification par rapport à la chronologie de la maturation. Cela ouvre néanmoins un questionnement quant à l'évolution de la synthèse des lipides et du polymère durant les derniers jours ou semaines avant la chute des fruits.

Tableau 34 : Extrait hexanique (lipides et polyisoprène) de la pulpe par type de fruits collectés à l'IAV-Agadir

	Apiculé mur	Fusifforme mur	Rond mur	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond Vert
Extrait hexanique (%p/ pulpe sèche)	6,5	5,5	8,4	11,9	8,7	10,7
Lipides (%p / pulpe sèche)	5,6	4,8	5,7	8,3	6,7	8,0
Polyisoprène (%p / pulpe sèche)	0,81	0,66	2,7	3,6	2,0	2,6

Acidité de l'huile de pulpe (extrait hexanique sans polyisoprène)

Le tableau 35 montre des valeurs très élevées, même pour les fruits murs. Faute de référence relative à l'huile de pulpe d'arganier dans la bibliographie, il est difficile de discuter ce point. Il est aisé de s'expliquer cette lacune ; en effet la proportion de lipides de pulpe étant faible, il est difficile de préparer suffisamment d'échantillon pour mesurer l'acidité selon la méthode usuelle. Nous avons été confronté à cette question non seulement pour la mesure de l'acidité mais pour l'ensemble des autres analyses à effectuer, aussi devant la nécessité, il a fallu consacrer de longs mois à la préparation de la matière première et des extraits (collecte, séchage, extraction par l'hexane, précipitation). Néanmoins l'analogie avec d'autres oléagineux à pulpe, olive ou palmier à huile par exemple, laisse attendre une acidité faible à maturité. L'explication est probablement à rechercher du côté du séjour hors réfrigérateur, en attente de dédouanement, via l'action d'enzymes.

Tableau 35 : Acidité de l'huile de pulpe

	Apiculé mur	Fusifforme	Rond mur	Rond mur infesté	Rond presque mur	Rond presque vert	Rond vert
Acidité	7,57	7,27	8,88	7,45	14,78	8,02	16,4
Ecart type	0,05		0,15	0,83	0,50	0,05	0,45

Composition en acides gras de l'huile de pulpe

Deux extraits hexaniques de pulpes de fruits, apiculés et ronds murs, ont été analysés après dérivatisation des acides gras en esters méthyliques. On note sur le tableau 36 que la composition en acides gras de la pulpe est en accord avec les données bibliographiques pour ce qui est des composants majoritaires, acides palmitique (24-25%), oléique (13-14%), linoléique (28-31%), linoléique (12-13%). Ces huiles ont la même composition en acides gras. Mais elles diffèrent des résultats de la littérature : car on ne retrouve pas l'acide myristique selon [Hamdouch 1995], ni l'acide oléique comme composant majoritaire d'après [Fellat-Zarrouck 1987]. De plus on trouve d'autres acides mineurs non signalés dans la littérature. En plus de la variabilité naturelle, il faudrait aussi invoquer des différences de protocoles d'extraction et d'analyse. On a vérifié en effet que le dichlorométhane était capable d'extraire des lipides de la pulpe alors que l'on avait épuisé avec l'hexane auparavant (cf A-5).

Tableau 36 : Composition en acides gras des lipides de pulpe des fruits prélevés à l'IAV-Agadir

	Apiculé mur	Rond mur	Bibliographie
Laurique C12 :0	Trace	1.57	-
Palmitique C16 :0	23.7	25.3	18-31
Palmitoleique C16 :1	3.37	2.51	1-3
Diocyladipate	0.93		-
15-méthyl hexadecanoïque	-	2.70	-
Stearique C18 :0	4.22	5.56	2-7
Oleique C18 :1	13.1	14.5	3-42
Linoleique C18 :2	31.9	28.4	3-23
Linoléique C18 :3	12.8	12.5	0,4-5
Arachidique C20 :0	1.22	1.90	1
13-Docosénoïque C22 :1	0.97	-	-
Lignocérique C23 :0	3.27	2.45	-
Inconnu	2.92	-	

A-3.3 Conclusion - Influence des paramètres biométriques et de la maturité

Du point de vue méthodologique, l'acidité de l'huile d'argan obtenue selon le protocole spécifique mis au point pour ce projet, la plus faible de celles mentionnée dans la littérature, confirme la pertinence des protocoles mis au point, malgré leur aspect contraignant.

L'analyse permet de proposer certains sucres comme marqueur de la maturité, mais le critère visuel est suffisant pour différencier les états proche de la maturité peu avant la chute.

Malgré la complication induite par la présence concomitante des glycérides, de l'insaponifiable et du polymère hydrocarboné, un protocole à l'échelle préparative d'extraction-fractionnement des composants non polaires en deux étapes a été testé et appliqué à la série de pulpes d'arganier, donnant accès à la teneur en matière grasse, acidité, composition en acides gras.

Pour ce qui est de la maturité, la teneur en polysaccharides de la pulpe, étudiée pour les fruits ronds, montre un quasi doublement entre les stades vert et mur (tableau 28) mais aussi une différence notable de composition. De même la proportion de matière azotée et de fibres décroît avec la maturation du fruit, alors que c'est l'inverse pour la proportion de sucres solubles. Le saccharose parmi la fraction soluble et l'arabinose des polysaccharides pourraient être utilisés comme marqueur de l'état de maturité de la pulpe en période de récolte. Les fruits jugés les moins murs se distinguent par une composition très différente des sucres solubles.

La proportion d'amande est la plus élevée dans le fruit vert et la teneur en huile est aussi la plus élevée dans les fruits jugés les moins murs peu avant la chute, mais la stabilité oxydative de l'huile d'argane est maximale au moment de la chute.

Ces observations conduisent à un questionnement au sujet de l'évolution de la composition du fruit au cours de la période précédant sa chute.

La forme du fruit a une influence notable sur la teneur en sucres de la pulpe mais aussi sur la teneur en matière azotée (protéines) qui est de 50% plus élevée dans la pulpe des fruits de type apiculé par comparaison aux fruits ronds. Les lipides représentent toujours plus de la moitié de l'extrait hexanique de la pulpe et en sont donc un composant notable, pouvant atteindre 8% de la pulpe sèche; le polyisoprène reste en deçà de 4%.

L'huile d'argan quant à elle est plus riche en acide oléique pour le type apiculé par comparaison au type sphérique. Evidemment ces tendances méritent d'être confirmées par une étude sur une population plus large.

La partie suivante qui inclut la notion de terroir, constitue un pas dans ce sens.

A-4 RECHERCHE DE L' INFLUENCE DU TERROIR

A-4.1 Collecte des échantillons

La partie précédente a montré l'intérêt mais aussi les difficultés de la collecte d'échantillons de maturité homogène, bien qu'en un même lieu. Ces conditions de travail très contraignantes n'ont pu être reproduites lorsqu'il s'est agi de collecter dans des lieux différents et loin du centre de l'IAV-Agadir. Elles ont donc été adaptées.

L'enquête de terrain a permis d'observer les quatre principales formes de fruits d'arganier différentes: fusiforme, ovale, apiculée et sphérique. Avec l'aide de la population nous avons sélectionné 5 douars situés à des altitudes et dans des régions différentes mais proches de Tamanar et prélevé ou obtenu des échantillons correspondant chacun à une forme de fruit donnée :

- Sites A et D situés en plaine, donnant chacun 6 échantillons
- Sites B et F situés en plateau, où ont été prélevés respectivement 3 et 5 échantillons, le premier proche de la mer et le second à 12 km de la mer.
- Site C en montagne, ayant donné 3 échantillons.

Une dizaine de kg de chaque arbre choisi a été récoltée, conduisant à 23 échantillons (par forme de fruit) regroupés en « lots » correspondant chacun à un site (tableau 37).

Tableau 37 : Situation géographique des 23 échantillons

Sites	Echantillons	Situation (terroir)
Lot A	1 à 6	Plaine
Lot B	7 à 9	Plateau proche de la mer
Lot C	10 à 12	Montagne
Lot D	13 à 18	Plaine
Lot F	19 à 23	Plateau

A-4.2 Influence du terroir sur les caractéristiques des fruits

a) Pourcentage pondéral de l'amande et de la pulpe

A partir de chaque échantillon de 10kg, 100 fruits ont été prélevés, déulpés et les noix cassées pour en retirer l'amande. L'amande, le noyau et le fruit entier sont pesés et le nombre d'amandes de chaque fruit est déterminé. Les résultats donnés sont la moyenne sur 100 fruits.

Les tableaux 38 et 39 renseignent sur la forme des fruits des 23 échantillons et sur le nombre d'amandes contenues dans la noix. (exprimé en pourcentage des fruits).

A partir de ces résultats, nous constatons que la majorité des fruits renferment une amande. Le pourcentage des fruits renfermant deux amandes varie entre 4% pour une forme apiculée et 39% pour une forme sphérique, toutes deux en plaine. Le pourcentage de fruits possédant 3 amandes ne dépasse pas 4 % (principalement forme sphérique et ovale). La forme apiculée ne fournit pas de fruits à trois amandes. Pour les 23 échantillons, la masse de l'amande varie de 0,17g pour une forme sphérique en plaine à 0,41g pour une forme ovale en montagne. Le rapport amande/noyau varie de 9% (forme ovale) à 15% (forme sphérique). Le pourcentage de la pulpe sèche par rapport au fruit varie entre 35% pour une forme sphérique et 55% pour une forme ovale. Ces parties utiles du fruit montrent donc une variabilité assez

grande. Le pourcentage de la coque par rapport à la noix est relativement homogène de 84 à 91%.

Si l'on considère le fruit entier, le pourcentage d'amande est faible (4 à 8%), en revanche il renferme des quantités appréciables et du même ordre de grandeur de pulpe et de coque. Ces résultats recourent ceux de la littérature.

b) Caractéristiques de l'amande et de la pulpe

Le fruit de chaque arbre est traité séparément pour évaluer dans l'amande et dans la pulpe, l'humidité, la teneur en protéines et en matière grasse et l'insaponifiable dans cette dernière. Les résultats sont regroupés dans le tableau 40.

La matière grasse et les protéines de l'amande varient respectivement de 47 à 54% et de 21 à 27% ; ceci est conforme aux données de la littérature en ce qui concerne la matière grasse. L'amande des formes apiculées et ovales semble être la plus riche en protéines ; ces résultats, proches de ceux de [Battino 1929], ne recourent pas ceux de [Charrouf 2009] qui trouve des valeurs 2 fois plus élevées dans d'autres fruits d'argan. L'insaponifiable par rapport à l'extrait hexanique de l'amande varie de 0,22 à 0,60%, ce qui est faible par rapport à la littérature. La forme sphérique est la plus riche, ce qui confirme la relation significative par ACP trouvée par [Chernane et al. 2000].

Tableau 38 : Nombre d'amandes par fruit en fonction de la forme et du terroir

SITE	N° échantillon	Forme du fruit	Nbre d'amandes par fruit (% de fruits par type)			
			0	1	2	3
LOT A Plaine	1	Apiculé	0	89	11	0
	2	Apiculé	0	96	4	0
	3	fusiforme	0	86	12	2
	4	sphérique	0	69	29	2
	5	apiculé	0	81	19	0
	6	sphérique	0	79	20	1
LOT B Plateau près de la mer	7	Ovale	0	92	8	0
	8	sphérique	0	89	11	0
	9	Ovale	0	84	12	4
LOT C Montagne Tarwaoli	10	Apiculé	0	93	7	0
	11	Ovale	0	66	31	3
	12	Ovale	0	89	10	1
LOT D Plaine	13	Ovale	0	83	13	4
	14	Ovale	0	84	15	1
	15	sphérique	0	61	39	0
	16	sphérique	0	88	12	0
	17	sphérique	0	84	15	1
	18	sphérique	0	87	12	1
LOT F Plateau 12 km de la mer	19	sphérique	0	82	16	2
	20	Ovale	0	84	13	3
	21	sphérique	0	86	14	0
	22	Ovale	0	92	8	0
	23	sphérique	0			0

Le taux d'humidité des amandes varie de 2,89% à 4,34 % sur l'ensemble des terroirs.

A propos de la pulpe, la teneur en composés non polaires varie de 1 à 6,9% (par rapport au poids sec), alors que la teneur trouvée pour les fruits de l'IAV-Agadir varie de 5 à 11%. Le taux d'insaponifiable varie de 31,5 à 45,5%, exprimé par rapport à l'extrait hexanique (lipides + polyisoprène). Ce taux est plus élevé pour la forme apiculée et ovale, par rapport à fusiforme et sphérique. Le taux de protéines de la pulpe est faible, entre 4 et 10%.

Pour ce qui est du terroir, nous observons que la proportion de matière grasse (huile d'argan) diminue quand on s'approche de la mer. De plus nous avons signalé plus haut une différence notable de teneur en composés non polaires de la pulpe entre les fruits prélevés en plaine près de la mer à l'IAV-Agadir et les autres terroirs.

Tableau 39 : Composition du fruit en fonction de la forme et du terroir

Terroir	N° éch	Type de fruit	Amande		Pulpe	Coque
			Am. / noix (%)	Masse (g)	Pulpe / fruit (%)	Coque / noix (%)
Lot A Plaine	1	Apiculé	12	0,23	43	88
	2	Apiculé	14	0,23	53	86
	3	Fusifforme	12	0,36	53	88
	4	Sphérique	13	0,30	41	87
	5	Apiculé	11	0,31	42	89
	6	Sphérique	13	0,34	47	86
Lot B Plateau pres mer	7	Ovale	11	0,34	53	89
	8	Sphérique	13	0,32	38	87
	9	Ovale	14	0,31	50	85
Lot C Montagne Tarwaoli	10	Apiculé	13	0,31	48	87
	11	Ovale	11	0,41	54	88
	12	Ovale	11	0,26	55	89
Lot D Plaine	13	Ovale	10	0,22	50	90
	14	Ovale	13	0,26	40	86
	15	Sphérique	16	0,17	46	84
	16	Sphérique	15	0,19	44	85
	17	Sphérique	13	0,23	53	87
	18	Sphérique	11	0,30	51	89
Lot F Plateau 12 km mer	19	Sphérique	14	0,30	43	86
	20	Ovale	15	0,28	44	85
	21	Sphérique	12	0,26	45	88
	22	Ovale	9	0,20	44	91
	23	Sphérique	9	0,28	35	91

Tableau 40 : Teneurs en matière grasse, insaponifiable et protéines des fruits en fonction du terroir (échantillons 1 à 23)

Terroir	N° éch	Type de fruit	Amande			Pulpe		
			Mat. Grasse (%)	Insapo dans MG (%)	Protéines (%)	Extrait hexane (%)	Insapo dans Ex hex (%)	Protéines (%)
Lot A Plaine	1	Apiculé	49	0,22	25	3,1	43	10
	2	Apiculé	51	0,27	25	2,8	45,5	6
	5	Apiculé	47	0,37	26	2	34,5	7
	3	Fusifforme	51	0,36	21,5	2,2	40,5	5
	4	Sphérique	50	0,36	23	4	33	6,5
	6	Sphérique	54	0,60	22	1	43,5	5
Lot B plateau pres mer	8	Sphérique	47	0,39	25	3,4	36	8
	7	Ovale	49	0,41	23,5	2,9	13,5	5
	9	Ovale	48	0,28	25,5	1,9	35	6
Lot C Montagne Tarwaoli	10	Apiculé	47	0,40	25	3,1	37	7
	11	Ovale	48,5	0,48	27	1,6	31,5	7
	12	Ovale	47	0,36	25	2,6	34,5	6,5
Lot D Plaine	13	Ovale	47	0,42	25,5	3,7	36	7
	14	Ovale	48,5	0,41	25,5	3,7	40	7,5
	15	Sphérique	45,5	0,48	26	1,9	37	8
	16	Sphérique	47	0,54	24	3,3	45	8,5
	17	Sphérique	49	0,53	24	6,9	31,5	6,5
	18	Sphérique	48	0,42	24,5	3,4	45	8
Lot F Plateau 12 km mer	19	Sphérique	49	0,46	24,5	2,6	38,5	6
	23	Sphérique	50,50	0,55	24,5	3,3	38	7,5
	21	Sphérique	52	0,51	23	3,6	39	8
	22	Ovale	52	0,37	27	3,4	40	6
	20	Ovale	50,5	0,44	22	1,2	42,5	4

A-4.3 Influence du terroir sur la composition de l'huile d'argan

Le lot A a été choisi pour cette étude. Pour chaque échantillon de ce lot, nous avons extrait la matière grasse avec l'hexane et déterminé la composition des acides gras et des stérols (moyenne de deux essais).

Pour la composition des acide gras (tableau 42) on ne relève pas de différences substantielles dans les proportions d'acides majoritaires, palmitique, stéarique, oléique et linoléique entre ces huiles et avec les résultats de la littérature en général. [Chernane et al. 2000] ont observé que la forme sphérique présente la proportion la plus élevée d'acide linoléique, ce qui est aussi le cas pour cette étude (valeurs moyennes : 32,2 ; 31,0 ; 30,9%). De même comme ces auteurs nous constatons que c'est bien la forme fusiforme qui présente le taux le plus élevé d'acide oléique (48,5 ; 47,1 ; 45,8%)

Comme attendu les deux stérols majoritaires sont le schotténol et le spinastérol (tableau 43). Le pourcentage du schotténol, supérieur à celui du spinastérol, varie de 53% pour sphérique à 43% pour apiculé. Quant au spinastérol, son pourcentage varie de 41 % pour les fruits de forme sphérique à 46 % pour les fruits fusiformes. Comme Chernane et al. nous constatons que la forme sphérique correspond au taux de schotténol moyen le plus élevé : 48,6 ; 46,4 ; 43,0%

Tableau 42 : Composition en acides gras de l'huile d'argan des échantillons 1 à 6

Type de fruit N° Echantillon	Apiculé			Fusiforme	Sphérique	
	1	2	5	3	4	6
Myristique C14 :0	0,15	0,14	0,18	0,12	0,16	0,19
Pentadecanoïque C15 :0	0,07	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Palmitique C16 :0	14,5	15,1	14,1	13,7	15,1	15,3
Palmitoleïque C16 :1	0,12	0,09	0,10	0,14	0,16	0,10
Heptadécanoïque C17 :0	0,05	0,08	0,09	0,08	0,07	0,08
Stéarique C18 :0	6,39	5,67	5,35	5,41	4,78	5,93
Oléique C18 :1	47,0	47,7	46,8	48,5	44,1	47,6
Linoléique C18 :2	30,7	29,9	32,3	31,0	34,6	29,8
Linoléinique C18 :3	0,42	0,41	0,44	0,41	0,40	0,48
Nonadécénoïque C19 :1	-	-	-	-	-	-
Arachidique C20 :0	0,34	0,31	0,34	0,35	0,36	0,35
Gadoléique C20 :1	-	-	-	-	-	-
Béhénique C22 :0	-	0,07	0,08	0,10	0,08	0,10

Tableau 43 : Composition des stérols de l'huile d'argan des échantillons 1 à 6

	Apiculé			Fusiforme	Sphérique	
	1	2	5	3	4	6
Spinastérol :7,22diène-3βol	39,9	41,5	43,2	45,6	41,0	31,1
Schotténol :7ène-3βol	42,8	42,9	43,3	46,4	44,1	52,8
Stigmasta 8,22diène 3β ol (22E)	3,26	3,26	3,46	2,53	3,35	2,64
Stigmasta 7,24diène 3β ol (24Z)	2,83	5,16	4,72	3,90	2,63	3,68

A-4.4 Conclusion - Effet de la forme et du terroir

La pulpe et la coque (0,85 g pour sphérique en plaine ; 3 g pour ovale en montagne) sont en proportions voisines dans les fruits collectés sur diverses localités et, en conséquence, le poids de l'amande –la partie noble utilisée pour l'extraction de l'huile d'argan- est très faible. La masse moyenne de l'amande varie de 0,17g pour une forme sphérique en plaine à 0,41g pour une forme ovale en montagne, représentant un pourcentage par rapport au noyau de 9 % pour une forme sphérique près de la mer à 16% pour la même forme en plaine. Le pourcentage pulpe / fruit varie de 35% pour une forme sphérique en plateau situé à 12 km de la mer à 55 % pour une forme ovale en montagne.

L'amande de l'argan est très riche en matière grasse (45 à 52% pour la forme ovale) et le taux d'insaponifiable est très faible (0,37 – 0,48%). En revanche le taux de l'extrait hexanique est faible pour la pulpe (2,3%), mais son taux d'insaponifiable est très élevé (31 à 43%).

Pour ce qui est du taux de protéines, l'amande est plus riche que la pulpe. Pour l'amande, le taux varie de 22% pour une forme sphérique en plaine à 27% pour une forme ovale à 12 km de la mer. Pour la pulpe le taux varie tout de même de 4% pour une forme ovale à 12 km de la mer à 10% pour une forme apiculée en plaine. Tous les fruits collectés ne présentent donc pas le même intérêt pour l'élevage.

Lors de l'étude de la composition en acides gras et en stérols des fruits pour un site donné, bien que limitée à 6 échantillons, il a été noté que les résultats s'inscrivent dans la tendance montrée par Chernane et al 2000], confirmant ainsi la pertinence de leur analyse ACP pour les paramètres biochimiques -teneur en acide linoléique et en schotténol- par rapport aux données biométriques, différenciant principalement formes sphérique et fusiforme.

Ces variations montrent l'intérêt à l'avenir de choisir des phénotypes favorables à la production d'amandes et d'huile par exemple, lors des plantations nouvelles, en fonction des objectifs d'utilisation.

Les différences observées dans l'étude pondérale ne sont pas liées seulement à la forme du fruit mais dépendent aussi du terroir (nature du sol, altitude, longitude, influence maritime, etc).

A ce stade de l'étude, il semble qu'un effet terroir puisse être invoqué pour les proportions de pulpe, de coque et d'amande par rapport au fruit, ainsi que pour le poids moyen de l'amande et pour la lipogénèse dans l'amande et dans la pulpe. Toutefois ces tendances demandent à être approfondies, afin de déconvoluer effet terroir et déterminant phénotypique.

A-5. VALORISATION DE L'HUILE

A-5.1 Lutte contre l'adultération de l'huile d'argan par d'autres huiles végétales

Il s'agit d'étudier le mélange d'une huile végétale de moindre coût à de l'huile d'argan en recherchant des marqueurs capables de détecter l'adultération.

Ce travail a été effectué à la fin 2005 et au 1^{er} semestre 2006, bien avant la signature de la convention par le doctorant Miloudi Hilali, en collaboration avec le Laboratoire Officiel pour les analyses et les Recherches Chimiques du Maroc (LOARC).

Des fraudes sur l'huile d'argan associant à des taux de 2, 5 et 10 % d'autres huiles vierges (soja, tournesol, colza, abricot, sésame, arachide, noisette et olive) ont été simulées. Les compositions en acide gras, en stérols, en triglycérides et en tocophérols ont été analysées afin de déterminer le seuil de détection de l'adultération.

La détection de l'absence d'adultération de l'huile d'argan par une autre huile peut dans certains cas être simplement résolu par une analyse de la composition en acides gras de l'échantillon d'huile à évaluer. L'huile d'argan est riche en acide oléique, linoléique et palmitique (43 - 50%, 28 - 36%, 10 -15% respectivement) (tableau 44). Une quantification relative inadéquate de la teneur en ces trois acides gras peut donc servir de critère pour distinguer l'huile d'argan de l'huile de tournesol, par exemple. Cependant, il faut aussi considérer que certaines huiles (arachide ou sésame, par exemple) présentent, pour ces trois acides gras majoritaires, une teneur respective proche de celle de l'huile d'argan (Tableau 44). La seule détermination de la teneur en acides oléique, linoléique et palmitique est donc insuffisante. De plus, il est aussi nécessaire d'envisager la préparation, dans un but frauduleux, d'un mélange d'huiles bon marché dont la teneur finale en acide oléique, linoléique et palmitique avoisinerait celle de l'huile d'argan. Si la mesure des taux de ces trois acides peut donc être considérée comme une première étape nécessaire, elle n'est pas suffisante pour certifier l'authenticité de l'huile d'argan.

Tableau 44 : Composition en acides gras de quelques huiles alimentaires

	Arachide	Noisette	Olive	Sésame	Tournesol	Argan
Oléique	48-66	66-83	14-21	37-42	15-25	43-50
Palmitique	8-13	5-9	8-14	8-11	8-13	10-15
Linoléique	14-28	8-25	3-14	39-47	50-62	28-36

La recherche de marqueurs parmi les composants minoritaires est donc indispensable. Un tel marqueur doit, par sa rareté, permettre d'empêcher l'addition minimale d'une huile qui le renfermerait en quantité importante et décourager son élimination d'une huile aux caractéristiques voisines (acides gras) et son addition directe à l'état de traces.

Nous nous sommes tournés vers le campestérol, un stérol minoritaire et rare rencontré dans l'huile d'argan et qui présente, en chromatographie en phase gazeuse, un temps de rétention tel que sa quantification est facile, standardisée et non ambiguë.

Il a été procédé au dosage du campestérol dans la fraction stérolique de neuf huiles alimentaires (argan, olive, soja, colza, tournesol, noisette, arachide, sésame et abricot) et de mélanges d'une de ces huiles avec l'huile d'argan à 2 ; 5 et 10%. Il a été

clairement établi qu'une pureté supérieure à 95% peut être certifiée par application de cette méthodologie.

Combinée à la détermination de la composition en acides gras, la détermination de la teneur en campesterol est donc une méthode envisageable pour la certification de l'absence d'adultération de l'huile d'argan.

Ce résultat a été publié dans le Journal of the American Oil Chemists Society [Hilali et al 2007], texte en annexe.

A-5.2 Valorisation de l'huile d'argan en cosmétique

a) Usages traditionnels

L'huile d'argane est très utilisée en médecine traditionnelle pour la peau. Son utilisation est relatée dans plusieurs ouvrages de plantes médicinales. Selon une enquête réalisée récemment [Moukal 2004], la totalité des personnes enquêtées affirme que l'huile d'argan est utilisée à des fins cosmétiques. Elle est préconisée comme huile hydratante pour le visage, les mains et les pieds. Elle est aussi utilisée comme antiride, contre l'acné juvénile, contre la desquamation de la peau. Elle aussi utilisée pour nourrir les cheveux, empêcher leur chute, garder leur éclat, mais aussi comme huile solaire et pour le bronzage par les pêcheurs et les estivants de la région.

Les travaux des chercheurs, l'exploitation de l'huile d'argane par les coopératives et l'amélioration de la technologie d'extraction de l'huile d'argane ont donné un nouvel essor à cette huile. Elle est utilisée actuellement par des grandes marques européennes et nord américaines dans les produits cosmétiques. L'huile d'argane a été classée la première parmi les 10 meilleurs ingrédients cosmétiques dans le monde (<http://www.observatoireDESCOSMETIQUES.com/article/Le-top-10-des-ingredients-cosmetiques-2009-113.html>).

Cet usage dermo-cosmétique a été étudié et les bienfaits vérifiés par des études des Laboratoires Galénic qui ont élaboré différentes gammes de produits à base de cette huile. Il a été montré que l'huile d'argan corrige les troubles cutanés, diminue les pertes transépidermiques d'eau, améliore l'état de l'épiderme par une activité palliative de dessèchement de la peau, notamment grâce à l'acide linoléique.

La fraction insaponifiable de cette huile a des propriétés particulièrement intéressantes sur l'amélioration du métabolisme des fibroblastes et par conséquent un effet favorable sur l'élasticité de la peau. La forte teneur en tocophérols dans l'huile d'argane ayant une activité antiradicalaire est à l'origine de sa propriété de prévention des rides. L'étude a concerné également une huile d'argan enrichie en insaponifiables qui y existent déjà, puis avec des hydrolysats de protéines du tourteau, elle a montré des effets très importants.

b) Exemples de préparations traditionnelles à base d'huile d'argane

Masque pour le visage

Un jaune d'œuf ; une cuillère à soupe d'huile d'argan ; une cuillère à café d'huile d'amande. Parfois, on ajoute au mélange soit de la poudre de fenugrec, de fève, de pois-chiche ou du citron pour les cheveux gras. L'huile d'argan est utilisée avec les poudres de plantes sous forme de préparation visqueuse essentiellement avec du henné, du girofle, de la lavande, des feuilles de daphné, des grains d'harmel, des feuilles de genièvre vert. Ce mélange est appliqué au moins une heure sur le visage.

D'autres masques sont préconisés à base d'huile d'argan et de purée de légumes (carotte, concombre, aubergine, etc). Autre exemple : masque à base d'huile d'argan, huile d'amande douce et argile verte, application sur le visage ou les membres trente minutes deux fois par semaine.

Soins et fortification des cheveux

Pour les cheveux secs, l'huile d'argan est utilisée seule ou avec d'autres huiles : amande douce, avocat, ricin, sésame, nigelle, harmel, lin, germe de blé, etc.

c) Problèmes rencontrés pour l'usage en cosmétique

La qualité de l'huile d'argane produite n'obéit toujours pas aux normes internationales :

- présences de microorganismes dues à une contamination par les excréments de chèvres
- présence de phtalates due au stockage dans des recipients plastiques inadapté
- présence de métaux lourds provenant des machines mal entretenues ou utilisées.

Des essais effectués en partenariat ont permis de résoudre certains problèmes :

- La contamination par les microorganismes est résolue par filtration sur des filtres spéciaux pour microorganismes.
- Le dosage des phtalates a été effectué dans plusieurs échantillons de graines et d'huiles : à l'entrée de la presse, à la sortie de la presse, dans le recipient de réception en inox, dans le récepteur en plastique avant et après décantation, à la sortie du filtre - presse et dans l'emballage de commercialisation. Un screening a été fait par GC/MS pour les phtalates suivants : dimethyl phtalate (DM) diethyl phtalate (DEP), dibutyl phtalate (DBP), butyl benzyl phtalate (BBP), diethyl hexyl phtalate (DEHP), dioctyl phtalate (DOP). Sur la base des résultats du tableau 45, il est fortement déconseillé de stocker l'huile dans les « jerricans » en plastique d'usage courant.

Tableau 45 : Détection de phtalates au cours de la production d'huile artisanale

Stade de production	Date	Détection de phtalates
Amandons provenant du concassage	mars-07	Absence
Huile après extraction prélevée directement à la sortie de la presse	11-avr-07	Absence
Surnageant après stockage 9 jours en bidon PET	20-avr-07	DEHP 8 mg/kg
Echantillon précédent obtenu après filtration	22-avr-07	BBP 6 mg/kg DEHP 83 mg/kg

- La présence de métaux lourds a été rapportée dans la littérature [Rocio et al. 2008]. Le dosage des métaux a été fait dans 26 échantillons. Dans les huiles traditionnelles les valeurs trouvées pour Fe varient de 0.8 à 4.0 ppm, pour Cu de 160 à 695 ppb, pour Cr de 10 à 55 ppb, Mn de 18 à 70 ppb et Pb de 28 à 450 ppb. Dans les huiles de presse, Fe varie de 0.8 à 1.7 ppm, Cu de 158 à 385 ppb, Cr de 10 à 48 ppb, Mn de 15 à 68 ppb et Pb de 32 à 100ppb. Certaines de ces teneurs dépassent les valeurs autorisées par la norme marocaine et par le Codex Alimentarius.

L'utilisation de l'huile d'argan chez les grands laboratoires de cosmétiques nécessite donc un traitement spécial pour désodoriser et décolorer l'huile d'argane, opération qui permet d'abaisser aussi la teneur en métaux. Une collaboration avec l'ITERG (Pessac France) dans le cadre du projet MAC'OILs (6^{ème} programme de l'UE) a permis de visiter ce partenaire et une installation de raffinage physique d'huile d'argane. Ce raffinage physique de l'huile d'argane se fait par désodorisation sous pression réduite à 180°C. La composition chimique des lipides varie très peu. La décoloration est rarement demandée.

A-6 VALORISATION DE LA FRACTION POLYISOPRENIQUE DE LA PULPE

L'arganier appartient aux 2000 espèces de plantes qui contiennent du latex, produisant du caoutchouc naturel sous la forme d'un polyisoprène de type cis-1,4 ou trans, contenu dans la pulpe (figure 12). [Battino 1929] a été le premier à isoler le latex de la pulpe d'argan et a rapproché sa structure de celle de la gutta-percha, macromolécule de polyisoprène de structure trans-1,4.

[Sandret 1957] a montré que le latex du fruit de l'arganier contient du caoutchouc dont la concentration varie de 0.11 à 0.48% en poids par rapport au fruit frais (4.5 g de caoutchouc pour 100 fruits). D'autres auteurs [Fellat-Zarrouck *et al*, 1987] ont mis en évidence que le caoutchouc du latex est sous les formes cis et trans et que la forme cis est dominante et représente 86% du poids du polyisoprène.

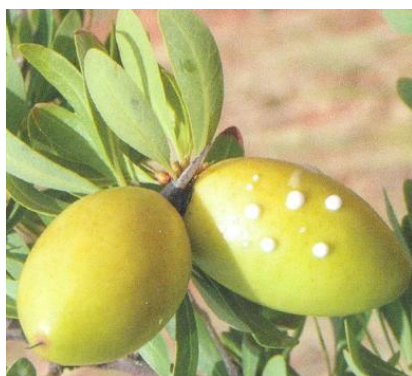


Figure 12 :
Latex exsudé du fruit d'arganier
[Kenny 2007]

[Terfas 1997] a indiqué que le latex purifié est blanc. Le caoutchouc a un point de fusion de 58-60°C. Les données spectroscopiques interprétées grâce aux spectres de références du polyisoprène 1,4 cis et du polyisoprène trans ont permis de conclure que le latex contient un polymère de l'isoprène. Il présente 86% de polyisoprène cis et 14% de polyisoprène trans (gutta percha).

Nos résultats précédemment exposés dans ce rapport indiquent que la proportion de pulpe fraîche d'un arbre à l'autre pour une même forme de fruit varie de 48,1% à 59,3%. Elle représente en moyenne 54,4% de la masse de fruits frais murs (11). Lors du séchage (40°C pendant plus de 6 heures) la perte de masse des pulpes fraîches est en moyenne de 71,6% pour des fruits murs [Buland 2008]. On a estimé que dans ces conditions de séchage modéré, 100 kg de fruits donnent 30-35 kg de pulpe sèche « stabilisée ». La caractérisation de ce polymère peu étudié à ce jour a constitué un axe prioritaire du projet ARQUADI.

A-6.1 Extraction du polymère

a) Protocole d'extraction

Les échantillons analysés proviennent de la campagne de collecte organisée au deuxième trimestre 2008 (stage de FN Buland à IAV-Agadir). Les fruits ont été étudiés en fonction de leur forme et des conditions de stockage. La pulpe provient du dépulpage manuel, puis a été immédiatement séchée à 40°C.

La méthode d'extraction utilisée est celle du Soxhlet par l'hexane, suivie d'une séparation des lipides par précipitation du polymère et d'étapes de purification du polymère par mise en solution et précipitation successives au méthanol (figure 13 ; protocoles déjà présentés et détaillés en Annexe).

A partir de la matière première, la pulpe, trois fractions finales ont été obtenues :

- une fraction solide correspondant aux fibres et aux composés hydrosolubles
- une phase hexanique intermédiaire, contenant les lipides avec l'insaponifiable et le caoutchouc
- un polymère solide par précipitation au méthanol à basse température de la solution hexanique, concentré par centrifugation (30 minutes à 10.000g).
- une phase lipidique débarrassée du polyisoprène.

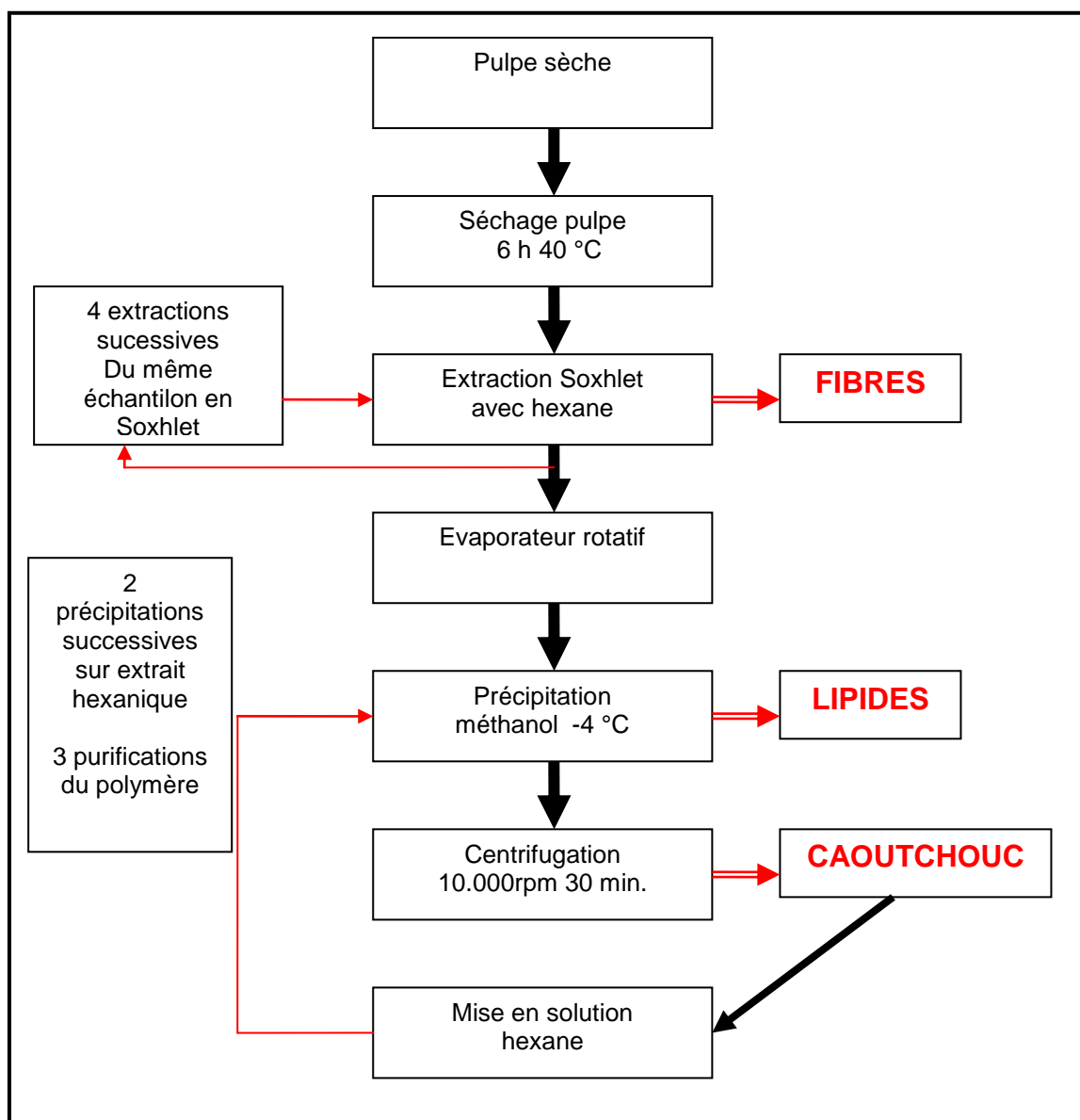


Figure 13 : Protocole d'extraction des lipides et du caoutchouc de la pulpe d'argan et de purification du caoutchouc

b) Résultat de la purification du polymère

Les résultats des extractions sur plusieurs types de fruits sont donnés au tableau 46. Les valeurs portées ici sont les données brutes ; malgré quelques différences, elles restent comparables aux valeurs corrigées dans le cadre de l'établissement du bilan pondéral (tableau 29).

Le pourcentage de caoutchouc dans la pulpe d'argan est compris entre 0.5 à 3.5 g pour 100 g de pulpe sèche. On voit donc que le polymère n'est pas un constituant majoritaire du point de vue pondéral. Le produit obtenu est blanc avec une coloration légèrement verte. Il est très collant et adhère facilement aux parois des récipients en verre, même après la troisième opération de purification du polymère. Des améliorations du protocole sont envisageables par extraction des lipides du polymère brut par le CO₂ supercritique ; cette voie qui présente un intérêt surtout dans une optique de production industrielle, n'étant donc pas prioritaire, n'a pas été testée avant la rédaction de ce rapport.

Tableau 46 : Teneur en polyisoprène de la pulpe en fonction de la forme et de la maturité des fruits

Référence échantillon N°	AM 1	FM 3	RM 5	RM i1 -
Type (fruit mur)	Apiculé Mur	Fusifforme Mur	Rond Mur	Rond Mur Infesté
Rendement extrait / pulpe (%)	6,5	5,5	7,3	9,6
Poids caoutchouc purifié (g)	4,02	2.72	5.93	6,27
Rendement caoutchouc / extrait (%)	8,6	17.8	32,0	31,8
Rendement caoutchouc / pulpe sèche (%)	0,56 (0,66)	0.98 (0,81)	2.3 (2,7)	3,1

Référence échantillon N°	RV 7	RPV 4	RPM 6	RM 5
Maturité (fruit rond)	Rond Vert	Rond Presque Vert	Rond Presque Mûr	Rond Mur
Rendement Extrait / pulpe (%)	10,7	8,7	11,9	7,3
Poids caoutchouc (g)	11,0	1.9	11,8	5.9
Rendement Caoutchouc / extrait (%)	32,5	26.4	30,5	32,0
Rendement Caoutchouc / pulpe sèche (%)	3,5 (2,6)	2.3 (2,0)	3,6 (3,4)	2.3 (2,7)

A-6.2 Caractérisation du polymère

a) Spectroscopie Infra-rouge

Les spectres IR obtenus pour un échantillon de caoutchouc de pulpe d'argan (figure 14) montrent des bandes d'absorption aux nombres d'ondes suivants :

- o bandes C-H à $2850-3000\text{ cm}^{-1}$, $1370-1470\text{ cm}^{-1}$
- o bande C=C entre $1620-1690\text{ cm}^{-1}$
- o bande C=O entre $1735-1750\text{ cm}^{-1}$ correspondant à des esters d'acides gras (lipides), à des interactions de protéines avec la chaîne du polyisoprène avec formation de groupements carboxyliques en accord avec des études antérieures pour différencier la fraction gel et sol d'un polyisoprène
- o bande C=C à $840 - 800\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la double liaison

Si l'on compare au spectre standard du polyisoprène donné par la norme ISO 4650-1984 F, on peut conclure que le polymère de la pulpe d'arganier est un polyisoprène, sans qu'on puisse distinguer à ce stade s'il est sous la forme cis ou trans.

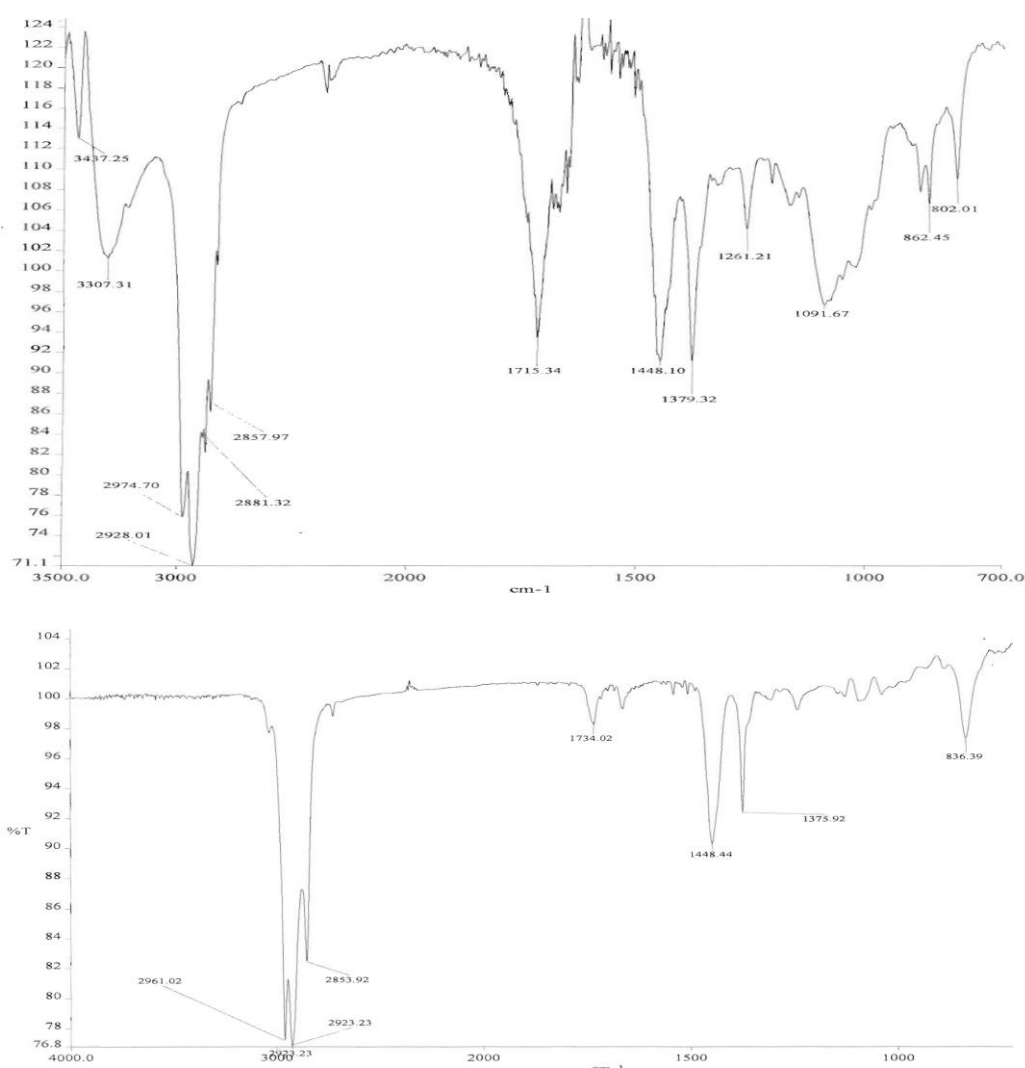


Figure 14 : Spectre IR du polyisoprène de la pulpe d'argan (haut) ; standard (bas)

b) Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Une analyse de type DSC sur deux échantillons de caoutchouc de pulpe de fruit du type apiculé mur (AM-échantillon 1) et rond mur infesté (RMI-échantillon 2) a mis en évidence les phases de transition du polymère comme la température de transition vitreuse (T_g) et une température de fusion.

Les allures (figures 15 et 16) montrent deux phases distinctes pour le polymère de la pulpe d'argan :

- une phase cristalline avec point de fusion à 58°C correspondant au polymère gutta percha, l'isomère trans du polyisoprène naturel [Maniglia-Ferreira et al. 2007]
- une température vitreuse (T_g) comprise entre -52°C et -61°C qui correspondrait à l'isomère cis du polyisoprène.

La gutta percha pure est rigide à température ambiante, pliable autour de 30°C , plastique à 60°C et liquide à 100°C avec décomposition partielle.

L'analyse par DSC laisse donc penser que le caoutchouc de la pulpe d'arganier est bien un mélange de polyisoprène des isomères cis et trans (gutta percha) en accord avec les résultats trouvés par [Fellat-Zarrouck et al. 1987] dans une étude antérieure.

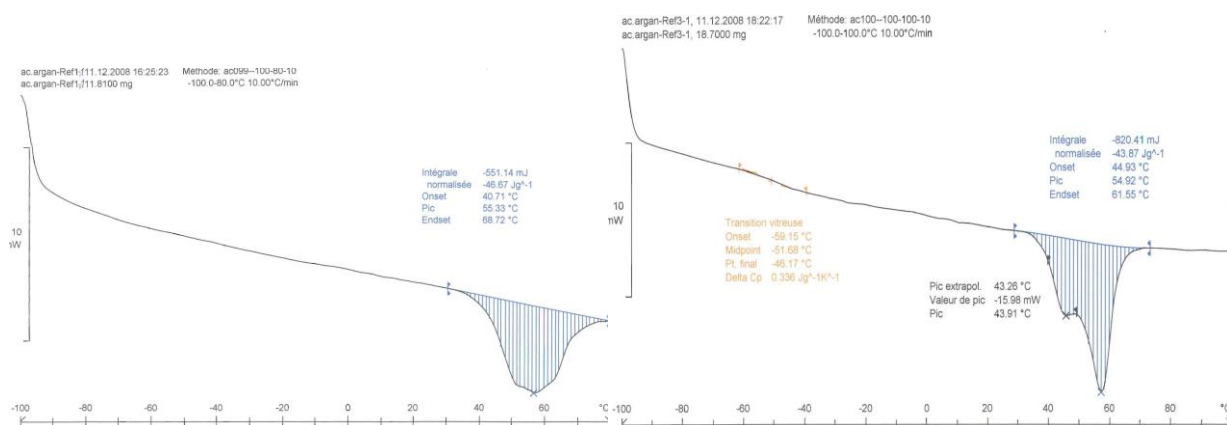


Figure 15 : DSC, Echantillon 1 (AM) premier passage (gauche) ; après refroidissement second passage (droite)

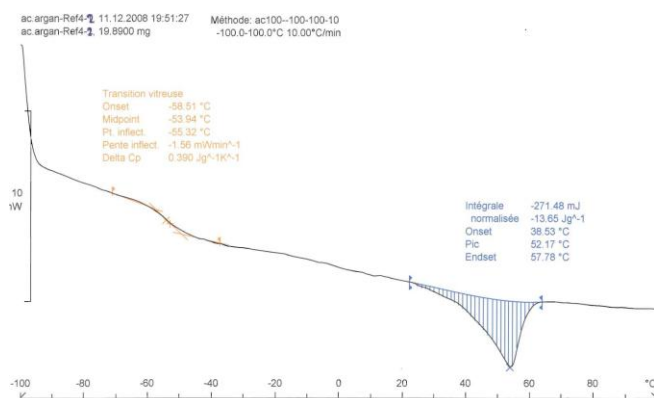


Figure 16 : DSC Echantillon 2 (RMI) après refroidissement (second passage)

c) Etude en RMN du proton

Les spectres de RMN du proton (RMNH) de référence du polyisoprène [Xaoihui Sun et al. 2004] et ceux enregistrés pour un échantillon de polyisoprène extrait de la pulpe d'arganier sont donnés aux figures 17 et 18.

Nos observations sont conformes aux résultats trouvés dans la littérature, avec des bandes caractéristiques des -CH₃ (carbone 2) à 1,6 ppm (cis 1,4) tandis que pour un trans 1,4 ce pic est déplacé vers 1,3 ppm dans le benzène. Les bandes CH₂ (carbone 4) à 2 ppm sont aussi caractéristiques du polyisoprène d'hévéa.

L'interprétation des spectres RMNH conduit aux interprétations suivantes :

- Le pic à 1.63 ppm serait caractéristique du cis-1,4 et celui à 1,53ppm du trans 1,4. On a obtenu des résultats variables sur la composition de cis par rapport au trans, variant de 23 à 46% de cis-1,4.
- Les pics compris entre 0.8-1ppm et le grand pic à 1,2ppm ne sont pas caractéristiques d'un polyisoprène, mais plutôt de longues chaînes saturées de lipides. Il en est de même pour les petits pics autour de 2ppm (CH₂ voisin de la fonction acide ou ester). Les échantillons analysés contiendraient donc encore une quantité non négligeable de lipides, malgré le soin apporté à la purification.
- Dans le cas de polyisoprène pur l'intégration de l'ensemble des pics "aliphatiques" en-dessous de 2,5 ppm devraient être 7 fois celle du pic CH de la double liaison (à 5ppm) or on a toujours beaucoup plus, entre 13 et 23 fois.
- Les deux pics attribués au CH₃ du polyisoprène représentent toujours beaucoup plus (3 fois le pic du CH). Dans ces conditions le calcul des taux de cis et trans est nécessairement incorrect. On peut se demander s'il y a bien coexistence des deux isomères. L'analyse DSC fait penser au trans-1.4.

Le spectre trouvé pour le polyisoprène de la pulpe d'arganier diffère de celui du polyisoprène cis-1,4 de référence. L'analyse RMNH laisse supposer que pour le polyisoprène de la pulpe d'arganier, l'isomère trans 1,4 est prépondérant ; cette hypothèse serait contraire aux résultats antérieurs sur la caractérisation du polyisoprène de la pulpe d'arganier [Fellat-Zarrouck et al. 1987]. Mais ce résultat est en accord avec ceux de la DSC qui montrent une prépondérance de l'isomère trans. Une analyse plus fine sur plus d'échantillons et une analyse par RMNC¹³ (en cours), permettront de confirmer cette observation.

Il est cependant intéressant de remarquer que la plante paraît capable de synthétiser les deux formes isomères ce qui n'est pas le cas de l'*Hévéa brasiliensis*.

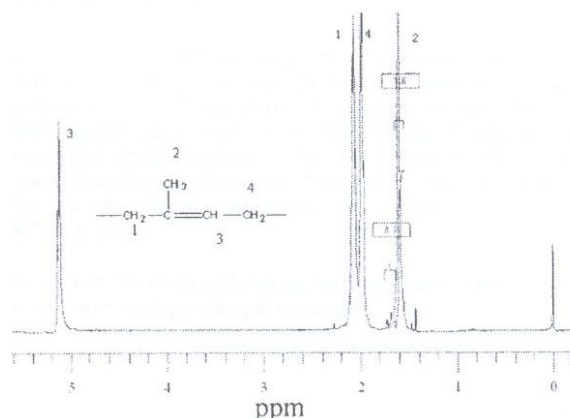


Figure 17 : Spectre RMN H du polyisoprène cis 1,4 selon [Xaoihui Sun et al. 2004]

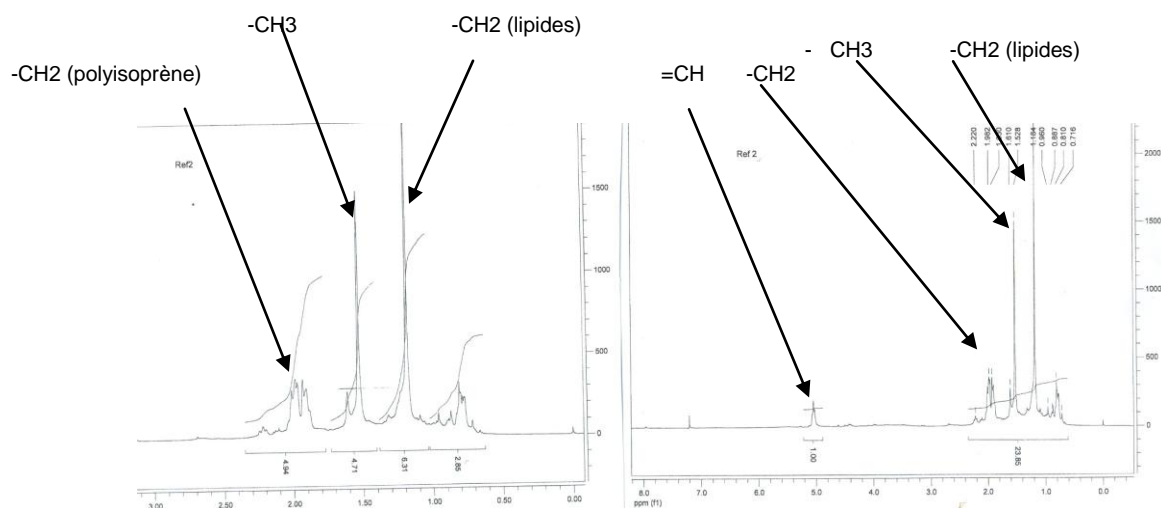


Figure 18 : Spectre RMN H du polyisoprène de la pulpe d'arganier

d) Distribution des masses molaires

On donne au tableau 47 les résultats de l'analyse en chromatographie par exclusion stérique (HPLC-SEC) sur des échantillons de caoutchouc obtenus pour les cinq types de fruits étudiés, comparés au polyisoprène d'hévéa (TSR). Les figures 19 et 20 exposent sur les chromatogrammes associés les types de distribution des masses molaires trouvée.

Les résultats conduisent aux interprétations suivantes :

- Le polyisoprène de la pulpe d'argan de la fraction sol se caractérise par de petites masses molaires, comprises entre 60.000 et 260.000 g/mole (MW), bien inférieures à celles trouvées pour la fraction sol d'un polyisoprène d'hévéa ($1-2,5 \times 10^{5-6}$). Les valeurs se rapprochent plus des masses molaires trouvées pour un caoutchouc naturel liquide.
- Le polyisoprène de la pulpe d'argan a un taux de gel, fraction non soluble dans un solvant apolaire comme le tétrahydrofurane ou le cyclohexane, plus élevé que celui d'un polyisoprène d'hévéa. La fraction gel contient généralement les non-caoutchoucs. Elle correspond à une interaction forte des protéines avec les chaînes de polyisoprène [Tanaka et al 1994]. Les interactions fortes entre atomes d'hydrogène de la forme trans du polyisoprène pourraient expliquer le taux de gel élevé.
- Le polyisoprène d'hévéa a une distribution uni ou bi modale pour certains types de clones [Subramanian 1975]. Pour le polyisoprène de la pulpe d'arganier nous trouvons une distribution bimodale.
- Il est difficile à ce stade de relier la distribution des masses molaires à la forme ou à l'évolution de la maturité du fruit d'argan.

Tableau 47 : Distribution des tailles moléculaires par HPLC-SEC des échantillons de caoutchouc de pulpe d'arganier

Réf.	Type fruit	Gel total (%)	Mz (g/mol)	Mw (g/mol)	Mn (g/mol)	Indice poly-dispersité	Type distribution
1 AM	Apiculé Mur	60,5	241.870	147.870	118.100	1,3	<u>bimodale</u>
2 RMi	Rond mur infesté	59,6	523.050	265.770	94.980	2.8	"
3 FM	Fusiforme Mur	28.8	98.000	62.670	51.000	1.1	"
4 RPV	Rond Presque Vert	40,5	2 98.670	116.670	91.670	1.3	"
5 RM	Rond Mur	35,5	521.000	133.500	66.000	2,4	"
6 Témoin	TSR hévéa	29,8	2.362.000	1.347.000	736.000	1,8	unimodale

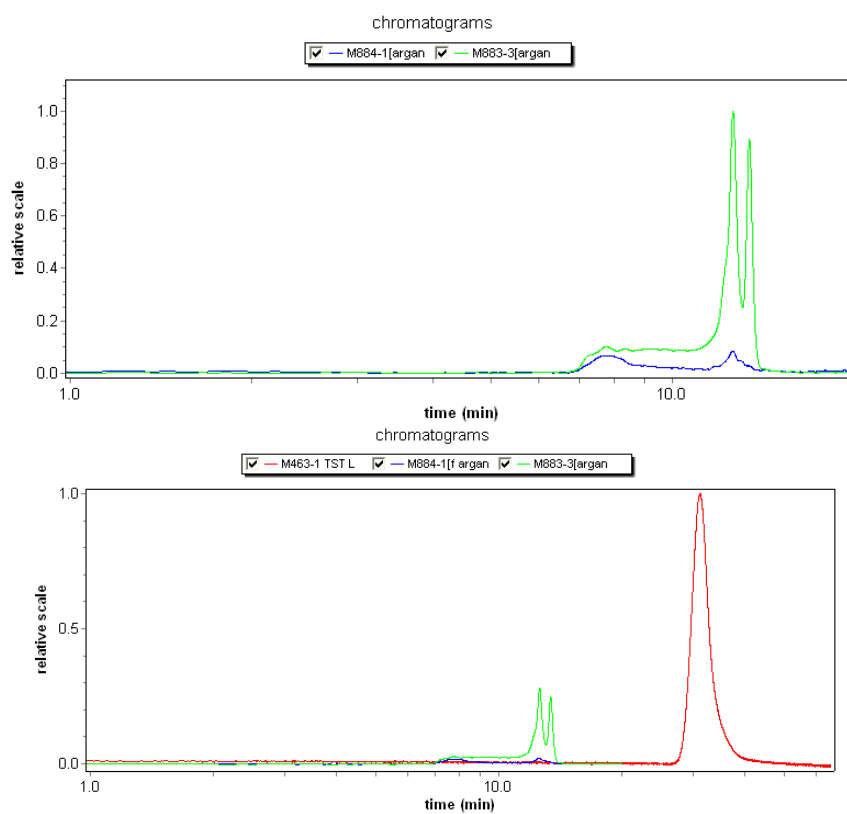


Figure 19 : Chromatogramme HPLC-SEC Fruits AM et RMi (haut) ; Fruits AM et RMi + témoin TSR hévéa (bas)

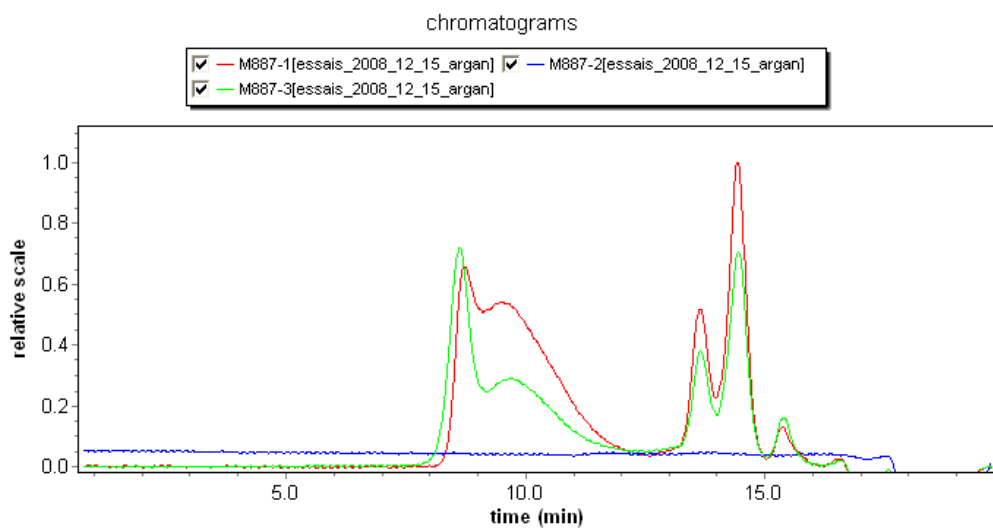
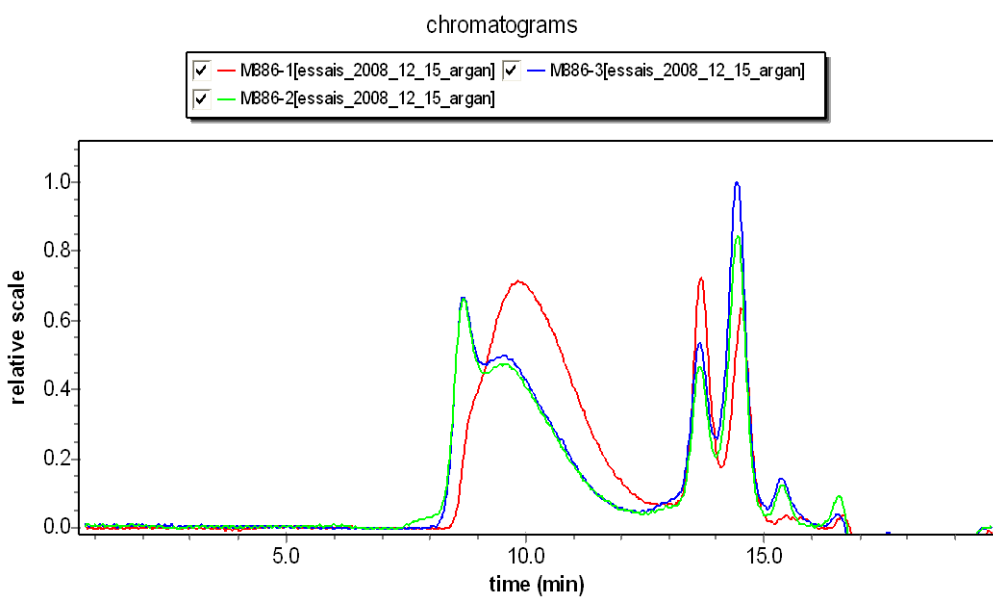
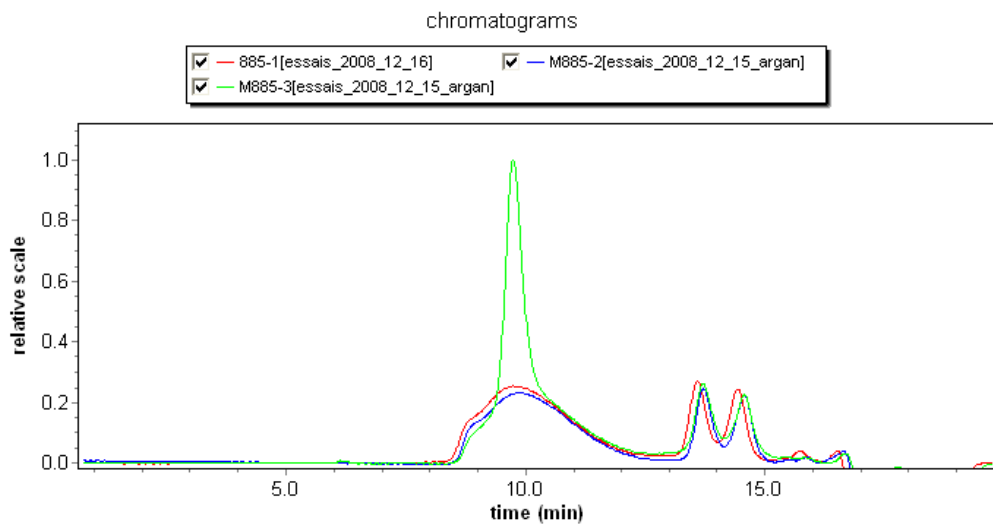


Figure 20 : Chromatogrammes HPLC-SEC fruits FM (haut) ;RPV (milieu) ; RM (bas)

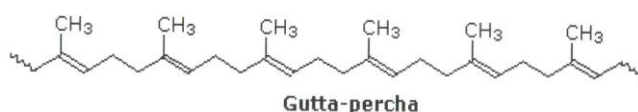
A-6.3 Applications potentielles pour le caoutchouc de pulpe d'argan

Compte tenu de la similarité de structure du polyisoprène (isomère trans 1,4 en totalité ou majoritaire) trouvé pour la pulpe d'arganier par rapport au caoutchouc de gutta percha, on peut envisager des utilisations potentielles sur les mêmes marchés de ce polymère bien connu.

a) Intérêt pour la gutta-percha

La gutta percha s'obtient en coagulant le latex des feuilles ou l'écorce notamment des espèces *Palaquium gutta*, *Mimusops globsa*, *Payena*, appartenant à la famille des Dichopsis ou des Sapotaceae qu'on trouve principalement en Malaisie, Indonésie, Inde. *Palaquium gutta* est l'espèce la plus importante. Dans la région amazonienne les arbres fournissant une matière à peu près identique sont ceux du genre *Lucuma*, de la famille des sapotacées. Le latex de *Lucuma* est connu sous le nom de « balata ». D'autres plantes comme *Manilkara zopata* ou *Achras Sapota* produisent un latex connu sous le nom de "chicle" au Mexique et en Amérique du Sud, contenant un polymère du type polyisoprène sous les formes cis et trans dans le rapport de 1:2. Ce caoutchouc est principalement utilisé par l'industrie du chewing-gum.

Le caoutchouc de gutta-percha contient en général des résines dont la teneur varie de 11 à 18% en fonction de l'espèce. A la différence du caoutchouc naturel d'hévéa qui est du polyisoprène cis-1,4, la gutta-percha est un polyisoprène de l'isomère trans-1,4, ce qui le rend beaucoup moins élastique mais plus plastique.



b) Domaines d'utilisation de la gutta-percha

Le caoutchouc de gutta-percha est un excellent isolant. Dès les années 1850, il a été très utilisé dans la fabrication de câbles sous-marins jusqu'à la découverte du polyéthylène en 1933.

Dés 1845, il a été utilisé aussi pour la fabrication de balles de golf par moulage pour remplacer les premières balles de golf faites en cuir, révolutionnant le golf et participant à l'essor de ce sport. Aujourd'hui, il est remplacé par un élastomère synthétique, le polybutadiène, recouvert d'une résine pour le moulage alvéolaire de la surface. Le marché des balles de golf utilise 20.000 tonnes de polybutadiène.

Dans l'industrie de la transformation du caoutchouc, l'addition en poids de 6 à 25% de gutta percha au caoutchouc d'hévéa améliore le mélangeage, le moulage, la résistance à l'abrasion et la tenue à la fatigue de mélanges de caoutchouc vulcanisé. On lui connaît des applications pour la production de bandes de convoyeur et dans l'industrie du pneumatique. Il est utilisé par l'industrie aéronautique car il a un faible taux de déformation et une bonne résistance au froid. On l'a utilisé dans la fabrication de joints pour des équipements de radar.

De nos jours, la gutta percha est surtout utilisée en chirurgie dentaire, odontologie, l'orthopédie, endodontie, stomatologie, comme matériau pour l'obturation lors du traitement du canal ou des gencives, car il est considéré comme non toxique et inerte.

Elle n'est pas allergénique et ne provoquerait pas chez des patients sensibles les symptômes d'allergie de type I comme le latex d'hévéa. En orthopédie, elle est aussi utilisée pour la production de prothèses artificielles. La gutta percha est donc très recherchée dans le milieu médical et hospitalier.

La gutta percha est utilisable comme adhésif car elle adhère bien au métal, au bois et au cuir. Le marché des adhésifs est en pleine évolution et est à la recherche de colles naturelles pour remplacer les colles toxiques de type urée-formaldéhyde.

c) Marché et prix de la gutta-percha

L'accès à des statistiques récentes de production de gutta-percha est difficile. Un rapport de la [FAO 1995] rapporte qu'en 1936, la demande mondiale de gutta percha était de 850 tonnes. Entre 1963 et 1972, les Etats-Unis en ont importé 1.140 tonnes. Selon la FAO, de 1988 à 1993, l'exportation de gutta-percha principalement vers Singapour a été de 241 tonnes. Actuellement les exportations de gutta percha d'Indonésie sont estimées à 970 t/an.

Le prix FOB à l'exportation pour la gutta-percha d'origine indonésienne a été de 1900\$US/t en 1990 et de 1200 \$US/t entre 1991 et 1993. En 2001, les statistiques de la FAO donnaient un volume d'exportation de gutta-percha de 3.300 tonnes, pour un marché de 8 millions \$US, soit un prix FOB d'au moins 2.000 \$US/t.

On donne au tableau 48, la production de caoutchouc naturel de l'isomère trans d'autres plantes [ICON group international 2008].

L'Indonésie et la Malaisie sont les principaux producteurs de gutta-percha, avec la Thaïlande, la Chine et l'Inde. Singapour est le principal pays intermédiaire pour l'exportation de gutta percha vers les pays industrialisés.

Tableau 48 : Production de polyisoprène naturel isomère trans 1,4 en 2007

Type plante	Pays	Production (tonnes)
Chicle	Mexique	300
	Guatemala	479
Balata	Brésil	151
Gutta-percha	Indonésie	623
Jelutton	-	1182

d) Applications potentielles du polyisoprène de la pulpe d'arganier

Sous réserve de tests approfondis des propriétés physiques, chimiques et physico-chimiques, le caoutchouc de la pulpe d'argan pourrait trouver un créneau pour des utilisations en chirurgie dentaire, odontologie, orthopédie, endodontie, stomatologie, comme la gutta percha. La forte valeur ajoutée de ce marché pourrait compenser les faibles quantités de caoutchouc extractibles de la pulpe d'arganier (0.5 à 3% en poids sec).

L'huile d'argan étant utilisée commercialement en agro-alimentaire et en cosmétique, par analogie au caoutchouc de chicle (*Achras sapota*) d'Amérique latine, ceci pourrait aussi ouvrir le marché des gommes à mâcher. Selon la société Hollywood Chewing gum, plus de 5 milliards de plaquettes de chewing gum sont consommées en France [Wikipédia, Hollywood Chewing-gum, le Chewing gum de A à Z], deuxième consommateur de chewing-gum avec 490g/personne/an, juste après les États-Unis (600g/personne/an). Le marché français de la gomme à mâcher est évalué à 371 millions de \$US. Les producteurs de gomme à mâcher utilisent un élastomère d'origine synthétique, le polystyrène-butadiène (SBR) ou le copolymère d'isobutylène (caoutchouc butyl). L'absence de nocivité de la gomme de la pulpe d'argan doit être confirmée pour cette utilisation potentielle, car certains latex (Euphorbes) est connu pour avoir des effets caustiques et vésicatoires sur la peau.

A-6.4 Conclusion – perspectives de valorisation du latex de pulpe

L'UMR GPEB du Cirad a donné la priorité à la valorisation de la fraction caoutchouc de la pulpe d'argan. Une méthode d'extraction-purification par solvant de la gomme a été adaptée. L'extraction par fluide supercritique serait aussi envisageable à l'échelle industrielle si la valeur du produit est confirmée. Par analogie avec la littérature pour d'autres sources de polyisoprène naturel la délipidation paraît possible ; cet aspect n'était pas prioritaire pour sa mise en œuvre pendant les quelques mois disponibles après la collecte des échantillons de pulpe fraîche typés et de maturité homogène.

Pour les cinq types de fruits analysés, la quantité de polyisoprène naturel extraite est faible, 0.6 - 3.5% par rapport à la pulpe séchée, les fruits ronds étant les plus riches.

La caractérisation du caoutchouc de la pulpe d'argan (IR, calorimétrie différentielle, résonance magnétique nucléaire) a confirmé que la structure du polymère est bien du polyisoprène, avec une prépondérance de l'isomère trans de type gutta percha par rapport à l'isomère cis produit par l'hévéa.

Au-delà des aspects scientifiques, l'objectif final de cette étude qui était de suggérer des utilisations potentielles a été atteint, par exemple :

- production d'aiguilles dans le traitement de racines de canal (odontologie), marché à forte valeur ajoutée,
- en agro-alimentaire, marché où se trouve déjà la filière aragnier, par analogie au caoutchouc de chicle, comme gomme à mâcher.

Par rapport à la production d'huile d'argan, l'utilisation actuelle de la pulpe paraît marginale en valeur économique, pour le fourrage du bétail. On a montré ici une voie de valorisation de la pulpe d'argan au-delà de la seule utilisation actuelle. Il reste d'une part à vérifier l'innocuité et les propriétés fonctionnelles par des tests ciblés et d'autre part à trouver un procédé de production, avant d'envisager cette nouvelle filière.

A-7 VALORISATION DE L'EXTRAIT HYDROSOLUBLE DE LA PULPE

A-7.1 Polyphénols et autres composés hydrosolubles

Les extraits hydrométhanoliques et aqueux obtenus à partir d'échantillons typés collectés dans des conditions maîtrisées à l'IAV-Agadir ont été obtenus. A l'heure de la rédaction du rapport ils sont en attente d'analyse sur la plateforme Polyphénols par l'UMR SPO du centre INRA-Supagro de Montpellier ; les travaux de ce laboratoire ont été retardés suite à une panne d'appareillage.

L'analyse détaillée par ce laboratoire spécialisé dans les composés polyphénoliques permettra d'émettre des hypothèses quant à l'origine de l'activité. Néanmoins la composition chimique de cette fraction ayant déjà été étudiée, y-compris par le partenaire FS-UMV (*cf* partie bibliographique) et les résultats en attente n'ont pas gêné la réalisation des essais d'activités qui ont été effectués en parallèle. Les résultats d'analyse des sucres solubles ont déjà été exposés.

Plusieurs types d'activités biologiques peuvent être attendus à partir de l'étude bibliographique. Souhaitant se démarquer afin d'élargir les possibilités, les premiers résultats disponibles pour ARQUADI concernent l'activité relaxante, étudiée par le professeur Michel et son équipe à la faculté de Pharmacie, Université Montpellier 1. Afin d'augmenter les chances de succès, les deux échantillons étudiés à ce jour concernent les pulpes de fruits murs et verts (sphériques), faisant l'hypothèse que ce couple offre plus de diversité de composition chimique que la série d'échantillons portant sur la forme du fruit.

A-7.2 Activité de l'extrait aqueux obtenu à partir de la pulpe des fruits verts

L'extrait est capable d'inhiber les contractions induites par le BaCl_2 4.10^{-4} M sur le jéjunum isolé de rat (tableau 49, figure 21). L'effet relaxant le plus important (mesuré 10 minutes après l'administration de l'extrait dans les cuves) est obtenu pour la concentration de 4mg/ml. Il n'y a pas de différence significative entre les effets relaxants obtenus pour les concentrations de 2mg/mL et 1mg/mL (Tableau 44). L'effet relaxant obtenu pour la concentration de 0.5 mg/ml est significativement le plus faible. Pour toutes les concentrations considérées, les % de relaxation sont la moyenne de \pm s.e.m de 4 déterminations.

Tableau 49 : Activité antispasmodique de l'extrait aqueux de la pulpe des fruits sphériques verts d'argan vis à vis des contractions induites par le BaCl_2 4.10^{-4} M

Extrait aqueux Fruit Vert	n	% Relaxation
4mg/ml	4	84.88 ± 6.06 ^{b,c,d}
2mg/ml	4	62.98 ± 2.40 ^{a,d}
1mg/ml	4	55.75 ± 4.66 ^{a,d}
0.5mg/ml	4	31.14 ± 3.65 ^{a,b,c}

^a indique une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 4mg/ml.

^b indique une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 2mg/ml.

^c indique une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 1mg/ml.

^d indique une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 0.5mg/ml

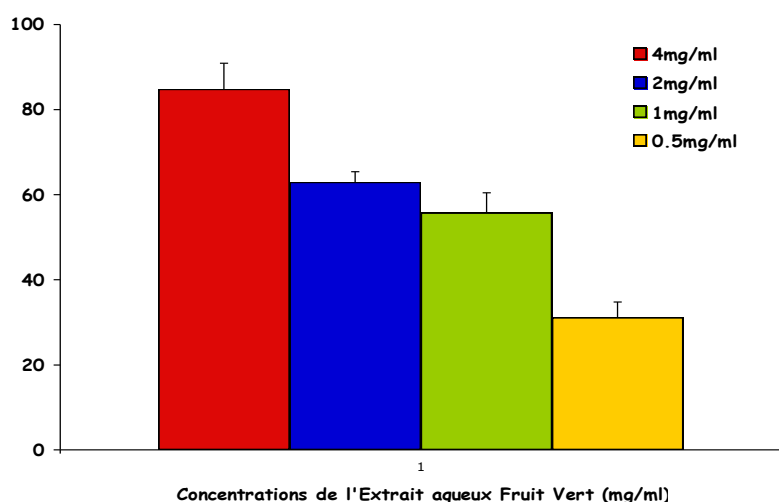


Figure 21 : Jéjunum isolé de rat : activité relaxante de l'extrait aqueux de la pulpe de fruits verts d'argan vis à vis des contractions induites par le BaCl₂ 4.10⁻⁴ M.

En abscisses les concentrations de l'extrait aqueux en mg/ml. En ordonnées le % d'inhibition des contractions induites par BaCl₂ 4.10⁻⁴ M. (moyenne ± s.e.m de 4 déterminations).

A-7.3 Activité de l'extrait aqueux à partir de la pulpe de fruits mûrs

L'extrait aqueux obtenu à partir de la pulpe de fruits mûrs de la noix d'argan est capable d'inhiber les contractions induites par le BaCl₂ 4.10⁻⁴ M sur le jéjunum isolé de rat (tableau 50, figures 22 ;23) mais le profil d'activité relaxante de cet extrait est différent de celui obtenu avec l'extrait aqueux des fruits verts.

L'effet relaxant le plus important, moyenne de 4 mesures 10min après l'administration de l'extrait dans les cuves, est obtenu pour la concentration de 4mg/ml. L'effet relaxant obtenu avec la concentration de 2mg/ml est retrouvé non significativement différent comparativement à l'effet obtenu pour 4mg/ml alors que l'extrait de fruit vert est capable d'entraîner une relaxation significativement plus importante à 4mg/ml comparativement à celle obtenue pour 2mg/ml (tableaux 44 ; 45). De plus, le pouvoir relaxant de l'extrait mûr à 1mg/ml et 0.5mg/ml n'est pas significativement différent alors que l'effet relaxant de l'extrait vert à 1mg/ml est significativement plus important que celui obtenu pour 0.5mg/ml.

Tableau 50 : Activité antispasmodique de l'extrait aqueux de la pulpe de fruits mûrs d'argan vis à vis des contractions induites par le BaCl₂ 4.10⁻⁴ M

Extrait aqueux Fruit Mûr	n	% Relaxation
4mg/ml	4	71.30 ± 3.83 ^{c,d}
2mg/ml	4	62.26 ± 4.85 ^{c,d}
1mg/ml	4	30.76 ± 3.81 ^{a,b}
0.5mg/ml	4	28.54 ± 2.59 ^{a,b}

^a indique qu'il existe une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 4mg/ml.

^b indique qu'il existe une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 2mg/ml.

^c indique qu'il existe une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 1mg/ml.

^d indique une différence significative (Test *t* de Student) comparativement à la valeur obtenue pour 0.5mg/ml

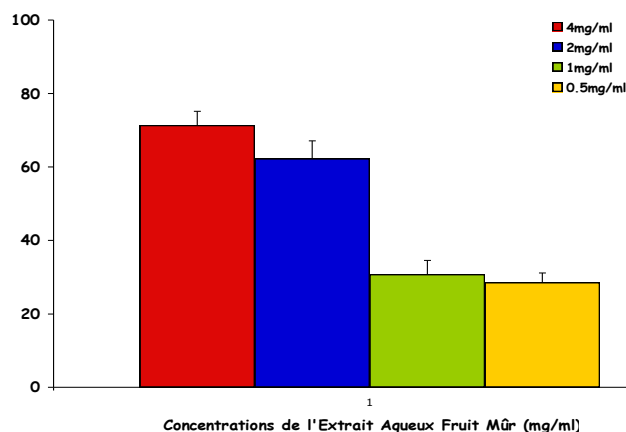


Figure 22 : Jéjunum isolé de rat : activité relaxante de l'extrait aqueux de pulpe de fruits mûrs d'argan vis à vis des contractions induites par le $BaCl_2 4.10^{-4} M$

En abscisses les concentrations de l'extrait aqueux en mg/ml. En ordonnées le % d'inhibition des contractions induites par le $BaCl_2 4.10^{-4} M$. moyenne \pm s.e.m de 4 déterminations.

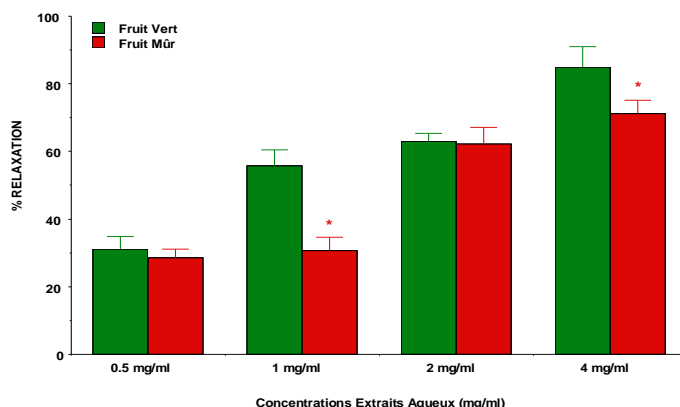


Figure 23 : Jéjunum isolé de rat : activité relaxante d'extraits aqueux de pulpe de fruits mûrs et de fruits verts vis à vis des contractions induites par $BaCl_2 4.10^{-4} M$

* indique qu'il existe une différence significative (test t de Student) comparativement aux valeurs obtenues avec l'extrait aqueux obtenu à partir de la pulpe de fruits verts d'argan.

A-7.4 Conclusion des tests d'activité

L'extrait aqueux de fruit vert présente une activité relaxante notable, supérieure à celle de l'extrait de fruit mur. Ces résultats sont les premiers rapportés dans le domaine pour la pulpe d'arganier.

A l'issue de tests complémentaires, il sera possible d'évaluer le potentiel pour cette application pharmaceutique. Mais c'est un screening d'activité pharmacodynamique qui devra être entrepris afin d'optimiser cette voie de valorisation de la pulpe vers des produits à haute valeur et de rechercher un procédé adapté d'extraction.

Parallèlement une étude plus large permettra de rechercher des phénotypes plus actifs, de concentrer la matière active, et d'établir la structure des composés actifs.

A-8 CONCLUSION - VALORISATION DE LA BIOMASSE D'ARGANIER

Les résultats obtenus à ce stade ont permis d'approcher les difficultés liées à la collecte d'échantillons dans des conditions suffisamment maîtrisées. Les résultats analytiques ont montré l'intérêt de la méthodologie puisque les échantillons de fruits collectés sont significativement différenciés. Le fait d'avoir pu recouper les résultats de la littérature très pointus concernant la relation entre paramètres morpho-biochimiques confirme bien que la pertinence de l'approche choisie, malgré les contraintes.

Il a ainsi été possible non seulement d'obtenir une série d'échantillons de fruits de forme bien définie et parvenus à un même stade de maturité, mais de plus en quantité suffisante pour obtenir ensuite des extraits en quantité suffisante pour satisfaire des investigations analytiques multiples et pour des fractions représentant moins de 1% du poids du fruit frais.

Cette étape franchie, il a donc été possible d'accéder à des résultats relatifs à la composition globale des fruits, à celle de l'huile d'argan et d'autres fractions telles que tourteau et pulpe, et jusqu'au caoutchouc de cette dernière. Mais la tâche est immense dans le domaine analytique, du fait de la richesse au plan chimique, compliquée encore par la diversité phénotypique et par l'influence du terroir, aussi nous n'avons pu que l'effleurer. Afin d'éviter la dispersion des choix ont donc dû être faits.

A ce stade de l'étude, il semble qu'un effet terroir puisse être invoqué pour les proportions de pulpe, de coque et d'amande par rapport au fruit, ainsi que pour le poids moyen de l'amande et pour la lipogénèse dans l'amande et dans la pulpe. Toutefois ces tendances demandent à être approfondies, afin de déconvoluer effet terroir et déterminant phénotypique, mais tous les échantillons n'ont pu être exploités avant remise du rapport.

Pour ce qui est de l'huile d'argan, la proportion d'amande est plus élevée avant pleine maturité et la teneur en huile est aussi la plus élevée dans les fruits jugés les moins murs peu avant leur chute, mais la stabilité oxydative de l'huile est maximale au moment de la chute. Il y a donc

La forme du fruit a une influence notable sur la teneur en sucres de la pulpe mais aussi sur la teneur en matière azotée (protéines) qui est de 50% plus élevée dans la pulpe des fruits de type apiculé par comparaison aux fruits ronds. Les lipides représentent toujours plus de la moitié de l'extrait hexanique de la pulpe et en sont donc un composant notable, pouvant atteindre 8% de la pulpe sèche; le polyisoprène reste en deça de 4%.

L'huile d'argan quant à elle est plus riche en acide oléique pour le type apiculé par comparaison au type sphérique. Evidemment ces tendances méritent d'être confirmées par une étude sur une population plus large.

Au plan technologique, les résultats les plus marquants portent sur l'efficacité d'une étape de filtration dans des conditions déterminées pour améliorer la qualité microbiologique de l'huile et sur la nécessité d'utiliser des contenants en matériau adapté (acier inox) pour les opérations en atelier d'extraction, pour le stockage et bien sûr pour la commercialisation, les bidons de récupération à l'origine de la pollution par des phtalates étant à proscrire. Ces précautions sont indispensables aussi bien pour améliorer la qualité du point de vue alimentaire que pour répondre aux débouchés nouveaux en cosmétique.

Le tourteau a confirmé son intérêt comme source de matière azotée (protéines) et de matières minérales. Comme pour les autres fractions du fruit, la proportion de certains composants peut varier de 50% suivant l'origine des échantillons.

La diversité de composition chimique de la pulpe, jusqu'à ce jour peu étudiée, ne permet évidemment pas de prétendre à une vision exhaustive. Mais des actions exploratoires ont été menées dans plusieurs directions :

- la fraction volatile, sa relative richesse est confirmée, pour l'instant sans viser un composé majoritaire d'un intérêt particulier, mais elle est intéressante pour ses propriétés aromatiques,
- les polysaccharides de structures et sucres solubles, confirmant la richesse de la pulpe ; des composés de cette série ont été proposés comme marqueurs de l'évolution de la maturité dans les jours ou semaines précédant la chute des fruits,
- l'extrait aqueux, pour lequel une activité intéressante en relaxation musculaire a été découverte, il est encore tôt pour envisager des applications, mais des tests complémentaires sont en cours,
- la fraction polyisoprénique à laquelle la priorité a été donnée, à la suite des premiers résultats obtenus, qui ont permis de confirmer la prépondérance de la forme polyisoprénique trans analogue à la gutta percha.

Pour cette dernière fraction (pulpe), plusieurs possibilités d'applications industrielles sont entrevues, répondant à une demande actuelle, pour la substitution de composants de synthèse par des produits d'origine naturelle ou comme gomme à mâcher (schewing gum). Cette fraction pourrait en effet ouvrir -peut-être plus rapidement que dans le cas de la pharmacie- vers une exploitation de ces fonctionnalités.

Les nombreuses observations au plan chimique conduisent à un questionnement au sujet de l'évolution de la composition du fruit au cours de la période précédant leur chute. Il y a une lacune dans ce domaine, nos rares prédécesseurs dans l'étude de l'influence du paramètre chronologique s'étant focalisés sur l'ensemble de la période de fructification, donc avec un pas de temps trop grand pour pointer l'intérêt de cette étude que nous devons souligner.

La valorisation économique de l'arganier par le biais de ses produits est un moyen de relancer durablement une foresterie rurale intégrative. L'arganier fournit une alimentation au bétail (un million de ruminants s'en nourrissent), du bois pour le feu et la menuiserie, une huile alimentaire diététique et recherchée par l'industrie cosmétique pour ses effets bienfaisants mais aussi pour l'image attachée à l'arganier, à son huile et à son environnement. Malgré ces divers usages que l'on peut qualifier de « traditionnels » l'arganier reste insuffisamment exploité. En effet il possède des potentialités jusque-là inconnues ou à peine entrevues et leur mise à jour devrait donner à cet arbre un nouvel essor dans son contexte spécifique au Maroc, environnemental, social, économique et culturel.

Evidemment l'objectif de tirer profit à grande échelle de ces propriétés suppose la mise au point d'itinéraires techniques nouveaux par rapport à la filière actuelle de l'arganier, notamment des pratiques et procédés adaptés optimisant les teneurs et préservant les propriétés des composés naturels et viables au plan environnemental, économique, social.

Les aspects liés à la qualité et au procédé sont considérés ci-après, dans la deuxième partie du rapport.

PARTIE B

B – PROCÉDES ET DETERMINANTS DE LA QUALITE DES PRODUITS

B-1. FILIERE ACTUELLE HUILE D'ARGAN – AMELIORATION DES PROCÉDES

B-1.1 Stabilisation et stockage des fruits

a) Comparaison des propriétés des huiles de fruits frais et de fruits secs

Les fruits ont été prélevés juste après leur chute dans une forêt protégée (commune rurale de Tiout) en Juin 2006, puis en juin 2007 pour vérification. Ils ont été mis à sécher à l'air libre, comme le font généralement les autochtones. Des prélèvements ont été effectués toutes les semaines pendant 4 semaines : S0 , S1, S2, S3 et S4. Les fruits sont dépulvés, concassés et les graines broyées et extraites à l'hexane. Le rendement en huile est déterminé et l'huile produite est analysée pour évaluer ses caractéristiques physico-chimiques (acidité, indice de peroxide, extinction spécifique à 270 nm) ainsi que sa composition en acide gras. La stabilité oxydative est déterminée par la méthode du Rancimat à 110°C. Toutes les analyses ont été effectuées selon les normes décrites dans l'article [Hilali et al 2005] du partenaire FS-UMV.

Les résultats montrent que le séchage solaire des fruits réduit fortement la teneur en eau initiale des graines ($17,33 \pm 0,35\%$) à $3,62 \pm 0,04$, $2,74 \pm 0,05$, $2,42 \pm 0,14$, $2,28 \pm 0,11\%$, de S1 à S4.

Cela facilite ensuite le dépulpage et augmente le rendement en huile. L'huile produite à partir du fruit à S0 a une teneur en eau plus élevée ce qui va augmenter son acidité.

La teneur en huile varie de 52 % pour S0 à 55% pour S2. L'acidité s'améliore avec la durée séchage (1.1 pour S0 à 0.1% pour S4). Il en est de même pour l'indice de peroxyde (de 8.2 pour S0 à 2.1 meq O₂/kg pour S4). L'extinction spécifique à 232 et 270 nm (K₂₃₂ and K₂₇₀) varie très peu en fonction du temps.

La stabilité oxydative de l'huile dépend de la durée du séchage. Le temps d'induction varie de 7.9h pour l'huile S0 à 35h pour S1, pour les 3 autres il varie entre 25 et 20 h.

La composition en acide gras de ces huiles varie très peu en fonction du temps.

Le dépulpage du fruit testé à l'aide d'une machine fabriquée localement, montre qu'il est très difficile de dépulper le fruit frais avec cette machine ; le rendement en fruits dépulvés augmente avec la durée du séchage, de 71% pour S1 à 92% pour S4.

Le séchage est donc une étape nécessaire pour la production de l'huile d'argane. Il peut se faire de la façon traditionnelle, d'autant plus que la récolte des fruits se fait en juin et juillet, moment où la température avoisine 40°C dans les régions où pousse l'arganier. Les résultats obtenus montrent que le séchage solaire des fruits de l'arganier entraîne une diminution notable de la teneur en eau des graines et augmente la stabilité de l'huile produite. Le dépulpage est facilité par le séchage. L'huile obtenue est de meilleure qualité (faible taux d'acidité et d'indice de peroxyde), mais nous avons noté une baisse de la résistance à l'oxydation au-delà lors d'une exposition solaire prolongée. D'après cette expérimentation, nous recommandons de limiter le séchage à 2 - 3 semaines.

b) Comparaison des propriétés de l'huile issue de fruits secs stockés 24 mois

Les fruits récoltés en juin 2006 dans la commune rurale de Tiout ont été séchés et divisés en deux lots. Un lot a été dépulvé et l'autre entreposé sous forme de fruit entier. Le stockage a été réalisé sous forme de 6 lots de 20kg de fruit séché et 6 lots de 10 kg de noix, dans un endroit sec utilisé pour cet usage par la coopérative Taitmatine à Tiout (Province de Taroudant). Des prélèvements ont été effectués de chaque lot tous les 4 mois. Les amandons obtenus sont broyés et extraits au Soxhlet à l'hexane. Les caractéristiques de l'huile (indice de peroxyde (IP), acidité, extinction spécifique à 270 nm, Rancimat, composition en acides gras) ont été évaluées.

Les résultats montrent que le stockage des fruits et des noix pendant 24 mois ne nuit pas à la qualité de l'huile extraite. L'acidité oléique et l'IP ne dépassent pas 0.4 % et 5 meq d'O₂/kg respectivement. L'extinction spécifique à 270 nm ne dépasse pas 0.24 et le Rancimat indique une durée d'induction de 16h. La composition en acides gras ne varie pas non plus avec la durée de la conservation.

On peut donc conclure que les fruits et les noix peuvent être conservés pendant 24 mois et nous recommandons de stocker les noix plutôt que les fruits entiers. La qualité de l'huile ne sera pas affectée mais on gagne de l'espace dans l'entrepôt.

Cette étude sera poursuivie pendant un an au-delà de la durée du projet. L'analyse des résultats devrait permettre de déterminer s'il est préférable d'entreposer les noix dépulvées ou les fruits entiers et la durée de la conservation à recommander.

c) Propriétés des huiles en fonction du type et de durée de stockage d'amandons

Des échantillons de 200g d'amandons provenant du lot de fruits de Tiout (juin 2006) sont stockés à température ambiante dans des sacs blancs (ASB) et noirs (ASN) et au réfrigérateur à 4°C. Des échantillons sont prélevés chaque mois. L'huile obtenue par extraction à l'hexane des graines broyées est analysée.

Les résultats (tableau 51) montrent que la conservation des graines dans des sacs blancs ou noirs à température ambiante et la conservation des sacs blancs à 4°C n'affectent pas significativement le rendement et la qualité de l'huile extraite. Le rendement est de 52 à 54% pour toute la durée. L'acidité varie entre 0.1 et 0.35% pendant les 6 mois. L'IP quant à lui augmente légèrement, sans dépasser 4 meq d'O₂/kg. L'extinction spécifique à 270 nm ne dépasse pas 0.16 et celle à 232nm ne dépasse pas 1.3. Le Rancimat indique une diminution peu significative, restant supérieur à 25h, et la composition en acides gras ne varie pas.

On peut donc conclure que l'huile extraite à partir des amandes conservées pendant 6 mois dans des sacs blancs ou noirs à température ambiante et celle à partir des sacs blancs à 4°C ont les caractéristiques d'une huile extra vierge.

Cependant cette expérience a été effectuée avec des lots de 200 g et mérite d'être menée à l'échelle réelle (lots de 20 kg). Nous recommandons toute fois de ne pas dépasser six mois entre le concassage et le pressage.

Tableau 51 : Propriétés de l'huile en fonction du stockage des amandons (6 mois)

		Sac Blanc Temp. ambiante	Sac Noir Temp. ambiante	Sac blanc 4°C
Acidité (%)		0,28	0,31	0,14
Indice de peroxyde (meq O2/kg)		1,54	1,25	1,19
Extinction UV	232 nm	1,43	1,26	1,21
	270 nm	0,23	0,22	0,13
Rancimat à 110 °C (h)		25	28,5	27
Composition en acides gras (%)	Oléique	47,4	47,2	47,8
	Linoléique	31,1	31,5	30,5

B-1.2 Amélioration des procédés actuels d'extraction de l'huile

a) Dépulpage mécaniques

Nous n'avons pu tester qu'un type de dépulpeur, le seul existant sur le marché, de fabrication locale, composé d'un tambour pour le dépulpage et d'une soufflerie pour séparer la pulpe de la noix.

Le rendement de dépulpage est calculé par la formule suivante :

$Rdt = (masse\ totale\ des\ fruits - masse\ des\ fruits\ non\ dépulpés) / masse\ totale\ des\ fruits.$

D'une manière générale les fruits dépulpés directement après la sortie du stock de matière première sont plus humides, le rendement de dépulpage est entre 40 et 45 %. Pour les fruits dépulpés après une journée de séchage après la sortie du magasin, le rendement moyen est de 80% et peut atteindre 95% si la température est élevée et si le séchage est prolongé.

Le problème rencontré pour la majorité des machines testées est le triage nécessaire après le dépulpage. En effet dans la plupart des cas le pourcentage de fruits dépulpés est de 80% et les fruits non dépulpés doivent être triés manuellement. Le temps de triage peut dépasser 18 min pour 20 kg de fruits.

Les fruits gaulés sont difficilement dépulpés par le dépulpeur et le rendement moyen est de 51%.

Nous recommandons de dépulper en été et de stocker les noix au lieu du fruit puisque cette opération n'affecte pas la qualité de l'huile d'argane. En cas d'achat de fruit, nous sécherons de sécher les fruits 2 à 3 jours avant le dépulpage.

b) Extraction de l'huile d'argan - Optimisation du pressage

Les presses utilisées dans ce travail sont de type KOMET DD 85 à 2 têtes ainsi que des presses analogues de fabrication marocaine de la société SMIR (photo /figure 24). Certains industriels travaillent avec des presses « huilerie artisanale » de la Mécanique Moderne et les tests sont en cours de réalisation Il existe sur le marché des presses fabriquées en Chine mais nous n'avons pas pu faire les tests.

Les presses à vis sans fin KOMET ne nécessitent pas de maintenance particulière. Les graines oléagineuses sont pressées en douceur sans être triturées. De ce fait elles ont été installées dans les toutes premières coopératives féminines d'huile d'argane par les promoteurs du projet. Le tourteau sortant sous forme de « boudin » facilement stockable et transportable constitue un autre atout.

La tête de presse se compose d'une vis, d'un vérin de pressage, d'un écrou d'assemblage, d'une tête de pressage et d'une buse. L'écrou de pressage est thermostaté par un anneau de chauffage qui va permettre l'éclatement des cellules oléagineuses des graines (figure 25).

Afin d'optimiser l'extraction par pressage mécanique nous avons fait varier plusieurs paramètres :

- le pas de la vis
- la température du chauffage
- la buse de sortie du tourteau
- la vitesse de rotation du moteur

Pour chaque test le taux d'huile résiduelle dans le tourteau est déterminé. L'huile obtenue par pressage mécanique, fortement chargée, nécessite une décantation avant la filtration.

Les paramètres de pressage dépendent beaucoup de l'usure de la presse. Pour les 2 types alimentaires et cosmétiques, la vis utilisée est la R 8, car la R 11 a provoqué des blocages de la presse (certaines coopératives utilisent la R11). Le rendement en huile augmente avec le chauffage pour des températures allant de 70 à 130°C et diminue avec le diamètre de la buse.



Figure 24 : Presse à vis KOMET



Figure 25 : Vue détaillée des composants d'une presse à vis

Plusieurs essais ont été faits avec des graines torréfiées dans le cas de l'huile alimentaire et non torréfiée pour l'huile cosmétique (moyenne des résultats dans le tableau 52), sur une machine agée de six mois, à une température de chauffage de la tête de presse de 70°C pour les huiles à usage cosmétique et de 90°C pour les huiles alimentaires.

Les teneurs du tourteau en huile résiduelle sont respectivement de 5 et 7.5 % à 70 et 90°C. Plus la machine vieillit, plus elle est usée et plus la température de chauffe est élevée.

Le pressage de 34 kg de graines nécessite 6h25 avec la buse N°6, à une vitesse en position 3. La température de la tête de presse est de 120 °C et celle de l'huile en sortie de presse de 61°C. La masse de l'huile non filtrée est de 19,5 Kg ce qui représente un rendement brut de 57.3% ; la matière solide dans l'huile (ou tarte) représente 7,4 % et le tourteau d'extraction renferme encore 14% d'huile

A partir de la même quantité de graines et dans les mêmes conditions que ci-dessus, les vitesses 1 et 2 ont donné un rendement similaire (55.3 et 55,2%). Mais le temps nécessaire pour 34 kg est 8h45 à la vitesse 1 et 7h15 à la vitesse 2. Les essais effectués à Agadir et dans la province de Taroudant ont donné les mêmes résultats

Tableau 52 : Récapitulatif des résultats de pressage (KOMET)

	Alimentaire	Cosmétique
Masse d'amandes	34	20
Vis et Buse	R 8 et 6	R8 et 6
Température de chauffe tête de presse (°C)	120	90
Température de l'huile sortie de la presse (°C)	61	54
Vitesse du moteur et Temps d'extraction	3 ; 6h25	1 ; 4h30
Masse d'huile non filtrée (kg)	19.5	12.30
Rendement d'extraction (%)	57.3	61.5
Teneur de la matière solide dans l'huile (%)	7.4	4.3
Huile résiduelle dans le tourteau (%)	14	7
Acidité oléique (%)	0.3	0.3
Indice de peroxyde (meq O2/kg)	4.0	4.2
Extinction spécifique à 270nm	0.21	0.21
Acide oléique (%)	46.2	43.9
Acide linoléique (%)	32.4	34.4

c) Optimisation de la filtration de l'huile

Il existe plusieurs filtres-presses sur le marché, des plus petits à 12 plaques (20 x 20 cm) à des filtres plus grands avec plus 20 plaques de 40 x 40 cm. Plus la surface filtrante est grande et meilleure est l'opération.

Afin d'augmenter la surface filtrante certains producteurs utilisent des terres filtrantes. Ces terres sont utilisées à des pourcentages assez faibles (1 à 2%) et ils améliorent nettement la filtration en donnant une huile limpide.

Les essais réalisés sur un filtre-presse de 20 plaques de 40x40cm sont regroupés dans le tableau 53.

Tableau 53 : Essais de filtration d'huile d'argan obtenus par pression

Type d'huile	Graines pressées (kg)	Huile juste après pressage (kg)	Huile filtrée (kg)	Rendement de filtration (%)
Alimentaire	40.00	23.00	19.5	84,8
Cosmétique	40,00	24.5	21.5	87.7



Figure 26 : Filtre-presse

Nous recommandons :

- de laisser décanter l'huile après pressage dans des fûts en acier inox, l'huile non décanquée colmatant assez rapidement le filtre presse,
- d'utiliser des terres filtrantes pour l'huile à usage cosmétique. Pour cela il faut mélanger l'huile décanquée à la terre filtrante. Faire passer le mélange pendant un certain temps, en boucle, jusqu'à ce que les filtres se saturent et commencer à recueillir l'huile dès qu'elle est parfaitement limpide.

d) Influence de la durée de la torréfaction sur la composition chimique de l'huile

Pour cette étude nous avons travaillé avec le même lot de graines que précédemment et nous l'avons torréfié dans un torréfacteur en inox chauffé par du gaz. La température de torréfaction est de 100°C. La durée varie de 0 à 45 min par intervalles de 15 min. Les graines sont pressées à l'aide d'une presse Komet, les huiles sont décantées, les surnageants récupérés après 15 j. Les huiles sont notées HP0, HP15, HP30 et HP45 pour respectivement les temps de torréfaction de 0, 15, 30 et 45 min.



Figure 27 :
Torréfacteur artisanal

Tableau 54 : Activité de l'eau de l'huile d'amandes récoltées à l'IAV-Agadir en fonction de la durée de torréfaction

Durée de torréfaction (min)	0	15	30	45
Activité Aw	0,356	0,299	0,294	0,293
Ecart type	0,03	0,01	0,00	0,01
Température de mesure (°C)	21,3	21,6	21,5	21,7
Ecart type	0,21	0,17	0,53	0,06

L'activité de l'eau en liaison avec la stabilité au stockage d'amendons se trouve abaissée légèrement. La détermination du temps d'induction au Rancimat à 110°C montre clairement que la stabilité oxydative augmente entre 0 et 30 min et diminue pour 45 min. En effet les temps d'induction varient de 18h pour une huile non torréfiée à 38h pour une huile torréfiée 30 min. Ce temps diminue à 31 h quant la torréfaction est de 45 mn.

Pour un consommateur, la stabilité de l'huile n'est pas le seul critère d'achat, il faut aussi associer les propriétés organoleptiques et la couleur. Il est donc difficile de recommander un temps de torréfaction *a priori*.

L'acidité, l'extinction spécifique à 232 et 270nm, la teneur en phosphore et en polyphénol des huiles augmentent avec la torréfaction.

La composition en acides gras varie mais pas d'une façon uniforme, alors que les tocophérols totaux diminuent légèrement de 721 mg/kg pour HP0 à 707 pour HP45.

Contrairement à ce que l'on pourrait attendre, la torréfaction augmente la stabilité de l'huile d'argane en plus de sa grande influence sur les propriétés organoleptiques.

B-1.3 Amélioration de la conservation de l'huile

Des huiles d'argane ont été préparées par différentes méthodes d'extraction à partir d'un même lot de fruits récoltés dans la région de Taroudante en 2006. Les fruits ont été dépulpés et concassés pour en retirer les graines qui vont servir à la préparation de l'huile HPA, HPC et HAA. HPA est obtenue par pressage mécanique des graines torréfiées, HPC à partir des amendons non torréfiés, HAA par le procédé artisanal.

Pour l'obtention de HCA, les fruits ont été donnés aux chèvres et les noix régurgitées par les chèvres ont été ramassées, concassées et extraites artisanalement.

Les quatre huiles d'argane ont été soumises à une analyse complète à l'arrivée (J=0) au laboratoire selon des méthodes normalisées : acidité, indice de peroxyde, humidité, impureté, degré de rancissement, acides gras, tocophérols, stérols, diènes conjugués. Les résultats sont regroupés au tableau 55.

Tableau 55 : Caractéristiques des huiles d'argan en fonction du procédé

	Huile traditionnelle chèvre	Huile artisanale	Presse alimentaire	Presse cosmétique
Acidité (%)	0.86	0,17	0,2	0,25
Indice de peroxyde (mécO2/kg)	1.48	0,92	0,5	0.93
Humidité (%)	0,112	0,09	0,04	0.1
Impuretés (%)	1,97	2,29	1,724	0,7
Phosphore (ppm)	7,94	2,07	3,43	3,4
Indice de saponification	190	188	187,6	189,8
Indice d'iode	96,8	102,34	97,74	102.23
Insaponifiable (%)	0.6	0.97	0.7	0.86
Indice réfraction	1,468	1,468	1,4685	1,469
Transmission 420nm	22	23	3	41,5
Densité à 18°C	0,917	0,914	0,916	0,917
indice de rouge	3,5	3,3	7,7	1.5
indice de jaune	21,3	20,6	39	9.9
indice de bleu	1,1	0,6	0	0.0
E(232)	1,0225	1,229	1,058	1.243
E(270)	0,171	0,260	0,182	0.161

a) Résistance à l'oxydation de l'huile en fonction de la méthode d'extraction

Afin de déterminer la stabilité des huiles d'une façon rapide on utilise la technique du Rancimat qui consiste à vieillir prématurément les huiles par chauffage. Les produits de dégradation apparaissant sont expulsés par un courant d'air et transférés dans la cellule de mesure remplie d'eau distillée. Le temps d'induction est déterminé par conductimétrie. L'oxydation accélérée par le Rancimat à 110°C montre que la stabilité oxydative de l'huile de pression non torréfiée HPC présente la valeur moyenne la plus faible (12h), suivie des huiles obtenues par des méthodes artisanales : l'huile HCA, obtenue à partir des noix régurgitées par les chèvres (14h) et l'huile HAA, obtenue par le procédé artisanal (16h). La valeur la plus élevée de stabilité oxydative est enregistrée pour HPA obtenue par presse mécanique à partir d'amandes torréfiées (33h), illustrant donc l'effet positif du processus technologique sur la teneur en antioxydants naturels.

La figure 28 donnant le temps d'induction mesuré à 110°C montre que d'une part la torréfaction augmente la stabilité de l'huile d'argan et d'autre part l'extraction artisanale et l'utilisation de noix régurgitées par les chèvres la diminuent.

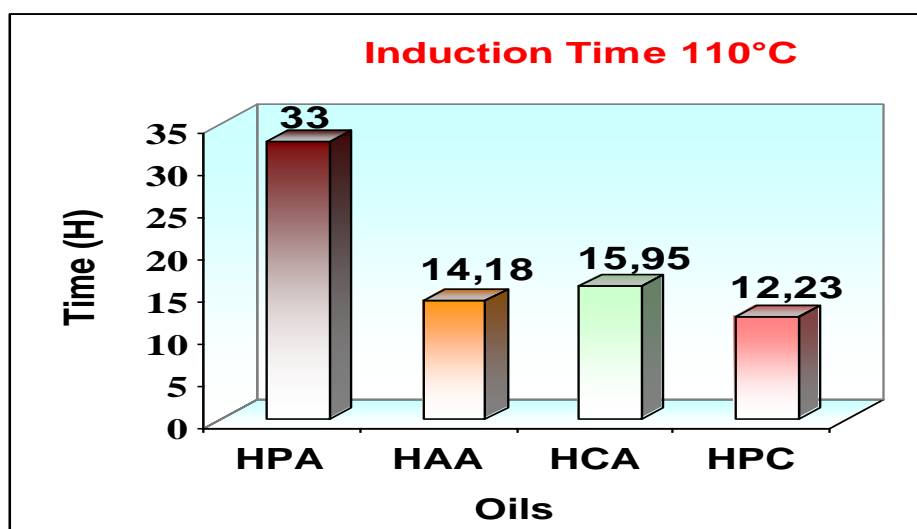


Figure 28 : Temps d'induction au Rancimat en fonction du procédé de production des huiles

b) Conservation de l'huile en fonction du stockage

Les huiles précédemment obtenues ont été mises dans des flacons de 60 mL blancs ou bruns et stockés dans différentes conditions :

- En réfrigérateur à 4°C dans des bouteilles transparentes
- A la lumière du jour et température ambiante dans des bouteilles transparentes
- A la lumière du jour et température ambiante dans des bouteilles teintées
- En étuve à 40 °C dans des bouteilles transparentes.

Un flacon de chaque groupe est prélevé chaque mois et analysé (indice de peroxyde et acidité) pour déduire la durée de conservation maximale de chaque huile.

En effet l'indice de peroxyde (IP) est un critère de qualité d'une sensibilité satisfaisante pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative. Il est utilisé pour estimer la date limite de conservation d'une huile. L'IP initial de nos échantillons est faible : 1,48 méqO₂/kg pour l'huile HCA, 1.04 méqO₂/kg pour l'huile HAA, 0.92 méqO₂/kg pour HPC et 0.5 méqO₂/kg pour l'huile HPA. La valeur maximale a été enregistrée dans l'huile HCA ce qui explique que l'oxydation primaire a déjà commencé. Celle ci peut être améliorée par l'emploi d'une bonne pratique de fabrication et d'hygiène. Le seuil limite d'oxydation de l'huile d'argan est de 20 méq(O₂)/kg selon la norme marocaine et européenne.

Après trois mois de stockage, on remarque que l'oxydation a commencé pour l'huile HPC, suivie des huiles traditionnelles (HCA et HAA). En dernier lieu, on trouve l'huile HPA. En ce qui concerne les conditions de stockage, le processus de formation des hydroperoxydes est plus intense pour le stockage à 40°C dû à l'effet de la chaleur sur l'oxydation, suivi par le stockage dans des bouteilles transparentes stockées à 25°C, enfin par les bouteilles brunes à 25°C à la lumière du jour.

Après six mois de stockage, l'IP a augmenté dans tous les échantillons, HAA, HCA et HPC, sauf HPA qui n'a connu qu'une légère évolution dans toutes les conditions de stockage.

A 40°C, l'IP de HAA et HCA est de 6,88 et 7.34 méqO₂/kg respectivement. Il est moins intense à 25°C dans des bouteilles transparentes (5.27 méq(O₂)/kg pour HAA et 5.75 méq(O₂)/kg pour HCA). A la même température mais dans des bouteilles brunes cet indice chute à 3.89 et 4.9 méqO₂/kg pour les huiles HCA et HAA. Ceci démontre clairement l'effet néfaste de la lumière sur la conservation de l'huile d'argane.

L'huile HPC est celle qui se conserve le moins bien de toutes les huiles. En effet, pendant les six mois de conservation l'IP varie de 0.92 à 10.35 méqO₂/kg à 40°C ; de 0.92 à 9.9 méqO₂/kg à 25° dans des bouteilles transparentes, et de 0.92 à 4.96 méqO₂/kg à 25° dans des bouteilles brunes.

La limite autorisée par la législation européenne et marocaine est de 20 méqO₂/kg. Elle est atteinte pour les huiles conservées en étuve à 40°C à partir de 10 à 12 mois de stockage pour l'huile HPC ; 12 à 14 mois pour les huiles produites par des méthodes traditionnelles HAA & HCA. Quant à l'huile HPA, celle-ci n'a subi qu'une légère évolution pendant toute la durée de stockage. Elle reste alors acceptable dans la limite autorisée par la législation et varie de 0.5 à 16.3 méqO₂/kg en 2 ans.

Par ailleurs, le stockage dans des bouteilles brunes a induit aussi une évolution pour HPA mais cette dernière reste faible par rapport au stockage en flacon transparent. Les échantillons conditionnés dans des bouteilles brunes ont donc montré une meilleure stabilité oxydative tout au long de leur stockage par rapport à ceux exposés à la lumière du jour dans des bouteilles transparentes et les meilleures conditions de stockage ont été observées à 4°C.

Pour conclure, les huiles d'argan produites par les méthodes artisanales que soit l'huile HCA (huile obtenue à partir des noix régurgitées par les chèvres) ou l'huile HAA (huile traditionnelle) ont une stabilité de 18 mois à la température de 25°C et de 14 mois à 40°C.

L'huile d'argan torréfiée produite par pressage mécanique en respectant les bonnes pratiques de fabrication et d'hygiène se conserve nettement mieux que HCA, HAA et

HPA. Elle peut se conserver jusqu'à deux ans à 25°C dans des flacons transparents ou à 40°C à l'abri de la lumière. Dans des flacons bruns, sa stabilité est supérieure à 2 ans.

L'huile de presse à usage cosmétique se conserve moins bien. En plus de cette expérience nous avons étudié la stabilité accélérée à 60°C dans des flacons bouchés de 60 mL transparents via l'indice de peroxyde. Le résultat, illustré sur la figure 29, montre clairement la meilleure stabilité de l'huile de presse alimentaire par rapport aux huiles cosmétique, artisanale et à l'huile traditionnelle (« de chèvre »).

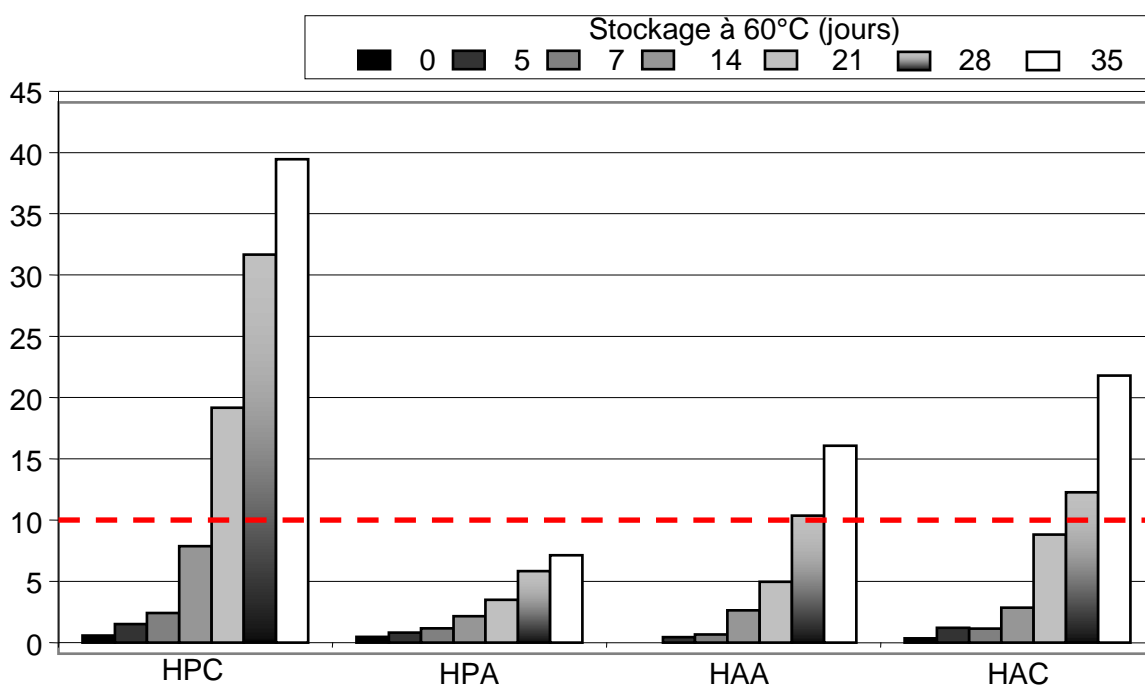


Figure 29 : Indice de peroxyde en fonction du temps de conservation de l'huile à 60°C

B-1.4 Conclusion - Possibilités d'amélioration des procédés actuels

Nos résultats après étude des paramètres influents à chaque étape du procédé de production du fruit au stockage de l'huile d'argan, conduisent à émettre les recommandations suivantes :

- Le séchage solaire des fruits de l'arganier entraîne une diminution notable de la teneur en eau des graines et augmente la stabilité de l'huile produite (faible acidité et indice de peroxyde).
- Le dépulpage est facilité par le séchage, mais nous avons noté une baisse de la résistance à l'oxydation au-delà lors d'une exposition solaire prolongée. La durée du séchage devrait être limitée à 2 - 3 semaines.
- Les fruits et les noix peuvent être conservés pendant 24 mois sans affecter la qualité de l'huile ; il est recommandé de stocker les noix plutôt que les fruits entiers afin de gagner de l'espace dans l'entrepot.
- L'opération étant facilitée par une faible humidité des fruits, il est recommandé de dépulper en été et de stocker les noix. En cas d'achat de fruits, les sécher durant 2 à 3 jours avant le dépulpage.
- Les conditions de stockage des amendons (lumière, température), après séchage suffisant, n'affectent pas la qualité de l'huile
- Des conditions acceptables ont été déterminées pour une presse d'usage courant dans les ateliers artisanaux, pour une huile à usage alimentaire et une huile cosmétique.
- L'opération de filtration dans des conditions soignées est indispensable. Laisser décanter l'huile après pressage dans des fûts en acier inox, l'huile non décantée colmatant assez rapidement le filtre-presse.
- L'utilisation de terre filtrante est recommandée pour l'huile à usage cosmétique. Mais l'huile de presse à usage cosmétique se conserve nettement moins bien que l'huile alimentaire de presse, ce qui incite à poursuivre les recherches en vue d'améliorer la situation, même si les utilisateurs-formulateurs sont à même de pallier cet état de fait.
- L'huile artisanale pour l'alimentation est la plus apte au stockage. Les meilleures conditions de stockage ont été obtenues à 4°C, suivi du stockage à 25°C dans des bouteilles brunes. La température ambiante en été (40°C) ou la lumière même à 25°C accélèrent la détérioration de l'huile d'argan. La torréfaction des amandes, pratiquée pour la production d'huile alimentaire afin d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, augmente aussi la stabilité de l'huile d'argane.

Après avoir étudié les méthodes de production de la filière actuelle, orientée vers la seule production d'huile d'amande, la partie ci-après expose les résultats obtenus dans la perspective d'une filière nouvelle qui serait orientée vers la valorisation concomitante de l'amande et de la pulpe ; riche en eau, cette dernière paraît plus fragile en raison de la possibilité de dégradation par des agents biologiques et chimiques, ce qui incite à revisiter la suite des opérations dès la collecte des fruits elle-même.

B-2. PROCÉDE POUR LA VALORISATION DU FRUIT ENTIER

B-2.1 Essais de séchage des fruits

Les essais de séchage ont été réalisés en deux temps, sur place à Agadir, afin de stabiliser les fruits juste après la récolte et avant transport comme déjà expliqué, puis dans la halle de technologie du Cirad à Montpellier.

a) Séchage des fruits et pulpes en tunnel ventilé non chauffé (IAV-Agadir)

Les essais ont été réalisés sur des fruits frais entiers et sur des pulpes. Il s'agit de fruits de formes variées vue la taille de l'échantillon à collecter, par contre les pulpes étant destinées à l'analyse sont des lots de forme bien typée. L'appareillage de séchage solaire construit à l'IAV-Agadir est décrit au paragraphe A-2.3 page 31 [Buland 2008].

On observe (figure 30) que seule la masse des pulpes s'est stabilisée après une perte supérieure à 60%. Pour les fruits entiers, la perte moyenne est de 45% /frais.

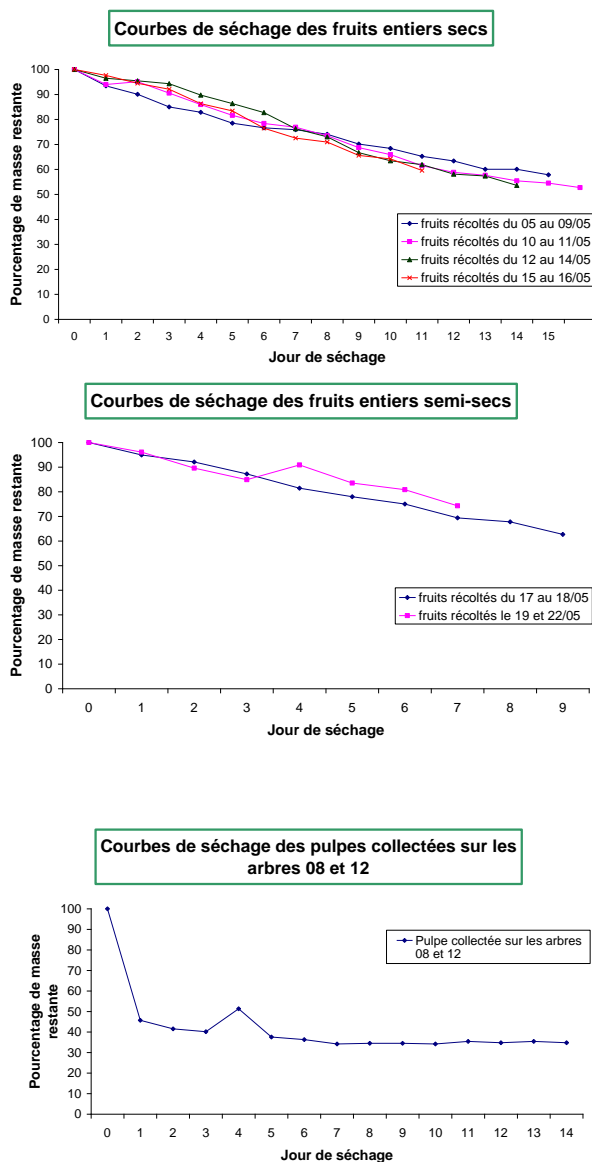


Figure 30 : Cinétique de séchage solaire des fruits et pulpes en tunnel
(fruits de formes mélangées ; perte exprimée en % / poids initial de l'échantillon frais)

On a recherché aussi à sécher partiellement certains lots, afin de trouver un compromis entre la durée du séchage et la stabilisation du produit qui était l'un des objectifs de l'opération. Pour le stade semi-sec donc, la perte est comprise entre 20 et 30%, c'était le résultat recherché. La cinétique relative aux fruits secs montre une certaine variabilité de la pente à l'origine par exemple, ce qui est dû au fait que les essais ont été débutés à des dates différentes et se sont donc déroulés dans des conditions climatiques différentes.

On constate sur la plupart des courbes (figure 30) un petit pic, bien visible dans le cas des pulpes car elles étaient déjà sèches, correspondant à la reprise d'humidité à cause de la pluie qui est tombée dans la nuit du 15 au 16 Mai 2008.

On peut conclure que ce système de séchage, bien que rudimentaire, permet de sécher des pulpes en trois ou quatre jours. Par contre le séchage des fruits entiers jusqu'à poids constant durerait environ quinze jours (on peut voir que les fruits récoltés entre le 05 et le 11 Mai 2008, commençaient à stabiliser leur masse).

Ce résultat, obtenu sur la plage d'amplitude quotidienne d'ensoleillement sur le site, nous rassure quant à la perte de poids qui a pu s'opérer entre la chute des fruits sur le film plastique et la collecte quotidienne. En effet selon cette cinétique on peut attendre une perte de l'ordre de ~5% (seulement) le premier jour. Il s'agit là d'un maximum du fait que les fruits tombés durant la nuit juste après la collecte sont soumis à des températures assez clémentes, et que durant la journée ils sont en général à l'ombre de l'arbre et sans ventilation forcée.

b) Séchage en four électrique au Cirad

Il a été possible de suivre la cinétique du séchage pendant 29 heures en séchoir électrique ventilé sans recirculation de l'air, à 4°C. La cinétique de séchage peut être reproductible dans quelques cas seulement et est principalement liée aux conditions de transport, certains fruits étant restés dans le jus exsudé et d'autres non.

La perte de masse pour la pulpe fraîche est comprise entre 70,1 et 73,0%, soit en moyenne 71,6%. Pour des fruits murs la perte en eau était comparable. Les fruits collectés avant la chute, non arrivés à maturation complète, perdent entre 75,2% et 82,4%, donc plus que les fruits murs (cinétique de séchage sur figures 31 à 33) [Pingret de Souza 2008].

Figure 31: Séchage de pulpe de fruit mur apical et de fruit mur fusiforme

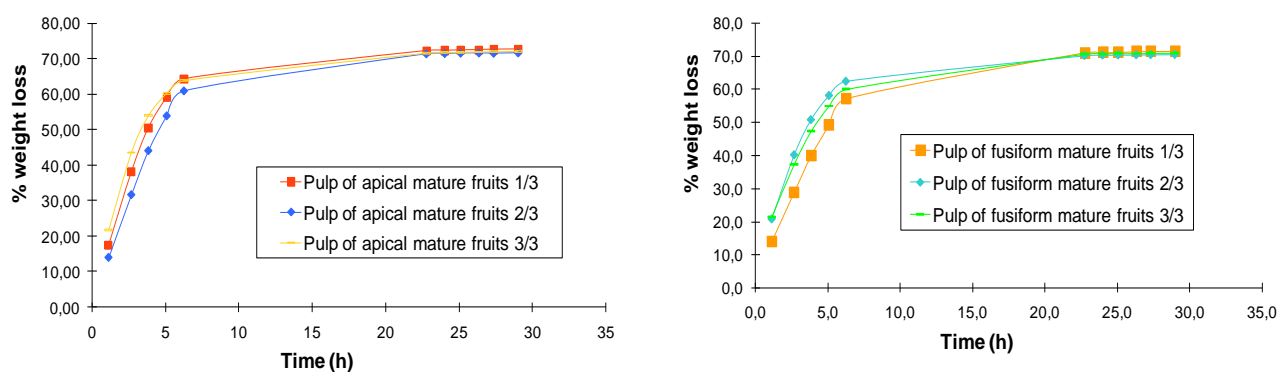


Figure 32 : Séchage pulpe fruit mur rond et de fruit rond presque mur

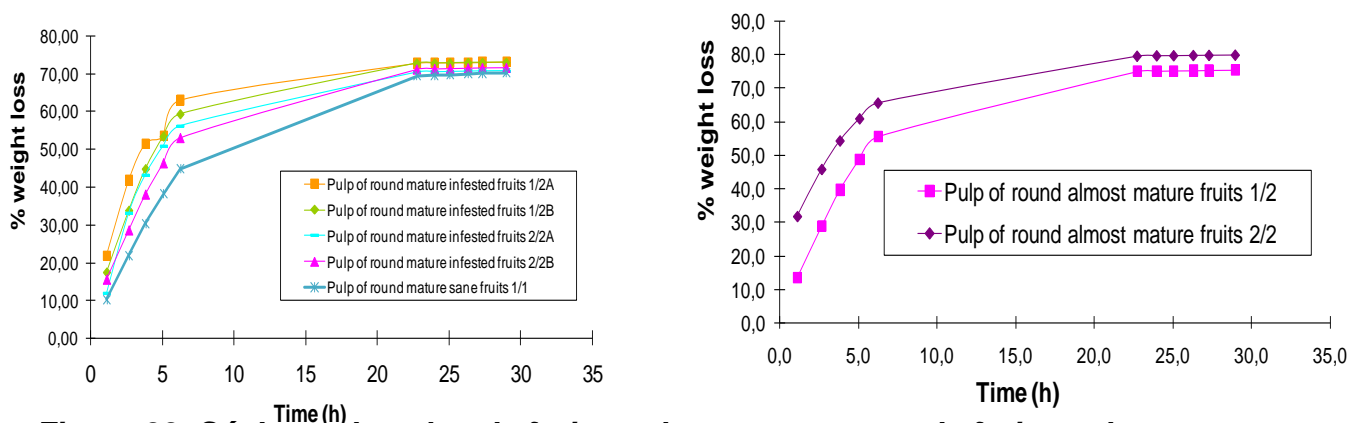
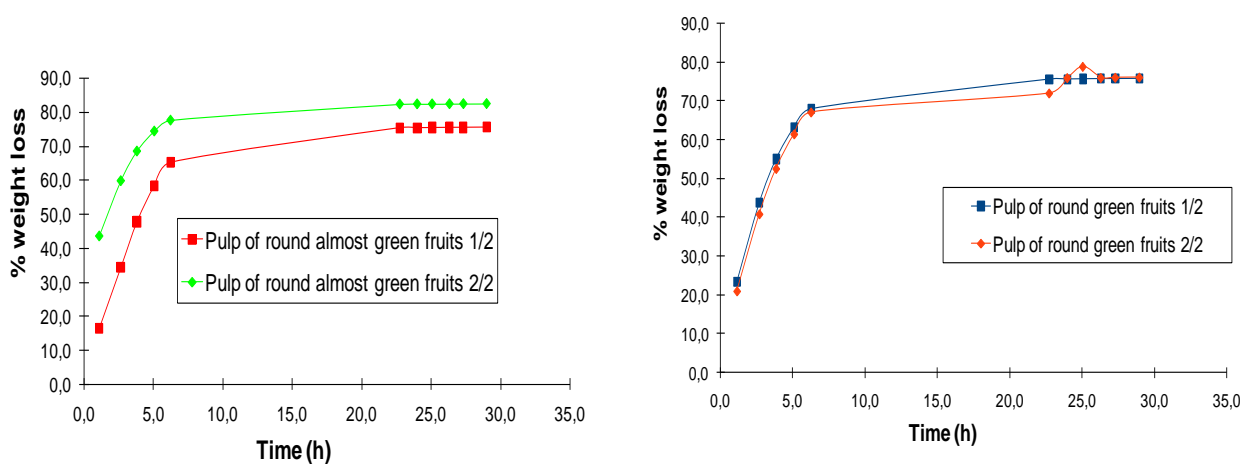


Figure 33: Séchage de pulpe de fruit rond presque vert et de fruit rond vert



La qualité des produits après séchage a été vérifiée via l'activité de l'eau. A une exception près, elle est toujours inférieure à 0.5, donc les échantillons sont bien stabilisés (tableau 56). Par précaution tous les échantillons ont été stockés à 4°C.

La cinétique de séchage est assez rapide même à 40°C, puisque la stabilisation est obtenue en moins de 24h. Cette cinétique n'a plus la même allure que celle observée en 2007 lors des essais d'orientation (figure 34) bien qu'à 55°C et dans le même four car le séjour au sol au mois de juillet 2007 durant 2 ou 3 jours induit une évolution des propriétés de la pulpe dont la teneur en eau évidemment.

Tableau 56 : Activité de l'eau des échantillons de pulpes séchés au four

(T surf : température de surface lors de la mesure)

	Fusifforme mur	Apiculé Mur	Rond mur	Rond mur infesté	Rond Presque mur	Rond Presque vert	Rond vert
Activité Aw	0,44	0,44	0,42	0,48	0,40	0,39	0,58
Ecart type	0,79	0,01	0,00	0,01	0,01	0,20	0,01
Temp. de mesure (°C)	20,3	20,3	20,7	20,6	20,6	21,1	21,1
Ecart type	0,8	0,7	0,6	0,4	0,7	0,3	0,4

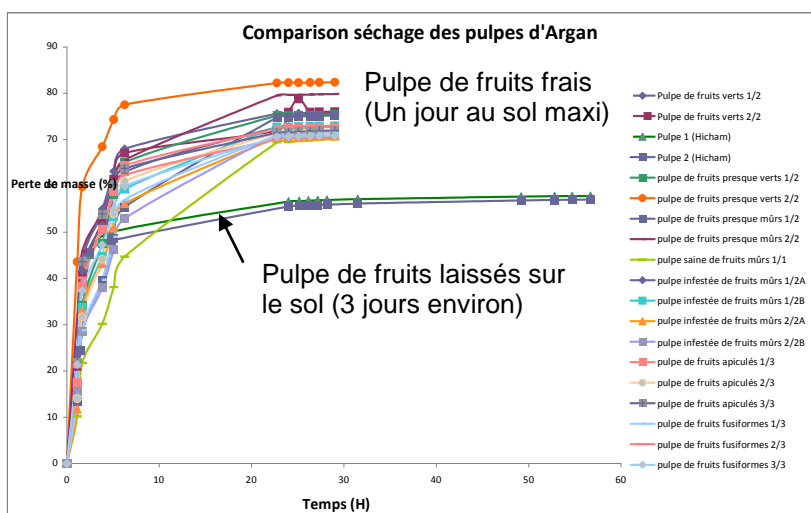


Figure 34 : Comparaison des cinétiques de séchage de pulpe entre fruits laissés au sol durant 3 jours (2007) et fruits collectés le jour de la chute sur film (2008)

B-2.2 Fractionnement mécanique des fruits – dépulpage

a) Protocole expérimental

Des essais exploratoires ont été faits avec la société Aromaprocess qui commercialise un procédé basé sur la flash détente, permettant l'explosion des cellules végétales de la pulpe, dans des conditions de température et d'atmosphère (azote) très favorables à la préservation des composants naturels. La capacité des équipements pilotes dépassant largement la taille des lots collectés en 2008, ces essais ont été effectués à l'échelle d'un fruit, juste pour l'observation. Les résultats paraissent favorables sur fruit entier, grâce aux propriétés de la pulpe fraîche. Cette technique pourra donc être testée ultérieurement, avec couplage à différentes techniques d'extraction, par l'eau, le CO₂ supercritique avec ou sans co-solvant, voire le simple pressage.

L'orientation résolument appliquée du projet ARQUADI a conduit à privilégier au cours de cette étude une technologie basée sur le dépulpage mécanique, de mise en œuvre plus facile, mais convenant bien aussi sur le terrain pour la production.

Si la filière traditionnelle (consommation des fruits entiers par les chèvres) peut intéresser pour des raisons sociales, agro-forestières et d'image de marque des produits, elle impose aussi des limites au plan technologique.

Le dépulpage manuel (par les femmes) de son côté est très consommateur de main d'œuvre. Le dépulpage mécanique est aussi effectué dans les ateliers artisanaux (coopératives) mais uniquement sur fruits complètement secs.

Il y donc besoin de rechercher un moyen de dépulpage adapté au cas de fruits frais ou semi-frais.

Pour ces essais, les fruits ont été laissés à température ambiante pendant 30 minutes avant d'être pesés. Ils ont ensuite été introduits dans l'appareil de dépulpage sélectionné (figure 35) par le haut. La pulpe est récupérée par le bas sur l'avant de l'appareil. Une quantité de fruits reste encore dans la le dépulpeur et correspond au volume mort.

Le rotor utilisé est en plastique et le tamis avec des pores de taille moyenne. Pour déterminer les meilleures conditions d'opération, on fait varier la vitesse du rotor de 10 à 60% de sa vitesse maximale, une diminution évite de briser les noyaux et une augmentation accélère la sortie des fruits dépulés. Pour chaque groupe, on a utilisé le même modèle de vitesse. Après opération, le volume mort et les parties éliminées ont été pesées et les fruits et noyaux entiers ou brisés ont été comptés.

Figure 35 : Equipement de dépulpage testé au Cirad

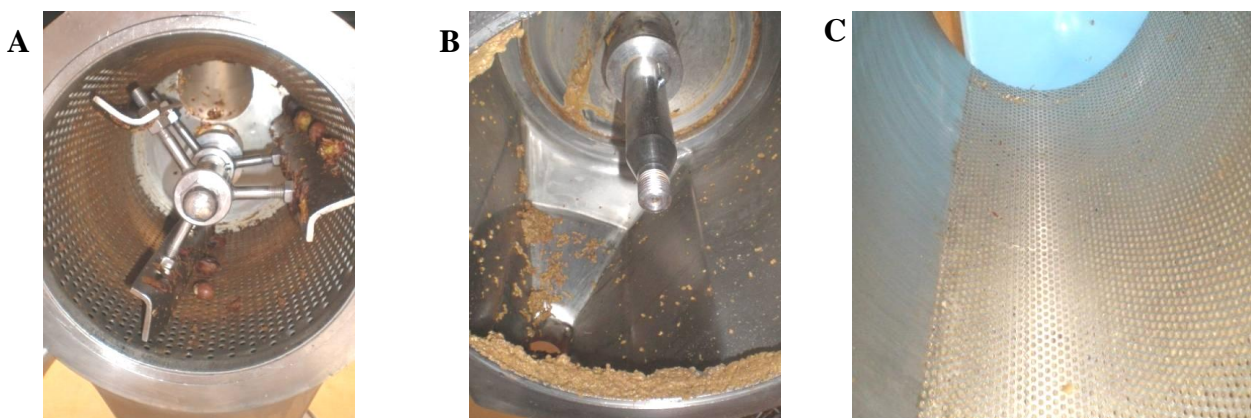


Les essais de dépulpage ont été faits sur trois échantillons de fruits entiers : frais, semi-sec et sec. On a observé que la quantité de matière du volume mort est constante (figure 36a) et aucun changement d'inclinaison du tambour n'a été fait. L'augmentation de l'inclinaison réduit le temps de contact du fruit avec le rotor de la machine et ainsi réduit le taux de dépulpage.

L'opération prend 10 minutes par lot et on a noté la quantité de pulpe qui reste sur le tamis (« perdue ») (figure 36b and 36c), mais cette quantité est une constante pour tous les essais. Le volume mort et les fractions éjectées ont été mesurés et séparés de l'ensemble des noyaux, des brisures de noyaux, des fruits non dépulés et des peaux. Le total des noyaux est considéré comme témoin des fruits dépulés et tous les fruits qui n'ont été que partiellement dépulés ont été comptés comme non dépulés.

Figure 36 : Volume mort et pulpe laissée sur le tambour

A: volume mort intérieur machine; B: Pulpe restée à l'intérieur C: pulpe dans la maille du tamis



b) Dépulpage des fruits frais

La vitesse de rotation a été de 10 à 60% de la vitesse maximale de l'appareil. La séparation du fruit dépulpé a été faite comme indiqué à la figure 37a. On voit que la pulpe est jaune-orangée et sous forme de pâte (figure 37b) et pour la plupart restée dans l'appareil (compté dans la perte totale). Les noyaux et les peaux sont propres, ce qui signifie que le dépulpage est efficace.

Le tableau 57 donne les résultats du dépulpage. Les diagrammes montrent la proportion de chaque fraction par rapport au poids total de l'échantillon utilisé (figure 38) et le rapport de dépulpage (Figure 39). Sur la base du dépulpage manuel des fruits frais effectué pour caractériser la matière première, la pulpe représente 48-59% du poids des fruits frais.



Figure 37 : Produits après dépulpage de fruits frais

A: Fruits après dépulpage ; B: Pulpe obtenue par dépulpage mécanique

Tableau 57 : Résultats du dépulpage mécanique de fruits frais

	Samples	Amount	Weight (g)	Percentage (%)
	Initial Weight	-	1339,0	100%
	Pulp	-	271,7	20,3
Dead Volume	Non depulped	-	103,2	7,7
	Peel + Seed	-	35,4	2,6
Eliminated	Entire nuts	129	361,0	27,0
	Brocken nuts	1	2,2	0,2
	Non depulped	53	273,4	20,4
	Peel	-	131,4	9,8
	Total Loss	-	160,7	12,0

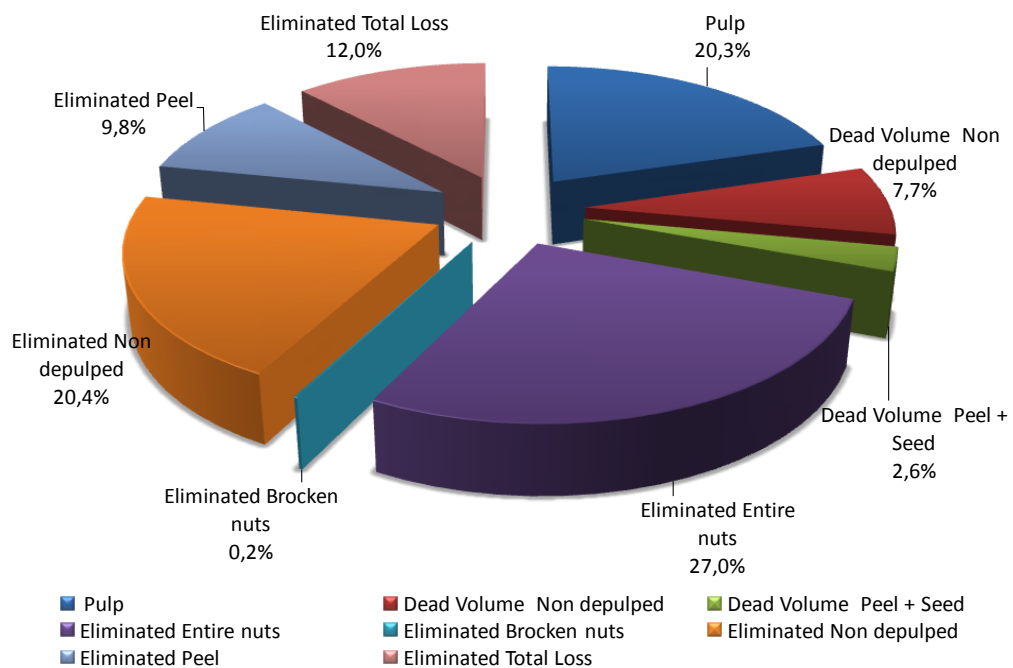


Figure 38 : Résultats du dépulpage mécanique de fruits frais entiers.

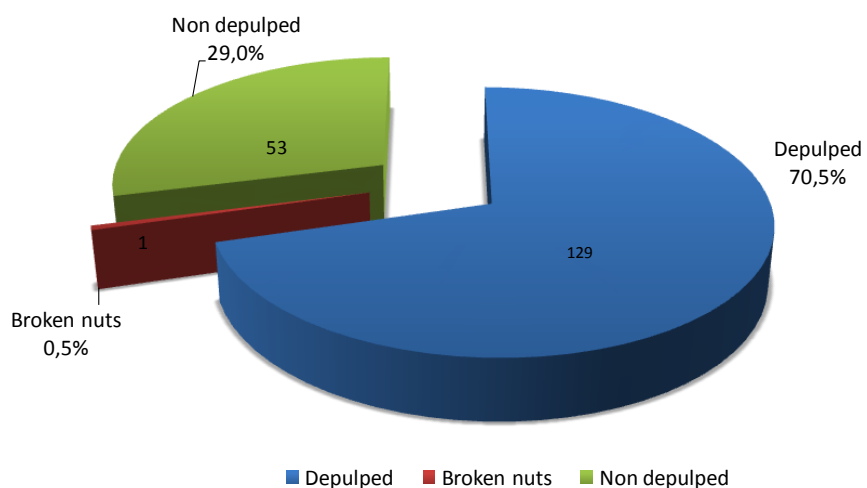


Figure 39 : Taux de dépulpage de fruits frais entiers

A partir de la figure 38 on constate que la fraction noyaux entiers est prépondérante (27.0%) et que la pulpe récupérée représente 20,3% ; ces résultats sont repris sur la figure 39 en termes de taux de dépulpage qui est de 70,5%. A partir de cet essai d'orientation on peut dire que le procédé est satisfaisant, puisque les fruits dépulpés sont majoritaires. En conséquence les fruits non dépulpés ne représentent que 29,0% en nombre, soit 20,4% du poids total.

Les noyaux cassés quant à eux ne représentent que 0,5% du volume total, ce qui est acceptable pour un premier essai. Le poids total de pulpe obtenue est en accord avec la quantité de fruits dépulpés et ces calculs sont donc fiables.

La perte due au procédé qui représente la quantité de pulpe restée dans les mailles du tamis est de 12,0% du poids total. Elle est due au fait que les fruits riches en sucres et en latex facilitent le collage aux équipements et récipients. Il ne faut pas se préoccuper de ce pourcentage qui serait fortement réduit par le seul fait d'augmenter la charge de fruits.

c) Dépulpage de fruits semi-secs

Pour cette opération, un bain chauffant a été utilisé. Les fruits ont été laissés pendant 4 minutes dans de l'eau bouillante puis pris directement de ce bain et mis dans le dépulpeur. L'étape de pré-chauffage est destinée à faciliter le détachement de la pulpe du noyau (figure 40c). La vitesse du rotor a varié de 20 à 60% de la vitesse maximale. Les fruits dépulpés restent principalement dans le dépulpeur, étant plus secs les fruits précédents (fruits frais). Les produits ont été séparés (figure 40a) et nous observons que la pulpe est de couleur marron et pâteuse (figure 40b).

Le dépulpage de fruits semi-secs est donc plus difficile à réaliser, étant donné que la déshydratation augmente probablement la viscosité et l'adhérence de la pulpe au noyau. Le pré-chauffage a dû faciliter le dépulpage car la pulpe devient plus malléable, puisqu'il est possible de voir sur la figure 40b que la pulpe est exempte de noix. Le dépulpage est donc satisfaisant. Pour cet essai on a retrouvé des amandes entières, correspondent à des noix cassées et donc comptées comme telles. Pour les peaux, on a pu voir des pulpes qui adhèrent encore mais ceci était envisagé pour des fruits semi-sec.

Le tableau 58 et les figures 41 et 42 rassemblent les résultats.

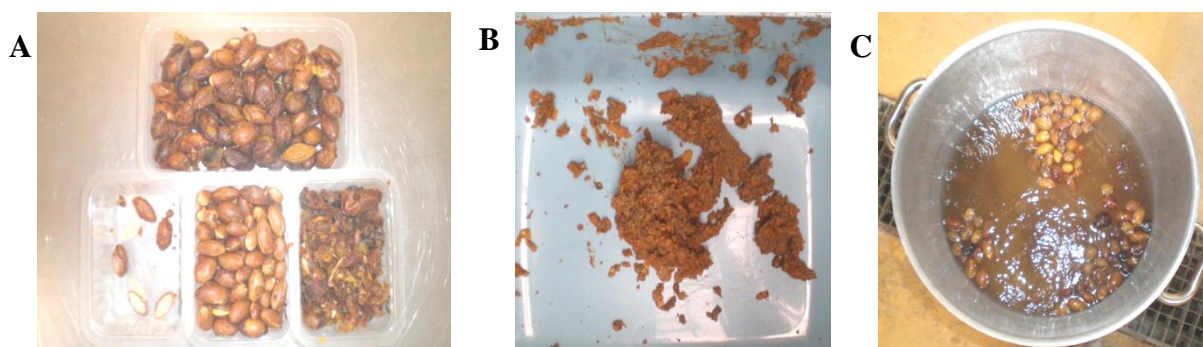


Figure 40 : Fruits demi-secs après dépulpage

A: Fruits après dépulpage; B:Pulpe après dépulpage; C :Fruits dans l'eau bouillante.

Tableau 58 : Résultats du dépulpage mécanique de fruits semi-sec.

	Samples	Amount	Weight (g)	Percentage (%)
	Initial Weight	-	1089,0	100,0%
	Pulp	-	143,7	13,2
Dead Volume	Not depulped	12	5,6	0,5
	Entire nuts	1	4,5	0,4
	Brocken nuts	0	0,0	0,0
	Peel	-	14,1	1,3
Eliminated	Not depulped	75	317,8	29,2
	Entire nuts	116	309,4	28,4
	Brocken nuts	6	23,9	2,2
	Peel	-	106,8	9,8
	Total loss	-	163,2	15,0

A partir de la figure 41 il est possible de constater que les noix entières sont minoritaires (29,7%) et la pulpe représente 13.2%, ce qui rapproché du taux de dépulpage de la figure 42 (71,3%) montre que le test est satisfaisant. La pulpe obtenue est comparable à la quantité de fruits dépulvés. Les noix brisées représentent 3,7% du poids total, ce qui est plus élevé que pour les fruits frais. La perte totale est de 15,0%, donc bien supérieure à celle du dépulpage des fruits frais.

Figure 41 : Résultats du dépulpage mécanique pour des fruits entiers semi-secs

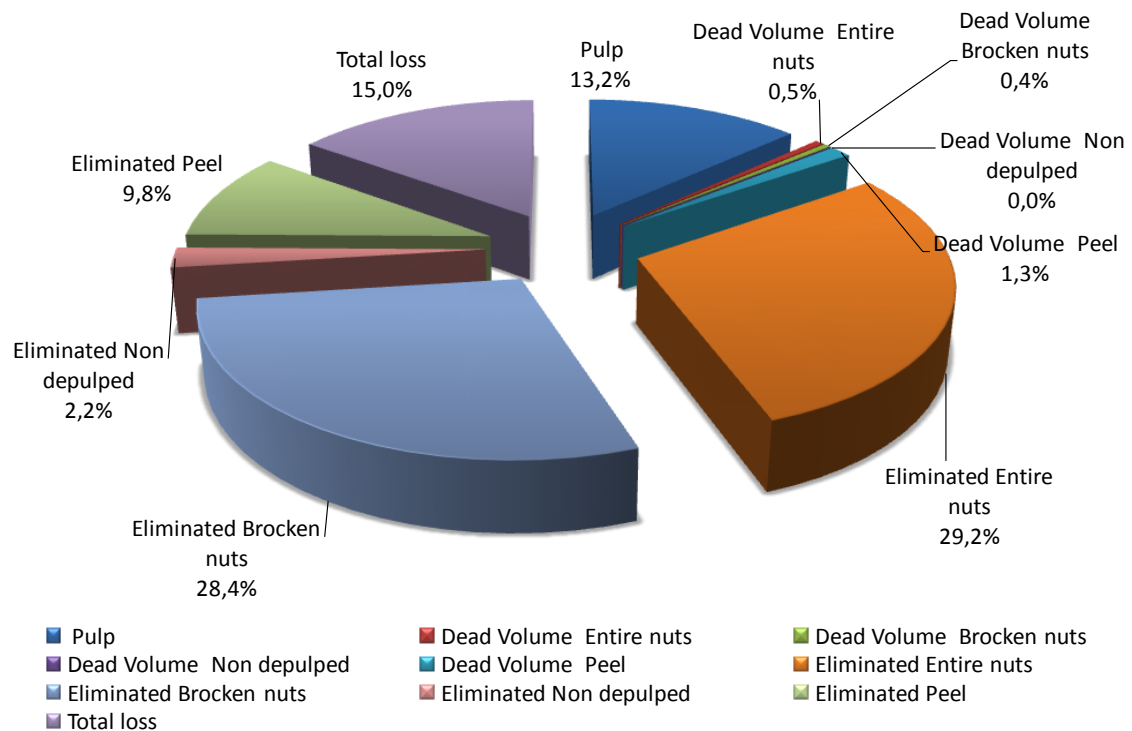
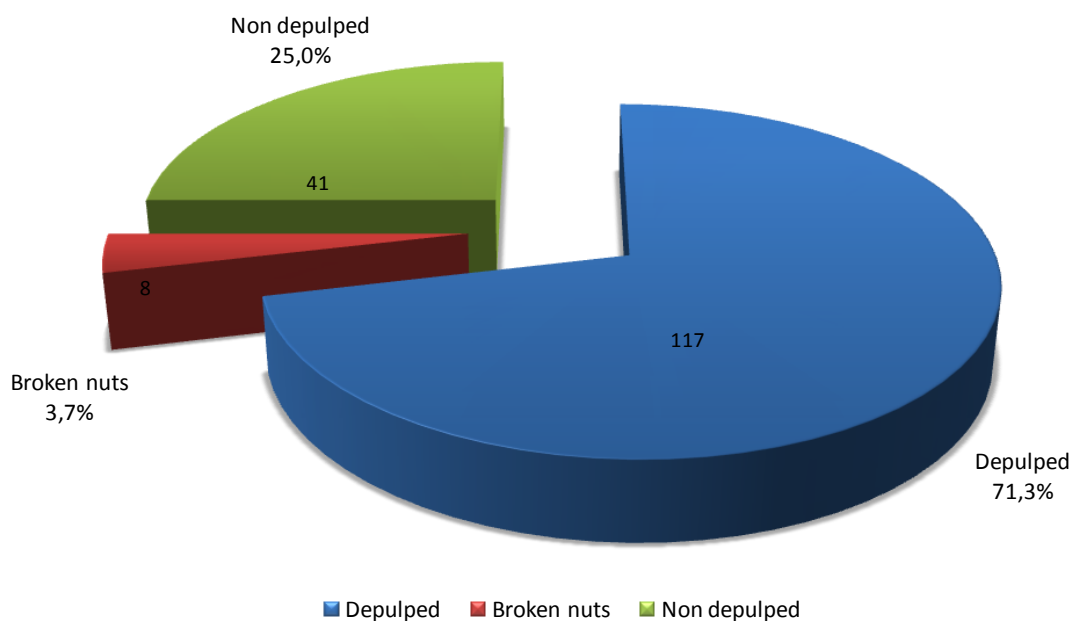


Figure 42 : Ratio de dépulpage pour des fruits entiers semi-sec.



La figure 43 montre la couleur rouge-brun de l'eau après préchauffage, ce qui signifie que certaines molécules sont extraites, ce qui est peut être un inconvénient. Des analyses pourront être faites pour connaître la nature exacte des produits extraits.



Figure 43 : Coloration du bain d'eau après trempage des fruits et préchauffage

d) Dépulpage de fruits entiers secs

Comme la déshydratation est plus sévère pour ces fruits, la pulpe est collée au noyau, et rend le dépulpage plus difficile. Pour tenter de détacher la pulpe du noyau, un bain chauffant a été utilisé, identique au précédent. Les fruits sont laissés 4 minutes dans l'eau bouillante puis chargés directement dans le dépulpeur (tableau 59). A partir des résultats de la figure 44 on observe que les noix entières constituent un volume plus important que le précédent (37,0%) et la pulpe représente 12.3%, soit un taux de dépulpage de 69.1% ce qui reste intéressant même si le ratio de non-dépulpés est le plus élevé des trois essais. La pulpe des fruits séchés est donc plus difficile à séparer.

Tableau 59 : Résultats du dépulpage mécanique de fruits sec

	Samples	Amount	Weight (g)	Percentage (%)
	Poid Initial	-	635,2	100,0%
	Pulp	-	78,4	12,3
Dead Volume	Non depulped	6	25,7	4,0
	Entire nuts	1	1,4	0,2
	Brocken nuts	0	0,0	0,0
	Peel	-	13,6	2,1
Eliminated	Non depulped	35	134,9	21,2
	Entire nuts	93	233,8	36,8
	Brocken nuts	1	4,3	0,7
	Peel	-	50,1	7,9
	Total Loss	-	93,0	14,6

Les noix brisées ne représentent que 0.7% du poids total, ce qui est supérieur à celui des fruits frais mais nettement inférieur au ratio trouvé pour les fruits semi-secs. La perte de l'essai de 14,6% du poids total est intermédiaire entre fruits frais et fruits semi-secs.

Figure 44 : Résultats du dépulpage mécanique pour des fruits entiers secs.

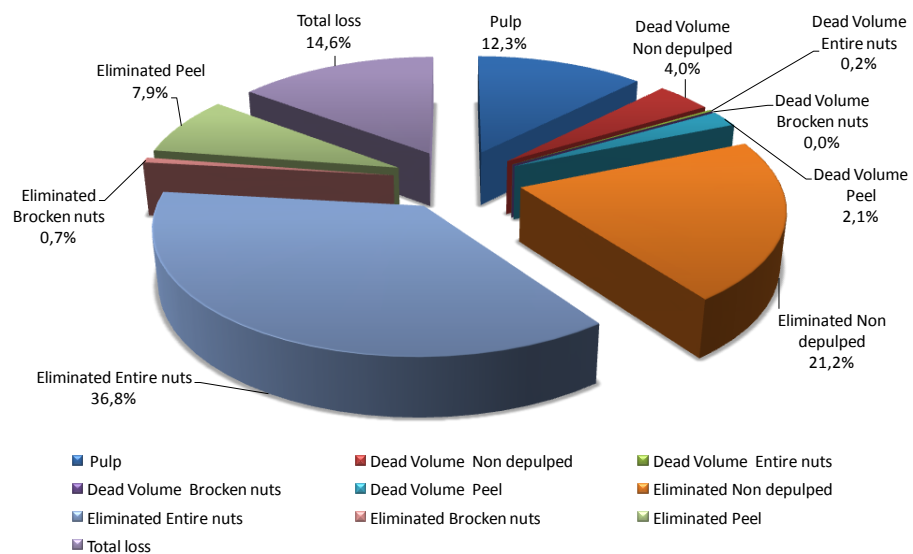
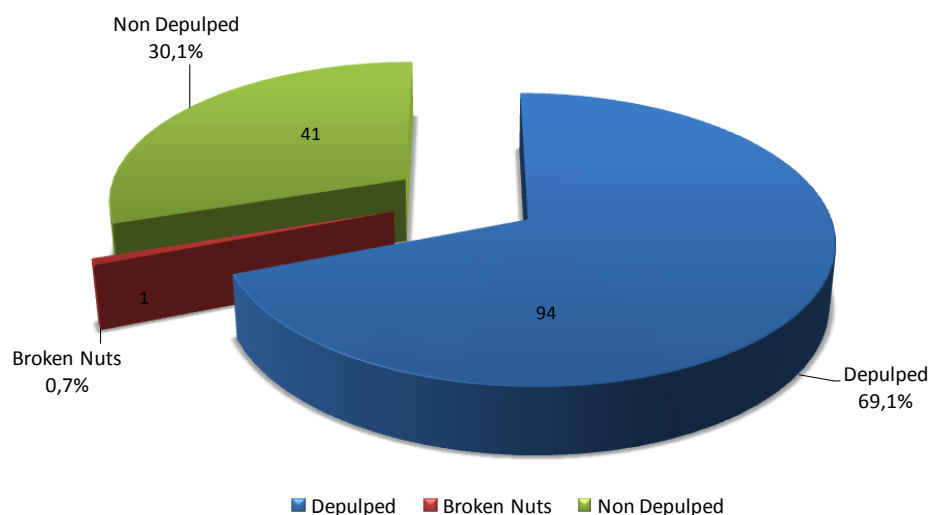


Figure 45 : Ratio de dépulpage pour des fruits entiers secs.



B-2.3 Conclusion des essais de dépulpage mécanique

Le fractionnement du fruit, dans l'optique de la valorisation hors fourrage ou en plus du fourrage, paraît être l'étape clé, indispensable pour traiter au mieux la biomasse collectée :

- d'une part la graine vers l'extraction de l'huile, par des méthodes traditionnelles améliorées ou nouvelles, mais sans solvant organique,
- d'autre part la pulpe dont la composition chimique et nos observations au cours de ce projet (brunissement, fermentation, etc) montrent qu'elle nécessite un traitement différent de celui qu'elle subit actuellement (séchage aléatoire au sol, puis au soleil) afin de préserver les composants naturels à extraire.

C'est donc cet aspect -le fractionnement des fruits- qui a retenu notre attention lors de la (re)programmation des activités fin 2007 et non l'extraction par elle-même (via une phase liquide ou supercritique découlant de cette première étape) et n'est pas vue comme un verrou technologique à ce stade d'exploration préliminaire.

L'étape clé pour le fractionnement du fruit, la séparation pulpe-noix, a été étudiée et un dépulpeur mécanique a été testé avec succès. Les fruits les plus frais paraissent plus aptes au dépulpage mécanique, sans devoir écarter les fruits à plus faible teneur en eau. L'opération limite le cassage des noix à un faible pourcentage, préservant ainsi la qualité de l'huile d'argan à extraire. La machine réalise parfaitement la séparation de la pulpe du reste de la biomasse traitée et on peut penser que la fraction non dépulpée qui est toujours minoritaire, de l'ordre de 20%, sera traitée par recyclage sans problème.

Il faut signaler le collage de la pulpe du fait de la présence du polyisoprène et des sucres, moins marqué pour les fruits frais, notamment au tamis métallique en inox qui réalise la séparation pulpe-noix ; il complique le nettoyage de l'appareil,.

La productivité de la machine pilote testée, à peine supérieure à un appareil domestique, serait d'une dizaine de kg /h. Mais il serait aisé d'adapter les dimensions (longueur du tambour notamment) pour multiplier la capacité par 10 ou 100 afin de répondre à différents besoins, tout en restant une machine simple à fabriquer et à utiliser.

L'essai exploratoire avec la société Aromaprocess qui commercialise un procédé basé sur la flash détente permettant l'explosion des cellules végétales de pulpes dans des conditions de température et d'atmosphère très favorables à la préservation des composants naturels, est encourageant. Cette technique pourra donc être testée ultérieurement, avec couplage à différentes méthodes d'extraction (eau, CO2 supercritique avec ou sans co-solvant) voire à un simple pressage, afin de compléter le nouveau procédé en aval du dépulpage. Au passage on a remarqué la facilité d'extraction des composants hydrosolubles par l'eau chaude, qui peut être une étape de la nouvelle filière de valorisation du fruit entier.

Ces résultats relatifs au dépulpage mécanique du fruit frais ou demi-frais laissent envisager une reformulation technologique complète par rapport à la filière actuelle, vers une organisation et des itinéraires techniques adaptés à de nouveaux objectifs, en intégrant au mieux les différentes contraintes : attentes sociales, production agroforestière, économie (marchés), techniques (qualité des produits), durabilité et environnement (procédés propres et économes).

B-3 ATTRIBUTS ET DETERMINANTS DE LA QUALITE DE L'HUILE ET D'AUTRES PRODUITS

La notion de qualité est indissociable d'un usage ou d'un marché donné. Devant la diversité des opportunités envisagées pour l'huile (produit traditionnel, diététique, cosmétique ; marché local ou exportation) et pour d'autres produits dans le cadre de ce projet, on ne peut s'en tenir à dresser une liste unique de critères de qualité à retenir pour les divers produits et coproduits.

La labellisation n'était pas prévue dans le cadre de ce projet, considérant que le contenu du présent programme est un préalable à une telle orientation. La présente réflexion est donc basée sur des critères technologiques et chimiques, via la recherche de critères de qualité des produits (attributs de qualité) et l'estimation de leur évolution au cours des différentes étapes d'une organisation donnée de la filière (déterminants de la qualité).

a) Filière huile actuelle

Si la filière traditionnelle (consommation des fruits entiers par les chèvres) peut intéresser pour des raisons sociales, agro-forestières et d'image de marque des produits, elle impose aussi des limites, l'étude réalisée ayant montré que l'huile dérivée est de moins bonne qualité ; l'impact d'une opération de lavage des noix pourra être étudié).

Les résultats obtenus à propos de l'huile d'argan ont permis d'objectiver certaines pratiques et ont conduit à des recommandations afin d'améliorer la qualité de l'huile. Cette dernière est basée sur une liste d'une quinzaine d'indicateurs à partir d'un panel plus large, dont l'étude constitue une part importante du travail (partie B-1 notamment). Il inclut des attributs liés à la noix, à l'amande et bien sûr à l'huile elle-même.

Concernant l'huile donc, ces attributs de qualité se trouvent conditionnés par une série de déterminants, liés aux différentes étapes ou opérations tout au long de la filière de production :

- collecte des fruits avec participation ou non des chèvres,
- conduite de l'opération de séchage des fruits toujours collectés au sol,
- stockage des noix ou des amendons,
- torréfaction des amendons, bénéfique pour le marché alimentaire,
- conditions d'extraction de l'huile par presse à vis continue,
- étapes de décantation et de filtration de l'huile vierge,
- choix des matériaux des équipements et ustensiles au contact de l'huile,
- embouteillage pour le stockage et la commercialisation (matériau et couleur des bidons et flacons),
- conditions de stockage (température, lumière, en contenants bouchés).

b) Filière de valorisation pulpe et noix

Pour ce qui est de la filière potentielle dont l'exploration a constitué l'autre partie importante du travail et qui permettrait de valoriser plusieurs composants de la pulpe, il est prématuré de dresser une liste des différentes fractions à produire, a fortiori des attributs de qualité des produits potentiels, envisagés ou tout simplement inconnus.

Néanmoins, l'exploration chimique entreprise laisse voir que l'un des paramètres importants serait la préservation vis-à-vis de la dégradation thermique et oxydative, des composants de la pulpe, dès la récolte.

Il est prudent de ne pas compter sur l'autoprotection vis-à-vis de l'oxydation, d'une part car les antioxydants naturels agissent efficacement dans le contexte particulier de la matrice végétale c'est-à-dire devant des agressions ménagées, d'autre part car ces antioxydants pourraient être parmi les composants à extraire. De plus il est préférable de ne pas envisager l'apport d'antioxydants au cours du traitement pour des raisons de coût et de qualification des produits naturels (sans additifs ou sans additifs de synthèse). C'est donc en amont qu'il faut éviter ou limiter la formation de radicaux libres, dans les lipides notamment.

Ces constats plaident donc en faveur d'une reformulation technologique complète, vers une organisation et des itinéraires techniques adaptés aux nouveaux objectifs.

Récolte

Pour ce qui est de la collecte, qui conditionne la qualité des fruits entiers dès le départ, il faut donc écarter le pâturage sous l'arganeraie, dans les cas idéal collecter les fruits à l'état de maturité désiré, en fonction des composants recherchés, livrer les fruits rapidement, voire les réfrigérer, et minimiser globalement le temps d'attente avant traitement ; certaines filières oléagineuses sont déjà organisées dans ce but (olivier, palmier à huile). La valorisation de la pulpe issue de la filière actuelle ne paraît pas envisageable hors usage traditionnel comme fourrage.

L'humidité du fruit ou de la pulpe est aussi un paramètre déterminant. Il conditionne à la fois les propriétés mécaniques de la pulpe, la préservation vis-à-vis de l'hydrolyse, l'extractibilité de certaines fractions et la stabilité vis-à-vis de la dégradation enzymatique et du développement microbologique.

Il est évident que seul un « optimum local », privilégiant un paramètre, par rapport à d'autres, peut être trouvé, du fait des effets antagonistes exercés par l'eau, à la fois constituant, solvant, réactif.

Procédé de fractionnement-extraction

Pour ce qui est du procédé lui-même, une première alternative est le dépulpage mécanique « en frais » étudié dans le présent travail, relativement rapide et efficace. Son impact sur la qualité des produits devra être étudié avec des fruits réellement frais, ce qui n'était pas strictement le cas au cours de ce travail malgré les précautions prises. Mais cette voie testée est digne d'intérêt.

Evidemment un calibrage automatisé des fruits, même approximatif, pourrait améliorer les performances de la séparation pulpe-noix, la taille de la noix influant sur l'efficacité du déchirement de la pulpe par les pales et sur le taux de coques cassées. Ce dernier conditionne à son tour l'aptitude au stockage prolongé des noix et la qualité de l'huile d'argan. La flash-détente suivie d'une centrifugation rapide ou d'un simple essorage, envisagés avec Aromaprocess présente *a priori* des avantages vis-à-vis de la qualité finale des produits.

En fonction de ses caractéristiques (humidité, broyage) la pulpe pourrait ensuite être traitée soit dans un décanteur tri-phasique horizontal par analogie à une technologie très employée pour l'olive, soit par pression. Dans ce dernier cas deux techniques seront disponibles, soit en expeller (presse continue) soit encore en presse hydraulique (discontinu). La première technique est adaptée aux unités de grandes capacités alors que la seconde intéresse la production à petite échelle. Ces deux cas de figures sont susceptibles d'être retrouvés sur le terrain lors de l'application des présents résultats.

Il ne paraît pas utile de tenter d'extraire en une seule opération les huiles de pulpe et d'amande comme cela se fait dans le cas de l'olive, mais aussi dans celui moins connu du palmier à huile selon le procédé Drupalm mis au point au Cirad. En effet la différence de teneurs en huile des deux parties, pulpe et noyau, laisse penser que la coque devrait être retirée du broyat pulpe + amande afin d'éviter une perte en huile trop importante par absorption par la coque. De plus cela conduirait à un huile nouvelle au détriment de l'huile d'amande (huile d'argane) qui possède elle un marché contrairement à l'huile nouvelle (cet avis est basé sur l'expérience de plus de vingt ans des spécialistes du Cirad qui travaillent en valorisation des oléagineux ; un tel risque ne vaut pas la peine d'être pris).

Bien que les techniques évoquées ci-avant réalisent par définition la séparation solide/liquide, la phase liquide riche en huile devra subir une étape supplémentaire afin de séparer soit par décantation, soit par centrifugation, les particules solides, la phase aqueuse et/ou l'huile suivant le cas. La phase aqueuse serait en mélange à l'huile en totalité ou à l'état de trace, en fonction de la conduite de l'opération précédente.

Il est attendu que la présence de la fraction isoprénique complique le fractionnement de la pulpe par pression ou décanteur (procédé Aromaprocess) ; la méthode au CO₂ supercritique peut permettre ce fractionnement, des brevets existant dans des domaines voisins, par exemple pour *Parthenium argentatum*, autre plante à latex étudiée par ailleurs par l'UMR GPEB au Cirad.

L'extraction des divers composants pourrait donc se faire par simple pression, par voie aqueuse, par solvant supercritique, par hydrodistillation ou par d'autres techniques apparentées pour les composés volatils. Evidemment ces étapes peuvent être combinées autant que de besoin.

Les conditions supercritiques, technique utilisée au Cirad et chez son partenaire Phytatec, présentent l'avantage de donner une atmosphère favorable à la préservation des produits (CO₂) et de pouvoir moduler la sélectivité en fonction des paramètres de l'extraction, donc la composition des extraits.

D'une façon générale, on devra privilégier le travail à basse température, ce qui a déjà été fait pour l'étape de séchage en tunnel au champ et en boucle électrique pratiqués sur les échantillons collectés. La limite de température à ne pas dépasser reste à fixer suite à une étude dédiée. Cette condition peut être aussi respectée en milieu supercritique et dans d'autres techniques citées ci-avant.

Le travail en continu est aussi une donnée importante du futur procédé, dans le but de préserver la qualité et de la maintenir à un niveau constant. De plus la viabilité économique et technique dépend notamment de l'échelle d'application, le travail en continu étant réservé aux plus grandes capacités.

Les différentes options soit testées soit évoquées ci-avant laissent penser qu'il ne devrait pas y avoir de verrou important à lever du côté du procédé, l'éventail des techniques disponibles étant suffisamment large.

Exploitation agroforestière

Bien que paraissant un peu en marge du thème du projet, axé sur la technologie, un autre consortium de partenaires étant dédié à l'exploitation agroforestière, il n'est pas possible de limiter cette analyse au secteur post-récolte.

L'organisation d'une filière de collecte adaptée à la double valorisation de la pulpe et de l'amande, impose des conditions très éloignées de celles suivies actuellement. Pour

cette raison il est raisonnable d'envisager plusieurs filières distinctes en fonction des objectifs de valorisation des produits.

En effet la qualité des produits est conditionnée par celle de la matière première.

Dans le cas présent il convient de s'interroger au sujet de l'influence de l'infestation par la cératite (ce paramètre a déjà été effleuré au cours de ce travail), sur la composition de la pulpe suite à des évolutions biochimiques (métabolites secondaires, ratio polyisoprène/lipides, les voies de biosynthèse étant liées) ou chimiques (oxydation).

Au-delà, l'évolution de la composition chimique au cours des jours ou des deux ou trois semaines précédant la chute des fruits a été révélée dans ce travail comme paramètre de prime importance, mais pratiquement inconnu jusqu'à ce jour. Il devrait être possible en effet de décider du moment opportun de la récolte lorsque la concentration des composés à extraire est optimale. A titre d'exemple, le présent travail a pointé la fraction polyisoprénique et l'extrait aqueux sur la base d'études spécialisées, ainsi que la fraction aromatique, mais la palette des opportunités d'extraction de composants d'intérêt est beaucoup plus large.

On voit aussi que la méthode de récolte aura son importance, fonction d'un optimum économique, entre la recherche de la qualité de la matière première et celle de la minimisation des coûts, sur fond d'intégration sociale et culturelle de la nouvelle filière.

Le caractère sessile et l'échelonnement de la floraison conditionnent aussi l'organisation de la filière en aval.

Plus en amont c'est la qualification des fruits en fonction des usages recherchés qui constitue le volet important et difficile à atteindre en termes de déterminants de la qualité. Lequel est relié directement à un effort d'inventaire de la diversité au sein de l'arganeraie puis à une action de sélection variétale.

C'est dans le but de contribuer à cette démarche que les deux partenaires du projet s'étaient donné comme priorité de travailler avec une biomasse d'origines géographique et phénotypique connues, et collectée dans des conditions maîtrisées.

L'analyse qui précède a l'ambition de fournir des éléments d'information à l'attention des acteurs de la recherche et des décideurs, spécialistes des domaines agroforestiers et environnement, technologues, formulateurs-utilisateurs de produits naturels, acteurs du développement social et économique. Elle montre la diversité des domaines impliqués dans les attributs et déterminants de la qualité des produits de l'arganier en se limitant à l'huile d'argan et à la pulpe, cibles prioritaires du projet.

CONCLUSION DES TRAVAUX - THEME 1

Bien adapté aux régions arides, l'arganier est endémique au sud marocain jusqu'à 1.500 mètres d'altitude où il couvre 800 000ha. Il fructifie abondamment mais c'est une espèce sauvage, à peine domestiquée ; on connaît tout de même plusieurs phénotypes, dont un à coque mince cassée aisément à la main (main d'œuvre féminine), un autre dont le mésocarpe est plus épais.

Les deux principaux usages actuels sont :

- l'huile d'argan extraite de l'amande (contenue dans une coque ou endocarpe)
- la chair (mésocarpe) ou pulpe et les jeunes feuilles mangées par les chèvres.

L'huile d'argan représente au moins la moitié de l'amande mais cette dernière ne représente que 8 à 16% de la noix ; la pulpe équivaut à 55-75% du poids du fruit frais, mais est très riche en eau (70-80%). Finalement c'est la coque qui reste la fraction majoritaire après séchage.

La valorisation économique de l'arganier par le biais de ses produits est donc un moyen de relancer durablement une foresterie rurale intégrée. En effet l'arganier fournit l'alimentation du bétail (un million de ruminants s'en nourrissent), mais aussi des coques comme combustible, du bois pour le feu et la menuiserie, une huile alimentaire diététique, recherchée par l'industrie cosmétique pour ses substances bienfaisantes. L'intérêt de la pulpe pour des applications fourragères provient de la forte teneur en glucides, lipides, protides et cellulose. De plus la pulpe de l'arganier comme aliment pour les caprins est une coutume très ancrée et comporte l'avantage de ne pas nécessiter d'apport financier pour l'éleveur-cueilleur.

Malgré ces divers usages, l'arganier reste insuffisamment exploité car il présente un potentiel méconnu et dont la mise en évidence pourrait donner à cet arbre un nouvel essor dans son contexte environnemental, socio-économique et culturel. Les recherches sur l'arganier font l'objet d'un nombre croissant de publications. La plupart des résultats du présent travail ont fait ou feront aussi l'objet de publications scientifiques et de vulgarisation.

Méthodologie

Au plan méthodologique tout d'abord, l'expérience des deux partenaires acquise sur le terrain et en laboratoire, *a priori* inédite, couvrant collecte, conditionnement-stabilisation, transport représente un progrès. En effet les études de la bibliographie ne précisent que rarement l'origine exacte des fruits (localisation de l'arbre, phénotype), ni ne détaillent les protocoles de collecte et de préparation. Or ces procédures conditionnent la qualité des produits, donc les résultats d'analyses.

Les résultats obtenus à ce stade ont permis d'approcher les difficultés liées à la collecte d'échantillons dans des conditions maîtrisées. Nos résultats d'analyses chimiques ont montré l'intérêt de la méthodologie suivie puisque les échantillons de fruits collectés sont significativement différenciés. Le fait d'avoir pu recouper des résultats de la littérature très pointus concernant la relation entre paramètres morpho-biochimiques confirme bien que la pertinence de l'approche choisie, malgré ses contraintes.

Il a ainsi été possible non seulement d'obtenir une série d'échantillons de fruits de forme bien définie et parvenus à un même stade de maturité, mais de plus, en quantité suffisante pour les nombreuses analyses et tests programmés, pour des fractions représentant moins de 1% du poids du fruit frais.

Relation / composition chimique – phénotype - terroir

Cette étape franchie, il a donc été possible d'accéder à des résultats relatifs à la composition globale des fruits, de l'huile d'argan et d'autres fractions telles que tourteau et pulpe, et jusqu'au caoutchouc. Mais la tâche est immense dans le domaine analytique, compliquée encore par la diversité phénotypique et par l'influence du terroir. Afin d'éviter la dispersion des choix ont été faits.

Le lien entre forme des fruits et composition, montré par un petit nombre de travaux antérieurs, a pu être confirmé pour plusieurs composés. A ce stade de l'étude, il semble aussi qu'un effet de terroir puisse être invoqué (proportions pulpe/coque/amande, poids de l'amande, lipogénèse dans l'amande et dans la pulpe).

Par exemple, pour ce qui est de l'huile d'argan, la proportion d'amande et sa teneur en huile est plus élevée dans des fruits jugés les moins murs peu avant leur chute, mais la stabilité oxydative de l'huile est maximale au moment de la chute. De même le rapport acide oléique/acide linoléique dépend aussi de la forme du fruit.

La forme du fruit a aussi une influence notable sur la teneur de la pulpe en sucres et en matière azotée (protéines) laquelle est de 50% plus élevée pour des fruits de type apiculé par comparaison aux fruits sphériques par exemple. Les lipides représentent environ le double du pourcentage de polyisoprène (4% maximum) de la pulpe.

Evidemment ces tendances méritent d'être confirmées par l'étude d'une population plus large afin de déconvoluer effet terroir et déterminants phénotypiques.

Amélioration de la filière huile d'argan actuelle

Pour ce qui est des fractions ou produits méritant un effort en vue de faciliter leur valorisation, priorité a été donnée à deux voies, l'huile d'argan d'une part qui possède déjà des marchés mais doit mieux s'y adapter et d'autre par l'exploration du potentiel de la pulpe d'une façon générale, domaine auquel l'un des partenaires avait déjà contribué et qui paraissait offrir diverses opportunités.

Pour l'huile, une première approche a concerné la détection d'une adultération par dilution de l'huile d'argan par une huile de moindre coût. Une méthode originale de détection a été testée avec succès, faisant intervenir un stérol caractéristique de l'huile d'argan (campésterol) et basée sur l'application d'un protocole normalisé (insaponifiable).

La cosmétique notamment utilise de plus en plus d'huile mais la production a des difficultés à satisfaire le cahier des charges très pointu. Les essais ciblés sur ces problèmes permettent de proposer des améliorations : la filtration avec un matériel adapté élimine les microorganismes (contamination par excrément de chèvre), la présence de phtalates dont la provenance d'emballages en plastique récupérés a pu être prouvée peut être résolue en n'utilisant que des contenants adaptés ; la présence de métaux lourds (provenant de machines mal utilisées ou de contenants métalliques inadaptés) pourrait trouver une solution dans l'acquisition de matériels en inox, complétée si besoin par un raffinage « léger » (adsorption dénommée « décoloration »).

Après étude des paramètres influents à chaque étape, les résultats ont conduit à compléter les recommandations ci-dessus pour toutes les étapes du procédé actuel de production de l'huile d'argan, depuis le fruit jusqu'à l'huile commercialisée : le séchage solaire des fruits limité à deux semaines est suffisant ; il facilite le dépulpage et augmente la stabilité de l'huile ; les fruits et les noix peuvent être conservés pendant 24 mois sans affecter la qualité de l'huile ; les conditions de stockage des amendons (lumière, température) après séchage suffisant n'affectent pas la qualité de l'huile sur

une courte période. Des conditions de travail ont été déterminées pour une presse d'usage courant différentes suivant le marché, alimentaire et cosmétique, laisser décanter l'huile brute avant passage au filtre-presse (avec terre filtrante pour l'huile cosmétique).

L'huile alimentaire produite en atelier moderne (non traditionnelle via les caprins) est la plus apte au stockage, recommandé à 4°C ou au moins à 25°C mais dans des bouteilles brunes. La torréfaction des amandons pratiquée pour l'huile alimentaire afin d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, augmente aussi la stabilité de l'huile. Par contre il a été noté que l'huile à usage cosmétique se conserve moins bien que l'huile alimentaire, ce qui incite à poursuivre les recherches, même si les utilisateurs-formulateurs sont à même de pallier cet inconvénient via des additifs. Ces efforts sont indispensables aussi bien pour améliorer la qualité du point de vue alimentaire que pour répondre aux débouchés nouveaux en cosmétique.

Exploration du potentiel de la pulpe

Parallèlement à l'amélioration de la filière actuelle, axée sur la seule production d'huile d'amande, une autre partie du travail a été orientée vers la perspective d'une filière nouvelle visant la valorisation concomitante de l'amande et de la pulpe. Riche en eau et au contact de l'atmosphère, cette dernière est plus fragile à cause de la dégradation par des agents biologiques et chimiques, ce qui conduit à reconsidérer la suite des étapes de production dès la collecte des fruits elle-même.

La diversité de composition chimique de la pulpe, jusqu'à ce jour peu étudiée, ne permet évidemment pas de prétendre à une vision exhaustive des débouchés potentiels en fin de projet mais nos résultats montrent des opportunités :

- la fraction aromatique : il faut rechercher un composé majoritaire d'un intérêt particulier, ou simplement extraire l'arôme si caractéristique et le tester dans des préparations culinaires;

- l'extrait aqueux : une activité intéressante en relaxation musculaire a été découverte ; des tests complémentaires sont nécessaires ; l'analyse détaillée des composés polyphénoliques qui est en cours par un laboratoire spécialisé permettra d'émettre des hypothèses quant à l'origine de l'activité ; d'autres activités biologiques sont attendues à partir de l'étude bibliographique,

- la fraction latex : l'analogie de structure avec la gutta percha a été prouvée via des analyses approfondies (forme polyisoprénique trans majoritaire), contredisant les données de la littérature. Plusieurs possibilités d'application industrielle sont entrevues, répondant à une demande sans cesse plus forte, pour la substitution de composants de synthèse par des produits d'origine naturelle, ou comme gomme à mâcher (chewing gum). Cette fraction pourrait conduire plus rapidement que l'application médicale vers une exploitation de ces fonctionnalités (chewing gum à l'arôme de pulpe d'argan?).

L'exploitation de ces propriétés impose la mise au point d'itinéraires techniques nouveaux, nos observations et analyses montrant que la pulpe nécessite un traitement différent de celui subi actuellement (séchage aléatoire au sol, puis au soleil) afin de préserver les composés à extraire. C'est donc cet aspect -le fractionnement du fruit- qui a retenu notre attention, devant l'extraction par elle-même qui n'est pas vue comme un verrou technologique à ce stade préliminaire.

La séparation pulpe-noix, -étape clé du fractionnement du fruit frais- a été réalisée avec succès dans un dépulpeur mécanique, pour la première fois semble-t-il. Les fruits juste après la collecte paraissent plus aptes au dépulpage et la machine sépare bien la pulpe du reste de la biomasse, sans casser les noix. Une capacité de 100kg/h paraît accessible sans problème et sous réserve de tests de durée suffisamment longue. Le nouveau procédé pourrait être complété par la flash-détente suivie de l'extraction (eau, CO₂ supercritique et/ou simple pressage). *In fine* l'organisation de la filière nouvelle et les itinéraires techniques adaptés aux nouveaux objectifs, devront intégrer les différentes contraintes : attentes sociales, production agroforestière, marchés, techniques (qualité), environnement (agroforesterie durable, procédés propres et économes).

Prospective

Une analyse des procédés a été faite en termes d'attributs et déterminants de la qualité, dans le but de fournir des informations à l'attention des acteurs de la recherche et des décideurs, spécialistes des domaines agro-forestiers et environnement, technologues, formulateurs-utilisateurs de produits naturels, acteurs du développement social et économique. Elle montre la diversité des domaines impliqués dans la qualité des produits de l'arganier, en se limitant à l'huile d'argan et à la pulpe, cibles prioritaires du projet.

Les recommandations faites pour la filière actuelle de l'huile d'argan vont dans ce sens, afin de donner confiance aux utilisateurs confrontés au risque d'adultération de l'huile ou de présence de polluants. Des fiches-conseils pourraient être réalisées et diffusées. Une action en faveur de la reconnaissance de signes de qualité paraît nécessaire.

L'organisation d'une filière de collecte adaptée à la double valorisation de la pulpe et de l'amande, paraît devoir se faire parallèlement à la filière actuelle, la qualité des produits étant conditionnée par celle de la matière première. La mise au point effective du procédé de production entrevu doit être programmée, afin de pouvoir le tester cette nouvelle filière. Ce procédé s'inscrit dans la démarche maintenant appelée « bioraffinage », en se limitant, dans un premier temps tout au moins, à l'extraction des composés actifs et autres fractions possédant effectivement un marché sûr, la biomasse restante rejoignant les sous produits de la filière actuelle pour l'alimentation caprine. Un partenaire industriel spécialisé a été approché et serait prêt à participer dans une opération de démonstration avant la construction d'une unité de production

Des voies de valorisation de la pulpe au-delà de la seule utilisation actuelle sont maintenant entrevues ; mais il reste d'une part à vérifier l'innocuité pour l'utilisateur et les propriétés fonctionnelles, par des tests ciblés, et d'autre part à impliquer des exploitants forestiers –entreprises ou collectivités- afin d'évaluer la faisabilité et le cas échéant définir la démarche pour tester une filière nouvelle de valorisation de la totalité du fruit.

Nos observations au plan chimique conduisent à un questionnement sur l'évolution de la composition du fruit au cours de la période précédant sa chute, les rares prédécesseurs s'étant intéressés à l'ensemble de la période de fructification, donc avec un pas de temps trop grand pour pointer l'intérêt de cette étude ; mais nos résultats permettent d'en souligner l'importance. Nous avons donc besoin de mieux connaître les évolutions biochimiques (métabolites secondaires ; ratio polyisoprène/lipides, les biosynthèses étant liées) et chimiques (oxydation). Des

polysaccharides et des sucres solubles de pulpe sont proposés comme marqueurs de l'évolution de la maturité dans les jours précédant la chute des fruits. Il convient aussi de s'interroger au sujet de l'influence de l'infestation par la cératite sur la composition de la pulpe (paramètre seulement effleuré au cours de ce travail).

Un effort de recherche particulier dans ce domaine est donc nécessaire

Le caractère sessile et l'échelonnement de la floraison conditionnent aussi l'organisation de la filière, donc la méthode de récolte ; la filière cherchant un optimum économique entre qualité de la matière première et minimisation des coûts, sur fond d'intégration sociale d'une éventuelle nouvelle filière. Sur ce point on peut penser que divers co-produits de la nouvelle filière rejoindront l'utilisation actuelle en alimentation animale, la noix pouvant quant à elle suivre la voie classique pour la production d'huile d'argan, probablement avec une amélioration de la qualité.

Plus en amont c'est la qualification des fruits en fonction des usages recherchés qui constitue le volet important et difficile à atteindre en termes de déterminants de la qualité. Lequel est relié directement à un effort d'inventaire de la diversité au sein de l'arganeraie puis à une action de sélection variétale. C'est également dans cette perspective, que les deux partenaires du Thème 1 s'étaient donné comme priorité de travailler avec une biomasse d'origine géographique et phénotypique connue, et collectée dans des conditions maîtrisées.

Convaincus de l'intérêt de l'arganier et de l'utilité des résultats résumés ci-avant portant à la fois sur des aspects phénotypiques, chimiques et technologiques, les deux partenaires coordonnateurs du thème 1 souhaitent assurer la pérennité de la collaboration au-delà du présent projet qui a vu la collaboration entre participants aux thèmes 1 et 2, grâce à l'animation du projet par Agropolis International.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aboughe-Angone, S., E. Nguema-Ona, P. Ghosh, P. Lerouge, T. Ishii, B. Rayb, and A. Driouich,** Cell wall carbohydrates from fruit pulp of *Argania spinosa*: structural analysis of pectin and xyloglucan polysaccharides. *Carbohydrate Research*, **2008. 343**: p. 67-72.
- Akihisa, T., K. Yasukawa, H. Oinuma, Y. Kasahara, S. Yamanouchi, M. Takido, K. Kumaki, and T. Tamura,** Triterpene Alcohols From The Flowers Of Compositae And Their Anti-Inflammatory Effects. *Phytochemistry*, **1996. 43(6)**: p. 1255-1260.
- Alaoui, A., Z. Charrouf, M. Soufiaoui, V. Carbone, A. Malorni, C. Pizza, and S. Piacente,** Triterpenoid Saponins from the Shells of *Argania spinosa* Seeds. *J. Agric. Food Chem*, **2002. 50**: p. 4600-4603.
- Alaoui, K., M. Belabres, Y. Cherrah, M. Hasar, Z. Charrouf, H. Amarouch, and J. Roquebert,** Toxicité aiguë et chronique des saponines d'*Argania spinosa*. *Ann. Pharmaceutiques Françaises*, **1998. 56**: p. 213-219.
- Alaoui, K., J.F. Lagorge, Y. Cherrah, M. Hassar, H. Amarouch, and J. Roquebert,** Activité analgésique et anti-inflammatoire des saponines d'*Argania spinosa*. *Ann. Pharmaceutiques Françaises*, **1998. 56**: p. 220-228.
- Arisawa, M., D.A. Kinghom, A.G. Cordell, H.C. Phoebe, and R.N. Fansworth,** Plant anticancer agents. XXXVI, Schottenol glucide from *Baccharis coridifolia* and *Ipomopsis aggregata*. *Planta Med*, **1985. 6**: p. 544-545.
- Arrieta, J., B. Reyes, F. Calzada, R. Cedillo-Rivera, and A. Navarrete,** Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmannianum*. *Fitoterapia*, **2001. 72**: p. 295-297.
- Babich, H. and F. Visioli,** In vitro cytotoxicity to human cells in culture of some phenolics from olive oil. *Farmaco*, **2003. 58(5)**: p. 403-407.
- Battino, M.,** Recherches sur l'huile d'argan et sur quelques autres produits de l'arganier. Thèse de doctorat en Pharmacie, Paris, 1929. Librairie le Français (Paris), 132p.
- Beilen, J.B.v. and Y. Poirier,** Establishment of new crops for the production of natural rubber. *TRENDS in Biotechnology*, **2007. 25(11)**: p. 522-528.
- Bernard, P., T. Scior, B. Didier, M. Hibert, and J.-Y. Berthon,** Ethnopharmacology and bioinformatic combination for leads discovery: application to phospholipase A2 inhibitors. *Phytochemistry*, **2001. 58**: p. 865-874.
- Berrougui, H., M. Cloutier, M. Isabelle, and A. Khalil,** Phenolic-extract from argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*, **2006. 184**: p. 389-396.
- Bok, S.H., S.H. Lee, Y.B. Park, K.H. Bae, K.H. Son, T.S. Jeong, and M.S. Choi,** Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and Acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J. Nutr.*, **1999. 129**: p. 1182-1185.
- Buland F.N.,** Contribution à l'étude de la pulpe d'*Argania spinosa*. Collecte et séchage d'échantillons de fruits, stage Cirad-Persyst, Univ. Montpellier 1, UFR sciences pharmaceutiques et biologiques, juillet 2008
- Charrouf Z.** Valorisation d'*Argania spinosa* (L.) Sapotaceae : Etude de la composition chimique et de l'activité biologique du tourteau et de l'extrait lipidique de la pulpe., Thèse Sciences, Univ Mohammed V, Rabat ,1991.
- Charrouf, Z.,** Valorisation des produits de l'arganier pour une gestion durable des zones arides du sud-ouest marocain. *Actes du 4e Colloque Produits naturels d'origine végétale (Ottawa 26-29 Mai 1998)*, **1999**: p. 195-209.
- Charrouf Z. ; Fkih-Tétouani S. ; Rouessac F.,** Occurrence of Erythrodiol in *Argania spinosa* , *Al Biruniya*, 6, (2), 135.,1990,
- Charrouf Z., Fkih-Tétouani S. ,Charrouf M., Mouchel B.** Triterpènes et stérols extrait de la pulpe d'*Argania spinosa* (L.) Sapotaceae. *Plantes médicinales et Phytothérapie*, XXV, 2-3, 112-117,1991.
- Charrouf, Z. and D. Guillaume,** Secondary metabolites from *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Phytochemistry Reviews*, **2002. 1**: p. 345-354.
- Charrouf, Z. and D. Guillaume,** Ethnoeconomical, Ethnomedical, and Phytochemical Study of *Argania spinosa* (L.) Skeels: A Review. *Journal of Ethnopharmacology*, **1998**: p. 1-9.
- Charrouf Z. ; Wieruzeski J.M. ; Fkih-Tétouani S. ; Leroy Y. ; Charrouf M., Fournet B.** Triterpenoid saponin from *Argania spinosa*. *Phytochemistry*, 31, (6), 2079.,1992

- Charrouf, Z., M. Hilali, O. Jauregui, M. Soufiaoui, and D. Guillaume**, Separation and characterization of phenolic compounds in argan fruit pulp using liquid chromatography–negative electrospray ionization tandem mass spectroscopy. *Food Chemistry* **2007**. **100**: p. 1398–1401.
- Chen, Z. and C. Ma**, Effects of hyperin on free intracellular calcium in dissociated rat brain cells. *Acta Pharm Sin*, **1999**. **1**: p. 27-30.
- Chernane, H., A. Hafidi, I. El Hadrami, H. Ajana**, Composition phénolique de la pulpe des fruits d'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) et relation avec leurs caractéristiques morphologiques. *Agrochimica*, **1999**. **43**: p. 137-150
- Choi, C.Y., H.J. You, and H.G. Jeong**, Nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production by oleanolic acid via nuclear factor-kappaB activation in macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2001**. **288**: p. 49-55.
- Choi, M.S., K.M. Do, Y.B. Park, S.M. Jeon, T.S. Jeong, Y.K. Lee, M.K. Lee, and S.H. Bok**, Effect of naringin supplementation on cholesterol metabolism and antioxidant status in rats fed high cholesterol with different levels of vitamin E. *Ann. Nutr. Metab.*, **2001**. **45**: p. 193-201.
- Christen, S., A.A. Woodall, M.K. Shigenaga, P.T. Southwell-Keely, M.W. Duncan, and B.N. Ames**, Gamma-tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO(X) and complements alpha-tocopherol: physiological implications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1997**. **94**: p. 3217-3223.
- Cooney, R.V., A.A. Franke, P.J. Harwood, V. Hatch-Pigott, L.J. Custer, and L.J. Mordan**, Gamma-tocopherol detoxification of nitrogen dioxide: superiority to alpha-tocopherol. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **1993**. **90**: p. 1771-1775.
- Kim, D.S.H.L., J.M. Pezzuto, and E. Pisha**, Synthesis of betulinic acid derivatives with activity against human melanoma. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **1998**. **8**: p. 1707-1712.
- Doering, T.L., K.A.W. Tianbao Luf, G.W. Gokel, G.W. Hart, J.I. Gordon, and P.T. Englund**, Toxicity of myristic acid analogs toward African trypanosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**. **91**: p. 9735-9739.
- DREFSO, DIRECTION RÉGIONALE DES EAUX ET FORÊT DU SUD-OUEST**, Programme d'Appui à l'amélioration de la situation de l'emploi de la femme rurale et gestion durable de l'Arganeraie dans le Sud-Ouest du Maroc. 2007
- Drissi A., H. Bennani, F. Giton, Z. Charrouf, J. Fiet, and A. Adlouni**, Tocopherols and Saponins Derived from *Argania spinosa* Exert, an Antiproliferative Effect on Human Prostate Cancer. *Cancer Investigation*, **2006**. **24**: p. 588-592.
- FAO Corporate document repository, Forestry department, Gums, resins and latex of origin Non wood forest products for rural income and sustainable forestry**, ISBN 103757, 1995.
- Fellat-Zarrouk, K., S. Smoughen, and R. Maurin**, Etude de la pulpe du fruit de l'arganier (*Argania spinosa*) du Maroc. Matière grasse et latex. *Actes Inst. Agron. Vét.*, **1987**. **7**: p. 17-22.
- Frankel, E.N., J. Kanner, J. B.German, E. Parks, and J.E. Kinsella**, Inhibition of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* **1993**. **341**: p. 454-457.
- Frankel, E.N., A.L. Waterhouse, and P.L. Teissedre**, Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1995**. **43**: p. 890-894.
- Gao, R., W.L. Stone, T. Huang, A.M. Papas, and M. Qui**, The uptake of tocopherols by RAW264.7 macrophages. *Nutr. J.*, **2002**. **1**: p. 2.
- Gao, Z., D.J. Maloney, L.M. Dedkova, and S.M. Hecht**, Inhibitors of DNA polymerase b: Activity and mechanism. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**. **16**: p. 4331-4340.
- Geetha, T., P. Varalakshmi, and R.M. Latha**, Effect Of Triterpenes From *Crataeva Nurvala* Stem Bark On Lipid Peroxidation In Adjuvant Induced Arthritis In Rats. *Pharmacological Research*, **1998**. **37(3)**: p. 191-195.
- Giner-Larza, E.M., S. Manez, M.C. Recio, R.M. Giner, J.M. Prieto, M. Cerda-Nicolas, and J.L. Rios**, Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from Pistacia, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. *European Journal of Pharmacology*, **2001**. **428**: p. 137-143.
- Gong, Y., K.M. Raj, C.A. Luscombe, I. Gadawski, T. Tam, J. Chu, D. Gibson, R. Carlson, and S.L. Sacks**, The synergistic effects of betulin with acyclovir against herpes simplex viruses. *Antiviral Research*, **2004**. **64**: p. 127-130.
- Guevara, A.P., E. Amor, and G. Russell**, Environmental Mutagenesis Antimutagens from *Plumeria acuminata* Ait. *Mutation Research*, **1996**. **361**: p. 67-72
- Guillaume, D. and Z. Charrouf**, Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, **2005**. **14(6)**: p. 509-516.
- Hachet, J.C.**, *Toxicologie d'Urgence*. 1989: Produits Chimiques Industriels, Collection Abrégés de Médecine. Masson, Paris.
- Hamdouch-Aouad, S.**, Etude de la composition chimique de la pulpe d'*Argania spinosa* (L.) Sapotaceae. Thèse de 3ème cycle, Université Hassan II, Faculté des Sciences Ben M'Sik, Casablanca, **1995**.

- Henry, F., L. Danoux, Z. Charouf, and G. Pauly, New potential active ingredient from *Argania spinosa* (L.) Skeels cakes. Réseau de valorisation des plantes médicinales marocaines. Plantes médicinales, Santé, Environnement au service du Développement. Rabat., **2002**.
- Hilali M., Z. Charrouf, A. El Aziz Soulhi, L. Hachimi, D. Guillaume: Influence of Origin and Extraction Method on Argan Oil Physico-Chemical Characteristics and Composition. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 2081-2087.
- Horie, N., N. Hirabayashi, Y. Takahashi, Y. Miyauchi, H. Taguchi, and K. Takeishi, Synergistic Effect of Green Tea Catechins on Cell Growth and Apoptosis Induction in Gastric Carcinoma Cells. *Biol. Pharm. Bull.*, **2005**. **28(4)**: p. 574-579.
- Hsu, C.-L. and G.-C. Yen, Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. *British Journal of Nutrition*, **2007**. **98**: p. 727-735.
- Huang, H.Y., A.J. Alberg, E. Norkus, S.C. Hoffman, G.W. Comstock, and K.J. Helzlsouer, Prospective study of antioxidant micronutrients in the blood and the risk of developing prostate cancer. *Am. J. Epidemiol.*, **2003**. **157**: p. 335-344.
- Iacopini, P., M. Baldi, P. Storchi, and L. Sebastiani, Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, In vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*. In Press, Accepted Manuscript, Available online 3 May 2008, **2008**.
- IUPAC, Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford. XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins., **1997**.
- Jagetia, G.C. and R. Aruna, Hydroquinone increases the frequency of micronuclei in a dose-dependent manner in mouse bone marrow. *Toxicol. Lett.*, **1997**. **93**: p. 205-213.
- Jeon, G.-C., M.-S. Park, D.-Y. Yoon, C.-H. Shin, H.-S. Sin, and S.-J. Um, Antitumor activity of spinasterol isolated from *Pueraria* roots. *Experimental and Molecular Medicine*, Vol. 37, No. 2, 111-120, April 2005. **37(2)**: p. 111-120.
- Jiang, Q., S.I. Elson, C. Coutemanche, and B. Ames, g- tocopherol and its major metabolite in contrast to a-tocopherol inhibit cyclooxygenase activity in macrophage and epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2000**. **97**: p. 11494-11499.
- Jung, U.J., M.-K. Lee, K.-S. Jeong, and M.-S. Choi, The Hypoglycemic Effects of Hesperidin and Naringin Are Partly Mediated by Hepatic Glucose-Regulating Enzymes in C57BL/KsJ-db/db Mice. *The Journal of Nutrition*, **2004**. **134**: p. 2499-2503.
- Kenny, L., Atlas de l'Arganier et de l'Arganeraie. 2007: Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. 190.
- Khallouki, F., B. Spiegelhalder, H. Bartsch, and R. Owen, Secondary metabolites of the argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. *African Journal of Biotechnology*, **2005**. **4(5)**: p. 381-388.
- Kim, H.P., K.H. Son, H.W. Chang, and S.S. Kang, Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *J Pharmacol Sci* **2004**. **96**: p. 229-245.
- Kitagawa, I., A. Inada, and I. Yusioka, Saponin and sapogenol-XII. Misaponin A and D, two major bidesmosides from the seed kernels of *Madhuca longifolia* (L.) Macbride. *Chem. Pharm. Bull.*, **1975**. **23**: p. 2268-2278.
- Kubola, J. and S. Siriamornpun, Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*, **2008**. **110**: p. 881-890.
- Kweifio-Okio, G., B. Field, B. Ruble, T. Macrides, and F. Demunk, Esterification improves antiarthritic effectiveness of lupeol. *Drug Dev Res*, **1995**. **35**: p. 137-141.
- Lavaud, C., G. Massiot, M. Becchi, G. Misra, and S.K. Nigam, Saponins From Three Species Of *Mimusops*. *Phytochemistry*, **1996**. **41(3)**: p. 887-893.
- Lerouxel, O., D.M. Cavalier, A.H. Liepman, and K. Keegstra, Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides — a complex process. *Current Opinion in Plant Biology*, **2006**. **9**: p. 621-630.
- Li, Q., G. Lou, and M. Qian, Effect of hesperidin and rutin on oxidative modification of high density lipoprotein in vitro. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, **2004**. **2(2)**: p. 115-116, 119.
- Li, Q., G. Chou, Z. Chen, and C. Ma, Inhibitory mechanism of hyperin on the apoptosis in myocardial ischemia/ischemia/reperfusion in rats. *Acta Pharm Sin*, **2002**. **37(11)**: p. 849-852.
- Lin, W.-L., Y.-J. Hsieh, F.-P. Chou, C.-J. Wang, M.-T. Cheng, and T.-H. Tseng, Hibiscus protocatechuic acid inhibits lipopolysaccharide-induced rat hepatic damage. *Arch Toxicol*, **2003**. **77**: p. 42-47.
- Liu, K.S., S.M. Tsao, and M.C. Yin, In vitro antibacterial activity of *roselle calyx* and protocatechuic acid. *Phytotherapy research*, **2005**. **19(11)**: p. 941-945.
- Loggia, R.D., A. Tabura, S. Sosa, H. Becker, S. Saar, and O. Isaac, The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. *Planta Med*, **1994**. **60**: p. 516-520.

- Luo, L., Q. Sun, Y.Y. Mao, Y.H. Lu, and R.X. Tan, Inhibitory effects of flavonoides from *Hypericum perforatum* on nitric oxide synthase. *Ethnopharmacol*, **2004**. **93**: p. 221-225
- Maniglia-Ferreira C. et al. Brazilian Gutta percha points. Part II Thermal properties, Braz Oral Res, 21(1) 29-34,2007
- Marfil R., C. Cabrera-Vique, R.Giménez, P.Bouzas, O. Martinez and J. A. Sanchez, Metal Content and Physicochemical Parameters Used as Quality Criteria in Virgin Argan Oil: Influence of the Extraction Method. *J. Agric. Food Chem.* 2008, **56**, 7279–7284 7279
- Marquez-Martin, A., R.D.L. Puerta, A. Fernandez-Arche, V. Ruiz-Gutierrez, and P. Yaqoob, Modulation of cytokine secretion by pentacyclic triterpenes from olive pomace oil in human mononuclear cells. *Cytokine*, **2006**. **36**: p. 211-217.
- Menendez, J.A., L. Vellon, R. Colomer, and R. Lupu, Effect of γ -Linolenic Acid on the Transcriptional Activity of the Her-2/neu (erbB-2) Oncogene. *J Natl Cancer Inst*, **2005**. **97**: p. 1211-1615.
- Meyer, A.S., M. Heinonen, and E.N. Frankel, Antioxidant interactions of catechins, cyanidin, caffeic acid, quercetin and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chemistry*, **1998**. **61**: p. 71-75.
- Moukal A., *Phytothérapie* (2004) Numéro 5: 135-141
- Mooibroek, H. and K. Cornish, Alternative sources of natural rubber. *Appl Microbiol Biotechnol*, **2000**. **53**: p. 355-365.
- Parang, K., L.I. Wiebe, E.E. Knaus, J.-S. Huang, D.L. Tyrrell, and F. Csizmadia, In vitro antiviral activities of myristic acid analogs against human immunodeficiency and hepatitis B viruses. *Antiviral Research*, **1997**. **34**: p. 75-90.
- Perona, J.S., C. Arcemis, V. Ruiz-Gutierrez, and A. Catala, Effect of Dietary High-Oleic-Acid Oils that are Rich in Antioxidants on Microsomal Lipid Peroxidation in Rats. *J. Agric. Food Chem.*, **2005**. **53**: p. 730-735.
- Pingret de Souza D., Mémoire de Diplôme de Pharamcien, Université Nationale de Brasilia UNB et Cirad, 2008
- Prasad, S., N. Kaira, and Y. Shukla, Hepatoprotective effects of lupeol and mango pulp extract of carcinogen induced alteration in Swiss albino mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, **2007**. **51(3)**: p. 352-359.
- Pu, F., K. Mishima, K. Irie, K. Motohashi, Y. Tanaka, K. Orito, T. Egawa, Y. Kitamura, N. Egashira, K. Iwasaki, and M. Fujiwara, Neuroprotective Effects of Quercetin and Rutin on Spatial Memory Impairment in a 8-Arm Radial Maze Task and Neuronal Death Induced by Repeated Cerebral Ischemia in Rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, **2007**. **104**: p. 329-334.
- Rahmani, M., Composition chimique de l'huile d'argane « vierge ». *Cahiers Agricultures*, **2005**. **14(5)**: p. 461-465.
- Reiter, W.-D., The molecular analysis of cell wall components. *Trends Plant Sci.*, **1998**. **3**: p. 27-32.
- Roche, H. and G. Boge, In vivo effects of phenolic compounds on blood parameters of a marine fish (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **2000**. **125**: p. 345-353.
- Rodriguez-Rodriguez, R., M.H. Gonzalez, and V. Ruiz-Gutierrez, *Beneficial vascular effects of oleanolic acid and erythrodiol*, in *74th EAS Congress*. 2004: Seville, Spain. p. 147.
- Saleem, M., A. Alam, S. Arifin, M.S. Shah, B. Ahmed, and S. Sultana, Lupeol, A Triterpene, Inhibits Early Responses Of Tumor Promotion Induced By Benzoyl Peroxide In Murine Skin. *Pharmacological Research*, **2001**. **43(2)**: p. 127-134.
- Saleem, M., S. Kaur, M.-H. Kweon, V.M. Adhami, F. Afaq, and H. Mukhtar, Lupeol, a fruit and vegetable based triterpene, induces apoptotic death of human pancreatic adenocarcinoma cells via inhibition of Ras signaling pathway. *Carcinogenesis*, **2005**. **26(11)**: p. 1956-1964.
- Sandret, F., La pulpe d'argane, composition chimique et valeur fourragère: variation en cours de la maturation. *Annales de la Recherche Forestière ao MARoc*, **1957**: p. 152-177.
- Stevanovic, T., Produits à valeur ajoutée issus de résidus de l'industrie forestière, Département des sciences du bois et de la forêt. *Université Laval, Québec*, **2008**.
- Stich, H.F., The beneficial and hazardous effects of simple phenolic compounds. *Mut. Res.*, **1991**. **259**: p. 307-324.
- Subramaniam A., Molecular weight and other properties of natural rubber a study of clonal variations, proceedings of the International Rubber conference 1975, Kuala Lumpur.
- Suganuma, M., S. Okabe, Y. Kai, N. Sueoka, E. Sueoka, and H. Fujiki, Synergistic Effects of (-)-Epigallocatechin Gallate with (-)-Epicatechin, Sulindac, or Tamoxifen on Cancer-preventive Activity in the Human Lung Cancer Cell Line PC-9. *Cancer Research*, **1999**. **59**: p. 44-47.
- Suh, N., T. Honda, H.J. Finlay, A. Barchowsky, C. Williams, N.E. Benoit, Q.W. Xie, C. Nathan, G.W. Gribble, and M.B. Sporn, Novel triterpenoids suppress inducible nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in mouse macrophages. *Cancer Research*, **1998**. **58**: p. 717-723.

- Suh, N., Y. Wang, T. Honda, G.W. Gribble, E. Dmitrovsky, W.F. Hickey, R.A. Maue, A.E. Place, D.M. Porter, M.J. Spinella, C.R. Williams, G. Wu, A.J. Dannenberg, K.C. Flanders, J.J. Letterio, D.J. Mangelsdorf, C.F. Nathan, L. Nguyen, W.W. Porter, R.F. Ren, A.B. Roberts, N.S. Roche, K. Subbaramaiah, and M.B. Sporn, A novel synthetic oleanane triterpenoid, 2-cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic acid, with potent differentiating, antiproliferative, and anti-inflammatory activity. *Cancer Research*, **1999**. **59**: p. 336-341.
- Tahrouch, S., S. Rapior, J.M. Bessi re, and C. Andary, Les substances volatiles de *Argania spinosa* (Sapotaceae). *Acta Bot. Gallica*, **1998**. **145**: p. 259-263.
- Tanaka, T., T. Kojima, T. Kawamori, and H. Mori, Chemoprevention of digestive organs carcinogenesis by natural product protocatechuic acid. *Cancer Detection and Prevention*, **1995**. **75**: p. 1433-1439.
- Tanaka Y.et al.. Structural characteristics of natural rubber Role of esters groups, Journal of Applied Polymer Science, Applied Polymer symposium 53,3-14, 1994.
- Taysse, L., D. Troutaud, N.A. Khan, and P. Deschaux, Structure-activity relationship of phenolic compounds (phenol, pyrocatechol and hydroquinone) on natural lymphocytotoxicity of carp (*Cyprinus carpio*). *Toxicology*, **1995**. **98**: p. 207-214.
- Terfas, M., *Arganier (Argan en Amazigh)*. Thèse de Doctorat d'Etat. 1997, Université de Dakar.
- ICON Group International, The World market Forecast for balata, gutta percha ,guayule,chicle and similar natural gums,A 2009 global trade, , Oct. 2008
- Tholstrup, T., P. Marckmann, J. Jespersen, and B. Sandstrom, Fat high in stearic acid favorably affects blood lipids and factor VII coagulant activity in comparison with fats high in palmitic acid or high in myristic and lauric acids. *Am J Clin Nutr*, **1994**. **59**: p. 371-377.
- Tseng, T.H., T.W. Kao, C.Y. Chu, F.P. Chou, W.L. Lin, and C.J. Wang, Induction of apoptosis by hibiscus protocatechuic acid in human leukemia cells via reduction of retinoblastoma (RB) phosphorylation and Bcl-2 expression. *Biochem. Pharmacol.*, **2000**. **60(3)**: p. 307-315.
- Tsutsui, T., N. Hayashi, H. Maizumi, J. Huff, and J.C. Barrett, Benzene-, catechol-, hydroquinone and phenol-induced cell transformation, gene mutations, chromosome aberrations, aneuploidy, sister chromatid exchanges and unscheduled DNA synthesis in Syrian hamster embryo cells. *Mutat. Res*, **1997**. **373**: p. 113-123.
- Uauy, R., P. Mena, and C. Rojas, Essential fatty acids in early life: structural and functional role. *Proceedings of the Nutrition Society*, **2000**. **59**: p. 3-15.
- Uchida, K., H. Mizuno, K. Hirota, and K.i. Takeda, Effects Of Spinasterol And Sitosterol On Plasma And Liver Cholesterol Levels And Biliary And Fecal Sterol And Bile Acid Excretions In Mice. *Japan J. Pharmacol.*, **1983**. **33**: p. 103-112.
- Wikip dia, Hollywood Chewing-gum, le Chewing gum de A   Z
- Winston, G.W., Mini-review. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. [C]*, **1991**. **100C**: p. 173-176.
- Witz, G., Z. Zhang, and B.D. Goldstein, Reactive Ring-Opened Aldehyde Metabolites in Benzene Hematotoxicity. *Environmental Health Perspectives*, **1996**. **104(6)**: p. 1195-1199.
- Xaoi Hui Sun, Xiuyuan Ni, Journal of Applied Polymer Sciences, Vol 94, 2286-2294 (2004)
- Yasukawa, K., S. Kitanaka, and S. Seo, Inhibitory Effect of Stevioside on Tumor Promotion by 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate in Two-Stage Carcinogenesis in Mouse Skin. *Biol. Pharm. Bull.*, **2002**. **25(11)**: p. 1488-1490.
- Yilmaz, Y. and R.T. Toledo, Major Flavonoids in Grape Seeds and Skins: Antioxidant Capacity of Catechin, Epicatechin and Gallic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**. **52**: p. 255-260.
- Yip, E.C.H., A.S.L. Chan, H. Pang, Y.K. Tam, and Y.H. Wong, Protocatechuic acid induces cell death in HepG2 hepatocellular carcinoma cells through a c-Jun N-terminal kinase-dependent mechanism. *Cell Biol Toxicol*, **2006**. **22**: p. 293-302.
- You, H.J., C.Y. Choi, J.Y. Kim, S.J. Park, K.S. Hahm, and H.G. Jeong, Ursolic acid enhances nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production via nuclear factor kappaB activation in the resting macrophages. *FEBS Letters*, **2001**. **509**: p. 156-160.
- Yu, Z., V.Y. Ng, P. Su, M.M. Engler, M.B. Engler, Y. Huang, E. Lin, and D.L. Kroetz, Induction of Renal Cytochrome P450 Arachidonic Acid Epoxygenase Activity by Dietary g-Linolenic Acid. *The Journal Of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **2006**. **317(2)**: p. 732-738.
- Zdzisińska, B., W. Rzeski, R. Paduch, A. Szuster-Ciesielska, J. Kaczor, K. Wejksza, and M. Kandefer-Szerszeń, Differential Effect Of Betulin And Betulinic Acid On Cytokine Production In Human Whole Blood Cell Cultures. *Polish Journal of Pharmacology*, **2003**. **55**: p. 235-238.
- Zhao, W., Z. Chen, and B. Song, The protective effect of hyperin on gastric mucosal injury in mice and its mechanism. *Acta Univer Med Anhui*, **1999**. **34**: p. 3.
- Zhu, W. and E.J. Smart, Myristic Acid Stimulates Endothelial Nitric-oxide Synthase in a CD36- and an AMP Kinase-dependent Manner. *The Journal of Biological Chemistry*, **2005**. **280(33)**: p. 29543-29550.

Zitterl-Eglseer, K., S. Sosa, J. Jurenitsch, M. Schubert-Zsilavec, R.D. Loggia, A. Tubaro, M. Bertoldi, and C. Franz, Anti-oedematous activities of the main triterpene diol esters of marigold (*Calendula Officinalis* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, **1997**, **57**: p. 139-144.

ANNEXES

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

COLLECTE DES FRUITS A L IAV-AGADIR

Le séjour au Maroc a débuté par une réunion avec nos partenaires afin de leur présenter nos objectifs et recueillir leurs avis et conseils sur la faisabilité de la récolte tel que nous l'avions prévu. Ils nous ont apporté de nouveaux paramètres à prendre en compte pour notre récolte, tel que la grande variabilité génétique et phénotypique de l'arbre, le manque de fruits cette année dû à une sécheresse, mais aussi aux vagues de chaleurs du début d'année qui ont entraîné une chute précoce des fruits. Puis nous avons visité la réserve dans laquelle la récolte a été faite, ce qui nous a permis de mettre en évidence un autre problème : l'aspect buissonnant des arbres rendant la récolte plus difficile voir impossible dans les conditions déterminées préalablement. Cela a mis en avant la nécessité d'obtenir de la main d'œuvre pour m'aider à tailler les arbres et placer les bâches sous les arbres. Cette nécessité s'est fait d'autant plus ressentir lorsque les récoltes ont commencé, car la préparation des arbres ainsi que la récolte et le traitement des fruits sont long. Cette première confrontation à la réalité a donc exigé adaptation importante de nos objectifs afin de pouvoir mener à bien l'échantillonnage des fruits.

Nous avons réalisé un inventaire du matériel disponible à l'aide du tableau préparé avant mon départ, afin d'acheter le matériel manquant nécessaire à la réalisation du stage.

Choix et préparation des arbres

Le choix des arbres a été fait sur trois critères établis avec l'aide d'un stagiaire marocain présent au début du séjour et ayant travaillé sur ce stage l'année précédente (Mr. Hicham Harhar) :

- La quantité de fruits présents sur l'arbre ;
- L'état de maturation des fruits (si les fruits tomberont durant la période de récolte) ;
- L'aspect de l'arbre (buissonnant ou non) ;

Il nous a fallu estimer si la quantité de fruits potentiellement récoltée sur l'arbre valait le temps que nous allions passer à le préparer. En effet, certains arbres étaient plus difficiles que d'autres à tailler (Figure 6 photo 1 et 2), plus sale au pied (Figure 6, photo 3), paramètres qu'il a fallu prendre en compte au vu du peu de temps dont nous disposions. Les arbres sélectionnés ont alors été repérés sur une photo satellite du centre (cf. annexe 3) avant d'être préparé et le tableau de caractérisation de ceux-ci rempli.

La préparation des arbres a consisté à tailler les branches basses en épargnant autant que possible celles portant des fruits, quitte à les placer sur tuteur, ainsi qu'à nettoyer le sol sous l'arbre. Après nous avons placé les bâches sous l'arbre en les maintenant au sol à l'aide de pierres (Figure 6, photo 4). Enfin, les arbres ont été marqués du numéro leur étant attribué (figure 6, photo 5).



1



2



3



4



5

Figure 6 : Photo 1 : Arbre 11 avant préparation pour récolte.
 Photo 2 : Arbre 11 après préparation.
 Photo 3 : Exemple d'arbre qui bien que portant beaucoup de fruits ne fut pas sélectionné car nécessitait trop de temps pour le préparer.
 Photo 4 : Mise en place d'une bâche.
 Photo 5 : Exemple de marquage d'un arbre

Protocole de collecte et de traitement des échantillons

- Nous avons essayé de définir un protocole d'échantillonnage avant la récolte afin de préparer au mieux cette dernière. Nous avons décidé de récolter les fruits tombés au sol car cela permet d'obtenir une relative homogénéité de l'échantillon du point de vue maturité du fruit pour un même arbre (sans prendre en compte les paramètres non contrôlable, tel que le vent, pouvant faire chuter précocement les fruits). Afin de faciliter cette récolte et de limiter l'attaque des fruits par les insectes rampants, les fruits seront récupérés sur des bâches disposées préalablement sous les arbres (Figure 6, photo 2). Les fruits ont été ramassés tous les matins afin d'obtenir des fruits frais, la chaleur et le vent ambiant pouvant rapidement assécher les fruits tombés. Nous avons défini les différents échantillons et les quantités nécessaires pour effectuer les essais.

La masse de pulpe obtenue a été mesurée pour chaque arbre tous les jours, ainsi que la masse de noix.

Pour une des formes de fruits, trois échantillons sont constitués, se différenciant par la méthode de conservation utilisée (séchage, congélation, réfrigération) pour comparer l'impact de ces différentes méthodes sur la composition de la pulpe.

Lors du séchage, la pulpe a été considérée comme sèche lorsque la perte de masse induite par le séchage se sera stabilisée.

Le dépulpage a été fait en laboratoire à l'aide de couteaux en inox (Figure 7). Cette étape prend beaucoup de temps puisqu'il faut compter en moyenne cinquante secondes pour dépulper un fruit. C'est pourquoi un deuxième stagiaire marocain (Mr. Badr Eddine Kartah) a été envoyé, ainsi que pour s'occuper des noyaux issus du dépulpage pour Mme le professeur Charrouf. De même, une des femmes de ménage du centre a été engagée pour nous aider à dépulper.

Le séchage a été réalisé à l'aide d'un tunnel de séchage fabriqué sur place. Il s'agissait d'une longue table recouverte de film plastique, portant des arcs de cercle métallique couvert de film plastique. A une extrémité a été placé un ventilateur, l'autre extrémité portant une ouverture pour évacuer l'air soufflé par le ventilateur (Figure 8, photo 1 et 2). Les fruits sont placés sur des plateaux constitués de tesson de bois et de d'un film type « moustiquaire » disposé dans le tunnel. Le tunnel a été placé au soleil afin d'obtenir une température interne proche de 30°C dans la journée. Les fruits étaient pesés tous les jours poursuivre l'évolution du séchage (Figure 8, photo 3).

Phénomène d'oxydation observé sur les pulpes saines congelées.



INFESTATION PAR LA CERATITE



Larves de Cératite retrouvées dans la pulpe de fruit d'arganier lors du dépulpage.



Cératite sur un fruit d'arganier.

1. Nom, adresse de l'expéditeur/l'organisation de protection des végétaux du pays d'origine : Mr COMPLEXE HORTICOLE D'AGADIR, INSTITUT AGRONOMIQUE ET VETERINAIRE HASSAN II, BP 121 AIT MELLOUL AGADIR MAROC	Lettre officielle d'autorisation pour l'introduction et/ou la circulation des organismes nuisibles, des végétaux, des produits végétaux et autres objets pour des travaux à des fins d'essai ou à des fins scientifiques et pour des travaux sur les sélections variétales (délivrée conformément à la directive 95/44/CE)	
2. Nom et adresse de la personne responsable des activités autorisées : Dr Daniel PIOCH UMR GPEB ; CIRAD-PERSYST TA B 64/16 34368 Montpellier cedex 5- France	3. Nom de l'organisme officiel responsable de l'Etat membre de délivrance Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire Protection des Végétaux et Sécurité de la Production végétale WTC III – 20^{ème} étage <u>Boulevard S. Bolivar 30</u> <u>B – 1000 Bruxelles</u> <u>BELGIQUE</u>	
4. Adresse et description du ou des sites spécifiques de maintien en quarantaine	5. Lieu d'origine (avec, jointe, la preuve documentaire pour le matériel introduit d'un pays tiers) : STATION EXPERIMENTALE DU COMPLEXE HORTICOLE D'AGADIR AIT MELLOUL AGADIR MAROC	
7. Point d'entrée déclaré pour le matériel introduit d'un pays tiers MONTPELLIER FRANCE	6. Numéro du passeport phytosanitaire : ou numéro de certificat phytosanitaire :	
8. Nom(s) scientifique(s) du matériel, y compris les organismes concernés Argania spinosa (arganier)	9. Quantité de matériel 60kg	
10. Type de matériel :		
11. Déclaration supplémentaire Ce matériel est introduit / importé dans la Communauté conformément à la directive 95/44/CE		
12. Information supplémentaire : Ce matériel est destiné à des analyses en laboratoire, à des fins de recherche uniquement.		
13. Endossement par l'organisme officiel responsable de l'Etat membre d'origine du matériel Lieu d'endossement : Date : Nom et signature du fonctionnaire autorisé :	14. Cachet de l'organisme officiel responsable de délivrance Lieu de délivrance : Date : Nom et signature du fonctionnaire autorisé :	

ATTESTATION SUR L'HONNEUR



Centre
de coopération
Internationale
en Recherche
Agronomique
pour le
Développement

Je soussigné Daniel Pioch, Docteur en chimie - Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) et Coordonateur français du Programme de recherche conclu entre l'Agence de Développement Social (Maroc) et Agropolis International (Montpellier), atteste sur l'honneur que les fruits ou pulpes d'arganier (*Argania spinosa* ; espèce forestière) sont destinés à des fins de recherche pour des analyses scientifiques en laboratoire, à l'exclusion de toute utilisation agricole, alimentaire ou commerciale. Ils ne sont pas issus d'une culture, biologique ou non.

Ces fruits, transportés depuis le Maroc par DHL et pris en charge par GEODIS-WILSON, ne sont pas sur la liste des produits réglementés en France du point de vue de la protection des végétaux.

Ces échantillons sont le résultat de plusieurs mois de travail.

Ils ont été collectés dans un Conservatoire de l'arganier sur des arbres répertoriés non cultivés. Ils sont expédiés par notre partenaire marocain, l'Institut Agronomique Vétérinaire (IAV-centre de recherche d'Agadir), et seront analysés dans les laboratoires de l'Unité Mixte de Recherche « Génie des Procédés Eau-Bioproducts » du CIRAD-département Persyst à Montpellier, dirigée par le professeur Alain Grasmick, dans le cadre du programme de recherche « Valorisation du fruit d'arganier – Qualité et diversification » financé par l'Union Européenne (MAR/AIDCO/2002/0521).

**CIRAD-
Persyst**

UMR Cirad 016
UM1- UM2

Génie des
procédés
Eau -Bioproducts

Fait à Montpellier le 5 juin 2008

Maison de la
Technologie
TA 40/16
73, rue JF Breton
34398 Montpellier
Cedex 5

www.cirad.fr

Téléphone :
33 (0)4 67 61 55 14
Télécopie :
33 (0)4 67 61 75 62

EPIC-SIRET
331 596 270 00040
RCS Paris B
331 596 270

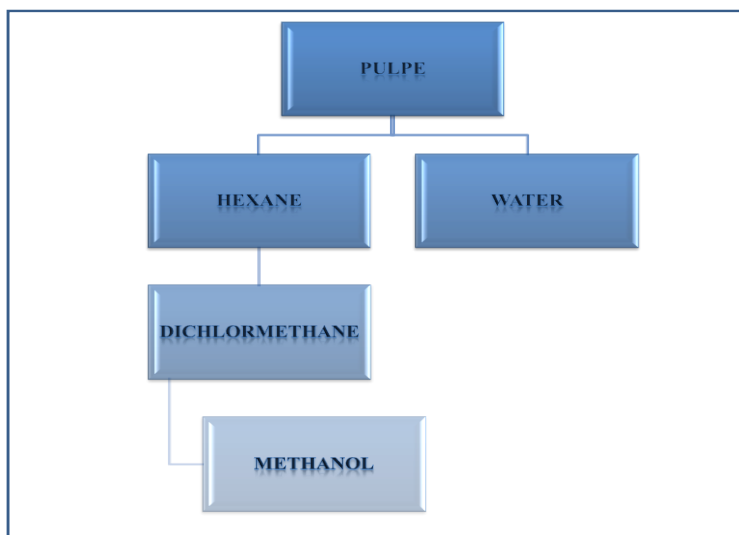
Dr HDR Daniel Pioch
Chef de Projet
UMR Cirad 016 - GPEB

EXTRACTS FROM PULP

From different solvents it is possible to extract different groups of molecules according to the polarity of each solvent of choice. Before the extraction, the pulp samples were pulverized in a grinder

In this study the extraction of the molecules from Argan pulp was made in cascade using solvents in a gradient of polarity: hexane, dichloromethane and methanol by the soxhlet method. After the complete extraction of molecules from one solvent, the same sample (pulp powder) was kept in the same cartridge and to the soxhlet was added the different solvent. And from another sample of the pulp powder an extraction was made with distilled water by maceration. In this report only the data from hexanic extraction is shown.

Extraction in cascade with different solvents.



SOXHLET EXTRACTION

The soxhlet extraction system has the advantage of bringing the sample into contact with the fresh solvent, thereby helping to displace the transfer equilibrium. The temperature of the system remains relatively high since the heat applied to the distillation flask reaches the extraction cavity to some extent. No filtration is required after the leaching step. The methodology is simple, has the possibility to extract more sample mass than most of the latest methods (microwave-extraction, supercritical fluids, etc.), and is non-matrix dependent 7.

Two sets of soxhlets extractor were used: one for the determination of the lipid content in 125mL soxhlets and another for large-scale extraction in 1000mL soxhlets. Despite the differences, both sets had the same principle.

The samples were introduced in an extraction cartouche of cellulose and put into the soxhlet. The solvent in the system was heated from the balloon and the vapor condensated by distillation, dropping into the soxhlet and once the liquid reached the overflow level, a siphon aspirated and unloaded it back to the distillation flask, carrying the extracted analytes into the bulk liquid. This operation was repeated until complete extraction was achieved. This performance makes Soxhlet a hybrid continuous-discontinuous technique.

The balloons previously washed were put into an oven at 103°C for two hours before being weighted with a 10mg precision and then put into a dessicator with silica. To these balloons, the extractive solutions were transferred from the soxhlet balloons with a funnel.

The equipment used to concentrate the extractive solutions obtained from each soxhlet was the rotavapor Buchi model R-220. The balloon containing the extractive solution was kept in a water bath at 40 ± 2 °C, rotation at 150 ± 5 rpm and the partial vacuum was kept the lowest possible with a water jet pump and azote flow.

The extractive solutions were concentrated as much as possible and after the balloons were put under azote flow for 30 minutes to assure the maximum elimination of the solvent and the in dessicator for 30 minutes.

The balloons with the extracts were kept closed to limit the contact with the atmospheric air and light to avoid oxidation. All flasks containing the extracts were weighted with a 10mg precision and the yield of the extraction was calculated.

The Figure 2 shows a picture of the soxhlets used in this assay, where it is possible to notice the different types of soxhlets, balloons and condensors, as well as a difference between the first cartridge compared to the others. The volume of the first soxhlet was 100mL, of the next 4 was 125mL and of the last one was 250mL. The first, second and fourth balloons had volumes of 250mL while the third, fifth and sixth had volumes of 500mL. The first condensor had four balls inside while the others had six. All these variables contributed to slight differences in the extraction of each soxhlets leading to a difference in the lipid contents.

OBTENTION OF EXTRACTS WITH SOXHLET (LARGE SCALE)

A series of 4 solvents covering a wide range of polarity were chosen: hexane, dichloromethane, methanol, water. The extractions were performed subsequently for the 3 first solvents in soxhlet, but a new pulp sample was taken in case of water, to avoid thermal degradation and it was processed at room temperature for the same purpose. The Figure 3 shows a picture of a large scale soxhlet (500 mL of capacity).

The series of assays in the previous section aims at determining the non polar extractible matter content following the standard procedure, thus with a sample of about 20g in the soxhlets. Although the assays were done in duplicate the total weight of extract yielded is less than 2g. On the other hand the estimated extract required for each kind of analysis planned led to estimate the biomass to be extracted for that purpose. Therefore another series of extraction experiments was performed in different soxhlet equipments, having a larger capacity of 500mL and 1000mL (an average of 500g of pulp). All the data were put together for each type of pulp before computing the overall yield.

The hexane extracts contain both lipids and poly-isoprene. The results from the total non polar fraction determination can be observed in Figure 28, expressed in percentage of weight based on dry pulp. Regarding the influence of fruit form, it can be noticed that the pulp from round mature fruits have the highest yield of extraction of non polar compounds (7,31%) and the pulp from the fusiform mature fruits have the lowest (5,48%), thus this parameter changes on a wide range over our series of collected samples. It can be noticed that the infested mature fruits and the sane ones don't have a significant difference and regarding the maturity states, the yield of extraction did not follow a proportional difference as expected and this can be explained by the differences between the equipments used.

DETERMINATION OF HEXANIC EXTRACT AS TOTAL LIPID CONTENT

To calculate the total lipid content, the standard NF-V 03-908 was followed with modifications. The soxhlets of 125mL were used, the solvent was the hexane (n-hexane Carlo Erba ACS 95%) and the assay was carried on in duplicates. The extraction lasted 8 hours with a frequency of 10 refluxes by hour and once the extractive solution was evaporated in the rotavapor (as described), the balloons were put into an oven at 80 ± 2 oC for 2 hours and then weighted with 10 mg of precision after cooling in a dessicator.

The lipid content was calculated as followed:

$$\frac{(m_2 - m_1)}{m_0} \times 100$$

Where:

m0 : weight, in grams, of the sample of analysis;

m1: weight, in grams, of the balloon with a regulator of ebullition;

m2: weight, in grams, of the balloon with the regulator of ebullition and the dry extract.

The repeatability was considered satisfactory if the difference between two simultaneous measures were less than 0,5% in absolute value. The final result was the average of the two measures and showed with one decimal.

EXTRACTION DU CAOUTCHOUC

The protocol used was adapted from the literature (8). Two samples were chosen from the hexanic extracts obtained from the soxhlet extraction: hexanic extract from round green pulp (RG-H) and hexanic extract from round mature pulp (RM-H). The hexanic extracts were diluted in a water bath at 40 ± 2 °C with hexane in a way the concentration of the solution was 100 mg/mL. Then methanol at -20°C was added in 10 times the volume of hexane and the final concentration of the solution was 9 mg/mL.

The solution was then centrifuged at 10.000rpm and 20°C for 30 minutes then the supernatant was removed to a recipient and the caoutchouc to another. To assure a complete precipitation, after concentrating the solution obtained from the supernatant, the process was repeated and after concentration the final extract was called hexanic lipid extract (HL). The caoutchouc obtained was washed following the same process described of precipitation and then dried in a dessicator for 4 hours before being weighted. The caoutchouc matter content was calculated as following:

$$\frac{(m_R - m_{HL})}{m_h} \times 100$$

Where:

mH : weight, in grams, of the hexanic extract;

mR: weight, in grams, of the recipient;

mh: weight, in grams, of the recipient with the hexanic lipid extract.

EXTRACTION DES SUCRES

Sucres solubles

Les sucres totaux ont été analysés comme dérivés de l'acétate d'alditol en accord avec la méthode d' Albersheim et al. (Albersheim, P.; Nevins, D. J.; English, P. D.; Karr, A. et par chromatographie (/Carbohydr. Res./ *1967*, /5/, 340-345, modifiée par Blakeney et al. (Blakeney, A. B.; Harris, P. J.; Henry, R. J.; Stone, B. A. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. /Carbohydr. Res./ * 1983*, /113/, 291-299.).

L'hydrolyse a été faite trois fois sur 5 mg de matière avec l'acide trifluoroacétique acid (2M) at 120°C pour 75 minutes. Aloose a été utilisé comme standard interne. Les dérivés de monosaccharide ont été séparés par gas chromatographie (HP 5890 GC) sur colonne OV 225 column (30 m x 0.32 mm i.d, épaisseur de film de 0.5 mm) en utilisant un split injector (ratio 1:10 at 250°C) et un détecteur d'ionisation par flamme. Le débit du gas vecteur (H₂) était de 3 mL min⁻¹. La température du four était 200°C pendant 12 min, puis 10°C par min⁻¹ jusqu'à 210°C et maintenue pendant 13 minutes.

Polysaccharides totaux

Neutral sugars were analysed as their alditol acetates derivatives according to the method of Albersheim et al. (Albersheim, P.; Nevins, D. J.; English, P. D.; Karr, A. A method for the analysis of sugars in plant cell wall polysaccharides by gas liquid chromatography. /Carbohydr. Res./ *1967*, /5/, 340-345) modified by Blakeney et al. (Blakeney, A. B.; Harris, P. J.; Henry, R. J.; Stone, B. A. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. /Carbohydr. Res./ * 1983*, /113/, 291-299.). The hydrolysis was done in triplicate for cell wall analysis on 5 mg of material with trifluoroacetic acid (2M) at 120°C for 75 minutes. Aloose was used as an internal standard. The monosaccharide derivatives were separated by gas chromatography (HP 5890 GC) on an OV 225 column (30 m x 0.32 mm i.d, film thickness of 0.5 mm) using a split injector (ratio 1:10 at 250°C) and a flame ionisation detector. The flow rate of the carrier gas (H₂) was 3 mL min⁻¹. The oven temperature was 200°C for 12 min and then raised at 10°C min⁻¹ to 210°C and maintained for 13 min.

COMPOSITION EN ACIDES GRAS

Deux extraits hexaniques de pulpes de fruits apiculés et ronds murs (AMHL et RMHL) ont été analysés après dérivation des acides gras en esters méthyliques. Les extraits secs ont été repris avec 10 mL d'hexane. Ensuite, 2 mL ont été filtrés et la dérivation a été faite en ajoutant 0.2 mL de méthanol KOH 2M. Le mélange a été vortexé et filtré. 2 µL ont été injectés en GC-MS

SPME

Une fois que l'adsorption des composés volatils sur la fibre de silice est finie on procède à la deuxième étape de la micro extraction en phase solide, la désorption faite thermiquement (2 min à 260°) dans l'injecteur du GC couplé à un spectromètre de masse.

Detection of Argan Oil Adulteration Using Quantitative Campesterol GC-Analysis

Miloudi Hilali $\text{\textcircled{A}}$ Zoubida Charrouf $\text{\textcircled{A}}$
Abd El Aziz Soulhi $\text{\textcircled{A}}$ Larbi Hachimi
 $\text{\textcircled{A}}$ Dominique Guillaume

Received: 8 November 2006 / Revised: 11 April 2007 / Accepted: 21 April 2007 / Published online: 3 July 2007

$\text{\textcircled{A}}$ AOCS 2007

Abstract Detection of edible oil adulteration is of utmost important to ensure product quality and customer protection. Campesterol, a sterol found in seed oils, represents less than 0.4% of argan oil total sterol content. Quantitative analysis of campesterol by gas chromatography of argan oil and of a mixture of argan oil and readily commercially available vegetable oils, consecutively with sterol separation, was carried out. Our study clearly demonstrated that determination of the campesterol level in argan oil (or oil presented as argan oil) can be proposed as the major analysis method to assess unambiguously argan oil purity up to 98%.

Keywords Argan oil $\text{\textcircled{A}}$ *Argania spinosa* $\text{\textcircled{A}}$ Argan tree
 $\text{\textcircled{A}}$ Campesterol $\text{\textcircled{A}}$ Adulteration $\text{\textcircled{A}}$ Morocco

Introduction

Alimentary argan oil is an oil of high dietetic value obtained by crushing the briefly roasted kernels from the

argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) fruits [1]. This oil is exclusively produced in Morocco, where argan trees grow naturally. In this Northwestern African country, argan oil is traditionally consumed fresh or used for cooking. Because of its high level of unsaturated fatty acids and antioxidants [2], both types of compounds are known to reduce the risks of cardiovascular diseases [3, 4], argan oil popularity has recently crossed the Moroccan boundaries and reached most of the industrialized countries. This tendency is nowadays strongly reinforced by the scientific confirmation of argan oil's potential pharmacological properties [5–7] and the continuous discovery of anticancer substances in argan oil [8–11]. Since 1997, argan oil has been widely sold in Western-Europe, North-America and Japan. In 2002, the French Agency of the Sanitary Safety of Food (AFSSA) officially allowed the marketing of argan oil in France [12].

Argan oil is produced in low yield and its preparation is time consuming. An average value of 34 kg of dried fruits (the production of seven to eight trees), and 20 h of work are necessary to obtain 1 L of oil [1]. Consequently, argan oil is expensive. In 2005, in developed countries, the average price of a 100 mL bottle of argan oil was around US\$20. Such a price is likely to incite unscrupulous behavior and, consequently, there is an urgent need to control and ascertain the quality of argan oil.

Quality control of food, and specifically vegetable oils, is not a new problem [13] and two kinds of evaluation should be envisioned depending on the suspected adulteration. Either the marketed product has really been prepared from the right plant but its preparation did not follow the correct procedure, leading to a low quality product, or the oil sold results from the blending of a cheap oil with the valuable one.

M. Hilali $\text{\textcircled{A}}$ Z. Charrouf ($\text{\textcircled{A}}$) Laboratoire de Chimie des Plantes
et de Synthèse Organique et Bioorganique, Faculté des
Sciences, Université Mohamed V-Agdal,

1014 R.P., Rabat, Morocco e-mail: zcharrouf@menara.ma

E. A. Soulhi $\text{\textcircled{A}}$ L. Hachimi Laboratoire Officiel
d'Analyses et de Recherches Chimiques, 25 rue Rahal Nichakra,
Casablanca, Morocco

Guillaume ($\text{\textcircled{A}}$) FRE2715-CNRS, 51096 Reims cedex,
France e-mail: dominique.guillaume@univ-reims.fr

So far, only two studies aimed at discriminating argan from other edible oils are available. One specifically concerns the discrimination from olive oil [14] while the second is more general [15]. Recently, we have reported a list of argan oil physico-chemical parameters and shown that some of them can be used as a marker to detect argan oil of unsatisfactory quality [16]. We herein demonstrate that because of its unusual campesterol ((24R)-24-methyl-5-cholestene-3 β -ol) content, argan oil adulteration with commonly found cheap oils can be easily detected.

Detection of oil adulteration is a complex problem. Indeed, blending of two oils of similar composition can be hard to detect as witnessed by the difficulties of detecting adulteration of olive oil with hazelnut oil. Authentication methods should allow a rapid screening, allow a simple sample preparation, and require easily available reagents. Authentication methods applied to oils are generally classified as physical (non-separative) or chemical (separative). The former technique requires a combination of measurements carried out on the sample whereas the later technique focuses simply on the presence or absence of a specific constituent. Detection of the presence of a single constituent can be a misleading method since blending can easily alter the results. Detection of the absence of a constituent is more interesting if this constituent is commonly found in all the putative adulterants; the cost and technical difficulties associated with its removal from the adulterant make the adulteration unlikely. With all these considerations in mind, we started to analyze the results of the argan oil composition that we had recently carried out [16]. Although argan oil contains high levels of linoleic acid, this fatty acid could not be used as a marker for peanut oil or sesame oil, two common and cheap oils, contain similar levels [17]. Sterols are also good candidates for adulteration detection [18, 19]. Increasing the depth of our analysis, we observed that five sterols are commonly found in argan oil: campesterol ((24R)-24-methyl-cholestane-3 β -ol), spinasterol ((24R)-24-ethyl-5 α -cholesta-7,22-dien-3 β -ol), stigma-8,22-dien-3-ol, schottenol ((24R)-24-ethyl-5 α -cholesta-7-en-3 β -ol or (24S)-D-stigmasterol), stigmasta-7,24-dien-3-ol [16]; sterol concentration being less than 0.4, 34–42, 4–7, 42–49, 2–7%, respectively, [16]. Hence,

campesterol, a sterol found in high concentration in most marketed oils, is only present as traces in argan oil. Beta-sitosterol is also absent in argan oil, however in our GC-conditions its retention time was very close to that of spinasterol. Since campesterol retention time (RT = 24.17 min) was clearly distinct from that of other sterols in the GC sterol chromatogram (stigma-8,22-dien-3-ol: RT = 26.42 min, spinasterol: RT = 28.16 min, schottenol: RT = 31.10 min, stigmasta-7,24-dien-3-ol: RT = 31.94 min), its precise quantification could be easily unambiguously achieved (Fig. 1). So we selected campesterol as the adulteration marker. To validate our method, we used GC to determine the campesterol level of mixtures of argan oil and common oils, and consequently putative adulterated oils, at a concentration ratio of 99/1, 98/2, and 95/5.

Experimental Procedures

Argan Oil Preparation

Argan oil was extracted by pressing in the cooperative of Tidzi (Essaouira county, Morocco) according to our previously reported procedure [16].

Other Oils

Other oils (presented as being the highest commercially available grade) were purchased from retail stores in Rabat and Casablanca (Morocco).

Analytical Methods

Campesterol quantitative analysis was carried out by GLC-FID/capillary column following the NP EN ISO 12228:1999 method [20], see also [21] for the detailed procedure). Sterols purified from unsaponifiable matter by HPLC (HP 1,100, Agilent Tech./Sicotel, Morocco equipped with column Microsorb Si60, Varian/Boyer, Morocco) were transformed into their trimethylsilyl ether counterparts using pyridine, hexamethyldisilazane, and trimethylchlorosilane 9:3:1 (V/ V/V) [16, 17, 21]. The sterol profile was analyzed using a gas

Fig. 1 Full GC-sterol profile of argan oil. (Insert: Chemical labeling of the peaks)

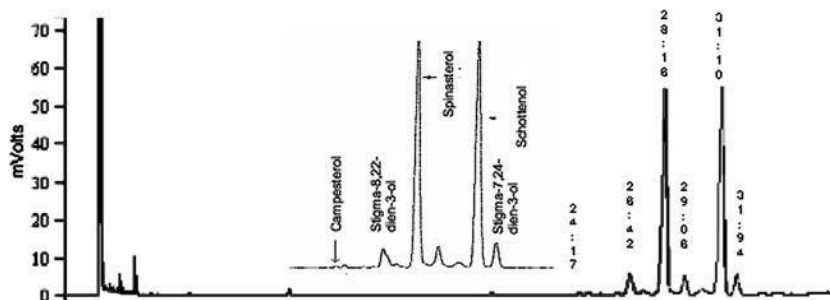


Table 1 Range of percentage of campesterol and of total sterol content in studied vegetable oils

Oil	Percentage of campesterol in total sterols (observed in our studied oil sample)	Total sterols in mg/100 g (observed in our studied oil sample)
Argan	<0.4 (0.29 ± 0.04)	142–223 (154.3 ± 3.1)
Soyabean	15.8–24.2 (19.8 ± 0.1)	180–410 (381.5 ± 4.5)
Rapeseed	24.7–38.6 (27.9 ± 0.1)	480–1130 (482.4 ± 4.6)
Sunflower	6.5–13 (10.5 ± 0.2)	240–460 (345.1 ± 3.6)
Apricot	2.2–5.6 (3.8 ± 0.07)	325–515 (342.9 ± 3.7)
Arachis	12.0–19.8 (17.3 ± 0.2)	90–290 (279.4 ± 3.6)
Hazelnut	4–7 (4.31 ± 0.2)	75–195 (168.2 ± 2.3)
Sesame	10–20 (18.5 ± 0.2)	450–1900 (540 ± 5.4)
Olive	2–4 (2.85 ± 0.1)	98–184 (182.7 ± 4.4)

^a Values given are the average of five analyses
4.31 (±0.2) 17.3 (±0.2)

phase chromatograph (HP 6,890, Agilent Tech./Sicotel, Morocco), fitted with a chroma pack CP Sil 8 C B column (30 m · 0.32-mm i.d.) (Agilent Tech./Sicotel, Morocco), and a flame ionization detector (Agilent Tech./Sicotel, Morocco). The temperature of the injector and detector were both 300 °C. The column temperature was 200 °C and programmed to increase at the rate of 10 °C/min to 270 °C. The carrier gas was dry oxygen-free nitrogen with an internal pressure of 8.6 bar. Sterol identification was achieved using reference samples and co-injection when necessary. Sterol

Table 2 Calculated (calc.) and observed (obs.) percentage of campesterol in mixtures of argan oil and other oil at concentrations of 100, 99, 98, 95% (argan vs. other oil)

Argan oil (%) Campesterol (% of total sterols)

Soyabean oil Rapeseed oil Sunflower oil Apricot oil Obs. Calc. Obs. Calc. Obs. Calc. Obs. Calc.

100 0.29 (±0.04) 0.29 (±0.04) 0.29 (±0.04) 0.29 (±0.04)
99 0.64 (±0.12) 0.76 1.15 (±0.23) 1.25 0.58 (±0.03) 0.51 0.38 (±0.05) 0.37
98 1.07 (±0.08) 1.23 2.06 (±0.14) 2.18 0.75 (±0.07) 0.73 0.45 (±0.09) 0.44
95 2.35 (±0.19) 2.53 4.47 (±0.06) 4.75 1.45 (±0.06) 1.36 0.78 (±0.08) 0.65
0 19.8 (±0.1) 31.9 (±0.1) 10.5 (±0.2) 3.8 (±0.07)

Olive Sesame Hazelnut Arachis Obs. Calc. Obs. Calc. Obs. Calc. Obs. Calc.

100 0.29 (±0.04) 0.29 (±0.04) 0.29 (±0.04) 0.29 (±0.04)
99 0.29 (±0.03) 0.32 0.88 (±0.01) 0.90 0.25 (±0.08) 0.33 0.51 (±0.06) 0.59
98 0.32 (±0.06) 0.35 1.41 (±0.07) 1.48 0.34 (±0.06) 0.38 0.97 (±0.05) 0.89
95 0.43 (±0.06) 0.44 3.35 (±0.11) 3.08 0.45 (±0.09) 0.51 1.67 (±0.09) 1.77

quantification was achieved by use of an internal 0.2% chloroform solution of a-cholestanol. In these conditions, campesterol had a retention time of 24.19 min.

Statistical Analysis

The reported results are the average value of at least five independent measurements. The results are shown as tables of mean values. The differences between the values on different oil samples were analyzed using the analysis of variance, after the homogeneity of variance had been tested (Tukey test).

Results and Discussion

0 2.85 (±0.1) 18.25 (±0.2))

Table 1 shows the percentage range of campesterol and total sterol in the nine oils studied. Since our previous study had revealed a maximum level of campesterol of 0.39% in mechanically prepared argan oil, we considered the value of 0.4% as the highest percentage of campesterol acceptable in pure argan oil. Four of the possibly adulterated oils studied contained a high percentage of campesterol (above 10% of the total sterols) whereas three oils (olive, an apricot ha lo percenta hazelnut, d oil) ve w ge betwe 2 an 7 sunflow o bein intermedi en d %, er il g ate (6.5–13%).

ating'' our argan oil samples using oils of known campesterol level, the expected level of campesterol in the mixture could be calculated to certify the accuracy of our technique. Table 2 lists campesterol levels (observed and calculated) for argan oil and blends of argan oil with 1, 2, and 5% of the potential adulterating oils.

Our results clearly show a good correlation between calculated and measured campesterol levels validating the accuracy and reliability of our GC method to quantify edible oil sterols. The argan oil sample we studied contained 0.29% of campesterol, a value slightly above the average value (0.22%) calculated from the 16 mechanically prepared oil samples [16]. For all the blending carried out using campesterol rich oils, campesterol levels above 0.4% were indeed detected at adulteration levels of 1% as anticipated from the campesterol calculated values. Similar results were obtained with sunflower oil. For the low campesterol containing oils (olive, hazelnut, and apricot oils) our method allows the establishment of a 95% purity label in the case of olive and hazelnut oil and 98% purity label for apricot oil. Should more precise quality labels be needed, the campesterol level determination could be combined with the oleic acid level analysis since the three oils have levels of this kind of fatty acid much higher than that of argan oil.

Our study suggests that GC campesterol level determination is 95% precise, reliable, and easy to use method for the ascertainment of the quality of argan oil. Possibly complemented with a fatty acid analysis, this method should be very useful for guaranteeing argan oil purity.

Acknowledgments Thanks are due to N. Marcol for her excellent technical assistance during the preparation of this manuscript.

References

- Charrouf Z, Guillaume D, Driouch A (2002) The argan tree, an asset for Morocco (in French). *Biofutur* 220:54–57
- Charrouf Z, Guillaume D (2002) Secondary metabolites from *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Phytochem Rev* 1:345–354
- Keys A (1970) Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 41(suppl. 21):1–211
- Keys A (1995) Mediterranean diet and public health: personal reflections. *Am J Clin Nutr* 61(suppl.):1321–1323
- Berrada Y, Settaf A, Baddouri K, Cherrah A, Hassar M (2000) Mise en evidence experimentale des effets antihypertenseurs et hypocholeste´rolie´miants de l'huile d'argan, *Argania spinosa*. *The´rapie* 55:375–378
- Drissi A, Girona J, Cherki M, Godas G, Derouiche A, El Messal M, Saile R, Kettani A, Sola R, Masana L, Adlouni A (2004) Evidence of hypolipemiant and antioxidative properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin Nutr* 23:1159–1166
- Berrougui H, Alvarez de Sotomayor M, Perrez-Guerrero C, Ettaib A, Hmamouchi M, Marhuenda E, Herrera MD (2004) Argan (*Argania spinosa*) oil lowers blood pressure and improves endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr* 92:921–929
- Awad AB, Fink CS (2000) Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr* 130:2127–2130
- Khalloukhi F, Younos C, Soulimani R, Oster T, Charrouf Z, Spiegelhalter B, Bartsch H, Owen RW (2003) Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur J Cancer Prev* 12:67–75
- Menendez JA, Vellon L, Colomer R, Lupu R (2005) Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses her2/neu (erb b-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (herceptin™) in breast cancer cells with her-2/neu oncogene amplification. *Ann Oncol* 16:359–371
- Polette M, Huet E, Birembaut P, Maquart FX, Hornebeck W, Emonard H (1999) Influence of oleic acid on the expression, activation and activity of gelatinase as produced by oncogene-transformed human bronchial epithelial cells. *Int J Cancer* 80:751–755
- Agence Franc,aise de se´curite´ sanitaire des aliments, afssa-saisine 2001-SA-0133
- Reid LM, O'Donnell CP, Downey G (2006) Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends Food Sci Tech* 17:344–353
- Seidemann J (1998) Verfa´lschung von argano´l(*Argania spinosa*/L./Skeel). *Deutsche Leben Runds* 94:26–27
- Rezanka T, Rezankova H (1999) Characterization of fatty acids and triacylglycerols in vegetable oils by gas chromatography and statistical analysis. *Anal Chim Acta* 398:253–261
- Hilali M, Charrouf Z, El Aziz Souhli A, Hachimi L, Guillaume D (2005) Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition. *J Agric Food Chem* 53:2081–2087
- Commission of the European Communities. (2003) Regulation 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Off J Eur Comm L* 248:1–109
- Mandl A, Reich G, Lindner W (1999) Detection of adulteration of pumpkin seed oil by analysis of content and composition of specific D7-phytosterols eur. *Food Res Technol* 209:400–406
- Amaral JS, Casal S, Citova I, Santos A, Seabra RM, Oliveira BPP (2006) Characterization of several hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars based in chemical, fatty acid and sterol composition. *Eur Food Res Technol* 222:274–280
- NP EN ISO12228. Animal and vegetable fats and oils determination of individual and total sterols contents—gas chromatographic method, 1999
- COI/T.20/Doc n◊10/Rev.1, <http://www.oliveoil.org/eng/doc/testing1.pdf>, 2001
- Codex alimentarius, fats oils and related products, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2001) World Health Organization, vol. 8, Rome
- Wesley IJ, Pacheco F, McGill AEJ (1996) Identification of adulterants in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 73:515–518

COMPTES RENDUS DE MISSION SUR LE TERRAIN Daniel Pioch Cirad (Resumés)

MISSION DE DEBUT DU PROGRAMME DE COOPERATION

La collaboration a débuté par anticipation sur la notification de la signature de la convention de collaboration entre les partenaires et du financement (intervenue en 2007), par le biais d'une mission de terrain, co-financée par le Cirad et Agropolis-International.

La mission, de courte durée, était axée sur les aspects technologiques (cf résumé annexé):

- Poursuivre le contact avec le professeur Charrouf
- Prendre contact avec les autres partenaires du Thème 1
- Affiner le futur programme de travail
- Visiter plusieurs sites de l'arganeraie.

Les visites de terrain dans la région d'Agadir -arganeraies de plaine et de montagne, ateliers de production d'huile, structures coopératives- ont permis de mieux connaître la filière : questions techniques, aspects sociaux, enjeux économiques. Cette immersion rapide et complète a été possible grâce à la compétence et aux contacts du professeur Charrouf qui l'avait organisée.

Il ressort de ces visites de terrain qu'en milieu montagneux les difficultés d'accès plaident en faveur de la mise au point d'itinéraires techniques et de valorisation du fruit d'arganier (pulpe, coque, amande) bien adaptés au contexte, en se basant sur certains des résultats du Thème 1, afin de bien adapter la qualité de l'huile notamment aux différents secteurs du marché et à son évolution.

En première analyse et sur la base de critères techniques uniquement, la valorisation des composants de la pulpe qui est envisagée dans la Thématique I, en sus de l'huile extraite de l'amande par simple pression, paraît plus facilement applicable en plaine.

D'une façon générale il paraît par exemple indispensable de valoriser l'ensemble du fruit, au-delà de la commercialisation de l'huile, mais aussi de déterminer l'influence des conditions de collecte et de stockage des fruits sur la qualité des produits dérivés et donc de la pulpe pour ce concerne particulièrement l'UMR GPEB. Le présent projet est donc bien ciblé et on peut anticiper que l'ampleur de la tâche dépasse largement le cadre des deux années, déjà pour parvenir à un volume de résultats suffisant en recherche et plus encore en intégrant les actions de transfert des connaissances (information en milieu rural) et la mise en place de nouveaux itinéraires techniques pour agir effectivement au stade de la production.

Cette démarche contribuerait à maintenir le revenu des collecteurs et des « coopératives de femmes » promues par le professeur Charrouf (développement rural). Les données économiques collectées montrent que ces dernières rémunèrent leurs adhérentes bien

au-dessus du cours du marché, résultat d'un effort réel (organisation, promotion des produits, exportation, mais il faut placer cette stratégie dans la perspective d'une augmentation de la production et donc d'une baisse probable du prix des produits traditionnels de l'arganier.

Une démarche telle que celle promue par l'ADS et Agropolis International est donc vitale pour un développement rural durable de la région.

Il faut aussi intégrer les objectifs environnementaux via le potentiel de l'arganier à lutter contre la progression du désert et à stocker du carbone, qui sont reconnus par la communauté internationale et susceptibles de permettre l'accès au « crédits de carbone ».

Organisation des travaux de laboratoire

Suite aux différents aléas lors de la signature des textes servant de cadre à la collaboration, nous avons demandé la prolongation de la durée du programme de travail jusqu'à la fin de la campagne 2008 afin de tenir compte de la saisonnalité de la production de l'arganier et des différentes contraintes pratiques (impossibilité de réserver des stagiaires destinés à effectuer les travaux de laboratoire avant d'avoir signé les conventions de collaboration ; périodes de disponibilité des stagiaires pendant leur cycle d'études ...).

Le plan de travail a été établi dans cette perspective. Néanmoins, une alternative a aussi été considérée, au cas où le programme de travail ne pourrait pas être étalé sur deux saisons de production.

Ainsi un séjour scientifique d'un thésard dirigé par le professeur Charrouf est prévu à partir de septembre 2007 dans les laboratoires du Cirad à Montpellier. Il est prévu une certaine souplesse dans l'organisation du stage, afin d'adapter le programme et la durée du séjour (si possible jusqu'à la fin de l'année) aux progrès des résultats de laboratoire obtenus et viser la meilleure efficacité pour ce séjour, au cas où il ne pourrait être complété par un deuxième séjour en 2008.

Le thésard interviendra à la fois en appui des travaux placés sous la responsabilité du professeur Charrouf et sur l'axe recherche de l'UMR GPEB du Cirad.

E fruits frais sont prévus.

Des échantillons de fruits frais sont en cours de collecte et seront acheminés vers le Cirad en prévision des travaux de septembre.

Plusieurs collaborations avec des laboratoires extérieurs à l'UMR GPEB sont prévues en fonction des résultats et des disponibilités, en priorité pour l'analyse des polyphénols (UMR INRA-SupAgro Montpellier, Œnologie, Dr Véronique Cheynier ; et si possible UR INRA-Versailles, Phytopharmacie et médiateurs chimiques, Dr Paul-Henri Ducrot ; société Aromaprocess, J-P Martel ; société Phytatec UK, Dr Steve Bowra).

Les partenaires ont la préoccupation d'assurer la pérennité de la collaboration au-delà du présent projet. Un programme de travail complémentaire de la présente action a été soumis à deux bailleurs (DURAS et ANR-Biodiversité) ; ces demandes de financement n'ont pas eu de suite positive.

Ainsi un séjour d'un thésard dirigé par le professeur Charrouf est prévu à partir de septembre 2007 dans les laboratoires du Cirad à Montpellier. Il est prévu une certaine souplesse dans l'organisation du stage, afin d'adapter le programme et la durée du séjour (si possible jusqu'à la fin de l'année) aux progrès des résultats de laboratoire obtenus et viser la meilleure efficacité pour ce séjour, au cas où il ne pourrait être complété par un deuxième séjour en 2008.

Le thésard interviendra à la fois en appui des travaux placés sous la responsabilité du professeur Charrouf et sur l'axe recherche de l'UMR GPEB du Cirad.

E fruits frais sont prévus.

Des échantillons de fruits frais sont en cours de collecte et seront acheminés vers le Cirad en prévision des travaux de septembre.

Résumé du Rapport de mission

Cette mission, réalisée par anticipation du projet de recherche en cours de finalisation entre l'ADS et Agropolis International, du 12 au 15 février 2005 s'inscrit dans le cadre de l'action de ces organismes en faveur de l'arganeraie et du développement rural, menée en consortium avec le Cirad, l'Institut Agronomie Méditerranéen et les partenaires marocains, Université de Rabat et Institut Agronomique Vétérinaire Hassan II (Centre d'Agadir).

Elle a permis de maintenir le contact avec nos partenaires marocains, de rencontrer des acteurs de terrain –ONG et coopératives- indispensables à la mise en place de l'action en

préparation, de préciser certains points d'ordre technique, anticipant sur l'obtention du financement qui a été notifié après la mission et permettant alors le début officiel de la coopération.

Programme de la mission :

- Visite de l'arganeraie (Taroudant, route Agadir-Ouarzazate ; Douar Ouanzet Imdioun)
- Visites d'ateliers de production (plusieurs coopératives, points de vente, moulins à huile, dont une coopérative gérée par le GIE Targanine),
- Organisation de la production (coopérative Taitmatine liée à l'association Ibn Lal Bay-Tar) près de Taroudant dans l'arganeraie de plaine),
- Collecte de données économiques,
- Participation à une réunion organisée par l'ADS à Agadir (acteurs économiques, universitaires).

Les visites de terrain dans la région d'Agadir -arganeraies de plaine et de montagne, ateliers de production d'huile, structures coopératives- ont permis de mieux connaître la filière : questions techniques, aspects sociaux, enjeux économiques. Cette immersion rapide et complète a été possible grâce à la compétence et aux contacts du professeur Charrouf.

En milieu montagneux les difficultés d'accès plaident en faveur de la mise au point d'itinéraires techniques et de valorisation du fruit d'arganier bien adaptés au contexte (pulpe, coque, amande); la valorisation innovante des composants de la pulpe qui est envisagée en sus de l'huile extraite de l'amande par simple pression, paraît applicable en plaine.

Il paraît par exemple indispensable de valoriser l'ensemble du fruit, au-delà de la commercialisation de l'huile, mais aussi de déterminer l'influence des conditions de collecte et de stockage des fruits sur la qualité des produits dérivés.

Cette démarche contribuerait à maintenir le revenu des collecteurs et des « coopératives de femmes » promues par le professeur Charrouf (développement rural, émancipation). Les données économiques collectées montrent que ces dernières rémunèrent leurs adhérentes bien au-dessus du cours du marché, résultat d'un effort réel (organisation, promotion des produits, exportation, mais il faut placer cette stratégie dans la perspective d'une augmentation de la production et donc d'une baisse probable du prix des produits traditionnels de l'arganier. Une démarche telle que celle promue par Agropolis International et l'ADS est donc vitale pour un développement rural durable de la région.

Compte rendu de l'atelier sur le GBPF, organisée par l'UGP Arganier

Date de l'atelier : Le 16 février 2005, à partir de 8h30

Lieu de l'atelier : Hôtel le Tivoli ; Agadir

Objectif principal de l'atelier : finalisation de la version 0 du guide de bonnes pratiques de fabrication d'huile d'argane.

Animateur de l'atelier : Med Abdelhakim El Alami, ingénieur d'Etat, technicien en appui technique et commercial au sein de l'UGP-Arganier

Organismes présents :

- Unité de Gestion du Projet Arganier ;
- ODCO d'Agadir ;
- DPA d'essaouira ;
- Agence de Développement Social (Coordination d'Agadir) ;
- Coopé. (Tamounte, Amal Ighrem, Ajjdigue, Tafyoucht, Argane El Kheir, Wirgane, Al Amal)
- RARBA
- UCFA et GIE
- SNIMA, EACCE ;
- Délégations provinciales de commerce et d'industrie (Tiznit, Agadir)
- Secteur privé (COGEPRA
- CCIS Agadir ;
- Chercheurs et universitaires (CIRAD, UMV de Rabat)

Le nombre de participants aux travaux dudit atelier était de 21, en plus de 6 membres appartenant à l'UGP Arganier.

Description des activités de l'atelier :

L'atelier a commencé par la présentation des participants. Les participants ont assisté par la suite à un exposé présenté par monsieur Med Abdelhakim El Alami. Cette présentation a mis l'accent sur les volets ci-après :

- Historique du concept du GBPF de l'Huile d'Argane, par rapport au plan d'action du projet Arganier ;
- Présentation des fiches constituant la version 0 améliorée et de la répartition du guide selon les trois parties suivantes :
 - o Fiches communes aux deux processus ;
 - o Fiches propres au système de production artisanal ;
 - o Fiches propres au système de production semi-mécanisé.
- Présentation des étapes à suivre pour la finalisation du GBPF ;
- Présentation de l'approche de travail à adopter lors du présent atelier.

Les participants ont été ensuite répartis en quatre groupes, pour traiter chacun 4 à 5 fiches, pendant une durée d'une heure et demi. Chaque groupe était composé de 5 à 6 participants en moyenne. Les résultats des travaux de groupe ont été restitués en plénière et seront prise en compte pour améliorer le contenu des différentes fiches du GBPF, avant d'éditer la version 1, qui sera testée dans 2 ou 3 coopératives.

A la fin, deux coopératives, parmi les 6 ayant été participées à l'atelier, se sont proposées pour accueillir l'opération test de la version 1 du GBPF. Il s'agit en l'occurrence de :

- Ajjdigue (coopérative semi-mécanisée dans la province d'Essaouira)
- Argane El Kheir (coopérative artisanale dans la province d'Essaouira)

Les activités de l'atelier sur le GBPF ont été achevées vers 13h 30.

CR RESUME REUNION ADS 2 NOV 2007 - Rabat

D Pioch

Stephanie Cruguet UE
B Lacaze cnrs
Rafida Oubel
Raymond Loussert ONG mission d'évaluation
Remy choussaud bourgogne
Financement Gouv Maroc 8M en credit de paiement
AO en cours : partenaires 2 Agropolis, Bourgogne

1-Mission d'Evaluation Lousserre

Rapports equipes en juin
Regression 200 kha auXXe siècle et de densité de 100 à 40? a/ha
Deforestation 2stere /ha /an alors que la production est 0.5 seulement
Surpaturage ; cereales intercalées
Pression climatique secheresse ds Sud

Role eco protection contre ravinement ; prot biodiversite (reserve 19kha)

Theme 1 valo pdts ; campesterol/ adulteration

Techno ; utilisation materiel, modalité extraction, conservation pdts,

Theme 2 agroforesterie - foresterei ; mult vege et symbioses racinaires

gestion durable agrosyst ; rehabilitation aires degradees ; greffage, multiplication vegetative pour reproduire varietes
michorhisation ; reprise enrachement du pivot casse en transplantation
optimisation agrosysteme : cereales ; nouvelles cultures associées, atriplex, vigne ; safran ;
nouvelles pratiques gestion sylvo past
existe a agadir plantation exp de 11 ans

theme 3 vergers d'arganier pour agroforesterie durable moderne boiurgogne, inra (... mtpI)
selection varietale, multiplication clones, creation de vergers ordonnes, formation des acteurs
selection 4 clones, creation pepiniere bouturage micropropagation

theme 4 ; etude integree du milieu naturel et humain pour une aide a la decision en matiere de
preservation et de DD

3 zones d'etude ; image hte resolution 5 a 0,7m

Conclusions

Resultats de recherche partiels, car retards aux versements des fonds ;
Experimentation longues, saisonnalité,
Chercheurs demandent prolongation sept 2008

Nouveaux themes de recherche proposes par partenaires

- 1/ meilleure connaissance mat veg , plaine montagne etc
- 2/ amelioration qualite des plants
- 3/ amelioration taux de reprise
- 4/ valo pdts et ss pdts, huile, prouver bioactivite cardiovasculaire et cancers, creation maison de l'arganier ?
- 5/ connaissance milieu socio eco et humain

Remarque : besoin de resultats tangibles applicables
Discuter possibilites de transferts

2- Theme 2

Agropolis : Multiplication 3 mycorhyses

Bourgogne : enquete montre agriculteurs selectionnent les arbres en fn de la facilité de cassage, 3 fois moins de force necessaire

3- Enquete

59% des femmes qui vivent de l'arganier entre 45 et 55 ans, avec charge 5 a 8 personnes, souvent migration du mari

Revenu : arganier 1/3, de 700 a 13000 Drh

Prix moyen des fruits 1.3 a 2 Drh p kg

Kg concassé : 14 a 40 Drh / kg

Elevage 10%, production vegetale 25%

liberte de la femme de disposer du revenu arganier : 1/3 avis du mari ; 23% avis du menage

utilisation du revenu : 27% pour des dépenses « propres aux femmes »

satisfaction avec par l'arganier : seulement la moitie des femmes

valorisees : 82% ; impression de salariee des cooperatives

25 participent aux decisions de la cooperative ; 33% jamais

5- Discussion finale

Favoriser le transfert

Aspect reglementaire des projets ; arguments relatifs aux retards administratifs pas acceptables

Prorogation doit etre motivee par arguments technique

Tous les resultats doivent etre remis en mars 2010 . FIN DE CONTRAT MAXI 30 NOV 2008

Signature avenants 2 semaines avant fin de contrat cf agropolis, soit fin novembre 2007

Rapport final a rendre rapidement maxi 60jrs a expiration du contrat; mise en forme pedagogique des resultats

Remarque : Il existe un type d'arganier en interface zones / humide de la cote et continentale