



*Centre d'Etudes Doctorales « Sciences et Techniques » Formation Doctorale*  
*« Ressources Naturelles, Environnement et Santé »*

## THESE

Présentée par

*Souad RABI*

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR**

*Spécialité : Chimie Analytique*

***ETUDE DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE ET LA  
LITHIASE URINAIRE EN TANT QUE  
THEMATIQUES A VISEE DE  
DEVELOPPEMENT REGIONAL ET DURABLE***

Soutenue le 29/12/ 2016 devant le jury :

Devant la commission :

M. MBARKI	Professeur à la FST Béni Mellal, (Président)
A. IBNLFASSI	Professeur à la FST Settat, (Rapporteur)
A. HAFID	Professeur à la FST Béni Mellal, (Rapporteur)
A. M. ALAOUI	Professeur à la FST Béni Mellal, (Rapporteur)
M. BOULGHALLAT	Professeur à la FST Béni Mellal, (Rapporteur)
L. LAALLAM	Professeur à la FST Béni Mellal, (Directeur de thèse).
A. JOUAITI	Professeur à la FST Béni Mellal, (Co encadrant).

## Sommaire

<i>INTRODUCTION GENERALE</i> .....	4
<i>PARTIE I</i> .....	5
<i>CHAPITRE I : L'HUILE D'OLIVE</i> .....	5
1. Généralités sur l'olivier .....	6
1.1. Origine de l'olivier .....	6
1.2. Description botanique de l'olivier .....	7
1.3. Exigences pédoclimatiques de l'olivier .....	8
1.3.1. Exigences climatiques .....	8
1.3.2. Exigences pédologiques .....	9
1.4. Les variétés d'olivier de par le monde .....	9
2. L'olive .....	10
3. L'huile d'olive .....	11
3.1. Production d'huile d'olive .....	11
3.2. Critères de qualité .....	13
3.3. Données physico-chimiques de l'huile d'olive .....	14
3.4. Composition chimique de l'huile d'olive .....	17
3.4.1. Fraction saponifiable .....	17
3.4.2. Fraction insaponifiable .....	22
3.5. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive .....	22
4. Les feuilles d'olivier .....	24
4.1. Biomasse énorme .....	24
4.2. Composition des feuilles d'olivier .....	25
4.3. Les composés phénoliques des feuilles d'olivier .....	27
4.3.1. Généralités sur les composés phénoliques .....	27
4.3.2. Activités biologiques des composés phénoliques .....	28
4.3.3. Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques .....	29
5. Les margines et grignons .....	30
5.1. Les bilans quantitatifs des sous-produits de l'industrie oléicole .....	30
5.2. Les grignons d'olive .....	31
5.3. Les caractéristiques des margines d'olive .....	32
<i>CHAPITRE II :</i> .....	33
<i>EFFETS DE LA LUMIERE DU SOLEIL, DE LA TEMPERATURE ET DE L'ADULTERATION SUR</i>	

## *Résumé*

L'objectif principal du présent travail est la contribution à la valorisation des produits de terroirs et à l'amélioration de la santé des populations. D'où un intérêt en termes du développement durable de la région Béni Mellal-Khénifra. Cette région à vocation agricole, nous a interpellé à nous intéresser à deux thématiques importantes: "Huile d'Olive" et "Urolithiase". Les échantillons d'olives sont de provenances de Demnat et Tagzirt.

La population dans la région de Béni Mellal-Khénifra dans le contexte socioculturel et le mode de vie moderne n'a pas des habitudes de l'exercice physique et tend à suivre une alimentation déséquilibrée qui serait riche en : oxalate, protéine et calcium. Ce qui favoriserait l'augmentation de la fréquence d'espèces chimiques lithogènes dans leurs cristalluries et/ou leurs calculs urinaires. Les patients étudiés sont hospitalisés au Centre Hospitalier Régional à la ville de Béni Mellal.

- Le présent travail nous a permis de mettre en évidence des caractéristiques et performances de l'huile d'olive vierge de la région Béni Mellal-Khénifra.
- Grace aux algorithmes tels que l'ACP et la méthode PLS-DA, appliquées aux données de la méthode de chromatographie en phase gazeuse (CPG) on peut classifier les 3 variétés Picholine, Hawziya et Menara en termes de composition en acides gras.
- La comparaison de la performance des algorithmes de data mining dans la classification de photographies en couleur des calculs urinaires humains de whewellite et de weddellite a donné de meilleurs résultats lorsque le descripteur de GIST a été couplé à l'algorithme de LPS-DA.
- Le suivi du goitre nous a permis d'approcher la lithiase urinaire chez les femmes goitreuses par une méthode simple et moins coûteuse qu'est la cristallurie. Le traitement et la prévention vis-à-vis du goitre peuvent être orientés par suivi de la cristallurie, notamment de calcium et de phosphate.

En plus, le présent travail a valorisé les méthodes de couplages suivantes et ce en termes de chimie verte et de développement durable:

- Couplage "Analyse des Données – Chromatographie en Phase Gazeuse"
- Couplage "Analyses des Données- Photographie en Couleur"

<i>LA QUALITE D'HUILE D'OLIVE VIERGE</i> .....	33
1. Introduction.....	34
2. Matériels et méthodes .....	34
3. Résultats et discussion .....	35
3.1. Effet de la lumière du soleil .....	35
3.2. Effet du chauffage et de l'adultération.....	35
3.3. Effet de la lumière du soleil à 25°C .....	37
3.4. La teneur en eau .....	38
3.4.1 Dans l'huile d'olive chauffée.....	38
3.4.2. Dans l'huile d'olive à 25°C .....	38
3.5. Indice de peroxyde .....	38
3.5.1. Dans l'huile d'olive chauffée .....	38
3.5.2. Dans l'huile d'olive adultérée .....	39
3.6. Indice d'acide .....	40
3.6.1. Dans l'huile d'olive adultérée .....	40
3.6.2. Dans l'huile d'olive chauffée.....	40
3.7. Densité .....	40
3.7.1. Dans l'huile d'olive chauffée .....	40
3.7.2. Dans l'huile d'olive adultérée .....	41
4. Conclusion .....	41
<i>CHAPITRE III :</i> .....	42
<i>CARACTERISATION ET DISCRIMINATION DES TROIS TYPES D'HUILE D'OLIVE VIERGE</i> <i>CULTIVES AU MAROC</i> .....	42
1. Introduction.....	43
2. Matériels et méthodes .....	44
2.1. Matériels végétal et zone géographique.....	44
2.2. Collecte des échantillons d'olives .....	44
2.3. Extraction de l'huile .....	44
2.4. Caractérisation physicochimique .....	44
2.5. Chromatographie en phase gazeuse .....	45
2.6. Méthodes chimiométriques .....	45
2.6.1. Analyse en composantes principales (ACP) .....	45
2.6.2. Méthode des moindres carrés partiels discriminante (PLS-DA).....	46
3. Résultats et discussion .....	47
3.1. Caractérisation Physico-chimique.....	47

3.2. Composition en acide gras (%) (NMISO NMISO 5508 et 5509).....	48
3.3. Méthodes chimiométriques.....	51
3.3.1. Application de L'analyse en composantes principales (ACP).....	51
3.3.2. Régression des moindres carrés partiels Discriminants (PLS-DA) .....	52
4. Conclusion .....	55
<i>PARTIE II</i> .....	56
<i>CHAPITRE I : LA LITHIASSE URINAIRE</i> .....	56
1. Introduction.....	57
2. Quelques généralités sur la lithiase urinaire .....	58
3. Epidémiologie de la lithiase urinaire .....	59
4. La lithogénèse.....	60
5. Les différents types de calculs .....	61
<i>CHAPITRE II :</i> .....	63
<i>ETUDE DE LA CRISTALLURIE CHEZ LES PATIENTS GOITREUX</i> .....	63
1. Introduction.....	64
2. Matériel et méthodes.....	65
3. Résultats.....	66
4. Discussion.....	70
5. Conclusion .....	73
<i>CHAPITRE III :</i> .....	74
<i>COMPARAISON DE LA PERFORMANCE DES ALGORITHMES DE DATA MINING DANS LA CLASSIFICATION DES IMAGES DES CALCULS URINAIRES HUMAINS</i> .....	74
1. Introduction.....	75
2. Classification des algorithmes .....	77
2.1. Algorithme Réseaux de neurones .....	77
2.2. Algorithme SVM .....	78
2.3. Algorithme KNN .....	78
2.4. PLS-DA algorithme .....	78
3. Résultats.....	79
4. Discussion.....	82
5. Conclusion .....	83
<i>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</i> .....	84
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i> .....	86

## *INTRODUCTION GENERALE*

La région Béni Mellal Khénifra qui est à vocation agricole, nous a interpellé à nous intéresser à deux thématiques importantes :

- L'Olivier est très fréquent dans la région et le pouvoir d'achat des populations est relativement élevé par rapport à celui d'autres populations dans d'autres régions du Maroc. En fait, cette région est amplement impliquée dans le plan Maroc Vert.

Cependant il y a un manque des études sur les spécificités nutritionnelles et thérapeutiques de l'huile d'olive dans cette région malgré des travaux antérieurs qui ont essayé d'approcher la qualité de l'huile d'olive vierge en tant que produit de terroir de la région de Béni Mellal- Khénifra.

- Ces populations dans la région de Béni Mellal-Khénifra dans le contexte socioculturel et le mode de vie moderne n'ont pas des habitudes de l'exercice physique et tendent à recevoir une alimentation déséquilibrée qui serait riche en :

- oxalate provenant notamment du thé ;
- protéines et calcium qui proviennent, entre autres, de produits carnés et laitiers

Ce qui favoriserait l'augmentation de la fréquence d'espèces chimiques lithogènes dans leurs cristalluries et/ou leurs calculs urinaires telles que :

- oxalates de calcium ;
- phosphates de calcium ;
- acide urique, puisque ce dernier est un métabolite engendré par un excès de protéines animales dans l'organisme. Un tel excès peut provoquer des maladies autres que la lithiase urinaire telle que la maladie de la goutte.

Ainsi, se doter de riches informations sur deux thématiques "Huile d'Olive" et "Urolithiase" a été l'objectif principal du présent travail pour contribuer à la valorisation des produits de terroirs et à l'amélioration de la santé des populations. D'où une préoccupation et un intérêt en termes du développement durable de la région Béni Mellal-Khénifra, siège du présent travail.

Ce mémoire est divisé en deux parties :

- L'étude de l'huile d'olive.
- L'étude de la lithiase urinaire.

# *PARTIE I*

## *CHAPITRE I : L'HUILE D'OLIVE*

# 1. Généralités sur l'olivier

## 1.1. Origine de l'olivier

L'olivier et l'huile d'olive font partie intégrante de l'histoire du bassin méditerranéen et on les retrouve au fil des siècles à travers différents mythes et croyances. C'est notamment le cas dans la mythologie grecque où Athéna devint protectrice d'Athènes au dépens de Poséidon après avoir offert à la ville d'Athènes «un olivier ». Le bois d'olivier servira ensuite pour les gravures de divinités grecques et sera le bois utilisé pour la fabrication de la massue d'Hercule.

Les premiers vainqueurs des jeux olympiques se voyaient remettre des rameaux d'olivier et des jarres d'huile d'olive en récompense de leurs performances. De tout temps l'olivier a été associé à des vertus telles que la sagesse, la paix, la victoire, la richesse et la fidélité. (Besnard. G et al, 2005).

Selon la légende, c'est Isis, femme d'Osiris, mère d'Horus, qui aurait enseigné aux égyptiens la technique de l'extraction de l'huile.

(De Barry N., 1999) indiquent que les pays méditerranéen furent les premiers foyers de l'olivier sauvage (*Oleauropea*). Les fouilles syriennes de l'ancien port d'Ougarit ont permis de trouver de grandes quantités d'amphores d'huiles destinées probablement aux échanges méditerranéens.

Depuis l'antiquité, l'olivier a toujours été un symbole de paix, de prospérité, de sagesse et d'abondance. Etant l'arbre sacré, il était interdit de le couper. Cultivé depuis l'antiquité, associée à diverses civilisations, l'olivier constitue de nos jours le trait d'union entre les pays méditerranéens. Dans la religion islamique, le Coran parle de « cet arbre sacré », (Sourate XXII « les croyants, verset 20 » et Sourate XXIV « la lumière, verset 35 »).

L'origine mythologique de l'olivier fait toujours de cet arbre un don de Dieu. D'après (Besnard G., 2005) l'origine de l'olivier reste toujours incertaine, mais la thèse la plus fréquemment retenue désigne la Syrie et l'Iran comme lieux d'origine.

Il est généralement admis que le berceau de l'olivier fut l'Asie mineure et aussi la Grèce, les Cyclades et les Sporades.

Au troisième millénaire avant Jésus Christ, il est cultivé en Syrie, en Palestine, puis au gré



des conquêtes et de l'expansion commerciale, on le retrouve en Sicile, Italie, Tunisie, Algérie au Maroc et dans le midi de la France.

Selon le Conseil Oléicole International (COI, 1998), on découvrit en 1957 dans la zone montagneuse du Sahara Central (Tassili dans le Hoggar en Algérie), des peintures rupestres réalisées au II<sup>ème</sup> millénaire avant J. C. avec des hommes couronnés de branches d'olivier témoignant ainsi de la connaissance de cet arbre au cours de ces époques anciennes.

La propagation de l'olivier s'est faite par les grecs, les romains et les arabes au cours de leur colonisation.

## 1.2. Description botanique de l'olivier

Selon Henry S. et al, l'olivier appartient à :

► **L'embranchement des phanérogames** (fleurs, étamines et pistils et se reproduisent par graines).

► **Le sous-embranchement des Angiospermes**

Les angiospermes se distinguent par une double fécondation, des organes reproducteurs se groupant en fleurs bisexuées et des écailles ovulifères ou carpelles entourant complètement les ovules qui, après la fécondation, se transforment en fruit.

► **La classe des Dicotylédones** On note :

- embryon caractérisé par deux cotylédons latéraux, rarement réduits à un seul;
- embryogenèse selon deux plans de symétrie;
- feuilles comportant un pétiole et un limbe à nervation réticulée;
- appareil végétatif : la racine principale n'avorte pas, présence d'un véritable tronc, les feuilles sont complètes;

► **La sous-classe des Asteridae**

Les Asteridae sont gamopétales et tétracycliques. La corolle est d'une seule pièce ; les pétales de la fleur sont soudés entre eux.

► **L'ordre des Scrophulariales**

L'ordre des Scrophulariales réunit des plantes à feuilles habituellement opposées, sans stipules et le plus fréquemment à limbe entier.

► **La famille des oléacées**

Les traits caractéristiques des oléacées sont un androcée à 2 étamines et un ovaire à 2 loges biovulées.

L'olivier appartient à la famille largement distribuée des Oléacées qui comprend 25 genres et plus de 500 espèces. C'est une famille très distincte, surtout caractérisée par ses fleurs régulières, souvent de parfum agréable, qui a une corolle gamopétale à 4 lobes. Les Oléacées ont des feuilles opposées ou carpelles alternés. La formule florale est la suivante :

$$4S + 4P + 2E + 2C$$

Avec :

S : septale

P : pétale

E : étamine

C : corolle

### ► Le genre *Olea*

Il regroupe 30 à 40 espèces suivant les auteurs. (Cronquist A., 1988) et (Gausson H., 1982).

### ► L'espèce *Olea europaea* Linné

*Olea europaea* Linné est l'unique espèce méditerranéenne représentative du genre *Olea*.

Certaines classifications distinguent deux sous-espèces :

- l'olivier cultivé : *Olea europaea* Linné variété saliva. Il est constitué par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage.

- L'olivier sauvage, encore appelé oléastre : *Olea europaea* Linné variété oléastre.

L'oléastre se différencie de l'olivier cultivé par ces caractères : c'est un arbrisseau, il possède des rameaux épineux et quadrangulaires, ses fruits sont petits et nombreux et son huile est peu abondante.

## 1.3. Exigences pédoclimatiques de l'olivier

### 1.3.1. Exigences climatiques

#### ► La température :

L'olivier est un arbre des pays à climat méditerranéen où les températures varient entre 16 et 22°C (moyenne annuelle des températures). Il aime la lumière et la chaleur, supporte très bien les fortes températures, même en atmosphère sèche, et ne craint pas les insulations. De même il craint le froid, les températures négatives peuvent être dangereuses particulièrement si elles se produisent au moment de la floraison (Hannachi H. et al. 2007). Il est aussi apte à bien supporter les températures élevées de l'été si son alimentation hydrique est satisfaisante (enracinement profond nécessaire en climat présaharien).

### ► La Pluviométrie :

Les précipitations hivernales permettent au sol d'emmagasiner des réserves en eau. Les pluies automnales de Septembre – Octobre favorisent le grossissement et la maturation des fruits.

La pluviométrie ne doit pas être inférieure à 220 mm par an, ce nombre peu élevé montre que l'olivier supporte bien la sécheresse Il se contente, en effet, d'une pluviométrie basse, la moins élevée de toutes les espèces fruitières.

La période de 15 Juillet au 30 Septembre est très importante pour le développement des fruits. Si elle est trop sèche, les fruits tombent prématurément et le rendement diminue considérablement. C'est pourquoi, une irrigation est parfois nécessaire pour éviter cet accident.

#### 1.3.2. Exigences pédologiques

L'olivier ne présente pas d'exigences particulières sur la qualité des sols, il a la réputation de se contenter de sols pauvres, qu'ils soient argileux ou au contraire légers ou pierreux, mais ils doivent être assez profonds pour permettre aux racines de nourrir l'arbre en explorant un volume suffisant de terre.

L'olivier redoute les terrains trop humides. Le sol doit avoir une teneur en azote élevée (Hannachi H. et al., 2007).

#### 1.4. Les variétés d'olivier de par le monde

L'olivier (*Olea europaea* L.), espèce caractéristique du paysage méditerranéen, compte de nombreuses variétés ayant une diversité phénotypique importante (Grati Kamoun., 2007). Les origines de ces variétés demeurent imprécises.

Divers travaux ont suggéré que l'inter-fertilité entre les formes cultivées et /ou les formes sauvages soit à l'origine de la diversification de l'olivier cultivé. Actuellement, on recense des centaines de variétés (tableau 1) dans chacun des principaux pays oléicoles méditerranéens où sont encore cultivées de très anciennes variétés (Loussert et Brousse, 1978 ; Barranco et Rallo, 2005 ; Idrissi A. et Ouazzani N., 2006).

Les variétés d'olivier se divisent en trois catégories :

- Les variétés à huile sont principalement destinées à l'extraction de l'huile et sont caractérisées par un rendement variable mais normalement non inférieur à 16- 18 %.
- Les variétés de table sont les variétés dont les fruits sont destinés à la consommation

directe.

- Les variétés à double aptitude sont celles qui peuvent être utilisées tant pour l'extraction de l'huile que pour la production d'olives de table.

**Tableau 1:** Principales variétés d'olivier cultivées dans le monde (Grati Kamoun N., 2007)

Pays	Variétés	Utilisation	Distribution en hectares
<b>Argentine</b>	Arauco Arbequina	Huile+Table Huile	28 .670
<b>Espagne</b>	Picual Hojiblanca Cornicabra Lechin Manzanilla Verdal de Badajoz Empeltre Arbequina Cacerena	Huile Huile+ Table Huile Huile Table+Table Huile Huile Huile Huile +Table	2.127 000
<b>Etats –Unis</b>	Manzanilla Mission	Table Table	12 150
<b>France</b>	Picholine Tanche Aglандаu	Table Table Huile	20. 000
<b>Grèce</b>	Koroneik Conservolia Kalamata Mastoidis	Huile Table Table Huile	630.800
<b>Italie</b>	Frontoio Moraiole Leccino Coratina Carolea Noccellara Belice Itrana Ascolana tenera	Huile Huile Huile Huile Huile Huile + Table Table Table Table	1.140 685
<b>Liban</b>	Soury	Huile +Table	32.000
<b>Maroc</b>	Picholine marocaine	Huile +Table	412 000
<b>Portugal</b>	Galega Carrasquenha Redondil	Huile +Table Huile +Table Huile +Table	316 000
<b>Syrie</b>	Al –Zeiti Al –Sorani Al – Doebly	Huile Huile Huile +Table	405 000
<b>Tunisie</b>	Chemlali Chetoui Meski	Huile Huile Table	1.538 000
<b>Turquie</b>	Ayvalik Cakir Gemlik Memecik Dornat	Huile Huile Table Table Table	877 700
<b>Ancienne Yougoslavie</b>	Oblica Zutica	Huile +Table Huile+ Table	29 960

## 2. L'olive

L'olive fruit de l'olivier, est une drupe plus ou moins ellipsoïdale de taille variable selon la

variété. Elle se compose de trois parties : le noyau (ou endocarpe), la pulpe (mésocarpe) et la cuticule (épicarpe)

La composition chimique de l'olive (tableau 2) est fonction de plusieurs paramètres dont la variété, le climat et les conditions culturales.

**Tableau 2** : Composition de l'olive selon Maillard R. (1975)

<b>Constituants</b> <b>Partie anatomique</b>	<b>Eau (%)</b>	<b>Lipides (%)</b>	<b>Protides (%)</b>	<b>Glucides (*) (%)</b>	<b>Cendres (%)</b>
<b>Pulpe (épicarpe + mésocarpe)</b>	24,2	56,40	6,8	9,9	2,66
<b>Coque du noyau</b>	4,2	5,25	15,6	70,3	4,16
<b>Amandon</b>	6,2	12,26	13,8	65,6	2,16

(\*) Substances de membranes

Les vitamines A, B1, B2, B3 et E sont synthétisées durant la période de maturation du fruit.

L'olive renferme aussi les constituants suivants :

- mannitol (dans les olives non mûres);
- un pigment rouge : l'oléacyanine;
- un glucoside amer appelé oleuropéside ou oleuropéine;
- acide oléanolique;
- du glutathion;
- des diastases : oléase et émulsive active sur l'oleuropéine;
- une cire et une résine excrétée par l'épicarpe (Banziger E., 1998).

### 3. L'huile d'olive

#### 3.1. Production d'huile d'olive

Parmi les principaux pays producteurs européens, seule l'Espagne a une production d'huile d'olive très significativement élevée (tableau 3)

**Tableau 3:** Répartition de la production mondiale d'huile d'olive (COI, 2009a).

Pays	Production (1000 tonnes)	% Production (total monde)
Espagne	1200	41.6
Italie	540	18.7
Grèce	348	12.1
Portugal	50	17
France	5	0.2
Total Europe	2148.4	74.6
Syrie	150	5.2
Turquie	147	5.1
Tunisie	140	4.9
Maroc	95	3.3
Algérie	50	1.7
Total Monde	2881.5	

Les principaux pays producteurs sont également les principaux consommateurs de cette huile. Le tableau 4 donne la consommation globale des principaux pays consommateurs d'huile d'olive.

**Tableau 4:** Répartition de la consommation mondiale d'huile d'olive (COI, 2009b).

Pays	Consommation (1000 tonnes)	% consommation (total monde)
Italie	710	25.0
Espagne	560	19.7
Grèce	220	7.7
France	108.8	3.8
Portugal	74	2.6
Royaume Uni	55.5	2.0
Allemagne	51.4	1.8
Total Europe	1856.5	65.4
Etats-Unis	260	9.2
Syrie	120	4.2
Turquie	98	3.5
Maroc	70	2.5
Algérie	50	1.8
Brésil	42.5	1.5
Tunisie	35	1.2
Japon	29.5	1.0

Total Monde	2839	
-------------	------	--

Les tableaux 3 et 4 montrent que l'huile d'olive est principalement un produit méditerranéen, tant pour ce qui est de sa production que pour sa consommation. Cette production millénaire joue un rôle important dans l'économie de ce bassin et elle fait également partie de sa culture et de son régime alimentaire.

### 3.2. Critères de qualité

Les huiles d'olive vierges se classent en différentes catégories en fonction de leurs caractéristiques physicochimiques et organoleptiques (Règlement (CEE) N°2568/91; COI, 2005).

De nombreux paramètres physico-chimiques ainsi que ses qualités gustatives (caractéristiques organoleptiques) permettent de caractériser une huile d'olive vierge. Cependant, l'acidité apparaît comme un moyen simple et fiable pour évaluer la qualité. L'acidité traduit la qualité des olives avant la trituration, plus elle est faible plus la qualité des olives est bonne.

Les producteurs d'huiles d'olive l'adoptent facilement car l'analyse est peu coûteuse, et peut même être mise en œuvre sur place avec un minimum de moyens.

Ils peuvent alors s'en servir pour gérer leur production au point de vue qualitatif (PinatelC. et al, 2004).

Toutefois une huile pourra être déclassée si ses qualités organoleptiques ne sont satisfaisantes, même si au niveau chimique, tous les paramètres sont bons.

Si l'on se base particulièrement sur l'acidité, il existe trois catégories d'huiles d'olive vierges obtenues uniquement par des moyens mécaniques ou physiques sans avoir subi d'autres traitements que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

- Huile d'olive vierge extra : l'acidité, exprimée en acide oléique doit être inférieure à 0,8 g/100 g d'huile. Au niveau des caractéristiques organoleptiques, cette huile a une présence de fruité et une absence de défaut ;
- Huile d'olive vierge : l'acidité, exprimée en acide oléique doit être inférieure à 2 g/100 g d'huile. Au niveau des caractéristiques organoleptiques, cette huile a une présence de fruité et une présence possible de défauts légers ;
- Huile d'olive vierge lampante : ce type d'huile a une acidité supérieure à 2 g/100 g d'huile. Cette huile est qualifiée d'impropre à la consommation et doit être destinée au

raffinage.

- Huile de grignons d'olives : ce type d'huile a une acidité inférieure à 1 g/100 g. Elle est obtenue par traitement des grignons d'olive par des solvants ou d'autres procédés physiques.

On obtient dans ces conditions une huile de grignons brute qui est raffinée et qui donne de l'huile de grignons raffinée à laquelle est rajoutée de l'huile d'olive vierge (apport de couleur, de saveur et d'antioxydants) et qui est commercialisée sous la dénomination d'huile de grignons d'olive.

### 3.3. Données physico-chimiques de l'huile d'olive

La CNUCED (Conférence des Nations Unies sur le Commerce et le Développement) propose une classification rapide des huiles en fonction de leur acidité libre. Cependant les critères de sélection ou d'exclusion d'une huile dans une catégorie sont très nombreux. Ils peuvent être spécifiques à une catégorie d'huile ou plus généraux.

Le suivi de ces différents critères est nécessaire car une dégradation de la qualité de l'huile peut avoir de nombreuses conséquences tant d'un point de vue nutritionnel que d'un point de vue risque sanitaire. En effet, certains composés tels que les acides gras polyinsaturés (acides gras essentiels) ou la vitamine E sont parmi les acteurs principaux de l'intérêt nutritionnel de l'huile d'olive, mais ils sont très sensibles à l'oxydation.

Une huile oxydée aura un intérêt nutritionnel plus faible qu'une huile bien conservée. Les produits d'oxydation des acides gras (radicaux peroxydes) pourraient potentiellement entraîner des mutations génétiques à l'origine de certains cancers.

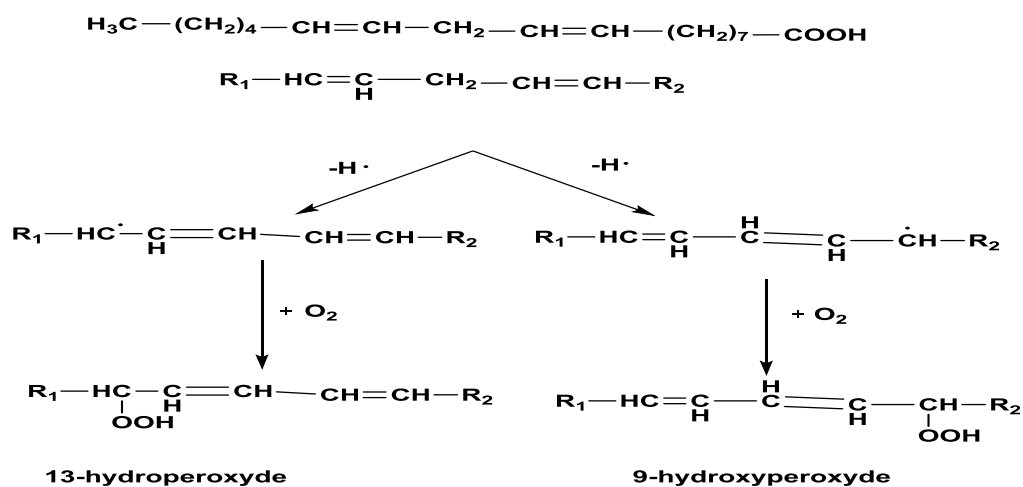
Dans une huile, les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides (98-99%). L'hydrolyse de ces derniers libère les acides gras (Fig. 1) donc leur dosage permet d'avoir un état de l'avancement de la dégradation de l'huile. On remarque que c'est le principal critère distinctif entre les huiles commercialisées car les trois catégories d'huile vierge ont des seuils de qualité différents.

L'oxydation des acides gras insaturés aboutit à la formation d'hydroperoxydes (figure 1). Cette étape est aussi appelée initiation de la peroxydation lipidique. Ces hydroperoxydes sont instables et peuvent réagir avec d'autres molécules pour générer de nouveaux radicaux. Ceci constitue l'étape de propagation dans la peroxydation des acides gras.

Topallar H. et al., ont démontré en 1997 que l'oxydation des acides gras dépend directement de la capacité de l'oxygène à réagir avec les radicaux peroxydes. Leur dosage permet donc



d'avoir un état de l'avancement ou non de l'oxydation de l'huile.



**Figure:** Auto-oxydation de l'acide linoléique (Veillet S., 2010)

L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet fournit des informations complémentaires sur la qualité d'une huile. Le coefficient d'extinction à 270 nm est un bon révélateur de la teneur de l'huile en peroxyde.

Cette analyse peut donc venir en complément de la précédente ou peut intervenir en amont afin de vérifier si un dosage précis des hydroperoxydes est nécessaire.

Ces trois analyses : **acidité libre**, **valeur peroxyde** et **examen spectrophotométrique à 270 nm** sont rapides et nécessitent peu de matériel onéreux. Il est donc possible de connaître rapidement l'état général de la qualité de l'huile d'olive à analyser.

Les normes de qualité en industries agroalimentaires étant de plus en plus rigoureuses, d'autres critères doivent cependant être pris en considération (tableau 5).

Quelques caractéristiques complémentaires des huiles d'olive à savoir : l'indice de réfraction, de saponification, d'iode et insaponifiable sont présentées au tableau 5.

**Tableau 5:** Données physico-chimiques de classification des huiles (Food and Agriculture Organization (FAO), 2001 et Codex Alimentaires, 1989)

	Densité relative	Acidité (% acide oléique)	Indice peroxyde (meq O <sub>2</sub> /kg)	Extinction spécifique à 270 nm	Acide gras saturé en position
Huile d'olive Vierge extra	-	< 1	< 20	< 0.25	< 1.5
Huile d'olive Vierge	-	< 2	< 20	< 0.3	< 1.5
Huile d'olive Vierge ordinaire	0.910	< 3.3	< 20	< 0.3	< 1.5
Huile d'olive Raffinée	0.916	< 0.3	< 5	< 1.1	< 1.8
Huile d'olive	-	< 1.5	< 15	< 0.9	-
Huile de grignon D'olive raffinée	-	< 1.5	< 5	< 2.0	< 2.2
Huile de grignon D'olive	-	< 1.5	< 15	< 1.7	-

**Tableau 6 :** Caractéristiques complémentaires des huiles d'olive (Codex Alimentaires, 1989)

	Indice de réfraction (nD 20°C)	Indice de saponification (mg KOH/g)	Indice d'iode (Wijs)	Insaponifiable
Huile d'olive Vierge	1.4677-1.4705	184-196	75-94	< 15g/kg
Huile d'olive Raffinée	1.4677-1.4705	184-196	75-94	< 15g/kg
Huile de grignon D'olive raffinée	1.4680-1.4707	182-193	75-92	< 25g/kg

Des dispositions sur la teneur des huiles en métaux sont également à prendre en compte car ceux-ci, même à l'état de traces, peuvent servir de catalyseur pour des réactions d'oxydation et donc faciliter la dégradation des huiles.

La commission du Codex Alimentaires a également établi des limites maximales de résidu pour ce qui concerne les pesticides dans l'huile. Si la caractérisation physico-chimique des huiles d'olive est une étape essentielle dans la classification des huiles, elle n'est pas suffisante.

En effet les caractères organoleptiques sont également à respecter :

- L'huile d'olive vierge est une huile claire, de couleur jaune à vert, d'odeur et de saveur spécifiques, exempte d'odeurs ou de saveurs révélant une altération ou une pollution de l'huile ;
- L'huile d'olive raffinée est une huile claire, limpide, sans sédiment de couleur jaune clair, sans odeur ou saveur spécifique et exempte d'odeurs ou de saveurs révélant une altération ou une pollution de l'huile;
- L'huile de grignons d'olive raffinée est une huile claire, limpide, sans sédiment, de couleur jaune clair à jaune brun, sans odeur ou saveur spécifique et exempte d'odeurs ou de saveurs révélant une altération ou une pollution de l'huile.

De manière générale, pour être catégorisée en huile d'olive vierge extra, une huile ne doit présenter aucun défaut organoleptique, une très faible acidité et un très faible état d'oxydation. Ces caractéristiques assurent au consommateur l'achat d'un produit de qualité qui se conservera bien dans le temps.

### **3.4. Composition chimique de l'huile d'olive**

L'huile d'olive vierge est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés (Angerosa F. et al, 2004 ; Kiritsakis A., 1993). La composition de l'huile d'olive change selon la variété, les conditions climatiques et l'origine géographique. Les composés peuvent être classés en deux grands groupes :

- Les substances saponifiables (triglycérides, acides gras) (de 96 à 98% de l'huile) ;
- Les substances insaponifiables (de 2 à 4% de l'huile).

#### **3.4.1. Fraction saponifiable**

##### **➤ Les acides gras**

Les acides gras présents dans l'huile d'olive se trouvent sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre. Ce sont des monoacides linéaires à nombre pairs (majoritaires) et impairs d'atomes de carbone dont le nombre varie de 14 à 24. Leur chaîne aliphatique est soit saturée

soit mono ou polyinsaturée. Ils se composent en moyenne de 72% d'acides gras mono insaturés, de 14% d'acides gras polyinsaturés et de 14% d'acides gras saturés (norme européenne).

La prédominance de l'acide oléique constitue la principale originalité de l'huile d'olive et lui confère les caractéristiques d'un corps gras mono-insaturé.

Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, dans ce cas les acides gras sont dits « saturés ».

Elle peut également contenir une double liaison (Acides Gras Mono insaturés AGMI) ou plusieurs doubles liaisons (Acides Gras Polyinsaturés AGPI).

Pour les acides gras insaturés, ils sont souvent référencés selon la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle terminal.

Il existe 2 grandes familles d'AGPI : la série en n-6 (ou oméga 6) et la série n-3 (ou oméga 3). Dans l'huile d'olive, on trouve de l'acide linoléique (oméga 6) et de l'acide alpha-linolénique (oméga 3).

Ces acides gras sont dits « essentiels » car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et doivent donc être apportés par l'alimentation. Dans la nature, les acides gras sont généralement sous forme de triesters entre des acides gras et du glycérol selon la formule :



Dans le cas de l'huile d'olive les triacylglycérides représentent entre 98% et 99% de la masse totale. Quelques rares acides gras libres peuvent être trouvés et témoignent d'une oxydation du triester.

La composition en acide gras est très variable et dépend de la variété d'olives, la région de production et de l'année de la récolte (influence des conditions environnementales) (Daoudi F.D., et al., 1981).

Des normes telles que celle du Codex Alimentaires régulent cependant cette variabilité en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras (tableau 7).

**Tableau 7:** Composition en acides gras d'une huile d'olive (Veillet S., 2010)

Acide gras	Formule brute	Olivier et coll. (%)	Codex alimentaire(%)
Acide myristique	C 14 :0	Tr	< 0.1
Acide palmitique	C16:0	7,5-15,6	7,5-20
Acide sapiénique	C16:1n-9	0,1-0,2	0,3-3,5
Acide palmitoléique	C16:1n-7	0,3-1,9	0,3-3,5
Acide margarique	C17:0	<0,3	<0,5
Acide margaroléique	C17:1n-8	<0,5	<0,6
Acide stéarique	C18:0	1,4-3,4	0,5-5
Acide oléique	C18:1n-9	60,9-82,1	55-83
Acide vaccénique	C18:1n-7	0,7-3,6	-
Acide linoléique	C18:2n-6	4,5-16,1	3,5-21
Acide $\alpha$ -linoléique	C18:3n-3	0,4-1,2	<1,5
Acide arachidonique	C20:0	0,3-0,5	<0,8
Acide gadoléique	C20:1n-9	0,2-0,5	-
Acide béhénique	C22:0	<0,2	<0,2
Acide lignocérique	C24:0	<0,1	<0,1

*Cx:yn-z où x est le nombre de carbones, y le nombre de double liaisons, z la position de la double liaison en partant du méthyle terminal. tr = traces.*

La variabilité en acides gras est relativement importante, mais en moyenne, l'huile d'olive vierge se compose à 72% d'acides gras mono-insaturés (AGMI), 14% d'acides gras polyinsaturés (AGPI) et 14% d'acides gras saturés (AGS) (Harwood J.L., 2000). L'acide gras majoritaire est l'acide oléique qui représente à lui seul près de 70% des acides gras. Les acides gras polyinsaturés représentent une fraction non négligeable de l'huile et sont majoritairement composés d'acide linoléique.

#### ➤ Les triglycérides

Les substances saponifiables sont constituées d'environ 97 à 99% de triglycérides. Les

triglycérides sont les véritables constituants des huiles d'olive vierge. Ils proviennent de l'estérification des trois fonctions alcools du glycérol par des acides gras. La présence d'une part des différents acides gras et d'autre part des trois possibilités d'estérification sur le glycérol conduit à un grand nombre de combinaisons possibles pour les triglycérides de l'huile d'olive.

Les triglycérides sont couramment désignés par trois lettres correspondant aux abréviations des acides gras (tableau 8) qui estérifient le glycérol. Ainsi à titre d'exemple, OOO est le trioléoyl glycérol ou trioléine et POO, le pamiroyl, dioléoyl glycérol ou palmitoyldioléine.

Les triglycérides qui se trouvent dans des proportions significatives dans l'huile d'olive sont : OOO (40-59%), POO (12-20%), OOL (12,5-20%), POL (5,5-7%) et SOO (3-7%) (Casadei E., 1978 ; Catalano M., 1968). Aucune norme ne fixe de limite quant aux proportions de triglycérides présents dans les huiles d'olive vierge.

**Tableau 8:** Composition en triglycérides des huiles d'olive vierge françaises (Ollivier D., 2003).

<b>Triglycérides</b>	<b>Limites (%)</b>	<b>Moyenne (%)</b>
<b>LLL</b>	0.01-0.90	0.13
<b>OLnL + PoLL</b>	0.02-0.85	0.24
<b>PLnL</b>	0,00-0.29	0.06
<b>LOL</b>	0.13-6.20	1.90
<b>OLnO + PoOL</b>	0.52-2.46	1.36
<b>PLnO + PPol</b>	0.25-1.35	0.64
<b>LOO + LnPP</b>	7.48-23.27	13.93
<b>PoOO</b>	0.14-3.21	1.10
<b>PLO + SLL</b>	2.16-11.71	5.57
<b>PLP</b>	0,00-1.53	0.46
<b>OOO + PoPP</b>	27.32-58.76	44.69
<b>SLO</b>	0,00-1.77	0.52
<b>POO</b>	14.69-27.65	20.03
<b>POP</b>	0.45-5.38	3.08
<b>SOO</b>	0.49-7.22	3.72
<b>POS + SLS</b>	0.37-3.47	0.85
<b>PPS</b>	0.23-1.03	0.52

Selon (Tiscornia E. et Forina N., 1982), les triglycérides entièrement saturés tels que le PPP, SSS, PSP, SPS, etc., ne sont pas trouvés dans l'huile d'olive. En règle générale, les chaînes

saturées sont fixées sur les carbones sn-1 ou sn-3 tandis que la position sn-2 est occupée préférentiellement par des acides gras insaturés (Aranda F. et al, 2004).

### 3.4.2. Fraction insaponifiable

Les substances insaponifiables représentent l'ensemble des constituants (naturels) qui ne réagissent pas avec un hydroxyde alcalin pour donner des savons et qui, après saponification restent solubles dans des solvants classiques des corps gras (hydrocarbures saturés, éthers diéthylique ou diisopropylique, solvants chlorés, etc.). Ces substances représentent de 2 à 4% de l'huile et constituent un mélange complexe de composés appartenant à des familles chimiques diverses:

- Les hydrocarbures;
- Les tocophérols (vitamine E);
- Les alcools triterpéniques et aliphatiques;
- Les stérols;
- Les composés phénoliques (antioxydants);
- Les chlorophylles et carotène;

L'huile d'olive se caractérise par son parfum délicat et unique. Cet arôme très particulier est dû à toute une gamme de composants présents à très faibles concentrations.

Les constituants mineurs de l'huile d'olive sont des indicateurs de son authenticité (Harwood J.L. et Aparicio R., 2000), de même que ses caractéristiques sensorielles (Ollivier D. et al., 2007).

### 3.5. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive

L'huile d'olive a un impact sur le plan nutritionnel par la présence dans sa composition d'un acide gras mono-insaturé : l'acide oléique et de composants mineurs qui sont à des teneurs plus élevées dans une huile vierge.

L'utilisation de l'huile d'olive en médecine date depuis les époques les plus anciennes.

La forte teneur de l'huile d'olive en acide oléique constitue un réel atout d'un point de vue intérêt nutritionnel.

Les auteurs (Keys A. et al., 1986 ; Jacotot B., 1999 et Kratz M. et al., 2002) ont montré qu'un régime riche en acides gras mono-insaturés, réduisait le cholestérol total et le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL,) sans affecter le cholestérol des lipoprotéines de haute



densité (HDL). Par rapport à un régime riche en acides gras polyinsaturés, le régime riche en acides gras mono-insaturés augmente le cholestérol des lipoprotéines de haute densité. Le régime riche en acides gras mono-insaturé réduit le cholestérol total et les triglycérides.

Les acides gras mono-insaturés ont une influence sur le métabolisme des lipoprotéines de haute densité qui ont un effet protecteur contre l'athérosclérose. En effet, ces lipoprotéines sont impliquées dans la captation du cholestérol cellulaire.

Les propriétés digestives de l'huile d'olive ont conduit à son utilisation dans le traitement des troubles gastriques, biliaires, et de la constipation. La motricité gastrique est stimulée par les acides gras mono-insaturés comparativement à des acides gras saturés.

En fait, les principaux effets digestifs de l'huile d'olive portent sur le fonctionnement biliaire : stimulation de la sécrétion hépatique de la bile par le foie (cholérétique) et des propriétés cholagogues (stimule la vésicule biliaire à se contracter et à déverser dans le duodénum la bile indispensable à la digestion des lipides. (Jacotot B., 1997 ; Charbonier A., 1985).

De par sa teneur élevée en acide oléique, l'huile d'olive semble être selon (Charbonier .A et Richard J.L., 1996), la mieux tolérée par l'estomac, il diminue la pression du sphincter inférieur de l'œsophage et s'élimine le plus rapidement de l'estomac, c'est donc la matière grasse qui entraîne le moins de phénomènes de reflux gastro-œsophagien et de stase gastrique.

Ces auteurs ont montré que l'absorption de l'huile d'olive abaisse considérablement l'acidité gastrique, c'est également un laxatif doux, et présente donc des effets bénéfiques sur les gastrites hyper chlorhydrique et les ulcères gastroduodénaux.

Des études épidémiologiques (Motard-Bélanger A. et al., 2008 ; Rotondo S. et De Gaetano G., 2000) ont montré que l'alimentation méditerranéenne traditionnelle, dans laquelle l'huile d'olive a une place importante, jouait un rôle majeur dans la prévention des facteurs de risques des maladies cardiovasculaires, telles que dyslipidémies, hypertension et diabète.

Beauchamp G. et al., (2005) a mis en évidence la présence dans l'huile d'olive vierge d'agents naturels qui auraient un rôle d'anti-inflammatoire sur l'organisme. Selon Berra G. et De Gasperi R. (1980), l'huile d'olive joue aussi un grand rôle dans la prévention et le ralentissement de l'apparition du diabète sucré. La consommation d'huile d'olive prévient la résistance à l'insuline et ses éventuelles conséquences négatives. En outre, l'huile d'olive permet un meilleur contrôle du glucose dans le sang et diminue la pression artérielle. L'huile d'olive améliore de manière significative l'utilisation du glucose par les cellules et réduit les

niveaux de triglycérides dans le sang.

Différentes études épidémiologiques ont également permis de démontrer que l'huile d'olive a un effet protecteur contre certains types de tumeurs malignes (sein, prostate, endomètre, tractus digestif, etc.) (Trichopoulou A. et al., 2000 ; Littman A.J. et al., 2001).

Par ailleurs, l'huile d'olive joue un rôle important dans l'augmentation de l'espérance de vie à cause de sa richesse en vitamine E qui joue un rôle biologique positif pour déplacer les radicaux libres, molécules impliquées dans certaines maladies chroniques et dans le processus de vieillissement. La consommation d'huile d'olive protège les individus contre la détérioration des fonctions cognitives provoquée par le vieillissement et contre la perte de mémoire liée à l'âge (Rosa M. et al., 2004).

L'huile d'olive est aussi très conseillée pour la friture à cause de sa composition en acides gras mono insaturés qui la rendent plus résistante à la chaleur. C'est pourquoi elle peut être réutilisée pour la friture sans subir d'hydrogénation ou d'isomérisation, processus qui annulent les effets positifs sur le métabolisme des lipides. C'est l'huile la plus légère et la plus savoureuse pour la friture des aliments (Terdazi W. et al., 2010).

Certains chercheurs ont montré que l'huile d'olive a aussi des bienfaits sur la tension artérielle et indiquent que l'emploi de l'huile d'olive permet de réduire les doses quotidiennes d'antihypertenseurs, probablement en raison des niveaux supérieurs d'oxyde nitrique favorisés par les polyphénols de l'huile d'olive (Perona J.S. et al., 2004).

## **4. Les feuilles d'olivier**

### **4.1. Biomasse énorme**

L'industrie oléicole engendre, en plus de l'huile d'olive comme produit principal, des sous-produits de type liquide (margines) et solide (grignons, feuilles et brindilles).

Durant la récolte, des feuilles pourront être cueillies avec les olives. Ces sous-produits sont écartés des olives dans les oliveraies (figure 2 a et b) mais aussi dans les huileries (figure 2 c). Ils sont estimés à 10% de la masse globale des olives récoltées (Bouaziz et al., 2008). A cette quantité s'ajoute la biomasse de la taille (figure 2 d). En effet, après la récolte des olives, les oliviers subissent en général une taille sévère un an sur deux et une taille légère l'année suivante. Les quantités des produits de la taille ont été estimées à 25 kg de feuille et brindilles (diamètres inférieurs à 3 cm) produites par an et par arbre, selon Nefzaoui (1995).

La valorisation de ces résidus, engendrés en grande quantité, est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole.



**Figure 2:** Les feuilles d'olivier, sous-produit de l'industrie oléicole, engendré en grande quantité lors de la récolte (a et b), en huilerie (c) et après la taille des oliviers (d).

#### 4.2. Composition des feuilles d'olivier

Les feuilles fraîches d'olivier sont caractérisées par une matière sèche aux alentours de 50%. Le tableau 9 montre sa composition chimique globale selon différents auteurs.

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations (Nefzaoui, 1995).

Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tels que cellulose, hémicelluloses).

La teneur en protéine est faible dans les feuilles d'olivier. Le tableau 10 présente sa composition en acides aminés, qui est particulièrement diversifiée.

La composition en minéraux des feuilles d'olivier est présentée dans le tableau 11.

Les minéraux le plus abondant dans les feuilles est le fer avec une concentration de 273 g/ Kg de matière sèche.

**Tableau 9:** Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimée en g par 100 g) selon plusieurs auteurs.

Composition (en %)	Boudhrioua et al., 2009	Erbay et Icier, 2009	Martin-Garcia et al., 2006	Garcia-Gomez et al., 2003	Fegeros et al., 1995
Eau	46,2-49,7 a	49,8 a	41,4 a	nd	44,0 a
Protéines	5,0-7,6 a	5,4 a	7,0 b	nd	nd
Lipides	1,0-1,3 a	6,5 a	3,2 b	6,2 b	nd
Minéraux	2,8-4,4 a	3,6 a	16,2 b	26,6 b	9,2 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	27,5 a	nd	nd	nd
Fibres brutes	nd	7,0 a	nd	nd	18,0 b
Cellulose	nd	nd	nd	19,3 b	11,4 b
Hémicellulose	nd	nd	nd	25,4 b	13,3 b
Lignin	nd	nd	nd	30,4 b	14,2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b	nd	2,5 b	nd	nd
Tannins solubles	nd	nd	nd	nd	0,3 b
Tannins condensés	nd	nd	0,8 b	nd	1,0 b

a correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

b correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

nd : valeur non déterminée

**Tableau 10:** Composition en acides aminés des feuilles d'olivier fraîche (exprimé en g par Kg d'azote total) selon Martin-Garcia et Molina- Alcoide, 2008.

Acide aminées	Concentration
Acide aspartique	27.5
Acide glutamique	35.1
Serine	44.5
Glycine	79.6
Histidine	25.4
Arginine	162.0
Threonine	46.8
Alanine	73.8
Proline	84.2
Tyrosine	32.3
Valine	74.8
Methionine	5.3
Cysteine	1.6
Isoleucine	58.8
Leucine	104
Phenylalanine	51.8
	19.1
Acides aminés essentiels	547
Acides aminés non essentiels	379
Acides aminés totaux (sans tryptophane)	926

**Tableau11:** Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimée en g par Kg de matière sèche) selon Fegeros et al., 1995

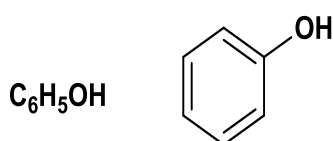
Minéraux	Concentration (g/kg)
Calcium (Ca)	12.7
Phosphore (P)	2.1
Manganèse (Mg)	1.9
Potassium (K)	6.3
Fer (Fe)	273.0
Cuivre (Cu)	10.7
Zinc (Zn)	21.3
Magnésium(Mn)	50.0

### 4.3. Les composés phénoliques des feuilles d'olivier

#### 4.3.1. Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques, métabolites secondaires, forment le groupe des composés organiques photochimiques le plus important dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante (Beta et al, 2005).

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 1993).



**Figure 3:** Formule brute et structure chimique d'une fonction phénol

Cette définition chimique n'est cependant pas tout à fait satisfaisante car elle inclut d'autres composés dont certaines hormones. Une définition métabolique lui est parfois préférée. Les composés phénoliques des plantes sont alors décrits comme les substances dérivées de la voie métabolique de l'acide shikimique (Robards et al., 1999; Sanoner, 2001). Le terme de polyphénols est souvent consacré par l'usage pour désigner les composés phénoliques.

Dans la cellule, les composés phénoliques sont essentiellement localisés sous forme soluble

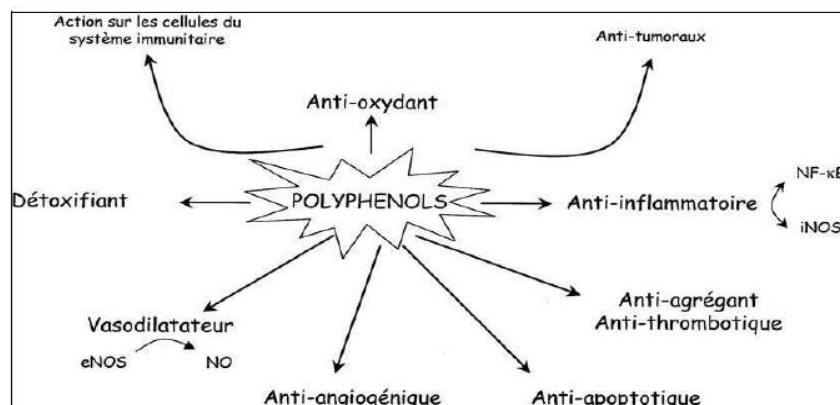
dans les vacuoles. Ils peuvent également s'accumuler dans les parois végétales : c'est le cas de la lignine (hétéropolymère d'alcools coniférylique, p-coumarylique et sinapylique) ou de certains flavonoïdes (Robards et al, 1999; Macheix et al., 2003).

#### 4.3.2. Activités biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont connus par leurs rôles physiologiques très important aussi bien dans le règne végétal qu'animal. En raison de leur structure, les composés phénoliques sont capables de se fixer sur certaines enzymes et protéines, et de modifier ainsi les équilibres enzymatiques : ils joueraient un rôle dans les chaînes d'oxydoréductions et modifieraient certaines réactions concernant la croissance, la respiration et la morphogénèse.

Dans le règne végétal, ces substances sont souvent impliquées dans les mécanismes de défenses élaborés par les végétaux contre la prédation par des insectes, des herbivores et contre les infections et les agressions microbiennes multiples (Lo Scalzo et al., 1994;Uccella, 2001). Outre, les composés phénoliques seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation... (Ozkaya et Celik, 1999 ; Malik et Bradford, 2006). Les composés phénoliques sont aussi responsables des propriétés sensoriels des plantes tels que la couleur, le goût et parfois l'odeur.

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent des activités biologiques qui les rendent bénéfiques à la santé humaine (figure 4). Beaucoup d'études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neuro dégénératives) (Leong et Shui, 2002).



**Figure 4:** Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les activités biologiques relatives à ce type de composés sont relativement diversifiées. Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leurs activités antimicrobienne et antioxydantes, cette dernière est d'un intérêt général avec les récentes découvertes sur la prévention des cancers (Karakaya, 2004). Certains d'entre eux, tels que les coumarines, possèdent des propriétés anti inflammatoires (Fylaktakidou et al., 2004). D'autres, tels que les lignanes, possèdent des propriétés cytostatiques (Habtemariam, 2003). Les flavonoïdes, une vaste famille de composés phénoliques, protègent les tissus végétaux contre les rayons UV. La principale activité leur étant attribuée est une propriété « Vitaminique P » : ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et les rendent plus résistants. Certains possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques, hépato-protecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiant, diurétiques, antibactériens, antiviraux et parfois cytostatiques. Ils agissent aussi parfois comme piègeurs de radicaux libres et comme inhibiteurs enzymatiques.

Les composés des autres familles de ce groupe (anthocyanosides, tannins et polyacétates) présentent fréquemment des propriétés thérapeutiques similaires à celles des flavonoïdes et des composés phénoliques en général (Bruneton, 1993).

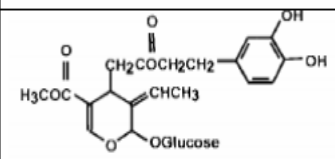
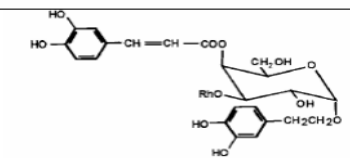
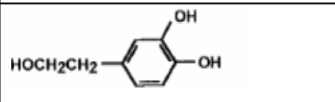
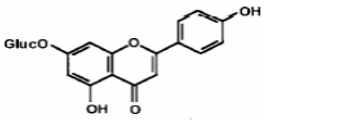
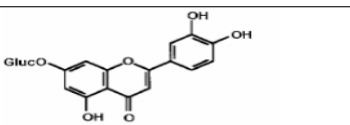
#### 4.3.3. Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques dans les feuilles d'olivier varie entre 2,8 mg/g de matière sèche (Altioek et al., 2008) et 44,3 mg/g de matière sèche (Boudhrioua et al., 2009). Elle peut même dépasser les 250 mg/g de matière sèche (Mylonaki et al., 2008).

La variation de la concentration des composés phénoliques dans les feuilles d'olivier, citée dans la littérature, dépend de la variété de l'olivier, des conditions climatiques, de l'époque de prélèvement des échantillons des feuilles, de l'âge des plantations et des échantillons des feuilles. En plus de ces facteurs de variabilité, il s'ajoute l'effet de la méthode de préparation des feuilles d'olivier (déshydratation et broyage), du procédé et des techniques d'analyses qualitative et quantitative des composés phénoliques.

Les composés phénoliques présents dans les feuilles d'olivier sont essentiellement l'hydroxytyrosol, Tyrosol, Catechin, acide caféique, acide vanillique, vanilline, Rutine, Lutéolin-7-glucoside, Verbascoside, Apigenin-7-glucoside, Diosmetin-7-glucoside,

Oleuropéine, et la Lutéoléine.

Composé phénolique	Structure chimique	Composé phénolique	Structure chimique
Oleuropéine		Verbascoside	
Hydroxytyrosol		Apigenin-7-glucoside	
		Lutéolin-7-glucoside	

**Figure 5:** Structures chimiques de quelques composés phénoliques identifiés dans les feuilles d'olivier.

## 5. Les margines et grignons

### 5.1. Les bilans quantitatifs des sous-produits de l'industrie oléicole

La caractérisation physico-chimique des margines et des grignons est généralement tributaire des techniques et des systèmes d'extraction de l'huile d'olive, elle diffère d'une étude à l'autre et d'un pays à l'autre (Blika et al., 2009). En effet, leur composition chimique varie à la fois qualitativement et quantitativement en fonction de plusieurs autres paramètres à savoir la variété d'olive, les conditions climatiques, les pratiques agronomiques, le degré de maturité des olives et la durée de stockage des olives avant trituration (Fiorentino et al. 2003; Dermeche et al., 2013, Allouche et al., 2004; Piperidou et al., 2000).

Les quantités des grignons d'olive et des margines dépendent étroitement du procédé de trituration appliqué. Les bilans massiques en grignons et en margines pour chaque procédé de trituration appliqué au Maroc sont reportés dans le Tableau 12.



**Tableau 12:** Bilan matière en grignons et margines obtenus par différents procédés de trituration des olives, 100 kg d'olives donnent en moyenne 20 kg d'huile d'olive.

Procédé de trituration	Grignons d'olive	Margines d'olive	Références
Triphasique par presse	40 kg 30-40 % d'humidité	40 kg	Amirante et al., 1993
Triphasique avec centrifugation	55 kg avec 40-50 % d'humidité	> 100kg	Amirante et al., 1993
biphasique	70 kg avec 60-70% d'humidité	10 kg	Di Giovacchio, 1988; Bing et al., 1994

## 5.2. Les grignons d'olive

Les principaux déchets solides générés lors de l'élaboration de l'huile d'olive sont les grignons. Les grignons d'olives contiennent une quantité d'huile résiduelle qu'il n'est pas possible d'extraire par des moyens physiques et qui est obtenue dans les installations d'extraction d'huile de grignons par l'utilisation des solvants comme l'hexane. La composition des grignons dépend étroitement de la variété d'olives, le degré de maturation des olives et le système employé lors de l'extraction de l'huile d'olive. Le tableau 13 montre la composition chimique des grignons obtenus lors de l'élaboration de l'huile d'olive avec différents procédés et provenant d'origines variées.

Contrairement aux autres tourteaux oléagineux, les grignons d'olive bruts sont pauvres en matières azotées et riches en cellulose brute. Ils restent relativement riches en matières grasses (huile d'olive). Le dénoyautage partiel réduit les teneurs en cellulose brute par l'élimination partielle des noyaux d'olives. Dans une autre étude, Chiofalo et al., (2004) ont constaté une nette différence entre le rendement gras des grignons de pressoir et les grignons des systèmes en continu. La différence est due fondamentalement à l'efficacité d'extraction des systèmes en continu par rapport aux systèmes traditionnels.

**Tableau 13:** Composition chimique indicative des différents types de grignons (DPV, 2009).

Type	% de la matière sèche				
	Matière sèche (%)	Matière minérale	Matière azotée totale	Cellulose brute	Matière grasse
Grignon brut	75 - 80	3 - 5	5 - 10	35 - 50	8 - 15
Grignon gras p. d.*	80 - 95	6 - 7	9 - 12	20 - 30	15 - 30
Grignon épuisé	85 - 90	7 - 10	8 - 10	35 - 40	4 - 6
Grignon épuisé p.d.	85 - 90	6 - 8	9 - 14	15 - 35	4 - 6
Pulpe grasse	35 - 40	5 - 8	9 - 13	16 - 26	26 - 33

\* p.d. = partiellement dénoyauté

### 5.3. Les caractéristiques des margines d'olive

Les margines ont un aspect trouble, une coloration brun-rougeâtre à noire. Cette couleur est fonction de l'état de dégradation des composés phénoliques et des olives dont ils dérivent (Hamdi et Ellouz, 1993). Leur odeur rappelle celle de l'huile d'olive, mais elle peut devenir gênante lors des phénomènes de rancissement ou de fermentation anaérobie (Ranalli, 1991). Les composés fondamentaux des margines sont l'eau (83.2 %), les substances organiques (15 %) et les substances minérales (1.8 %) (Fiestas et Borja 1992). Les variations des caractéristiques des margines résultent du type du procédé d'extraction de l'huile, de la qualité et de la variété des olives et de la conduite des opérations d'extraction (Mouncif et al., 1993).

*CHAPITRE II :*

*EFFETS DE LA LUMIERE  
DU SOLEIL, DE LA  
TEMPERATURE ET DE  
L'ADULTERATION SUR LA  
QUALITE D'HUILE D'OLIVE  
VIERGE*

## 1. Introduction

L'huile d'olive, connue pour ses propriétés de santé, est toujours l'objet d'études scientifiques. Elle contient des substances anti-oxydantes que l'effet thérapeutique a prouvées (Fernandez-Orozgo R. et al., 2011 ; Bouzid O. et al., 2005 ; Landete J.M. et al., 2008). Le cultivar, le site géographique, l'irrigation et le climat sont des facteurs qui influencent la qualité de l'huile d'olive (Lerma-García M.J. et al., 2008 ; Oueslati I. et al., 2009 ; Roca M. et al., 2003 ; Koprivnjak O. et al., 2005 ; Alcántara E. et al., 2003 ; Montaña A. et al., 2003). En outre, les conditions d'extraction des huiles sont déterminantes sur sa qualité (Direction de l'Enseignement, de la Recherche et du Développement, 2006), à savoir sur l'acidité et l'oxydabilité (Kalogeropoulos N. et al., 2012). Une huile d'olive vierge (HOV) a été chauffée à 190°C pendant 40 heures ; l'évolution au cours du chauffage de la proportion du groupe acyle et de l'indice d'iode a été suivie par résonance magnétique nucléaire <sup>1</sup>H. Les groupes acyles mono-insaturés se dégradent à un rythme plus rapide que les groupes linoléique. La formation de composés d'oxydation primaire n'a pas été observée avec cette technique (Guillén M.D. et al., 2012). Par ailleurs, l'exposition d'échantillons d'huile d'olive à la lumière et à la température (35 °C) a entraîné une détérioration de sa qualité (Pristouri G. et al., 2010 ; Kim M. et al., 2012). Au Maroc, une étude a été récemment menée sur les composés phénoliques dans le but de valoriser la "Picholine", mais il paraît qu'il y a encore un besoin d'étudier les performances de cette variété d'olive "Picholine" Marocaine qui présente des effets fongicides et d'autres caractéristiques valorisantes (Elbir M. et al., 2012). Ainsi, le présent travail vise à contribuer pour remédier au manque dans la valorisation du cultivar d'olive "Picholine" Marocaine.

## 2. Matériels et méthodes

Des échantillons d'huile d'olive ont été recueillis de deux sites géographiques différents : "Demnat" et " Tagzirt " de la zone marocaine "Béni Mellal- khénifra" et ce entre Novembre 2010 et Mars 2011. Tous les échantillons ont été soumis à une presse mécanique. 25 échantillons d'olive vierges (13 de Tagzirt et 12 de Demnat), extraits d'olives de cultivars de la "Picholine" marocaine, ont été obtenus et stockés un mois à une température de 15°C, dans l'obscurité, avant l'analyse. La teneur en eau (TE) dans les huiles d'olive vierges (HOV) a été déterminée en utilisant la méthode de Karl Fisher (titreur DL38). L'indice de peroxyde

(IP) a été obtenu par titrage volumétrique utilisant la réaction d'oxydo- réduction entre le thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , Riedel-de Haen : pureté > 99,8 %) (Codex Stan 33, 1981) et le peroxyde d'huile (Codex Stan 33, 1981). Grâce au titrage volumétrique, l'indice d'acide (IA) a été mesuré par l'hydroxyde de potassium (KOH, Riedel-de Haen : pureté de 99,8 %) (Codex Stan 33,1981). La détermination de la densité (D) a été effectuée en utilisant des pycnomètres à 25 ml, Guy Lussac (Codex Stan 33, 1981). L'effet de la lumière du soleil à 25°C a été évalué en comparant TE, IP, IA et D dans l'obscurité à ces paramètres obtenus lorsque les échantillons d'huile ont été exposés 15 jours au soleil. L'évolution des huiles en fonction de la température a également été évaluée. Les échantillons ont été chauffés lentement jusqu'à 25, 40, 55, et 70°C. En effet, chacune de ces quatre températures a été maintenue 10 min pour chaque échantillon de l'huile d'huile vierge (HOV). Les mêmes analyses ont été effectuées sur HOV adultérée par l'huile d'olive de raffinage (HOR).

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Effet de la lumière du soleil

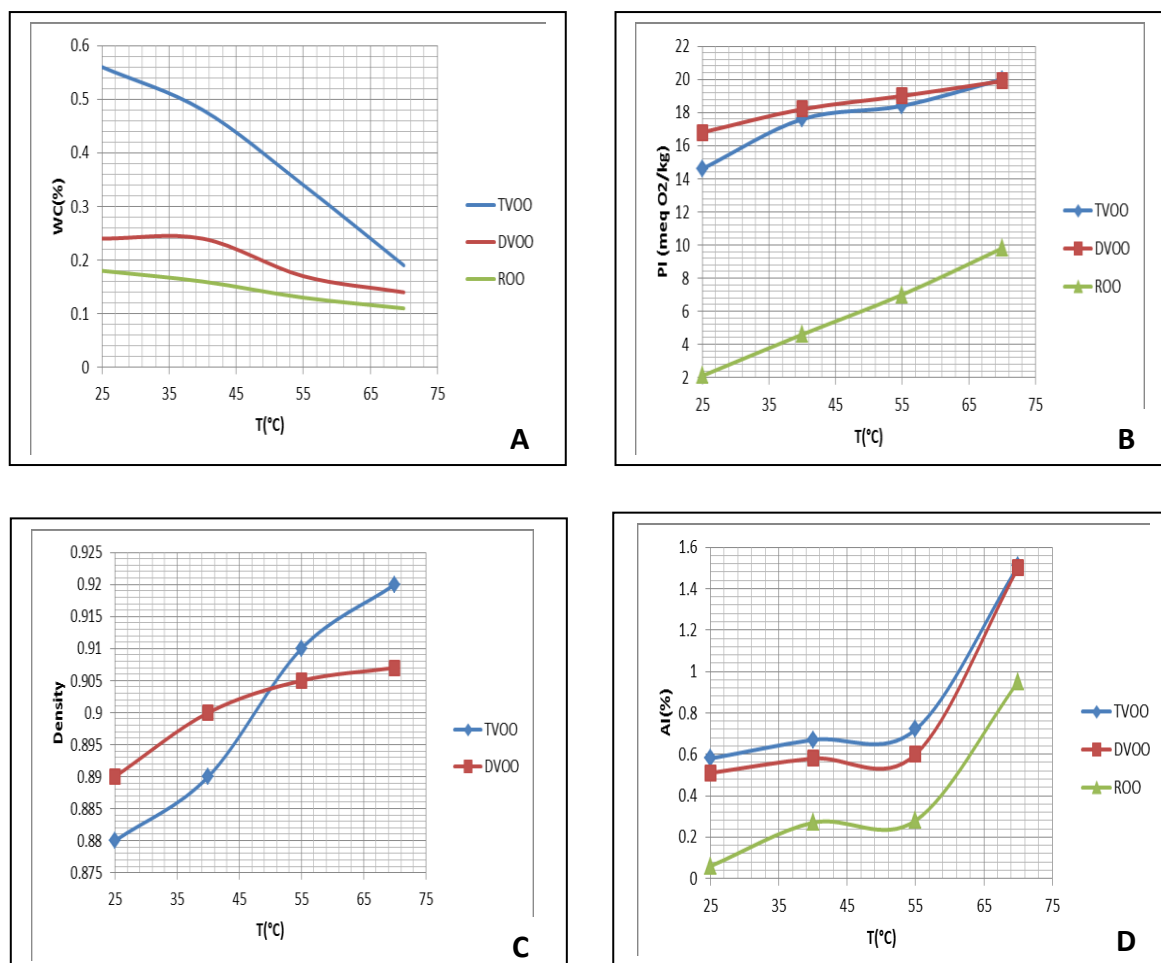
Les valeurs des paramètres de qualité des échantillons (Demnat (HOVD) et de Tagzirt (HOVT)) exposés à la lumière du soleil sont présentées dans le tableau 1.

**Tableau 1:** Les paramètres de la qualité de HOVD et de HOVT lorsque ces derniers sont exposés à la lumière du soleil. TE : teneur en eau à 25°C, IP : indice de peroxyde, IA : indice d'acide, D : densité.

Echantillon	Teneur en eau TE (%)	Indice de peroxyde IP (meq O <sub>2</sub> /Kg)	Indice d'Acide IA (%)	Densité (D)
HOVD	0,26	24	0,70	0,90
HOVT	0,59	21,2	0,73	0,88

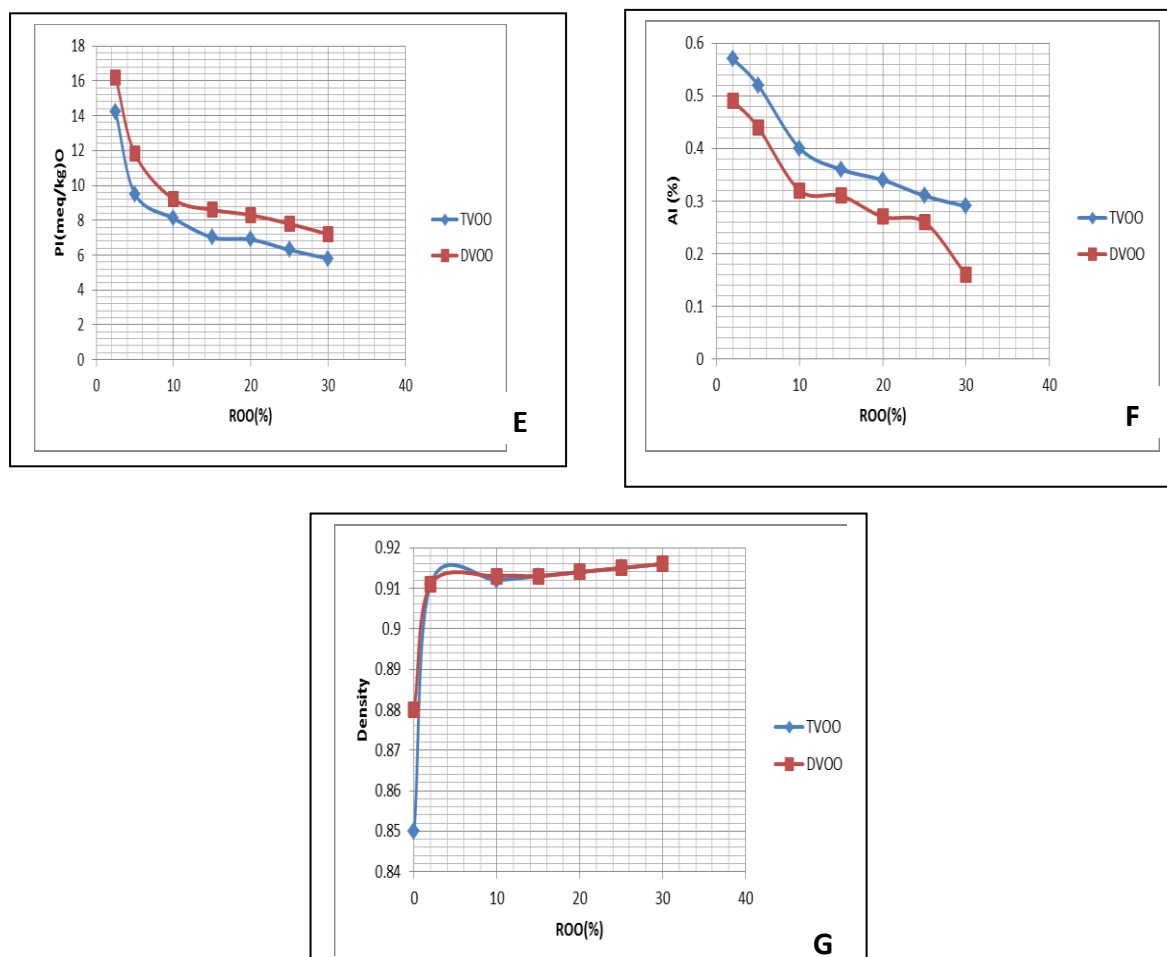
#### 3.2. Effet du chauffage et de l'adultération

La figure 1 présente les effets de la température sur les paramètres de la qualité des deux huiles d'olive HOVT et HOVD et sur l'huile d'olive raffinée (HOR) après les avoir stockées dans l'obscurité à 25°C.



**Figure 1:** Effets de la température sur les paramètres de la qualité de TVOO, DVOO et ROO, stockés dans l'obscurité à 25°C. 1. A : Teneur en eau, 1.B : Indice Peroxyde, 1.C : Densité et 1.D : Indice d'Acide.

La figure 2 présente les effets de l'adultération de l'huile d'olive vierge (de HOVT et HOVD) par l'huile d'olive raffinée (HOR), sur les paramètres de la qualité, après stockage dans l'obscurité à 25°C.



**Figure 2:** Effets d'adultération sur les paramètres de la qualité de HOVT et de HOVD, stockés dans l'obscurité à 25°C. 2. E : Indice de peroxyde, 2.F : Indice d'Acide et 2.G : Densité.

### 3.3. Effet de la lumière du soleil à 25°C

Comme nous pouvons observer dans le tableau 1, les valeurs de WC dans les échantillons DVOO et TVOO exposés aux rayons du soleil à 25°C, ne sont pas dans les normes standards du Conseil International de l'Huile d'Olive (COI) (Codex Stan 33, 1981). Aussi, et contrairement aux valeurs de AI, les valeurs de PI dans les huiles d'olives vierges (VOO) ne

correspondent pas à ces normes. Les valeurs de D sont, généralement faibles par rapport à celles de la norme des huiles d'olive codex. La lumière du soleil favorise l'oxydation dans HOVD et HOVT ce qui entraîne l'augmentation de IP, mais elle n'a pas d'effet significatif sur l'IA et la densité. Par ailleurs, il a été démontré, d'après Orlandi F. et al., 2012, que les acides gras insaturés peuvent être oxydés par la lumière du soleil quand ils sont dans une matrice comme le bois d'olivier. Il a été rapporté dans leur travail que l'évaporation des substances volatiles causées par la lumière du soleil a un grand effet sur la qualité acide de l'huile (Orlandi F. et al., 2012).

### 3.4. La teneur en eau

#### 3.4.1 Dans l'huile d'olive chauffée

Les principales causes des teneurs en eau croissantes dans VOO non raffinée sont dues au processus d'extraction traditionnel. Dans ce dernier, la séparation du mélange eau-huile est réalisée par une simple différence de la densité entre la phase huileuse et la phase aqueuse. En fait, cette différence est suffisante pour la décantation de la phase aqueuse, sauf dans le cas de la stabilisation de l'émulsion "huile d'olive - eau" (Herrero A.M. et al., 2011).

#### 3.4.2. Dans l'huile d'olive à 25°C

La figure 1.A montre aussi que la teneur en eau dans HOVD, HOVT et HOR diminue progressivement avec la température. Cette diminution de la teneur en eau (TE) dans les trois huiles chauffées, peut être expliquée par le fait que l'augmentation de la température permet l'augmentation de la pression de la vapeur d'huile, de sorte qu'elle conduit à la transformation des molécules d'eau et des composés volatils de l'état liquide à l'état gazeux. La teneur en eau (TE) doit être minimisée dans toutes les huiles d'olive pour diminuer l'activité de l'eau et par conséquent réduire la vitesse de prolifération des micro-organismes qui causent des dommages pour l'huile d'olive (Ciafardini G. et al., 2002 ; Lavermicocca P. et al., 2010 ; Tassou C.C. et al., 2010 ; Owen R.W. et al., 2000).

### 3.5. Indice de peroxyde

#### 3.5.1. Dans l'huile d'olive chauffée

Comme il est observé dans la figure 1.B, la qualité de l'huile d'olive stockée dans l'obscurité



est aussi affectée par la température. Quand celle-ci augmente de 25 à 75°C, IP augmente aussi de 14,6 à 19,9 meq O<sub>2</sub> / kg dans HOVT et de 16,9 à 19,9 meq O<sub>2</sub> / kg, en HOVD. Ainsi, la valeur IP augmente relativement peu à peu sans rupture de la courbe, contrairement aux courbes de la densité (figure 1.C) et l'indice d'acide (figure 1.D), comme nous le verrons ci-après. L'augmentation de la température accélère l'oxydation des lipides par l'activation de peroxydes (figure 1.B). L'auto-oxydation de l'huile, catalysée par la température, est susceptible de produire un dommage sur ses caractéristiques biochimiques, organoleptiques et nutritionnelles. Ces dommages d'huiles comestibles par la température sont connus dans les saisons chaudes où les températures dépassent 40°C (cas des deux sites de prélèvement des échantillons étudiés. Les valeurs de l'indice de peroxyde dans des olives raffinés sont inférieures à celles de HOVD et HOVT. Elles ont augmenté de 2,1 à 9,8 meq O<sub>2</sub>/ kg, de 25°C à 75°C.

L'augmentation de la température induit le mécanisme d'endommagement des acides gras, favorise l'accumulation des peroxydes et détruit les composés phénoliques qui sont des antioxydants dans l'huile d'olive (Guillén M.D. et al., 2012 ; Owen R.W. et al., 2000; Nakbi A. et al., 2010). Ainsi, les moulins à olives où nous avons extrait HOV devraient produire des huiles présentant des IP dans les normes du Conseil Oléicole International (COI). En fait, les unités industrielles de raffinage assurent des conditions d'extraction, comme le lavage des olives, qui minimisent et réduisent le temps de broyage lorsque l'huile est exposée à l'air libre. En outre, la conservation des échantillons à une température inférieure à 17°C nous a aussi permis de préserver la qualité des huiles d'olive.

### 3.5.2. Dans l'huile d'olive adultérée

Selon la figure 2.E, les huiles d'olives vierges, HOVD et HOVT, montrent une diminution considérable de l'indice de peroxyde lorsque l'huile d'olive raffinée (HOR) est ajoutée, en particulier en dessous de 5 % d'ajout. Ce résultat était attendu puisque le raffinage de l'huile d'olive vierge devrait présenter de faibles indices de peroxyde. Les valeurs de l'indice de peroxyde dans des échantillons d'huile adultérée seraient en conformité avec les normes (Codex Stan 33, 1981). Ainsi, un contrôle de la qualité ne peut pas détecter une falsification de l'huile d'olive vierge par l'huile d'olive raffinée par un simple contrôle de l'indice de peroxyde.

### 3.6. Indice d'acide

#### 3.6.1. Dans l'huile d'olive adultérée

La figure 2.F, montre que les valeurs de l'indice d'acide (IA) de HOVT sont plus élevées que les valeurs issues de HOVD. Les valeurs d'IA des deux huiles d'olive diminuent après avoir ajouté HOR, particulièrement en-dessous de 10% de ROO. Cette diminution peut être expliquée par la basse acidité de l'huile raffinée (Simões P.C. et al., 1998 ; Simões P.C. et al., 1996). En effet, le raffinage devrait faire stabiliser l'acidité libre des huiles d'olive.

#### 3.6.2. Dans l'huile d'olive chauffée

Globalement, le chauffage entraîne l'élévation de l'indice d'acide dans les huiles. Par ailleurs, le plus élevé indice d'acide de l'huile chauffée est dans le cas de HOVT (figure 1.D). Un résultat cohérent a été enregistré lors de l'étude de l'effet de la lumière du soleil sur la valeur de l'indice d'acide dans HOVT dont la valeur de cet indice était 0,73% (tableau 1) à la lumière du soleil et 0,51% dans l'obscurité. Les valeurs de l'indice d'acide de HOR sont inférieures à celles de HOVD et HOVT (figure 1.D). Ceci explique que stabiliser l'acidité d'huile est l'un des objectifs de raffinage. Ainsi une adultération d'huile d'olive par HOR permet de diminuer l'indice d'acide. Au-dessus des températures environ de 63°C (figure 1.D), HOVD et HOVT, en tant que huiles vierges, ne présentent pas des valeurs d'indice d'acide inférieures de 1% en termes d'acide oléique (Codex Stan 33, 1981), contrairement à HOR. L'augmentation de la température semble affecter les triglycérides dans les trois huiles, libérant les acides gras. En conséquence, ces huiles chauffées contiennent une acidité et une oxydation croissantes relatives. Ce résultat confirme celui des travaux précédents sur l'effet de la chaleur sur la qualité d'huile d'olive (Valdés A.F. et al, 2006 ; Nissiotis M. et al., 2002 ; Kalogianni E.P. et al., 2011).

### 3.7. Densité

#### 3.7.1. Dans l'huile d'olive chauffée

Selon la figure 1.C, à des températures ne dépassant pas 47°C, HOVD est légèrement plus dense que HOVT. Globalement, il semble que la température entraîne une augmentation légère de la densité des huiles. Une telle augmentation de la densité n'est pas facile à mettre

en évidence. Une première explication de ce résultat serait que, au niveau microscopique, l'eau et les composés volatils sont transmis de la phase liquide à la phase gazeuse.

### 3.7.2. Dans l'huile d'olive adultérée

L'adultération de l'huile d'olive vierge par l'huile d'olive raffinée cause une légère élévation de la densité (la figure 2.G). En fait, le raffinage permet l'addition de certains composés chimiques comme les antioxydants et les espèces stabilisantes qui peuvent augmenter la densité de l'huile d'olive vierge. Ceci peut également être expliqué principalement par la concentration des polyphénols et alors connaître l'état d'oxydation de l'huile à analyser (Larif M. et al., 2013).

## 4. Conclusion

L'huile d'olive vierge produite dans les deux sites géographiques marocains : Demnat et Tagzirt, présente certaines caractéristiques chimiques et physiques, comme l'acidité libre et la teneur en peroxyde, qui sont compatibles à celles recommandées par les normes internationales du conseil oléicole international (COI). Cependant, d'autres caractéristiques comme la teneur en eau et la densité restent hors les normes. La lumière du soleil favorise l'élévation de l'acidité d'huile d'olive vierge et son oxydation. La température entraîne l'augmentation de l'acidité et de la teneur en peroxyde. Les huiles d'olive vierges de Demnat et de Tagzirt présentent une diminution considérable de l'indice de peroxyde quand elles sont adultérées par l'huile d'olive raffinée. Les valeurs de l'indice d'acide de l'huile d'olive vierge de Tagzirt sont plus élevées que celles de l'huile d'olive vierge de Demnat. L'indice d'acide des deux huiles d'olive vierges diminue après ajout de l'huile d'olive raffinée, particulièrement en-dessous de 10% d'ajout. Globalement, l'huile d'olive vierge de Demnat présenterait les caractéristiques qui lui permettent une meilleure résistance à la température, à la lumière du soleil et à l'adultération. D'autres études sont nécessaires afin de confirmer une telle discrimination en termes de résistance.

Pour affiner ce travail concernant les qualités des variétés d'olives, dans la partie qui suit, nous avons pu comparer les résultats des trois variétés les plus cultivées au Maroc : "Haouziya", "Manera" et "Picholine".

*CHAPITRE III :*

*CARACTERISATION ET  
DISCRIMINATION DES  
TROIS TYPES D'HUILE  
D'OLIVE VIERGE CULTIVES  
AU MAROC  
(" HAWZIYA ", " MENARA "  
ET " PICHOLINE ")*

## 1. Introduction

Les produits et sous-produits de l'olivier sont riches en composés phénoliques considérés comme des antioxydants naturels (Lesage-Meessen L. et al., 2001 ; Elbir M. et al., 2012). La composition de ces composés phénoliques dépend de la variété d'olive, la météo, les pratiques culturelles, la période de stockage et le processus d'extraction de l'huile d'olive (Borja R. et al., 199 ; Ergun Ergül F. et al., 2009 ; Fiorentino A. et al., 2003 ; Davies Luísa C. et al., 2004). Au Maroc, il y a un manque d'études sur les produits et sous-produit de l'olivier, y compris le profil variétal. Ainsi, le but de ce travail est de comparer les qualités des trois variétés d'olive établis au Maroc "Hawziya", "Menara" et "Picholine". Dans la présente étude, les paramètres relatifs à la qualité de l'huile telle que l'acidité libre, l'indice de peroxyde et de l'absorbance en spectroscopie UV à 232 et 270 nm sont approchés par rapport à la teneur en acide gras d'huile pour ces trois cultivars.

Plusieurs auteurs dans le monde ont investis dans l'huile d'olive vierge (HOV) en utilisant des méthodes analytiques physico-chimiques couplées aux méthodes d'analyse des données (Pristouri G. et al., 2010 ; Dupuy N. et al., 2010 ; Veillet S. et al., 2009 ; De Luca M. et al., 2011 ; Galtier O. et al., 2007 ; Galtier O. et al., 2007 ; Benlamaalam S. et al., 2015; Elbir M. et al., 2012). Toutefois, il existe toujours un besoin aux méthodes analytiques de routine qui sont rapides, simples et robustes afin de contrôler la qualité des variétés de l'huile d'olive vierge (HOV). Dans le présent travail l'analyse en composante principale (ACP) et l'analyse discriminante des moindres carrés partiels (PLS-DA) ont été couplées aux données de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) afin d'assurer un contrôle de la qualité, rapide, robuste et moins coûteux. En fait, la chromatographie en phase gazeuse n'étant pas toujours une technique d'analyse de routine, les laboratoires doivent assurer facilement l'accès à cette technique d'analyse présentée comme une méthode de référence.

L'objectif de ce travail a été la classification chimiométrique de données chromatographiques (CPG) de l'huile d'olive vierge issue de trois variétés marocaines. Cette approche pourrait représenter une véritable nouveauté dans la caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive. Des données CPG ont été obtenues à partir de différents échantillons d'huile d'olive des trois variétés (Hawziya, Menara et Picholine), dans la région marocaine Béni Mellal-Khénifra.

La première exploration des données CPG, suite à une procédure appropriée d'analyse des données, a été performé par ACP. Ce qui a permis une visualisation simple et rapide des

échantillons des 3 variétés dans trois classes. Puis la méthode PLS-DA supervisée, en utilisant les données CPG, a ensuite été appliquée pour la finition de la classification chimométrique des échantillons inconnus.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériels végétal et zone géographique

Nous avons assuré la culture des trois variétés dans trois parcelles ("Hawziya", "Menara" et "Picholine") situées dans la zone géographique de Béni Mellal-Khénifra au Maroc. Chaque parcelle correspond à l'une des trois variétés. La zone Béni Mellal-Khénifra se trouve au centre du Maroc au piémont du Moyen Atlas Marocain. Les trois parcelles des plantations d'olives sont dans une zone présentant un sol irrigué sous un climat continental.

### 2.2. Collecte des échantillons d'olives

12 échantillons d'olive ont été collectés à partir de chacune des trois parcelles à la même période de fin décembre 2013. La cueillette des échantillons des olives a été effectuée afin de respecter la représentativité des échantillons à l'intérieur de la parcelle. Chaque échantillon d'olive de 1,5 à 2 kg a été cueilli manuellement au stade de maturité, il contient des olives vertes, rougeâtres et noirâtres.

### 2.3. Extraction de l'huile

Chacun des 12 échantillons d'olives a été broyé par un broyeur mécanique. La pâte obtenue est placée dans une centrifugeuse assurant une rotation de l'échantillon de 2000 t/min pour séparer entre la phase contenant le grignon et les margines d'une part et la phase huileuse d'autre part. L'huile obtenue est stockée à une température de 4 °C dans l'obscurité jusqu'au moment de l'analyse chimique ou spectroscopique.

### 2.4. Caractérisation physicochimique

La détermination de l'indice d'acide et l'indice de peroxyde des échantillons d'huile a été effectuée selon les normes du Conseil oléicole international (Codex stan. 33, 1981), l'acidité libre, exprimée en acide oléique (%); l'indice de peroxyde (IP) en (meq O<sub>2</sub>/kg). Les

absorptions en UV ont été déterminées aux longueurs d'onde 232 nm et 270 nm (K232, K270).

## 2.5. Chromatographie en phase gazeuse

Pour déterminer la composition en acides gras des trois variétés, des esters méthyliques correspondant à ces acides ont été préparés dans le n-heptane (0.12g / 2ml), avec une solution de KOH à froid (2M) selon la norme NF EN ISO 5509. Ces esters d'acides ont été analysés selon la norme ISO 5508 à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent Technologies 7890A (GC) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme ( $T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). La colonne utilisée est une colonne capillaire 60m x 0.25mm x 0,25  $\mu\text{m}$  de silice. La pression de l'hydrogène comme gaz vecteur, s'élève à 178 kPa, avec un rapport de 1:70. La température du four était comme suit : 20 min à  $210\text{ }^{\circ}\text{C}$ , de  $210$  à  $245\text{ }^{\circ}\text{C}$  à  $6\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  puis 10 min à  $245\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Toutes les analyses ont été effectuées en triple, et les résultats sont exprimés sous forme de moyenne et d'écart-type.

## 2.6. Méthodes chimiométriques

### 2.6.1. Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP est une méthode multidimensionnelle d'analyse des données qui consiste à transformer des données originales corrélées entre elles en nouvelles variables réduites décorréelées les unes des autres, nommées "composantes principales".

Il s'agit d'une approche à la fois statistique, parce qu'elle permet la recherche de composantes indépendantes afin d'expliquer au mieux la variabilité des données et permet la représentation des données dans un espace géométrique, en fonction des directions d'inertie maximale (Jolliffe T., 1986).

Aucune hypothèse n'est faite concernant des corrélations entre les individus et entre les variables. L'ACP fait une hypothèse simple, mais raisonnable, à savoir, l'information pertinente correspond à la variabilité associée avec les directions de plus grandes dispersions des échantillons. Les composantes principales doivent toutes être orthogonales, pour éviter la redondance d'information.

L'ACP consiste à la décomposition de la matrice des données originales pour obtenir des

scores qui sont des matrices des coordonnées factorielles et loadings qui sont des contributions factorielles (Lebart L. et al., 1997). La visualisation des scores et des loadings constitue la base d'interprétation des résultats obtenus par analyse en composantes principales.

### 2.6.2. Méthode des moindres carrés partiels discriminante (PLS-DA)

En général, les méthodes de discrimination ont comme objectif de mettre en relation une variable qualitative indiquant l'appartenance des objets à des classes et un ensemble de variables quantitatives. Elles sont appelées aussi méthodes d'apprentissage supervisé. La méthode de régression au sens des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA) est une méthode de classification supervisée, qui est maintenant très utilisée dans le domaine de l'agroalimentaire (Hirri A. et al., 2015). La connaissance a priori de l'appartenance des objets aux différentes classes est utilisée pour définir une règle d'affectation.

L'objectif principal de la méthode est de séparer des groupes d'individus d'une manière concrète. Son principe fondamental est basé sur la création de nouvelles variables  $Y$ , formées par les indicateurs des groupes et d'appliquer la régression PLS2 sur ces nouvelles variables. Considérons, un individu appartenant à un groupe  $k$ , donc la ligne  $i$  de la variable  $Y$  est un vecteur dont tous les éléments prennent la valeur de  $0$ , à l'exception de l'élément en position  $k$ , qui prend la valeur de  $1$ . Les composantes discriminantes de la PLS-DA (Massart D. et al., 1998) peuvent être représentées sous forme de cartes factorielles. La qualité du modèle élaboré est influencée directement par le nombre de variables latentes choisies. Ce choix du nombre de variables latentes est choisi en fonction de l'erreur de prédiction du modèle d'étalonnage pré-établi.

Dans un modèle établi avec un faible nombre de dimensions, il y a le risque de donner une erreur résiduelle assez élevée, mais le modèle sera fiable. Par contre, un modèle avec un très grand nombre de dimensions, sera plus précis mais introduira des informations associées à des phénomènes liés au bruit. Un pourcentage de bonne classification par rapport à la mauvaise, peut être calculé, pour évaluer la bonne prédiction de l'appartenance d'un objet à un groupe qualitatif.



### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Caractérisation Physico-chimique

Le tableau 1 ci-dessous représente les résultats de l'acidité, indice de peroxyde et l'absorbance UV à 232 nm et 270 nm.

**Tableau 1:** acidité libre, indice de peroxyde et l'absorbance à K232 et à K270 de l'huile vierge pour les trois cultivars "Hawziya", "Menara" et "Picholine"

Variétés Caractéristiques		Hawziya	Menara	Picholine	COI standards
Acidité libre (% d'acide oléique)	Min-Max	2.22-3.21	1.65-3.00	1.54-2.90	≤ 3.3
	moyenne	2.7892	2.6075	2.1350	
	*E.T	0.3309	0.4587	0.4992	
IP (mill. eq.O <sub>2</sub> /kg)	Min-Max	14.75-19.82	11.00-17.46	14.00-18.90	≤20
	moyenne	17.5858	14.9517	16.5158	
	*E.T	1.4660	2.1873	1.6330	
K <sub>232</sub>	Min-Max	1.90-2.50	2.09-2.44	1.97-2.36	-
	moyenne	2.2850	2.1975	2.2067	
	*E.T	0.1753	0.1037	0.1200	
K <sub>270</sub>	Min-Max	0.22-0.25	0.18-0.25	0.16-0.25	≤ 0.30
	moyenne	0.2408	0.2300	0.1992	
	*E.T	0.0100	0.0200	0.0250	

\* E.T: écart-type

Les résultats montrent que le pourcentage de l'acidité des huiles d'olive étudiées sont comprises entre 2.1350 et 2.7892 ce qui permet de les classer à la catégorie des huiles d'olive vierges courantes tel que défini par les normes internationales. L'huile Hawziya possède un indice d'acide plus élevé que ceux des Menara et Picholine cultivars, sans dépasser les valeurs maximales définies par la norme internationale (Conseil Oléicole International 2015). Ces résultats sont influencés par la maturité des fruits et des variétés d'olivier de différentes origines.

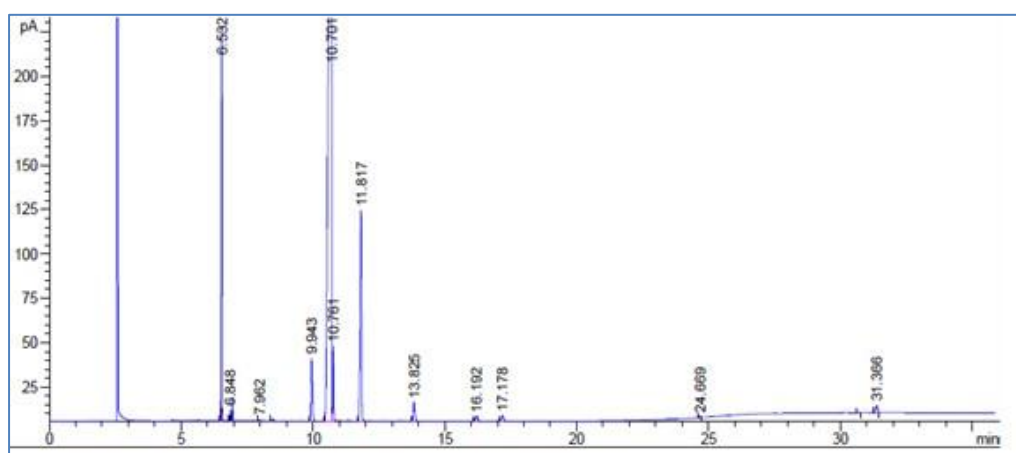
La valeur de l'indice de peroxyde est légèrement supérieure pour Hawziya sans dépasser la limite fixée par la norme internationale (COI). Les valeurs de cet indice varient, pour les trois huiles, entre 14.9517 et 17.5858 milléquivalents d'oxygène par kilogramme d'huile. Certains processus de dégradation des lipides sont évidemment dus aux différents procédés appliqués aux olives, du champ jusqu'à l'huilerie. En effet durant les étapes qui précèdent l'extraction de l'huile (cueillette, stockage des olives, extraction), deux types d'altérations peuvent se produire : l'acidification et le rancissement ; ce qui pourrait être à l'origine de l'augmentation

des indices d'acide et de peroxydes.

Les valeurs de l'absorbance dans l'UV obtenus montrent que celle de la variété Hawziya était significativement plus élevée que celles des deux autres variétés; c'était aussi l'huile la plus insaturée. Cela confirme sa légère oxydabilité. Ces valeurs indiquent que les huiles d'olives étudiés ne contiennent que très peu de produits secondaires d'auto oxydation.

### 3.2. Composition en acide gras (%) (NMISO NMISO 5508 et 5509)

La figure 1 ci-dessous présente un type de 36 chromatogrammes CPG



**Figure 1:** Chromatogramme en phase gazeuse de l'huile d'olive vierge de la "Picholine" cultivar.

Le tableau suivant donne des acides gras que nous avons détectés dans les 36 échantillons analysés.

**Tableau 2:** les acides gras majoritaires des trois variétés.

Nom commun	L'acide palmitique	L'acide stéarique	L'acide oléique	Vaccénique	L'acide linoléique	Acide linoléique	Arachidique	Gondoïque
La sténographie	16:0	18:0	18:1 $\omega$ 9	18:1 $\omega$ 7	18:2 $\omega$ 6	18:3 $\omega$ 3	20:0	20 :1 $\omega$ 9
Le temps de rétention (min)	6.532	9.943	10.701	10.761	11.817	13.825	16.192	17.178

Les chromatogrammes des trois variétés n'ont prouvé aucune différence perceptible pour l'extraction de l'information sur les cultivars.

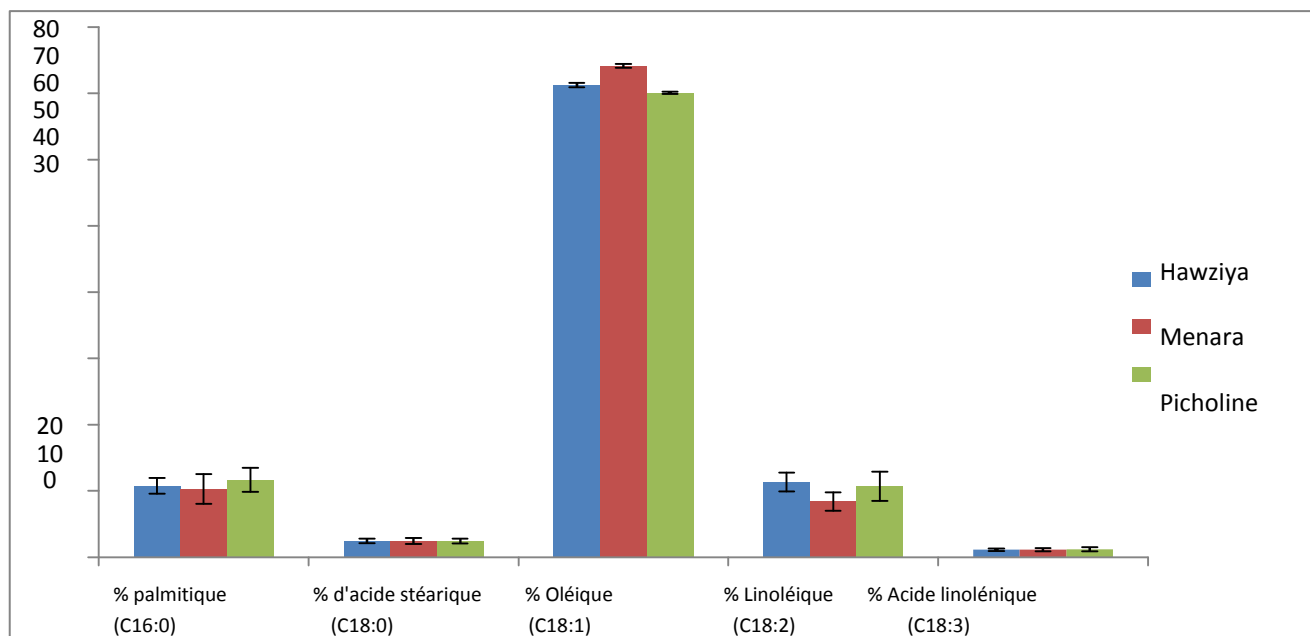
Le tableau 3 présente les résultats de la moyenne et l'écart-type du principal acide gras de chacun des trois cultivars.

**Tableau 3:** la moyenne et l'écart-type du principal acide gras de chacun des trois variétés de l'huile d'olive vierge.

Variété		Hawziya	Menara	Picholine	COI standards
<b>Acide</b> <b>% Myristique</b> <b>(C14:0)</b>	Min-Max	0,02-0,23	0,02-0,24	0,02-0,23	≤0,03
	Moyenn	0,0825	0,0825	0,0883	
	S.D*	0,0784	0,0805	0,0767	
<b>% Palmitique</b> <b>(C16:0)</b>	Min-Max	9-12,38	6,11-13,22	9,64-15,22	7,5 -20,0
	moyenne	<b>10,7716</b>	<b>10,3</b>	<b>11,6733</b>	
	S.D*	1,1889	2,2435	1,8158	
<b>% Palmitoléique</b> <b>(C16:1)</b>	Min-Max	0,66-2,01	0,66-3,98	0,66-3,98	0,3 -3,5
	moyenne	1,065	1,3683	1,5875	
	S.D*	0,5196	1,1821	1,3056	
<b>%Heptadécanoïque</b> <b>(C17:0)</b>	Min-Max	0,04-3,57	0,04-3,87	0,04-3,57	≤0,30
	moyenne	0,7741	0,9108	1,0691	
	S.D*	1,0245	1,3231	1,3296	
<b>% Heptadécénoïque</b> <b>(C17:1)</b>	Min-Max	0,05-0,82	0,05-0,82	0,05-0,82	≤0,30
	moyenne	0,33	0,4241	0,3283	
	S.D*	0,3040	0,2973	0,3056	
<b>% Stéarique (C18:0)</b>	Min-Max	2,06-2,98	1,42-2,98	2,06-2,98	0,5 -5,0
	moyenne	<b>2,465</b>	<b>2,4358</b>	<b>2,4283</b>	
	S.D*	0,3214	0,4386	0,3427	
<b>% Oléique (C18:1)</b>	Min-Max	70,95-71,77	73,77-74,66	69,95-70,46	55,0 -83,0
	moyenne	<b>71,2475</b>	<b>74,1583</b>	<b>70,0733</b>	
	S.D*	0,3133	0,2890	0,1570	
<b>% Linoléique (C18:2)</b>	Min-Max	10,01-14,17	7,09-11,17	8,01-14,17	2,5 -21,0
	moyenne	<b>11,3391</b>	<b>8,415</b>	<b>10,7033</b>	
	S.D*	1,4188	1,3794	2,2224	
	Min-Max	1,01-1,56	0,58-1,56	0,87-1,99	

% Linoléique (C18:3)	moyenne	1,1283	1,12	1,1941	≤1,00
	S.D*	0,1700	0,2473	0,3101	
% Arachidique (C20:0)	Min-Max	0,21-0,6	0,11-0,6	0,21-0,6	≤0,6
	moyenne	0,4116	0,3858	0,4216	
	S.D*	0,1029	0,1354	0,1007	
% Gadoléique (C20:1)	Min-Max	0,21-0,38	0,19-0,39	0,2-0,38	≤0.4
	moyenne	0,3083	0,3008	0,3066	
	S.D*	0,0590	0,0693	0,0663	

\* E.T: écart-type



**Figure 2:** moyenne des principaux acides gras de l'huile d'olive des variétés étudiées

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 3 suivi de la Figure 2. La composition en acides gras des huiles étudiés répond aux normes fixées par le Conseil oléicole international, en fait toutes les trois variétés sont riches en acide oléique (C18 :1ω9), le taux de cet acide dans ces variétés étudiées est de 74 % pour Menara, 71 % pour Hawziya et 70% pour Picholine.

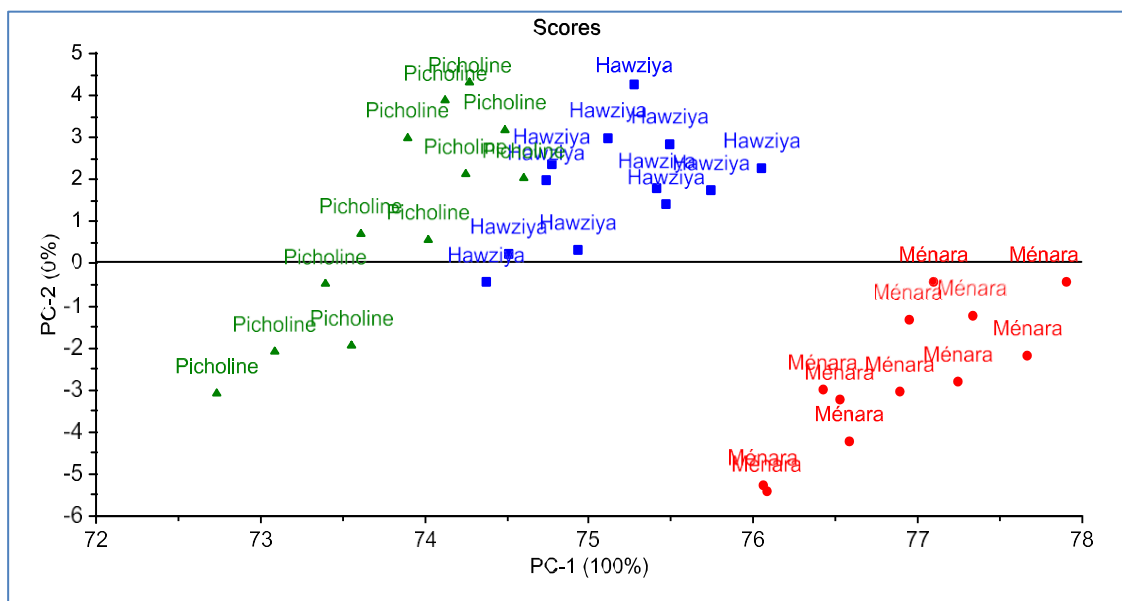
En outre, le pourcentage de l'acide linoléique varie entre 8, 415 % à 11, 3391% pour les trois variétés avec une légère prédominance dans l'huile de la Picholine. Ces pourcentages restent légèrement au-dessus de 1 % de la norme établie par le Conseil oléicole international. Il est

également intéressant de noter que le contenu d'acides gras essentiels (acide linoléique (18 : 2 $\omega$ 6) et l'acide linoléique (18 :3 $\omega$ 3) figurant dans les trois huiles, sont suffisants pour empêcher un état carenciel d'acide gras essentiel chez les personnes utilisant ces huiles comme principale lipide dans leur alimentation. Il convient également de noter que la composition en acides gras obtenus révèle une prédominance des acides gras mono-insaturés de la variété Menara.

### 3.3. Méthodes chimiométriques

#### 3.3.1. Application de L'analyse en composantes principales (ACP)

Après analyse des 36 échantillons d'huile d'olive, les résultats obtenus sont regroupés dans une matrice mathématique, cette dernière est traitée par l'analyse en composantes principales à l'aide du logiciel « The Unscrambler» (figure 3).



**Figure 3:**Plot des scores (PC1 vs PC2) d'analyses ACP des données CPG des huiles.

Le graphe des scores, montre la répartition des échantillons selon les composantes PC1 et PC2, avec un taux d'information allant jusqu'à 100%.

Les échantillons sont répartis en 3 groupes selon la variété :

- \* Groupe de la variété Hawziya;
- \* Groupe de la variété Picholine;

\* Groupe de la variété Menara.

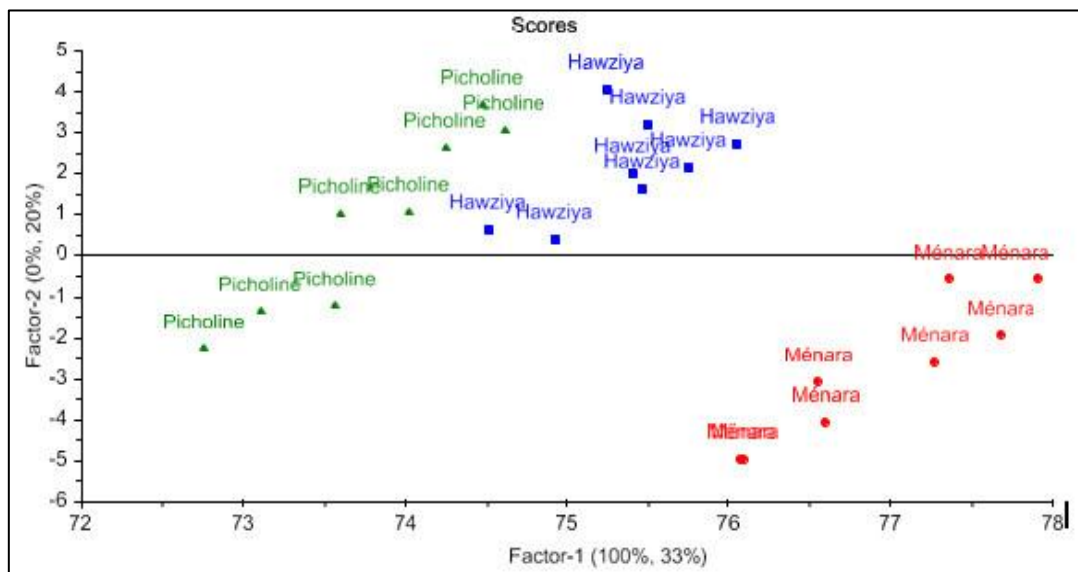
Le rapprochement entre les échantillons de Picholine et Hawziya est probablement dû à des facteurs géographiques et climatiques.

### 3.3.2. Régression des moindres carrés partiels Discriminants (PLS-DA)

#### ➤ Elaboration du modèle PLS-DA

Après exploration des données par application de l'ACP, on procède à une discrimination des groupes, ainsi que la prédiction de la variété des huiles d'olives par application de la régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA).

Le modèle PLS2-DA a été construit en considérant les données CPG comme variables X, alors que les variables Y ont été associées avec les trois classes de variété différentes (une variable y différente pour chaque classe de variété, avec 1 ou 0 selon l'appartenance ou non au groupe de données prises en compte). La figure 4 présente le plot des scores du facteur 1 en fonction du facteur 2 du modèle PLS-DA des échantillons d'huile.



**Figure 4:** PLS-DA plot des scores des échantillons d'huile d'olive de différentes variétés.

Le modèle obtenu était capable de discriminer entre les trois classes de variétés (Hawziya, Menara et Picholine), comme il peut être vu dans le graphique des scores ci-dessus. Ce modèle a fourni une erreur de calibration (RMSEC) et une erreur de validation croisée (RMSEC<sub>v</sub>) les plus faibles et des coefficients de détermination qui sont proches de 1 :  $R^2_c$  est

le coefficient de détermination liée à la calibration et  $R^2_{cv}$  est le coefficient de détermination lié au modèle prédit par validation croisée. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.

**Tableau 4:** Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA

Classes	Paramètres statistiques			
	$R^2_c$		RMSEC	RMSEC <sub>v</sub>
	L'étalonnage	La validation		
<b>Classe 1(Hawziya)</b>	0,768	0,965	0,065	0,073
<b>Classe 2(Picholine)</b>	0,962	0,954	0,098	0,106
<b>Classe 3(Menara)</b>	0,989	0,977	0,059	0,063

D'après le tableau ci-dessus, les valeurs de  $R^2_c$  des trois groupes sont supérieures à 0,95 et celles de **RMSEC** sont inférieures à 0,099. Ainsi que le  $R^2_{cv}$  varie de 0,954 à 0,977 et **RMSEC<sub>v</sub>** varie de 0,063 à 0,106.

Une valeur faible de  $R^2_{cv}$  pour l'ensemble d'apprentissage peut servir comme un indicateur d'une faible capacité prédictive d'un modèle, mais la haute valeur de  $R^2_{cv}$  n'implique pas automatiquement une grande capacité de prédiction du modèle. Un facteur de détermination  $R^2$  élevé est une condition nécessaire pour qu'un modèle ait un haut pouvoir prédictif, mais ce n'est pas suffisant; (Paradkar M. et al., 2003 ; Golbraikh A. et al., 2002). La seule façon d'estimer la véritable puissance prédictive d'un modèle est de le tester sur une collection des échantillons d'un ensemble de tests externes (validation externe) (Novellino E. et al., 1995).

➤ **Validation externe : Prédiction d'appartenance de nouveaux échantillons.**

La validation externe est une façon sûre de vérifier la robustesse du modèle préétabli. Cette démarche consiste à tester le modèle de calibration avec une collection des échantillons à partir d'un ensemble de tests externes.

La validation externe est la technique la plus robuste pour s'assurer du pouvoir prédictif des modèles. Les résultats d'application de la validation externe sur les données CPG, de **12** nouveaux échantillons d'huile d'olive sont donnés dans les tableaux 5.

**Tableau 5:** Classification de nouveaux échantillons d'huile (validation externe).

Échantillons	Classe 1:Hawzia		Classe 2:Picholine		Classe 3:Menara	
	Y-pred	Y-Ref	Y-pred	Y-Ref	Y-pred	Y-Ref
<b>H09</b>	<b>1.023</b>	<b>1</b>	0,101	0	0.096	0
<b>H10</b>	<b>0,738</b>	<b>1</b>	0,054	0	-0.054	0
<b>H11</b>	<b>0,941</b>	<b>1</b>	0,061	0	-0.067	0
<b>H12</b>	<b>0.721</b>	<b>1</b>	0,021	0	0,017	0
<b>M09</b>	0,133	0	-0.028	0	<b>0.934</b>	<b>1</b>
<b>M10</b>	-0,09	0	-0.157	0	<b>0,863</b>	<b>1</b>
<b>M11</b>	-0.109	0	0,199	0	<b>0.927</b>	<b>1</b>
<b>M12</b>	-0.062	0	0,127	0	<b>1,017</b>	<b>1</b>
<b>P09</b>	0,202	0	<b>0.871</b>	<b>1</b>	0,069	0
<b>P10</b>	0,048	0	<b>0,922</b>	<b>1</b>	0,042	0
<b>P11</b>	0,023	0	<b>1.003</b>	<b>1</b>	-0.065	0
<b>P12</b>	0,094	0	<b>0,953</b>	<b>1</b>	0,001	0

Dans cette étape, un échantillon est considéré appartenant à une classe lorsque la variable **Y** fixée pour chaque classe est comprise entre 0,5 et 1,5.

Le tableau 5 montre que les échantillons de validation H01, H10, H11 et H12 étaient de la variété Hawziya, les échantillons M09, M10, M11 et M12 étaient de la variété Menara, les échantillons P09, P10, P11 et P12 étaient de la variété Picholine. Cela signifie qu'une classification correcte de 100% a été atteinte, c.à.d. que tous les chromatogrammes de l'huile d'olive de l'ensemble de validation ont été correctement adaptés aux trois classes correspondantes. Les valeurs prédites par le modèle PLS2-DA ont toujours été très proches de 1. Ces résultats confirment que la capacité prédictive du modèle PLS2-DA développé était très bonne. Par conséquent, on conclut que la CPG associée à l'application de la PLS2-DA peut être utilisée comme une nouvelle méthode pour discriminer la variété des huiles d'olive vierges.



## 4. Conclusion

D'après les résultats signalés, il peut être conclu que les données chromatographiques CPG couplées à la chimiométrie, à savoir l'analyse en composantes principales ACP et l'analyse de régression des moindres carrés partiels PLS-DA, a été appropriée comme une technique puissante qui peut être utile dans la qualification indirecte des différents cultivars. L'analyse discriminante permet la classification de HOV fabriqués à partir de Hawziya, Menara, Picholine cultivars utilisant leurs chromatogrammes. Les valeurs élevées de  $R^2$  et faibles valeurs de RMSECV et RMSEC ont été obtenues pour tous les paramètres analytiques étudiés. Cette étude démontre le grand potentiel de l'application des outils chimiométriques couplées à la chromatographie en phase gazeuse pour la classification correcte de quelques aliments.

## *PARTIE II*

# *CHAPITRE I : LA LITHIASE URINAIRE*

## 1. Introduction

Dès l'aube de l'humanité, la présence de calculs rénaux est attestée. Le premier calcul urinaire a été découvert chez un garçon de 15-16 ans dont les restes datant de près de 7000 ans ont été exhumés du cimetière d'El-Amrah, en haute Égypte. De nos jours, la lithiase urinaire, ou " maladie de la pierre " (« lithos » signifiant en grec « pierre ») est une affection très répandue qui touche 4 à 18% de la population selon les pays. En progression dans tous les pays industrialisés, sa fréquence a presque doublé depuis un demi-siècle. Cette pathologie s'accompagne parfois de douleurs extrêmement violentes, les coliques néphrétiques, provoquées par l'augmentation de la pression des urines dans le rein suite à l'obstruction de l'uretère par le calcul. En cas d'absence d'évacuation naturelle du calcul, différents types d'interventions médicales peuvent être proposés pour libérer les voies urinaires : lithotritie extracorporelle par ondes de choc, urétéroscopie, chirurgie percutanée, chirurgie laparoscopique, chirurgie ouverte, voire néphrectomie lorsque le rein a été détruit par infection en amont de l'obstacle lithiasique. La lithiase étant une pathologie récidivante dans presque un cas sur deux, il convient de poser un diagnostic étiologique de manière systématique (Daudon M. et al., 2012). Celui-ci s'établit notamment sur la base d'une relation entre la nature physico-chimique du calcul et la pathologie (Daudon M. et al., 1993). Déterminer la nature physicochimique du calcul passe par une description concise de sa morphologie à l'échelle macroscopique couplée à la mise en œuvre de la spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. Une première difficulté émerge alors en raison d'une part de la nature multiphasique de ces échantillons biologiques et d'autre part de la diversité des phases chimiques présentes puisque plus de 100 constituants ont été identifiés à ce jour dans les calculs urinaires (Bazin D. et al., 2012). Les composés chimiques associés à la prévalence la plus grande sont les oxalates de calcium (mono ou dihydraté), les acides uriques (anhydre ou dihydraté), les phosphates calciques (apatites, brushite) et la struvite, ou encore la cystine. Chacun de ces constituants peut présenter différentes morphologies et couleurs qui peuvent être rattachées à des environnements biochimiques particuliers (Daudon M. et al., 2012; Daudon M. et al., 1993), voire à des causes spécifiques (Ceballos-Picot I. et al., 1992). Dans certains cas, la nature chimique particulière des calculs signe une étiologie très spécifique (Ceballos-Picot I. et al., 1992; Daudon M. et al., 1997). Dans d'autres cas, malgré une composition chimique et cristalline banale, la morphologie du calcul oriente vers des pathologies ou des causes très particulières (Daudon M. et al., 1985 ; Daudon M. et al., 2008),

d'où l'importance clinique de pratiquer une analyse morpho-constitutionnelle des calculs.

En effet, de nombreux travaux de la littérature physicochimique et médicale soulignent cette propriété catalytique et il nous a paru important de l'aborder. Ce type de mesures permet aussi de proposer la fluorescence X comme outil de diagnostic en soulignant éventuellement la présence de substances néphrotoxiques (Hg, Cd, Pb, ...). Enfin, pour les lithiases qui présentent une résistance vis-à-vis de la lithotripsie extracorporelle (LEC) comme la cystine, l'oxalate de calcium type Id et la brushite, les auteurs ont évalué l'efficacité de certaines plantes utilisées en médecine traditionnelle. Cette alternative serait particulièrement intéressante pour des populations ayant un accès difficile aux soins hospitaliers.

## 2. Quelques généralités sur la lithiase urinaire

Les calculs urinaires (Jungers P. et al., 1989; Daudon M. et al., 1993; Conort P. et al., 2004; F.L. Coe et al., 1992 ; Allison S.J. et al., 2013) sont des calcifications pathologiques, celles-ci se définissant comme toutes formes de dépôts minéraux anormaux, calciques ou non, dans un tissu, un organe ou sur un dispositif médical (Krasovskaya S.M. et al., 1991 ; Giachelli C.M. 1999 ; Poggi S.H. et al., 2001 ; Bonucci E. 2007; Bauerlein E. et al., 2007 ; Bazin D. et al., 2012; Schoen F.J. et al., 2013). D'un point de vue médical, au moins trois familles de calcifications pathologiques existent. Une première se réfère aux calculs, qui se définissent comme des concrétions solides formées dans une cavité ou un canal excréteur (calculs rénaux, biliaires, salivaires, vésicaux...). Une deuxième s'associe aux calcifications tissulaires ou ectopiques localisées en dehors des canaux excréteurs (qui peuvent être liées parfois à des pathologies sévères comme les cancers du sein, de la thyroïde, des testicules ou encore de la prostate). Enfin, dans certains cas, des calcifications, au départ physiologiques comme l'os ou la dent, deviennent en partie des calcifications pathologiques suite à une maladie. La lithiase rénale peut être caractérisée soit par des calculs formés dans les voies excrétrices soit par des concrétions initiées à partir de calcifications tissulaires. En effet, les plaques de Randall (Randall A. et al., 1937; Randall A. et al., 1936), qui sont des calcifications tissulaires présentes au sommet de certaines papilles servent de centre nucléateur et sont donc à l'origine de certains calculs. Sur le plan physicochimique (Bazin D. et al., 2012; Daudon M. et al., 2012), les calcifications pathologiques sont des biomatériaux complexes comprenant une partie minérale et une partie organique associées à des éléments traces. L'ensemble exhibe une structure hiérarchique pour la partie minérale dans laquelle des nanocristaux

s'assemblent pour former des microcristallites, l'agglomération de ces derniers constituant la calcification (Currey J.D. et al., 2005; Mann S., 2001; Van Meerssche M. et al., 1973). Les calcifications pathologiques (mais aussi physiologiques) sont issues d'une chimie douce (Livage J. et al., 1988; Livage J. et al., 1992; Livage J. et al., 1994; Livage J. et al., 1997; Sanchez C. et al., 2005; Avnir D. et al., 2006) i.e. leur synthèse s'effectue à température et pression ambiantes pour des valeurs de pH qui s'inscrivent entre 5 et 8. On retrouve donc pour les calcifications pathologiques de nombreuses similitudes avec certaines notions de chimie douce (particules Janus, mise en forme par le tissu à l'échelle mésoscopique, ...). La cinétique et la thermodynamique ont des rôles clés dans la compréhension des processus de biochimie qui conditionnent la pathogenèse de ces calcifications. Ainsi dans le cas des calculs d'oxalate de calcium, la thermodynamique est prédominante lorsque l'on s'intéresse aux hyperoxaluries avec comme phase chimique générée la whewellite ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Au contraire, la thermodynamique s'efface au profit de la cinétique de la réaction dans le cas des hypercalciuries avec cette fois la weddellite ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) comme phase chimique des calculs. Enfin, deux types de processus de nucléation primaire existent dans une urine sursaturée. Si une proportion limitée de calculs se forme suivant un processus de nucléation homogène (i.e. une simple précipitation), on observe de plus en plus leur formation dans le cadre d'un processus de nucléation hétérogène liée notamment à la présence à la surface de l'épithélium papillaire d'une calcification appelée plaque de Randall (Randall A. et al., 1937; Randall A. et al., 1936). Au milieu du XXe siècle, comme au siècle précédent, la lithiase des populations de faible niveau socioéconomique est fréquente et affecte généralement les enfants avec une très forte prédominance masculine. Les calculs ont surtout une localisation vésicale. Au niveau chimique, on note la prépondérance de l'urate d'ammonium et des phosphates calciques et magnésiens. Ainsi, leur composition rend compte à la fois d'une hygiène précaire et d'une alimentation à base de céréales et de végétaux, souvent pauvre en phosphore et en protéines animales. Avec l'élévation du niveau de vie, les caractéristiques physicochimiques et la localisation des calculs évoluent, l'oxalate de calcium devenant souvent le constituant majoritaire et la localisation des calculs étant rénale. De plus, la lithiase affecte désormais essentiellement les adultes (Daudon M. et al., 2004).

### 3. Epidémiologie de la lithiase urinaire

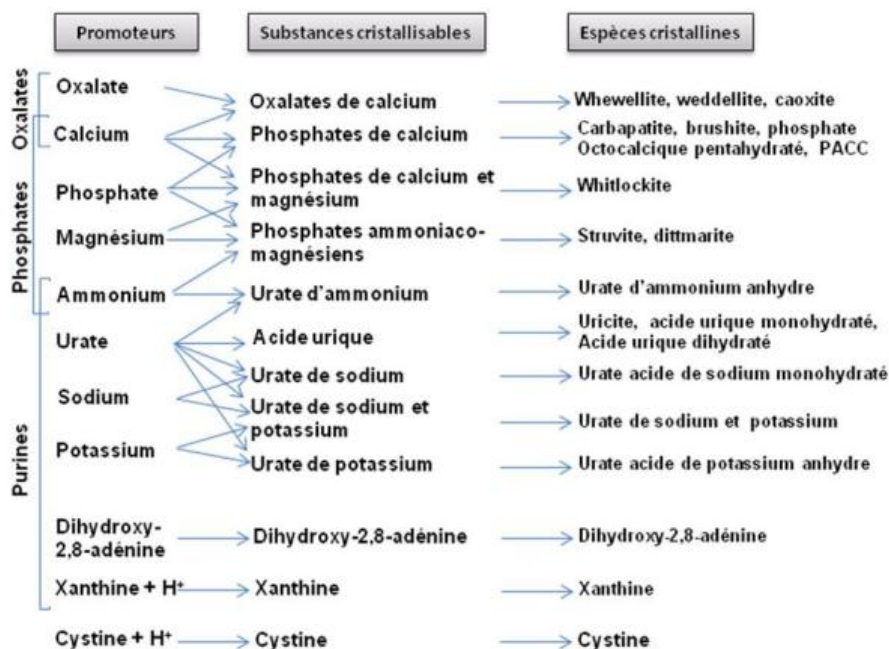
La prévalence annuelle de la lithiase urinaire a presque triplé en quarante ans (Etats Unis,

Europe occidentale) (Johnson C.M. et al., 1979; Robertson W.G. et al., 1980; Tschöpe W. et al., 1981; Vahlensieck E.W. et al., 1982 ; et al., 1979). Ces phénomènes s'expliquent par l'élévation du niveau socio-économique et la modification des habitudes alimentaires (majoration de la proportion de patients obèses, en surpoids ou diabétiques due à des apports plus caloriques et/ou une moindre dépense énergétique). Au cours du 20<sup>ème</sup> siècle, la consommation de sel a été multipliée par 3, celle de protéines par 5 et celle de sucres raffinés par 20. Durant la même période, on assiste à une baisse de la consommation des aliments végétaux riches en fibres et en potassium.

#### 4. La lithogénèse

Nous avons rassemblé sur la figure 1 les principales étapes de la lithogénèse (Daudon M. et al., 2008). Cette figure montre la complexité des processus physicochimiques associés ainsi que différents mécanismes biochimiques mis en action par l'organisme afin d'éviter la formation de calcul : variation du pH urinaire, dilution des urines, complexation de certains ions pour limiter la formation d'espèces moléculaires peu solubles, blocage des sites de croissance cristalline par des ions ou des macromolécules (inhibiteurs), protection de l'épithélium urinaire contre l'adhérence cristalline, etc. De ce fait, les principales causes biochimiques de sursaturation des urines, liées à une concentration excessive de calcium, d'oxalate, d'acide urique ou à une concentration insuffisante de citrate, sont contrebalancées par la présence d'autres substances qui vont exercer des effets sur les cristaux eux-mêmes (inhibition de croissance ou d'agrégation) ou leur interaction potentielle avec l'épithélium.

Il existe normalement, dans les urines, un équilibre entre promoteurs et inhibiteurs de cristallisation (Daudon M. et al., 2008 ; Hennequin C. et al., 1993). Cet équilibre peut être rompu soit par un excès des promoteurs, soit par un déficit des inhibiteurs (Figure 1). Les ions qui participent à la formation des espèces insolubles sont appelés promoteurs de la cristallisation. Au nombre d'une dizaine, les promoteurs de la cristallisation peuvent agir conjointement ou isolément. Le plus souvent, 2 ou 3 composés sont mis en œuvre pour aboutir à la formation de ces espèces moléculaires peu solubles qui peuvent alors précipiter sous différentes formes cristallines. Ces dernières se forment dans des environnements biologiques différents dont elles témoignent, d'où l'intérêt de les prendre en considération pour identifier les facteurs étiologiques d'une maladie lithiasique.



**Figure 1:** Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines

## 5. Les différents types de calculs

L'analyse chimique des calculs a été remplacée par une analyse morpho constitutionnelle fondée sur une description précise à l'échelle macroscopique complétée par une technique de caractérisation par spectroscopie vibrationnelle et plus précisément par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (Daudon M. et al., 1993; Daudon M. et al., 2000; Daudon M. et al., 2000; Quy-Dao N. et al., 1997; Daudon M. et al., 1993). A l'échelle macroscopique, il s'agit de préciser la forme, la taille, l'aspect de la surface, la texture, la forme et l'aspect des cristaux, la couleur, la dureté, l'organisation et les principales caractéristiques de la section et, chaque fois que cela est possible, d'identifier le noyau qui a servi de point de départ à la formation du calcul. La spectrophotométrie infrarouge est devenue la méthode de référence en raison de sa polyvalence, de sa rapidité, de sa mise en œuvre aisée et de sa capacité à identifier simultanément les espèces cristallines et non cristallisées, les composants minéraux et organiques, les espèces métaboliques et médicamenteuses (plus de 70 molécules différentes). En revanche, la spectrophotométrie infrarouge ne peut pas identifier un nouveau corps, non encore décrit dans les calculs, comme un nouveau médicament par exemple, même si elle est capable de le détecter. D'autres techniques d'analyse sont alors nécessaires, comme la diffraction X (Le Bail A. et al., 2009) pour identifier plus précisément la nouvelle substance détectée par l'analyse infrarouge. La spectrophotométrie infrarouge ne permet pas

non plus de mettre en évidence la présence d'éléments traces. Les calculs urinaires peuvent être rassemblés au sein d'une classification comportant 6 types et 21 sous types, qui permet de classer plus de 95% des calculs de l'arbre urinaire :

- Les oxalates de calcium (Khan S.R. et al., 1991; Ryall R.L. et al., 2001; Daudon M. et al., 2008; Daudon M. et al., 2009) constituent la classe I pour la whewellite et la classe II pour la weddellite.
- Les calculs d'acide urique et les urates (Shirley R. et al., 1967; Grases F. et al., 2000; Shekarriz B. et al., 2002; Daudon M. et al., 2005; Bellanato J. et al., 2009) forment la classe III
- Les phosphates calciques et magnésiens, soit carbapatite, struvite, brushite, whitlockite (Klee L.W. et al., 1991; Greischar A. et al., 2003; Carpentier X. et al., 2009; Daudon M. et al., 2010; Williams J.C. et al., 2012 ) sont rassemblés dans la classe IV
- Les calculs de cystine (Classe V) sont liés à la cystinurie. Il s'agit d'une anomalie génétique qui entraîne l'excrétion d'une quantité excessive de cystine par les reins. Ce type de calcul peut survenir dès l'enfance (Barbey F. et al., 2000; Ragone R. et al., 2000; Evan A. P. et al., 2006; Bouzidi H. et al., 2007; Letavernier E. et al., 2012).
- Les calculs constitués de protéines sont rassemblés dans la Classe VI. Notons l'existence de calculs de l'arbre urinaire d'autre nature comme les calculs d'origine médicamenteuse (Zanetta G. et al., 1999 ; Augusti M. et al., 1993; Daudon M. et al., 2004; Fogazzi G. B. et al., 2006; Chutipongtanate S. et al., 2011) ou les calculs constitués de purines rares liées à des maladies génétiques (Bollée G. et al., 2010).

Considérée sous ses différents aspects, la cristallurie apparaît donc comme un phénomène complexe dont la variabilité et les caractéristiques peuvent justifier une étude aux retombées cliniques particulièrement utiles en termes de diagnostic étiologique et de prise en charge des patients.



*CHAPITRE II :*

*ETUDE DE LA*

*CRISTALLURIE CHEZ LES*

*PATIENTS GOITREUX*

## 1. Introduction

La cristallurie est l'expression d'une sursaturation excessive des urines. Elle peut être mise à profit pour dépister certaines pathologies et apprécier les anomalies urinaires lithogènes chez les patients souffrant de lithiase rénale ou susceptibles de développer une lithiase. (Werness P.G. et al., 1981) a bien montré que la nature et l'abondance de la cristallurie étaient différentes dans des pathologies comme l'hyperparathyroïdie primaire avec et sans lithiase, l'hyperoxalurie primaire ou la lithiase calcique idiopathique récidivante. Récemment, l'intérêt clinique de déterminer le volume cristallin a été rapporté dans le suivi des patients cystinuriques pour la détection du risque de récurrence lithiasique (Daudon M. et al., 2003) et il a été montré par ailleurs, pour la lithiase calcique commune, que la fréquence des cristaux dans l'urine du réveil des patients était fortement corrélée au risque de récurrence de la lithiase (Daudon M. et al., 2001; Daudon M. et al., 2005). Malgré cela, l'étude de la cristallurie reste un examen peu utilisé en pratique quotidienne en raison des contraintes et difficultés techniques de sa réalisation. Par ailleurs, la cristallurie n'a pas fait l'objet d'évaluations dans le cadre d'études ciblées sur le risque lithogène de pathologies hormonales comme le diabète, les dysfonctionnements thyroïdiens (goitre) ou l'ostéoporose post-ménopausique.

Le goitre, est une augmentation de volume, souvent visible, de la glande thyroïde. Le goitre est une affection extrêmement fréquente touchant entre 200 et 800 millions de personnes dans le monde. Cette maladie est souvent familiale. Elle est près de quatre fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme.

Le goitre peut être homogène ou hétérogène comprenant un ou plusieurs noyaux. On distingue :

- Les goitres tumoraux qui sont irréguliers ; la tumeur peut être bénigne ou maligne ;
- Les goitres inflammatoires qui se voient au cours des thyroïdites (thyroïdite de Hashimoto...);
- Les goitres vasculaires de l'hyperthyroïdie (maladie de Basedow) ;
- Les goitres avec hypothyroïdie qui sont dus à un trouble de la synthèse des hormones thyroïdiennes ;
- Les goitres simples qui correspondent à une augmentation isolée du volume de la glande, sans tumeur, sans inflammation et sans trouble de la sécrétion thyroïdienne.

Le goitre est connu depuis longtemps comme une maladie de la thyroïde. La carence de

l'organisme humain en iode est en tête des causes du goitre le plus répandu appelé "goitre endémique". Il a été montré que les régions montagneuses subissent le phénomène de déplacement de l'iode vers les plus basses altitudes des sols (Watts et al., 2010 ; Li et al., 2008 ; Gbadebo et al., 2010). Dans le but de remédier à ce problème, l'organisation mondiale de la santé (OMS) recommande l'ajout de l'iode dans le sel (Delange, 2003).

Il est à signaler que cette maladie est plus fréquente chez la femme que chez l'homme. Les deux hormones : parathormone (PTH) et thyrocalcitonine (TCT) jouent un rôle important dans l'homéostasie. Les montagnes sont les plus atteintes par le goitre du calcium et du phosphore dans le sang. Les médicaments, dont la TCT est le principe actif, sont en fait utilisés comme hypocalcémique et hypophosphatémique en augmentant l'excrétion du calcium et du phosphate par l'urine. Le risque d'une sursaturation urinaire en sels de calcium, notamment en phosphates calciques, nous a conduit à réaliser l'étude de la cristallurie chez un groupe de patients hospitalisés atteints de goitre. Il est à noter qu'il y a un manque d'études sur le profil chimique de la cristallurie chez les patients présentant une pathologie endocrinienne, comme le diabète et le goitre. Le but du présent travail est de savoir si les urines des patients goitreux sont plus saturées en sels de calcium, comme les phosphates de calcium, que celles des non goitreux. L'étude de la cristallurie chez les patients goitreux peut jouer un rôle dans le diagnostic du goitre, et ensuite proposer un traitement thérapeutique spécifique.

## 2. Matériel et méthodes

L'étude de la cristallurie a été réalisée, arbitrairement, sur 185 patients goitreux hospitalisés au centre d'endocrinologie de l'hôpital régional de la ville de Béni Mellal (service de la pathologie de la région) dans la période "octobre 2012 à juin 2013". Pour la comparaison, cette étude a été également menée sur 169 adultes non goitreux (âge > 15 ans).

Un pH mètre de marque Pocket pH -110 a été utilisé pour la mesure du pH de l'urine tandis que la cristallurie a été observée moyennant le microscope optique à lumière polarisée Olympus BX41. La cristallurie est considérée positive lorsque la grille de la cellule de Malassez contient au moins un cristal de l'espèce chimique concernée. Les cristaux urinaires ont été identifiés grâce à leurs caractéristiques morphologiques, comportements de la lumière polarisée et le pH des urines les contenant. Parmi les 185 patients goitreux, 180 sont des

femmes. Seules deux femmes parmi les 180 ont un très jeune âge ( $\text{âge} \leq 15$  ans) tandis que tous les patients non goitreux sont âgés de plus de 15 ans.

Trois gammes d'âges ont été choisies pour les deux ensembles: le groupe d'âge jeune ( $15 < \text{âge} \leq 28$  ans), le groupe d'âge moyen ( $28 < \text{âge} \leq 40$  ans), et le groupe d'âge adulte ( $\text{âge} > 40$  ans). Le tableau 1 représente la distribution des patients selon l'âge et le sexe. Pour une question de commodité, les résultats des 87 femmes non goitreuses et des 180 femmes goitreuses ont été comparés.

### 3. Résultats

Les micrographies, par microscopie à lumière optique polarisée (MOLP), de la cristallurie la plus observée (les oxalates de calcium, les acides urique et les phosphates de calcium) sont représentées sur la figure 1. Le tableau 2 illustre la fréquence de la cristallurie selon les trois groupes d'âge chez la femme. Le tableau 3 donne la répartition de cette fréquence selon l'âge, également. Dans le groupe des non goitreux, pour chaque cristallurie mixte, on considère une espèce chimique comme constituant majoritaire. Seulement deux parmi tous les 20 cristalluries positives (tableau 2) sont mixtes. La fréquence de la cristallurie est similaire entre les non goitreuses et les goitreuses (tableau 2). L'évolution de la fréquence de chaque constituant de la cristallurie distribuée selon les trois groupes d'âge est représentée dans le tableau 4 pour les non goitreuses et dans le tableau 5 pour les goitreuses.

**Tableau 1:** Répartition des patients selon le sexe et l'âge

Groupe d'âge (ans)	Patients hommes (nombre)		Patients femmes (nombre)		Total	
	Non goitreux	Goitreux	Non goitreux	Goitreux	Non goitreux	Goitreux
$15 < \text{âge} \leq 28$	45	3	20	49	65	52
$28 < \text{âge} \leq 40$	14	2	27	71	41	73
$40 < \text{âge}$	23	0	40	60	63	60
<b>Global</b>	<b>82</b>	<b>5</b>	<b>87</b>	<b>180</b>	<b>169</b>	<b>185</b>

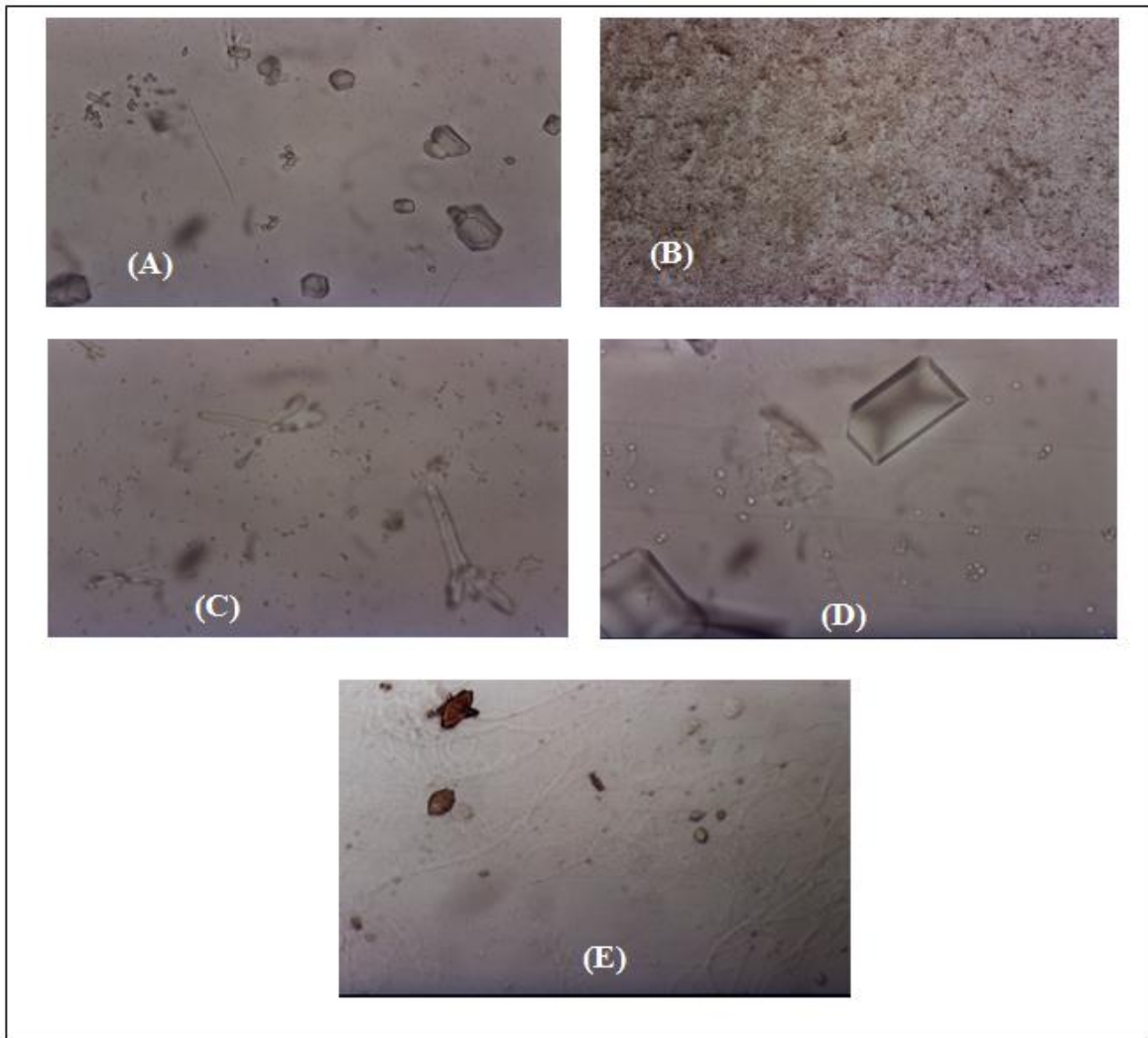
**Tableau 2:** La fréquence de la cristallurie selon le groupe d'âge (non goitreuses : N = 87,

goitreuses :N = 180)

<b>Catégorie</b>	<b>15 &lt; âge ≤ 28</b>	<b>28 &lt; âge ≤ 40</b>	<b>40 &lt; âge</b>	<b>Total</b>
<b>non goitreuses</b>	<b>5</b>	<b>29,6</b>	<b>27,5</b>	<b>23</b>
	<b>(1/20)</b>	<b>(8/27)</b>	<b>(11/40)</b>	<b>(20/87)</b>
<b>Goitreuses</b>	<b>26,5</b>	<b>21,1</b>	<b>30</b>	<b>25,6</b>
	<b>(13/49)</b>	<b>(15/71)</b>	<b>(18/60)</b>	<b>(46/180)</b>

**Tableau 3:** Répartition de la fréquence de la cristallurie selon l'âge, chez les femmes (cristallurie positive chez les non goitreuses : N = 20 et chez les goitreuses : N = 46)

<b>Catégorie</b>		<b>Ages (ans)</b>			<b>Total</b>
		<b>15 &lt; âge ≤ 28</b>	<b>28 &lt; âge ≤ 40</b>	<b>40 &lt; âge</b>	
<b>non goitreuses</b>	<b>(%)</b>	<b>5</b>	<b>40</b>	<b>55</b>	<b>100</b>
	<b>Nombre</b>	<b>(1)</b>	<b>(8)</b>	<b>(11)</b>	<b>(20)</b>
<b>goitreuses</b>	<b>(%)</b>	<b>28,3</b>	<b>32,6</b>	<b>39,1</b>	<b>100</b>
	<b>Nombre</b>	<b>(13)</b>	<b>(15)</b>	<b>(18)</b>	<b>(46)</b>



**Figure 1:** micrographies MOP (X400) de :A : acide urique anhydre, agrégat de l'oxalate de calcium dihydraté (weddellite), et des cristaux d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) ; B : urate amorphe complexe (B); C : cristaux de phosphate d'ammonium et de magnésium (struvite) (forme d'aiguille) et le phosphate amorphe complexe carbonaté (forme de nuage sombre) ; D : deux cristaux de phosphate d'ammonium et de magnésium (forme struvite cercueil) ; E : deux cristaux d'acide urique dihydraté (forme de citron).

**Tableau 4:** Répartition de la fréquence du constituant majoritaire de la cristallurie, selon l'âge chez les femmes non goitreuses (N = 20).

Groupe d'âge (ans)	Cristallurie % (nombre)	Oxalates de Calcium		Acide urique et urates			Phosphates	
		OCM*	OCD*	AUD*	UAAAn*	UAC*	PACC*	PAM*
15 < âge ≤ 28	5	-	-	-	-	100	-	-
	(1)					(1)		
28 < âge ≤ 40	40	-	12,5	12,5	12,5	50	-	12,5
	(8)		(1)	(1)	(1)	(4)		(1)
15 < âge ≤ 40	45	-	11,1	11,1	11,1	55,6	-	11,1
	(9)		(1)	(1)	(1)	(5)		(1)
40 < âge	55	9,1	27,3	27,3	-	27,3	9,1	-
	(11)	(1)	(3)	(3)		(3)	(1)	
Total selon le constituant	100	5	20	20	5	40	5	5
	(20)	(1)	(4)	(4)	(1)	(8)	(1)	(1)
Total selon la classe chimique du constituant		25		65			10	
		(5)		(13)			(2)	

OCM \*: oxalate de calcium monohydraté; OCD \*: oxalate de calcium dihydraté ; UAD \*: acide urique dihydraté; UAAAn \*: acide urique anhydre ; UAC \*: urates amorphes complexes ; PACC \*: Phosphate amorphe complexe carbonaté ; PAM \*: phosphate d'ammonium et de magnésium (struvite).

**Tableau 5:** Répartition de la fréquence du constituant majoritaire de la cristallurie selon l'âge chez les femmes goitreuses (N = 46).

Groupe d'âge (ans)	Cristallurie % (nombre)	Oxalates de calcium		Acide urique et urates		Phosphates de calcium	
		OCM*	OCD*	AUD*	UAC*	PACC*	Brushite*
15 < âge ≤ 28	28,3	7,7	15,4	23,1	30,8	23,1	-
	(13)	(1)	(2)	(3)	(4)	(3)	
28 < âge ≤ 40	32,6	6,7	20	26,7	26,7	20	-
	(15)	(1)	(3)	(4)	(4)	(3)	
15 < âge ≤ 40	60,9	7,1	17,9	25	28,6	21,4	-
	(28)	(2)	(5)	(7)	(8)	(6)	
40 < âge	39,1	16,7	50	11,1	5,6	5,6	11,1
	(18)	(3)	(9)	(2)	(1)	(1)	(2)
Total selon le constituant	100	10,9	30,4	19,6	19,6	15,2	4,3
	(46)	(5)	(14)	(9)	(9)	(7)	(2)
Total selon la classe chimique du constituant		41,3	39,2			19,5	
		(19)	(18)			(9)	

*Brushite\*:* Hydrogénophosphate de calcium dihydraté

## 4. Discussion

L'âge moyen du groupe des goitreuses (35,6 ans) est relativement comparable à celui rapporté par d'autres auteurs (Mahmood et al., 2004 ; Paul et al., 2004). En fait Mahmood et al., ont rapporté l'âge moyen de 29,4 ans pour un groupe goitreux à prédominance féminine tandis que Paul et al, ont cité un âge moyen de 33 ans dans le cas du goitre avancé et de 37,5 ans dans le cas du goitre multinodulaire toxique. Dans le présent travail le quotient global des goitreux femmes/ homme est 36/1 (tableau 1). Cette valeur de rapport confirme que les femmes sont beaucoup plus atteintes de goitre que les hommes. Chez la femme, les œstrogènes peuvent influencer le développement des glandes de la thyroïde et parathyroïde,



en particulier dans le cas du carcinome thyroïdien papillaire qui peut apparaître avant l'âge de la ménopause (Kawabata et al., 2003 ; Arain et al., 2003 ; Golden et al., 2004). Il est à signaler que la grossesse est associée à un risque de goitre endémique élevé (Fadayev et al., 2003 ; Glinier 2011 ; Kung et al., 2002). La phosphaturie est probablement accentuée par l'hormone parathyroïdienne avec un taux d'augmentation de l'adénosine monophosphaté cyclique dans l'urine (Zung et al., 1997 ; De Lellis et al., 2009). Almaden et al. ont suggéré que la haute teneur en phosphates dans l'urine ainsi que le sexe féminin favoriseraient la prolifération des cellules parathyroïdienne.

L'analyse des échantillons urinaires du groupe des goitreuses a montré que le quart (25,6%) des échantillons présente un résultat positif de la cristallurie (tableau 2). Nous observons que le goitre ne fait pas augmenter la fréquence de la cristallurie puisque cette dernière augmente avec l'âge aussi bien chez les non goitreux que chez les goitreuses (tableau 3). Certes, ce résultat confirme le fait que la fréquence de la cristallurie augmente avec l'âge, mais n'explique pas suffisamment le fait que les patients lithiasiques peuvent présenter une fréquence de la cristallurie au-delà du voisinage de l'âge de 40 ans. Dans le présent travail, la majorité des cristalluries observées est pure puisque la cristallurie mixte ne représente que moins d'un cinquième, et ce aussi bien pour les patientes goitreuses que les non goitreuses. La lithogénèse du calcul urinaire, constitué d'une seule espèce chimique libre aux alentours un premier germe cristallin microscopique de la même espèce chimique. Cependant, le fait qu'un calcul urinaire est constitué de différentes espèces chimiques ne devrait pas signifier que cela est dû à la cristallurie mixte. C'est pour ces considérations, dans les mécanismes complexes de la lithogénèse, que la tendance enregistrée de l'homogénéité de la cristallurie peut être inversée dans le cas des calculs urinaires. Dans le présent travail, chez les femmes non goitreuses dont l'âge ne dépasse pas 40 ans, le complexe l'urate amorphe (AUC) est le constituant majoritaire qui domine avec une fréquence de 55,6%. Cette domination est atténuée après cet âge car elle est assez compensée par l'acide urique anhydre (AUAn: 27,3%) par l'oxalate de calcium dihydraté (OCD:27,3%) (tableau4). Chez les femmes goitreuses, le constituant majoritaire avant l'âge de 40 ans est également l'UAC (28,6%) (tableau 5). Ce dernier est majoritaire aussi à l'âge en dessous de 28 ans (30,8%) alors que l'AUC et le PACC viennent en deuxième position avec une fréquence de 23,1%. Contrairement à ce dernier résultat, les femmes non goitreuses, dont l'âge est en dessous de 28 ans, présentent une absence des constituants sauf l'UAC (100%).

En effet, chez les femmes goitreuses ayant l'âge ne dépassant pas 40 ans (tableau 5),

seulement un quart de la cristallurie présente une nature oxalocalcique : OCD (17,9%) et OCM (7,1%). Par ailleurs, le PACC (espèce chimique phosphatée) qui est en deuxième position (21,4%) chez les femmes goitreuses reste absent chez les femmes non goitreuses (0%). Ceci peut être expliqué par le fait que la nature chimique de la cristallurie, chez les patientes goitreuses avant la ménopause, a tendance à avoir un caractère chimique urique phosphatique. Dans le tableau 5, le caractère urique est exprimé en termes d'UAC et AUD tandis que le phosphaté est lié au PACC. Au-delà de l'âge de 40 ans chez les patientes goitreuses (tableau 5), l'OCD est majoritaire suivie par l'OCM. Cependant, dans le cas des non goitreuses (tableau 4), la domination est partagée équitablement entre les trois espèces chimiques UAC, OCD et AUD. Donc, contrairement au résultat du groupe des femmes non goitreuses, le caractère oxalo-calcique de la cristallurie (OCD et OCM) n'apparaît significativement qu'après la ménopause chez les patientes goitreuses. Nous pouvons déduire des deux Tableaux 4 et 5 que, globalement, les cristaux d'OCM sont plus fréquents dans l'urine des goitreuses que dans celle des non goitreuses.

Par ailleurs, un travail, réalisé par notre équipe de recherche dans la même région géographique, a relié la fréquence relativement élevée de l'oxalate de calcium monohydraté (OCM) aux habitudes alimentaires des populations (Oussama et al., 2000). Ces résultats montrent la corrélation "cristallurie-calcul" (Kaid-Omar et al., 1999) en termes de composition chimique, et provient, particulièrement, de la transformation de l'oxalate de calcium dihydraté (OCD) à sa forme monohydratée (OCM) lors du passage de la cristallurie au calcul urinaire. En outre, les populations de la région ont certaines mauvaises habitudes alimentaires, en particulier, la consommation excessive des protéines animales et du sucre (Mbarki et al., 2006). De telles habitudes entraînent des prédispositions anormales, métaboliques, héréditaires et congénitales, de l'organisme pour développer la lithiase urinaire. L'OCD dépend beaucoup plus de calcium que de l'oxalate et le PACC dépend du calcium et du phosphate. Ainsi, suite au présent travail, les fréquences de la cristallurie oxalo-calcique et phosphatée seraient importantes dans le cas des patientes goitreuses, à l'âge de la ménopause (Asch 1978).

En fait, il est connu que la parathormone PTH mène à une phosphaturie par inhibition du Co-transport sodium-phosphore (Blaine et al., 2011). Une étude à l'échelle moléculaire est susceptible de déterminer si le paramètre génétique joue un rôle dans cette tendance de l'excrétion du phosphate dans l'urine de patients présentant un goitre. Des recherches antérieures (Tomer et al, 2009 ; Citterio et al., 2013) ont rapporté l'étiologie de la maladie de

la thyroïde auto-immune et ont mis en évidence l'impact de l'environnement sur les gènes liés aux désordres de la thyroïde, parathyroïde et d'hypothyroïdie. Il est à signaler que d'autres études ont montré que le goitre peut être lié à d'autres maladies telles que la maladie cardiovasculaire (Patene 2012). Alors, on peut comprendre que la glande thyroïde joue un rôle dans la croissance de l'organisme et qu'une partie du calcium et du phosphore, constituants principal d'os, est éliminée dans les urines. D'ailleurs, le métabolisme des phosphates devrait être contrôlé par les protéines dites phosphatonines (Schiavi et al., 2002). Entre l'âge de la puberté et la ménopause, une femme présente un risque du désordre de l'homéostasie du calcium et du phosphore. Ces deux éléments sont essentiels pour la croissance du fœtus chez la femme enceinte.

Dans ce travail, l'âge des deux tiers (120/180) des femmes ne dépasse pas 40 ans. Globalement, nous observons que pour les patientes goitreuses (Tableau 5) les caractères les plus fréquents sont oxalo-calcique (41,3%) et urique-uratique (39,2%) alors que le caractère phosphaté apparaît avec une fréquence de 19,5%. Cependant, le caractère urique uratique domine assez largement (65%) (tableau 4) chez les femmes non goitreuses. Ce constat peut fournir des informations importantes sur l'épidémiologie du goitre. Ces résultats n'ont pas été enregistrés dans un travail précédent effectué par notre équipe, sur un groupe de patients atteints d'une autre pathologie endocrinologique : diabète (Mbarki et al., 2005).

## 5. Conclusion

Comme il a été montré par d'autres auteurs, le présent travail confirme que le goitre dans la région présente aussi une prédominance féminine. La cristallurie, fréquemment homogène chez la femme goitreuse reflète un caractère chimique "urique phosphaté" avant l'âge de la ménopause. Ce caractère diminue après cet âge et devient oxalo-calcique. La diminution de la phosphaturie peut être liée à la réduction des besoins en phosphates en raison de la disparition des métabolismes hormonaux de la femme (en particulier la croissance du fœtus). Ainsi d'autres études de la cristallurie sur les patients goitreux peuvent donner des informations sur l'évolution de la fréquence du constituant chimique. Les analyses cliniques du diagnostic et du traitement des goitres peuvent être accompagnées et confirmées grâce aux fluctuations de la composition de la cristallurie, notamment en espèces de calcium et de phosphate. Les études de la cristallurie des goitres peuvent alors contribuer à comprendre les mécanismes et l'étiologie des goitres et par conséquent, mieux aider les patients goitreux.

*CHAPITRE III :*

*COMPARAISON DE LA  
PERFORMANCE DES  
ALGORITHMES DE DATA  
MINING DANS LA  
CLASSIFICATION DES  
IMAGES DES CALCULS  
URINAIRES HUMAINS  
(WHEWELLITE ET  
WEDDELLITE) EN  
UTILISANT DIFFERENTS  
DESCRIPTEURS*

## 1. Introduction

La lithiase urinaire est une maladie dont la prévalence est la tendance croissante dans le monde (Renard-Penat R. et al.,). Il est l'un des problèmes de santé les plus courants dans le monde. Cette maladie est associée à des facteurs environnementaux (Luigia Giannossi M. et al., 2013). Afin d'optimiser le choix pour le meilleur traitement des calculs urinaires, il est essentiel de prévoir la composition de la pierre avant le traitement. (Grosjean R. et al., 2013). La plupart des études ont montré que l'oxalate de calcium est le constituant le plus majoritaire des calculs cristallisés dans les urines humaines (Laziri F. et al., 2010) . Ainsi, le traitement de cette maladie repose essentiellement en connaissant son profil chimique. En fait, au niveau clinique, la détermination de la composition des calculs urinaires est très importante dans l'évaluation préopératoire, le traitement, ainsi que la prévention de la récurrence des calculs (Jepperson M. A. et al., 2013).

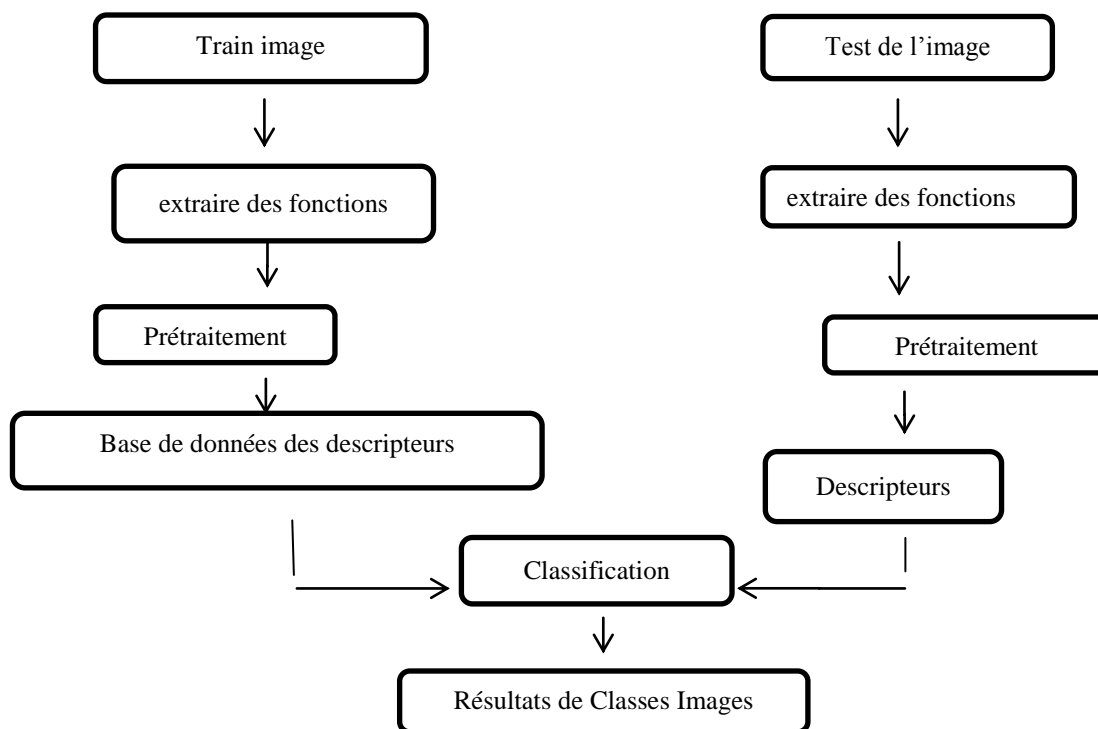
De nombreuses techniques sont utilisées afin d'analyser un calcul urinaire: analyse chimique, la microscopie électronique, diffraction des rayons X, la microscopie stéréoscopique (SM) et de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).

Ces techniques ont été appliquées à de nombreux cas cliniques. Cependant les essais étudiés ont montré que ces techniques donnent des informations insuffisantes (Gràcia-Garcia S. et al., 2011).

La plupart des études antérieures ont utilisé des bases de données de spectroscopie infrarouge couplée à des méthodes chimiométriques pour déterminer la composition chimique des calculs urinaires et de les classer en utilisant les réseaux de neurones artificiels ANN (Kuzmanovski I. et al., 2003), la classification des calculs urinaires par l'analyse par grappes des données de composition ionique (Abdel-Halim R. E. et al., 1999). La classification en fonction de leur profil chimique, calculs oxalo-calcium sont les plus fréquentes (70%), ceux d'acide urique (15 à 20%), phosphatés (10%) et les calculs de cystine qui sont rares (1%). Globalement, les types les plus communs de calculs sont l'oxalate de calcium (monohydrate ou dihydrate), phosphate de calcium (brushite ou apatite), et de l'acide urique (UA), avec une prévalence approximative de 70, 20 et 8%, respectivement (Saita A et al., 2007). Les résultats des études précédentes ont montré que l'analyse des calculs urinaires basée sur la composition chimique ne présente qu'une pertinence clinique limitée; parce qu'il ne peut pas discriminer entre ces différentes formes cristallines, qui comprennent différents facteurs pathogènes (Daudon M., et al., 2007; Pak C. Y. C. et al., 2003). L'examen de calcul morphologie donne

des informations supplémentaires, qui peuvent différer entre les calculs qui présentent la composition cristalline (Pak C. Y. C. et al., 2003; Daudon M. et al., 1998) chimique et similaire. Il est important de déterminer non seulement la composition chimique des calculs urinaires, mais aussi sa morphologie (Daudon M. et al., 2007; M. et al., 2012 ; Daudon M. et al., 1993 ). Dans le présent travail, différents algorithmes de classification couplée à Gist, Centriste, descripteur et moments Zernike ont été appliqués pour classer les 50 images de calculs rénaux fournies par la société Louis Herring. Dans la classification par ordinateur. De nombreuses approches ont été proposées pour résoudre ce problème. Nous étudions les performances de trois descripteurs. Parmi eux, le premier descripteur Gist a été initialement proposé par Oliva et Torralba en 2001 (Oliva A. et al., 2001). L'idée est de développer une faible représentation tridimensionnelle de la scène qui ne nécessite aucune forme de segmentation. Le deuxième est le descripteur Centriste qui est un descripteur visuel pour la reconnaissance des lieux topologiques ou des catégories de scènes proposées par (Wu et Rehg) (Wu, J. et al., 2011) pour les lieux topologiques ou scène qui est basée sur le recensement de transformer et de coder les signes de pixels vision après comparaison. Troisièmement, des moments de Zernike qui ont été introduits par F. Zernike en 1934 (Saaidia M. et al., 2007), sont invariants par rotation, ce qui les rend appropriés pour de nombreuses applications. Ils sont des descripteurs précis, même avec relativement peu de points de données. La reconstruction des moments de Zernike peut être utilisée pour déterminer des moments nécessaires pour rendre un descripteur précis. Cependant une des études récentes a utilisé un des descripteurs hybrides basé sur la combinaison des différents descripteurs (Naji D. et al., 2013 ; Naji D. et al., 2013). Pour atteindre cet objectif, nous avons utilisé le modèle du système de reconnaissance (PR). Ce système se compose de quatre étapes principales:

- 1- Capteur (acquisition d'images),
- 2- Prétraitement (Supprimer le bruit de l'information recueillie et Apportez des données dans un format normalisé),
- 3- Extraire les fonctions (Calculer des informations numériques ou symboliques à partir des données collectées "brutes" et Sélection des Caractéristiques a un grand impact sur le succès d'un système de PR (Gist, Centriste descripteurs et Zernike moments)),
- 4- Classification (étape de reconnaissance principale, l'apprentissage machine à système supervisée ou sans supervision (ANN, K-NN, PLS-DA et SVM)) (voir figure 1).



**Figure 1:** Diagramme montrant la technique proposée (ANN, K-NN, PLS-DA et SVM)

## 2. Classification des algorithmes

### 2.1. Algorithme Réseaux de neurones

Les Réseaux de neurones (ANN) sont appliqués dans diverses disciplines telles que l'économie, l'écologie, l'environnement, la biologie et la médecine. Ils ont été utilisés avec succès pour la classification, la prédiction, et d'association dans différents domaines (Paliwal, M., et al., 2009). Ces réseaux sont étudiés, en particulier, pour résoudre les problèmes de classification et de prédiction (Cissé Y. et al., 2000 ; Chow TWS et al., 1997 ; Faraway J. et al., 1998). L'algorithme ANN améliore le diagnostic de la science médicale de prendre des décisions de soutien dans le cancer (Paulo J. et al., 2006). Et en élucidant le contexte clinique de lymphopénie (Ljiljana Majnaric et al., 2012). Les ANNs ont été utilisés pour prédire l'infection des voies urinaires en utilisant cinq ensembles de variables (Heckerling P. S. et al., 2007) et de gérer le système de soutien pour diagnostiquer les maladies cardiovasculaires à partir de puces aptamer (Eom J.H. et al., 2009).

## 2.2. Algorithme SVM

Les Support Vecteur Machine (SVM) algorithme (Cortes C. et al., 1995) est probablement l'algorithme d'apprentissage du noyau le plus largement utilisé. Les classificateurs SVM sont principalement connus pour leurs fonctions du noyau et hyperplan, qui agit comme une limite de décision. Hyperplan est orienté perpendiculairement à la ligne séparant deux plus proches points de données sur chacun de ses côtés et se trouve au milieu le long de la ligne de telle sorte que la largeur maximale de la marge est atteinte (V. Kecman V. et al., 2001). Il réalise des performances de reconnaissance de formes relativement robuste utilisant des concepts bien établis dans la théorie de l'optimisation.

## 2.3. Algorithme KNN

(K-NN) est un algorithme d'apprentissage où les vecteurs d'entités d'apprentissage prédisent la classe proche d'une donnée de test inconnu. Dans k-NN, la sortie est déterminée par l'étiquette des k points de données les plus proches dans l'espace de caractéristiques. La classification des données d'essai est basée sur le vote majoritaire de ses voisins (échantillons de formation). Ainsi, on attribue aux données d'essai le label de classe des échantillons de formation qui l'entoure en vrac (Mitchell T. et al., 1997).

## 2.4. PLS-DA algorithme

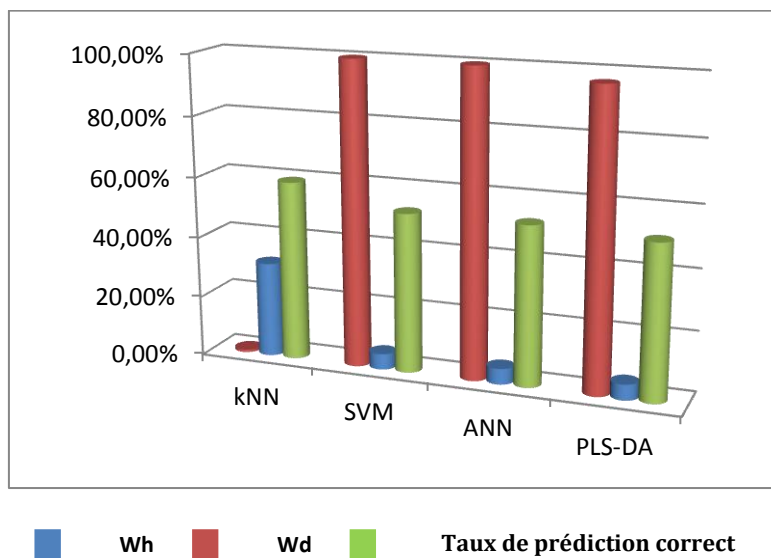
PLS-DA basée sur un modèle de régression PLS qui peut être considéré comme une évolution de l'algorithme non-linéaire itérative des moindres carrés partiels (NIPALS) (Brereton R. G. et al. 2009), avec DA représente l'analyse discriminante. L'algorithme PLS-DA a de nombreuses propriétés avantageuses pour le traitement des données multivariées.



### 3. Résultats

**Tableau 1:** Le taux de prédiction correct à l'aide des moments de Zernike

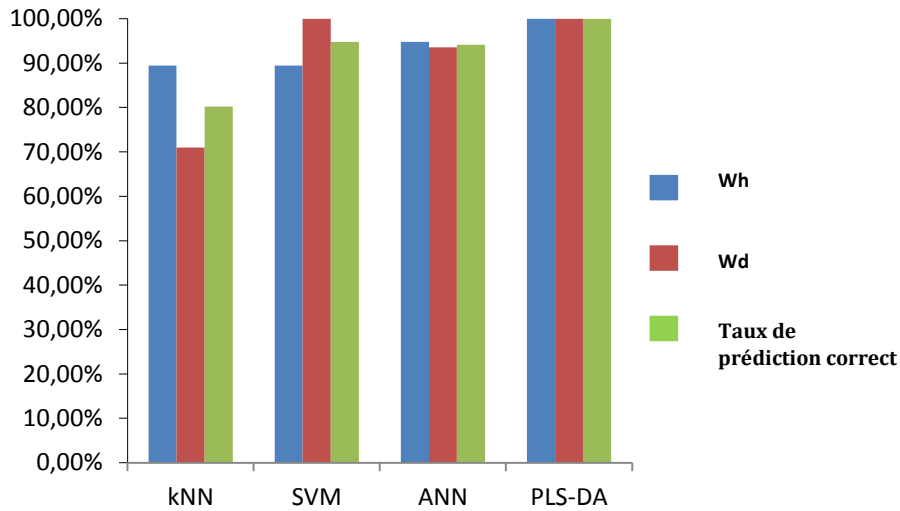
Algorithmes	Wh	Wd	Taux de prédiction correct
kNN	31,58%	0,87%	59,34%
SVM	5,26%	100%	52,63%
ANN	5,26%	100%	52,63%
PLS-DA	5,26%	96,77%	51,02%



**Figure 2:** Taux de prédiction correct en utilisant le descripteur de Zernike

**Tableau 2:** Taux de prédiction correct en utilisant le descripteur Gist

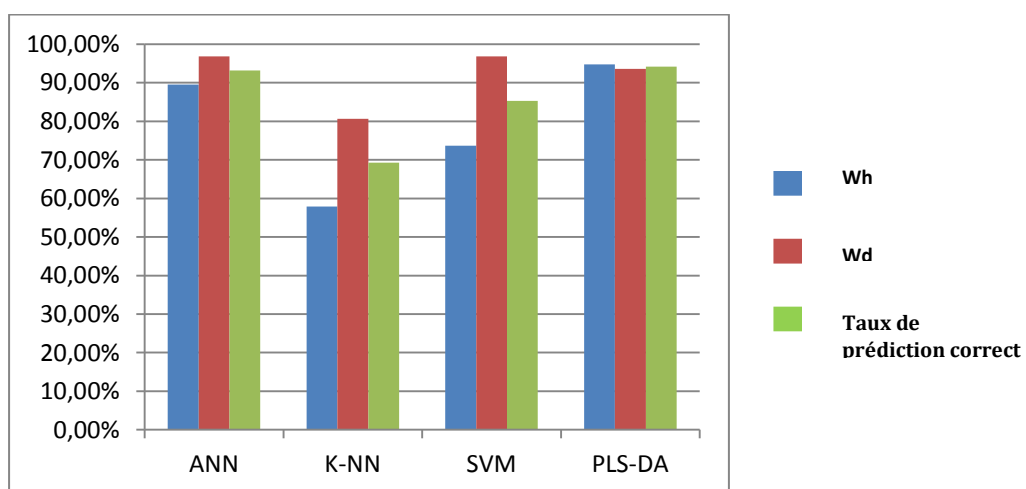
Algorithmes	Wh	Wd	Taux de prédiction correct
Knn	89,47%	70,97%	80,22%
SVM	89,47%	100%	94,74%
ANN	94,74%	93,55%	94,15%
PLS-DA	100%	100%	100%



**Figure 3:** Taux de prédiction correct en utilisant le descripteur de Gist

**Tableau 3:** Taux de prédiction correct à l'aide du descripteur Centrist

Algorithme	Wh	wd	Taux de prédiction correct
ANN	89,47%	96,77%	93,12%
K-NN	57,89%	80,65%	69,27%
SVM	73,68%	96,77%	85,23%
PLS-DA	94,74%	93,55%	94,15%



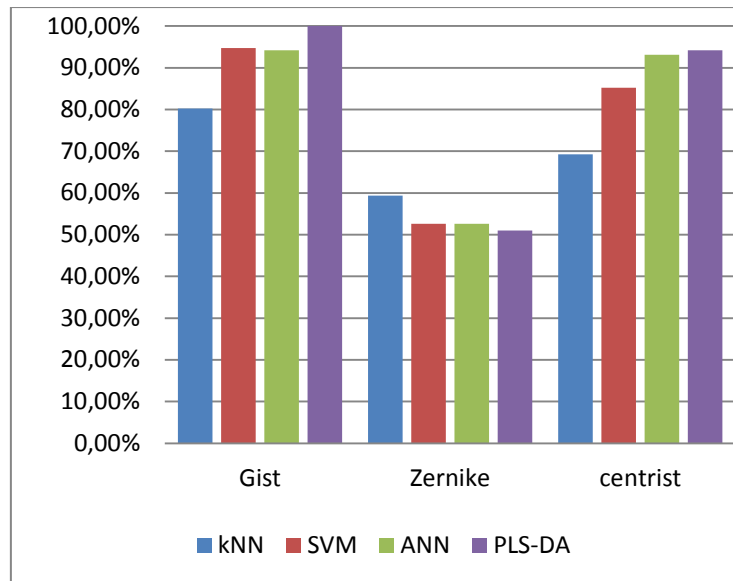
**Figure 4:** Taux de prédiction correct à l'aide du descripteur Centrist

**Tableau 4:** La matrice de confusion

		Zernike			Gist			Centrist		
		Wh	Wd	tot	Wh	Wd	tot	Wh	Wd	tot
KNN	Wh	6	13	<b>19</b>	17	2	<b>19</b>	11	8	<b>19</b>
	Wd	4	27	<b>31</b>	9	22	<b>31</b>	6	25	<b>31</b>
	tot	<b>10</b>	<b>40</b>	<b>50</b>	<b>26</b>	<b>24</b>	<b>50</b>	17	33	<b>50</b>
SVM	Wh	1	18	<b>19</b>	17	2	<b>19</b>	14	5	<b>19</b>
	Wd	0	31	<b>31</b>	0	31	<b>31</b>	1	30	<b>31</b>
	tot	<b>1</b>	<b>49</b>	<b>50</b>	<b>17</b>	<b>33</b>	<b>50</b>	15	35	<b>50</b>
ANN	Wh	1	18	<b>19</b>	18	1	<b>19</b>	17	2	<b>19</b>
	Wd	0	31	<b>31</b>	2	29	<b>31</b>	1	30	<b>31</b>
	tot	<b>1</b>	<b>49</b>	<b>50</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>50</b>	18	32	<b>50</b>
PLS-DA	Wh	1	18	<b>19</b>	19	0	<b>19</b>	18	1	<b>19</b>
	Wd	1	30	<b>31</b>	0	31	<b>31</b>	2	29	<b>31</b>
	tot	<b>2</b>	<b>48</b>	<b>50</b>	<b>19</b>	<b>31</b>	<b>50</b>	20	30	<b>50</b>

**Tableau 5:** Comparaison du taux de prédiction correct à l'aide de Zernike, Gist et Centrist

Algorithme	Gist	Zernike	Centrist
<b>KNN</b>	<b>80,22%</b>	<b>59,34%</b>	<b>69,27%</b>
<b>SVM</b>	<b>94,74%</b>	<b>52,63%</b>	<b>85,23%</b>
<b>ANN</b>	<b>94,15%</b>	<b>52,63%</b>	<b>93,12%</b>
<b>PLS-DA</b>	<b>100%</b>	<b>51,02%</b>	<b>94,15%</b>



**Figure 5:** Comparaison des taux de prédiction correct à l'aide de Zernike, Gist et Centrist

#### 4. Discussion

Une étude comparative, sur la base de trois descripteurs, a été présentée, afin de mesurer la performance et la précision des différents modèles des algorithmes de classification appliqués aux classes des deux des images de couleur qui correspondent aux calculs urinaires de whewellite et weddellite. L'objectif était de construire un ensemble de modèles qui peuvent correctement prévoir la classe des objets différents. Dans le présent travail, les résultats de la précision de classification obtenus par chacun des algorithmes bien connus comparés par rapport à la mise en œuvre dans la classification des calculs urinaires de motifs différents. Différentes méthodes de l'apprentissage statistique et de la machine de classification ont été appliquées pour classer ces images des calculs urinaires. Les vecteurs de caractéristiques sont calculés en utilisant le descripteur Gist, Zernike- et descripteur Centriste. Les algorithmes d'exploration de données (SVM, ANN, KNN, et PLS-DA) sont utilisés pour le processus de reconnaissance afin de prédire et de classer la couleur de l'image des calculs urinaires. Les modèles ont été comparés en fonction de leur précision de la classification en ce qui concerne le taux de prédiction moyen correct en utilisant la validation présentée dans le tableau 4. Une matrice de confusion est obtenue, chaque colonne de la matrice représente les instances d'une classe prédite, tandis que chaque ligne représente les instances dans une classe réelle. En utilisant une matrice de confusion, il est facile de voir si le système confond deux classes de

calculs urinaires.

Le tableau 1 montre la performance prédictive de l'algorithme, KNN, SVM, ANN et PLS-DA qui atteint 59,34%, 52,63%, 52,63%, 51,02%. Respectivement en utilisant des moments Zernike Le taux exact de prédiction de KNN, SVM, ANN et PLS-DA a atteint 93,12%, 69,27%, 85,23%, 94,15%, respectivement en utilisant le descripteur Centriste (voir figure 4 et le tableau 3). En revanche en utilisant le descripteur Gist le taux de prédiction correct atteint 80,22%, 94,74%, 94,15% et 100% en utilisant respectivement des modèles ANN, SVM, KNN et PLS-DA (voir la figure 3. et tableau 2). Le descripteur Gist a donné le meilleur taux de prédiction correct basée sur les résultats de validation (voir la figure 5. et le tableau 5), puis la classification a été effectuée avec les classificateurs SVM, KNN, ANN et PLS-DA. Le descripteur Gist, en particulier, a abouti à une bonne séparation des classes, nous avons atteint une précision de la classification de 100% en utilisant l'algorithme PLS-DA. La performance de l'algorithme proposé est également mesurée en comparant les taux de différents algorithmes de classification d'erreur. Ces algorithmes ont été comparés à faire ressortir le meilleur et le plus efficace algorithme approprié pour cet ensemble de données. Il convient de noter que l'algorithme PLS-DA a obtenu la meilleure précision de la classification en moyenne sur tous les ensembles de données couplés au descripteur GIST.

## 5. Conclusion

Nous présentons une étude comparative des différents algorithmes de classification d'exploration de données couplées au descripteur Gist, centriste et des moments de Zernike sur les données des calculs urinaires les plus fréquentes. Sur la base de la matrice de confusion, les taux d'erreurs ont été analysés et comparés pour différentes données. La classification a été faite au l'algorithme Mining couplé aux descripteurs Gist et Zernike. Les résultats obtenus montrent que l'algorithme PLS-DA, dans tous les sous-ensembles considérés pour la recherche algorithme, a produit des taux d'erreurs faibles par rapport à tous les autres algorithmes couplés au descripteur GIST avec une précision moyenne supérieure. Les résultats obtenus à partir de la comparaison indiquent que l'utilisation du descripteur de GIST seul couplé à l'algorithme de LPS-DA peut être suffisamment descriptive pour classer les images des calculs urinaires humaines.

## ***CONCLUSION ET PERSPECTIVES***

Le présent travail a approché des caractéristiques de l'huile d'olive vierge en tant que produit de terroir prometteur dans la région "Béni Mellal Khénifra", région à vocation agricole. Une telle région de populations à niveau socio-économique relativement élevé présentant une abondance relative de la maladie de la lithiase, nous a mené à contribuer au diagnostic et la prévention de cette maladie liée au régime alimentaire.

On peut formuler les constatations suivantes sur ces deux thématiques importantes dans cette région, à savoir "huile d'olive" et "lithiase urinaire":

### **Thématique "Huile d'olive vierge"**

- Le présent travail nous a permis de mettre en évidence des caractéristiques de l'huile d'olive vierge en tant que produit de terroir au Maroc telles que les spécificités physicochimiques en termes de résistance à la chaleur, l'acidité, l'oxydation, qui varient d'une zone géographique à une autre.
- Grâce aux algorithmes tels que l'ACP et la méthode PLS-DA, appliquées aux données de la méthode de chromatographie en phase gazeuse (CPG) on peut classifier les 3 variétés marocaines Picholine, Hawziya et Menara en termes de composition en acides gras. Un tel résultat contribue à rendre la méthode CPG moins coûteuse, rapide et robuste auprès des laboratoires d'analyse en industrie ou recherche scientifique grâce à son couplage avec les méthodes d'analyses des données.

### **Thématique "Lithiase urinaire"**

- La comparaison de la performance des algorithmes de data mining dans la classification de photographies des calculs urinaires humains de type whewellite et weddellite en utilisant les différents descripteurs tels que GIST, ZERNIK et CENTRIST sur des algorithmes tels que SVM, ANN, KNN, et PLS-DA a donné de meilleurs résultats lorsque le descripteur de GIST a été couplé à l'algorithme de PLS-DA. Un tel couplage a produit une bonne classification des photographies des calculs urinaires.

- Le goitre lié au phénomène de déplacement de l'iode des sols des zones géographiques d'altitudes plus hautes telles que les montagnes d'Azilal vers les sols des plus bas telles que les zones côtières, nous a permis d'approcher la lithiase urinaire chez les femmes goitreuses par une méthode simple et moins coûteuse qu'est la cristallurie. En fait, la cristallurie, fréquemment homogène chez la femme goitreuse reflète un caractère chimique " urique phosphaté" avant l'âge de la ménopause. Ce caractère diminue après cet âge et devient oxalo-calcique. Cette diminution de la phosphaturie peut être liée à la réduction des besoins en phosphates en raison de la disparition des métabolismes hormonaux de la femme (en particulier la croissance du fœtus). Le traitement et la prévention vis-à-vis du goitre peuvent être orientés par la technique de la connaissance de la composition de la cristallurie, notamment en espèces de calcium et de phosphate.

Ainsi, le présent travail a contribué à la valorisation des couplages des méthodes suivantes :

- Couplage "analyse des données-CPG" pour analyse de l'huile d'olive vierge
- Couplage "analyses des données-texture des calculs urinaires"
- Analyse de cristallurie par microscopie optique.

La relation étroite entre de telles thématiques ("Huile d'Olive" et "Lithiase urinaire") approchées dans le présent travail nous a interpellé à approfondir la recherche dans des sujets pouvant confirmer la contribution de telles thématiques au développement local et durable. Ainsi, nous sommes actuellement investis dans les deux perspectives suivantes :

- Approcher l'éventuelle relation "Huile d'olive vierge" et "Lithiase urinaire"
- Etablir des grandes bases de données assurant une bonne représentativité des échantillons individus aussi bien dans le cas de l'huile d'olive que celui de la lithiase urinaire.
- Œuvrer, en utilisant des couplages des méthodes, dans le développement avancé des méthodes coûteuses aussi bien spectroscopiques, thermiques qu'optiques afin de les rendre rentables et cela dans une stratégie de chimie verte et de développement durable.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Angerosa F., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposito S., Montedoro G.F. (2004).  
Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J. Chromatogr. A* 1054, 17-31.
- Aparicio R., Ferreiro L., Alonso V. (2001).  
Effect of climate on the chemical composition of virgin olive oil, *Analytica Chimica Acta*, volume 292: 235-241.
- Aranda F., Gomez-Alonso S., Rivera Del -Alamo R.M., Salvador M.D., Fregapane G. (2004).  
Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars *Food Chemistry* 86: 485–492.
- Alcántara E., Cordeiro A.M., Barranco D.,(2003)  
*Journal of Plant Physiology*.160;1467.
- Allison S.J., Stones, (2013).  
ascorbic acid and risk of kidney stones, *Nat. Rev. Nephrology* ; 9 : 187 - 195.
- Altioq, E., Baycin, D., Bayraktar, O., Ulku, S., (2008).  
Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea L.*) by adsorption on silk fibroin. *Sep. Purif. Technol.*, 62(2): 342-348.
- Asper R.,(1984)  
Epidemiology and socioeconomic aspects of urolithiasis, *Urol. Res.*, 12 : 1 - 5.
- Avnir D., Coradin T, Lev O., Livage J., (2006)  
Recent bio-applications of sol-gel materials, *J. Mater.Chem.*16 : 1013 - 1030.
- Augusti M.,Mikaelian J.C., Monsaint H., Brin D., Daudon M.,(1993)  
Calcul urinaire de silice secondaire à l'absorption de gélopectose chez l'enfant, *Prog. Urol.*; 3: 812 - 815.
- Abdel-Halima, R.E. Abdel-Aal ,(1999).  
Classification of urinary stones by cluster analysis of ionic composition data, *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 58 : 69–81
- Banziger E., (1998).  
L'olive cuisine et santé. Éd Viridis- 2800 Delémont, Suisse.
- Barranco D., Rallo L. (2005).  
Epocas de Floracido y Maduracion. Chap.5. in variedadesde olivo en Espana (Libro



- II).Juntade Andalucia (MAPA) Ed. Munidi-Prensa / Madrid.
- Beauchamp G., Keast R., Morel D., Lin J., Pika J., Han Q., Smith A.B., Breslin P.A.S., (2005).
- Ibuprofen like activity in extra-virgin olive oil.*Revue Nature* 437, 45-46.
- Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., Sayadi, S., (2008).
- Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108, 253-262
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E. Sapirstein, H.D., (2005).
- Phenolic Content and antioxidant activity of Pearled Wheat and Roller-Milled fractions.*CerealChem.*, 82(4), 390-393.
- Berra G., De Gasperi R. (1980).
- Qualitànutrizonale de ll'olio di oliva. In: III Congressointernazionale sulvalorebiologico dell'oliod'oliva - la Conea, Creta (Grecia), 8-12 settembre , p. 427
- Besnard G., Berville A., (2005).
- Les Origines de l'Olivier (*Olea europaea* L.) et des oléastres. Ed. AITAE, AEP.
- Bouazid O., Navarro D., Roche M., Asther M., Haon M., Delattre M., Lorquin J., Labat M., Asther M., Lesage-Meessen L.
- ProcessBiochemistry*.40(2005) 1855.
- Borja R., Alba J., Banks C.J.,
- Process Biochem*.32 (199) 121–133.
- Benlamaalam S., Chigr M.,Hirri A., Auhmani A., Mbarki M.,
- International Journal of Science and Research* 4-(6)(2015) 2443-24484
- Bazin D., Daudon M., Combes C., Rey C.,
- Characterization and some physicochemical aspects of pathological microcalcifications, *Chem. Rev.* 2012 ; 112 : 5092 - 5120.
- Bruneton, J., (1993).
- Pharmacognosie. Technique et documentation*-Lavoisier, Paris, p.278.
- Bonucci E.,
- Calcification in biological systems*, CRC Press Boca Raton 1992.
- Bonucci E.,
- Biological calcification: Normal and pathological processes in the early Stages*, Ed.

Springer Berlin Heidelberg 2007.

Bazin D., Daudon M.,

Pathological calcifications and selected examples at the medicine–solid-state physics interface, *J. Phys. D : Appl. Phys.* 2012 ; 45 : 383001 - 383010.

Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimen I., Kechaou N. (2009).

Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*, 29, 412–419.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., Del Rio, J. A., (2000).

Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L-leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462.

Bellanato J., Rodríguez-Miñón Cifuentes J. L., Salvador E.,

Medina Urates in uric acid renal calculi, *Int. J. of Urology* 2009 ; 16 : 318 - 322.

Barbey F., Joly D., Rieu P. et al.,

Medical treatment of cystinuria: Critical reappraisal of long-term results, *J. Urol.* 2000 ; 163 : 1419 - 1423.

Bouzidi H., Daudon M.,

Cystinurie : du diagnostique à la surveillance thérapeutique, *Ann. Biol. Clin.* 2007; 65: 473 – 481. 17.

Bollée G., Dollinger C., Boutaud L., Guillemot D., Bensman A., Harambat J., Deteix P.,

Daudon M., Knebelmann B., Ceballos-Picot B I.,

Phenotype and genotype characterization of adenine phosphoribosyltransferase deficiency, *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010 ; 21 : 679 - 688.

Brereton R.G.,

Chemometrics for Pattern Recognition, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 2009.

Casadei E., (1978).

First Results on Detection of Adulterated Olive Oil Products with Hazelnut and/or Esterified Oils by HPLC of Triglycerides. *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 64.

Catalano M., (1968).

The Olive Oil Triglyceride Structures Obtained by Combined Chromatographic Techniques. *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 45.

Charbonier A., (1985).

- Acquisitions récentes sur la valeur biologique de l'huile d'olive en France. In : 1<sup>o</sup> Congr.Nazionale di Terapia, 8-12 décembre, Rome, Italie.
- Charbonier A., Richard. J.L (1996).  
L'huile d'olive, aliment –santé, Ed, Frison-Roche, France , page 1000.
- Codex Alimentarius (1989).  
Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).
- C.O.I (1998).  
L'Olivier, l'huile, l'olive - Madrid / Espagne.
- C.O.I. (2000).  
Catalogue mondiale des variétés d'oliviers, p.31-36.
- C.O.I. (2001).  
Détermination de la composition et du contenu en stérols par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire T.20/Doc. N°10/Rév.1.
- C.O.I. (2001).  
Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.) T.15/NC n°2/Rev.10. Principe de Vergara, 154, 28002 Madrid, Espagne.
- C.O.I. (2005).  
Norme commerciale applicable à l'huile d'Olive et à l'huile de grignons d'olive. COI /T. 15/NC n°2/Rev.10.
- C.O. I. (2009a).  
Production mondiale d'huile d'olive .Novembre 2009.
- C. O. I. (2009b).  
Consommation mondiale d'huile d'olive, Novembre 2009.
- Conference Des Nations Unies sur Le Commerce et Le Developpement (2005).  
Accord international de 2005 sur l'huile d'olive et les olives de table. Nations Unies TD/OLIVE.OIL.10/6.
- Cronquist A., (1988).  
The Evolution and Classification of Flowering Plants, 2nd edition Bronx, N.Y USA:  
The New York Botanical Garden, page 145.
- Codex Stan 33. 1981.

- Ciafardini G., Zullo B.A. Food Microbiology. 19 (2002)105.
- Ceballos-Picot, Perignon J. L., Hamet M., Daudon M., Kamoun P.,  
2,8-dihydroxyadenine urolithiasis, an underdiagnosed disease, The Lancet 1992 ; 339 : 1050 - 1051.
- Conort P., Dore B., Saussine Ch.,  
Prise en charge urologique des calculs rénaux et urétéraux de l'adulte, Prog. Urol. 2004 ; 14 : 1095 – 1102.
- Coe F. L., Parks J. H., Asplin J.R.,  
The pathogenesis and treatment of kidney stones, N. Engl. J. Med. 1992 ; 327 : 1141 - 1152.
- Coe F. L., Evan A., Worcester E., Kidney stone disease, Clin J., Invest. 2005 ; 115 : 2598 - 2608.
- Currey J. D.,  
Hierarchies in biomineral structures, Science 2005; 309: 253 - 260.
- Chiofalo B., Liotta L., Zumbo A. et Chiofalo V., 2004.  
Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. Small Ruminant Research. 55:169-176.
- Carpentier X., Daudon M., Traxer O., Jungers P., Mazouyes A., Matzen G., Véron E., Bazin D.,  
Relationships between carbonation rate of carbapatite and morphologic characteristics of calcium phosphate stones and etiology, Urology 2009 : 73 : 968 - 975.
- Chutipongtanate S., Thongboonkerd V.,  
Ceftriaxone crystallization and its potential role in kidney stone formation, Biochem. and Biophysical Res. Com. 2011 ; 406 : 396 - 402.
- Cissé Y., Kinouchi Y., Nagashino H., Akutagawa M.  
Identification of homeostatic dynamics for a circadian signal source using BP neural networks ITBM-RBM 2000; 21: 24 32
- Chow TWS, Fei G., Cho S.Y.,  
High order cumulants-based least squares for nonminimum-phase system identification. IEEE Trans Trans Signal Proc 1997; 45: 104.5-50.
- Cortes C. and Vladimir N. Vapnik.  
Support vector networks. Machine Learning, 20:pp 1–25, 1995

Daoudi F.D., Cherif A. (1981).

Etude comparative des acides gras de quelques huiles d'olives tunisienne – Influence du procédé technologique d'extraction sur la qualité des huiles obtenues, *Revue Française des Corps gras*, Vol. 5, p.236-245.

De Barry N., (1999).

L'Abécédaire de l'huile d'olive. Éd. Flammarion, France , page 86

Direction de l'Enseignement, de la Recherche et du Développement.

Ministère d'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes. Royaume du Maroc. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PTTA. 141 (2006) 3

Davies Luísa C., Vilhena André M., NovaisJúlio M., Martins-DiasSusete.,

*Journal Grasas y Aceites*55(2004) 233-241.

DupuyN., Galtier O., Ollivier D., Vanloot P., Artaud J.,

*AnalyticaChimicaActa*.666(2010) 23-31.

De Luca M., Terouzi W., Ioele G., Kzaiber F., Oussama A., Oliverio F., Tauler R., Ragno G.,

*Food chemistry*. 124 (2011) 1113-1118.

Daudon M., Bader C.A., Jungers P.,

Urinary calculi : review of classification methods and correlations with etiology, *Scan. Microsc.*1993 ; 7 : 1081 - 1106.

Daudon M., Estépa L., Viard J. P., Joly D., Jungers P.,

Urinary stones in HIV-1-positive patients treated with indinavir, *The Lancet* 1997 ;349 : 1294 - 1295.

Daudon M., Reveillaud R., Jungers P.,

Piridoxilate- associated calcium oxalate urinary calculi : A new metabolic drug-induced nephrolithiasis, *The Lancet* 1985 ; 325 : 1338-1339.

Daudon M. Jungers P., Bazin D.,

Peculiar Morphology of Stones in Primary Hyperoxaluria. *New England J. of Medecine*2008 ; 359 : 100 - 102.

Daudon M.,

Comment analyser un calcul et comment interpréter le résultat, *Eurobiol.* 1993 ; 27: 35-46

Daudon M., Estépa L., Lacour B., Jungers P.,

Unusual morphology of calcium oxalate calculi in primary hyperoxaluria, *J. Nephrol.*

1998 ; 11 : 51 - 55.

Daudon M., Cohen-Solal F., Lacour B.,

Apport de la morphologie des calculs au diagnostic étiologique des lithiases urinaires, Feuillet de Biologie 2004 ; 35 : 51 – 57.

Daudon M.,

Les différents types de calculs: apport de l'analyse morphoconstitutionnelle au diagnostic étiologique de la lithiase, In: Doré B (ed) Les Lithiases Rénales. Paris, Springer 2004 pp 49 - 77.

Daudon M.,

Pourquoi et comment analyser un calcul urinaire ?, Prog. Urol. - FMC 2007 ; 17 : 2 - 6.

Daudon M.,

Cinq calculs – cinq photos – cinq diagnostics – cinq astuces, Prog. Urol. - FMC 2012 ; 22 : F87 – F93.

DPV, direction de la production végétale, 2009,

département lié au ministère de l'agriculture, Rabat, Maroc.

Daudon M., Cohen-Solal F., Barbey F., Gagnadoux M.F., Knebelmann B., Jungers P. :

cystine crystal volume determination: a useful tool in the management of cystinuric patients. urol.res.2003;31:207-211.

Daudon M., Cohen-Solal F., Jungers P.:

doescrystalluria better predicts the risk of calcium oxalate stone recurrence than urinary risk indices? in: kokdj, romjinhc, verhagenpcms, verkoelencf (eds), eurolithiasis. 9th european symposium on urolithiasis, maastricht, shakerpublishing,2001;261-263.

Daudon M., Hennequin C., Boujelben G., Lacour B., Jungers P.:

serialcrystalluria determination and the risk of recurrence in calcium stone formers. kidney int., 2005 ; 67 : 1934-194

Daudon M., Bounxouei B., Santa Cruz F., Leite da Silva S., Diouf B., Angwafoo 3rd F. F. et al.,

Composition des calculs observés aujourd'hui dans les pays non industrialisés, Prog. Urol. 2004 ; 14 : 1151 - 1161.

Daudon M., Doré J. C., Jungers P., Lacour B.,

Changes in stone composition according to age and gender of patients: a multivariate

- epidemiological approach, *Urol. Res.* 2004 ; 32 : 241 - 247.
- Daudon M., Donsimoni R., Hennequin C. et al.,  
Sex and age-related composition of 10617 calculi analyzed by infrared-spectroscopy,  
*Urol. Res.* 1995 ; 23 : 319 - 325.
- Daudon M.,  
Epidemiology of nephrolithiasis in France, *Annales d'urologie* 2005 ; 39 : 209 - 231.
- Daudon M., Traxer O., Lechevalier E., Saussine C.,  
Épidémiologie des lithiases urinaires, *Prog. Urol.* 2008 ; 18 : 802 - 814.
- Daudon M., Traxer O., Lechevalier E., Saussine C.,  
La lithogénèse, *Prog. Urol.* 2008 ; 18 : 815 - 827.
- Daudon M., H. Bouzidi H., Bazin D.,  
Composition and morphology of phosphate stones and their relation with etiology,  
*Urol. Res.* 2010 ; 38 : 459 - 467.
- Daudon M., Estepa L., Lacour B. and Jungers P.,  
*J Nephrol* 11 Suppl 1, 51-55 (1998).
- Daudon M., Bader C. A., Jungers P.,  
Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology,  
*Scanning Microscopy* 1993 ; 7 : 1081 - 1106.
- Daudon M.,  
L'analyse morphoconstitutionnelle des calculs dans le diagnostic étiologique d'une  
lithiase urinaire de l'enfant, *Arch. Pediatr.* 2000 ; 7 : 855-865.
- Daudon M.,  
Comment analyser un calcul et comment interpréter le résultat, *L'Eurobiologiste* 1993  
; 27 : 35 - 46.
- Daudon M., Jungers P., Bazin D.,  
Peculiar Morphology of Stones in Primary Hyperoxaluria, *N. Engl. J. of Med.* 2008 ;  
359 : 100 – 101.
- Daudon M., Lacour B., Jungers P.,  
High prevalence of uric acid calculi in diabetic stone Formers, *Nephrol Dial  
Transplant* 2005 ; 20 : 468 - 469.
- Daudon M., Jungers P.,  
Drug-induced renal calculi, *Drugs* 2004 ; 64 : 245 - 275.

Daudon M., Traxer O, Jungers P, Bazin D.

Stone morphology suggestive of Randall's plaque. In Evan AP, Lingeman JE, Williams JC Jr : Renal Stone Disease. American Institute of Physics Conference Proceedings, Melville, New York 2007, vol 900, pp. 26-34

Daudon M., Bader C.A., Jungers P.,

Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology. Scanning Microsc. 1993;7:1081---106.

Elbir M., Moubarik A., Rakib E.M., Grimi N., Amhoud A., Miguel G., Hanine H.,

Artaud J., Vanloot P. and Mbarki M.

Maderasciencia y tecnologia 14 (2012) 361-371.

ElbirM.,Es-SafiN., AmhoudA.,Mbarki M., Maderasciencia y tecnologia 14 (2012) 361-371

Ergun Ergül F., Sargin S., Öngen G., VardarSukan F.,

International Biodeterioration&Biodegradation.63(2009) 1–6.

Evan A. P.,

Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract, *Pediatr.Nephrol.*2010 ; 25 : 831 - 841.

(en)james R.. mulinda et al.:

« goiter » epidemiology

A.P. Evan, F.L. Coe, J.E. Lingeman,Y. Shao, B.R. Matlaga, S.C. Kim, S.B. Bledsoe, A.J. Sommer, M. Grynepas, C.L. Philips, E.M. Worcester,

Renal crystaldepositsandhistopathologyofthekidney in cystinuria, *Kidney Int.* 2006 ; 69 : 2227 - 2235.

Eom, J.H., Kim, S.C., & Zhang, B.T. (2009).AptaCDSS-E:

A classifier ensemblebased clinical decision support system for cardiovascular disease level prediction.*Expert Systemswith Applications*, 34, 2465–2479.

Food And Agriculture Organization (2001).

Rapport du comité du codex sur les graisses et les huiles – Annexe IV : Projet de norme pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive. Archives de documents de la FAO.

Fegeros, K., Zervas, G., Apsokardos, F., Vastardis, J., Apostolaki, E. (1995).

Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, 17, 9-15



- Fernandez-Orozco R., Roca M., Gandul-Rojas B., Gallardo-Guerrero L.  
Journal of Food Composition and Analysis.24 (2011) 858.
- Fiorentino A., Gentili A., Isidori M., Monaco P., Nardelli A., Parrella A., Agric J.,  
Food Chem. 51(2003) 1005–1009.
- Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E., Nicolaidis, D.N., (2004).  
Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/ antioxidant  
activities.Curr. Pharm. Des. 10 (30), 3813-3833.
- Fegeros, K., Zervas, G., Apsokardos, F., Vastardis, J., Apostolaki, E. (1995).  
Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. Small Ruminant  
Research, 17, 9-15.
- Fiestas J.A. et Borja R., 1992.  
Use and treatment of olive mill wastewater: Current situation and prospects in Spain.  
*Grasas y Acietes*. 43: 101-106.
- Fogazzi G.B., Garigali G., Brambilla C., Daudon M.,  
Ciprofloxacin crystalluria, Neph. Dial Transplant 2006 ; 21 : 2982 - 2983.
- Faraway J., Chatfield C.,  
Time series forecasting with neural network, a comparative study using the airline  
data.Appl Stat J R Stat Soc Ser 1998; 47: 231-50
- Gausсен H., Leroy J-P., Ozenda P., (1982).  
Précis de botanique .Tome II : végétaux supérieurs. Ed. Masson, Paris, page. 110.
- GratiKamoun N. (2007).  
Etude de la diversité génétique de l'olivier en Tunisie – Approche pomologique,  
chimique et moléculaire. Thèse de doctorat en sciences biologique – Institut de  
l'olivier .Faculté des sciences de Sfax / Université de Sfax. 68-70.
- Guillén M.D., Uriate P.S.  
Food Chemistry. 134 (2012) 162.
- Galtier O., Dupuy N., Le Dréau Y., Ollivier D., Pinatel C., Kister J., Artaud J.,  
J. AnalyticaChimicaActa. 595(2007)136-144.
- Galtier O., Dupuy N., Le Dréau Y., Ollivier D., Pinatel C., Kister J., Artaud J.,  
J.AnalyticaChimicaActa. 595(2007) 136-144.
- Grases F., Costa-Bauza A., Ramis M., Montesinos V., Conte A.,  
Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and  
etiology, Clin. Chim. Acta 2002 ; 322 : 29 - 36.

- Giachelli C. M.,  
Ectopic calcification, gathering hard facts about soft tissue ineralization, *Am. J. Pathology* 1999 ; 154 : 671 - 675.
- Garcia-Gomez, A., Roig, A., Bernal, M.P., (2003).  
Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology*, 86, 59-64.
- Grases F., Villacampa A. I., Costa-Bauza A., Sohnel O.,  
Uric acid calculi: types, etiology and mechanisms of formation, *Clin. Chim. Acta* 2000 ; 302 : 89 - 104.
- Greischar A., Nakagawa Y., Coe F. L.,  
Influence of urine pH and citrate concentration on the upper limit of metastability for calcium phosphate, *The Journal of Urology* 2003 ; 169 : 867 - 870.
- Grosjean R., Daudon M., Mario F. Chammas Jr, Eschwege M. C. P., Felblinger J., Hubert J.,  
Pitfalls in urinary stone identification using CT attenuation values: Are we getting the same information on different scanner models? *European Journal of Radiology* 82 (2013) 1201–1206.
- Gràcia-Garcia S., Millán-Rodríguez F. , Rousaud-Barón F., Montanés-Bermúdez R. , Angerri-Feu O., Sánchez-Martín F., Villavicencio-Mavrich H. , Oliver-Samper A.:  
Why and how we must analyze urinary calculi. *Actas Urol Esp.* 2011;35(6):354---362
- Hannachi H., M'sallem M., Benalhadj S., El-Gazzah M. (2007).  
Influence du site géographique sur les potentialities agronomiques et technologiques de l'olivier (*Olea europaea*) en Tunisie. *C.R. Biologies*330, p 135-142.
- Harwood J.L., Aparicio R. (2000).  
Handbook of olive oil: analysis and properties. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen publications, Inc. p. 620.
- Henry S. (2003),  
L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Thèse : université Henri-Poincaré – Nancy. Page 9 -13.
- Herrero A.M., Carmona P., Pintado T., Jiménez-Colmenero F., Ruíz-Capillas C.  
*Food Research International*, Volume 44 (1) (2011) 360
- Hirri A., Bassbasi M., Souhassou S., Kzaiber F., Oussama A.,  
*International Journal of Food Properties*, DOI: 10.1080/10942912.2015.1059854

Hirri A., De luca M., Ioele G., Balouki A., El Bassbasi M., Kzaiber F., Oussama A., Ragno G., Czech

Journal of Food Science 33 (2015) 137–142.

Habtemariam, S., (2003).

Cytotoxic and cytostatic activity of erlangerins from *Commiphora erlangeriana*. *Toxicon*.41 (6), 723-7.

Hesse A., Brandle E., Wilbert D., Kohrmann K. U., Alken P.,

Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs 2000, *Eur. Urol.* 2003 ; 44 : 709 - 713.

Hennequin C., Lacour B., Daudon M.,

Les inhibiteurs de cristallisation, *L'Eurobiologiste* 1993 ; XXVII, 47 - 53. 16

Heckerling, P. S., Canaris, G. J., Flach, S. D., Tape, T. G., Wigton, R. S., & Gerber, B. S.(2007).

Predictors of urinary tract infection based on artificial neural networks and genetic algorithms. *International Journal of Medical Informatics*, 76(4), 289–296.

Idrissi A., Ouazani N. (2006).

Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea* L), *FAO –Biodiversity*, 136 p 1-10.

Jacotot B. (1997).

Intérêt nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive. *OCL* 4(5), 373-374.

Jacotot B. (1999).

Huile d'olive et lipoprotéines. *OCL* 6(1), 84-85.

Jungers P., Daudon M., Leduc A.,

Lithiase urinaire, Ed. Médecine-Sciences, Flammarion 1989.

Jungers P., Daudon M., Conort P.,

Lithiase rénale, diagnostic et traitement, Ed. Médecine-Sciences, Flammarion 1999.

Japon-Lujan, R., Luque de Castro, M.D. (2006).

Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, 1136, 185-191

Johnson C. M., Wilson D. M., Fallon W.M. O., Malek R. S., Kurland L.T.,

Renal stone epidemiology : a 25-year study in Rochester, Minnesota, *Kidney Int.* 1979 ; 16 : 624 – 631.

Jungers P., Daudon M.,

Epidemiology of the kidney stones, *Presse Méd.* 1990 ; 19 : 1655 - 1657.

Jepperson M. A., Cernigliaro J. G., Sella D., Ibrahim E., Thiel D. D., Leng S., W.E.

HaleyDual W. E.,

energy CT for the evaluation of urinary calculi: Image interpretation, pitfalls and stone mimics. *Clinical Radiology* 68 (2013) e707ee714

Kataja-Tuomola M., Sundell J.R. (2008).

Effect of alpha-Tocopherol and beta-carotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes., *Diabetologia*. Jan; 51(1):47-53.

Keys A., Menotti A., Karvonem M.J., Blackburn H., Buzina R., Diodordevic B.S., Dontas A.S., Fidanza F., Keys M.H., Kromhout D., Nedukovic S., Punsar S., Seccareccia F., Toshima H. (1986).

The diet and 15 year death rate in seven countries study. *Am. J. Epidemiol.* 124, 903-915.

Kiritsakis A.K., (1993).

La chimie de l'arôme de l'huile d'olive. *Olivae*, 45(2), 28-33.

Kratz M., Cullen P., Kannenberg F., Kassner A., Fobker M., Abuja P. M., Assmann G, Wahrburg U. (2002).

Effect of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low density lipoprotein. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56 (1) pp 72-81

Kalogeropoulos N., Kaliora C.A., Artemiou A., Giogios I., LWT

Food Science and Technology, In Press, Corrected Proof, Available online 28 February 2014

Kim M., Lee S., Chang K., Chung H., Jung Y.M.,

*Analytica Chimica Acta*. 748 (2012) 58.

Koprivnjak O., Moret S., Populin T., Lagazio C., Conte L.S.

*Food Chemistry*. 90 (2005) 603.

28. Kalogianni E.P., Karapantsios T.D., Miller R.,

*Journal of Food Engineering*. 105(2011) 169.

Karakaya, S., (2004).

Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44 (6), 453- 64.

Krasovskaya S. M., Uzhinova L. D., Andrianova M. Yu., A.A. Prischenko A. A., Livantsov

- M. V., Lomonosov M. V.,  
 Biochemical and physico-chemical aspects of biomaterials calcification, *Biomaterials*  
 1991 ; 12 : 817 - 820.
- Khan S. R.,  
 Pathogenesis of oxalate urolithiasis: lessons from experimental studies with Rats, *Am. J. Kidney Dis.* 1991 ; 17 : 398 - 401.
- Klee L. W., Brito C. G., Lingeman J. E.,  
 The clinical implications of brushite calculi, *J. Urol.* 1991 ; 145 : 715 - 718.
- Kuzmanovski I., Trpkovska M., Šoptrajanov B., Stefov V.  
 Determination of the composition of human urinary stones composed of whewellite, weddellite and carbonate apatite using artificial neural networks *AnalyticaChimicaActa* 491- 2003; 211–218
- Kecman V.,  
 Learning and Soft Computing, MIT Press, Cambridge, MA., 2001.
- Karleskind A., Audiau F., Wolff J.P. (1965).  
 Analyse des stérols et son application à l'étude de la composition des mélanges de corps gras. – *Revue française des corps gras*, vol 12 n°6. Page 399-403
- Littman A.J, Beresford S.A, White E (2001).  
 The association of dietary fat and plant foods with endometrial cancer (United States). *Cancer Causes Control.* Oct; 12(8):691-702.
- Loussert R., Brousse G. (1978).  
 L'olivier ; Ed. G.P. Maisonneuve et Larose. Paris, 462 p.
- Lo Scalzo, R., Scarpati, M.L., Verzebnassi, B., Vita, G., (1994).  
*Oleauropea* chemical repellent to *Dacisolea* females. *J. Chem. Ecol.*, 20, 1813  
 1923.
- Landete J.M., Curiel J.A., Rodríguez H., De las Rivas B., Muñoz R.  
*Food Chemistry.* 107 (2008) 320.
- Lerma-García M.J., Herrero-Martínez J.M., Ramis-Ramos G., Simó-Alfonso E.F.,  
*Food Chemistry.* 108 (2008) 1142.
- Lavermicocca P., Francesco Russo M.R, Srirajaskanthan R.,  
 Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. (2010) 735

Larif M., Ouhssine M., Soulaymani A. and Elmidaoui A.,

*Research on chemical intermediate*.DOI: 10.1007/s11164- 013-1267-0 (2013)1-

Lesage-Meessen L., Navarro D., 1.Maunier S., Sigoillot J.C., Lorquin J., Delattre M., Simon J.L, Asther M., Labat M.,

J. Food Chem. 75 (2001) 501-507.