



N° d'ordre 65/ 2014

UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques
Béni-Mellal

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

THESE

Présentée par

Ilham HOULALI

Pour l'obtention du grade de

Docteur

Spécialité : Chimie Analytique et Chimiométrie

**Caractérisation physico-chimique et étude chimiométrique de l'huile
d'olive vierge de la population Picholine dans la région Tadla-Azilal**

Soutenue le 20 Décembre 2014 devant la commission d'examen :

Pr. A. HASIB	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni Mellal	Président
Pr. A. AIT CHAOUI	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni Mellal	Rapporteur
Pr. E. OUKANI	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni Mellal	Rapporteur
Pr. M. EL IDRISI	Faculté des Sciences - Université Moulay Ismail- Meknès	Rapporteur
Pr. A. GAMOUH	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni Mellal	Examineur
Pr. S. EL HOUSAME	Faculté Polydisciplinaire- Université Hassan I- Khouribga	Examineur
Pr. M. MBARKI	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni Mellal	Directeur de Thèse

REMERCIEMENTS

Merci à Dieu tout puissant pour sa générosité divine

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements les plus sincères à Monsieur le Président de l'Université Sultan Moulay Slimane et Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal.

Je remercie très vivement aussi *Mr. A. El Harti*, Directeur du CED, *Mr. K. Habbari*, Vice Doyen Chargé de la Recherche Scientifique et *Mr. A. Zyad*, responsable de cette formation Doctorale, pour l'intérêt qu'ils portent au déroulement des activités de la recherche au sein de la Faculté.

Mes plus chaleureux remerciements s'adressent également à l'honorable Jury, les professeurs : *A. Ait Chaoui*, *H. Chaair*, *S. El Houssam*, *M. El Idrissi*, *A. Gamouh*, *E. Oukani*, *A. Hasib* et *M. Mbarki* pour avoir accepté de juger le contenu de cette thèse et de participer au jury.

Au terme de ce travail je tiens à exprimer mes vifs et sincères remerciements au professeur *Mohamed Mbarki* pour m'avoir accueilli et avoir accepté de diriger ce travail, pour sa disponibilité permanente, sa patience, son encadrement, ses encouragements, ses discussions fructueuses et ses conseils constructifs et précieux. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mon estime et de mon respect le plus profond.

Je tiens à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à *Mr. A. Amhoud* pour ses conseils et son appui dans la réalisation de ce travail.

Ma reconnaissance est exprimée aux professeurs *A. Hasib* et *A. Jaouad* pour l'intérêt qu'ils ont manifesté envers le présent travail.

Mes vifs remerciements s'adressent, également, aux professeurs *Jacques Artaud, Pierre Vanloot et Nathalie Dupuy* pour m'avoir accueilli et encadré lors de mon stage au laboratoire "Systèmes Chimiques Complexes", équipe "AD2EM" de l'Institut des Sciences Moléculaires de Marseille (ISM2), en France.

J'adresse, aussi, mes sincères remerciements au personnel de la FST de Béni Mellal et particulièrement les professeurs et les doctorants (*M. Elbir, I. El ouifoudi, Z. Mourhat, A. Ait ider*) du laboratoire de l'équipe Transdisciplinaire des Sciences Analytiques pour le Développement Durable pour leurs encouragements et leurs aides précieuses.

Je tiens à remercier tous mes collègues et mes amies, en particulier : *A. Amlil, H. Hite, I. Hmid, F. Elfalki, K. Lemniai, F. Abbadi* et *S. El Aguad* pour leurs encouragements et pour les bons moments passés ensemble.

Un très grand merci à ma famille (ma mère, mon frère, mes sœurs, mes oncles, mes tantes...) pour son soutien sans faille et pour ses encouragements.

Enfin je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de mon travail.

AVANT PROPOS

- **Nom et prénom de l'auteur :** HOULALI Ilham

- **Intitulé du travail :**

“ Caractérisation physico-chimique et étude chimométrique de l'huile d'olive vierge de la population picholine dans la région Tadla-Azilal”.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au sein du Laboratoire de l'« Equipe Transdisciplinaire des Sciences Analytiques pour le Développement Durable » (ETSADD) de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Université Sultan Moulay Slimane et au Laboratoire «Analyse, Développement Durable, Environnement et Méthodologie» (AD2EM) de l'université Paul Cézanne, Faculté de Saint Jérôme de Marseille en France.

- **Nom et prénom du directeur de recherche :**

Professeur Mohamed MBARKI (Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal).

- **Principales Publications et Communications**

A. Publications

1. **I. Houlali**, S. Rabi, M. Elbir, A. Ait Ider, A. Amhoud, A. Moubarik, A. Hasib, A. Jaouad, M. Mbarki* (2014). **Caractérisation chimique de l'huile d'olive dans la région Marocaine de Tadla Azilal.** *Journal of Materials and Environmental Science.*5 (2) 599-604.
2. **I. Houlali**, M. Gouskir, M. Elbir, A. Amhoud, A. Moubarik, B. Bouikhalene, H. Chaair, S. Rabi, O. Abdelaoui, M. Echajia, R. Bouhdadi, M. Mbarki* (2014). **Effects of sunlight, temperature and adulteration on the quality of the virgin olive oil.** *Journal of Materials and Environmental Science.* 5 (4) 1021-1026.
3. Elbir, M. Amhoud, A. **Houlali**, I. Moubarik, A. Hasib, A. Jouad, A. Mbarki, M. Vanloot, P. Artaud, J. (2014). **Caractérisation et classification des huiles d'olives monovariétales de deux régions au Maroc (Meknès-Tafilalet et Marrakech-Tensift-Al Haouz).** *Journal of Materials and Environmental Science.* 5 (2) 565-570.

4. **I. Houlali**, M. Gouskir, M. Boutalline, A. Ait Ider, R. Bouhdadi, A. Amhoud, A. Moubarik, B. Bouikhalene, H. Chaair , M. Mbarki^{1*}(2014). **Euclidean distance and HAC methods coupled to FT-MIR spectroscopy as chemometric tool for the authentication of the virgin olive oil.** *International Journal of Innovation and Applied Studies*.8 (4) 1706-1713.

5. **I. Houlali**, M. Mbarki, J. Artaud, A. Amhoud, P. Vanlout. **Characterization and classification of Moroccan olive oils by Middle and Near infrared spectroscopy combined with chemometrics.**(soumis).

B. Communications orales

1. **I. Houlali**, M. Gouskir, M. Boutalline, A. Ait Ider, O. Abdelaoui, A. Amhoud, A. Moubarik, B. Bouikhalene, H. Chaair and M. Mbarki. “*Chemometric Treatment to quantify the adulteration of the Virgin Olive Oil by Refined Olive Oil* “. 1ère Rencontre Internationale de Chimie Moléculaire, Chimiométrie & Applications (RICMCA’2014), 29-30 Mai **2014** à la Faculté des Sciences et Techniques de **Béni Mellal**, Maroc.

2. M. Elbir, A. Amhoud, **I. Houlali**, A. Moubarik, H. Hasib, A. Jouad, M. Mbarki, P. Vanlout and J. Artaud. “*Characterization and classification of Moroccan Virgin Olive Oil by Chemometrics on NIRS and GC data*”. 5ème Rencontre Internationale sur la Chimie et la Qualité (RICQ 5), 25-27 Avril **2013** à l’Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques de **Fés**, Maroc.

3. M. Mbarki, A. Amhoud, **I. Houlali**, J. Artaud, P. Vanlout. “*Application of chemometric methods for determining the varietal origin of olive oil by using infrared spectroscopy*“. The First International Symposium on "Analytical Chemistry for a Sustainable Development (ACSD 2010), March 17-19, **2010**, **Mohammedia**, Morocco.

C. Communications par affiche

1. **I. Houlali**, & M. Mbarki. "*Authentication of virgin olive oils by Middle Infrared spectroscopy coupled with the method of Euclidean distance*". AgroStat 2014, 13èmes Journées Agro-Industrie et Méthodes Statistiques, 26 – 28 mars **2014** à **Rabat**, Maroc.
2. **I. Houlali**, M. Gouskir, C. Tcheka, M. Elbir, A. Hajjaji, O. Abdelaoui, A. Amhoud, H. Hanine, A. Moubarik, B. Bouikhalene, H. Chaair and M. Mbarki. "*Euclidian Gap as a tool to predict the quality of the commercialised virgin olive oil*". 5ème Rencontre Internationale sur la Chimiométrie et la Qualité. 25 au 27 Avril **2013**, **FES** – Maroc.
3. **I. Houlali**, M. Mbarki, A. Amhoud, A. Moubarik, M. Bouzaid. "*Searching and development of heterocyclic compounds in olive leaves extracts from different olive varieties*". Symposium International de Chimie Hétérocyclique: Enjeux, Valorisation et Développement Durable. 27-29 Octobre **2011**, **Fès**, Maroc.
4. **I. Houlali**, M. Mbarki, A. Amhoud, P. Vanloot, N. Dupuy, J. Artaud. "*Spectroscopic study of virgin olive oil in the TadlaAzilal area*". The 4th International Meeting on Molecular Chemistry and Development "RICMD4'2010", on 24th- 27th November **2010** at **Marrakesh**, Morocco.
5. M. Elbir, A. Moubarik, M. Mbarki, A. Amhoud, **I. Houlali**. "*Analytical Study of the Olive in Morocco: Valorization of olive Stones by Extraction, identification and antifungal testing of Phenolic Molecules*". The 4th International Meeting on Molecular Chemistry and Development "RICMD4'2010", on 24th- 27th November **2010** at **Marrakesh**, Morocco.

RESUME

L'huile d'olive est un produit qui a une grande importance économique et sociale dans les pays méditerranéens. Elle est connue pour ses bienfaits sur la santé. Le patrimoine oléicole constitue la principale essence fruitière au niveau de la région Tadla-Azilal. Cependant un certain nombre de défaillances limitent fortement les performances de ce secteur.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la caractérisation chimique, spectroscopique et chimiométrique de l'huile d'olive vierge, ainsi que la valorisation de la variété Picholine Marocaine. En effet, la première partie de ce travail s'intéresse à la caractérisation chimique et à la classification de l'huile d'olive vierge de la Picholine Marocaine selon différentes zones géographiques (plaine, piémont et montagne) au niveau de la région Tadla-Azilal. Une caractérisation chimiométrique a été également réalisée. Par conséquent, L'analyse en composantes principales (ACP) des spectres en moyen Infrarouge des huiles d'olives montre qu'il y a certaines discriminations entre les huiles provenant des trois zones géographiques de la région de Tadla-Azilal.

Dans la seconde partie, nous avons traité l'influence de certains facteurs tels que : la lumière du soleil, la température et la falsification sur la qualité de l'huile d'olive vierge de la variété Picholine Marocaine au niveau de deux zones géographiques (Demnat et Tagzirt) de la région Tadla-Azilal. Les paramètres caractéristiques de la qualité de l'huile d'olive vierge (HOV) étudiés sont : la teneur en eau (TE), l'indice de peroxyde (Ip), l'indice d'acide (IA) et la densité (D). En général, l'huile d'olive vierge de Demnat présenterait des caractéristiques qui permettent une meilleure résistance à la température, la lumière du soleil et la falsification.

La dernière partie a été consacrée à la détection et la quantification de l'adultération de l'huile d'olive vierge par de l'huile raffinée dans certains marchés informels. Pour cela, nous avons analysé des échantillons d'huile d'olive vierge par la spectroscopie Moyen Infrarouge à Transformé de fourrier (MIR-TF) couplée à la méthode de la Distance Euclidienne (DE) et à la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). Les résultats obtenus montrent qu'un tel couplage serait un moyen de premier diagnostic rapide et moins coûteux.

Mots-clés : *Huile d'olive vierge, proche infrarouge, SMIR-TF, traitement chimiométrique, ACP, distance euclidienne, CAH, lumière du soleil, température, falsification, authentification, indice d'acide, indice de peroxyde.*

ABSTRACT

Olive oil is a product that has great economic and social importance in the Mediterranean countries. It is known for its health benefits. The olive heritage is the main species fruit at the Tadla-Azilal region. However, a number of shortcomings severely limit the performance of this sector.

This work is part of the chemical characterization, spectroscopic and chemometric of virgin olive oil, as well as the valuation of the Moroccan Picholine variety. Indeed, the first part of this work focuses on the chemical characterization and classification of virgin olive oil of the Moroccan Picholine from different geographical areas (plain, piedmont and mountain) in the region of Tadla Azilal. A chemometric characterization was also performed. Therefore, the principal component analysis (PCA) using Infrared spectra of olive oils show that there is some discrimination between oil from three geographical areas of the Tadla Azilal.

In the second part, we addressed the influence of the following factors: sunlight, temperature and falsification on the quality of virgin olive oil extracted from the Moroccan Picholine variety at two geographical areas (Demnat and Tagzirt) in Tadla Azilal region. The characteristic parameters of the quality of virgin olive oil (HOV) studied are: water content (WC), peroxide index (PI), acid index (IA) and density (D). Globally, virgin olive oil Demnat presents features that can allow better resistance to temperature, sunlight and falsification.

The last part concerns the detection and the quantification of adulteration of virgin olive oil by refined olive oil in some informal markets. Therefore, we analyzed samples of virgin olive oil using Fourier Transform Middle Infrared spectroscopy (FT-MIR) coupled to the Euclidean distance (DE) method and the Hierarchical ascending classification (HAC). The results obtained show that such a coupling means is first rapid diagnosis and cheaper.

Keywords: *Virgin olive oil, NIRS, FT-MIRS, chemometric treatment, PCA, Euclidean distance, HAC, sunlight, temperature, falsification, authentication, acid index, peroxide index.*

ملخص

زيت الزيتون منتج له أهمية اقتصادية واجتماعية كبيرة في بلدان البحر الأبيض المتوسط. بالإضافة إلى فوائده الصحية المتعددة و يشكل تراث الزيتون الجوهر الرئيسي للقطاع الفلاحي بجهة تادلة أزيلال. ورغم ذلك، فهذا القطاع لازال يعرف مجموعة من العراقيل التي تحد من تطوره.

يندرج هذا العمل في إطار التوصيف الكيميائي، الطيفي والشيميومتري (chimométriques) لزيت الزيتون البكر، وكذلك تثمين صنف البيشولين المغربية. يركز الجزء الأول من هذا العمل على التوصيف الكيميائي والتصنيف لزيت الزيتون البكر المستخلص من صنف البيشولين المغربية بمناطق جغرافية مختلفة (سهل، سفح وجبل) بجهة تادلة أزيلال. كما أجري أيضا توصيف شيميومتري. ولذلك، فإن تحليل المكونات الرئيسية باستخدام أطياف الأشعة تحت الحمراء لزيت الزيتون يظهر أن هناك بعض التمييز بين الزيوت التي تنتمي لثلاث مناطق جغرافية بجهة تادلة أزيلال.

في المحور الثاني، قمنا بدراسة تأثير العوامل التالية: ضوء الشمس، درجة الحرارة ونسبة الغش على جودة زيت الزيتون البكر المستخلص من صنف البيشولين المغربية في منطقتين مختلفتين (دمنات وتاكزيرت) بجهة تادلة أزيلال. العوامل المميزة لجودة زيت الزيتون البكر موضوع الدراسة هي كالاتي: المحتوى المائي، قيمة البيروكسيد، قيمة الحموضة والكثافة. بشكل عام، فإن زيت الزيتون البكر بمنطقة دمنات تتميز بخصائص قد تسمح لها بمقاومة أفضل لدرجة الحرارة، ضوء الشمس وللغش.

أما بالنسبة للمحور الأخير فقد خصص للكشف النوعي والكمي لغش زيت الزيتون البكر بواسطة الزيت المكرر وذلك في بعض الأسواق غير المهيكلة. لهذا، قمنا بتحليل عينات من زيت الزيتون البكر بواسطة التحليل الطيفي ذات الأشعة تحت الحمراء المتوسطة إلى جانب طريقة المسافة الإقليدية وطريقة التصنيف التصاعدي الهرمي. النتائج المحصل عليها تبين أن مثل هذا الاقتران يمكن أن يكون وسيلة سريعة وغير مكلفة للكشف عن نسبة الغش.

كلمات البحث: زيت الزيتون البكر، الأشعة تحت الحمراء الأدنى (NIRS)، الأشعة تحت الحمراء المتوسطة (MIRS)، معالجة معلوماتية، تحليل المكونات الرئيسية (PCA)، مسافة إقليدية، تصنيف تصاعدي هرمي (HAC)، ضوء الشمس، درجة الحرارة، غش، تصنيف، تأصيل، قيمة الحموضة، قيمة البيروكسيد.

Liste des Abréviations

A	: Absorbance
ACP	: Analyse en Composantes Principales
AG	: Acides Gras
AGMI	: Acides Gras Mono-Insaturés
AGPI	: Acides Gras Polyinsaturés
AGS	: Acides Gras Saturés
A_w	: Activité de l'eau
CAH	: Classification Ascendante Hiérarchique
COI	: Conseil Oléicole International
D	: Densité
DE	: Distance Euclidienne
DHA	: Docosahexaénoïque
DRATA	: Direction Régionale de l'Agriculture du Tadla Azilal
EPA	: Acide Eicosapentaénoïque
HOEV	: Huile d'Olive Extra Vierge
HOR	: Huile d'Olive Raffinée
HOV	: Huile d'Olive Vierge
HOVD	: Huile d'Olive Vierge
HOVT	: Huile d'Olive Vierge
IA	: Indice d'Acide
IIT	: Indice d'Insaturation Totale
IMI	: Indice de Mono-Insaturation
IP	: Indice de Peroxyde
IPI	: Indice de Polyinsaturation
L	: Acide Linoléique
LDA	: Analyse Discriminante Linéaire
LOO	: Linoléyldioléine
MAPM	: Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime
MCT	: Mercure Cadmium Tellure

MCV	: Maladies Cardio-Vasculaires
MD	: Mahalanobis
MIR-TF	: Moyen Infrarouge à Transformé de fourrier
NIPALS	: Non-Linear Iterative Partial Least Square
O	: Acide Oléique
OOO	: Trioléine
P	: Acide Palmitique
PLS	: Moindres Carrés Partiels
PMV	: Plan Maroc Vert
PNO	: Plan National Oléicole
POO	: Palmitoyldioléine
SMIR	: Spectroscopie Moyen Infrarouge
SPIR	: Spectroscopie Proche Infrarouge
SVD	: Singular Value Decomposition
SVM	: Machines à Vecteurs de Support
T	: Transmittance
TE	: Teneur en Eau
UE	: Union Européenne

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Composition en acides gras de l'huile d'olive vierge (limites fixées par le COI,2011).....</i>	14
<i>Tableau 2 : Structure des tocophérols et des tocotriénols.....</i>	16
<i>Tableau 3 : Répartition des huiles d'olives de la région de Tadla Azilal sur les quatre catégories selon l'acidité.....</i>	58
<i>Tableau 4 : Indice de peroxyde des huiles d'olives de la région de Tadla Azilal.....</i>	60
<i>Tableau 5 : Composition en acides gras et indices d'insaturations moyens d'huiles d'olives vierges et extra vierges provenant de trois zones géographiques différentes.....</i>	63
<i>Tableau 6: Caractéristiques géographiques et écologiques des deux zones étudiées...</i>	70
<i>Tableau 7: Pesées et pourcentages de falsification des échantillons étudiés.....</i>	71
<i>Tableau 8: Paramètres de qualité des DVOO et TVOO exposées à la lumière solaire à 25°C.....</i>	72
<i>Tableau 9: Pesées et pourcentages de falsification des 17 mélanges "VOO+ ROO" Préparés.....</i>	81
<i>Tableau 10: Base de données spectroscopiques SMIR des 17 mélanges "HOV+HOR</i>	82
<i>Tableau 11: Distance Euclidienne (DE) entre le spectre MIR de l'échantillon test et celui de chacun des 17 mélanges.....</i>	84
<i>Tableau 12: Prédiction de la distance euclidienne entre chaque spectre MIR des 10 échantillons à analyser et celui de chacun des 17 mélanges « HOV+HOR ».....</i>	85

Liste des figures

Figure 1 : Procédé générique de fabrication de l'huile d'olive.....	07
Figure 2 : Evolution de la production mondiale d'huile d'olive (T)(COI, 2012).....	29
Figure 3 : Production d'huile d'olive par pays (KT)(COI, 2012).....	30
Figure 4 :Les pays méditerranéens producteurs de l'huile d'olive (Gros, moyens et petits producteurs).....	31
Figure 5 : Evolution de la consommation mondiale par groupe de pays (T)(COI, 2012).....	32
Figure 6 : Evolution de la superficie et de la production (MAPM, 2013).....	33
Figure 7 : Répartition de la superficie oléicole (kha) (2012)(MAPM, 2013).....	34
Figure 8 : Caractéristiques du secteur de la transformation de l'huile d'olive (2012) (MAPM, 2013).....	35
Figure 9 :Niveau de consommation de l'huile d'olive par pays (kg/habitant) (2012) (MAPM, 2013).....	36
Figure 10 : Echanges commerciaux d'huile d'olive (T) (MAPM, 2013).....	36
Figure 11 : Potentiel anharmonique et niveaux d'énergie.....	40
Figure 12 : Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier.....	43
Figure 13 : Modèle simple d'une molécule diatomique.....	44
Figure 14 :Principe du chromatographe en phase gazeuse (Tranchant, 1996).....	48
Figure 15 : Spectrophotomètre Proche Infrarouge à Transformée de Fourier.....	57
Figure 16 : Indice de peroxyde moyen des trois catégories d'huiles (P, P et M).....	59
Figure 17 : Chromatogramme d'une huile d'olive vierge provenant de la plaine dans la région de Tadla Azilal.....	61
Figure 18 : Chromatogramme d'une huile d'olive vierge provenant de la montagne dans la région de Tadla Azilal.....	61
Figure 19 : Chromatogramme d'une huile d'olive vierge provenant du piémont dans la région de Tadla Azilal.....	62
Figure 20 :Spectres en proche infrarouge des huiles d'olives extra vierges et vierges	

<i>de la région de Tadla Azilal.....</i>	66
Figure 21: <i>Représentation ACP des spectres PIR des échantillons des huiles d'olives extra vierges et vierges.....</i>	67
Figure 22: <i>Effets de la température sur les paramètres de qualité de HOVT, HOVD et HOR, stockées à l'obscurité à 10 °C.....</i>	73
Figure 23: <i>Effets de l'adultération sur les paramètres de qualité de HOVsT et HOVsD stockées à l'obscurité à 10°C.....</i>	76
Figure 24: <i>Spectre MIR-TF de l'huile d'olive vierge falsifié par l'huile raffinée.....</i>	84
Figure 25: <i>Spectres MIR-TF des 17 mélanges préparés "HOV + HOR".....</i>	84
Figure 26 : <i>Dendrogramme de classification par la méthode de CAH.....</i>	86

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	01
Partie I : Etude Bibliographique.....	04
I. Caractérisation de l'huile d'olive.....	05
I.1. Définitions et classification.....	05
I.2. Procédure d'élaboration de l'huile d'olive.....	06
I.3. Systèmes d'élaboration de l'huile d'olive.....	09
I.3.1. Systèmes discontinus d'extraction par presse.....	09
I.3.2. Système en chaîne continu à deux phases.....	11
I.3.3. Système en chaîne continue à trois phases.....	12
I.4. Composition chimique de l'huile d'olive.....	13
I.4.1. Fraction Saponifiable.....	13
I.4.2. Fraction Insaponifiable.....	16
I.5. Principaux facteurs déterminant la qualité de l'huile d'olive.....	22
I.5.1. Facteurs génétiques (cultivar).....	22
I.5.2. Facteurs pédoclimatique.....	23
I.5.3. Facteurs agronomiques / Conduite culturale.....	24
I.5.4. Conduite technologique.....	26
I.6. Propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive.....	26
I.6.1. Action préventive des maladies cardiovasculaires.....	26
I.6.2. Action antimicrobienne.....	27
I.6.3. Action anticancéreuse.....	27
I.6.4. Action préventive contre le SIDA.....	28
I.6.5. Action préventive contre l'Alzheimer.....	28
II. Marché mondial, national et régional de la filière huile d'olive vierge.....	29
II.1. Marché mondial de l'huile d'olive vierge.....	29
II.1.1. Production.....	29
II.1.2. Consommation.....	31
II.1.3. Commerce mondial.....	33
II.2. Aperçu sur le secteur oléicole national : filière Huile d'Olive Vierge.....	33
II.2. 1. Caractéristique de la production.....	33
II.2. 2. Profil variétal.....	34
II.2.3. Destination de la production.....	35
II.2.4. Situation de la filière de l'huile d'olive.....	35
II.2. 5. Commercialisation.....	36
II.3. Aperçu sur la filière Huile d'Olive Vierge au niveau de la région Tadla Azilal...	37

II.3.1. Superficie.....	37
II.3.2. Production.....	37
II.3.3. Profil variétal	37
II.3.4. Destination de la Production.....	37
II.3.5. Commercialisation.....	37
Conclusion	38

Partie II : Etude Expérimentale..... 39

I. Méthodes spectroscopiques et chimométriques..... 40

I.1. Spectroscopie infrarouge.....	40
I.1.1. Principe.....	40
I.1.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	42
I.1.3. Spectroscopie vibrationnelle.....	44
I.1.3.1. Molécule diatomique.....	44
I.1.3.1.1. Oscillateur harmonique.....	44
I.1.3.1.2. Oscillateur anharmonique.....	46
I.1.3.2. Molécule poly-atomique.....	46
I.2. Chromatographie en phase gazeuse.....	47
I.3. Méthodes chimométriques.....	49
I.3.1. Analyse en composantes principales.....	49
I.3.2. Classification Ascendante Hiérarchique.....	51

Chapitre I : Caractérisation chimique de l'huile d'olive dans la région Marocaine de Tadla Azilal..... 53

Introduction..... 53

I.1. Matériel et méthodes	54
I.1.1. Echantillonnage.....	54
I.1.2. Détermination des indices analytiques.....	55
I.1.2.1. Acidité.....	55
I.1.2.2. Indice de peroxyde.....	55
I.1.3. Caractérisation des Acides gras par CPG.....	56
I.1.4. Spectroscopie proche infrarouge.....	57
I.2. Résultats et discussion.....	58
I.2.1. Acidité.....	58
I.2.2. Indice de peroxyde.....	59
I.2.2. Chromatographie en phase gazeuse et indices d'insaturations moyens	61
I.2.3. Spectroscopie proche Infrarouge.....	65
I.2.4. Analyse en composantes principales.....	66
Conclusion	68

Chapitre II : Effets de la lumière du soleil, la température et la falsification sur la qualité de l'huile d'olive vierge.....	69
Introduction.....	69
II.1. Matériels et méthodes.....	70
II.2. Résultats et discussion.....	72
II.2.1.Effet de la lumière solaire à 25 ° C.....	72
II.2.2. Effet du Chauffage et de la falsification.....	72
II.2.3. Teneur en eau.....	73
II.2.3.1.Huile d'olive à 25 °C.....	73
II.2.3.2. Huile d'olive chauffée.....	74
II.2.4. Indice de Peroxyde.....	74
II.2.4.1. huile d'olive chauffée.....	74
II.2.4.2. Huile d'olive adultérée.....	76
II.2.5. Indice d'acide.....	77
II.2.5.1. Huile adultérée.....	77
II.2.5.2. Huile d'olive chauffée.....	77
II.2.6. Densité et adultération.....	78
Conclusion.....	78
Chapitre III : Authentification de l'huile d'olive vierge par des méthodes chimométriques couplées à la spectroscopie FT-MIR.....	80
Introduction.....	80
III.1.Matériels et méthodes.....	81
III.2. Résultats.....	83
III.2.1.Distance Euclidienne.....	83
III.2.2.Classification Ascendante Hiérarchique.....	85
III.3. Discussion.....	86
Conclusion.....	89
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	90
Références Bibliographiques.....	94

INTRODUCTION GENERALE

La filière oléicole représente une des plus anciennes activités agricoles les plus importantes dans le bassin méditerranéen, dont la production d'olive et d'huile d'olive a assuré une fortune économique transmise sur plusieurs générations (Uccella, 2001).

L'olivier appartient à la famille des *Oleaceae*. Le genre est appelé "*Olea*" et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce cultivée en Méditerranée est "*Olea europaea L.*".

En plus de l'huile et des olives de table, l'industrie génère de grandes quantités de sous-produits tels que les grignons d'olive brute, l'eau de végétation, les brindilles et les feuilles (Boudhrioua et al., 2009). L'huile d'olive est une combinaison de différents composants, dont chacun joue un rôle important dans sa caractérisation. Il est bien connu que les aspects qualitatifs et quantitatifs de la production d'huiles d'olive et des olives de table varient, entre autres, avec les cultivars, la récolte, le degré de maturité, les modes et durée de stockage et les systèmes d'extraction (Gómez-Rico et al., 2008; Hannachi et al., 2008; Pinheiro & Esteves da Silva, 2005).

La forte demande en huile d'olive vierge de bonne qualité au cours des dernières années est due à ses vertus thérapeutiques qui sont liés à ses activités biologiques et propriétés organoleptiques et nutritionnelles (De Luca et al., 2011 ; Luaces et al., 2003). En effet, un grand nombre de pays ont déployé des efforts particuliers pour améliorer la production d'huile d'olive tant sur le plan quantitatif que qualitatif. Cette nouvelle donnée a eu des conséquences importantes sur la filière désormais soumise à une forte concurrence où la qualité et la différenciation des huiles d'olive deviennent un facteur de compétitivité de ce secteur.

Au Maroc, la filière d'huile d'olive a fait l'objet d'un intérêt marqué de l'Etat à travers la mise en place en 1998 du Plan National Oléicole (PNO). Ce programme a accéléré le rythme de développement de ce secteur mais les résultats restent en deçà des objectifs fixés. Par ailleurs la stratégie agricole du Plan Maroc Vert (PMV, 2008) consiste à corriger les impacts négatifs des contraintes dont pâtit encore ce secteur.

Le secteur d'huile d'olive a connu un accroissement de la production suite à l'augmentation des superficies plantées en olivier. En effet, on assiste au développement d'une industrie de transformation dynamique au sein de cette filière : un secteur moderne qui compte actuellement 327 unités de trituration modernes et un secteur traditionnel constitué de 16018 Maâsras (MAPM, 2013). Cette filière assure la production du pays en huile d'olive de 1.248.200 tonnes (moyenne de ces 5 dernières années) soit 4% de la production mondiale et occupe la quatrième position après l'UE (75 %), la Syrie (7%), la Tunisie (6%) et la Turquie (4%) (COI, 2012).

Cependant un certain nombre de défaillances limitent fortement les performances de ce secteur qui subit un manque à gagner en termes de production, de transformation, de valorisation et de marketing. Ce qui explique que la filière huile olive au Maroc est bien moins développée que celles des pays voisins du pourtour méditerranéen.

Le patrimoine oléicole constitue la principale essence fruitière au niveau de la région Tadla-Azilal représentant ainsi près de 60% des plantations fruitières dans cette zone. Au cours de ces dernières années, la filière oléicole a connu un dynamisme important à travers l'extension des superficies oléicoles. Le profil variétal est très dominé par la variété dite "Picholine Marocaine" qui représente 82 % de la superficie totale oléicole (DRATA, 2013). Le secteur de transformation des olives dans la région est caractérisé par la vétusté de son parc et la dominance des moulins traditionnels influant négativement sur la qualité de l'huile. En outre, l'insuffisance de données sur les huiles d'olives vierges (HOVs) dans la région de Tadla Azilal nous a conduits à entreprendre le présent travail sur les HOVs de la région.

La première partie de ce travail porte sur la caractérisation chimique et la classification de l'huile d'olive vierge de la variété Picholine Marocaine selon différentes zones géographiques, dont l'objectif primordial est de contribuer à une meilleure connaissance de la qualité de l'huile d'olive et à l'établissement de bases de données de l'huile d'olive produite dans la région Tadla Azilal au Maroc . En effet, des analyses chimiques de base (acidité et indice de peroxyde) ont été effectuées sur l'ensemble des échantillons, ainsi que la composition en acides gras. En outre, une étude

chimio-métrique a été appliquée en couplant l'analyse en composantes principales (ACP) à la spectroscopie infrarouge pour pouvoir discriminer entre les huiles d'olives vierges de la région de Tadla Azilal.

La deuxième partie a pour but de contribuer à la valorisation de la variété Picholine Marocaine, à travers l'évaluation de l'effet des facteurs suivants : la lumière du soleil, la température et la falsification sur la qualité de l'huile d'olive vierge extraite de la variété Picholine Marocaine. Ainsi, nous avons déterminé les paramètres caractéristiques de la qualité de l'huile d'olive vierge (HOV) comme la teneur en eau (TE), l'indice de peroxyde (I_P), l'indice d'acide (IA) et la densité (D) selon les effets de la lumière du soleil, la température et la falsification.

La dernière partie consiste à la contribution à la maîtrise de la qualité de l'huile d'olive vierge (HOV) adultérée par des huiles d'olives raffinées (HOR) dans certains marchés informels par des outils non coûteux et rapides . Dans ce cadre, nous avons analysé des échantillons d'huile d'olive vierge par la spectroscopie Moyen Infrarouge à Transformé de fourrier (MIR-TF) couplée à des techniques d'analyses des données à travers la Distance Euclidienne (DE) et la classification ascendante hiérarchique pour la détection et la quantification de l'adultération de l'huile d'olive vierge par de l'huile raffinée.

Partie I : Etude Bibliographique

I. Caractérisation de l'huile d'olive

I.1. Définitions et classification

L'**huile d'olive** est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

Selon la norme du Conseil Oléicole International (COI, 2011), les huiles d'olives sont classées en plusieurs catégories :

- **Huiles d'olive vierges** : ce sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas l'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. Elles font l'objet du classement et des dénominations ci-après :

- **Huile d'olive vierge extra** : est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la dite Norme ;
- **Huile d'olive vierge** : est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la dite Norme ;
- **Huile d'olive vierge courante** : est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme ;
- **Huile d'olive vierge lampante** (non propre à la consommation en l'état) : est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3,3 grammes pour 100 grammes et/ou dont les caractéristiques organoleptiques et les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques.

- **Huile d'olive raffinée** : est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas des modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes et ses autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme.

- **Huile d'olive** : est l'huile constituée par le coupage de l'huile d'olive raffinée et des huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes et ses autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme.

- **Huile de grignons d'olive** : est l'huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

I.2. Procédure d'élaboration de l'huile d'olive

Pour garantir une production en huile d'olive respectant une certaine norme d'hygiène et de qualité et à moindre coût, il est nécessaire d'utiliser une technologie d'extraction adéquate. La qualité de l'huile d'olive varie également en fonction de la variété, des conditions pédoclimatiques, des conditions de production, de transformation et de commercialisation des olives et des huiles.

Quelque soit le système utilisé pour l'élaboration de l'huile d'olive, les olives doivent transiter par les étapes illustrées dans le schéma ci-dessous. Les différences résident au niveau des techniques utilisées pour réaliser chaque étape.

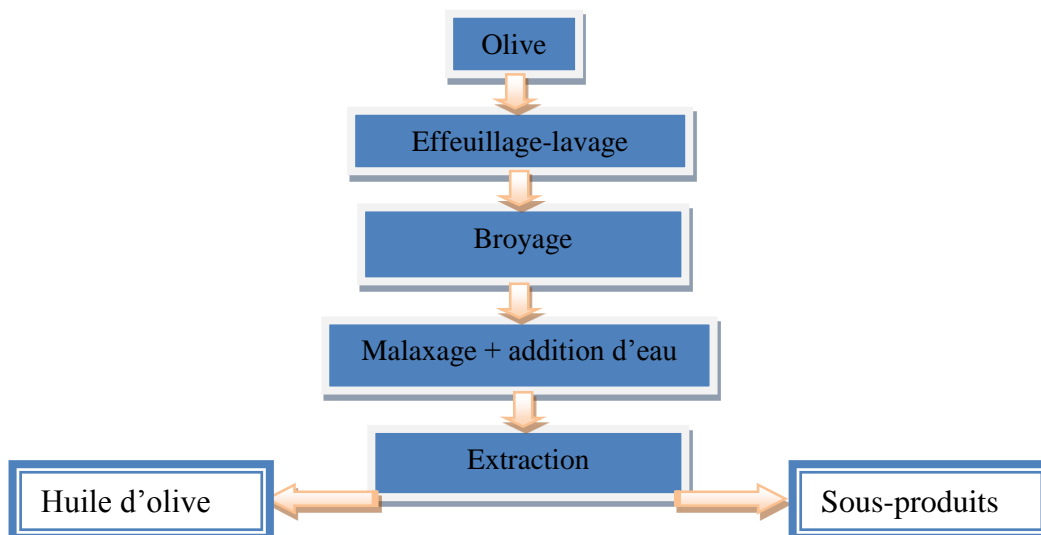


Figure 1 : Procédé générique de fabrication de l'huile d'olive

Ces différentes étapes se présentent comme suit :

- **Broyage :**

Le temps de stockage après la récolte joue un rôle important dans la qualité de l'huile obtenue. Il entraîne des fermentations contrôlées ou pas modifiant ainsi la qualité de l'olive (Di Giovacchino, 1991; Di Giovacchino, 1997; Ollivier & Guérère, 2000; Pereira et al., 2002). L'idéal consiste dès la cueillette, à trier les olives pour éliminer les brindilles et les feuilles, puis à les laver à l'eau froide.

Le broyage constitue la première phase de l'extraction proprement dite. Les olives sont soumises à des actions mécaniques qui provoquent la rupture des parois cellulaires et des membranes entraînant la libération des sucs cellulaires et de l'huile. Le produit obtenu à l'issue de cette phase, dans la plupart des installations, est une pâte, masse semi fluide composée d'une fraction solide (fragments de noyau, peau et pulpe) et d'une fraction liquide (émulsion d'eau et d'huile).

Le broyage des olives a un double impact sur le rendement d'extraction et sur la qualité de l'huile.

- **Malaxage**

Le malaxage est une opération indispensable avant la séparation des différentes phases de la pâte. Il a pour but d'homogénéiser la pâte d'olive, de rompre l'émulsion entre l'huile et l'eau et de faire agglomérer les particules d'huile en gouttes plus grandes qui tendent à se séparer spontanément de l'eau.

Cette étape est très importante pour le rendement final en huile mais aussi pour le développement des fractions volatiles aromatiques, et pour les teneurs en vitamine E et en phénols.

- **Extraction**

Le broyage et le malaxage aboutissent à la formation d'une pâte qui contient de la matière solide et des fluides. La matière solide appelée **grignon** est constituée de débris de noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires...etc., alors que la partie fluide est composée d'huile et d'eau de végétation appelée **marginé**.

Elle consiste en la séparation du mout d'huile et de grignon. L'extraction est réalisée par divers systèmes qui font appel à des principes mécaniques de conception différente (Ouaouich & Chimi, 2007).

- **Stockage et conditionnement de l'huile d'olive**

Le stockage et la conservation constituent des facteurs importants dans la qualité de l'huile destinée à la consommation. Après l'extraction de l'huile, cette dernière peut alors être filtrée pour devenir limpide et brillante ou pour être mise en bouteille en l'état. Il faut veiller à ce que le lieu de stockage ne contienne ni odeurs agréables ni désagréables car l'huile absorbe facilement les substances odorantes. Il faut également veiller à l'absence d'altération de l'huile par contact avec des matériaux non appropriés. L'huile peut subir aussi des altérations oxydatives. Celles-ci sont favorisées par l'exposition à l'air et à la lumière mais aussi par une température trop élevée ou par la présence de métaux. En effet, l'huile doit être stockée à une température entre 12-18°C, afin d'éviter le chauffage et le gel. Si non, l'huile devient blanchâtre, relativement solide, avec un dépôt formé par la cristallisation partielle au cours de l'hiver (à une température inférieure à 10°C).

Les températures supérieures à 22-25°C doivent être également évitées car elles accélèrent les modifications biochimiques et les phénomènes d'oxydation qui peuvent conduire au rancissement de l'huile d'olive (Sacchi, 2007).

Le stockage s'effectue généralement dans des cuves souterraines ou dans des réservoirs métalliques (en acier noir émaillé ou en inox).

Le stockage des huiles en cuve peut même se faire sous atmosphère d'azote, permettant également de limiter les altérations oxydatives en évitant ainsi le contact de l'huile avec l'oxygène de l'air (Afidol, 2005). Pour les particuliers, il est conseillé d'utiliser un conditionnement de petit volume, que ce soit une bouteille en verre (teinté de préférence) ou un bidon métallique en fer blanc. Une bouteille entamée ne doit pas excéder 6 mois et doit s'effectuer à l'obscurité.

L'aptitude de l'huile à la conservation est d'avantage influencée par la technologie de trituration propre à chaque type d'unité que par l'état de la matière première mise en œuvre. Elle dépend aussi des caractéristiques physico chimiques initiales de l'huile produite (Chimi, 2006).

I.3. Systèmes d'élaboration de l'huile d'olive

Les systèmes de transformation de l'huile d'olive englobent :

I.3.1. Systèmes discontinus d'extraction par presse

Les systèmes à presses sont des systèmes classiques. Ils sont classés selon la pression exercée en :

- Systèmes traditionnels «Maâsras» dont la pression est de l'ordre de 100 kg/cm² ;
- Systèmes semi modernes dont la pression est aux environs de 200 kg/ cm² ;
- Systèmes modernes équipées en super presses pouvant développer une pression de 400 kg/ cm². Ce système utilise des presses métalliques à vis ou, le cas échéant, des presses hydrauliques.

Le broyage des olives est réalisé par des meules en granit qui tournent dans un bac dont le sol est également en pierre et/ou à l'aide de broyeurs métalliques (à marteaux, à cônes ou à disques dentés). Les meules sont légèrement décentrées par rapport à l'axe de rotation, permettant de réduire la pulpe en pâte, et en plus d'en assurer un bon malaxage.

La pâte issue du broyage est empilée sur des disques de matière filtrante (à base d'alfa, doum, nylon, ...) appelés scourtins, à raison de 5 à 10 kg/scourtins. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. La phase liquide s'écoule dans un bac de réception et le grignon reste sur les scourtins. La durée totale de l'opération de pressage, réalisée en une seule fois, varie entre 45 à 60 min.

La séparation de l'huile des eaux de végétation se fait par décantation. Les effluents d'huileries d'olive sont généralement rejetés dans le milieu naturel sans aucun traitement. Par contre les grignons sont utilisés par certaines huileries industrielles pour produire l'huile de grignon par une extraction au solvant ou comme combustible dans des chaudières industrielles, des fours et des bains publics.

Le stockage de l'huile est réalisé dans divers réservoirs : cuves souterraines, fûts, citernes en plastique, tanks et citernes en acier inoxydable.

Avantages et inconvénients

Les opérations de broyage et de pressage de la pâte des olives, conduites en plein air, peuvent entraîner l'altération des huiles de cette pâte qui est exposée à l'air libre durant environ une heure ou plus. Cela peut déjà induire une auto-oxydation de l'huile de la pâte, ce qui n'est pas le cas du second procédé pour lequel les opérations se déroulent en milieu clos et sont optimisées (Argenson, 1999). En effet, l'auto-oxydation de l'huile, déclenchée par la présence de l'air, provoque la dégradation des acides gras insaturés et par conséquent la formation des hydro-péroxydes qui peuvent se décomposer et donner lieu à des produits volatils (aldéhydes, cétones, ...) conduisant à un état de rancissement oxydatif de l'huile (Chimi, 2006).

Le système de presse peut donner une huile riche en polyphénols permettant de la conserver convenablement. Elle est propre à la consommation selon les caractéristiques physico-chimiques mises en œuvre par la réglementation en vigueur, mais peut être déclassée par les propriétés organoleptiques, surtout à cause du défaut du critère de goût lié au goût «scourtins» et le goût «margines».

L'autre inconvénient de ce système c'est qu'il génère des margines (60 à 70 l/100 kg d'olives), en plus des huiles et des grignons. Ces margines posent un sérieux problème de pollution de l'environnement.

L'avantage de ce système réside dans la production d'une huile pressée à froid et de bonne qualité lorsque les bonnes pratiques d'extraction d'huile et d'hygiène sont respectées (Chimi, 2006).

I.3.2. Système en chaîne continu à deux phases

L'impact des résidus générés par le système continu à trois phases sur l'environnement a suscité le développement de nouvelles technologies notamment le système à deux phases. Sa principale nouveauté est qu'il permet l'élaboration d'huile d'olive vierge sans ajout d'eau dans le "décanteur", pour cette raison, on n'observe pratiquement aucune génération de margine.

La centrifugeuse, tournant à une vitesse de 3.000 à 4.000 tours par minute permet de séparer l'huile et le grignon riche en eau de végétation des olives (Chimi, 2007).

Le système continu à deux phases, appelé aussi procédé d'extraction écologique, permet d'obtenir un rendement meilleur en huile et le temps de séparation est réduit à moins d'une heure, ce qui se traduit par une diminution de l'acidité des huiles produites. En outre, il permet aussi d'éliminer l'utilisation de l'eau du processus, d'où moins de coûts d'investissement et de consommation d'énergie et une réduction très importante de la consommation d'eau. Par conséquent on obtient une huile de meilleure qualité et riche en polyphénols naturels, particulièrement les di-phénols. En effet, la teneur élevée en polyphénols garantit les avantages suivants :

- Pour l'huile, elle assure une plus grande stabilité et des caractéristiques organoleptiques plus marquées, c'est à dire un goût intense avec une couleur verte.
- Pour la santé des consommateurs, elle garantit un plus grand effet antioxydant.

Ce système avec une centrifugeuse horizontale, n'est pas polluant car il ne nécessite pas l'utilisation de l'eau tiède pour la dilution de la pâte. L'effluent ou l'eau de végétation n'est pas produit. Son seul inconvénient est la production des grignons humides. En effet, les grignons résultants de ce procédé contiennent 8 à 10% plus d'eau que ceux issus du procédé à trois phases. Il est donc indispensable d'équiper les huileries travaillant selon le procédé écologique d'une installation de séchage des grignons.

Les avantages que présentent les systèmes d'extraction en continu comparativement à la méthode traditionnelle sont les suivants :

- Grande capacité de trituration ;
- Simplification mécanique ;
- Elimination des scourtins ;
- Elaboration en continu ;
- Besoin moins important en main-d'œuvre;
- Faible superficie occupée par l'installation.

I.3.3. Système en chaîne continue à trois phases

Ce système fonctionne avec deux centrifugations, la première pour séparer les grignons et les huiles plus les margines et la seconde pour séparer les huiles et les margines (les trois phases sont les grignons, les margines et les huiles). L'introduction de ces installations «continues» qui a commencé depuis les années 1970 a permis de réduire les coûts de transformation et la durée de stockage des olives, entraînant ainsi une production oléicole de moindre acidité. Ajoutons que le système à trois phases nécessite l'addition d'eau (20-25 °C).

Ce système a les inconvénients suivants :

- Il génère une quantité considérable de margine ;
- Il donne lieu à des grignons à teneur élevée en humidité (45% à 55%) (Chimi, 2006) ;
- Il consomme une quantité élevée d'eau et d'énergie thermique.

Les différents procédés d'extraction affectent la qualité de l'huile d'olive vierge et certains composants chimiques comme les polyphénols qui sont très solubles dans l'eau. En effet, l'huile d'olive vierge extraite par la méthode dite de centrifugation contient moins de polyphénols; du fait que l'eau utilisée pour diluer la pâte, est tiède. Une augmentation dans la quantité de cette eau, dissout partiellement les polyphénols et réduit leur taux, et par conséquent la stabilité de l'huile d'olive au cours du stockage (Tsimidou et al., 1992; Bianchi et Pozzi, 1994). En revanche, l'huile obtenue par pression a les mêmes teneurs en ces composés, car elle ne nécessite pas l'ajout de l'eau (Di Giovacchino, 2000). Dans la plupart des huileries traditionnelles, le lavage des olives n'est pas pratiqué, alors que pour le système à 3 phases, il est appliqué après l'effeuillage.

I.4. Composition chimique de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge (HOV) est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés (Angerosa et al., 2004 ; Kiritsakis,1993).

La composition de l'huile d'olive change selon la variété, les conditions climatiques et l'origine géographique.

Comme toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est composée d'une fraction saponifiable (triglycérides) et d'une fraction insaponifiable (composants mineurs).

I.4.1. Fraction Saponifiable

La fraction saponifiable ou glycéridique représente 98 % à 99% de l'huile d'olive. Elle est composée essentiellement de triglycérides, esters du glycérol et d'acides gras (AG).

✓ Acides Gras

Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne est composée de 14 à 24 atomes de carbone. Leur chaîne aliphatique est soit saturée soit mono ou polyinsaturée. La variabilité en acides gras est relativement importante, mais en moyenne, l'huile d'olive vierge se compose de 72% d'acides gras mono-insaturés (AGMI), de 14% d'acides gras polyinsaturés (AGPI) et de 14% d'acides gras saturés (AGS) (Harwood et al., 2000).

L'abondance de l'acide oléique, un acide gras mono-insaturé, est la caractéristique qui définit l'huile d'olive en dehors des autres huiles végétales. L'acide oléique (C18 :1n-9) représente 56 à 84% des acides gras de l'huile d'olive (Rossel, 2001), tandis que l'acide linoléique (C18 :2n-6) qui est un acide gras polyinsaturé essentiel pour l'alimentation humaine représente 3 à 21% (Tiscornia et al., 1982 ; Visioli et al., 1998).

Les acides gras insaturés sont généralement de configuration cis, mais certains acides gras peuvent présenter une configuration spatiale trans, notamment dans les produits issus de transformations industrielles. L'isomérisation cis-trans se fera d'autant plus facilement que l'acide gras sera insaturé et que le traitement thermique sera poussé (Judd, 1994).

Le tableau 1 regroupe les noms des différents acides gras présents dans l'huile d'olive ainsi que leur nomenclature et leurs proportions.

La composition en acides gras diffère d'un échantillon à un autre selon la zone de production de l'huile d'olive. Les facteurs primaires affectant la composition en acide gras sont l'altitude, le climat, la variété et l'étape de maturité des olives.

Tableau 1: Composition en acides gras de l'huile d'olive vierge (limites fixées par le COI, 2011)

Acides gras	Nomenclature	Limites (%)
acide myristique	C14:0	≤ 0.05
acide palmitique	C16:0	7,5-20,0
acide palmitoléique	C16:1 n-7	0,3-3,5
acide heptadécanoïque	C17:0	≤ 0.3
acide stéarique	C18:0	0,5-5,0
acide oléique	C18:1 n-9	55,0-83,0
acide linoléique	C18:2 n-6	3,5-21,0
acide α -linoléique	C18:3 n-3	≤ 1,0
acide arachidique	C20:0	≤ 0.6
acide gadoléique	C20:1 n-11	≤ 0.4
acide béhénique	C22:0	≤ 0.2
acide lignocérique	C24:0	≤ 0.2

✓ Triglycérides

Les triglycérides constituent environ **98%** des lipides de l'huile d'olive. Ce sont des triesters résultant de la combinaison de trois molécules d'Acides gras par leur fonction carboxyle avec les fonctions alcooliques d'une molécule de glycérol (Chevreul, 1823).

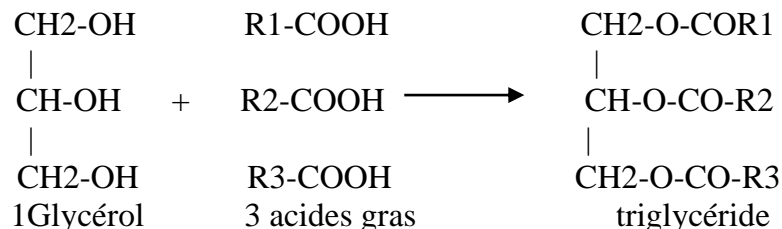


Schéma de synthèse des triglycérides (avec R = structure carbonée de l'acide gras)

Dans l'huile d'olive, les acides gras insaturés sont majoritairement estérifiés en position 2 du glycérol, alors que les AGS se retrouvent préférentiellement sur les positions alcools externes du glycérol. Quant à l'acide oléique (AGMI), il se distribue équitablement entre les trois positions du glycérol, en privilégiant la position 2 (Graille, 2003).

Les triglycérides sont couramment désignés par trois lettres correspondant aux abréviations des acides gras qui estérifient le glycérol.

Selon Tiscornia. et al., 1982, les triglycérides entièrement saturés tels que le PPP, SSS, PSP, SPS, etc, ne sont pas trouvés dans l'huile d'olive.

Les huiles d'olive sont constituées d'une vingtaine de triglycérides dont trois sont majoritaires: OOO (trioléine, entre 40 et 60 %), POO (palmitylidioléine, entre 10 et 20 %), LOO (linoléylidioléine, entre 10 et 20 %) (Avec O=acide oléique; L=acide linoléique; P=acide palmitique) (Ollivier, 2005 ; Rayan, 1998). Il est important de signaler qu'aucune norme ne fixe de limites quant aux proportions de triglycérides présents dans les huiles d'olive vierges.

I.4.2. Fraction Insaponifiable

L'insaponifiable correspond à l'ensemble des constituants d'un corps gras qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants des graisses (éther diéthylique, hexane, heptane, solvants chlorés...).

La fraction insaponifiable (composants mineurs) représente environ 2% du poids total de l'huile notamment plus de 230 composés chimiques, tels que les alcools aliphatiques et tritépéniques, les stérols, les hydrocarbures, les composés volatils et les polyphénols (Servili et al., 2002).

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

✓ Tocophérols

Ce sont des vitamines liposolubles. Les tocophérols ont une double action bénéfique, comme vitamine (Vitamine E) et comme antioxygène (Burton et al., 1986). La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable puisqu'elle a été reportée dans une gamme allant de quelques mg à 450 mg/kg d'huile (Grigoriadou et al., 2007 ; Boskou, 2006 ; Gutierrez, 1999).

Vitamine E est le terme générique utilisé pour désigner les différents tocophérols qui se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (Le Grusse, 2003). Le tableau 2 regroupe la structure des tocophérols.

Tableau 2: Structure des tocophérols et des tocotriénols (Wendy, 1996)

Formule brute	Masse molaire	R ₁	R ₂	R ₃
α : C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430,7	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β : C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416,7	CH ₃	H	CH ₃
γ : C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416,7	H	CH ₃	CH ₃
δ : C ₂₇ H ₄₆ O ₂	402,6	H	H	CH ₃

Les tocophérols se distinguent sous quatre formes : α , β , γ et δ . l' α -tocophérol est majoritaire à plus de 88% avec une teneur moyenne d'environ 12 à 25 mg/100g, ainsi ou par ailleurs on trouve un peu de beta et gamma tocophérols, alors que le delta tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces (Psomiadou et al., 2000).

Cette différence structurale conduit à des pouvoirs antioxydants différents. Le delta tocophérol est souvent considéré comme le plus efficace mais son activité relative dépend de la température et de la nature du substrat et un ordre différent a parfois été obtenu (Jung et Min, 1990 ; Wendy et al., 1996 ; Porter, 1986).

La quantité de tocophérol dans l'huile d'olive dépend non seulement de la présence de ces composés dans l'olive mais aussi d'autres facteurs impliqués dont la variété d'olive et sa maturité (Aparicio et Luna, 2002) ainsi que les conditions et la durée de la conservation (Kiritsakis et Markakis, 1987; Psomiadou et al., 2000; Guillard, 2003), le transport et le procédé de traitement du fruit.

Par ailleurs, il a été suggéré que la vitamine E pourrait exercer des effets bénéfiques à l'égard des maladies cardiovasculaires et contre le cancer par divers mécanismes (Freedman et al., 1996; Heinonen et al., 1998; Devaraj et Jialal, 1999; Shklar et Oh, 2000).

✓ **Pigments**

La couleur de l'huile d'olive est essentiellement liée à la présence des chlorophylles, de la phéophytine ainsi qu'aux caroténoïdes (Gandul-Rojas et Mínguez-Mosquera, 1996; Mínguez-Mosquera et al., 1991).

L'huile d'olive vierge a une couleur qui s'étend du vert-jaunâtre à l'or, selon la variété, le degré de la maturité du fruit, la zone de production, le système d'extraction et les conditions de stockage.

La composition et la teneur totale des pigments naturellement présents dans l'huile, sont des paramètres importants parce qu'elles sont corrélées à la couleur, qui est un attribut de base pour évaluer la qualité d'huile d'olive. Les pigments sont également impliqués dans les mécanismes de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation. Leur contenu dans l'huile d'olive s'étend entre 1 et 20 ppm (Boskou, 1996), mais change selon la variété, la température et la durée du traitement thermique de l'olive (Paull et Chen, 2000; Garcia et

al., 2001), ainsi que la culture, le sol, le climat, et le degré de maturation du fruit (Boskou, 1996 ; Criado et al., 2007).

Deux classes de pigments naturels se trouvent dans l'huile d'olive:

- Chlorophylles et Phéophytines;
- Caroténoïdes

- Les chlorophylles (0,1 à 1 mg/100 g) sont responsables de la couleur verte de l'huile. On trouve des chlorophylles α et β , et des phéophytines (Ryan, 1998). Les chlorophylles perdent leurs ions magnésium et se transforment en phéophytines qui sont des pigments verts olives jaunâtres. Parmi ces derniers, la phéophytine α (Phéo α) est prédominante (Minguez-Mosquera et al., 1990 ; Minguez-Mosquera et al., 1991 ; Rahmani et Csallany, 1991 ; Gandul-Rojas et Minguez-Mosquera, 1996 ; Psomiadou et Tsimidou, 2001).

Ces pigments jouent biologiquement une action d'excitation du métabolisme, de stimulation de la croissance cellulaire et de l'hématopoïèse, et ils accélèrent les processus de cicatrisation. A noter que la chlorophylle oxyde l'huile en présence de lumière alors qu'à l'obscurité elle possède une activité antioxydante. C'est une des raisons pour lesquelles il est conseillé de conserver l'huile d'olive à l'abri de la lumière.

- Les caroténoïdes (0,5 à 1 mg/100 g): ce sont également des pigments de couleur jaune-orangé naturels mais à structure d'hydrocarbure. Parmi lesquels, on trouve le bêta - carotène (provitamine A) à des concentrations variables (0.3 à 3.7 mg/kg). Il fournit par clivage de la vitamine A, élément jouant un rôle fondamental dans la vision et ayant aussi une action antioxydante. L'huile d'olive est d'ailleurs la seule huile végétale à en posséder. Les caroténoïdes se décomposent également au cours du stockage de l'huile, surtout si elle est exposée à la lumière (Ryan, 1998).

✓ **Hydrocarbures**

Ils sont formés lors de la synthèse des acides gras. Deux hydrocarbures sont présents en quantités importantes dans l'huile d'olive, le squalène et le β - carotène (provitamine A).

Le squalène est le constituant majeur de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive et représente plus de 90% des hydrocarbures (Perrin, 1992 ; Lanzon et al., 1994). Sa présence est considérée comme partiellement responsable des effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé et son action chimio-préventive contre certains cancers (Rao et al., 1998, Smith et al., 1998). Ce composé est un précurseur du cholestérol (Assman, 2008).

✓ **Stérols**

Les stérols sont rencontrés dans l'huile d'olive sous forme libre et estérifiée avec les acides gras, et ayant tous en commun le noyau stérol et se différenciant par leur chaîne latérale. Ils représentent environ 15 % de la fraction insaponifiable.

Le contenu en stérols est d'environ 100 à 300 mg pour 100 g d'huile, teneur variant selon la variété des olives et leur degré de maturité (Ryan, 1998). Ainsi, la quantité totale de stérols dans l'huile d'olive extra vierge varie de 113 à 265mg/100g (Gutierrez et al., 1999; Kiritsakis et Markakis, 1987).

Le principal stérol est le β - sitostérol qui représente jusqu'à 90 à 95 % de tous les stérols présents, et qui a une action anticarcinogène (Awad et al., 1998; Awad et al., 2000; Raicht et al., 1980). Ce composé est connu pour s'opposer à l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire. D'autres composés (phytostérols) sont présents dans l'huile d'olive à citer : le delta-5-avénastérol (5 à 20 mg/100 g), le campestérol (1 à 5 mg/100 g), le stigmastérol (0,5 à 2 mg/100 g), et en infimes quantités, le cholestérol, le campestanol, le delta-7-camestérol, le cholérostérol, le delta-5-24-stigmastadiénol, le delta-7-avénastérol.

✓ **Composés aromatiques**

Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire possédant une volatilité à température ambiante. L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez (Angerosa, 2002).

Les constituants aromatiques confèrent à l'huile d'olive toutes ses qualités organoleptiques, en termes d'arôme et de saveur. Le cultivar, l'état de maturité du fruit, ses conditions de stockage et le procédé d'extraction influent considérablement sur la qualité des arômes.

Plus de 70 molécules composent la fraction volatile des huiles d'olive. Elles sont réparties en aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures et cétones. La majorité des composés sont à 5 ou à 6 atomes de carbone et parmi eux on trouve l'hexanal, le trans-2-hexenal, l'hexan 1-ol et le 3-méthylbutan-1-ol (Angerosa, 2002 ; Kiritsakis, 1998 ; Aparicio, 1997).

✓ **Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des composés hydrosolubles à propriétés amphipathiques, présents en quantité variable (entre 1 et 10 g/kg d'olives) dans la pulpe de l'olive. Ceci dépend essentiellement de la variété des olives (Gomez, 2008 ; Tura, 2008 ; Tura, 2007 ; Vinha, 2005), du degré de maturité à la récolte, de l'environnement et des conditions de traitement (Botía et al., 2001; Brenes et al., 1999 ; Bruni et al., 1994; Cinquanta et al., 1997; Esti et al., 1998; Kiritsakis, 1998; Léger, 1999 ;Romani et al., 1999; Salas et al., 1997; Vinha et al., 2005). Gomez (2009) a montré que la culture de l'olivier, notamment les systèmes d'entretien des arbres ou les systèmes d'irrigation influencent la composition phénolique de l'huile d'olive. En effet, un stress hydrique engendrera une plus grande richesse des huiles en composés phénoliques.

Les composés phénoliques présents dans l'huile d'olive, extractibles par le mélange eau/méthanol, sont communément désignés comme bio-phénols (Uccella, 2001).

L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité oxydante, et améliorent considérablement sa saveur (Fedeli et al., 1977). En outre, ces composés phénoliques contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume des huiles (Brenes, 2000).

Si les composés phénoliques sont aujourd'hui au centre de nombreuses études, c'est surtout pour leur potentiel en matière de prévention de la santé humaine (Garcia, 2010 ; Vierhuis, 2001). Comme les tocophérols, ils participent à la stabilité de l'huile, soit par piégeage des radicaux libres, soit par chélation de certains métaux ou encore par protection de molécules anti-oxydantes (Besançon et al., 2000).

Les composés phénoliques sont présents dans les olives et dans les huiles sous différentes familles, à savoir:

- Les dérivés sécoiridoides : l'oleuropéine est le composé majoritaire dans les feuilles d'olivier et dans les olives et c'est le principal responsable de l'amertume des olives (Andrews, 2003; Soler, 2000; Shasha, 1961). Le ligstroside est également présent en grande quantité dans l'olive.
- Les lignanes telles que le pinorésinol, l'acetoxy-pinorésinol et l'acide élénolique sont également détectées dans les huiles (Yang, 2007 ; Brenes, 2000) et l'hydroxy-pinorésinol (Bendini et al., 2007).
- Les flavonoïdes font également partie des composés majoritaires trouvés dans l'huile, il s'agit de l'apigénine et de la lutéoline (Ocakoglu, 2009; Murkovic, 2004; Ryan, 2003).
- Les phénols simples :
 - Des alcools phénoliques : hydroxytyrosol, tyrosol (Bendini et al., 2007; Romero, 2002; Mazza, 1993; Macheix, 1990) et son dérivé estérifié l'oléocanthal;
 - Acides phénoliques : acide caféique, acide férulique, acide p-coumarique ou encore l'acide vanillique (Yang, 2007; Pinelli, 2003; Garcia, 2003; Tuck, 2002; Ryan, 1998). l'acide caféique (Bianchi et al., 1994; Le Tutour et al., 1992)
 - Des acides phénols libres de la série benzoïque : gentisique, gallique, vanillique et syringique (Bendini et al., 2007) ;
 - Des acides phénols libres de la série cinnamique : acides p-coumarique, o-coumarique, caféique, férulique, sinapique (Bendini et al., 2007) ;
 - Des dérivés estérifiés de l'acide caféique (le verbascoside) et de l'acide élénolique (oleuropéineglycosylée ou non, en grande partie responsable de l'amertume), ces deux acides étant estérifiés par l'hydroxytyrosol ;

Les composés phénoliques majoritaires de l'huile d'olive sont le tyrosol et l'hydroxytyrosol (Forcadell et al., 1987; Montedoro et al., 1992).

Owen et ses collaborateurs (2000a) ont évalué le potentiel antioxydant de différents composés phénoliques de l'huile d'olive et observé qu'un grand nombre d'entre eux, ont des propriétés antioxydantes; c'est le cas notamment de l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide caféique, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, du 1-acétoxypinorésinol et de l'oleuropéine (Galli et Visioli, 1999).

✓ Alcools triterpéniques

Les alcools triterpéniques sont présents dans l'huile d'olive à l'état libre ou bien estérifiés avec les acides gras. Parmi ces composants, on trouve le cycloarténol qui présente un intérêt particulier : il favorise l'excrétion fécale du cholestérol, grâce à une augmentation de l'élimination des acides biliaires.

L'huile d'olive contient également de l' α -amirine, le β -amyrine, l'érythrodiol et l'uvaol, dont ces deux derniers triterpènes sont rarement rencontrés ailleurs (Fedeli et al., 1977; Jacotot, 1993).

I.5. Principaux facteurs déterminant la qualité de l'huile d'olive

Différents facteurs contribuent à la dégradation de la qualité des olives et de l'huile d'olive vierge. La qualité doit être perçue comme une chaîne : elle prend naissance au verger et elle est tributaire des conditions environnantes et génétiques, des soins culturaux, des modalités de récolte, de la durée de stockage au niveau de l'oliveraie et des conditions de transport des fruits à l'unité. Les autres facteurs sont la durée de stockage avant transformation et la conduite technologique d'extraction ainsi que les conditions de stockage et de distribution d'huile de l'olive vierge (Médawar, 2001a; Maroun, 2002; Angerosa, 2002; Uceda et Hermoso, 1996; Venkateshwarlu et al., 2004).

I.5.1. Facteurs génétiques (cultivar)

Le cultivar joue un rôle important sur la qualité de l'huile d'olive. Il agit sur les caractéristiques de fruit (taille, rapport pulpe/noyau, cycle de maturation), sur la lipogenèse et sur les constituants principaux et secondaires de l'huile (Rahmani, 2011).

I.5.2. Facteurs pédoclimatiques

✓ Incidence du sol

L'olivier ne présente pas d'exigences particulière 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 tolère les sols calcaires, mais redoute les terrains trop humides. Le sol doit avoir une teneur en azote élevée (Hannachi H. et al, 2007). Plusieurs facteurs peuvent influencer la qualité d'une huile telle que la nature du sol, son pH et sa composition chimique.

En général, les terres grasses produisent comparativement des huiles moins aromatiques que les terres maigres avec des arbres moins productifs. De plus, les huiles provenant des sols calcaires ont une acidité plus basse que celles des sols argileux. Dans le cas de ces derniers sols (à teneur en argile supérieure à 40 %), le système racinaire est maintenu dans un état d'asphyxie durant l'hiver et le printemps. Les arbres restent chétifs, leur feuillage est vert jaunâtre, les pousses printanières sont réduites, par conséquent, le cycle d'alternance est prononcé.

✓ Incidence du climat

Le climat a un impact direct sur la maturation du fruit et par conséquent sur la composition chimique et sur la qualité de l'huile.

Le gel peut causer des dégâts aux fruits pendant la maturation : le processus de maturité est retardé, surtout dans les milieux les plus froids où il arrive que les fruits n'atteignent pas la maturation physiologique.

L'altitude exerce une grande influence sur la composition de l'huile (acides gras, stérols, certains alcools tri terpéniques, aromatiques).

La lumière et la température affectent la concentration en acides gras de l'huile d'olive vierge. En effet, la composition en acides gras insaturés et notamment en acide linoléique augmente avec la diminution de la température (Rahmani, 2011).

I.5.3. Facteurs agronomiques / Conduite culturale

✓ Fertilisation

L'azote est un stimulateur de croissance, il active le métabolisme de la feuille et agit à chaque stade de la croissance. La fertilisation en azote induit un retard de la maturité des olives et agit positivement sur le rapport pulpe/noyau. Une fertilisation azotée permet également d'augmenter les teneurs en acides oléique et stéarique. En l'absence d'une telle fertilisation, il y'aurait plutôt une augmentation des teneurs en acides palmitique et linoléique.

Des apports élevés en potassium permettent de produire une huile fine présentant une teneur plus élevée en acide oléique (Rahmani, 2011).

✓ Incidence de l'irrigation

L'apport en eau est indispensable pour favoriser le développement et la maturité de l'olive. Les olivettes irriguées donnent lieu à des huiles présentant un rapport acide oléique/linoléique très variable, avec des taux toujours plus bas pour l'acide linoléique. Cette caractéristique, accentuée également par le continu accru de chlorophylle, confère aux huiles une plus grande résistance au rancissement (à l'obscurité) mais les rend très susceptibles à l'oxydation en présence de lumière (photo-oxydation) (Rahmani, 2011).

✓ Pratique de la taille

La taille de l'olivier est une pratique culturale nécessaire pour maintenir les arbres dans un bon état végétatif et productif, en limitant l'attaque des ravageurs et en permettant une bonne photosynthèse. La taille doit être adaptée aux circonstances : si excessives, les tailles peuvent nuire à la production ; si absentes ou trop légères, les arbres deviennent plus susceptibles à l'alternance et à long terme, moins productifs.

✓ Stade et Modalités de récolte :

Le degré de maturité des olives affecte directement ou indirectement la qualité de l'huile d'olive. En effet, les changements dans la physiologie du fruit affectent directement la qualité de l'huile tandis que l'action des agents extérieurs de la détérioration qui se développent durant la maturation l'affecte indirectement.

- **Date optimale de récolte**

Le but de la détermination de la date optimale de récolte des olives destinées à la trituration est d'établir une période propice qui permet d'obtenir un produit à teneur élevée en huile et en polyphénols, avec une note organoleptique appréciable, tout en tenant compte des variétés cultivées et des spécificités climatiques de chaque région oléicole. En effet, la récolte des fruits à cette date contribuera significativement à l'amélioration de la qualité de la production oléicole.

Le stade optimal de récolte correspond à l'indice de maturité pour lequel on a la concentration maximale de polyphénols totaux.

L'utilisation des polyphénols totaux comme indicateur de la date optimale de récolte est une méthode fiable et permet de bénéficier des avantages suivants :

- La teneur optimale des composés phénoliques assure une bonne stabilité de l'huile ;
- Les composés responsables de l'arôme de l'huile ont le même profil de variation, en fonction de la maturation des fruits, que les composés phénoliques ;
- Les composés phénoliques sont des antioxydants naturels. Un regain d'intérêt pour ces composés a été observé ces dernières années, en relation avec les processus de vieillissement et d'athérosclérose (Rahmani, 2011).

- **Modalités de récolte**

La cueillette à la main est une méthode qui permet d'avoir une bonne qualité d'huile du fait qu'elle ne blesse pas les olives, mais la méthode la plus utilisée est celle par peignage en faisant appel à des échelles, des peignes ou des pinces dentées. Un filet doit être disposé sur le sol pour éviter la contamination des olives (terre, microorganismes,...). Les olives tombent dans un filet déployé sous la frondaison de l'arbre.

La récolte des olives par gaulage est à proscrire complètement. Cependant, le gaulage reste un mal nécessaire pour les arbres à grand développement, n'ayant pas subi des tailles régulières de rajeunissement ou d'émondage. Dans ce cas, le gaulage doit être impérativement effectué avec des gaules flexibles et doit être pratiqué à partir de l'intérieur de la frondaison afin d'en limiter les effets néfastes.

Dans tous les cas, il faut toujours séparer les olives cueillies sur l'arbre de celles tombées naturellement et ayant séjourné longtemps sur le sol (Rahmani, 2011).

I.5.4. Conduite technologique

La qualité de l'huile d'olive vierge est affectée par les différents procédés d'extraction. En effet, l'huile d'olive vierge extraite par la méthode de centrifugation contient moins de polyphénols, du fait que l'eau utilisée pour diluer la pâte est tiède. Une augmentation dans la quantité de cette eau, dissout partiellement les polyphénols et réduit leur taux, et par conséquent la stabilité de l'huile d'olive au cours du stockage (Tsimidou et al., 1992; Bianchi et Pozzi, 1994). Di Giovacchino (2000) a démontré que l'huile obtenue par pression a les mêmes teneurs en ces composés, car elle ne nécessite pas l'ajout de l'eau.

I.6. Propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive

I.6.1. Action préventive des maladies cardiovasculaires

Les maladies non transmissibles seront responsables de plus de trois quarts de tous les décès en 2030 (Ortega, 2006). Les maladies cardio-vasculaires (MCV) sont la première cause de mortalité dans le monde et notamment les pays développés industrialisés, leur prévention est donc d'un grand intérêt pour tous ces pays. Pour les acides gras mono-insaturés comme l'acide oléique, les effets les plus significatifs ont été observés lors d'études de substitution entre acides gras saturés et acides gras mono-insaturés. Un remplacement isocalorique de 5% de l'apport énergétique des acides gras saturés par des acides gras mono-insaturés peut réduire de 20 à 40% les risques de maladies cardiovasculaires (Kris-Etherton, 1999). Gardner et coll. quelques années plus tôt (1995) avaient déjà constaté que le remplacement d'acides gras saturés par des acides mono ou polyinsaturés (ω 6) pouvait réduire significativement le taux de LDL-cholestérol. Un fort apport alimentaire en acides gras mono-insaturés va augmenter la proportion de ces acides dans les LDL ce qui va protéger ces derniers de l'oxydation (Kratz, 2002; Reaven, 1996). La relative stabilité des acides gras mono-insaturés par rapport aux acides gras polyinsaturés en fait des molécules plus intéressantes si l'on veut limiter l'oxydation du cholestérol dans les LDL.

Sur la base des études épidémiologiques antérieures soulignant la corrélation directe entre l'alimentation méditerranéenne et une incidence plus faible des maladies cardiovasculaires (Hertog et al., 1993; Ruiz-canala, 2011), diverses études réalisées in vitro et in vivo ont montré que les phénoliques d'huile d'olive extra vierge jouent un rôle important dans la prévention de l'oxydation des LDL aboutissant à l'athérosclérose (Visioli et al., 1995a; Rice-Evans et al., 1996; Cao et al., 1997; Masella et al., 1999).

I.6.2. Action antimicrobienne

Plusieurs études ont montré la capacité de l'hydroxytyrosol à retarder ou à empêcher la croissance d'une gamme de bactéries et des champignons y compris les bactéries pathogènes pour l'homme.

Capasso et ses collègues (1995) ont signalé que parmi les principaux polyphénols de l'eau de végétation, le méthylcatéchol a montré une forte activité bactéricide contre *P. syringae*, en revanche, légèrement actif contre *C. michiganense*.

I.6.3. Action anticancéreuse

Si les acides gras monoinsaturés semblent avoir un rôle prépondérant dans la protection des maladies cardiovasculaires, ce sont les acides gras polyinsaturés qui semblent plus impliqués dans la protection vis-à-vis de certains cancers. Dans le cas du cancer du sein de nombreuses études cas témoins ont montré une tendance à la baisse du risque d'apparition du cancer du sein avant et après ménopause (Witte, 1997; Franceschi, 1996). Des études de cohorte utilisant des biomarqueurs sanguins (phospholipides sériques) ont montré une forte association entre apport en AGPI et baisse du risque de cancer chez la femme ménopausée (Saadatian-Elahi, 2002 ; Pala, 2001).

Les composés mineurs de l'huile d'olive peuvent participer également à la protection contre le cancer, tel est le cas des composés phénoliques de l'huile d'olive. Dans ce cadre, il a été démontré que l'hydroxytyrosol a un effet anticancéreux sur un adénocarcinome du côlon humain (cellules HT-29) et la leucémie promyélocytaire (cellules HL-60) (Fabiani et al., 2002, 2006), alors que l'oleuropéine inhibe la croissance des cellules suivantes : LN-18 ; TF-1a ; 786-O ; RPMI-7951 et Lovo (Hamdi, 2005).

Des extraits d'huile d'olive ont souvent été utilisés *in vitro* pour tester leur activité vis-à-vis de la prolifération de cellules cancéreuses. C'est notamment le cas sur les lignées SKBR3 et JIMT-1 qui sont des lignées de référence en matière de cancer du sein car elles surexpriment HER2 qui est un gène oncogène (Garcia-Villalba, 2010 ; Menendez, 2009). Une étude sur le cancer du côlon a également montré que des extraits phénoliques d'huile d'olive semblaient réduire la capacité d'adhésion des cellules cancéreuses, ce qui ralentirait la prolifération du cancer du côlon (Hashim, 2005).

I.6.4. Action préventive contre le SIDA

Lee-Huang et al. (2003) ont rapporté que l'extrait des feuilles d'olivier est efficace contre le VIH-1. Il a été prouvé que l'efficacité de l'extrait des feuilles d'olives est due à la présence de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol. Ces deux composés, abondants dans l'huile d'olive (Olivie Plus) riche en polyphénols, sont actifs au niveau de plusieurs étapes du cycle de vie du VIH-1. Ils inhibent la transmission du VIH-1 d'une cellule à l'autre et ralentit considérablement la multiplication virale.

I.6.5. Action préventive contre l'Alzheimer

Les AGPI de longue chaîne (Acide éicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA)) ne sont pas présents naturellement dans l'huile d'olive, cependant le corps humain est capable de les synthétiser à partir d'AGPI à 18 carbones. Ces acides gras à longue chaîne carbonée sont particulièrement suivis dans l'étude des maladies liées au vieillissement. Des études récentes sur le rat montrent que l'EPA pourrait améliorer la mémoire et donc réduire le risque de maladie d'Alzheimer (Taepavarapruk, 2010). D'autres études ont mis en relation la présence de DHA et d'EPA dans la structure cérébrale et apparition de dépressions nerveuses (Logan, 2004).

II. Marché mondial, national et régional de la filière huile d'olive vierge

II.1. Marché mondial de l'huile d'olive vierge

II.1.1. Production

La production mondiale de l'huile d'olive a atteint 3 377 500 T en 2011/12, tandis que pour la campagne oléicole 2012/13, elle s'annonce inférieure à 26 %, chutant ainsi à un niveau comparable à celui de 2002/03. Cette baisse de la production globale est principalement due à une diminution de 1 006 600 T de la production espagnole suite à la succession d'une gelée sévère d'hiver et aux fortes chaleurs de l'été.

La figure ci-après présente l'évolution de la production mondiale de l'huile d'olive entre les années 1990 et 2012.

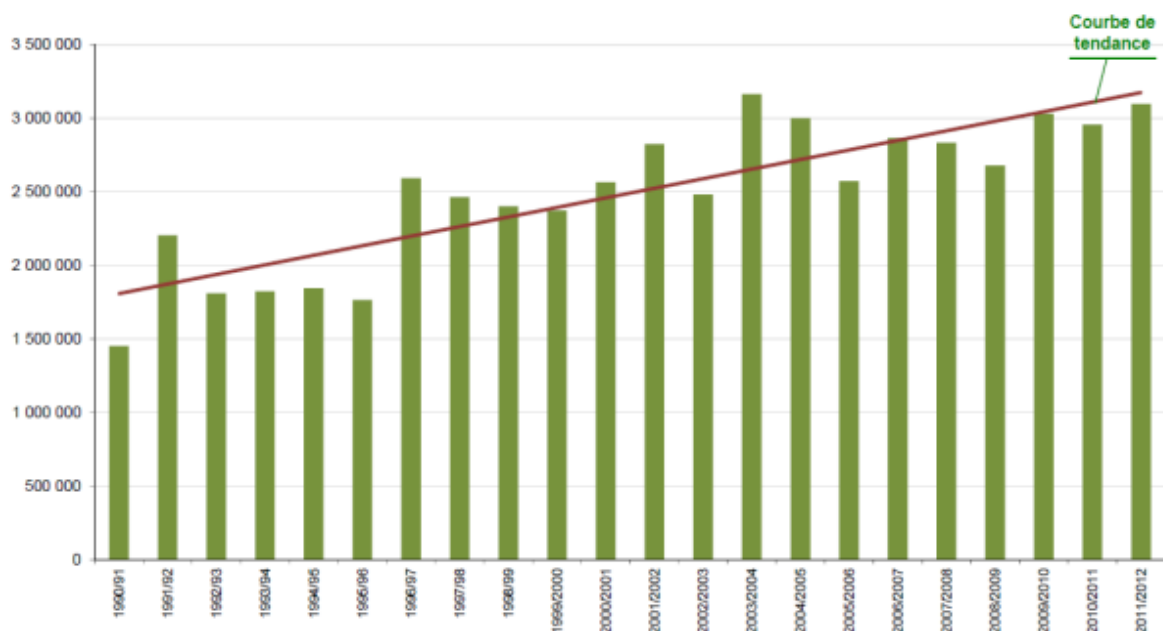


Figure 2: Evolution de la production mondiale d'huile d'olive (T) (COI, 2012)

Sur le plan international, la production mondiale a doublé en l'espace de 15 ans. Elle est passée d'à peu près 1,5 million de tonnes dans les années 90 à 3 millions en 2012. Durant les cinq dernières années, le marché international a vu l'arrivée de nouveaux pays dans le secteur tels que l'Australie, la Jordanie, la Palestine et l'Argentine.

La production de l'huile d'olive par pays en 2012 est illustrée dans la figure qui suit :

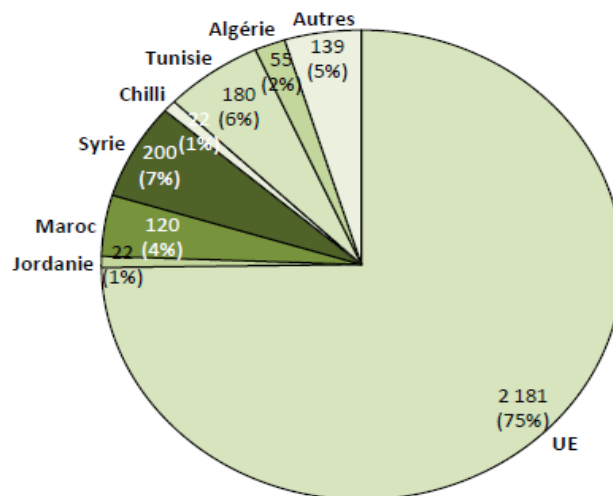


Figure 3: Production d'huile d'olive par pays (KT) (COI, 2012)

Par ailleurs, la production moyenne d'huile d'olive dans l'UE au cours des dernières campagnes s'élève à 2,2 millions T et représente environ 73 % de la production mondiale. L'Espagne, l'Italie et la Grèce représentent environ 97 % de la production d'huile d'olive de l'UE dont environ 62 % pour l'Espagne.

Sur le plan qualitatif en Espagne et pour l'année 2009, 35% de la production d'huile d'olive était une huile extra vierge, 32 % vierge et 33% lampante. En Italie, les pourcentages sont respectivement de 59%, 18% et 24 % pour ces trois catégories d'huile. Ces pourcentages varient d'une campagne à l'autre, notamment du fait des variations des conditions climatiques et de tendances du marché s'orientant vers des huiles de meilleures qualités.



Figure 4: Les pays méditerranéens producteurs de l'huile d'olive (Gros, moyens et petits producteurs)

II.1.2. Consommation

L'Union Européenne est le plus grand consommateur mondial avec une part de 66 %. L'Espagne, l'Italie et la Grèce concentrent environ 80 % de la consommation communautaire, qui s'élève à 1.900.000 T. La consommation semble se stabiliser dans les pays producteurs tandis qu'elle augmente en France et dans les Etats membres non producteurs.

Le modèle de consommation se présente différemment dans les trois principaux Etats membres producteurs. Alors qu'en Italie et en Grèce, la plus grande partie de l'huile consommée est de l'extra vierge, en Espagne, cette catégorie représente moins de la moitié de la consommation d'huile d'olive. La tendance générale s'oriente progressivement vers la consommation de la catégorie extra vierge.

La figure ci-après présente l'évolution de la consommation mondiale de l'huile d'olive par groupe de pays entre les années 2004 et 2012.

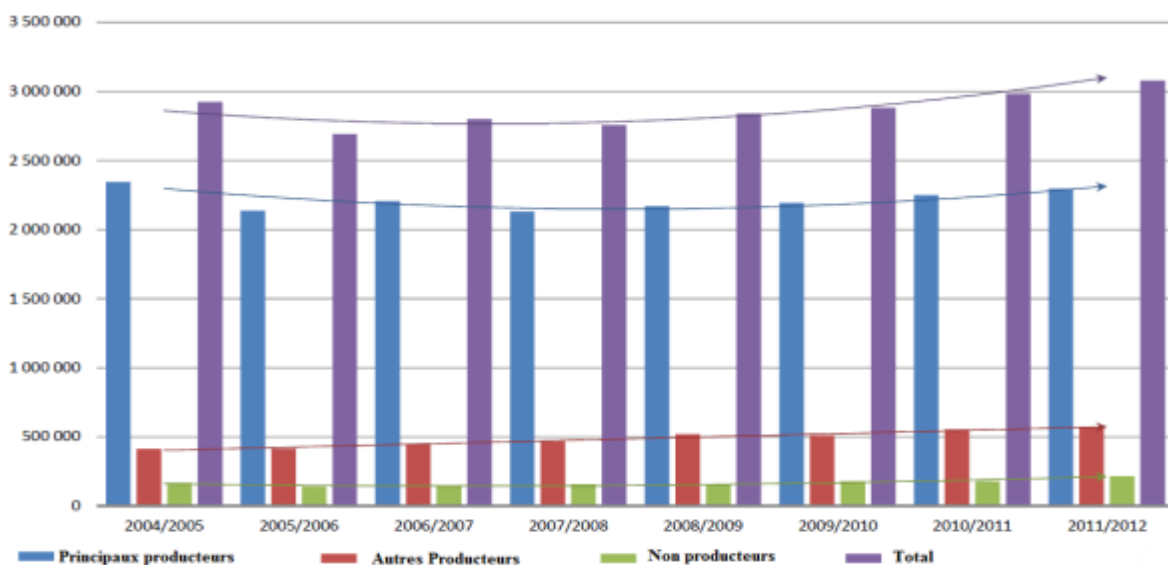


Figure 5: Evolution de la consommation mondiale par groupe de pays (T) (COI, 2012)

Le groupe des principaux consommateurs est constitué des pays suivants : Union Européenne, U.S.A., Syrie, Turquie, Maroc, Algérie, Brésil, Japon, Australie, Canada et Tunisie.

Deux tiers de la production de l'UE fait l'objet d'échanges commerciaux (intra et extra). Le commerce intracommunautaire est en croissance continue. Il s'élevait en 2010/11 à environ 1.000.000 T, soit 45% de la production de l'UE. L'Espagne est le plus gros fournisseur avec 655.000 T et l'Italie le plus gros acheteur avec 533.000 T. Les exportations de l'UE représentent environ 66 % des exportations mondiales. Les exportations sur pays tiers s'élevaient en 2010/11 à 447.000 T dont 225.000 T à partir de l'Espagne et 160.000 T de l'Italie. Les marchés les plus importants sont les USA, le Brésil, le Japon, l'Australie, la Russie et la Chine. Signalons que la Chine est un pays stratégique du fait que le marché croît de 100% par an. En 2012, les Chinois ont importé 45 000T d'huile d'olive dont 91 % de l'UE. Par ailleurs, les importations de l'UE s'élevaient en 2010/11 à environ 115 000T dont la majorité se réalise traditionnellement via le régime de perfectionnement actif et le reste dans le cadre de contingents à droits zéro avec les pays méditerranéens, principalement la Tunisie.

II.1.3. Commerce mondial

Dans une situation marquée par l'augmentation de la consommation mondiale en huile d'olive, les importations mondiales de ce produit connaissent une croissance depuis 15 ans et ont presque doublé passant de 288 000 à 600 500 tonnes en 2009. Les pays européens et d'Amérique du Nord représentent environ 64% des importations dans le monde. D'après le COI, l'Espagne est le premier exportateur mondial, l'Italie étant le second exportateur et la Tunisie le troisième.

II.2. Aperçu sur le secteur oléicole national : filière Huile d'Olive Vierge

II.2. 1. Caractéristique de la production

Au Maroc, le secteur oléicole a une double vocation économique et sociale. La superficie arboricole nationale est en grande partie composée de la culture de l'olivier érigé ce dernier en tant que principale culture fruitière du pays. Ainsi, la filière oléicole participe à hauteur de 5% au PIB agricole et de 15% aux exportations agroalimentaires.

L'oléiculture connaît actuellement une grande expansion avec un accroissement important de la superficie consacrée aux oliviers qui est passée de 763 000 ha en 2007/08 à 933 475 ha en 2012/13. Ce mouvement ascendant bénéficie notamment de la mise en œuvre du Plan Maroc Vert qui fixe comme objectif l'atteinte d'1,2 millions d'hectares de superficie plantée d'ici 2020.

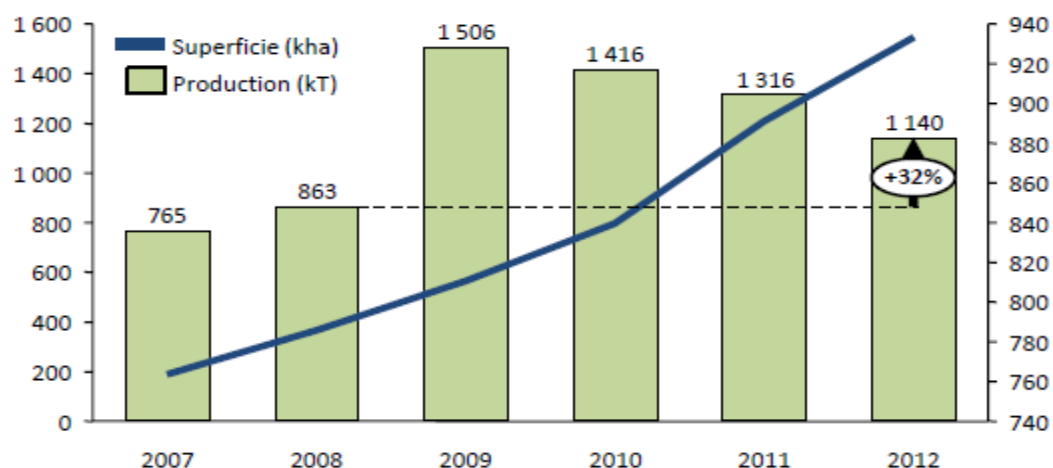


Figure 6: Evolution de la superficie et de la production (MAPM, 2013)

En termes de production, la filière oléicole a connu une nette croissance passant de 765377 tonnes en 2007 à 1,3 million de tonnes avec un pic de 1,5 millions de tonnes en 2010.

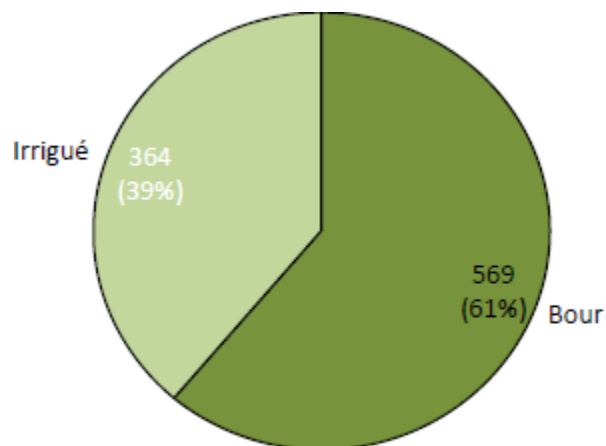


Figure 7: Répartition de la superficie oléicole (kha) (2012) (MAPM, 2013)

II.2. 2. Profil variétal

L'oléiculture nationale est constituée essentiellement de la variété population «Picholine Marocaine» qui représente plus de 96% des plantations. Le reste, soit 4%, est constitué de plusieurs variétés, en particulier : Picholine du Languedoc, Dahbia et Mesllala concentrées essentiellement en irrigué (Haouz, Tadla, El Kelaâ) et de quelques variétés espagnoles et italiennes telles que la Picual, la Frantoio, la Manzanilla, la Gordal Sévillane et l'Arbéquine (MAPM, 2013).

Cependant les orientations stratégiques pour le développement de la filière oléicole visent à travers la directive oléicole de 2012 à diversifier le verger nationale à travers la plantation des variétés autres que la Picholine. En effet, que ce soit dans le cadre des projets pilier II ou dans le cadre des subventions à la plantation FDA, ce sont les variétés Menara et Haouzia qui sont censées être les plus plantées.

Il est important de signaler que la variété «Picholine Marocaine» se caractérise par sa double fin, huile et conserve, et d'une richesse normale en huile. Néanmoins, cette variété présente certains inconvénients, notamment une grande sensibilité à certaines maladies, un fort indice d'alternance de la production et une faible teneur en huile d'olive (18 à 23 % contre 26 à 30% pour les autres variétés à huile). Par ailleurs l'huile d'olive obtenue à

partir de Picholine marocaine est reconnue pour sa qualité. Elle présente ainsi une bonne stabilité oxydative par rapport à celle de l'Arbéquine (Terouzi et al., 2010).

II.2.3. Destination de la production

La filière oléicole se divise en deux branches d'activités d'importance inégale à savoir :

- L'huile d'olive : environ 75% des olives produites sont destinés à la production de l'huile d'olive principalement pour le marché national (elle contribue notamment à répondre au besoin de consommation des huiles alimentaires à hauteur de 16%).
- Les olives de table : la production est principalement destinée à l'exportation, représente 25% de la production totale.

II.2.4. Situation de la filière de l'huile d'olive

Au Maroc, la trituration des olives est réalisée par un secteur moderne composé d'unités industrielles et semi-industrielles et par un secteur traditionnel constitué d'unités artisanales (les maâsras).

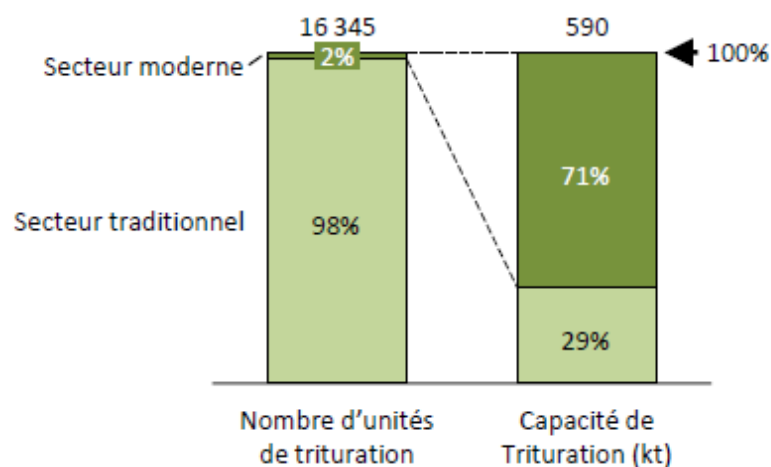


Figure 8:Caractéristiques du secteur de la transformation de l'huile d'olive (2012) (MAPM, 2013)

Il est important de signaler que la consommation nationale de ce produit reste encore faible par rapport aux autres pays du pourtour méditerranéen. L'enjeu est de convertir une partie de la consommation de l'huile végétale en huile d'olive, ce qui reste tributaire de la baisse de l'écart de prix entre ces deux huiles.

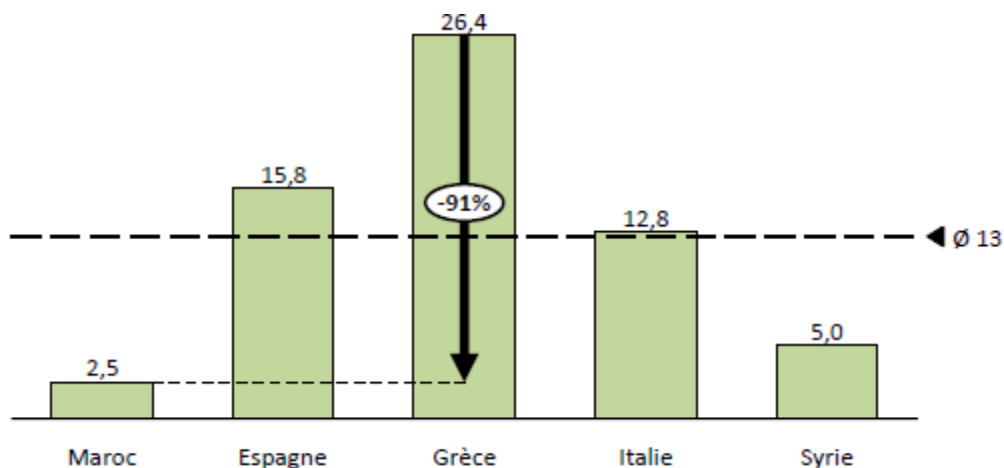


Figure 9: Niveau de consommation de l'huile d'olive par pays (kg/habitant) (2012) (MAPM, 2013)

II.2. 5. Commercialisation

L'analyse de la filière de l'huile d'olive montre que plusieurs contraintes affectent négativement la qualité des huiles produites, notamment l'absence de contrôle de la qualité au niveau des unités de transformation. D'un autre côté, cette filière est marquée par la prédominance de la commercialisation locale de l'huile d'olive qui absorbe entre 85% et 95% de la production moyenne annuelle.

En termes de positionnement sur le marché international, les exportations d'huile d'olive marocaines restent concentrées sur deux principaux marchés à savoir l'Union Européenne et les Etats-Unis. Sous forme brute ou raffinée, ces exportations ont chuté au titre de la campagne 2012 s'établissant ainsi à 15640 tonnes contre 38 172 tonnes en 2011. Près d'un tiers de ce volume (environ 5kT) est constitué d'huile d'olive extra vierge.

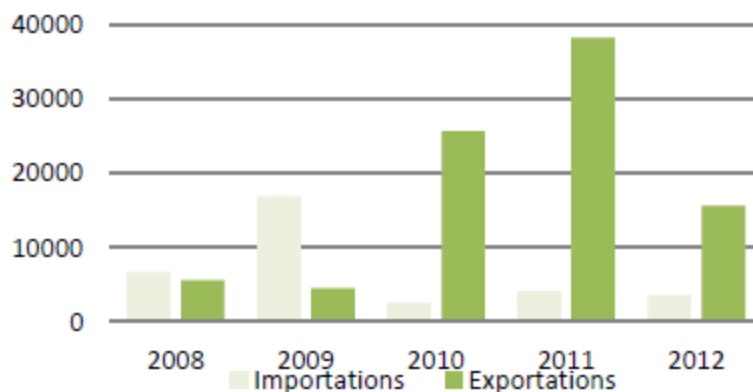


Figure 10: Echanges commerciaux d'huile d'olive (T) (MAPM, 2013)

En termes d'origine des importations, l'Espagne, la France, l'Italie et la Tunisie constituent les principaux pays fournisseurs du marché national avec des volumes d'importations s'élevant à 3500 tonnes au cours de l'année 2012.

II.3. Aperçu sur la filière Huile d'Olive Vierge au niveau de la région Tadla Azilal

II.3.1. Superficie

Au niveau de la zone d'action de la DRA Tadla Azilal, le secteur oléicole occupe une superficie totale de l'ordre de 65 451 Ha dont 50 958 Ha en irrigué et 14493 Ha en bour. La superficie productive est de l'ordre 50 680 Ha dont 40 873 Ha en irrigué (DRATA, 2013).

II.3.2. Production

La production oléicole de la campagne 2012-13 a atteint 165.740 tonnes dont 151.756 tonnes en zone irrigué soit 91,5 % (DRATA, 2013).

II.3.3. Profil variétal

La variété de la Picholine Marocaine est la variété la plus dominante dans la région, elle représente 82 % de la superficie totale oléicole suivie des deux variétés Menara et Haouzia avec 7 et 8 % respectivement (DRATA, 2013).

II.3.4. Destination de la Production

Presque la quasi-totalité de la production de la région est destinée à la trituration soit 68 % dont environ 60 % est traitée localement et environ 10% hors la région Tadla Azilal. La quantité destinée à la conserverie reste faible (10%) étant donné le manque des unités modernes de conserve dans la région (DRATA, 2013).

II.3.5. Commercialisation

Au Diret la zone de montagne presque 15-60 % de la production est vendue sur pied contre 12% au niveau de la Plaine. La majorité de ces transactions est effectuée par les intermédiaires (DRATA, 2013).

Conclusion

Au niveau de la première partie relative à l'étude bibliographique, nous avons décrit en premier lieu la classification de l'huile d'olive selon la norme du Conseil Oléicole International, ensuite nous avons détaillé la procédure et les différents systèmes d'élaboration de l'huile d'olive tout en mentionnant les avantages et les inconvénients de chaque système. La composition chimique de l'huile d'olive citée dans la littérature a été également présentée selon deux volets à savoir : la fraction saponifiable (triglycérides) et la fraction insaponifiable (composants mineurs). En outre, nous avons mentionné les principaux facteurs affectant la qualité de l'huile d'olive qui sont : les facteurs génétiques, pédoclimatiques, agronomiques et la conduite technologique.

L'huile d'olive est un élément essentiel de l'alimentation humaine, pour cette raison nous avons cité ses vertus thérapeutiques qui sont nombreux tels que son action préventive contre les maladies cardiovasculaires, l'Alzheimer, le SIDA...etc.

Le dernier volet de l'étude bibliographique a été consacré à l'évolution de la filière oléicole au cours des dernières années sur le plan international, national et régional.

Au niveau de la région Tadla Azilal, le secteur oléicole a connu une évolution importante en termes de superficie et production, ainsi que la qualité de l'huile d'olive produite et joue un rôle socio-économique très important grâce à la stratégie et la vision du Plan Maroc Vert et notamment le Plan Agricole Régional relatif à cette filière.

Partie II : Etude Expérimentale

I. Méthodes spectroscopiques et chimométriques

I.1. Spectroscopie infrarouge

I.1.1. Principe

Le principe de la spectroscopie infrarouge a été souvent détaillé notamment par Bertrand (2000) et par Rouessac (1998). Le rayonnement infrarouge (IR) est une radiation de nature électromagnétique, correspondant à la partie du spectre comprise entre $12\ 800\text{ cm}^{-1}$ et 10 cm^{-1} . La fenêtre spectrale de l'IR, se décompose en 3 parties : le proche, le moyen et le lointain IR.

Lorsqu'une molécule est irradiée par un rayonnement IR, elle peut absorber partiellement et sélectivement ce rayonnement. Les liaisons chimiques qui la composent doivent être considérées comme des oscillateurs anharmoniques (Figure 11), car une liaison n'est pas parfaitement élastique.

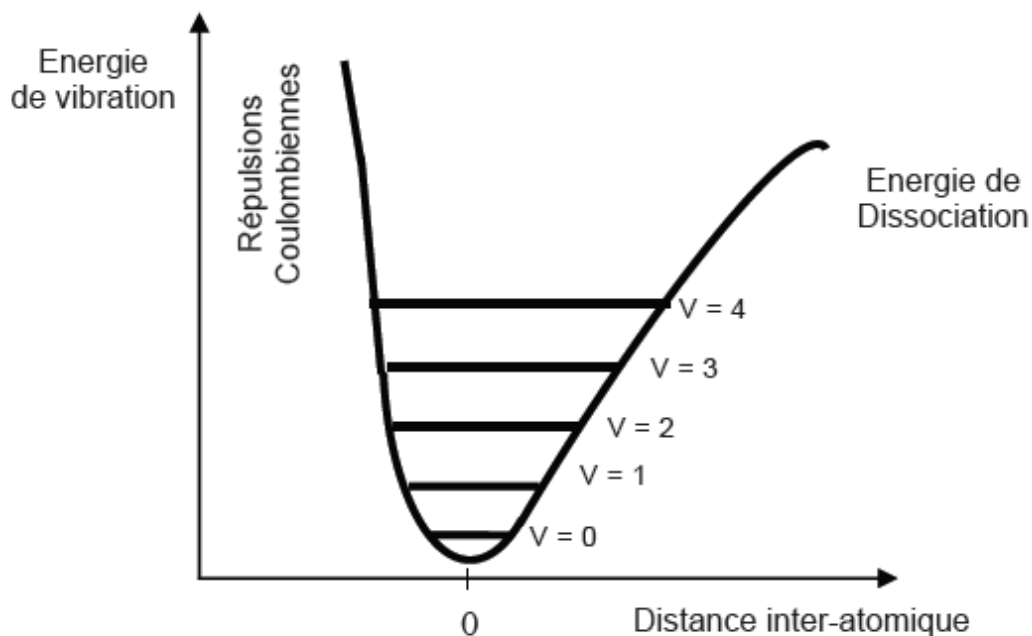


Figure 1: Potentiel anharmonique et niveaux d'énergie

Si une liaison oscille à la même fréquence que la composante électrique de l'onde lumineuse IR, celle-ci pourra transmettre son énergie à la liaison. Plus précisément, un rayonnement de fréquence donnée pourra être absorbé ce qui conduira à l'état excité, caractérisé par une amplitude de vibration plus élevée. De ce fait, l'énergie du rayonnement IR se retrouve diminuée après l'interaction, conduisant à l'apparition d'une bande d'absorption à cette fréquence. L'énergie absorbée (ν_0) est donc caractéristique de chacune des liaisons chimiques de la molécule analysée. Notons que s'il n'y a pas de dipôle permanent, c'est-à-dire si les charges électriques sont parfaitement symétriques, il n'y aura pas de couplage possible avec l'onde électromagnétique. Il n'y aura donc aucune absorption d'énergie. Les molécules non polaires sont « transparentes » dans l'IR, on parle de transition inactive. Une transition active possède donc nécessairement un dipôle dont le module fluctue avec la distance interatomique.

Le spectre IR est ainsi constitué de nombreuses bandes d'absorption. Il représente pour chaque longueur d'onde, le rapport (1) des intensités transmises avec ($I_{\text{éch}}$) et sans échantillon (I_0).

$$T = I_{\text{éch}} / I_0 \quad (1)$$

Ce rapport s'appelle la transmittance et :

$$A = \text{Log } 1 / T \quad (2)$$

Où A est l'absorbance. On préfère exprimer A en fonction du nombre d'onde ν , plutôt que de la longueur d'onde λ , car ν est directement proportionnel à une énergie d'après la relation suivante :

$$E = h \nu = \frac{h c}{\lambda} = h c \bar{\nu}$$

Avec h : constante de Planck, $6,62 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$

ν : fréquence

c : célérité de la lumière, $3 \cdot 10^8 \text{ m/s}$

I.1.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie moyenne infrarouge est généralement utilisée pour l'élucidation de structure des molécules pour des applications chimiques. La technique était limitée essentiellement par la lenteur d'acquisition des spectres car la séparation des longueurs d'onde était réalisée séquentiellement par un monochromateur dispersif (prisme ou réseau).

Depuis près de vingt ans, grâce à l'utilisation de l'interférométrie et la transformée de Fourier (TF), l'application de la spectroscopie IR s'est généralisée dans tous les domaines d'investigation. Les spectromètres IR à transformée de Fourier (IRTF) peuvent de nos jours concurrencer les techniques utilisées en routine dans les laboratoires.

Les spectromètres IRTF ne contiennent aucun élément dispersif. Toutes les longueurs d'onde sont détectées et mesurées simultanément grâce à l'intégration de l'interféromètre. Cet instrument de haute sensibilité génère des interférences constructives et destructives dans le rayonnement IR polychromatique, ce qui permet de recalculer précisément l'intensité de chacune des longueurs d'onde du rayonnement total.

Pour séparer les longueurs d'onde, le signal de la source est modulé de manière à ce qu'il puisse ensuite être décodé par une transformée de Fourier. L'intégration de l'interférométrie à la spectroscopie IR a été rendue possible par le développement de la transformée de Fourier rapide qui a permis la résolution en temps réel de l'interférogramme, par le perfectionnement des lasers améliorant ainsi la précision en fréquence de la mesure et par le couplage spectromètre microordinateur.

Les spectromètres IRTF ont comme avantages une meilleure sensibilité, une résolution et une vitesse d'acquisition des données particulièrement élevées (un spectre complet peut être relevé en quelques secondes). Ces avantages sont dus essentiellement à l'application de la transformée de Fourier et la génération des interférences qui sont dévolues à l'interféromètre dont le modèle initial est l'interféromètre de Michelson (1891).

Description d'un spectromètre IRTF

Un spectromètre IRTF comporte essentiellement cinq parties (figure 12) (Griffiths, 1986; Bellon-maurel, 1992) :

- Une source lumineuse : dans ce cas, le Globar est utilisé pour le moyen IR.
- Un dispositif permettant de générer les interférences : l'interféromètre
- Un compartiment échantillon qui permet d'accueillir plusieurs types d'accessoires (porte-échantillon) dépendant de la technique spectroscopique employée et le mode de mesures utilisé (réflexion ou transmission).
- Un détecteur ou capteur photosensible : le spectromètre IRTF peut comporter un ou plusieurs détecteurs, qui peut être du type pyroélectrique (générant un courant proportionnel au différentiel de température entre les 2 faces du détecteur) comme les détecteurs DTGS (Deuterated Tri-glycine Sulfate) ou photoélectrique (générant une différence de potentiel par l'absorption de photons) comme les détecteurs MCT (Mercure Cadmium Tellure) qui sont constitués d'un monocristal en alliage de mercure cadmium tellure déposé sur un support inerte. Pour une plus grande sensibilité, les détecteurs de type MCT sont refroidis à l'azote liquide (77 K).
- Un convertisseur analogique numérique qui interroge le détecteur à des intervalles réguliers et transforme le signal analogique en un signal numérique manipulable par le système informatique.

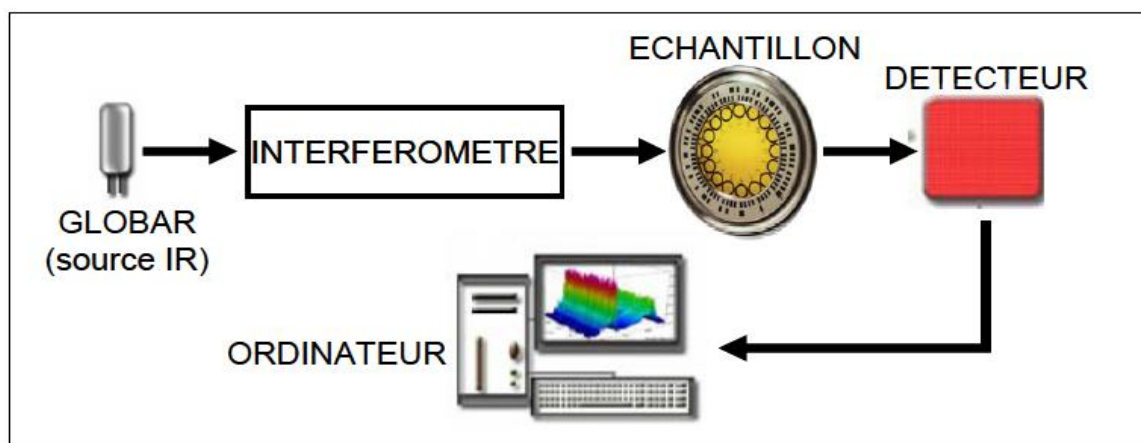


Figure 2: Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier

I.1.3. Spectroscopie vibrationnelle

I.1.3.1. La molécule diatomique

La spectroscopie est l'étude de l'interaction de la lumière avec la matière. La région proche infrarouge correspond à une partie de la spectroscopie vibrationnelle.

Une molécule peut être modélisée de façon simplifiée par un ensemble d'atomes reliés entre eux par des ressorts. Les liaisons sont le résultat d'un équilibre de forces de répulsions et d'attractions :

- Répulsion entre les noyaux chargés positivement ;
- Répulsion entre les nuages d'électrons chargés négativement ;
- Attraction entre le noyau d'un atome et les électrons d'un autre atome et vice-versa.

La nature des groupes chimiques impliqués conditionne la fréquence de vibration de chaque ressort. Une molécule peut absorber l'énergie d'un rayon lumineux incident uniquement si la fréquence de la lumière est identique à la fréquence de la liaison intermoléculaire. Ce phénomène peut être expliqué par deux modèles : l'oscillateur harmonique et l'oscillateur anharmonique.

I.1.3.1.1 L'oscillateur harmonique

Pour expliquer le principe de la spectroscopie infrarouge, le modèle de la molécule diatomique en vibration est le plus simple. Dans ce modèle on considère deux masses m_1 et m_2 reliées par un ressort dont la force raideur est égale à k (figure 13).

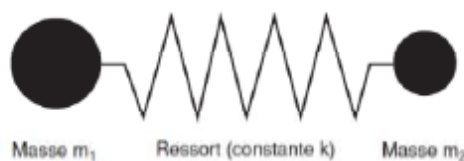


Figure 3: Modèle simple d'une molécule diatomique

On suppose que la liaison suit la loi de Hooke donnée par la formule suivante :

$$F = -k(r - r_{eq})$$

Avec :

- F, la force qui s'exerce sur la particule
- r, la position de la particule
- r_{eq} , la position de la particule à l'équilibre

Dans ces conditions, la courbe de l'énergie est parabolique et symétrique autour de la position d'équilibre r_{eq} . L'énergie est donnée par l'équation suivante :

$$E = \frac{1}{2}k(r - r_{eq})^2$$

La fréquence (ν) propre de la vibration de la liaison est donnée par l'équation :

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Avec μ , la masse réduite, calculée avec la formule :

$$\mu = \frac{m_1 * m_2}{m_1 + m_2}$$

Cette équation permet de calculer la position approximative d'une bande fondamentale dans le moyen infrarouge. Toutefois en pratique, la corrélation entre la position calculée et la position observée expérimentalement n'est pas satisfaisante. En effet, dans ce modèle on considère qu'une liaison a une seule fréquence propre alors que les liaisons interatomiques ont en réalité plusieurs fréquences de vibration (Bertrand, 2002).

I.1.3.1.2. L'oscillateur anharmonique

Les liaisons atomiques ne suivent pas réellement les lois décrites par le modèle harmonique :

- Si la liaison est très fortement comprimée, son énergie augmente plus que ce qui est décrit par la loi de Hooke ;
- Si la liaison est très fortement étirée, la force de liaison diminue jusqu'à ce que la molécule se dissocie et libère ses atomes.

La conséquence principale de l'anharmonicité est qu'une liaison vibre généralement à plusieurs fréquences : la fondamentale et les harmoniques. Les fréquences sont données par les relations suivantes :

- Fondamentale : $\nu_1 = \nu_0 (1 - 2 x_e)$

- Première harmonique : $\nu_2 = 2 \nu_0 (1 - 3 x_e)$

- Deuxième harmonique : $\nu_3 = 3 \nu_0 (1 - 4 x_e)$

Avec : ν_0 : fréquence de référence qui dépend de la nature de la liaison ;

x_e : la constance d'anharmonicité

Comme x_e prend de petites valeurs, la fréquence fondamentale est voisine de ν_0 , la première harmonique de $2 \nu_0$ et la deuxième harmonique de $3 \nu_0$. Avec la relation $\lambda = c/\nu$, les longueurs d'ondes correspondantes se situent respectivement à λ_0 , $\lambda_0/2$, $\lambda_0/3$.

I.1.3.2. La molécule poly-atomique

Pour décrire au mieux la réalité, il faut élargir la théorie à une molécule poly-atomique. Une molécule avec N atomes a $[3N - 6]$ degrés de liberté de vibration ($[3N - 5]$ pour les molécules linéaires). Toutes les liaisons interatomiques ne peuvent pas absorber l'énergie lumineuse infrarouge, même si la fréquence de la lumière est la même que celle de la liaison atomique. En effet, pour que la lumière infrarouge puisse agir sur une liaison atomique, il faut que cette liaison présente une asymétrie électrique incidente correspond à la fréquence de vibration moléculaire d'une liaison, la liaison entre en résonance et absorbe ainsi l'énergie lumineuse (Barthelmé, 2009).

I.2. Chromatographie en phase gazeuse

La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (Arpino et al., 1995).

De toutes les méthodes analytiques instrumentales, la chromatographie est celle qui a le plus grand domaine d'applicabilité et par là elle occupe une position dominante. Aucun laboratoire d'analyse ne saurait l'ignorer (Rouessac et Rouessac, 2000).

Cette technique présente plusieurs avantages à citer :

- Une mise en œuvre facile ;
- Un temps d'analyse assez court ;
- Des résultats fiables ; et
- Une automatisation possible du processus (Bruneton, 2009).

Le mélange à analyser est vaporisé dans une chambre d'injection en tête de colonne. La phase stationnaire dans la colonne peut être solide ou liquide. Le mélange est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur) qui doit être chimiquement inerte, comme c'est le cas pour l'hélium, l'argon, l'azote, le dioxyde de carbone et l'hydrogène. L'hélium est la phase mobile la plus couramment employée. Les différentes molécules du mélange se séparent et sortent de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps dépendant de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules. A la sortie de la colonne, les composés signalés par un détecteur. Il évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés au sein du gaz porteur grâce à la mesure de différentes propriétés physiques du mélange gazeux et envoie un signal électronique vers un enregistreur.

Le détecteur idéal doit présenter les caractéristiques suivantes :

- Sensibilité appropriée ;
- Bonne stabilité et bonne reproductibilité ;
- Domaine de température de fonctionnement compris entre la température ambiante et au moins 400°C ;

- Temps de réponse rapide qui soit indépendant de la vitesse d'écoulement ;
- Grande fiabilité et facilité d'emploi ;
- Préservation de l'intégrité de l'échantillon.

Comme aucun détecteur ne remplit à la fois toutes ces conditions, le choix du détecteur est toujours un compromis et dépend de la nature de l'échantillon.

La figure suivante présente les composantes de base d'un appareil de chromatographie gazeuse.

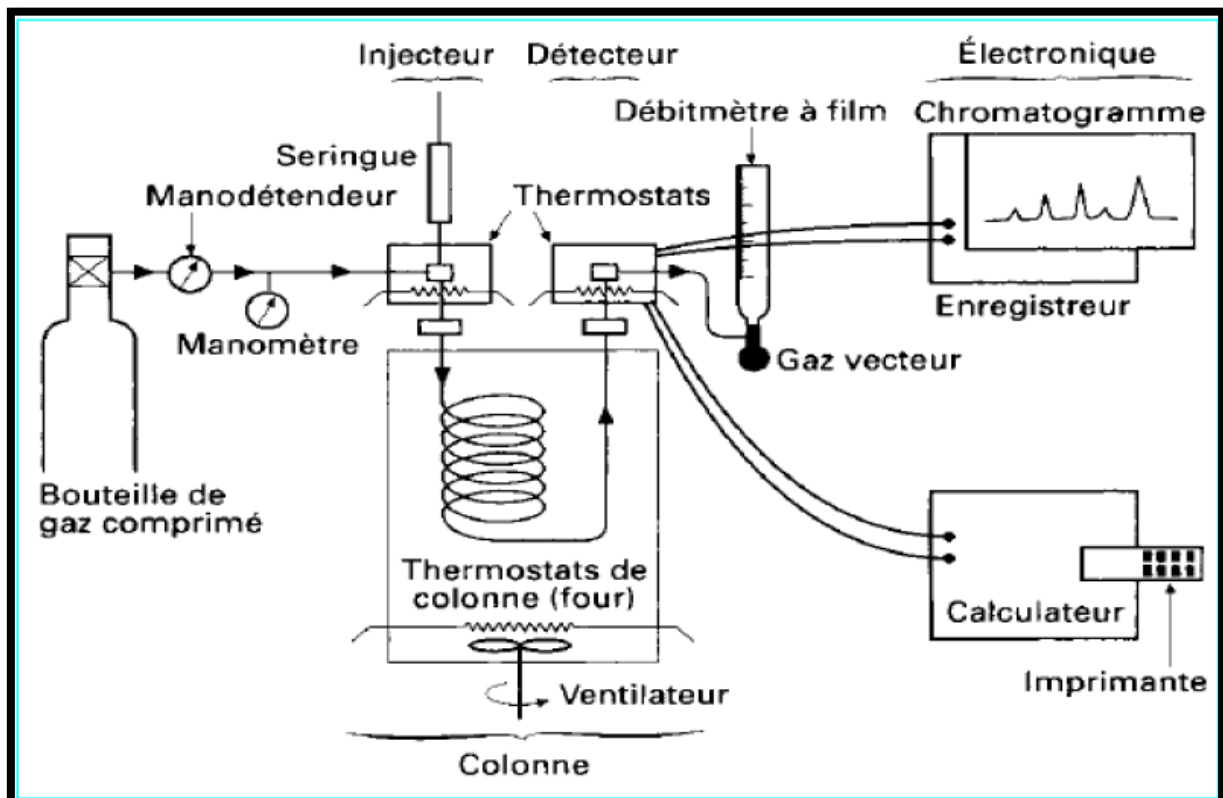


Figure 4: Principe du chromatographe en phase gazeuse (Tranchant, 1996)

I.3. Méthodes chimiométriques

La Chimiométrie est la science de l'utilisation des méthodes mathématiques, statistiques et informatiques qui visent à extraire des informations pertinentes présentes dans des masses données d'analyses chimiques, inexploitable par des moyens conventionnels (Geladi, 1995).

Elle a trois objectifs principaux (Bertrand & Dufour, 2006). Le premier est la description des données sous forme synthétique, c'est le cas des statistiques élémentaires telles que le calcul de la moyenne et de l'écart type des données ou des méthodes descriptives comme l'analyse en composantes principales (ACP) (Joliffe, 1986). Le second objectif est la prédiction soit de valeurs continues comme avec la régression PLS (Tenenhaus, 1999), soit de classe comme avec une analyse discriminante (Bardos, 2001). Enfin, son dernier objectif est la planification des expériences (Goupy, 1996) pour en tirer le meilleur parti.

La classification des méthodes chimiométriques peut se faire sur le mode de construction du modèle. On parle de modèle supervisé ou non, selon qu'il utilise des connaissances autres que les données acquises de façon expérimentale. L'ACP par exemple est une méthode non-supervisée. Les méthodes supervisées comme le cas de la méthode classique PLS utilisent, en général, des connaissances sur une collection d'échantillons étalons qui permettent de créer le modèle avant de prédire des données sans information annexe.

I.3.1. Analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode statistique ancienne publiée à l'origine par Pearson (1901) et Hotteling (1933). La théorie de l'ACP a été décrite en détail par Wold et al. (1987). Cette méthode vise à structurer et simplifier les données issues de plusieurs variables, sans privilégier l'une d'entre elles en particulier. Elle apporte des informations sur les variations du système sans aucune connaissance à priori.

En spectroscopie, l'ACP permet de déterminer les caractéristiques principales des spectres ou des mesures chimiques, de comparer entre eux et de mettre en évidence des liens entre les variables descriptives (les absorbances aux différentes longueurs d'onde).

La décomposition matricielle de l'ACP permet d'obtenir des matrices des coordonnées factorielles (ou «scores») et des contributions factorielles (ou «loadings»), selon l'équation suivante:

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{PT} + \mathbf{E}$$

avec \mathbf{X} (n, p) la matrice de données originale, \mathbf{T} (n, k) les coordonnées factorielles des individus sur les Composantes Principales, \mathbf{PT} (k, p) les contributions factorielles des variables du départ aux Composantes Principales. Si l'on calcule k Composantes Principales (PC), on n'obtient qu'une approximation de la matrice de départ \mathbf{X} où \mathbf{E} (n, p) est la matrice des écarts entre les valeurs originales et cette approximation. La quantité de variance contenue dans chaque PC est proportionnelle à sa valeur propre («eigenvalue») donnée dans la matrice diagonale \mathbf{S} (k, k), calculée par $\mathbf{S} = \mathbf{T}^T \cdot \mathbf{T}$.

Dans beaucoup de cas simples, un maximum de 3 à 4PCs est suffisant pour expliquer la variabilité intéressante des données. Cependant, le nombre de PCs peut être choisi par différentes procédures, notamment la validation croisée.

Les PCs sont simplement des entités mathématiques qui peuvent représenter, après un choix intelligent d'un ensemble représentatif, la matrice \mathbf{X} . Au même temps, tout ce qui n'est pas important pour la description des données se trouve dans la matrice des résidus. Les PCs ne représentent pas forcément des entités physico-chimiques réelles présentes dans les données, mais plutôt des directions orthogonales de plus grande variabilité.

Il existe plusieurs algorithmes pour le calcul de l'ACP, dont les plus utilisées sont le NIPALS (Non Linear Iterative Partial Least Square) (Wold, 1966) et le SVD (Singular Value Decomposition) qui utilisent la matrice \mathbf{X} . Ces deux algorithmes sont utilisés dans les logiciels de chimiométrie ; on retrouve par exemple NIPALS dans les deux logiciels The Unscrambler et Pirouette, alors que SVD se retrouve dans le logiciel PLS ToolBox. Les résultats obtenus par ces algorithmes au niveau du nuage de points et des composantes principales sont identiques (Galtier et al., 2008).

L'interprétation des résultats d'une Analyse en Composantes Principales est habituellement assurée par la visualisation des scores et des loadings (Beckwith-Hall et al., 2002).

Les données condensées par ACP peuvent servir de variables de base pour d'autres traitements statistiques tels que la régression ou l'analyse discriminante. Pour de nombreuses méthodes supervisées, l'orthogonalité des variables rend les calculs numériques très simples et plus fiables.

I.3.2. Classification Ascendante Hiérarchique

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) est une des méthodes de classification qui a pour objectif d'obtenir des classes d'individus les plus cohérentes possibles. Une CAH utilise un arbre hiérarchique (dendrogramme) construit à partir des ensembles à classifier. Les nœuds de l'arbre issus d'un même parent forment un groupe homogène (Guha et al., 1998; Jain et al., 1999 ; Sneath and Sokal, 1973; Ward, 1963).

Le schéma d'un algorithme de CAH est le suivant :

- Les classes initiales sont les individus eux-mêmes.
- Le calcul des distances entre les classes.
- Les deux classes les plus proches sont fusionnées et remplacées par une seule.
- Le processus reprend en 2 jusqu'à n'avoir plus qu'une seule classe, qui contient toutes les observations.

Un algorithme *agglomératif* fonctionne donc en recherchant à chaque étape les classes les plus proches pour les fusionner, et l'étape la plus importante dans l'algorithme réside dans le choix de la distance entre deux classes. Les algorithmes les plus classiques définissent la distance entre deux classes à partir de la mesure de dissimilarité entre les objets constituant chaque groupe. De nombreuses distances sont ainsi possibles :

- **Lien simple ou *single linkage* ou saut minimum**

C'est une mesure de la distance minimale entre une donnée d'un cluster et une donnée de l'autre cluster. Cette mesure est très populaire. Le point fort de cette approche est qu'elle sait très bien détecter les classes allongées, mais son point faible est qu'elle est sensible à

l'effet de chaîne (Tufféry, 2005) et donc moins adaptées pour détecter les classes sphériques.

- **Lien complet ou *complète linkage* ou saut maximum ou agrégation par le diamètre**

C'est une mesure de la distance maximale entre une donnée d'un cluster et une donnée de l'autre cluster. Par définition cette approche est très sensible aux points aberrants et donc elle est peu utilisée (Tufféry, 2005).

- **Lien moyen ou *average linkage* ou saut moyen**

C'est la distance moyenne entre une donnée d'un cluster et une donnée de l'autre cluster. Cette mesure est peu sensible au bruit et tend à produire des classes de même variance.

Chapitre I : Caractérisation chimique de l'huile d'olive dans la région Marocaine de Tadla Azilal

Introduction

La qualité d'huile d'olive est influencée par plusieurs facteurs, notamment la variété de l'olivier et son environnement, les méthodes de récolte des olives et des processus d'extraction (Chimi, 2006; Kandyliis et al., 2011; Ben Ahmed et al., 2007).

Au Maroc, en raison des techniques de récolte et de stockage des olives et des huiles, souvent archaïques, et des procédés de trituration traditionnels, la qualité de l'huile produite ne permet pas, en général, de générer une valeur ajoutée attrayante sur le marché (AMPPC, 2006).

Au niveau de la région de Tadla Azilal, région à vocation agricole, la superficie oléicole ne cesse d'augmenter puisque le secteur oléicole y est considéré comme agriculture alternative. Le profil variétal est très dominé par la variété dite "Picholine Marocaine". Dans les dernières années, une variété importée de l'Espagne dite "arbequine" reste, également, très rare dans la région.

Le secteur de transformation des olives dans la région est caractérisé par la vétusté de son parc et la dominance des moulins traditionnels influant négativement sur la qualité de l'huile. En outre, l'insuffisance de données sur les huiles d'olives vierges (HOVs) dans la région de Tadla Azilal nous a conduit à entreprendre le présent travail sur les HOVs de la région. En effet, il y a un besoin en termes de caractérisation chimique et de classification de l'huile d'olive vierge de la Picholine Marocaine selon différentes zones géographiques du Maroc, contrairement aux nombreux travaux antérieurs consacrés à l'huile d'olive des autres pays producteurs. Or, l'huile d'olive vierge rentre dans le régime alimentaire dit Méditerranéen ayant prouvé des vertus nutritionnelles et thérapeutiques. D'où, l'objectif de ce travail qui est de contribuer à une meilleure connaissance de la qualité de l'huile d'olive et à l'établissement de bases de données de l'huile d'olive produite dans la région Tadla Azilal au Maroc.

En plus des analyses chimiques de base (acidité et indice de peroxyde), nous nous sommes intéressés à l'analyse de la matière grasse, particulièrement à la composition en acides gras et à l'application des méthodes de traitement des données couplées à la spectroscopie infrarouge pour pouvoir discriminer entre les huiles d'olives vierges de la région de Tadla Azilal. Grâce à de suffisantes banques de données des huiles d'olives vierges, une telle discrimination contribue à l'optimisation du contrôle de la qualité de ses huiles et par suite à assurer leur compétitivité dans le marché international.

I.1. Matériel et méthodes

I.1.1. Echantillonnage

✓ Description de la zone de collecte

La région Tadla-Azilal est composée de trois provinces topographiquement distinctes :

- Fkih Ben Salah en plaine ;
- Beni-Mellal en plaine, piémont et montagne ;
- Azilal majoritairement en montagne.

La montagne recouvre le Moyen Atlas méridional et le Haut Atlas central culminant à 4071m (Ighil N'M'goun) et forme une barrière avec les régions méridionales des provinces d'Errachidia et d'Ouarzazate. Le relief est constitué de lourdes plateformes délimitées par des corniches sub-verticales, de crêtes dépassant les 3000m d'altitude, et de vallées profondes en gorges.

Le piémont, considéré ici comme le vrai Dir, est une étroite bande de terres fertiles en position de transition entre la plaine et la montagne. Ce contact brutal d'un glacis en pente douce et des gradins escarpés qui le dominant est développé sur une quinzaine de kilomètre de large au sud-ouest et se réduit vers le nord-est.

La plaine du Tadla aux altitudes comprises entre 400 et 700m couvre une surface de 3500 km² inclinée d'est en ouest drainée par l'Oued Oum er Rbia qui vient s'y encaisser. La région Tadla-Azilal couvre également la partie la plus méridionale du plateau des phosphates.

✓ Collecte et trituration des échantillons d'olives

Une série de 142 échantillons d'olives de la variété "Picholine Marocaine" a été collectée dans la région de Tadla Azilal durant les deux campagnes oléicoles 2009/2010 et 2010/2011 (Novembre- Décembre). Dans un délai ne dépassant pas deux jours après leurs cueillettes, ces échantillons ont été triturés dans des moulins semi modernes de la région. La méthode de collecte, les conditions d'extraction des huiles, de leurs stockage et conservation sont les mêmes pour tous les échantillons.

I.1.2. Détermination des indices analytiques

I.1.2.1. Acidité

L'acidité libre (A) est un indicateur qui permet d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutive à des traitements inappropriés ou à une mauvaise conservation.

L'acidité libre d'échantillons de l'huile d'olive, exprimée en pourcentage de l'acide oléique, est déterminée grâce à un titrage en milieu alcoolique d'acides gras libres de l'huile d'olive, par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH). Un test témoin (à blanc) a été réalisé dans les mêmes conditions. La détermination de l'acidité libre des huiles a été effectuée conformément à la norme AFNOR NF T60-204 de décembre 1985. Elle est donnée par la formule suivante :

$$A\% = \frac{V \cdot C \cdot M}{10 \cdot P}$$

V : Volume de la solution de KOH versé en ml ;

C : Concentration exacte de la solution de KOH utilisée (mol/L) ;

P : la masse de la prise d'essai en gramme ;

M : la Masse molaire de l'acide oléique en g /mole (282 g/mole).

I.1.2.2. Indice de peroxyde

L'altération chimique des corps gras provoquée par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde. La détermination de cet indice est basée sur l'oxydation des iodures en iode par l'oxygène actif du peroxyde.

L'indice de peroxyde (I_p), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kg d'huile (milliéquivalent O_2/kg d'huile), a été déterminé par dissolution d'une masse d'huile d'olive dans un mélange d'acide acétique/chloroforme (3:2 V/V). La réaction est déclenchée à l'obscurité, en présence d'une solution saturée d'iodure de potassium (KI). L'iode libéré est titré par une solution 0,01 N de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) en présence d'amidon comme indicateur. Un essai de contrôle (sans matière grasse) a été fait dans les mêmes conditions. Cette analyse a été effectuée conformément à la norme AFNOR NF T60-220 de décembre 1985. L'indice de peroxyde est donné par la formule suivante :

$$IP = \frac{(V - V_0) \times N \times 1000}{P} \text{ (meq } O_2 / Kg \text{ d'huile)}$$

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'échantillon

V₀ : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc

P : Prise d'essai en gramme

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium en eq. g/l

I.1.3. Caractérisation des acides gras par CPG

Les esters méthyliques de l'huile d'olive se forment par Transestérification dans une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium.

Pour la détermination de la composition en acides gras, les esters méthyliques ont été préparés dans le n-heptane (0,12 g/2ml) avec une solution méthanolique 2N d'hydroxyde de potassium selon la norme NF EN ISO 5509.

Ces esters d'acides gras obtenus ont été analysés selon la norme NF EN 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 de silice 60m x 0,25mm. La pression d'entrée de l'hydrogène comme gaz vecteur était 178kPa, avec un rapport 1:70. Le programme de la température du four était comme suit: 20 min à 210 $^\circ\text{C}$, de 210 à 245 $^\circ\text{C}$ à raison de 6 $^\circ\text{C}/\text{min}$ puis 10 min à 245 $^\circ\text{C}$.

I.1.4. Spectroscopie proche infrarouge

Les spectres en proche Infrarouge à transformée de Fourier (FT-PIR) ont été enregistrés par un spectromètre Antaris Nicolet. Les échantillons de l'huile d'olive sont introduits dans une cellule de quartz de trajet optique de 2 mm. Tous les spectres sont à une résolution de 4 cm^{-1} entre 4500 et 10000 cm^{-1} grâce au logiciel résultat intégration 2.1 Thermo Nicolet (Figure 15). Cependant, ces spectres FT-PIR se sont avérés très similaires pour pouvoir être distingué entre eux. C'est ainsi que nous avons eu recours à une analyse en composantes principales (ACP) afin de discriminer les minimes différences entre ces spectres des huiles de la région Tadla Azilal.

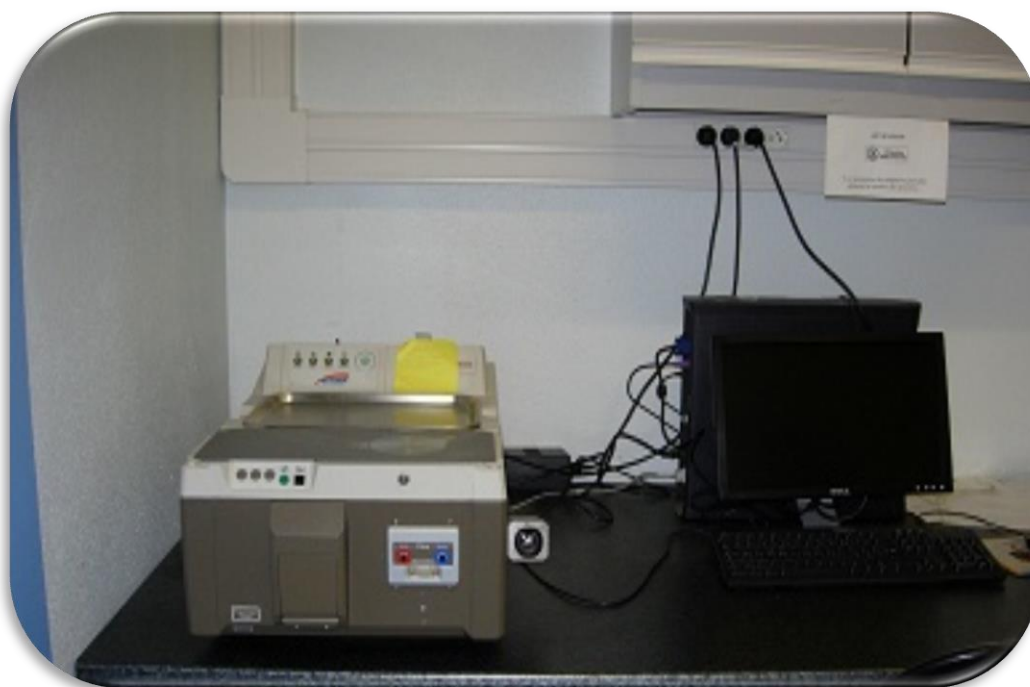


Figure 15 : Spectrophotomètre Proche Infrarouge à Transformée de Fourier

I.2. Résultats et discussion

I.2.1. Acidité

Les résultats de l'acidité des huiles d'olives obtenus sont donnés au tableau 3 suivant :

Tableau 3 : Répartition des huiles d'olives de la région de Tadla Azilal sur les quatre catégories selon l'acidité (%)

	Extra vierge		Vierge		Courante		Lampante		Total	
	Nbre	Acidité	Nbre	Acidité	Nbre	Acidité	Nbre	Acidité	Nbre	Acidité
Plaine	9	0,6 ± 0,1	19	1,2 ± 0,3	7	2,7 ± 0,3	6	4,4 ± 0,8	41	2,0 ± 1,5
Montagne	5	0,7 ± 0,1	17	1,5 ± 0,3	12	2,8 ± 0,4	8	5,4 ± 0,4	42	2,6 ± 1,6
piémont	10	0,5 ± 0,3	26	1,6 ± 0,3	9	2,4 ± 0,4	14	5,7 ± 0,9	59	2,7 ± 1,9

La moyenne de l'acidité des huiles d'olive de la plaine (2,0) en pourcentage massique d'acide oléique est légèrement inférieure à celle des huiles de la montagne (2,6) et à celle du piémont (2,7).

En comparant les résultats des analyses de l'acidité à la norme commerciale du Conseil Oléicole International (COI, 2011), 22% des huiles provenant de la plaine semblent se classer dans la catégorie "huile d'olive vierge extra". En fait, la teneur en acide gras libres de ces échantillons reste en dessous de 0,8%. Les huiles d'olive, ayant une acidité entre 0,8 et 2%, nommées huiles d'olives vierges représentent 46,3% tandis que 17,1% des échantillons sont des huiles d'olives "courantes" dont l'acidité est entre 2 et 3,3%. Le reste des huiles de la plaine correspond aux huiles d'olives non propres à la consommation et sont dénommées huiles d'olive vierges "lampantes" puisque leur acidité est supérieure à 3,3%. Concernant les échantillons de la montagne, 11,9% des huiles se classent dans la catégorie « extra vierge » alors que 40,5% sont des huiles « vierges ».

Les huiles issues du piémont sont à 16,9% des huiles d'olives extra vierges et à 44,1% des huiles d'olives vierges. On observe qu'il y a une certaine variation des échantillons des trois zones géographiques, notamment en termes d'abondance de l'huile d'olive extra vierge. Ceci est peut-être dû aux bonnes pratiques de fabrication et à l'hygiène lors du processus de trituration (Afidol, 2003; El Antari et al., 2000; Ocakoglu, 2008).

En effet, les olives peuvent subir des lésions qui peuvent engendrer des contaminations de l'huile (Ledrole et al., 2004) et donner des huiles avec une forte acidité et des caractères organoleptiques altérés. Cependant, en comparant les trois valeurs de l'acidité libre moyenne des huiles d'olives provenant de trois systèmes agro écologiques distincts : plaine, montagne et piémont, on peut conclure que le résultat de l'acidité libre est compatible avec celui de l'abondance de l'huile d'olive extra vierge.

I.2.2. Indice de peroxyde

Les teneurs en peroxyde des échantillons collectés au niveau de la plaine, varient entre 6 et 35,6 meq O₂/Kg d'huile. En comparant ces valeurs à celles de la norme commerciale du Conseil Oléicole International (COI), on constate que tous les échantillons sont conformes aux exigences de la norme (IP ≤ 20 meq O₂/Kg d'huile), à l'exception de deux échantillons dont les valeurs sont 20,1 et 35,6 meq O₂/Kg d'huile. Pour les échantillons issus de la montagne, Les teneurs en peroxyde vont de 3,8 à 22,1 meq O₂/Kg d'huile. Dans le cas des échantillons issus du piémont, L'indice de peroxyde varie entre 1,9 et 24,7 meq O₂/Kg d'huile. A l'exception de deux cas, toutes les huiles sont conformes à la norme (IP ≤ 20 meq O₂/Kg d'huile). L'indice de peroxyde moyen est de 13,5 ; 8,6 et 6,6 respectivement pour les huiles provenant de la plaine, de la montagne et du piémont (figure 16).

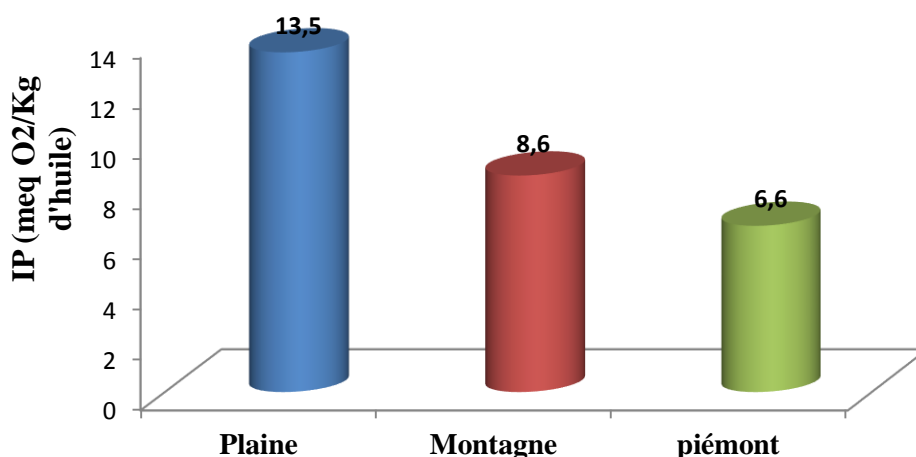


Figure 16 : Indice de peroxyde moyen des trois catégories d'huiles (Plaine, piémont et montagne)

Le résultat global vis-à-vis de la norme du conseil oléicole international est donné au tableau 4 suivant :

Tableau4 : Répartition de l'indice de peroxyde des huiles d'olives de la région de Tadla Azilal selon la norme du COI

	Dans la norme C.O.I	Hors norme C.O.I	Total
Plaine	39	2	41
Montagne	41	1	42
Piémont	57	2	59
Total	137	5	142

En termes de teneurs en peroxydes, la quasi-totalité des échantillons est conforme à la norme du COI. Notons que l'indice de peroxyde augmente avec la maturité des olives, et surtout à cause d'un choc thermique, consécutif à une gelée (Afidol, 2003). Une longue exposition de l'huile à l'air et à une température relativement élevée, lors des différentes étapes de transformation, contribue également à l'augmentation de la teneur de l'huile en peroxyde.

En comparant l'indice de peroxyde moyen des huiles d'olive provenant de la plaine, d'une part à celui des huiles provenant de la montagne et du piémont d'autre part, on constate qu'il y a une légère différence entre les trois zones. Les indices de peroxyde moyens des huiles sont 13,5 ; 8,6 et 6,6 pour la plaine, la montagne et le piémont, respectivement. Un tel résultat peut être s'expliquer par le fait que les huiles sont de moins en moins exposées à l'oxydation par l'effet de la température en allant de la plaine à la montagne. Cependant, globalement, seul 7,75% des olives présentent un indice de peroxyde hors norme, par contre 39,4% des huiles ont été classées hors des deux catégories "extra vierge" (HOEV) et "vierge" (HOV). Ces résultats confirment ceux qui ont été rapportés par H. Chimi, sur l'huile d'olive produite au Maroc, qui a détecté un problème d'acidité dans les huileries, notamment dans la région géographique sujet du présent travail (Chimi, 2006).

I.2.2. Chromatographie en phase gazeuse et indices d'insaturations moyens

Les figures suivantes (17 ; 18 et 19) présentent trois chromatogrammes de trois huiles d'olive vierge issus de la plaine, de la montagne et du piémont.

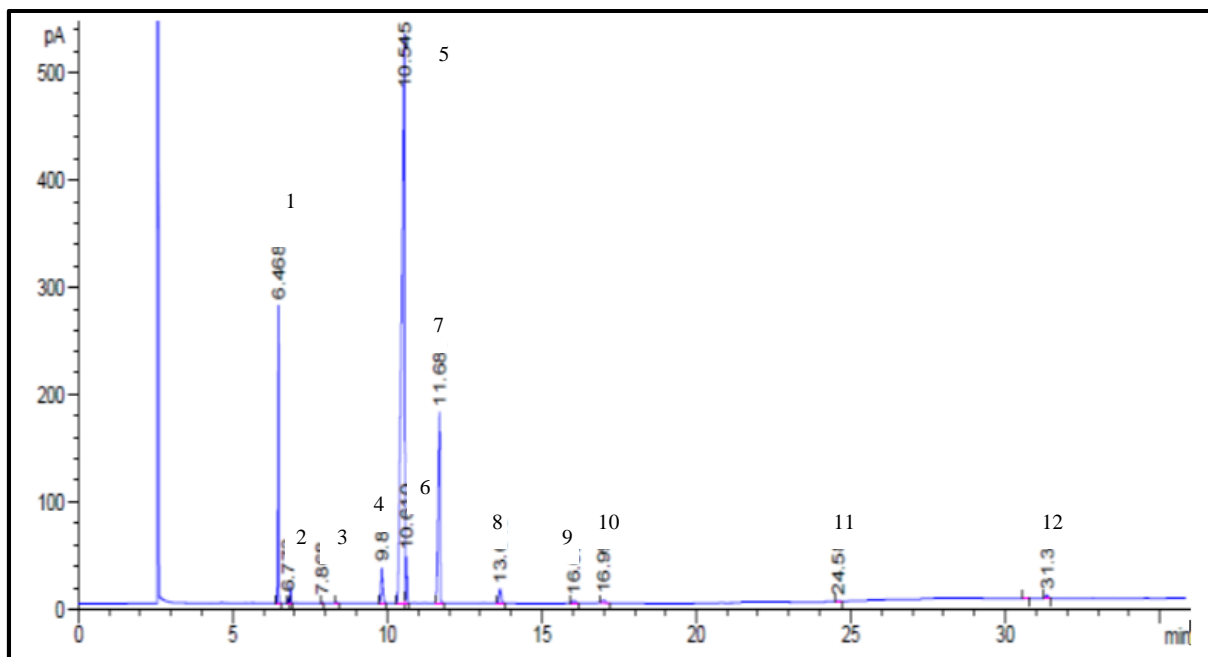


Figure 17 : Chromatogramme d'une HOV provenant de la plaine dans la région de TA (volume d'injection: 1 μ l ; T = 250°C ; Pression d'entrée de l'hydrogène : 178 KPa) : **1** : A. palmitique, **2** : A. hypogéique, **3**: A. margarique (heptadecanoïque), **4** : A. stéarique, **5** : A. oléique, **6** : A. vaccinique , **7**: A. linoléique, **8** : A. linoléinique, **9** : A. arachidique, **10** : A. gadoleique (eicosanoïque) , **11** : A. béhénique , **12** : A. squaléne.

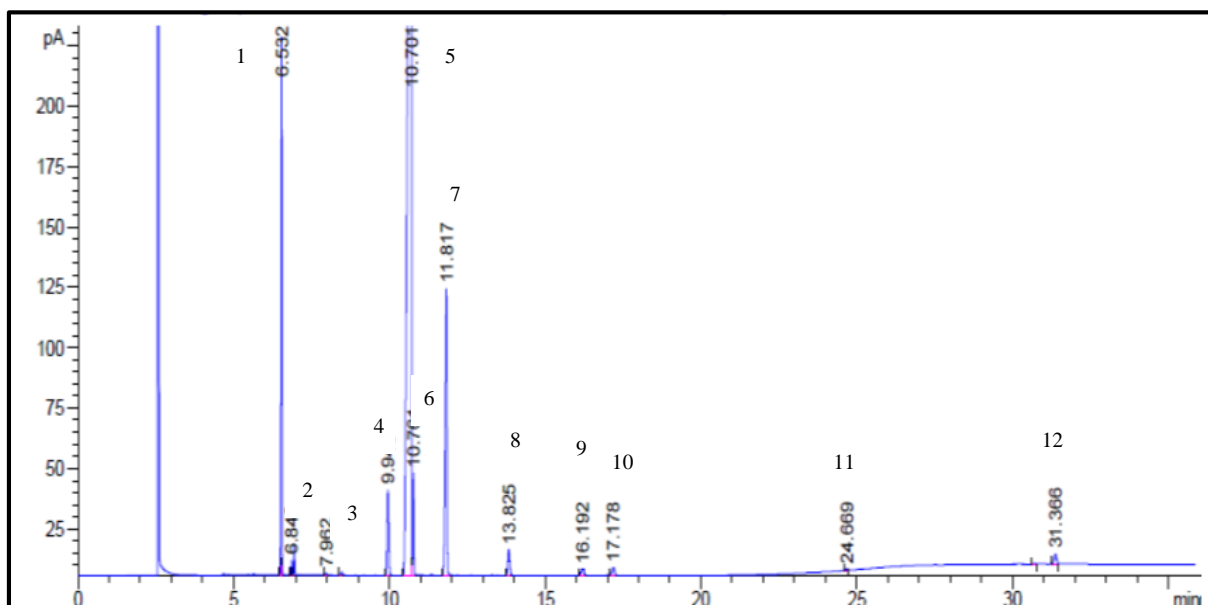


Figure 18 : Chromatogramme d'une HOV provenant de la montagne dans la région de TA (volume d'injection: 1 μ l ; T = 250°C ; Pression d'entrée de l'hydrogène : 178 KPa) : **1** : A. palmitique, **2** : A. hypogéique, **3**: A. margarique (heptadecanoïque), **4** : A. stéarique, **5** : A. oléique, **6** : A. vaccinique , **7**: A. linoléique, **8** : A. linoléinique, **9** : A. arachidique, **10** : A. gadoleique (eicosanoïque) , **11** : A. béhénique , **12** : A. squaléne.

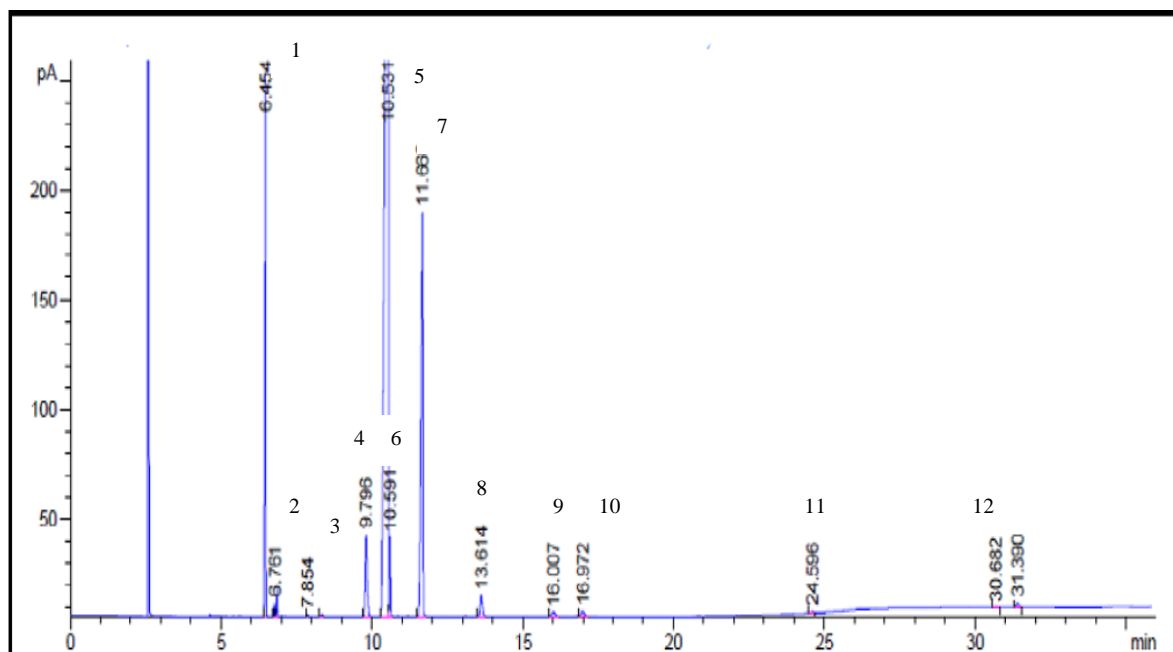


Figure 19: Chromatogramme d'une HOV provenant du piémont dans la région de TA (volume d'injection: 1 μ l ; T = 250°C ; Pression d'entrée de l'hydrogène : 178 KPa) : **1** : A. palmitique, **2** : A. hypogéique, **3**: A. margarique (heptadecanoïque), **4** : A. stéarique, **5** : A. oléique, **6** : A. vaccinique , **7**: A. linoléique, **8** : A. linoléinique, **9** : A. arachidique, **10** : A. gadoleique (eicosanoïque) , **11** : A. béhénique , **12** : A. squaléne.

L'étude des chromatogrammes de ces 86 HOEV et HOV nous a permis de retrouver les acides gras habituellement connus pour l'huile d'olive (tableau 5). Le tableau 5 illustre, également, le résultat des trois indices moyens caractérisant les HOV et qui sont définis comme suit :

- L'Indice de Mono-Insaturation(IMI) : C'est le rapport de la somme des acides gras mono-insaturés sur la somme des acides gras saturés ;
- L'Indice de Poly-Insaturation (IPI) : C'est le rapport des acides gras polyinsaturés sur la somme des acides gras saturés ;
- L'Indice d'Insaturation Totale (IIT): C'est le rapport des acides gras mono et polyinsaturés sur la somme des acides gras saturés.

Tableau 5 : Composition en acides gras (en %) et indices d'insaturations moyens d'huiles d'olives vierges et extra vierges provenant de trois zones géographiques différentes

acides gras (%)	Plaine	piémont	Montagne	norme COI%(m/m) et Codex Alimentarius
	n = 28	n = 36	n = 22	
Acide palmitique(C16:0)	9,46 ± 1,12	9,65 ± 0,73	9,02 ± 0,32	7,5-20
Acide hypogéique (C16:1w9)	0,21 ± 0,02	0,2 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,3-3,5
Acide palmitoléique (C16:1w7)	0,62 ± 0,48	0,58 ± 0,16	0,53 ± 0,08	0,3-3,5
Acide margarique (C17:0)	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,00	≤0,3
Acide margaroléique (C17:1w8)	0,07 ± 0,03	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,01	≤0,3
Acide stéarique (C18:0)	2,54 ± 0,29	2,49 ± 0,32	2,47 ± 0,26	0,5-5
Acide oléique (C18:1w9)	70,44 ± 2,15	68,54 ± 2,05	71,80 ± 1,59	55-83
Acide vaccénique (C18:1w7)	1,85 ± 0,61	1,91 ± 0,37	1,78 ± 0,13	-
Acide linoléique (C18:2w6)	13,02 ± 1,18	14,77 ± 1,55	12,35 ± 0,85	3,5-21
Acide linoléique (C18:3w3)	1,01 ± 0,11	1,02 ± 0,13	1,01 ± 0,11	≤1
Acide arachidique (C20:0)	0,31 ± 0,02	0,30 ± 0,05	0,30 ± 0,03	≤0,6
Acide gadoléique (C20:1w9)	0,32 ± 0,03	0,33 ± 0,03	0,34 ± 0,02	≤0,4
Acide béhénique (C22:0)	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	≤0,2
Acide lignocérique (C24:0)	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	≤0,2
Somme AGS	12,45	12,59	11,94	-
Somme AGIS	87,55	87,41	88,06	-
Somme AG monoinsaturé	73,52	71,63	74,71	-
somme AG polyinsaturé	14,03	15,78	13,35	-
IMI	5,90	5,69	6,26	-
IPI	1,13	1,25	1,12	-
IIT	7,03	6,94	7,37	-

La composition en acides gras des HOVEs et HOVs (figures 17 ; 18 ;19 et tableau 5) montre l'existence, dans toutes ces huiles, des acides gras attendus tels que : -Acides gras saturés: acide palmitique (C16:0), acide margarique (C17 :0), acide stéarique (C18:0), acide arachidique (C20 :0), acide béhénique (C22 :0) et acide lignocérique (C24 :0) - Acides gras mono-insaturés: acide palmit-oléique (C16:1), acide margaroléique, acide oléique (C18:1) et acide gadoléique (C20 :1) - Acides gras diinsaturé: l'acide linoléique (C18:2) -Acides gras tri-insaturé: l'acide linoléique (C18:3). Cette composition en acides gras (AG) des huiles d'olive analysées est similaire à celles observées par les auteurs de travaux antérieurs (Abaza et al., 2002; Mordret,1999; Ollivier et al., 2007; Ollivier et al.,2003; Codex Alimentarius, 2003).

Le tableau 5 illustre les valeurs moyennes, minimales et maximales de chacun des acides gras dont le taux est supérieur à 0,01 % ainsi que les trois indices moyens (IMI, IPI et IIT). L'analyse de la composition en acides gras des 86 échantillons d'huiles d'olives extra vierges et vierges ne montre pas de différence particulière selon l'origine géographique. Les huiles de la montagne seraient légèrement plus riches en acide oléique (71,8%), acide gras majeur de l'huile d'olive, par rapport aux échantillons provenant de la plaine (70,4%) et du piémont (68,5%). Notons que le taux de l'acide linoléique est le plus élevé pour les huiles du piémont (14,8%), suivi des deux cas de la plaine (13,02%), et la montagne (12,35%). Résultat concordant avec celui de la teneur en acide oléique puisqu'en termes de teneurs, ce dernier serait en corrélation négative avec l'acide linoléique. Globalement, aussi bien la teneur en acide palmitique que celle des acides gras saturés et insaturés dans les huiles d'olives provenant du piémont, de la plaine et de la montagne ne présentent pas de variation nette.

Les indices moyens caractérisant l'huile d'olive sont comparables à ceux d'autres auteurs (Tanouti et al., 2011). Les valeurs de l'IMI sont fortement corrélées aux taux d'acide oléique car c'est l'acide gras majoritaire. Ainsi, les huiles de la montagne sont caractérisées par un indice moyen assez élevé (6,26) par rapport à celles collectées de la plaine (5,90) et du piémont (5,69). Les valeurs de l'IIT sont très voisines de celles de l'IMI en raison de la prise en compte à la fois de l'acide oléique et l'acide linoléique.

L'IPI explique la richesse des huiles en acides polyinsaturés (linoléique et linolénique), on remarque que les différents échantillons analysés possèdent des valeurs d'IPI proches (plaine : 1,13 ; piémont : 1,25 et montagne : 1,12).

Ces indices moyens, sont l'outil de comparaison entre profil variétal et éventuellement selon l'origine géographique (Ollivier et al., 2007). Les huiles d'olives de la région Tadla Azilal ne présentent pas de différences considérables, ce qui est lié à la dominance de la variété population "Picholine Marocaine" dans les parcelles oléicoles de la région Tadla Azilal. D'ailleurs, c'est le facteur variété qui vient en premier lieu des facteurs influant l'olive suivi du facteur sol.

I.2.3. Spectroscopie proche Infrarouge

La figure 20 montre les spectres en proche infrarouge (PIR) obtenus pour les échantillons des huiles classées dans les deux catégories "extra vierge" et "vierge" respectant la norme du COI en terme de peroxyde et d'acidité (COI, 2011).

Les spectres en proche infrarouge obtenus des échantillons HOVEs et HOVs sont très similaires (figure 20). Les bandes à 8280 cm^{-1} sont attribuées aux secondes harmoniques des vibrations d'élongations CH alors que celles observées aux alentours de 7180 cm^{-1} proviennent de la combinaison de l'élongation CH et de la déformation CH du groupe $-\text{CH}_2$ (Bertrand & Dufour, 2006 ; Hourant et al., 2000; Wang et al., 2006). Les bandes enregistrées aux alentours de 5800 cm^{-1} correspondent aux premières harmoniques des vibrations CH de $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$ et $-\text{CH}=\text{CH}-$ (Christy et al., 2004; Cozzolino et al., 2005). Les absorptions à 4600 cm^{-1} proviennent des bandes de combinaisons des vibrations CH de $-\text{CH}_3$ et $-\text{CH}_2$.

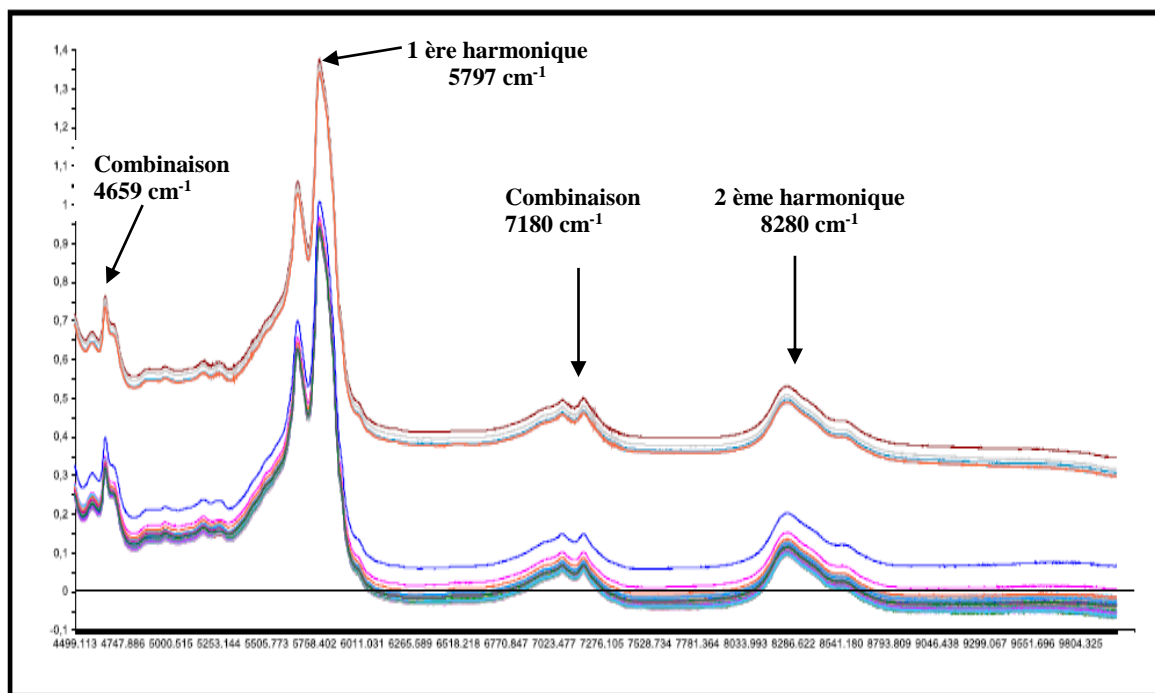


Figure 20 : Spectres en proche infrarouge des huiles d'olives extra vierges et vierges de la région de Tadla Azilal.

I.2.4. Analyse en composantes principales

Afin de pouvoir discriminer entre les spectres PIR sur la base de données spectroscopiques, nous avons utilisé le logiciel the Unscrambler dans toute la zone spectrale du PIR. Les résultats ont été obtenus en employant différents prétraitements chimiométriques (Smoothing, Normalize, Derivative, Baseline et SNV) et c'est l'utilisation de la SNV qui nous a assuré les meilleurs résultats.

Afin d'examiner la structure des données, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les 86 spectres PIR issus des échantillons des deux catégories "extra vierge" et "vierge" provenant de trois zones géographiques différentes (Plaine, piémont et montagne) de la région Tadla Azilal au Maroc. La figure 21 illustre la représentation ACP réalisée à partir de ces spectres PIR des HOEVs et HOVs dans le repère de deux premières composantes principales PC1 et PC2.

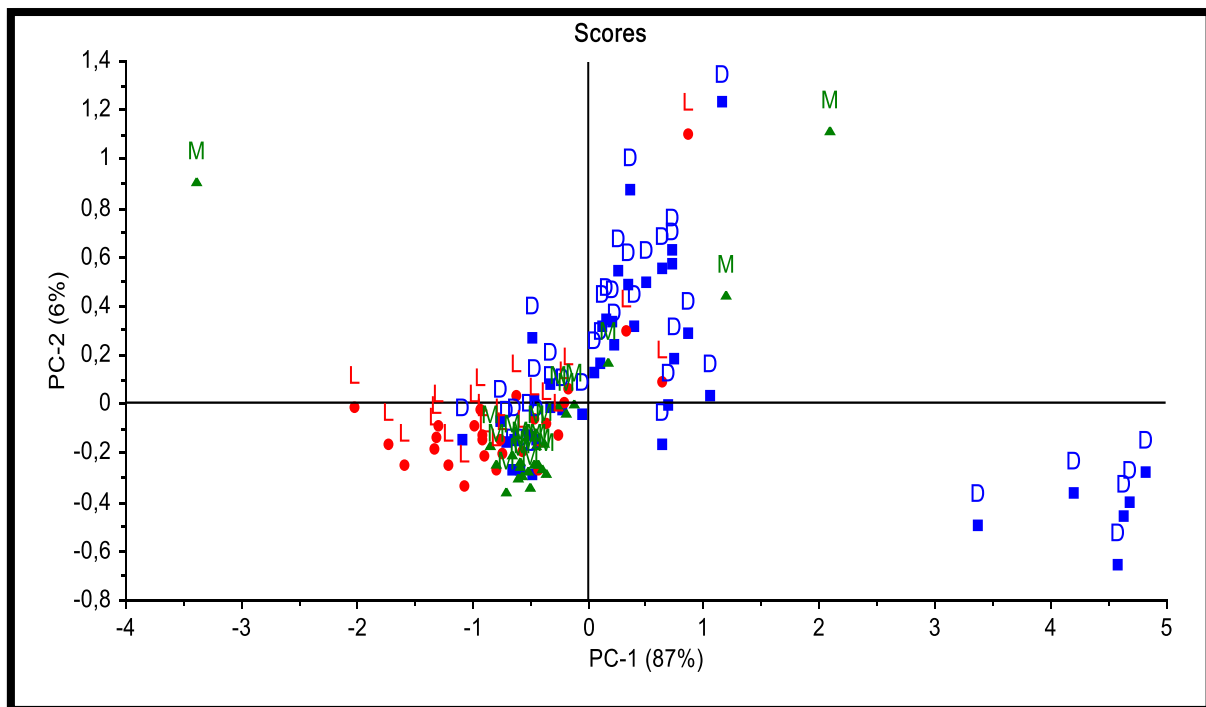


Figure 21: Représentation ACP des spectres PIR des échantillons des huiles d'olives extra vierges et vierges. L: Plaine, M: Montagne et D: Piémont

D'après la figure 21, l'ACP des huiles d'olives montre que la première composante principale PC1 et la deuxième composante principale PC2 expliquent, respectivement, 87% et 6% soit 93% de la variance totale. En fait, la composante PC1 renseigne sur le maximum d'information et la composante PC2 donne la majorité de l'information résiduelle.

Nous observons qu'il y a certaines discriminations entre les 3 groupes d'huiles provenant des trois zones géographiques de la région de Tadla Azilal. En outre, il y a une discrimination entre les huiles provenant du piémont. Ce dernier résultat peut être expliqué par une différence de spécificités telles que celles liées au microclimat et au sol. En fait, grâce aux couplages entre méthodes d'analyses physicochimiques d'une part et des méthodes chimiométriques d'autre part, divers travaux antérieurs ont évoqués les spécificités régionales des huiles d'olives produites dans le monde (Pristouri et al., 2010; Elbir et al., 2012; Ollivier et al., 2006; Veillet et al., 2009; De Luca et al., 2011; Rubén et al., 2010; Galtier et al., 2007).

Conclusion

Le présent travail avait pour objectif : la caractérisation chimique et la classification de l'huile d'olive de la variété Picholine Marocaine produite au niveau de la région Tadla-Azilal selon trois différentes zones géographiques à savoir : la plaine, le piémont et la montagne.

Les résultats obtenus au titre de la campagne oléicole 2009/2010 et 2010/2011 montrent que l'acidité des huiles d'olive de la plaine serait moins élevée que celles des huiles du piémont et de la montagne contrairement aux résultats de l'indice de peroxyde.

Les huiles de la montagne seraient légèrement plus riches en acide oléique (71,8%) par rapport aux celles de la plaine (70,4%) et du piémont (68,5%). Il y aurait une corrélation négative entre la teneur en acide oléique et celle de l'acide linoléique.

Grâce à l'Analyse en Composantes Principales, une certaine discrimination a été observée entre les trois groupes d'huiles provenant des trois zones géographiques de la région Tadla- Azilal (plaine, piémont et montagne). En effet, l'utilisation des méthodes chimiométriques telles que l'ACP serait un outil déterminant et efficace pour la discrimination des huiles d'olives.

Ainsi, ce travail contribue à une meilleure connaissance de la qualité de l'huile d'olive et à l'établissement de bases de données de l'huile d'olive produite dans la région Tadla Azilal au Maroc.

Chapitre II : Effets de la lumière du soleil, la température et la falsification sur la qualité de l'huile d'olive vierge

Introduction

L'huile d'olive est un élément clé du régime méditerranéen. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (Boskou, 1996). Toutes les études ont démontré que les régimes alimentaires à base d'huile d'olive sont bénéfiques pour la santé humaine en diminuant le risque de plusieurs maladies.

L'olivier occupe une place importante dans les agricultures alternatives pouvant résister aux stress hydriques et au réchauffement de la terre. La promotion de l'olivier et ses produits peut alors contribuer au développement durable de plusieurs pays dont le sol, le climat et l'environnement peuvent l'accueillir. En fait, la variété, la zone géographique, l'irrigation, le climat, le sol et les conditions de collecte des olives sont des facteurs influant la qualité de l'huile d'olive (Lerma-García et al., 2008 ; Oueslati et al., 2009 ; Roca et Mínguez-Mosquera, 2003 ; Koprivnjak et al., 2005 ; Alcántara et al., 2003 ; Montaña et al., 2003). En outre, les conditions d'extraction de l'huile sont, également, déterminantes sur sa qualité (MAPM, 2006) notamment en terme d'acidité et d'oxydabilité (Kalogeropoulos et al., 2014).

Pour l'huile d'olive vierge (HOV) qui a été chauffée à 190 °C dans une friteuse industrielle discontinue pendant 40 heures, l'évolution au cours du chauffage des proportions de groupes acyle et de l'indice d'iode a été réalisée par la résonance magnétique nucléaire ¹H. Les groupes acyle mono-insaturés ont été dégradés d'une façon plus rapide par rapport aux groupes linoléiques et linoléiques. La formation de composés d'oxydation primaire n'a pas été observée par cette technique (Guillén et al., 2012). L'exposition des échantillons d'huile d'olive à la lumière et à la température (35 °C) a provoqué une détérioration importante des paramètres de qualité (Pristouri et al., 2010).

La méthode des moindres carrés partiels (PLS) a été couplée à la spectroscopie Raman pour analyser des échantillons d'HOV à huit températures différentes de 20 à 90 °C, de telle sorte qu'une stratégie de précision de la spectroscopie Raman a été évaluée également pour l'identification des huiles d'olives falsifiées par l'huile de soja grâce à l'analyse discriminante linéaire (LDA) (Kim et al., 2012). Au Maroc, une étude a été récemment entreprise sur les composés phénoliques afin de valoriser la variété Picholine, mais il y a toujours un besoin en termes d'études sur les performances de la variété Picholine Marocaine qui présente des effets fongicides entre autres caractéristiques valorisantes (Elbir et al., 2012).

Le présent travail a pour objectif de contribuer à remédier à ce manque relatif à la valorisation de la variété Picholine Marocaine. Il a en fait une approche pour pouvoir contribuer au contrôle de qualité de l'huile d'olive vierge en observant les effets de la lumière du jour, la température, et l'adultération sur la teneur en eau, l'indice de peroxyde, l'indice d'acide et la densité de l'huile.

II.1. Matériels et méthodes

La collecte des échantillons d'huile d'olive a été réalisée pendant la période de Novembre 2010 et Mars 2011, dans deux zones géographiques de la région "Tadla-Azilal" : la zone de "Tagzirt" et la zone de "Demnat". Les caractéristiques géographiques et les moyennes de précipitations de ces deux zones sont résumées dans le tableau 6.

Un à deux jours après la collecte, les échantillons ont subi la presse mécanique puis la décantation dans des moulinets des deux zones. 25 échantillons d'huile d'olive vierge, dont 13 provenant de la zone de Tagzirt et 12 de Demnat, tous de la variété "Picholine Marocaine" ont été stockés pendant 15 jours à une température de 10 °C à l'obscurité, avant la date d'analyses.

Tableau 6 : Caractéristiques géographiques et écologiques des deux zones étudiées

Zone	Latitude N	Longitude W	Altitude (m)	Pluviométrie annuelle (mm)
Demnat	31° 43'	7° 02'	968	434
Tagzirt	32° 27'	6° 12'	-	550

La Teneur en eau (TE) dans les échantillons d'huile d'olive vierge (HOV) a été déterminée par la méthode de Karl Fisher (titreur Mettler Toledo DL38).

L'Indice de Peroxyde (IP) a été obtenue par dosage 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, 1981) et les peroxydes de l'huile (Codex Stan, 1981).

Grâce au titrage volumétrique, l'indice d'acide (IA) a été mesurée par l'hydroxyde de potassium (KOH, Riedel-de Haen: pureté de 99,8%) (Codex Stan, 1981).

La Détermination de la densité (D) a été réalisée par le biais de pycnomètres Guy Lussac de 25 ml (Codex Stan, 1981).

L'effet de la lumière solaire à 25 °C sur l'huile d'olive a été évalué en comparant les paramètres de la qualité, TE, IP, IA et la densité dans le cas du stockage de l'huile à l'obscurité à ceux dans le cas de son exposition à la lumière du soleil pendant 15 jours. L'évolution de la qualité de l'huile d'olive en fonction de la température a été également évaluée. Les températures choisies pour étudier l'effet du chauffage sur la qualité physico-chimique de l'huile d'olive sont : 25, 40, 55 et 70 °C. Pour atteindre l'une de ces quatre températures, l'échantillon a été chauffé doucement jusqu'à la température correspondante puis l'analyse du paramètre recherché a été faite à cette température. Pour chaque échantillon d'HOV, chacune de ces quatre températures a été maintenue 10 mn.

Les caractéristiques : TE, IP, IA et D ont été également étudiées dans le présent travail en mettant en évidence leurs évolution vis-à-vis de l'adultération de l' HOV par l'huile d'olive raffinée (HOR) (Tableau 7). Pour chacune de ces quatre caractéristiques, les effets de la lumière du soleil, la température et l'adultération sont donnés par rapport à la valeur de la moyenne arithmétique de la caractéristique concernée (TE, IP, IA et D).

La méthodologie d'adultérations des huiles d'olives par l'huile d'olive raffinée est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Pesées et pourcentages de falsification des échantillons étudiés

N° mélange	1	2	3	4	5	6	7
HOV (g)	1	1	1	1	1	1	1
"HOV + HOR" (g)	1	1.05	1.1	1.15	1.2	1.25	1.3
Adulteration (% w/w)	0	5	10	15	20	25	30

II.2. Résultats et discussion

II.2.1. Effet de la lumière solaire à 25 ° C

Les résultats des effets de la lumière du soleil sur les paramètres de contrôle qualité de l'huile d'olive de Demnat et Tagzirt (TE, IP, IA et D) sont récapitulés dans le tableau 8.

Tableau 8: Paramètres de qualité des HOVD et HOVT exposées à la lumière solaire à 25°C

Echantillon	TE (%)	IP (O ₂ meq/Kg)	IA (%)	D
HOVD	0.26± 0.02	24± 0.08	0.70± 0.03	0.90± 0.01
HOVT	0.59± 0.03	21.2± 0.06	0.73± 0.04	0.88± 0.01

Le tableau 8 montre que les résultats obtenus en terme de TE pour les échantillons HOVD et HOVT qui ont été exposés à la lumière du soleil, à 25 °C, ne correspondent pas aux normes du COI, de même pour l'IP et la densité. Alors que les valeurs de l'IA pour les deux HOVs sont conformes à la norme du COI.

En fait, La lumière du soleil favorise l'oxydation des HOVD et HOVT de telle sorte que l'indice de peroxyde (IP) augmente, mais elle n'a pas d'effet significatif sur l'IA et la densité.

Cependant, Orlandi et al. (2012) ont montré que les acides gras insaturés, lorsqu' ils se trouvent dans une matrice comme le bois d'olivier, ils peuvent être oxydés par la lumière du soleil.

II.2.2. Effet du Chauffage et de la falsification

La figure 22 présente l'effet de la température sur les paramètres de qualité des trois huiles d'olives vierges : HOVD, HOVT et HOR dans le cas où ces huiles sont stockées à l'obscurité à 10 ° C.

Les effets de la falsification par HOR sur les paramètres de qualité des HOVD et HOVT après les avoir stockées à l'obscurité à 10°C sont illustrés par la figure 23.

II.2.3. Teneur en eau

II.2.3.1 : Huile d'olive à 25 °C

D'après le tableau 8, HOVT présente une teneur en eau supérieure à celle de HOVD. Les causes principales de l'augmentation de la teneur en eau de l'huile d'olive vierge non raffinée sont liées d'une part, aux procédés d'extraction de l'huile dans le cas des moulins traditionnels où la séparation de l'huile et de l'eau se font par simple décantation de la phase aqueuse d'autre part.

En fait, cette différence est suffisante pour la décantation de la phase aqueuse sauf en cas de la stabilisation de l'émulsion « huile d'olive- eau » (Herrero et al., 2011).

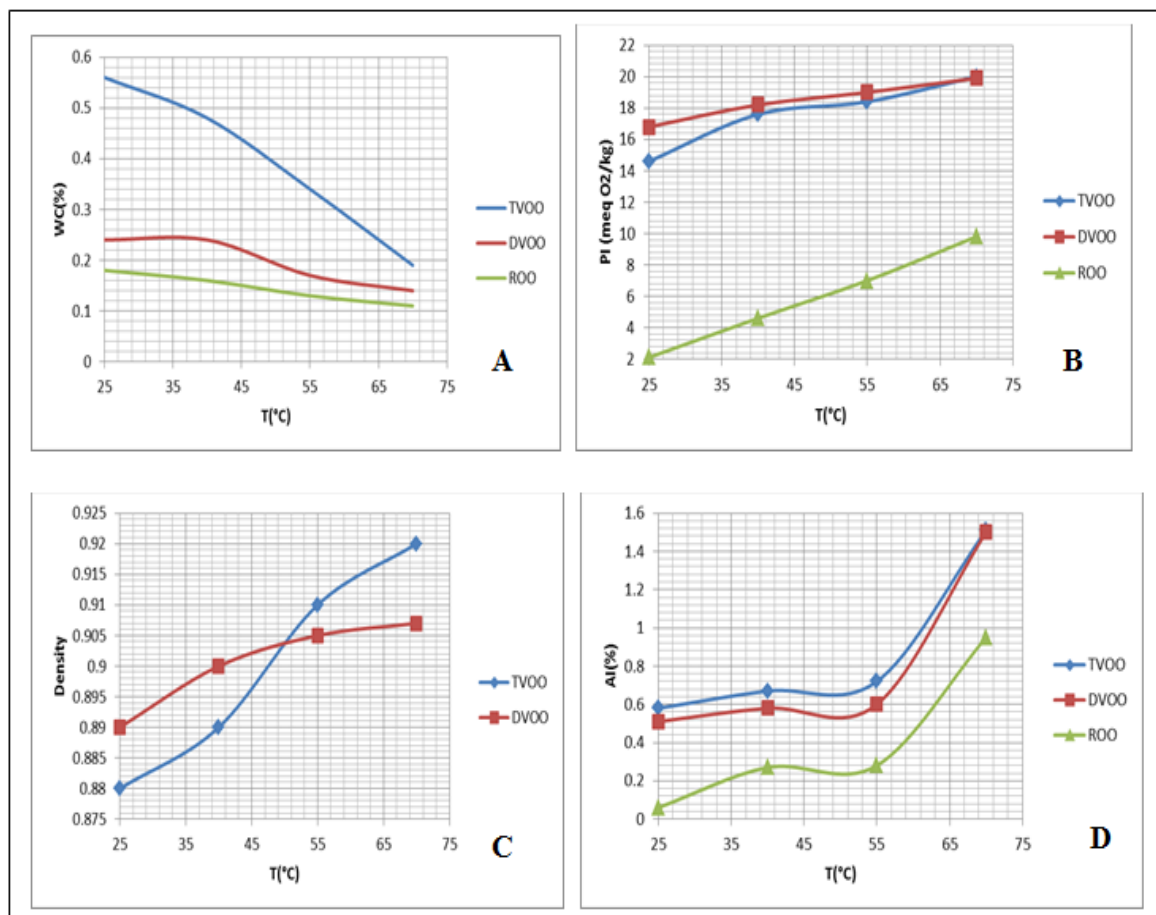


Figure 22 : Effets de la température sur les paramètres de qualité de HOVT, HOVD et HOR, stockées à l'obscurité à 10 °C: **A**: TE, **B**: IP, **C**: Densité **D**: IA

II.2.3.2: Huile d'olive chauffée

On observe d'après la figure 21.A que la teneur en eau dans les HOVsD, HOVsT et HORs diminue progressivement en fonction de la température.

La diminution de la TE pour les trois huiles chauffées, s'explique par le fait que l'élévation de la température fait augmenter la tension de vapeur de l'huile, de telle 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 doit être minimisée dans toute huile d'olive pour faire diminuer l'activité de l'eau (A_w) et par conséquent réduire la vitesse de multiplication des micro-organismes pouvant ainsi détériorer l'huile d'olive (Ciafardini et Zullo, 2002 ; Lavermicocca et al., 2010 ; Tassou et al., 2010 ; Owen et al., 2000).

II.2.4. Indice de Peroxyde

II.2.4.1 : huile d'olive chauffée

Comme on peut l'observer dans la figure 22.B, la qualité de l'huile d'olive après stockage à l'obscurité est affectée par la température. Lorsque la température augmente de 25 à 75°C, l'indice de peroxyde augmente également de 14,6 à 19,9 meq O₂/kg pour les HOVsT et de 16,9 à 19,9 meq O₂/kg pour les HOVsD.

Ainsi, l'augmentation des valeurs de l'IP est relativement modeste, sans rupture de la courbe, contrairement aux courbes de la densité (figure 21.C) et de l'IA (figure 21.D), comme nous le verrons ci-après.

Une élévation de température favorise l'oxydation des lipides (figure 22.B). En effet, l'oxydation des lipides est d'autant plus rapide que la température est élevée (35-37). L'auto-oxydation de l'huile catalysée par la température est susceptible de générer la dégradation de ses caractéristiques biochimiques, organoleptiques et nutritionnelles. Le rancissement des huiles alimentaires à cause de la température est connu dans des saisons chaudes où les températures dépassent 40°C dans certaines zones géographiques qui présentent un climat continental et une production oléicole telles que les deux zones sièges du présent travail.

Les valeurs de l'IP de l'huile d'olive raffinée sont inférieures par rapport aux celles de HOVD et HOVT. Ils varient de 2,1 à 9,8 meq O₂/kg, pour des températures passant de 25 °C à 75 °C.

L'augmentation de la température crée un mécanisme de dégradation des acides gras favorisant ainsi l'accumulation des peroxydes et la dégradation des composés phénoliques. Ces derniers sont des antioxydants (Guillén et al., 2012 ; Owen et al., 2000 ; Nakbi et al., 2010) qui peuvent se dégrader par l'hydrolyse au cours de la trituration des olives lorsque la technologie de l'extraction de l'huile emploi de l'eau chaude.

Ainsi, les unités de trituration (moulins) utilisés devraient produire des huiles présentant un indice de peroxyde dans la norme du COI. En effet, ces moulins auraient assuré certaines conditions d'extraction telles que le lavage des olives minimisant les métaux catalyseurs de l'oxydation, la réduction du temps debroyage et d'extraction durant lesquels l'huile est exposée à l'air libre.

En outre, la conservation des échantillons sous une température inférieure à 17° C a également permis d'avoir des huiles d'olive vierges de qualité.

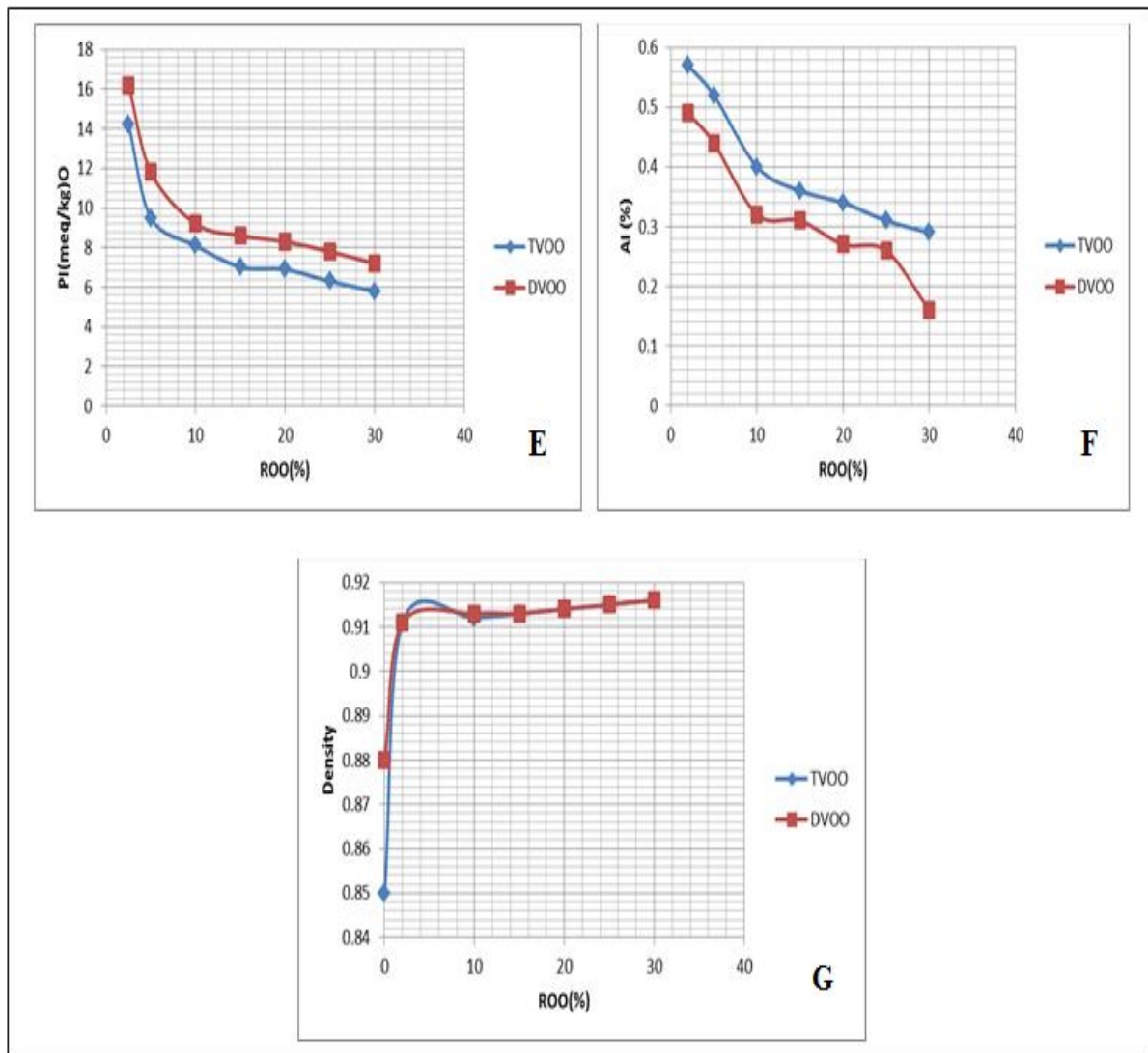


Figure 23: Effets de l'adultération sur les paramètres de qualité de HOVsT et HOVsD stockées à l'obscurité à 10°C: **E:** IP, **F:** IA et **G:** Densité

II.2.4.2: Huile d'olive adultérée

Selon la figure 23.E, HOVD et HOVT présente une diminution considérable de l'IP en fonction de la quantité de l'huile d'olive raffinée (HOR) ajoutée. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que le raffinage de l'huile d'olive ne fait pas augmenter la teneur en peroxyde de l'huile. L'IP des échantillons d'huiles adultérés reste alors dans la norme du COI. Ainsi, un simple contrôle de l'IP ne permet pas de détecter facilement une falsification de l'HOV par l'HOR suite à un contrôle de qualité.

II.2.5. Indice d'acide

II.2.5.1: Huile adultérée

La Figure 23.F illustre que les valeurs de l'IA des HOVsT sont plus élevés que celles des HOVsD. L'IA des deux HOVs diminue en fonction de l'ajout de l'HOR. Cette diminution est beaucoup plus importante lorsque le pourcentage d'adultération est inférieur à 10%.

Une telle diminution de l'IA des HOVs adultérées par HOR peut être expliquée par la faible acidité de l'huile raffinée (Simões et al., 1998 ; Simões et al., 1996). Ainsi, le raffinage devrait stabiliser l'acidité libre de l'huile d'olive.

II.2.5.2: Huile d'olive chauffée

Généralement, le chauffage des huiles d'olives augmente l'IA, dans ce cas c'est l'HOVT qui a le plus grand IA (figure 22.D).

Un résultat conforme a été marqué dans le cas de l'effet de la lumière du soleil sur l'indice d'acide des HOVsT dont l'IA était de 0,73% (tableau 8) lorsqu'elles étaient exposées à la lumière du soleil et de 0,51% à l'obscurité.

L'indice d'acide de l'HOR étant inférieur à ceux de l'HOVD et l'HOVT (figure 22.D). Ce qui s'explique par le fait que l'un des objectifs du raffinage est de faire stabiliser l'acidité de l'huile d'olive. Ainsi, une adultération de l'huile d'olive vierge par HOR tendrait à diminuer l'indice d'acide.

Au-dessus des températures d'environ 63 °C (figure 22.D) l'HOVD et l'HOVT, comme les huiles vierges, ne présentent pas des valeurs de l'IA inférieures à 1% en termes d'acide oléique, contrairement à l'HOR.

L'augmentation de la température semble affecter les triglycérides des trois huiles, en libérant les acides gras. Par conséquent, ces huiles chauffées maintiennent une augmentation relative de l'acidité et de l'oxydation.

Ce résultat est en corrélation avec l'un des travaux antérieurs concernant l'effet du stress thermique sur la qualité de l'huile d'olive (Valdés et al., 2006 ; Nissiotis et al., 2002 ; Kalogianni et al., 2011).

II.2.6. Densité et adultération

Selon la figure 22.C, on peut observer que lorsque la température ne dépasse pas 47°C, l'HOVD serait légèrement plus dense que l'HOVT.

Généralement, il apparaît que l'élévation de la température fait augmenter très légèrement la densité des huiles. Une telle augmentation de la densité ne semble pas être aussi simple qu'on peut le penser. Une première explication de ce résultat serait que, à l'échelle microscopique, l'eau et les composés volatils disparaissent de la phase liquide.

La falsification de l'HOV par l'HOR a également entraîné une légère augmentation de la densité (figure 23.G).

Le raffinage permet en fait d'ajouter certains composés chimiques susceptibles de faire augmenter la densité de l'HOV tels que les antioxydants et les espèces stabilisants.

Ceci peut également être expliqué principalement par la concentration de polyphénols et la connaissance du nombre d'oxydation de l'huile à analyser (Larif et al.,2013).

Conclusion

L'huile d'olive vierge produite au niveau des deux zones géographiques marocaines, Demnat et Tagzirt, présente des caractéristiques chimiques et physiques comme l'acidité libre, la teneur en peroxyde qui sont conformes à celles recommandées par la norme du Conseil Oléicole International(COI). Par contre, autres caractéristiques telles que la teneur en eau et la densité, ne sont pas conformes à cette norme.

La lumière du soleil favorise l'augmentation de l'acidité de l'huile d'olive vierge et son oxydation.

La température fait augmenter l'acidité libre et la teneur en peroxyde de l'huile d'olive vierge.

Les Huiles d'olive vierges de Demnat et de Tagzirt présentent une diminution considérable de l'indice de peroxyde lorsqu'elles sont adultérées par l'huile d'olive raffinée.

Les valeurs de l'indice d'acide des huiles d'olives vierges de Tagzirt sont plus élevées que celles des huiles d'olives vierges de Demnat.

L'indice d'acide des deux huiles d'olives vierges diminue, après l'ajout d'huile d'olive raffinée, en particulier lorsque le pourcentage d'adultération est inférieur à 10%.

En général, l'huile d'olive vierge de Demnat présenterait des caractéristiques qui permettent une meilleure résistance à la température, la lumière du soleil et la falsification par rapport à l'huile d'olive de Tagzirt. D'autres études sont nécessaires afin de confirmer une telle discrimination en termes de résistance.

En perspective de ce travail, nous allons comparer les résultats concernant la variété "Picholine Marocaine" à ceux d'autres variétés d'olives, en particulier "Haouzia" et "Menara" qui sont des variétés Marocaines, "Picholine du Languedoc" variété Française et "Arbequina" et "Picual" celles de l'Espagne.

Chapitre III : Authentification de l'huile d'olive vierge par des méthodes chimométriques couplées à la spectroscopie FT-MIR

Introduction

L'huile d'olive, connue pour ses vertus alimentaires et sanitaire en tant que aliment rentrant dans le régime Méditerranéen, ne cesse de gagner l'intérêt des communautés aussi bien scientifiques que diététiques. Elle présente des substances antioxydantes dont l'efficacité thérapeutique a été démontrée (Fernandez-Orozco et al., 2011 ; Bouzid et al., 2005 ; Landete et al., 2008 ; Ruiz-Barba et al., 1990 ; Owen et al., 2000 ; Nakbi et al., 2010 ; Magdich et al., 2012 ; García-Villalba et al., 2010 ; Miles et al., 2005).

La falsification de l'huile d'olive par de l'huile d'olive raffinée est une pratique frauduleuse connue sur les marchés informels dans certains pays en développement. Cette falsification est faite pour un intérêt matériel sans respecter la sécurité des consommateurs.

De nombreux travaux ont été effectués jusqu'à présent, afin de trouver des marqueurs de falsification dans des mélanges d'huile d'olive vierge extra avec de l'huile d'olive raffinée (HOR). Ces études antérieures ont contribué à accroître les connaissances sur cette problématique de la falsification.

Plusieurs méthodes physiques et chimiques sont utilisées pour détecter et quantifier l'adultération de l'huile d'olive vierge (Gurdeniz et al., 2009 ; Maggio et al., 2010; Poulli et al., 2007 ; Šmejkalová et Piccolo, 2010 ; Mildner et al., 2008 ; Calvano et al., 2012 ; Al-Ismail et al., 2010). En outre, les méthodes chimométriques sont utilisées pour résoudre la problématique de la falsification. En fait, pour distinguer les huiles d'olive vierges françaises (HOVs) qui sont enregistrés comme des appellations d'origine contrôlées (AOC), Ollivier et al. en 2006 ont utilisé des caractéristiques sensorielles et chromatographiques comme la composition en acides gras et triacylglycérols couplées à la chimométrie. En 2011, De Luca et ses collaborateurs ont utilisé l'Algorithme de Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) couplée à la spectroscopie Infrarouge à Transformé de Fourier (IRTF) pour la classification des HOVs marocaines.

Un travail récent de M. Elbir et al. a utilisé un couplage entre la chromatographie en phase gazeuse et des méthodes chimiométriques (ACP, K-Meanset CAH) pour la classification automatique des huiles d'olives vierges marocaines en fonction de leurs contenus en acides gras et stérols (Elbir et al., 2014).

Au Maroc, il y a un besoin en terme d'outils non coûteux et rapides pour le contrôle de la qualité et la détection et la quantification de l'adultération de l'huile d'olive vierge par de l'huile raffinée. C'est pourquoi le présent travail a pour but de contribuer à la maîtrise de la qualité de l'HOV adultérée par des huiles raffinées (HOR) dans certains marchés informels.

III.1. Matériels et méthodes

Les olives de la variété « Picholine Marocaine » ont été collectées au niveau de la région "Tadla-Azilal" en Décembre 2012. Les olives ont été soumises à la presse mécanique au niveau d'un laboratoire de recherche pour assurer l'extraction de l'huile d'olive vierge.

L'huile d'olive vierge extraite a été stockée à 10 °C. Les 17 mélanges préparés "HOV + HOR" (tableau 9) ont été explorés pour prédire l'adultération. Ces 17 échantillons adultérés préparés ont été analysés par un spectromètre Moyen Infrarouge à Transformée de Fourier (MIR-TF) utilisant un Brücker Vector 22 ATR diamant.

Tableau 9: Pesées et pourcentages de falsification des 17 mélanges "VOO+ ROO" préparés

N° mélange	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
HOV (g)	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004	4.9004
"HOV + HOR" (g)	4.9004	4.9238	4.9492	4.9734	5.0042	5.0310	5.0534	5.0760	5.1074	5.1334	5.1604	5.1860	5.2098	5.2414	5.2662	5.3000	5.3302
Adultération (% w/w)	0.00	0.48	0.99	1.47	2.07	2.60	3.03	3.46	4.05	4.54	5.04	5.51	5.94	6.51	6.95	7.54	8.06

Cependant, la spectroscopie MIR-TF n'ayant pas permis de distinguer entre les spectres des 17 échantillons adultérés, nous avons alors utilisé la méthode mathématique dite « la distance euclidienne » pour remédier à ce problème.

Le carré de "d" la distance euclidienne entre le spectre MIR du mélange inconnu à analyser et celui du mélange considéré «HOV + HOR" est donnée par l'équation suivante :

$$d^2 = \sum (Ab_{i\text{éché inconnu}} - Ab_i)^2$$

avec :

$Ab_{i\text{éché inconnu}}$: Absorbance correspondante au nombre d'onde $1/\lambda_i$ pour l'échantillon inconnu.

Ab_i : Absorbance correspondante au nombre d'onde $1/\lambda_i$, pour le mélange considéré ; i variant de 1 à 1764.

Tableau 10: Base de données spectroscopiques SMIR des 17 mélanges "HOV+HOR"

Column 1	Column 2	Column 3	. . .	Column 17	Column 18	Column 19
	2	3	. . .	17	18	(unknownsample)
A	B	C	. . .	Q	R	S
	(0% w/w)	(0.48% w/w)	. . .	(7.54% w/w)	(8.06% w/w)	(% to determine)
$1/\lambda$ (cm ⁻¹)		
$1/\lambda = 3999$
.
.
$1/\lambda = 599$

Le tableau 10 illustre la base de données spectroscopiques SMIR que nous avons construits à partir des 17 mélanges.

Finalement, nous avons appliqué la méthode de la distance euclidienne pour prédire 10 échantillons d'HOV, éventuellement falsifiés par HOR, collectés dans des marchés informels au niveau de la région Tadla Azilal.

III.2. Résultats

III.2.1. Distance Euclidienne

La figure 24 présente le spectre MIR d'un échantillon d'huile d'olive vierge adultéré par une huile d'olive raffinée.

Les spectres MIR des mélanges "HOV+HOR" présentent les mêmes bandes caractéristiques de l'huile d'olive dont une seule qu'on peut détecter par spectroscopie MIR.

La falsification de l'HOV par une faible quantité de l'HOR n'est pas facile à détecter. En effet, la figure 25 montre qu'il est très difficile de distinguer entre les spectres MIR des 17 mélanges préparés "HOV+HOR" et par conséquent de détecter l'adultération. D'où le fait que nous avons eu recours au couplage entre la SMIR et la méthode de la distance euclidienne.

Le tableau 11 illustre le résultat des valeurs des distances euclidiennes entre le spectre Moyen Infrarouge d'une huile adultérée à pourcentage d'adultération test (2,6%), d'une part et celui du spectre Moyen Infrarouge de chacun des 17 mélanges préparés, et ce pour tester l'expression mathématique de la distance euclidienne. On a vérifié l'équation (1) de la méthode de la distance euclidienne par un essai à l'aide de l'échantillon qui correspond au numéro de la colonne 6. Comme il est observé dans la colonne 6 (G) dans le tableau 11, la distance euclidienne est égale à zéro, alors cela signifie que le pourcentage de l'adultération de cet échantillon de test serait de 2,6%.

Le tableau 12 donne le résultat de la distance euclidienne entre la base de données spectroscopiques des 17 mélanges préparés et les 10 échantillons d'HOV falsifiés par des échantillons d'HOR collectés au niveau des marchés informels.

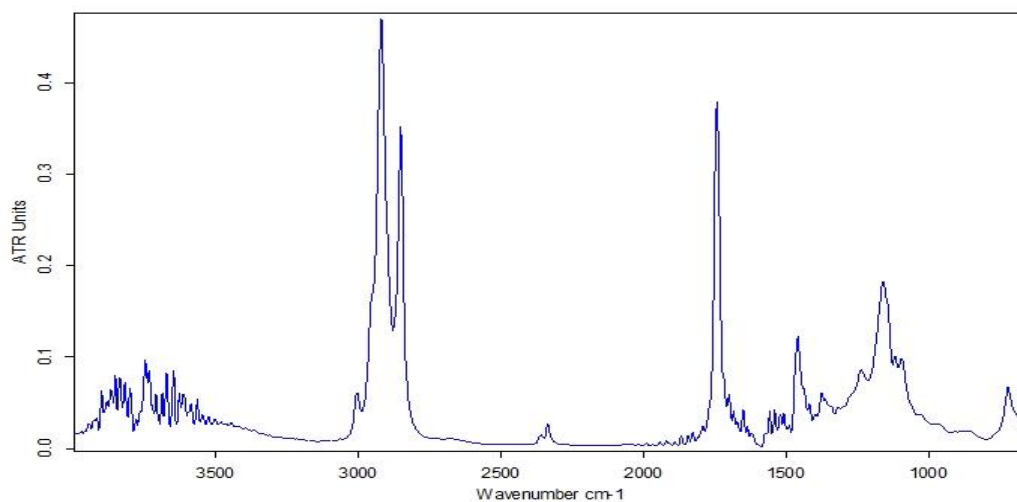


Figure 24: Spectre MIR-TF de l'huile d'olive vierge falsifiée par l'huile raffinée

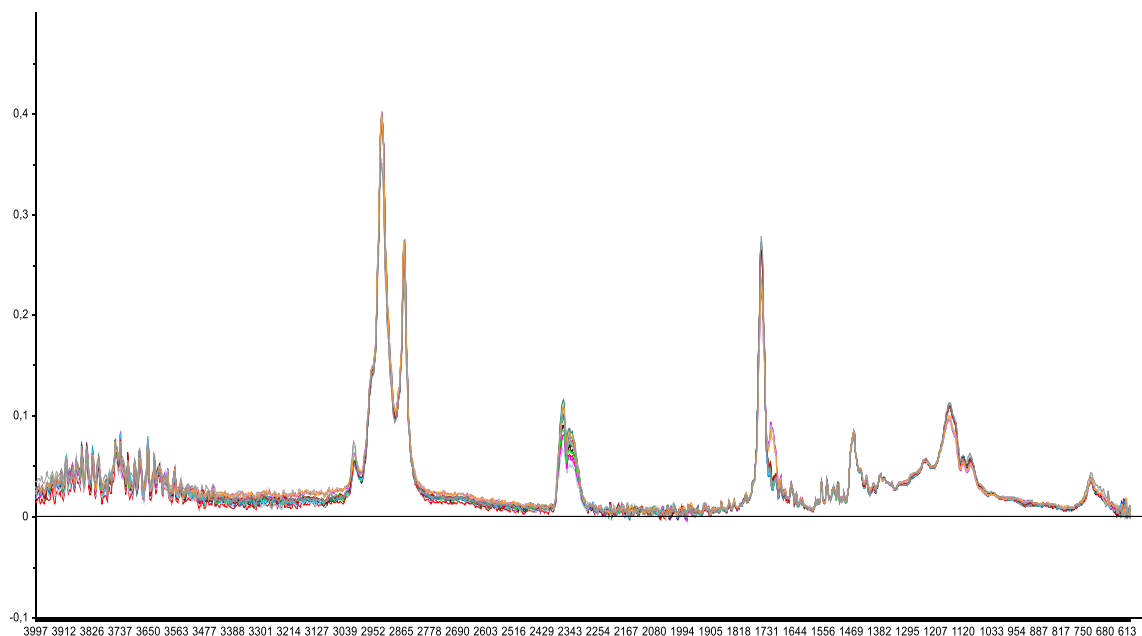


Figure 25: Spectres MIR-TF des 17 mélanges préparés "HOV + HOR"

Tableau 11: Distance Euclidienne (DE) entre le spectre MIR de l'échantillon test et celui de chacun des 17 mélanges

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
d	0.2002	0.2634	0.1927	0.2111	0.2009	0	0.1949	0.3094	0.1874	0.2143	0.3526	0.2456	0.2374	0.2231	0.3238	0.3246	0.1443

Tableau 12: Prédiction de la distance euclidienne entre chaque spectre MIR des 10 échantillons à analyser et celui de chacun des 17 mélanges « HOV+HOR »

Pourcentage d'adultération réelle (%w/w)	HT1	HT2	HT3	HT4	HT5	HT6	HT7	HT8	HT9	HT10
H1 (0.00)	0.1433	0.1261	0.1312	0.2209	0.0967	0.0944	0.2303	0.1417	0.2809	0.1312
H2 (0.48)	0.0159	0.2333	0.1604	0.2923	0.2131	0.0897	0.3471	0.1760	0.3504	0.2383
H3 (0.99)	0.1660	0.0839	0.1150	0.1954	0.0864	0.0897	0.1980	0.1500	0.2504	0.1073
H4 (1.47)	0.1241	0.2292	0.1777	0.2707	0.1883	0.1252	0.3159	0.1011	0.3362	0.2175
H5 (2.07)	0.1518	0.1263	0.1283	0.2127	0.0978	0.1010	0.2184	0.1390	0.2734	0.1327
H6 (2.60)	0.2527	0.2216	0.2323	0.2688	0.2007	0.2122	0.2524	0.1095	0.3214	0.1595
H7 (3.03)	0.1822	0.1521	0.1295	0.1706	0.1094	0.1368	0.2163	0.1351	0.2410	0.1546
H8 (3.46)	0.3683	0.1877	0.2586	0.2126	0.2006	0.3046	0.0665	0.3142	0.2266	0.2106
H9 (4.05)	0.1877	0.1144	0.1295	0.1809	0.0519	0.1301	0.1890	0.1395	0.2418	0.1177
H10 (4.54)	0.2077	0.0900	0.1502	0.2028	0.0757	0.1475	0.1738	0.1820	0.2549	0.0810
H11 (5.04)	0.3672	0.2468	0.2253	0.1281	0.2651	0.3174	0.2449	0.3461	0.0851	0.2829
H12 (5.51)	0.2523	0.0413	0.1618	0.1889	0.1071	0.1872	0.1413	0.2313	0.2245	0.1167
H13 (5.94)	0.2329	0.0816	0.1638	0.2052	0.0716	0.1710	0.1600	0.2134	0.2504	0.1127
H14 (6.51)	0.2353	0.0785	0.1408	0.1596	0.0873	0.1709	0.1447	0.2004	0.2065	0.1127
H15 (6.95)	0.3422	0.2348	0.2018	0.0731	0.2445	0.2943	0.2324	0.3133	0.0221	0.2656
H16 (7.54)	0.3461	0.2106	0.1960	0.1107	0.2298	0.2923	0.1990	0.3185	0.0741	0.2478
H17 (8.06)	0.3056	0.2049	0.2568	0.2816	0.2158	0.2524	0.2107	0.2082	0.3164	0.1380
Pourcentage d'adultération Prédit	0.48	5.51	0.99	6.95	4.05	0.48	3.46	1.47	6.95	4.54

III.2.2. Classification Ascendante Hiérarchique

Nous avons, également, précédé de la méthode de Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) et le résultat est donné par le dendrogramme dans la figure 26 suivante :

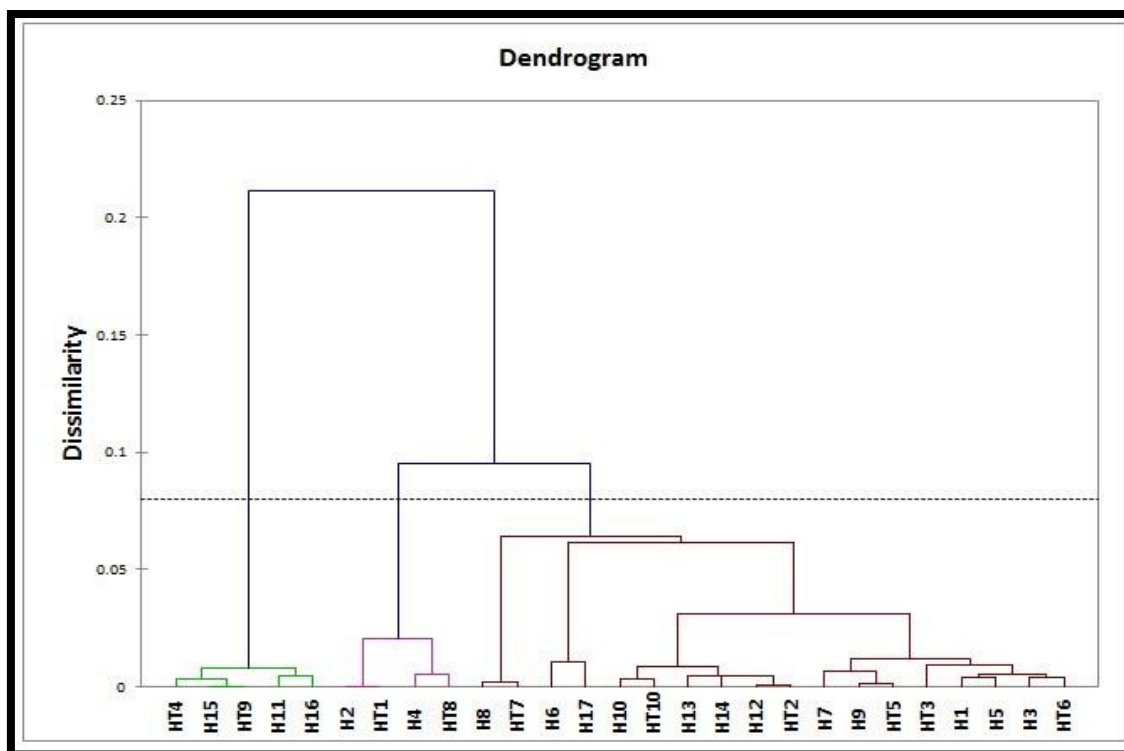


Figure 26 : Dendrogramme de classification par la méthode de CAH

III.3. Discussion

Il était important de chercher à déterminer le degré de falsification par un outil rapide et simple, il s'agit du couplage entre la spectroscopie MIR-TF et la chimiométrie.

Comme le montre la figure 25, il est très difficile de distinguer entre les 17 spectres MIR-TF des 17 mélanges préparés "HOV + HOR" et par conséquent de détecter l'adultération. En fait, ces 17 spectres présentent les mêmes bandes caractéristiques de l'huile d'olive.

Deux bandes intenses à 2924 et 2853 cm^{-1} sont attribuables respectivement aux vibrations d'élongations asymétriques et symétriques du groupe CH_2 . Une autre bande d'intensité moyenne observable à 2953 cm^{-1} est due à la vibration d'élongation asymétrique du groupe CH_3 . Dans la région des basses fréquences, seule la vibration de déformation du groupe CH_2 est observable. Les bandes à 1458 et 1232 cm^{-1} sont attribuables aux vibrations de déformation de cisaillement en dehors du plan. La bande à 724 cm^{-1} est représentative des vibrations de déformation de balancement, celles-ci étant plus visibles dans les acides gras insaturés que dans les acides gras saturés.

Le mode de vibration =C-H correspond à une bande de faible intensité qui est observée vers 3008 cm^{-1} . En revanche, vers 970 cm^{-1} une bande intense est observable. Elle est due à la vibration de déformation du groupe =C-H. Le mode de vibration C=O apparaît vers 1750 cm^{-1} . Le mode de vibration C-O : la région des basses fréquences contient souvent des bandes de faible intensité. La seule bande clairement observable se situe à 1150 cm^{-1} , cette bande est attribuable à la vibration d'élongation du groupe C-O des esters. L'intensité de ce pic est également inversement proportionnelle au nombre d'atomes de carbone. La bande vers 2350 cm^{-1} serait liée aux conditions d'enregistrement des spectres. La Spectroscopie MIR couplée à la méthode de la distance euclidienne nous a permis de reconnaître qu'un échantillon d'HOV test qui a été falsifié par HOR, choisi arbitrairement, correspond à la colonne 6 (2,6%).

La Distance Euclidienne (DE) est une méthode statistique utilisée pour la classification dans le domaine de traitement de l'information (traitement de l'image, l'extraction de données et chimiométrie), d'autres études ont été effectuées en utilisant la méthode de la distance euclidienne comme paramètre discriminant pour la classification des eaux du sud-Paris.

La distance euclidienne et les méthodes de couplage supplémentaires sont utilisées par Cruzet al. (2013) dans le prétraitement pour élaborer une classification hiérarchique, grâce à des techniques chimiométriques, afin de discriminer les yaourts pauvres et riches en matières grasses.

Elbir et al. (2014) ont récemment appliqué des algorithmes (ACP, K-Means et CAH) de discrimination entre les huiles d'olive vierges sur la base de leur contenu en termes d'acides gras et de stérols.

En outre, les algorithmes de classification comme LDA (Analyse Discriminante Linéaire), CART et SVM (machines à vecteurs de support) ont été réalisées par Melissa et al. (2009) pour utiliser la méthode de PCCM dans différents tests sur de grandes séries d'expériences de classification. Ces derniers auteurs ont établi le classificateur PCCM de discrimination qui fournit un outil de visualisation rapide pour diagnostiquer les problèmes de classifications complexes.

De nombreuses techniques utilisées dans la détection sol Vis-NIR sont basées sur la mesure de la similarité ou de la distance entre les échantillons (Ramirez-Lopez et al., 2013). Les auteurs ont évalué les mesures de distances suivantes: Euclidienne (ED), Mahalanobis (MD), Spectral Angle Mapper (SAM), Spectre de Différence de Surface (SDS), Divergence de l'Information Spectrale (SID), distance de la Composante Principale (PC-M), distance de la Composante Principale optimisée (OPC-M), la distance d'intégration linéaire locale (LLE-M) et intégration σ -localement linéaire (σ LLE-M) (Ramirez-Lopez et al., 2013). Les résultats expérimentaux de ces derniers auteurs ont montré que la similarité entre les spectres enregistrés en Vis-NIR, reflétant une similarité dans la composition chimique du sol, sont ceux provenant des méthodes OPC-M, LLE-M et σ LLE-M.

Les États-Unis et le Canada utilisent actuellement des mesures basées sur l'exposition pour protéger la végétation d'ozone (O_3) (Percy et al., 2007).

En utilisant les valeurs météorologiques commensurables de l'ozone sur les cinq années, de 1999 à 2003, ces deux pays ont développé des modèles de régression permettant de prédire, grâce à la qualité de l'air ambiant, l'évolution de la croissance du seul arbre angiosperme à feuillage décidu en Amérique du Nord qu'est le peuplier faux-tremble (*Populustremuloides*).

Ainsi, pour discriminer entre les 17 spectres FTIR de l'huile d'olive vierge adultérée, un couplage entre la spectroscopie MIR et la méthode de la distance euclidienne était une méthode efficace, rapide, moins coûteuse et déterminante pour les analyses de routine, en particulier pour le contrôle de la qualité de l'huile d'olive. Ces résultats sont très importants dans un premier niveau dans le contrôle de la qualité de l'huile d'olive, grâce à son optimisation en termes de temps, de l'exactitude et de prix.

Les résultats obtenus par la méthode de la CAH correspondent à ceux de la méthode de la distance euclidienne. En général, la distance euclidienne entre chaque spectre FT-MIR des 10 échantillons (HT1 à HT10) provenant d'un marché informel et celui de chacun des 17 mélanges « HOV+HOR », est minimale (valeurs données au Tableau 12) lorsque les deux spectres sont ceux d'échantillons qui sont des voisins proches sur le dendrogramme de la CAH (Figure 26).

En fait, seul l'échantillon HT6 provenant d'un marché informel qui fait l'exception de cette observation, car il n'est pas classé avec l'échantillon du mélange H2 sur le dendrogramme de la CAH.

Conclusion

L'Adultération de l'huile d'olive vierge par une faible quantité d'huile d'olive raffinée est difficile à détecter. Le couplage entre la spectroscopie du moyen infrarouge et la méthode de la distance euclidienne contribue à la détection et la prédiction d'une telle adultération. Grâce à sa rapidité et son coût relativement faible, le couplage entre SMIR-TF et la méthode de la distance euclidienne et la classification ascendante hiérarchique serait un outil chimiométrique efficace pour assurer l'authentification et la traçabilité de l'huile d'olive vierge, des aliments, des médicaments ou d'autres produits.

Afin de pouvoir contrôler la qualité de l'huile d'olive par aussi bien les services compétents de contrôle qualité que par les laboratoires industriels et de recherche, un tel couplage serait un moyen de premier diagnostic rapide et moins coûteux.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'olivier constitue la principale espèce fruitière plantée au Maroc. Ce secteur joue un rôle important dans la création de l'emploi et l'amélioration des revenus. En outre, il assure des fonctions multiples de lutte contre l'érosion, de valorisation des terres agricoles et de fixation des populations dans les zones marginales.

Au niveau de la partie bibliographique, nous avons décrit les classes de l'huile d'olive, les techniques d'extraction, sa composition chimique citée dans la littérature, les principaux facteurs déterminant sa qualité et ses vertus sur la santé. Le marché mondial, national et régional de l'huile d'olive a été également présenté, ainsi que des éléments bibliographiques concernant des méthodes spectroscopiques (Moyen et proche infrarouge) et chimiométriques (analyse en composantes principales et la classification ascendante hiérarchique).

La première partie a été consacré à la caractérisation chimique et la classification de l'huile d'olive de la variété Picholine Marocaine selon différentes zones géographiques de la région Tadla Azilal à savoir la plaine, le piémont et la montagne. Les résultats obtenus en termes d'acidité ont montré que les huiles d'olive de la plaine présentent un pourcentage moins élevée que ceux des huiles de la montagne et du piémont. Par contre, l'indice de peroxyde moyen des huiles provenant de la plaine est légèrement supérieur que ceux des huiles de la montagne et du piémont.

Une analyse par CPG a été effectuée sur une série de 86 échantillons d'huiles d'olives extra vierges et vierges. Les huiles de la montagne seraient plus riches en acide oléique, acide gras majeur de l'huile d'olive, par rapport aux échantillons provenant de la plaine et du piémont. En ce qui concerne le taux de l'acide linoléique, on note qu'il est plus élevé pour les huiles du piémont par rapport à celui de la plaine, et de la montagne. Résultat concordant avec celui de la teneur en acide oléique puisqu'en termes de teneurs, ce dernier serait en corrélation négative avec l'acide linoléique.

Globalement, aussi bien la teneur en acide palmitique que celle des acides gras saturés et insaturés dans les huiles d'olives provenant du piémont, de la plaine et de la montagne ne présentent pas de variation nette.

Les spectres en proche infrarouge des huiles d'olive extra vierges (HOEVs) et des huiles d'olive vierges (HOVs) sont très similaires. Alors, nous avons eu recours à la chimométrie par la méthode de l'analyse en composantes principales (ACP) afin d'examiner la structure des données et avoir une discrimination entre les échantillons d'huiles d'olives. La représentation ACP de ces huiles a montré que la première composante principale PC1 et la deuxième composante principale PC2 expliquent, respectivement, 87% et 6% soit 93% de la variance totale. Par conséquent, il y a certaines discriminations entre les 3 groupes d'huiles provenant des trois zones géographiques de la région de Tadla Azilal (plaine, piémont et montagne). En outre, une discrimination entre les huiles provenant du piémont a été marquée. Ce dernier résultat peut être expliqué à une différence de spécificités telles que celles liées au microclimat et au sol.

La seconde partie s'est inscrite dans le cadre de la valorisation de la variété Picholine Marocaine en se basant sur l'étude des effets de la lumière du soleil, de la température et de la falsification sur la qualité de l'huile d'olive vierge et notamment sur les paramètres suivants : la Teneur en Eau, l'Indice de Peroxyde, l'Indice d'acide et la Densité. 25 échantillons de la variété Picholine Marocaine ont fait l'objet de cette étude, provenant de deux zones de la région Tadla Azilal à savoir : Tagzirt et Demnat. Les résultats suivants sont les fruits de ce travail :

- La lumière du soleil favorise l'acidité de l'huile d'olive vierge et son oxydation.
- La température fait augmenter l'Indice d'acide et la teneur en peroxyde, ainsi que la densité de l'huile d'olive vierge d'une façon très légère. Par contre, la teneur en eau dans les HOVs de Demnat, HOVs de Tagzirt et les huiles d'olive raffinée (HORs) diminue progressivement en fonction de la température.
- Les Huiles d'olive vierges de Demnat et de Tagzirt présentent une diminution considérable de l'indice de peroxyde lorsqu'elles sont adultérées par de l'huile d'olive raffinée, ainsi que l'indice d'acide et notamment lorsque le pourcentage d'adultération est inférieur à 10%.
- La falsification de l'HOV par l'HOR a entraîné une légère augmentation de la densité.

Généralement, l'huile d'olive vierge de Demnat présenterait des caractéristiques qui permettent une meilleure résistance à la température, la lumière du soleil et la falsification par rapport à l'huile de Tagzirt.

Dans **la dernière partie**, nous nous sommes intéressés à l'authentification de l'huile d'olive vierge par des méthodes chimiométriques telles que la distance euclidienne et la classification ascendante hiérarchique couplées à la spectroscopie FT-MIR. Pour cela, 17 mélanges « HOV+HOR » ont été préparés puis analysés par technique de spectrométrie Moyenne Infrarouge à Transformée de Fourier (SMIR-TF). Cependant, cette technique nous n'a pas permis de distinguer entre les spectres des 17 échantillons adultérés et par conséquent de détecter l'adultération. D'où le fait que nous avons eu recours au couplage entre la SMIR-TF d'une part et les deux méthodes de la distance euclidienne et de la classification ascendante hiérarchique (CAH), d'autre part.

Finalement, nous avons appliqué ces deux couplages pour prédire 10 échantillons de l'huile d'olive vierge, éventuellement falsifiés par l'huile d'olive raffinée, collectés dans des marchés informels au niveau de la région de Tadla Azilal.

Les résultats obtenus par la méthode de la CAH concordent avec ceux de la méthode de la distance euclidienne. Effectivement, la distance euclidienne entre chaque spectre FT-MIR des 10 échantillons provenant du marché informel et celui de chacun des 17 mélanges « HOV+HOR », est minimale lorsque les deux spectres sont ceux d'échantillons qui sont des voisins proches sur le dendrogramme de la CAH.

Grâce à sa rapidité et son coût relativement faible, le couplage entre SMIR-TF d'une part et la méthode de la distance euclidienne et la classification ascendante hiérarchique d'autre part serait un outil chimiométrique efficace pour assurer l'authentification et la traçabilité de l'huile d'olive vierge, les aliments, les médicaments ou d'autres produits.

Perspectives :

- Une étude comparative des performances de différentes huiles d'olive vierge des clones de la variété picholine marocaine implantées au Maroc (Menara, Haouzia, Dahbia et Arbequine) en termes de rendement, qualité, résistance au stress hydrique et aux facteurs environnementaux tels que la chaleur et l'humidité.
- Une étude chimométrique pouvant détecter d'éventuelles différences en composition chimique en termes de composés phénoliques antioxydants pour l'huile d'olive vierge de différentes provenances variétales et géographiques.
- Une étude de la composition chimique en acides gras et composés phénoliques de l'huile d'olive vierge selon le stade de la maturité des olives de différentes provenances variétales et géographiques.

Références Bibliographiques

Abaza L., Msallem M., Daoud D., Zarrouk M., 2002. Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 9(2) : 174-179.

Afidol, 2005. Huile d'olive vierge et santé. Livret professionnel, Nyons.

Alcántara E., Cordeiro A.M., Barranco D., 2003. Selection of olive varieties for tolerance to iron chlorosis. *Journal of Plant Physiology*, 160 (12): 1467-1472.

Al-Ismail K.M., Alsaed A.K., Ahmad R., Al-Dabbas M., 2010. Detection of olive oil adulteration with some plant oils by GLC analysis of sterols using polar column. *Food Chemistry*, 121(4): 1255-1259.

AMPPC (Association Marocaine des Producteurs des Plants Certifiés). 2006. Journée Olivier Meknès : La recherche agronomique et la profession, ensemble pour un développement durable de l'oléiculture nationale. INRA (Maroc), 1-4.

Andrews P., Busch J. L. C. H., Joode T. D., Groenewegen A. & Alexandre H., 2003. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside agglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (5): 1415-1420.

Angerosa F., 2002. Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of lipid Science and technology*, 104 (9-10): 639-660.

Angerosa F., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposto S. & Montedoro G., 2004. Volatile compounds in virgin olive oil : occurrence and their relationship with the quality. *J. Chromatogr., A*, 1054 (1-2): 17-31.

Aparicio R., & Luna G., 2002. Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 614-627.

Aparicio R., Morales M. T. & Alonso V., 1997. Authentication of European virgin olive oils by their chemical compounds, sensory attributes, and consumers' attitude. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (4): 1076-1083.

Argenson C., 1999. Cueillette des olives, stockage, pressage et qualité. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 6 (1) : 48.

Arpino C., Da Cas R., Donini P., Pasquini P., Rachetti R., Traversa G., 1995. *Acta Psychiatr Scand*, 92 : 7-9.

Assman G., Wahrburg U., 2008. Effets des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé. Librairie Médicale Européenne sur l'Huile d'Olive.

Association Française Interprofessionnelle de l'Olive, 2003. Les Bonnes Pratiques d'Hygiène pour la fabrication d'Huile d'Olive Vierge. Comité Economique Afidol Agricole de l'Olivier. Version indice 7.

Awad A.B., Von Holtz R.L., Cone J.P., Fink C.S. & Chen Y.C., 1998. Beta-Sitosterol inhibits growth of HT-29 human colon cancer cells by activating the sphingomyelin cycle. *Anticancer Res*, 18: 471-473.

Awad A.B., Downie A.C. et Fink C.S., 2000. Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDAMB-231 human breast cancer cells in culture. *Int J Mol Med*, 5: 541-545.

Bardos M., 2001. *Analyse Discriminante*. Dunod, Paris, 223.

Barthelmé B., 2009. *Mémoire de la CNAM en Sciences techniques industrielles option techniques pharmaceutiques*.

Beckwith-Hall B. M., Holmes E., Lindon J. C., Gounarides J., Vickers A., Shapiro M., Nicholson J. K., 2002. NMR-based metabonomic studies on the biochemical effects of commonly used drug carrier vehicles in the rat. *Chem. Res. Toxicol.* 15,1136–1141.

Bellon-maurel, 1992. *Application de la spectroscopie proche infrarouge au contrôle en ligne de la qualité des fruits et légumes*. Thèse de doctorat. Institut polytechnique, Toulouse, 276.

Ben Ahmed C., Ben Rouina B., Boukhris M., 2007. Effects of water deficit on olive trees cv. Chemlali under field conditions in arid region in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 113 (3): 267-277.

Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Maria Gomez-Caravaca A., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A. and Lercker G., 2007. Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of their sensory properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade. *Molecules*, 12: 1679-1719.

Bertrand D., 2002. *La spectroscopie proche infrarouge et ses applications dans les industries de l'alimentation animale*. INRA Prod. Anim., 15(3): 209-219.

Bertrand D. & Dufour D., 2000. *La spectroscopie et ses applications analytiques*, Ed. Tec et Doc, Paris, 31-74.

Bertrand D., Dufour E., 2006. *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Technique & Documentation (2nd Edition).

Besançon P., Debosque S., Delpuech F. et al., 2000. *Alimentation méditerranéenne et santé : actualités et perspectives*. Edition John Libbey Eurotext, 176.

Bianchi G., et Pozzi N., 1994. 3, 4-Dihydroxyphenylglycol, a major C6-C2 phenolic in Olea Europea fruits. *Phytochemistry*, 35: 1335-1337.

Boskou D. (Ed.), 1996. *Olive oil: chemistry and technology* (1st edition). Champaign Illinois: American oil chemists society. USA. 268.

Boskou D., Blekas G. & Tsimidou M., 2006. Olive oil composition. Dans D. Boskou (Ed.), Olive oil, chemistry and technology (2nd edition). Champaign Illinois: American oil chemists society.USA. 41-72.

Botía J. M., Ortuño A., Benavente-García O., Báidez A.G., Frías J., Marcos D., et Del Río J. A., 2001. Modulation of the biosynthesis of some phenolic compounds in *Olea europaea* L. fruits: Their influence on olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 355-358.

Bouزيد O., Navarro D., Roche M., Asther M., Haon M., Delattre M., Lorquin J., Labat M., Asther M., Lesage-Meessen L., 2005. Fungal enzymes as a powerful tool to release simple phenolic compounds from olive oil by-product. *Process Biochemistry*. 40 (5) :1855-1862.

Boudhrioua N., Bahloul N., Slimen I. B., 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.

Brenes M., Garcia A., Garcia P., Rios J.J. et Garrido A., 1999. Phenolic compounds in Spanish olive oil. *J Agri. Food Chem*, 47: 3535-40.

Brenes M., Hidalgo F., Garcia A., 2000. Pinoresinol and 1-acetoxypineresinol, Two New Phenolic Compounds Identified in Olive Oil. *JAOCS*, 77: 715-720.

Bruni U., Cortesi N. & Fiorino P., 1994. Influence of agricultural techniques, cultivation and origin area on characteristics of virgin olive oil and on levels of some of its minor components. *Olivae*, 53: 28-34.

Burton G. W., & Ingold K. U., 1986. Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *ACC. Chem. Res.*, 19 : 194.

Calvano C.D., De Ceglie C., D'Accolti L., Zambonin C.G., 2012. Maldi-tof mass spectrometry detection of extra-virgin olive oil adulteration with hazelnut oil by analysis of phospholipids using an ionic liquid as matrix and extraction solvent. *Food Chemistry*. 134(2): 1192-1198.

Cao G., Sofic E., Prior R.L. 1997. Antioxidant prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity. Relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22: 749-760.

Capasso R., Evidente A., Schivo L., Orru G., Marcialis M.A., Cristinzio G., 1995. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *Journal of Applied Bacteriology*, 79: 393-398.

Chimi H., 2006. Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. *Bulletin Mensuel d'Information et de Liaison du du Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA)*, 141 : 1-4.

Christy A. A., Kasemsumran S., Du, Y., Ozaki Y., 2004. The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Analytical Science*. 20 (6): 935-940.

- Ciafardini G. & Zullo B.A., 2002. Survival of micro-organisms in extra virgin olive oil during storage. *Food Microbiology*, 19(1):105-109.
- Cinquanta L., Esti M., Notte E.L., 1997. Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. *J. Am Oil Chem Soc*, 10 : 1259-1264.
- Codex Alimentarius, 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization.
- Conseil Oléicole International, 2011. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. COI/T.15/NC n° 3/Rév.6. Novembre 2011.
- Cozzolino D., Murray I., Chree A., Scaife J. R., 2005. Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. *LWT-Food Science and Technology*, 38 (8): 821-828.
- Criado M.N., Motilva M.J., Goni M., Romero M.P., 2007. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. *Food chemistry*, 100: 748-755.
- Cruz A.G., Cadena R.S., Castro W.F., Esmerino E.A., Rodrigues J.B., Gaze L., Faria J.A.F., Freitas M.Q., Deliza R., Bolin H.M.A. (2013). Consumer perception of probiotic yogurt: Performance of check all that apply (CATA), projective mapping, sorting and intensity scale. *Food Research International*, 54(1): 601-610.
- De Luca M., Terouzi W., Ioele G., Kzaiber F., Oussama A., Oliverio F., Tauler R., Ragno G., 2011. Derivative FTIR spectroscopy for cluster analysis and classification of morocco olive oils. *Food Chemistry*, 124(3) :1113-1118.
- Devaraj S. & Jialal I., 1999. Alpha-tocopherol decreases interleukin-1 beta release from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 19: 1125-33.
- Di Giovacchino L., 1991. L'extraction de l'huile des olives par les systèmes de la pression, de la centrifugation et de la percolation : incidence des techniques d'extraction sur les rendements en huile. *Olivae*, 36(4): 14-41.
- Di Giovacchino L., 1997. From olive harvesting to virgin olive oil production. *OCL-Oleagineux Corps Gras Lipides*, 4(5) : 359-362.
- Di Giovacchino L., 2000. Technological Aspects In Handbook of olive oil :Analysis and properties . Harwood, J. et Aparicio, R. Edition : An Aspen Publication, USA, 17-59.
- DRATA, 2013. Bilan Oléicole Définitif au titre de la Campagne 2012/2013 et prévisionnel 2013-2014 de la région Tadla Azilal. Direction Régionale de l'Agriculture de Tadla Azilal. Division du Développement des Filières Agricoles.

El Antari A., Hilal A., Boulouha B., El Moudni A., 2000. Influence of the variety, environment and cultural techniques on the characteristics of olive fruits and the chemical composition of extra virgin olive oil in Morocco. *J. Olivae*, 80: 29-36.

Elbir M., Moubarik A., Rakib E.M., Grimi N., Amhoud A., Miguel G., Hanine H., Artaud J., Vanloot P., Mbarki M., 2012. Valorization of Moroccan olive stones by using it in particleboard panels. *Maderas ciencia y tecnologia*, 14: 361-371.

Elbir M., Oukrich J., Moubarik A., Amhoud A., Fakir M., Berkani M., Naciri Bennani M., Mbarki M., 2014. Chemometric authentication of Moroccan Picholine virgin olive oil by automatic classification based on the composition of fatty acids and sterols. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 (1): 101-110.

Esti M., Cinquanta L., La Notte E., 1998. Phenolic compounds in different olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 32-35.

Fabiani R., De Bartolomeo A., Rosignoli P., et al., 2006. Virgin olive oil phenols inhibit proliferation of human promyelocytic leukemia cells (HL 60) by inducing apoptosis and differentiation. *J. Nutr.*, 136: 614-619.

Fedeli E., 1977. Lipids of olives. In *Progress Chemistry of Fats and Other Lipids*, edited by R.T. Hilman, Academic Press, Oxford. 15: 57-74.

Fernandez-Orozco R., Roca M., Gandul-Rojas B., Gallardo-Guerrero L.J., 2011. DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24 (6): 858-864.

Forcadell M.L., Servili M., Comax M., Miguel X., De la Torre M.C., 1987. Determination du tyrosol et de l'hydroxytyrosol dans les Huiles Vierges d'olive. *Rev. Franc. Corps Gras*, 34, 547.

Franceschi S., Favero A., Decarli A., Negri E., La Vecchia C., Ferraroni M., Russo A., Salvini S., Amadori D., Conti E., 1996. Intake of macronutrients and risk of breast cancer. *Lancet*, 347 (9012): 1351-1356.

Freedman J.E., Farhat J.H., Loscalzo J., Keaney J.F., 1996. Alpha-tocopherol inhibits aggregation of human platelets by a protein kinase C-dependent mechanism. *Circulation*, 94: 2434-2440.

Galli C. & Visioli F., 1999. Antioxidant and other properties of phenolics in olives/olive oil, typical compounds of the Mediterranean diet. *Lipids*, 34: S23-S26.

Galtier O., Artaud J., Kister J., Dupuy N., 2008. Chossing chemometrics tools for data mining. E-poster presentation, CAC 2008 meeting, France.

Galtier O., Dupuy N., Le Dréau Y., Ollivier D., Pinatel C., Kister J., Artaud J., 2007. Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *Analytica Chimica Acta*, 595 (1)(2): 136-144.

Gandul-Rojas B., & Mínguez-Mosquera M.I., 1996. Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72: 31-39.

Garcia A., Brenes M., Garcia P., Romero C., Garrido A., 2003. Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*, 216 (6): 520-525.

Garcia J.M., Yousfi K., Mateos R., Olmo M., Cert A., 2001. Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea* fruits). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4231-4235.

Garcia R., Martins João N.M., Cabrita M., 2013. Putative markers of adulteration of extra virgin olive oil with refined olive oil: Prospects and limitations. *Food Research International*, 54(2): 2039-2044.

Garcia-Villalba R., Carrasco-Poncorbo A., Oliveras-Ferraro C., Vasquez-Martin A., Menéndez J.A., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutiérrez A., 2010. Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51 (2): 416-429.

Gardner C.D. & Kraemer H.C., 1995. Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids: a meta-analysis. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 15 (11): 1917-1927.

Geladi P., 1995. An overview of multivariate spectral data analysis. In: Davies AMC.

Gimeno E., Fitc M., Lamuela-Raventós R.M., Castellote A.I., Covas M., Farré M., 2002a. Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56 : 114-120.

Gomez-Rico A., Fregapane G. & Desamparados M.S., 2008. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*, 41 (4): 433-440.

Gomez-Rico A., Desamparados M.S. & Fregapane G., 2009. Virgin olive oil and olive fruit minor constituents as affected by irrigation management based on SWP and TDF as compared to Etc in medium-density young olive orchards (*Olea europaea* L. cv. Cornicabra and Morisca). *Food Research International*, 42 (8): 1067-1076.

Goupy J., 1996. *La Méthode des Plans d'Expériences*. Dunod, Paris, 303p.

Graille J., 2003. *Lipides et corps gras alimentaires*. Editions Paris Technique et Documentation, 469p.

Griffiths P.R. & Haseth J.A., 1986. *Fourier transform infrared spectroscopy in chemical analysis: a series of monographs on analytical chemistry and its applications*, 38.

- Grigoriadou D., Androulaki A., Psomiadou E., Tsimidou M.Z., 2007. Solid phase extraction in the analysis of squalene and tocopherols in olive oil. *Food Chemistry*, 105 (2): 675–680.
- Guha S., Rastogi R., & Shim K., 1998. Cure: an efficient clustering algorithm for large databases. *Special Interest Group on Management of Data Record*, 27(2):73–84.
- Guilland J.C., 2003. Répartition des vitamines dans la nature. In : *Les vitamines dans les Industries Agro-Alimentaires*. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 40-52.
- Guillén M.D. & Uriate P.S., 2012. Study by ¹H NMR spectroscopy of the evolution of extra virgin olive oil composition submitted to frying temperature in an industrial fryer for a prolonged period of time. *Food Chemistry*, 134 (1): 162-172.
- Gurdeniz G. & Banu Ozen B., 2009. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data *Food Chemistry*, 116 (2)(15) : 519-525.
- Gutiérrez F., Jimenez B., Ruiz A., Albi M.A., 1999. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. *J. Agric. Food. Chem.*, 47: 121-127.
- Hamdi K. & Castellon R., 2005. Oleuropein, a non toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochemical and biophysical research communications*, 334: 769-778.
- Hannachi H., Breton C., Msallem M., Ben Elhadj S., El Gazzah M., Bervillé A., 2008. Differences between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes; oil composition and SSR polymorphisms: A case study in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 116: 280-290.
- Harwood J.L. & Aparicio R., (Eds.) 2000. *Handbook of olive oil: Analysis and properties*. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen publications, Inc., 620 p.
- Heinonen O.P., Albanes D., Virtamo J., 1998. Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in a controlled trial. *J Natl. Cancer Inst*, 90: 440-446.
- Herrero A.M., Carmona P., Pintado T., Jiménez-Colmenero F., Ruíz-Capillas C., 2011. Infrared spectroscopic analysis of structural features and interactions in olive oil-in-water emulsions stabilized with soy protein. *Food Research International*, 44 (1): 360-366.
- Hertog M.L.G., Feskens E.J.M., Katan M.B., Kromhout D., 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study *Lancet*, 342: 1007.
- Hotteling H., 1933. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *Journal of Educational Psychology*, 24(6): 417-441.
- Hourant P., Baeten V., Morales M.T., Meurens M., Aparicio R., 2000. Oil and Fat Classification by Selected Bands of Near-Infrared Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 54 (8): 1168-1174.

- Jacotot B., 1993. L'huile d'olive, de la gastronomie à la santé. Editions Artulen, 224p.
- Jain A.K., Murty M.N., & Flynn P. J., 1999. Data clustering : a review. *ACM Computing Surveys*, 31(3) :264–323.
- Joliffe I.T., 1986. *Principal Component Analysis*. Springer-Verlag, New York, 271.
- Judd J.T., Clevidence B.A., Muesing R.A., Wittes J., Sunkin M.E., Podczasy J.J., 1994. Dietary trans fatty acids: effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59 (4): 861-888.
- Jung, M. et Min, D. (1990). Effects of α and γ tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J. Food Sci*, 55: 1464-1465.
- Kalogeropoulos N., Kaliora C.A., Artemiou A., Giogios I. *LWT*, 2014. Composition, volatile profiles and functional properties of virgin olive oils produced by two-phase vs three-phase centrifugal decanters. *LWT- Food Science and Technology*, 58(1): 272–279.
- Kalogianni E.P., Karapantsios T.D., Miller R., 2011. Effect of repeated frying on the viscosity, density and dynamic interfacial tension of palm and olive oil. *Journal of Food Engineering*, 105 (1): 169-179.
- Kandylis P., Vekiari A.S., Kanellaki M., Grati Kamoun N., Msallem M., Kourkoutas Y., 2011. Comparative study of extra virgin olive oil flavor profile of Koroneiki variety (*Olea europaea* var. *Microcarpa alba*) cultivated in Greece and Tunisia during one period of harvesting. *LWT- Food Science and Technology*, 44 (5): 1333-1341.
- Kim M., Lee S., Chang K., Chung H., Jung Y.M., 2012. Use of temperature dependent Raman spectra to improve accuracy for analysis of complex oil-based samples: lube base oils and adulterated olive oils. *Analytica Chimica Acta*, 66: 748-758.
- Kiritsakis A. & Markakis P., 1987. Olive oil: a review. *Adv. Food Research*, 31: 453-482.
- Kiritsakis A.K., 1993. La chimie de l'huile d'olive. *Olivae*, 45(2): 28-33.
- Kiritsakis A.K., 1998. Composition of olive oil. In *Olive Oil from the tree to the table*. Second Edition. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, 006611, USA. 113-154.
- Koprivnjak O., Moret S., Populin T., Lagazio C., Conte L.S., 2005. Variety differentiation of virgin olive oil based on n-alkane profile. *Food Chemistry*, 90 (4): 603-608.
- 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): 72-81.
- Kris-Etherthon P.M., 1999. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 100 (11): 1253-1258.

- Landete J.M., Curiel J.A., Rodríguez H., De las Rivas B., Muñoz R., 2008. Study of the inhibitory activity of phenolic compounds found in olive products and their degradation by *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Chemistry*, 107 (1): 320-326.
- Larif M., Ouhssine M., Soulaymani A., Elmidaoui A., 2013. Potential effluent oil mills and antibacterial activity polyphenols against some pathogenic strains. *Research on chemical intermediate*, DOI: 10.1007/s11164-013-1267-0.
- Lanzon A., Albi T., Cert A., 1994. The Hydrocarbon Fraction of Virgin Olive Oil and changes resulting from Refining. *JAACS*, 71: 285-291.
- Lavermicocca P., Francesco Russo M.R., Srirajaskanthan R., 2010. A Carrier for Delivering Probiotic Bacteria to Humans. *Olive and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 735-743.
- Ledrole R., Siciliano A., Ramu L., 2004. Groupement des oléiculteurs de Haute Provence et du Luberon, Edisud ed. 82-83.
- Lee-Huang S., Zhang P.L., Chang Y.T., 2003. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression, 307: 1029-1037.
- Léger C.L., 1999. Co-produits de l'huilerie d'olive : les composés phénoliques et leurs propriétés biologiques. *OCL*, 6: 60-63.
- Le Grusse J., 2003. Structure chimique et propriétés physicochimiques. In : *Les vitamines dans les Industries AgroAlimentaires*. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 5-23.
- Lerma-García M.J., Herrero-Martínez J.M., Ramis-Ramos G., Simó-Alfonso E.F., 2008. Prediction of the genetic variety of Spanish extra virgin olive oils using fatty acid and phenolic compound profiles established by direct infusion mass spectrometry *Food Chemistry*, 108 (3) : 1142-1148.
- Le Tutour B. & Geudon D., 1992. Antioxidative activities of *Olea europaea* L. leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry*. 31 (4): 286-292.
- Logan A., 2004. Omega-3 fatty acids and major depression: a primer for the mental health professional. *Lipids in Health and Disease*, 3: 25-32.
- Luaces P., Pérez A.G., Sanz C., 2003. Role of olive seed in the biogenesis of virgin olive oil aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4741-4745.
- Macheix J. J., Fleuriet A. & Billot J., 1990. *Fruit phenolics*. CRC press. Boca Raton. USA. 1-126.
- Maggio R. M., Cerretani L. , Chiavaro E., Kaufman T. S., Bendini A., 2010. A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils, *Food Control*, 21 (6): 890-895.

- Magdich S., Jarboui R., Ben Rouina B., Boukhris M., Ammar E.S., 2012. A yearly spraying of olive mill wastewater on agricultural soil over six successive years: Impact of different application rates on olive production, phenolic compounds, phytotoxicity and microbial counts. *Science of The Total Environment*, 430: 209-216.
- MAPM, 2013. Veille économique-Secteur oléicole, Note stratégique n°95. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime.
- Maroun I., 2002. La Filière Oléicole au Liban.
- Masella R., Cantafora A., Modesti D., Caddilli A., Gennaro L., Bocca A., Coni E., 1999. Antioxidant activity of 3,4-DHPEA-EA and protocatechic acid: a comparative assessment with other olive oil biophenols. *Redox Report*, 4: 113-121.
- Mazza G. & Miniati E., 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC press. Boca Raton, USA. 64-67.
- Médawar S., 2001a. L'olivier, situation au Liban, technique de culture et étude de faisabilité. Publication : Institut libanais de développement économique et social, 23 p.
- Medeiros M.D., 2001. Olive oil and health benefits. In R.E.C. Wildman (Ed). *The handbook of nutraceutical and functional foods*. Boca Raton, FL: CRC Press, 261-267.
- Melissa A.S., Raghuraj K.R., Lakshminarayanan S., 2009. Partial correlation metric based classifier for food product characterization. *Journal of Food Engineering*. 90: 146-152.
- Menendez J.A., Vazquez-Martin A., Oliveras-Ferreros C., Garcia-Villalba R., Carrasco-Pancorbo A., Fernandez-Gutierrez A. & Segura-Carretero A., 2009. Extra-virgin olive oil polyphenols inhibit HER2 (erbB-2)-induced malignant transformation in human breast epithelial cells: Relationship between the chemical structures of extra-virgin olive oil secoiridoids and lignans and their inhibitory activities on the tyrosine kinase activity of HER2. *International Journal of Oncology*, 34 (1): 43-51.
- Mildner S., Szkudlarz S., Jeleń H.H., 2008. The potential of different techniques for volatile compounds analysis coupled with PCA for the detection of the adulteration of olive oil with hazelnut oil. *Food Chemistry*. 110 (3): 751-761.
- Miles E.A., Zoubouli P., Calder P.C., 2005. Differential anti-inflammatory effects of phenolic compounds from extra virgin olive oil identified in human whole blood cultures. *Nutrition*. 21 (3): 389-394. 21,
- Mínguez-Mosquera M.I., Gandul-Rojas B., Garrido-Fernández J., Gallardo-Guerrero L., 1990. Pigments present in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 67: 192-196.
- Mínguez-Mosquera M.I., Rejano-Navarro L., Gandul-Rojas B., Sánchez-Gómez A.H., Garrido-Fernández J., 1991. Color-pigment correlation in virgin oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68: 332-336.

- Montaño A., Sánchez A.H., Casado F.J., De Castro A., Rejano L., 2003. Chemical profile of industrially fermented green olives of different varieties. *Food Chemistry*, 82 (2): 297-302.
- Montedoro G., Servili M., Baldioli M., Miniati E., 1992. Simple and Hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semi quantitative evaluation by HPLC. *J. Agric. Food Chem*, 40: 1571-1576.
- Mordret F., 1999. Conférences Chevreul : Evolution des critères de qualité des huiles d'olive vierges. *OCL.*, 6 : 69-76.
- Murkovic M., Lechner S., Pietzka A., Bratacos M., Katzogiannos E., 2004. Analysis of minor components in olive oil. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 61 (1-2): 155-160.
- Nakbi A., Issaoui M., Dabbou S., Koubaa N., Echbili A., Hammami M., Attia N.J., 2010. Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oils. *Journal of Food Comp. and Analysis*, 23 (7): 711-715.
- Nissiotis M., Tasioula-Margari M., 2002. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food Chemistry*, 77 (3): 371-376.
- Ocakoglu D., 2008. Thesis of Master of Science In Food Engineering Graduate School of Engineering and Science. Izmir instiue of technology Turkish.
- Ocakoglu D., Tokatli F., Ozen B., Korel F., 2009. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*. 15 (2): 401-410.
- Ollivier D., Artaud J., Pinatel C., Durbec J. P., Guerer M., 2006. Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*, 97 :382-393.
- Ollivier D. & Guérère M., 2000. Recherche et dosage des hydrocarbures benzéniques dans l'huile d'olive vierge. *Ann. Fals.Exp. Chim.*, 93(950) : 67-82.
- Ollivier D., Pinatel C., Artaud J., et al ., 2005. Caractérisation sensorielle et chimique d'huiles d'olive vierges de cinq AOC françaises. *Le Nouvel Olivier*, 44: 4-12.
- Ollivier D., Pinatel C., Dupuy N., Guérère M., Artaud J., 2007. Caractérisations sensorielles et chimiques d'huiles d'olive vierges de six AOC françaises. *OCL-Oleagineux Corps Gras Lipides*, 14(2) : 116-129.
- Ollivier D., Richard M., Guérère M., Pinatel C., Petit C., Artaud J., 2003. Les caractéristiques physico-chimique des huiles de l'AOC" Huile d'olive de Nyons. *le Nouvel olivier*, 34 : 17.
- Orlandi F., Bonofiglio T., Romano B., Fornaciari M., 2012. Qualitative and quantitative aspects of olive production in relation to climate in southern Italy. *Scientia Horticulturae*, 138: 151–158.

Ortega R.M., 2006. Importance of functional foods in the Mediterranean diet. *Publ Health Nutr.*, 9: 1136-1140.

Oueslati I., Anniva C., Daoud D., Tsimidou M.Z., Zarrouk M., 2009. Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. *Food Chemistry*. 112 (3): 733-741.

Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E., Haubner R., Spiegelhalder B., Bartsch H., 2000. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer*. 36 (10): 1235-1247.

Pala V., Krogh V., Muti P., Chajès V., Riboli E., Micheli A., Saadatian M., Sieri S., Berrino F., 2001. Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer: a prospective Italian study. *Journal of the National Cancer Institute*, 93 (14): 1088-1095.

Paull R.E. & Chen N.J., 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest. Biology and Technology*, 21: 21-37.

Pearson K., 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh and Dublin Magazine and Journal of Science*, 2: 559-572.

Percy K.E., Nosal M., Heilman W., Dann T., Sober J., Legge A.H., Karnosky D.F., 2007. New exposure-based metric approach for evaluating O₃ risk to north American aspen forests. *Environmental Pollution*, 147: 554-56.

Pereira J.A., Casal S., Bento A., Oliveira M., 2002. Influence of olive storage period on oil quality of three Portuguese cultivars of *Olea europea*, Cobrangosa, Madural and Verdeal Transmontana. *J.Agric. Food Chem*, 50(22): 6335-6340.

Perrin J., 1992. Les Composés Mineurs et les Antioxygènes Naturels de l'Olive et de Son Huile, *Rev. Franç. Corps Gras*, 39: 25-32.

Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N., Vincieri F.F., Cimato A., Romani A., 2003. Minor polar compounds and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food Chemistry*, 80 (3): 331-336.

Plan Maroc vert, 2008. Premières perspectives sur la stratégie agricole. Ministère de l'agriculture et de la Pêche Maritime.

Porter N. A., 1986. Mechanisms for the autoxidation of polyunsaturated lipids. *ACC. Chem. Res.*, 19: 262.

Poulli K.I., Mousdis G.A., Georgiou C.A., 2007. Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Food Chemistry*, 105(1) 369-375.

Pristouri, G., Badeka, A., Kontominas, M. G. (2010). Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission, temperature and storage time on quality characteristics of extra virgin olive oil. *Food Control*, 21 (4): 412-418.

Psomiadou E., Tsimidou M., 2001. Pigments in Greek Virgin Olive Oils: Occurrence and Levels. *J.Sci. Food Agric.*, 41: 640-647.

Psomiadou E., Tsimidou M., & Boskou D., 2000. Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oil. *J Agric. Food Chemistry*, 48: 1770-1775.

Rahmani M., 2011. Techniques et Procédures de Production d'une huile d'Olive de Bonne Qualité. PHYTO CONSULTING.

Rahmani M., Csallany A., 1991. Chlorophyll and B-carotene pigments in Moroccan Virgin Olive Oils Measured by High Performance Liquid Chromatography. *JAOCS*, 68: 672-674.

Raicht R.F., Cohen B.I., Fazzini E.P., Sarwal A.N., Takahashi M., 1980. Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *Cancer Res*, 40: 403-405.

Ramirez-Lopez L., Behrens T., Schmidt K., Viscarra Rossel R.A., Demattê J.A.M, Scholten T., 2013. Distance and similarity-search metrics for use with soil vis-NIR spectra. *Geoderma*, 199: 43-53.

Rao C., Newmark H., Reddy B., 1998. Chemopreventive effect of Squalene on Colon Cancer. *Carcinogenesis*, 19: 287-290.

Rayan D., Robards K., Lavee S., 1998. Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72: 23-33.

Reaven P. & Witztum J. L., 1996. Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Annual Review of Nutrition*, 16: 51-71.

Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G., 1996. Structure A antioxidant activity relation ship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 933-956.

Roca M., Mínguez-Mosquera M.I., 2003. Carotenoid levels during the period of growth and ripening in fruits of different olive varieties (Hojiblanca, Picual and Arbequina). *Journal of Plant Physiology*. 160 (5): 451-459.

Romani A., Mulinacci N., Pinelli P., Vincieri F.F., Cimato A., 1999. Polyphenolic content in five Tuecany cultivars of *Olea europaea* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 964-967.

Romero C., Brenes M., Garcia P., Garrido A., 2002. Hydroxytyrosol 4- β -D-glucoside, an important phenolic compound in olive fruit and derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (13): 3835-3839.

Rossel J.B., 2001. *Frying : Improving quality*. Woodhead Publishing limited, CRC Press, Boca Raton. Boston. New York Washington, DC.

Rouessac F. & Rouessac A., 1998. *Analyse chimique: méthodes et techniques instrumentaux modernes*. Durod, 4ème Ed., 147-171.

Rouessac F. and Rouessac A., 2000. *Modern Instrumentation Methods and Techniques. Chemical Analysis. Second Edition*. University of Le Mans, France.

Rubén M., Lorenzo C., Emma C., Teodoro S.K., Alessandra B., 2010. *Food Control*. 21: 890-89.

Ruiz-Barba J.L., Rios-Sanchez R.M., Fedriani-Iriso C., Olias J.M., Rios J.L., R. Jimenez-Diaz., 1990. Bactericidal Effect of Phenolic Compounds from Green Olives on *Lactobacillus plantarum*. *Systematic and Applied Microbiology*, 13 (2): 199-205.

Ruiz-canala M., Martinez-Gonzalez M.A., 2011. Olive oil in the primary prevention of cardiovascular disease. *Maturitas*, 68: 245-250.

Ryan D., Prenzler P.D., Lavee S., Antolovich M., Robards K., 2003. Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's mammoth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (9): 2532-2538.

Saadatian-Elahi M., Toniolo P., Ferrari P., Goudable J., Akhmedkhanov A., Zeleniuch-Jacquotte A., Riboli E., 2002. Serum fatty acids and risk of breast cancer in a nested casecontrol study of New York University Women's Health Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 11 (11): 1353-1360.

Sacchi R., 2007. *Extraction technology in l'Extravergine, a guide to the best certified quality olive oil in the world-oreggia*. M.Ed Cucina Vini, 82: 103.

Salas J., Pastor M., Castro J., Vega V., 1997. Influencia del riego sobre la composición y careterísticas organolépticas del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*, 48(2): 74-82.

Servili M., Piacquadio P., De stefano G., 2002. Influence of a New Crushing Technique on the Composition of the Volatile Compounds and Related Sensory Quality of Virgin Olive Oil. *Eur.J.Lipid Sci.Technol*, 104: 483-489.

Shasha B. & Leibowitz J., 1961. On the oleuropein, the bitter principle of olives. *Journal of Organic Chemistry*, 26 (6): 1948-1954.

Shklar G., & Oh S.K., 2000. Experimental basis for cancer prevention by vitamin E. *Cancer Investigation*, 18 (3): 214-222.

Simões P.C., Carmelo P.J., Pereira P.J., Lopes J.A., Da Ponte M.N., Brunne G., 1998. Quality assessment of refined olive oils by gas extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 13 (1-3): 337-341.

- Simões P.C. & Brunner G., 1996. Multicomponent phase equilibria of an extra-virgin olive oil in supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*, 9(2): 75-81.
- Šmejkalová D., Piccolo A., 2010. High-power gradient diffusion NMR spectroscopy for the rapid assessment of extra-virgin olive oil adulteration, *Food Chemistry*, 118(1): 153-158.
- Smith T., Yang G., Serial D., 1998. Inhibition of 4-(methylnitrosanino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced Lung Tumorigenesis by Dietary Olive Oil and Squalene. *Carcinogenesis*, 19: 703-706.
- Sneath P.H.A. & Sokal R.R., 1973. *Numerical Taxonomy : The Principles and Practice of Numerical Classification*. W.H. Freeman and Company, San Francisco, USA.
- Soler-Rivas C., Espin J.C. & Wichers H.J., 2000. Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (7): 1013-1023.
- Taepavarapruk P. & Song C., 2010. Reduction of acetylcholine release and nerve growth factor expression are correlated with memory impairment induced by interleukin-1beta administrations: effects of omega 3 fatty acid EPA treatment. *Journal of Neurochemistry*, 112 (4): 1054-1064.
- Tanouti K., Serghini Caid H., Abid M., Mihamou A., Khiar M., Hachem M.E., Bahetta Y., Elamrani A., 2011. Isly Huile d'Olive Vierge: Analyse des Triglycérides et Composition en Acides Gras; les Technologies de laboratoire, 6(23): 58.
- Tassou C.C., Panagou E.Z., Nychas G.J.E., 2010. Microbial Colonization of Naturally Fermented Olives. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 397-406.
- Tenenhaus M., 1999. L'approche PLS. *Revue de Statistique Appliquée*, 47 : 2-55.
- Terouzi W., Ait Yacine Z., Oussama A., 2010. Etude comparative de la stabilité de l'huile d'olive de la Picholine marocaine et de l'Arbéquine, *OLIVAE*, 113.
- Tiscornia E., Fiorina N., Evangelisti F., 1982. Chemical composition of olive oil and variations induced by refining. *Riv.Ital.Sost. Grasse*, 59: 519-555.
- Tranchant J., 1996. *Chromatographie et techniques séparatives*.
- Tsimidou M., Papadopoulos G., Boskou D., 1992. Determination of phenolic compounds in virgin olive oil by reverse-phase HPLC with emphasis on UV detection. *Food Chemistry*, 44: 53-60.
- Tuck L.K. & Hayball P.J., 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of nutritional biochemistry*, 13 (11) : 636-644.

- Tuffery P., Guyon F., Derreumaux P., 2005. Improved greedy algorithm for protein structure reconstruction. *Journal of Computational Chemistry*, 26 (5): 506–513.
- Tura D., Failla O., Bassi D., Pedo S., Serraiocco A., 2008. Cultivar influence on virgin olive (*Olea europaea* L.) oil flavor based on aromatic compounds and sensorial profile. *Scientia Horticulturae*, 118 (2) : 139-148.
- Tura D., Gigliotti C., Pedo S., Failla O., Bassi D., Serraiocco A., 2007. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europaea* L.) and correlation with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*, 112 (1): 108-119.
- Uccella N., 2001. The olive biophenols: hedonic-sensory descriptors of evoo and wotos in the Mediterranean aliment culture. In *food flavours and chemistry: Advances of the new millennium*. A.H.Spanier, F.Shahidi, T.H.Parliment, C.J.Mussinán, C.T.Ho, E.Tratrascontis Eds. The Royal Society of Chemistry Publishers, Cambridge, UK. 253-265.
- Uceda M. & Hermoso M., 1996. La calidad del aceite de oliva. In : *El Cultivo del Olivo*. Eds. D. Fernandez-Escobar, L. Rallo. Mundi-Prensa, Madrid (Spain), 541-563.
- Valdés A.F. & Garcia A.B., 2006. A study of the evolution of the physicochemical and structural characteristics of olive and sunflower oils after heating at frying temperatures. *Food Chemistry*, 98 (2): 214-219.
- Venkateshwarlu G., Let M.B., Meyer A.S., Jacobsen C., 2004. Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22): 6564-6571.
- Veillet S., Tomao V., Bornard I., Ruiz K., Chemat F., 2009. Chemical changes in virgin olive oils a function of crushing systems: Stone mil and hammer crusher. *C.R. Chimie*, 12: 895-904.
- Vierhuis E., Servili M., Baldioli M., Schols H.A., Voragen A.G.J., Montedoro G.F., 2001. Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49 (3): 1218–1223.
- Vinha A.F., Ferreres F., Silva B.M., Valentao P., Gonçalves A., Pereira J.A., Oliveira M.B., Seabra R.M., Andrade P.B., 2005. Phenolic profile of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influence of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, 89 (4): 561-568.
- Visioli F., Bellomo G., Montedoro G.F., Gallic, 1995a. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, 117: 25-32.
- Visioli F. & Gallic C., 1998. The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease : New finding. *Nutrition Reviews*, 56: 142-147.

Wang L., Lee F.S.C., Wang X., He. Y., 2006. Feasibility study of quantifying and discriminating soybean oil adulteration in camellia oils by attenuated total reflectance MIR and fiber optic diffuse reflectance NIR. *Food Chemistry*, 95 (3): 529-536.

Ward J.H., 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, 58(301) :236–244.

Wendy B.W., 1996. Activités antioxydante et antiradicalaire de composés phénoliques et d'extraits végétaux en systèmes modèles et en cuisson-extrusion. Thèse de Doctorat en Sciences, Spécialité Science Alimentaires, E.N.S.I.A, Massy, 112 p.

Witte J.S., Ursin G., Siemiatycki J., Thompson W.D., Paganini-Hill A., Haile R.W., 1997. Diet and premenopausal bilateral breast cancer: a case-control study. *Breast Cancer Research and Treatment*, 42 (3): 243-251.

Wold H., 1966. Estimation of principal component and related models by iterative least squares. *Multivariate Analysis*, ed.P.R.Krishnaiah, Newyork: Academic Press.

Wold S., Esbensen K., Geladi P., 1987. Principal Component Analysis. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 2: 37-52.

Yang D.P., Kong D.X. & Zhang H.Y., 2007. Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry*, 104 (3): 1269-1271.