



**UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE**  
**Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal**



*Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques*  
*Formation Doctorale : Ressources Naturelles, Environnement et Santé (RNES)*

## **THÈSE**

Présentée Par

**Zineb MOURHAT**

Pour obtenir le grade de

## **DOCTEUR**

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique- Spectroscopie- Chimiométrie- Agroalimentaire

---

# **Caractérisation et valorisation des huiles végétales en tant que produit de terroir**

---

Soutenue publiquement le **18 juillet 2018** devant le jury:

<b>M. CHIGR</b>	Pr.	Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Président
<b>A. GAMOUH</b>	Pr.	Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Rapporteur
<b>M. BOUZAIID</b>	Pr.	Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Rapporteur
<b>My A. EL MHAMMEDI</b>	Pr.	Université Hassan 1 <sup>er</sup> , F.P. Khouribga, Maroc	Rapporteur
<b>S. EL HOUSAME</b>	Pr.	Université Hassan 1 <sup>er</sup> , F.P. Khouribga, Maroc	Examineur
<b>M. ECHAJIA</b>	Pr.	Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Co-Directrice de thèse
<b>M. MBARKI</b>	Pr.	Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Directeur de thèse

## *Dédicaces*

*A ceux qui m'ont donné sans rien en retour,  
A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles,  
Et ceux à qui je dois tant*

\*\*\*

*A ma chère mère  
A la mémoire de mon père  
pour leur amour et leur support continu,  
Je vous dois tous mes succès, tous mes bonheurs et toutes mes joies.*

\*\*\*

*A mes chers frères,  
A ma très chère sœur  
Je suis très heureuse et fière de votre présence à mes côtés.  
Et j'espère vous honorer par le titre du Docteur.*

\*\*\*

*A toute ma famille,  
A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du supérieur,  
A tous mes ami(e)s*

\*\*\*

*Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour  
tout ce que vous avez fait pour moi  
Que Dieu le tout puissant vous procure continuellement santé, bonheur et tranquillité*

# Avant propos

- **Nom et prénom de l'auteur :** MOURHAT Zineb

- **Intitulé du travail :**

« **Caractérisation et Valorisation des huiles végétales en tant que produit de terroir** ».

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), Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Université Sultan Moulay Slimane.

- **Nom et prénom des directeurs de recherche :**

- Encadrant : Professeur Mohamed MBARKI, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal.
- Co-Encadrante : Professeur Malika Echajia, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal.

- **Laboratoires du présent travail :**

- Laboratoire de L'Equipe Transdisciplinaire des Sciences Analytiques pour le Développement Durable (ETSADD), Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Université Sultan Moulay Slimane.
- Le Laboratoire National du Contrôle des Médicaments (LNCM).
- Le laboratoire du Centre National de Recherche Scientifique et Technique.

- **Cadre de coopération-soutien financier :**

- Bourse du CNRST Maroc

# Liste des publications et communications

## A. Publications

1. **Z. Mourhat**, M. Elbir, S. Touzara, M. Berkani, R. Maallah, M. Mbarki, A. Barakat & A. Chtaini.2015. Electrochemical Evaluation of the Antioxidant Capacity of Moroccan Olive Kernel. Global Journal of Science Frontier Research: D Agriculture and Veterinary, Global Journals Inc. (15): 9-13.
2. **Z. Mourhat**, A. Hirri, M. Maaouni, S. Benlamaalam, M. Chigr, M. Echajia,S. Rabi, M. Mbarki.2018.Characterization and discrimination of three Moroccan cultivars of virgin olive oil ("Picholine","Menara" and "Hawziya"). Journal of Materials and Enviromental science, (9): 466-473.
3. Mohamed Maaouni, Abdelkader Benali, **Zineb Mourhat**, Abdelouahed Ait Ider, Souad Rabi, and Mohamed Mbarki .2017. Physico-Chemical Characterization of Olive Oils produced in the rural commune of Tagzirt, province of Beni Mellal, Morocco. International Journal of Innovation and Applied Studies, (20) :817-826.
4. S. Benlamaalam, **Z. Mourhat**, M. Chigr, M. Gouskir, A. Ait Ider, N. Belkhouya, M. Benali, M. Oubenali, and M. Mbarki.2016. Assessing Quality and FT-MIR spectroscopic chemometrics of virgin olive oils extracted from three olive cultivars in Morocco: Haouzia, Menara and Picholine. International Journal of Innovation and Applied Studies, (16) : 666-672.
5. **Mourhat Z.**, Touzara S, Maallah R, Mbarki M and Chtaini A.2017. Electrochemical Evaluation of the Antioxidant Capacity of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. Journal of Biosensors & Bioelectronics, (8).

## **B. Communications**

1. **Z. Mourhat**, S. Rabi, R. Bouhdadi, A. Amhoud, A. Abdelaoui, M. Chigr, M. Berkani et M. Mbarki. Caractérisation et Classification des huiles d'olives mono variétales de trois régions du Maroc. 1<sup>ère</sup> Rencontre Internationale de Chimie Moléculaire, Chimiométrie & Applications à la faculté des sciences et techniques de Béni Mellal 29-30 mai 2014.

2. **Z. Mourhat**, R. Bouhdadi, S. Rabi, A. Amhoud, A. Abdelaoui, M. Chigr et M. Mbarki. Comparative study of edible vegetable oils by means of chemometrics applied to infrared spectroscopy. 1<sup>ère</sup> Rencontre Internationale de Chimie Moléculaire, Chimiométrie & Applications à la faculté des sciences et techniques de Béni Mellal 29-30 mai 2014.

3. **Z. Mourhat**, S. Touzara., R. Maallah., M. Mbarki and A. Chtaini. Electrochemical Evaluation of the Antioxidant Capacity of Moroccan Olive Kernel. International meeting on chemometrics, Quality and Molecular Chemistry, 21-23 avril 2016 à la faculté des sciences et techniques de Béni Mellal.

4. **Mourhat Z.**, Hirri A and Mbarki M. Characterization and Classification of three varieties of olive oils in Morocco. International meeting on chemometrics, Quality and Molecular Chemistry 21-23 avril 2016 à la faculté des sciences et techniques de Béni Mellal.

5. **Z. Mourhat**, Touzara S., Maallah R., Mbarki M. et Chtaini A. Évaluation de la capacité antioxydante de trois variétés marocaines du noyau d'olive par des méthodes électrochimiques. 2<sup>nd</sup> International Congress on Cancer, 19-21 Mai 2016 à la faculté des sciences et techniques de Béni Mellal.

## **Remerciements**

*Je remercie DIEU tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.*

*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 **M. Said Melliani**, Directeur du CED, **M. Khalid Habbari**, Vice Doyen Chargé de la Recherche Scientifique et **M. Abdelmajid 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, pour avoir accepté de juger le contenu de cette thèse et participer au jury.*

*Au terme de ce travail je tiens à exprimer mes vifs et sincères remerciements au directeur de thèse Monsieur le professeur **Mohamed Mbarki** pour m'avoir accueilli et avoir accepté de diriger ce travail, pour sa disponibilité permanente, sa patience, son encadrement, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il a consenti durant la réalisation de ce mémoire. Merci pour cette confiance sans faille, pour les encouragements dans les moments difficiles comme dans les bons, et d'avoir toujours cru en moi. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à **M. Abdelilah Chtaini** tant pour m'accueillir dans son laboratoire. Aussi pour ses conseils et son aide précieux dans la réalisation de ce travail*

*Je souhaite remercier chaleureusement **M. Abdelkader Benali**, Cadre dans Le Laboratoire National du Contrôle des Médicaments, qui a accepté de*

*m'accueillir au sein de son laboratoire, à Rabat, pour mettre à ma disposition tous les moyens humains et techniques afin de mener à bien les tâches qui m'incombaient.*

*Ma reconnaissance est exprimée aux professeurs **Aziz Hasib, Mohamed Chigr et Souad Rabi** pour leurs conseils, leurs soutiens et l'intérêt qu'ils ont manifesté envers le présent travail.*

*J'adresse, aussi, mes sincères remerciements au personnel de la FST de Béni Mellal particulièrement les professeurs et les thésards (**L. Alami, M. Maaouni, A. Ait ider**) du laboratoire de l'équipe Transdisciplinaire des Sciences Analytiques pour le Développement Durable pour leurs encouragements et leurs aides précieux.*

*Enfin je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, ma sœur et mes frères, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances. Ainsi qu'à tous mes proches amis, en particulier : **H. Achibat, S. Omari, H. Yassine, J. Bouali, S. Touzara, R. Maallah et A. Elkamhi** qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles et pour les bons moments passés ensemble.*

*Merci à ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail, je les remercie du fond du cœur.*

# Résumé

Les huiles végétales sont des sources privilégiées de macronutriments essentiels, l'acide linoléique oméga 6, l'acide alpha-linolénique oméga 3, et de micronutriments.

L'huile d'olive vierge (VOO) représente la principale source lipidique et l'une des principales caractéristiques qui distinguent le régime méditerranéen et il a été associé à ses bienfaits pour la santé.

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 l'huile d'olive marocaine et la comparer à d'autres huiles végétales marocaines comme l'huile d'argan et l'huile d'amande. En effet, la première partie de ce travail s'intéresse à la caractérisation physico-chimique et la classification de l'huile d'olive vierge de trois variétés (Picholine, Menara et Hawziya). La discrimination par chimiométrie a été réalisée en utilisant l'analyse discriminante des moindres carrés partiels (PLS-DA) de la composition en acides gras obtenues par chromatographie en phase gazeuse.

Ce travail a réalisé la caractérisation chimique et la classification de l'huile d'olive vierge de la Picholine Marocaine selon différentes régions géographiques ("Meknès Tafilalt", "Tadla-Azilal" et "Marrakech-Tansift-Alhaouz"). 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 régions géographiques différentes.

Dans la seconde partie, nous avons traité les méthodes électrochimiques : La voltamétrie cyclique (CV) et la voltamétrie d'onde carrée (SWV) qui ont été utilisées pour étudier le comportement électrochimique et évaluer la capacité antioxydante de quelques échantillons d'huile d'olive vierge et des noyaux de l'olives de trois variétés (Picholine, Menara et Hawziya). Dans cette partie, les méthodes électrochimiques ont été basées sur la préparation et la caractérisation du capteur ampérométrique  $H_2O_2$ , puis à l'évaluation de la capacité antioxydante de l'huile d'olive vierge et des noyaux de l'olives en mesurant leurs effets sur la réduction de  $H_2O_2$ .

La dernière partie a été consacrée à la comparaison entre trois types des huiles végétales (huile d'olive, huile d'amande et huile d'argan). Vu leur importance pour le vaste marché de la cosmétique. Pour cela, une caractérisation physico-chimique a été faite par la détermination des indices d'acide, de peroxyde, la teneur en alpha tocophérol. Des spectres infrarouges ont été réalisés afin de s'assurer de la qualité de ces huiles.

**Mots-clés:** *Huile d'olive vierge, moyen infrarouge, Chromatographie en phase gazeuse, chimiométrie, PLS-DA, ACP, noyaux d'olives, huiles végétales.*



# Abstract

Vegetable oils are preferred sources of essential macronutrients, linoleic omega 6 and alpha-linolenic acid omega 3, and micronutrients.

Virgin olive oil (VOO) is the main source of lipids and one of the main characteristics that distinguish the Mediterranean diet and has been associated with its health benefits.

The present work is part of the chemical, spectroscopic and chemiometric characterization of virgin olive oil, as well as the valorization of Moroccan olive oil and compare it with other Moroccan vegetable oils such as argan oil and almond oil. Indeed, the first part of this work focuses on the physicochemical characterization and classification of virgin olive oil of three varieties (Picholine, Menara and Hawziya). Chemometric discrimination was performed using Partial Least Squares (PLS-DA) discriminant analysis of the fatty acid composition obtained by gas chromatography. This work carried out the chemical characterization and the classification of the virgin olive oil of the Moroccan Picholine according to different geographical regions (" Meknès Tafilalt ", " Tadla-Azilal " and " Marrakech-Tansift-Alhaouz "). Therefore, Principal Component Analysis (PCA) of the medium-infrared spectra of olive oils shows that there is some discrimination between oils from the three different geographical regions.

In the second part, we dealt with the electrochemical methods: Cyclic voltammetry (CV) and square wave voltammetry (SWV) that were used to study the electrochemical behavior and evaluate the antioxidant capacity of oil samples. virgin olive and olive kernels of three varieties (Picholine, Menara and Hawziya) .In this part, the electrochemical methods were based on the preparation and characterization of the amperometric H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sensor, then to the evaluation of the antioxidant capacity virgin olive oil and olive stones by measuring their effect on the reduction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

The last part was devoted to the comparison between three types of vegetable oils (olive oil, almond oil and argan oil). Given their importance for the vast cosmetics market. For that, a physicochemical characterization was made by the determination of the acid, peroxide indices, the content of alpha tocopherol. Infrared spectra have been made to ensure the quality of these oils.

**Keywords:** *Virgin olive oil, medium infrared, gas chromatography, chemometrics, PLS-DA, ACP, olive kernels, vegetable oils.*

## ملخص

تعتبر الزيوت النباتية من مصادر المغذيات الرئيسية الضرورية، و الغنية بحمض اللينوليك أوميغا 6 وحمض ألفا لينولينيك أوميغا 3 ، والمغذيات الدقيقة.

وتعد زيت الزيتون البكر (VOO) المصدر الرئيسي للدهون وواحدة من الخصائص الرئيسية التي تميز النظام الغذائي في بلدان البحر الأبيض المتوسط وقد ارتبطت بفوائده الصحية.

يندرج هذا العمل في إطار التوصيف الكيميائي، الطيفي والشيميومتري (chimimétrie) لزيت الزيتون البكر، فضلا عن تقييم زيت الزيتون المغربي ومقارنتها مع الزيوت النباتية الأخرى مثل زيت أرغان وزيت اللوز. في الواقع، يركز الجزء الأول من هذا العمل على التوصيف الفيزيائي الكيميائي وتصنيف زيت الزيتون البكر لثلاثة أصناف بيشولين، منارة، حوزية، (Picholine، Menara، Hawziya) تم إجراء التمييز الكيميائي باستخدام تحليل المربعات الجزئية الأقل (PLS-DA) لتكوين الأحماض الدهنية التي تم الحصول عليها عن طريق كروماتوغرافيا الغاز.

نفذ هذا العمل التوصيف الكيميائي وتصنيف زيت الزيتون البكر بيشولين (Picholine) المغربية من مناطق جغرافية مختلفة ("مكناس تافيلالت"، " تادلة أزيلال " و" مراکش-تانسيفت-الحوز") ولذلك، فإن تحليل العناصر الرئيسية (PCA) للأطياف المتوسطة من أشعة تحت الحمراء لزيوت الزيتون يظهر أن هناك بعض التمييز بين الزيوت من المناطق الجغرافية الثلاثة المختلفة.

في الجزء الثاني، استخدمنا الطرق الكهروكيميائية: الفولتميترى الدوري (CV) وموجة مربع القياس الفولطي (SWV) التي استخدمت لدراسة السلوك الكهروكيميائي وتقييم القدرة المضادة للأكسدة لبعض عينات زيت الزيتون البكر والنوى من ثلاثة أصناف الزيتون (Picholine, Menara et Hawziya) وفي هذا الجزء، استندت الطرق الكهروكيميائية على إعداد وتصنيف جهاز الاستشعار الأمبيرومترى  $H_2O_2$  ، ثم على تقييم القدرة المضادة للأكسدة لزيت الزيتون البكر و نواة الزيتون من خلال قياس تأثيرها على الحد من  $H_2O_2$ .

خصص الجزء الأخير للمقارنة بين ثلاثة أنواع من الزيوت النباتية (زيت الزيتون وزيت اللوز وزيت الأرغان). نظرا لأهميتها الواسعة في سوق مستحضرات التجميل. لذلك، تم إجراء توصيف فيزيوكيميائي عن طريق تحديد مؤشرات الحمض، البيروكسيد، محتوى ألفا توكوفيرول. وقد تم إجراء أطياف الأشعة تحت الحمراء لضمان جودة هذه الزيوت.

**الكلمات المفتاحية:** زيت الزيتون البكر، الأشعة تحت الحمراء المتوسطة، كروماتوغرافيا الغاز، القياس الكيميائي، تحليل المربعات الجزئية الأقل (PLS-DA) ، تحليل العناصر الرئيسية (ACP) ، نواة الزيتون ، الزيوت النباتية.

# Liste des figures et des tableaux

## 1-Liste des figures

### Partie bibliographique

<b>Figure 1</b> : Planche d'illustration d'un fruit d'olive.....	<b>10</b>
<b>Figure 2</b> : Composition chimique du fruit, l'olive.....	<b>10</b>
<b>Figure 3</b> : Évolution de la production mondiale au cours des dernières campagnes.....	<b>13</b>
<b>Figure 4</b> : Évolution de la consommation mondiale au cours des dernières campagnes....	<b>14</b>
<b>Figure 5</b> : Schéma de synthèse des triglycérides.....	<b>21</b>
<b>Figure 6</b> : Structure générale d'un tocophérol.....	<b>23</b>
<b>Figure 7</b> : Les structures chimiques de quelques composés phénoliques.....	<b>25</b>
<b>Figure 8</b> : Aire de répartition de l'arganier.....	<b>31</b>
<b>Figure 9a</b> : Arbre arganier.....	<b>31</b>
<b>Figure 9b</b> : Fruits de l'arganier.....	<b>31</b>
<b>Figure 10a</b> : Arbre amandier.....	<b>35</b>
<b>Figure 10b</b> : Fruits de l'amandier.....	<b>35</b>
<b>Figure 11</b> : Potentiel anharmonique et niveaux d'énergie.....	<b>40</b>
<b>Figure 12</b> : Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier..	<b>42</b>
<b>Figure 13</b> : Nuage des spectres dans l'espace des p variables de départ.....	<b>48</b>
<b>Figure 14</b> : Nuage des spectres dans l'espace factoriel (PC1, PC2,...).....	<b>48</b>
<b>Figure 15</b> : Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat.....	<b>53</b>
<b>Figure 16</b> : Voltamogrammes cycliques pour des systèmes : réversible (A), quasi réversible (B) et (C) et totalement irréversible (D).....	<b>55</b>
<b>Figure 17</b> : Evolution du potentiel en fonction du temps en voltamétrie cyclique.....	<b>56</b>
<b>Figure 18</b> : Voltamogramme cyclique enregistré pour un couple redox en solution.....	<b>58</b>
<b>Figure 19</b> : Allure de la tension imposée en escalier en fonction de temps.....	<b>59</b>
<b>Figure 20</b> : Voltamogramme résultant de la voltamétrie à onde carrée.....	<b>60</b>

## Partie expérimentale : Chapitre 1

### 1.1.

- Figure 1** : Chromatogramme en phase gazeuse de l'huile d'olive vierge de la variété.....73  
"Picholine".
- Figure 2** : Moyenne des principaux acides gras de l'huile d'olive des variétés étudiées....76
- Figure 3** : Score parcelle de différents cultivars d'huiles pour PCA en utilisant 2 PC.....77
- Figure 4** : Graphiques des Scores-Loadings de PLS2-DA dans l'analyse des données GC  
des variétés d'huiles étudiées.....79

### 1.2.

- Figure 1** : Moyenne de l'alpha tocophérol en mg/kg des huiles étudiées de différentes  
régions.....92
- Figure 2** : Spectres MIR-TF des échantillons d'huiles d'olive des trois régions.....95
- Figure 3** : Représentation ACP des spectres MIR-TF des échantillons des huiles d'olives  
Meknès-Tafilalt (M) et Marrakech-Tansift-Al Haouz (kel) Tadmora-Azilal (Az)...96

## Chapitre 2

### 2.1.

- Figure 1** : Voltammogrammes cycliques de  $H_2O_2$ , dans une solution de  $Na_2SO_4$  0,1 M pH  
 $\approx 7,4$  à Cu-CPE, vitesse de balayage 50 mV / s.....104
- Figure 2** : Micrographie électronique à balayage de Cu-CPE.....105
- Figure 3** : Voltammogrammes à ondes carrées de  $H_2O_2$ , dans une solution de  $Na_2SO_4$  0,1  
M pH  $\approx 7,4$  à Cu-CPE, vitesse de balayage 50 mV / s.....105
- Figure 4** : Graphique d'étalonnage.....106
- Figure 5** : Voltammogrammes cycliques enregistrés à Cu-CPE dans du  $Na_2SO_4$  0,1 M,  
contenant 50  $\mu$ l / 100 ml de  $H_2O_2$  et 350  $\mu$ l / 100 ml.....107
- Figure 6** : Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés au Cu-CPE dans une solution de  
 $Na_2SO_4$  0,1 M contenant 50  $\mu$ l / 100 ml de  $H_2O_2$  et 350  $\mu$ l / 100 ml.....107
- Figure 7** : Évolution de la densité de courant de réduction de  $H_2O_2$  avec la concentration  
de différents échantillons étudiés.....108
- Figure 8** : Pouvoir antioxydant des échantillons étudiés.....109

## 2.2.

- Figure 1** : Voltamogrammes cycliques enregistrés à Cu-CPE dans une solution 0,1 M de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , taux de balayage de 100 mV / s.....115
- Figure 2** : Voltamogrammes cycliques enregistrés au CP-Cu, dans le CPE dans une solution de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1 M contenant  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a- en l'absence de HOV, b- en présence de HOV .....116
- Figure 3** : Voltamogrammes d'ondes carrées enregistrés à Cu-CPE, en CPE dans une solution 0,1 M de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  contenant  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a- en l'absence de HOV, b- en présence de HOV .....116
- Figure 4** : Voltamogrammes à ondes carrées enregistrés à Cu-CPE, dans CPE dans une solution 0,1 M de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  contenant  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Effet du HOV .....117
- Figure 5** : Evolution de la densité de courant de réduction  $\text{H}_2\text{O}_2$  avec la concentration de HOV .....118
- Figure 6** : Comparaison de l'CAO des échantillons HOV issues de différentes régions.119
- Figure 7** : Comparaison de l'CAO des échantillons d'huile d'olive de deux années successives de la région de Tadla-Azilal.....120

## Chapitre 3

### 3.1.

- Figure 1** : Chromatogramme HPLC de standard d' $\alpha$ -tocophérol seul.....131
- Figure 2** : Chromatogramme HPLC de l' $\alpha$ -tocophérol de l'échantillon d'huile d'argan...131
- Figure 3** : Moyenne de l'alpha tocophérol des trois types d'huiles étudiées.....132
- Figure 4**: Les concentrations des éléments minéraux dans les trois types d'huile étudiés en (mg /kg).....134
- Figure 5a** : Spectre MIR-TF d'échantillon d'huile d'amande.....136
- Figure 5b** : Spectre MIR-TF d'échantillon d'huile d'argan.....136
- Figure 5c** : Spectre MIR-TF d'échantillon d'huile d'olive.....137
- Figure 5d** : Spectres MIR-TF des échantillons d'huiles étudiées superposés.....137

## **2-Liste des tableaux :**

### **Partie bibliographique**

<b>Tableau 1 :</b> Evolution des productions du secteur oléicole.....	<b>16</b>
<b>Tableau 2 :</b> Plan Maroc Vert pour 2020 : Objectifs du secteur oléicole.....	<b>16</b>
<b>Tableau 3 :</b> Composition en acides gras de l'huile d'olive.....	<b>21</b>
<b>Tableau 4:</b> Structure des tocophérols.....	<b>23</b>
<b>Tableau 5 :</b> Répartition de l'inertie de la matrice M des données centrées réduites sur les p composantes principales.....	<b>49</b>
<b>Tableau 6 :</b> Type de données utilisées par la méthode des moindres carrés partiels (PLS) basée sur de la méthode de la régression en composantes principales (PCR) de type : $PC(Y)=PC(X).B + E$ .....	<b>50</b>

### **Partie expérimentale : Chapitre 1**

#### **1.1.**

<b>Tableau 1 :</b> Acidité libre, l'indice de peroxyde et l'absorbance de l'huile vierge $K_{232}$ et $K_{270}$ pour les trois variétés "Hawziya", "Menara" et "Picholine".....	<b>72</b>
<b>Tableau 2 :</b> Acides gras majoritaires des trois variétés.....	<b>74</b>
<b>Tableau 3 :</b> Moyenne et l'écart-type du principal acide gras de chacun des trois variétés de l'huile d'olive vierge.....	<b>74</b>
<b>Tableau 4 :</b> Chiffres de mérite obtenus par la discrimination PLS2-DA des trois cultivars d'échantillons d'huile d'olive vierge.....	<b>80</b>
<b>Tableau 5:</b> Prédiction du cultivar des échantillons d'huiles par analyse chimiométrique des données CG (la validation externe).....	<b>81</b>

#### **1.2.**

<b>Tableau 1:</b> Acidité libre, indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité de l'huile vierge des trois régions.....	<b>90</b>
<b>Tableau 2:</b> Concentration des éléments minéraux dans l'huile d'olive des trois régions en (mg /kg).....	<b>93</b>

## Chapitre 3

### 3.1.

<b>Tableau 1 :</b> Acidité libre, indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité de l'huile d'olive.....	<b>127</b>
<b>Tableau 2:</b> Acidité libre, indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité de l'huile d'Argan.....	<b>128</b>
<b>Tableau 3:</b> Acidité libre, indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité de l'huile d'Amande.....	<b>128</b>
<b>Tableau 4:</b> Concentrations des éléments minéraux dans les trois types d'huile étudiés en (mg /kg).....	<b>133</b>

# Liste des Abréviations

<b>A</b>	: Absorbance
<b>ACP</b>	: Analyse en Composantes Principales
<b>AFNOR</b>	: Association française de normalisation
<b>AG</b>	: Acides Gras
<b>AGMI</b>	: Acides Gras Mono-Insaturés
<b>AGPI</b>	: Acides Gras Polyinsaturés
<b>AGS</b>	: Acides Gras Saturés
<b>CAO</b>	: Capacité antioxydante
<b>COI</b>	: Conseil oléicole international
<b>DDFP</b>	: Direction du développement des filières de production
<b>HOV</b>	: Huile d'Olive Vierge
<b>HAm</b>	: Huile d'amande
<b>HAr</b>	: Huile d'argan
<b>HDL</b>	: High Density Lipoprotein
<b>IG</b>	: Indication Géographique
<b>INRA</b>	: Institut National de la Recherche Agronomique
<b>IR</b>	: Indice de réfraction
<b>LDL</b>	: Low Density Lipoprotein
<b>MIR-TF</b>	: Moyen Infrarouge à Transformée de Fourier
<b>PIB</b>	: Produit Intérieur Brut
<b>PMV</b>	: Plan Maroc Vert
<b>PLS-DA</b>	: Analyse discriminante des moindres carrés
<b>RMSEC</b>	: Erreur quadratique moyenne d'étalonnage
<b>RMSECV</b>	: Erreur quadratique moyenne de cross-validation
<b>ROS</b>	: Espèce réactive de l'oxygène
<b>SWV</b>	: Voltamétrie à ondes carrées
<b>VC</b>	: Voltamétrie cyclique



## Sommaire

Avant propos.....	ii	
Liste des publications et communications .....	iii	
<i>Remerciements</i> .....	v	
Résumé .....	vii	
Abstract .....	viii	
ملخص.....	ix	
Liste des figures et des tableaux.....	x	
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>		
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>		<b>6</b>
<b>I. Produit du terroir et développement durable .....</b>	<b>7</b>	
<b>II. Terroirs: atouts et enjeux .....</b>	<b>7</b>	
<b>1. Atouts pour un développement durable.....</b>	<b>7</b>	
<b>2. Enjeux d'une politique de terroir.....</b>	<b>8</b>	
<b>III. Olivier .....</b>	<b>9</b>	
<b>1. Caractéristiques de l'olivier et de son fruit.....</b>	<b>9</b>	
<b>2. Olivier et huile d'olive dans le monde .....</b>	<b>11</b>	
<b>2.1. Olivier dans le monde.....</b>	<b>11</b>	
<b>2.2. Huile d'olive dans le monde.....</b>	<b>12</b>	
<b>3. Secteur oléicole vert au Maroc .....</b>	<b>15</b>	
<b>3.1. Présentation générale .....</b>	<b>15</b>	
<b>3.2. Caractéristiques de production .....</b>	<b>15</b>	
<b>3.3. Orientations stratégiques de la filière oléicole .....</b>	<b>16</b>	
<b>4. Huile d'olive .....</b>	<b>17</b>	
<b>4.1. Définitions et classification .....</b>	<b>17</b>	
<b>4.2. Composition chimique et caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive.....</b>	<b>20</b>	

5. Différentes variétés cultivées .....	26
6. Huile d'olive et ses propriétés antioxydantes.....	26
7. Huile d'olive et la santé .....	28
<b>IV. Arganier .....</b>	<b>30</b>
1. Huile d'argan .....	32
2. Intérêt de l'huile d'argan.....	33
2.1. Huile cosmétique.....	33
2.2. Huile alimentaire .....	33
<b>V. Amandier .....</b>	<b>34</b>
1. Huile d'amande .....	36
<b>VI. Méthodes volumétriques chimiques, spectroscopiques et chimométriques.....</b>	<b>37</b>
1. Méthodes volumétriques chimiques.....	37
1.1. Acidité.....	37
1.2. Indice de peroxyde.....	38
1.3. Etat d'oxydation des huiles - Extinction spécifique.....	38
1.4. Indice de réfraction .....	39
2. Méthodes spectroscopiques .....	39
2.1. Spectroscopie infrarouge .....	39
2.2. Chromatographie en phase gazeuse.....	43
2.4. Spectrométrie d'Emission Atomique Source Plasma à Couplage Inductif (l'ICP-AES)	45
3. Méthodes chimométrique .....	45
3.1. Définition.....	45
3.2. Prétraitements des données spectrales .....	46
<b>VII. Méthodes électrochimiques : Voltamétrie.....</b>	<b>52</b>
1. Composants et principes des techniques voltamétriques.....	52
2. Analyses voltamétriques .....	53
2.1. Voltamétrie linéaire.....	54
2.2. Voltamétrie cyclique.....	54
2.3. Voltamétrie à onde carrée (Square wave voltametry : SWV) .....	58

Références .....	61
<b>PARTIE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>66</b>
<b>Chapitre 1 : Caractérisation et valorisation de l'huile d'olive marocaine .....</b>	<b>67</b>
<b>I. Caractérisation et discrimination des trois variétés d'huile d'olive cultivée au Maroc (" Hawziya ", " Menara " et " Picholine ") .....</b>	<b>68</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>68</b>
<b>2. Matériel et méthodes .....</b>	<b>69</b>
<b>2.1. Matériels végétal et zone géographique.....</b>	<b>69</b>
<b>2.2. Collecte d'échantillons d'olives.....</b>	<b>69</b>
<b>2.3. Extraction de l'huile .....</b>	<b>70</b>
<b>2.4. Caractérisation physicochimique.....</b>	<b>70</b>
<b>2.5. Chromatographie en phase gazeuse.....</b>	<b>70</b>
<b>2.6. Méthodes chimométrique .....</b>	<b>70</b>
<b>3. Résultats et discussion.....</b>	<b>72</b>
<b>3.1. Caractérisation Physico-chimique .....</b>	<b>72</b>
<b>3.2. Composition en acide gras (%) (NMISO 5508 et 5509) .....</b>	<b>73</b>
<b>3.3. Méthodes chimométrique .....</b>	<b>76</b>
<b>4. Conclusion.....</b>	<b>81</b>
Références .....	83
<b>II. Etude analytique et chimométrique de l'huile d'olive provenant de trois zones géographiques du Maroc .....</b>	<b>85</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>85</b>
<b>2. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>86</b>
<b>2.1. Échantillons.....</b>	<b>86</b>
<b>2.2. Acidité libre et indice de peroxyde.....</b>	<b>87</b>
<b>2.3. Détermination de l'indice de réfraction et de la densité.....</b>	<b>87</b>
<b>2.4. Détermination du contenu de <math>\alpha</math>-tocophérol.....</b>	<b>87</b>
<b>2.5. Détermination du contenu minéral.....</b>	<b>87</b>
<b>2.6. Spectroscopie moyen infrarouge.....</b>	<b>88</b>

2.7. Analyse en Composantes Principales.....	89
<b>3. Résultats and discussion .....</b>	<b>89</b>
3.1. Caractérisation physicochimiques .....	89
3.3. Détermination des éléments minéraux .....	93
3.4. Spectroscopie moyen infrarouge.....	94
3.5. Analyse en Composantes Principales.....	95
<b>4. Conclusion.....</b>	<b>97</b>
<b>Références .....</b>	<b>98</b>
<b>Chapitre 2: Valorisation des noyaux et de l'huile d'olive par méthodes électrochimique.....</b>	<b>100</b>
<b>I. Evaluation électrochimique de la capacité antioxydante du noyau d'olive marocain .....</b>	<b>101</b>
1. Introduction .....	101
2. Matériels et méthodes .....	102
2.1. Appareillage.....	102
2.2. Préparation de l'électrode électrochimique .....	103
2.3. La préparation des échantillons.....	103
2.4. Extraction des composés phénoliques.....	103
3. Résultats et discussion.....	104
3.1. Comportement électrochimique de l'électrode préparée.....	104
3.2. Graphique d'étalonnage.....	105
2.3. Détermination de la capacité antioxydante.....	106
4. Conclusion.....	110
Références .....	111
<b>II. Évaluation électrochimique de la capacité antioxydante des huiles d'olive vierge.....</b>	<b>113</b>
1. Introduction .....	113
2. Section expérimentale .....	114
2.1. Appareillage.....	114
2.2. Préparation de la Cu-CPE.....	114
2.3. Échantillons.....	114
<b>3. Résultats et Discussion .....</b>	<b>115</b>

4. Conclusion.....	120
<b>Chapitre 3 : Etude comparative des huiles végétales .....</b>	<b>123</b>
<b>I. Etude comparative des huiles végétales du Maroc : L'huile d'olive, l'huile d'argan et l'huile d'amande.....</b>	<b>124</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>124</b>
<b>2. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>126</b>
2.1. Échantillons.....	126
2.2. L'acidité libre et l'indice de peroxyde .....	126
2.3. Détermination de l'indice de réfraction et de la densité.....	126
2.4. Détermination du contenu de $\alpha$ -tocophérol.....	126
2.5. Détermination du contenu minéral.....	126
2.6. Spectroscopie moyen infrarouge.....	127
<b>3. Résultats et discussion.....</b>	<b>127</b>
3.1. Caractérisation physicochimique.....	127
3.2. Détermination du contenu en l' $\alpha$ -tocophérol .....	130
3.3. Détermination des éléments minéraux .....	133
3.4. Spectroscopie moyen infrarouge.....	135
<b>4. Conclusion.....</b>	<b>138</b>
<b>Références .....</b>	<b>139</b>
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>141</b>

# **INTRODUCTION GENERALE**

Face aux changements qui ont marqué le secteur agricole et agroalimentaire, la question des produits de terroir et de leur valorisation est devenue importante. Les acteurs publics et privés s'engagent de plus en plus à valoriser ces produits sur la base de leur spécificité territoriale et du savoir-faire local. Cependant, la réflexion stratégique sur le développement et la valorisation des produits du terroir, au Maroc, est encore à ses débuts. Une prise de conscience récente comparativement à d'autres pays [1]. Parmi ces produits de terroir on trouve les huiles extraites de plantes qui ont une longue histoire d'utilisation par les populations locales en tant que source de nourriture, d'énergie, de médicaments et pour des applications cosmétiques [2].

Parmi les plantes les plus populaires au Maroc, ayant des propriétés cosmético-médicinales dues à leur huile végétale, on peut citer l'huile d'argan (*Argania spinosa* L.), l'huile d'olive (*Olea europea* L.) et l'huile d'amande (*Prunus Amygdalae oleum*). Sur lesquelles le présent travail a été réalisé.

Les oliviers sont généralement originaires des pays méditerranéens, mais leur croissance s'est répandue au cours des deux dernières décennies en raison des bénéfices pour la santé attribués à la consommation d'huile d'olive. Les propriétés promotrices de la santé sont associées à la présence d'acides gras monoinsaturés (AGMI) et de composés bioactifs tels que les tocophérols, les caroténoïdes, les phospholipides et les phénols [3].

Depuis les temps anciens, il est connu que l'huile d'olive dans notre alimentation est importante pour notre santé. L'huile d'olive était utilisée pour les soins de la peau et le lustre musculaire, la thérapie d'abrasion, la cicatrisation des brûlures et la déshydratation causée par le soleil. C'est un produit avec des propriétés tout aussi spectaculaires pour la santé et la beauté. Les cellules du corps incorporent les précieux acides gras de l'huile d'olive, rendant les artères et la peau plus lisses. Aujourd'hui, la médecine moderne continue à recommander l'utilisation répandue de l'huile d'olive dans la nutrition des adultes et des enfants grâce à ses ingrédients précieux qui assurent le bien-être et la longévité [4].

L'huile d'argan est produite à partir des fruits de l'Arganier (*Argania spinosa*), une espèce d'arbres endémiques au sud-ouest du Maroc. L'huile d'argan vierge, extraite des amandes d'argan par pression à froid, est reconnue pour ses vertus cosmétiques, pharmaceutiques et nutritionnelles. L'arôme riche et la saveur de noisette de l'huile d'argan en font un ingrédient exotique à travers le monde. L'huile d'argan est un produit international relativement nouveau et il est exporté presque uniquement par le Maroc [5].

La forêt d'argan est une zone de 800 000 ha couvrant la fertile vallée du Sousse, les contreforts de l'Anti-Atlas et la région côtière entre Essaouira et Agadir. En raison de cette grande distribution, la composition minérale du sol de la forêt d'arganiers varie quelque peu.

L'huile d'argan existe en tant que huile comestible et cosmétique. Cette dernière préparée à partir de grains non grillés est dotée de nombreuses propriétés dermocosmétiques. L'huile d'argan comestible est préparée à partir de grains rôtis. C'est l'ingrédient de base du régime "Amazigh" et sa consommation régulière est bénéfique pour la santé humaine [6].

L'Amande [*Prunus amygdalus dulcis*] est une espèce majeure de noix cultivée dans des régions à climat méditerranéen. L'amande est cultivée dans plusieurs régions du Maroc, du Nord au Sud, dans différentes conditions environnementales, principalement sur des terres non irriguées et dans des sols pauvres qui reçoivent peu d'attention agronomique. Le climat au Maroc est principalement méditerranéen, devenant plus extrême vers les régions intérieures, et le Sahara dans le Sud [7].

Les amandes cultivées dans des vergers, sont très nutritives et ont une teneur élevée en matières grasses, mais elles ont aussi un coût élevé. Le fruit est très apprécié pour ses propriétés diététiques, cosmétiques et pharmaceutiques [8].

En outre, l'huile d'amande a longtemps été utilisée dans les cercles de médecine complémentaire pour ses nombreux avantages pour la santé. Il a été démontré que l'huile d'amande possède plusieurs propriétés, notamment des effets anti-inflammatoires, immunitaires et anti-hépatotoxiques. Elle est également utilisée comme composant des crèmes pour la peau sèche, des produits anti-rides et anti-âge dans l'industrie cosmétique ainsi qu'à des fins pharmaceutiques [8].

Au Maroc, les huiles des graines d'amande et d'argan sont très recherchées en cosmétique et autour desquelles ont été créées plusieurs coopératives et sociétés marocaines privées, exploitant commercialement ces huiles.



La qualité des huiles végétales dépend essentiellement de leur composition chimique et des conditions d'extraction ou de conservation, les divers éléments constitutifs peuvent subir des modifications plus ou moins importantes pouvant porter préjudice à la qualité d'une huile.

La forte demande en huile végétale de bonne qualité au cours des dernières années et le manque d'études de caractérisation et de visibilité sur les caractéristiques physico-chimiques de l'olivier, l'arganier et l'amandier implantées au Maroc, nous ont poussé à entamer une recherche pouvant contribuer à remédier ce manque enregistré dans un pays producteur de tels produits de terroir.

**La première partie** de ce travail dont l'objectif primordial est de contribuer à une meilleure connaissance de la qualité de l'huile d'olive et à l'établissement d'une base de données de l'huile d'olive produite aux différentes régions du Maroc, est consacrée à la caractérisation chimique et la classification de l'huile d'olive vierge de trois variétés (Picholine, Menara et Hawziya). La discrimination par chimiométrie a été réalisée en utilisant l'analyse discriminante des moindres carrés partiels (PLS-DA) de la composition en acides gras obtenue par chromatographie en phase gazeuse.

La caractérisation chimique et la classification de l'huile d'olive vierge de la "*Picholine Marocaine*" ont été réalisées selon différentes régions géographiques ("Meknès Tafilalt", "Tadla Azilal" et "Marrakech Tansift Alhaouz"). Par conséquent, L'analyse en composantes principales (ACP) des spectres en moyen Infrarouge des huiles d'olives a montré qu'il y a certaines discriminations entre les huiles provenant des trois régions géographiques différentes.

**Dans la seconde partie**, nous avons traité les méthodes électrochimiques : La voltamétrie cyclique (CV) et la voltamétrie à onde carrée (SWV) qui ont été utilisées pour étudier le comportement électrochimique et évaluer la capacité antioxydante de quelques échantillons d'huile d'olive vierge et des noyaux d'olives de trois variétés (Picholine, Menara et Hawziya). Dans cette partie, nous avons illustré les méthodes électrochimiques basées sur la préparation et la caractérisation du capteur ampérométrique  $H_2O_2$ , puis l'évaluation de la capacité antioxydante de l'huile d'olive vierge et les noyaux d'olives en mesurant leurs effets sur la réduction de  $H_2O_2$ .

**La dernière partie** a été consacrée à la comparaison entre les trois types d'huiles. Vu l'importance des huiles végétales pour le vaste marché de la cosmétique et afin de valoriser la biodiversité marocaine, nous nous sommes intéressés à trois espèces différentes disponibles sur le marché local, dont le potentiel de production des huiles est intéressant. Il s'agit de l'huile d'olive, huile d'amande et l'huile d'argan. Pour cela, une caractérisation chimique a été faite et des spectres des échantillons d'huiles analysées par la spectroscopie Moyen Infrarouge à Transformé de Fourier (MIR-TF) sont obtenus.

## Références

- [1] LAMANI O., 2014. Thèse de doctorat : Institutions et acteurs locaux dans la valorisation des produits de terroir. Quelle démarche locale de valorisation de l'huile d'olive de Beni-Maouche en Kabylie.
- [2] Vermaak I., Kamatou G.P.P., Komane-Mofokeng B., Viljoen A.M., Beckett K., 2011. African seed oils of commercial importance — Cosmetic applications .South African Journal of Botany, (77):920–933.
- [3] Rodriguesa F., Pimentela F. B., Beatriz M., Oliveiraa P.P., 2015. Olive by-products: Challenge application in cosmetic industry .Industrial Crops and Products, (70)116–124.
- [4] Sotiria T., Kostantinos P., Stefanos L., Christos H., Andreas T., 2017. A Study on the Enrichment of Olive Oil with Natural Olive Fruit Polyphenols. International Journal of Food and Biosystems Engineering, 5(1): 68-74.
- [5] Gonza´ lvez A., Ghanjaoui M.E., El Rhazi M., Guardia M., 2010. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy Determination of Trace Element Composition of Argan Oil. Food Science and Technology International, 65-71.
- [6] Kouidri M., Saadi A., Noui A., Medjahed F., Chohra M., 2015. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Alimentary and Cosmetic Argan oil from Algeria. Institute of Agricultural Sciences, University Hassiba Benbouali, Chlef, Algeria.
- [7] Beltran Sanahuja A., Ramos Santonja M., Grane´ Teruel N., Marti´n Carratala´ M. L., Garrigo´s Selva M. C., 2011. Classification of Almond Cultivars Using Oil Volatile Compound Determination by HS-SPME–GC–MS. J Am Oil Chem Soc ,88:329–336.
- [8] Sakar E.H., El Yamani M., Rharrabti Y., 2017. Variability of oil content and its physico-chemical traits from five almond (*Prunisdulcis*) cultivars grown in northern Morocco. Journal of Materials and Environmental Science, 8(8) :2679-2686.

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I. Produit du terroir et développement durable**

La reconnaissance des liens entre les acteurs locaux, leur territoire, et les produits agricoles et alimentaires est un pas important vers le développement durable. Ces relations reposent sur les capacités locales à créer de la valeur au sein d'un marché mondial, tout en restant ancrées dans un territoire donné. Les produits de terroir présentent des attributs de qualité spécifique indissociables des lieux où ils sont produits et, à terme, ce qui construit une réputation associée à une Indication Géographique (IG) qui les identifie. Ces produits différenciés peuvent ainsi répondre à une demande spécifique et rémunératrice [1].

Valoriser un produit de terroir tout en préservant ses caractéristiques permet de rémunérer et reproduire les ressources locales utilisées, ce qui contribue non seulement à soutenir le système de production, mais aussi à dynamiser le développement rural et préserver des ressources naturelles souvent fragiles.

## **II. Terroirs: atouts et enjeux**

### **1. Atouts pour un développement durable**

Pour permettre à des communautés nombreuses de mieux vivre de ressources en quantité limitée et menacées de dégradations, il est nécessaire de promouvoir le développement durable. La valorisation des «terroirs» et «produits de terroirs» et la mise en œuvre d'«approches terroirs» sont donc des priorités au cœur du Pilier II du Plan Maroc Vert. Il s'agit de mieux valoriser économiquement le potentiel en produits de qualité ou de produire plus et mieux en assurant une restauration et une gestion plus durable des ressources naturelles et biologiques.

Le royaume présente les atouts suivants :

- Une diversité biologique agricole et culturelle exceptionnelles (Le Maroc est le 2<sup>ème</sup> pays le plus riche en biodiversité de toute la Méditerranée, après la Turquie),
- Le maintien de fortes traditions et toutes les richesses qui y sont liées,
- Une très grande diversité de terroirs, de produits (agricoles et artisanaux) et de savoir-faire, y compris culinaires, cette diversité qui constitue un élément essentiel de l'identité culturelle de la population marocaine, de son histoire, de ses traditions et de son

mode de vie et qui contribue à la préservation de la biodiversité animale et végétale et au développement durable,

- Des paysages culturels et naturels d'une qualité exceptionnelle,
- Des réussites de valorisation locale des produits de terroir par de petites coopératives et un développement du tourisme rural,
- L'appui que de nombreux bailleurs et partenaires du Maroc sont prêts à consentir pour la mise en œuvre du Pilier 2.
- Une demande importante et croissante des marchés (national, touristique, international) pour les produits de terroir du panier méditerranéen et les nouvelles opportunités commerciales résultant des accords de libre-échange.

## **2. Enjeux d'une politique de terroir**

Le premier objectif de l'engagement sur les terroirs est de contribuer à améliorer les revenus des communautés et la durabilité des agro-écosystèmes. Les enjeux sont à la fois la réduction de la pauvreté, la réussite de la professionnalisation de la petite agriculture, la sécurité alimentaire, le maintien des cohésions et de la stabilité collective.

Une politique de terroirs pourrait avoir aussi d'autres mérites importants. Des produits de terroir se retrouvent aussi sur les zones montagneuses, littorales et les plaines: leur valorisation et protection peuvent permettre de renforcer leur place sur les marchés et de réduire, le cas échéant, les risques d'étalement urbain et de pertes irréversibles de terres agricoles.

Les enjeux sont aussi ceux de l'alimentation, de la culture et de la santé. La promotion des produits de terroirs doit contribuer à la préservation d'un patrimoine gastronomique, artisanal, culturel et paysager unique et à une meilleure information et protection du consommateur. Réaffirmer à travers les terroirs la valeur des spécialités locales, de la convivialité partagée et des régimes alimentaires marocains et innover sur cette base pour une alimentation moderne de santé, pourraient par ailleurs permettre une transition alimentaire et nutritionnelle mieux maîtrisée. Le Maroc est en effet confronté, comme d'autres pays méditerranéens, à une forte croissance des problèmes de surpoids et d'obésité et des maladies liées. Le recul des modes d'alimentation traditionnels et l'adoption de modèles alimentaires exogènes sans rapports avec les cultures du pays y ont contribué. Le recul relatif de l'huile d'olive (au profit des huiles de graine), de l'orge et du blé dur (au profit du blé tendre), des fruits, du petit lait à la campagne, et la consommation en forte

croissance des sodas et d'autres produits industrialisés peu favorables à la santé sont révélateurs des changements observés ces dernières décennies [2].

### **III. Olivier**

L'olivier (*Olea europea* L.) est une plante vivace, arbre à feuillage persistant, qui est parmi les arbres plus connues dans la région méditerranéenne. Environ 90% de la production mondiale d'olives est utilisée pour obtenir huile d'olive; Selon le Conseil oléicole international (COI, 2015), la production mondiale d'huile d'olive a atteint 2 425 000 tonnes (COI, 2013), plaçant l'olivier comme la sixième huile dans le monde [3].

L'oliveraie nationale est constituée pour plus de 96%, par la variété dite Picholine Marocaine qui, malgré son pouvoir d'adaptation et sa double finalité (production d'huile et de conserves d'olive), 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 (22% contre 26 à 30% pour les autres variétés à huile). Le caractère polyvalent des exploitations et l'absence de régions spécialisées en oléiculture font que l'olivier est considéré comme une culture en dérobé et par conséquent ne bénéficie pas des interventions appropriées. De plus, la prédominance des plantations irrégulières et la présence des cultures intercalaires, ne permettent pas la réalisation des travaux d'entretien dans de bonnes conditions.

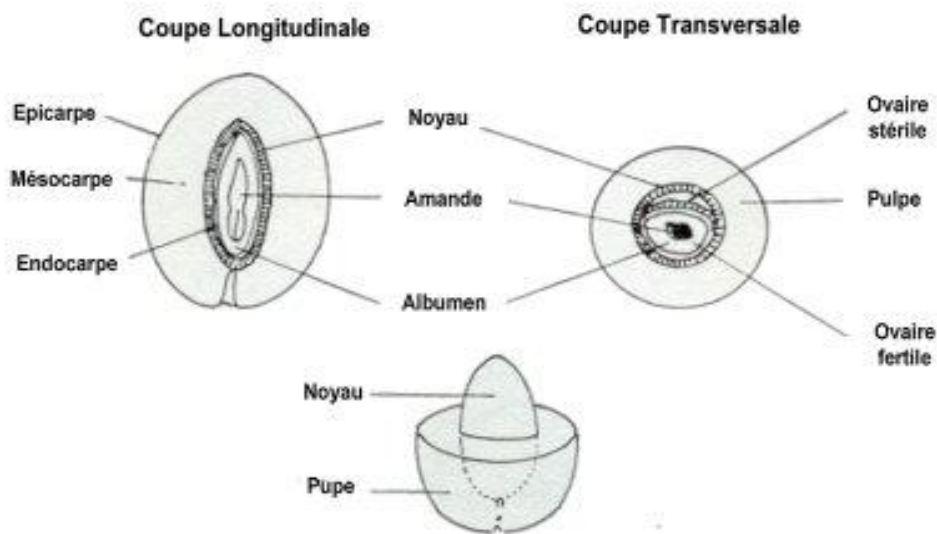
Cette situation se trouve aggravée par l'insuffisance des résultats de recherches adaptés aux différentes zones oléicoles et la persistance de contraintes relevées au niveau du transfert de technologie en raison de la faiblesse des actions d'encadrement et de vulgarisation.

La persistance de la pratique du gaulage, technique dominante pour la récolte des olives, est à l'origine de la dépréciation quantitative et qualitative de la production et de la réduction du potentiel productif des arbres [4].

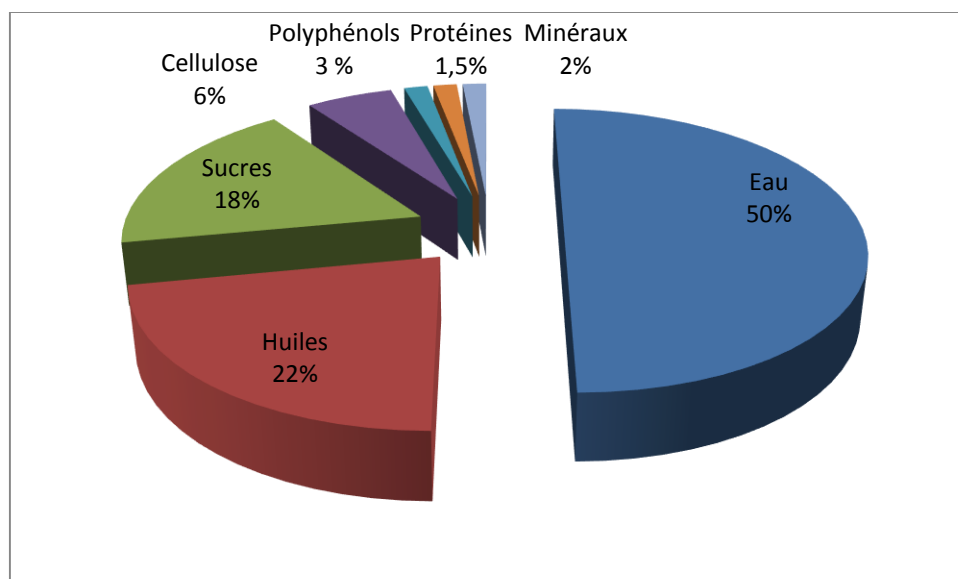
#### **1. Caractéristiques de l'olivier et de son fruit**

L'olive est une drupe de forme ovale constituée d'un péricarpe et d'un endocarpe. Elle pèse de 2 à 12 g, bien que certaines variétés puissent peser jusqu'à 20 g. Le péricarpe

comprend deux parties : l'épicarpe (la peau) et le mésocarpe (la pulpe) qui représente environ 65-83 % du poids total. L'endocarpe (noyau) représente 13 % à 30 % du poids total. L'épicarpe est couvert de cire et passe du vert clair au noir quand le fruit mûrit (figure 1). La composition chimique moyenne de l'olive est la suivante (figure 2) : l'eau, 50 % ; huiles 22 % ; polyphénols 1,5 % ; protéines 1,5 % ; sucres 18 % ; cellulose 5,5 % ; minéraux (cendres) 1,5 %. D'autres constituants importants sont les pectines, les acides organiques, les pigments et les glycosides de phénols [5].



**Figure 1** : Planche d'illustration d'un fruit d'olive [6].



**Figure 2** : Composition chimique du fruit, l'olive [5].



## **2. Olivier et huile d'olive dans le monde**

La culture de l'olivier, la production et l'utilisation de l'huile d'olive ont été un bien connues et la pratique a été établie dans la région méditerranéenne depuis plus de 7000 ans. La consommation d'huile d'olive augmente rapidement dans le monde entier, en raison de sa valeur diététique et nutritionnelle élevée.

### **2.1. Olivier dans le monde**

L'olivier connaît une extension progressive à travers le monde. Pour la production d'olives, les pays méditerranéens restent prédominants avec plus de 95% de la production d'huile d'olive et avec environ 90% de sa consommation.

Des variétés et des pratiques adaptées à une culture intensive à productivité élevée, commencent à prendre place. La production mondiale des huiles d'olives connaît des grandes variations et se situe en moyenne aux environs de deux millions de tonnes. Le niveau de la production a évolué en moyenne de 2,2% par année pendant les deux dernières décennies, alors que la consommation connaît un taux d'évolution légèrement moins important (1,7% par année). Cette tendance, si elle se confirme, risque d'amplifier le déséquilibre entre l'offre et la demande.

La zone naturelle de répartition géographique de l'olivier dans le monde se situe principalement entre le 26e et le 45e degré de latitude nord et sud, ce qui explique son introduction avec succès en Chine, au Japon, aux Etats Unis (Californie), et au Mexique pour l'hémisphère nord, en Australie, en Afrique du Sud et dans divers pays de l'Amérique du Sud pour l'hémisphère Sud.

En Afrique, on le retrouve par ordre d'importance en Tunisie, Maroc, Algérie, Libye, Égypte, Afrique du Sud et Angola. Au Moyen Orient et en Asie on le retrouve par ordre d'importance dans les pays suivants : Turquie, Syrie, Palestine, Liban, Israël, Jordanie, Irak, Iran et Chine. En Amérique on le retrouve principalement dans les régions colonisées par les Espagnols et les Portugais et par ordre d'importance dans les pays suivants : Argentine, Mexique, Chili, Pérou, Uruguay, Brésil et Etats Unis (en Californie). L'Australie fait partie des nouveaux pays producteurs.

Le bassin méditerranéen reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture de l'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température mais aussi au niveau de l'hydrométrie. Les pays d'Europe qui cultivent l'olivier sont par ordre d'importance : l'Espagne, l'Italie, la Grèce, le Portugal, l'Albanie, Chypre, la France, la Slovénie et Malte.

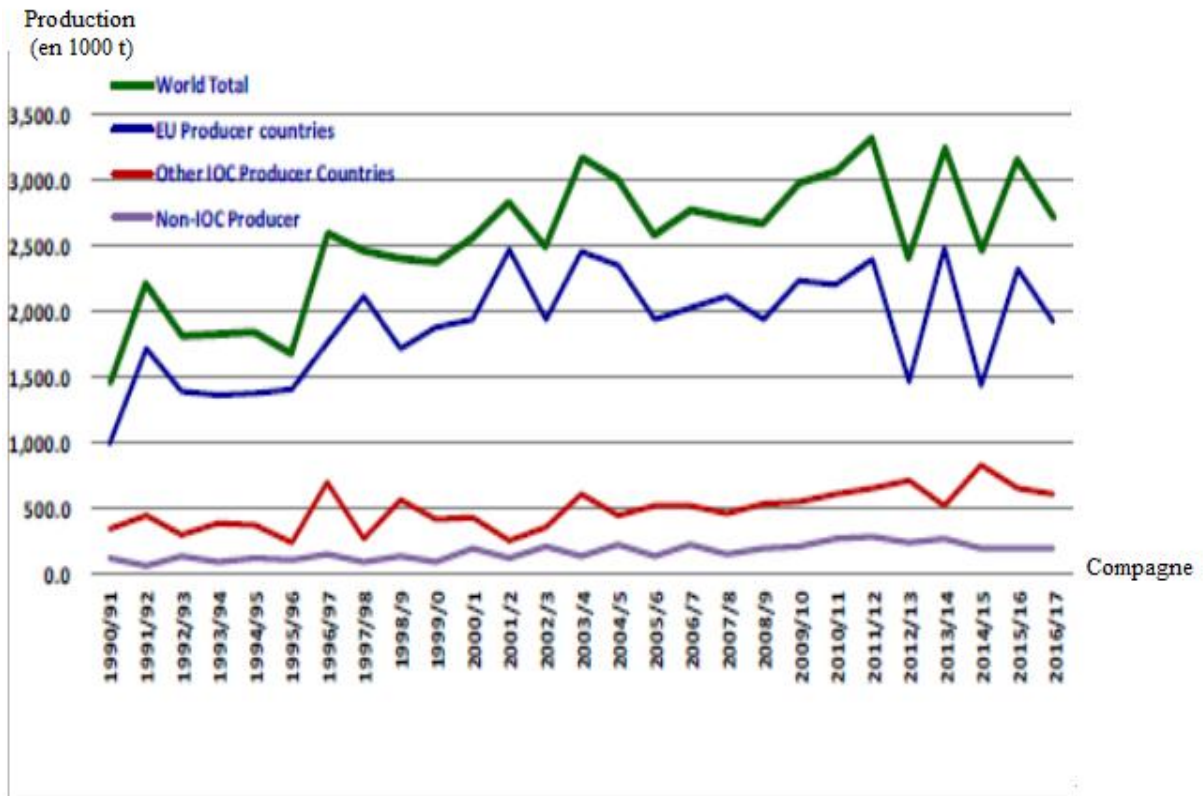
## **2.2. Huile d'olive dans le monde**

La dernière lettre d'information du Conseil Oléicole International dresse le bilan des trois dernières campagnes pour l'huile d'olive et les olives de table: 2014/15 (définitive), 2015/16 (provisoire) et 2016/17 (estimative).

- La production mondiale de **la campagne 2015/16 a atteint 3 159 500 t**, soit 29 % de plus par rapport à la campagne antérieure.
- **En 2015/16, la consommation mondiale a atteint 2 945 500 t**, soit 1 % de plus par rapport à la campagne précédente. En revanche, la France a consommé 4 % de moins par rapport à la dernière campagne.
- **En 2016/2017, la production mondiale d'huile d'olive pourrait diminuer de 14 %** par rapport à 2015/16.

### **2.2.1. Production**

La production européenne a atteint 2 322 000 t, soit 62 % de plus par rapport à la campagne précédente, avec l'Espagne en tête (1 401 600 t), suivie de l'Italie (474 600 t), de la Grèce (320 000 t), du Portugal (qui franchit la barre des 100 000 t, avec une production de 109 100 t), de Chypre (6 000 t), de la Croatie (5 500 t), de la France (5 000 t) et de la Slovénie (500 t). La production de l'ensemble des autres pays membres du COI a diminué de 23 %. La Turquie, en première position avec 143 000 t, est suivie de la Tunisie (140 000 t), du Maroc (130 000 t), de l'Algérie qui poursuit sa tendance à la hausse (83 500 t), de la Jordanie (29 500 t), de l'Égypte (25 000 t), du Liban (23 000 t), de l'Argentine (19 000 t), de la Libye (18 000 t), d'Israël (15 000 t), de l'Albanie (10 500 t) et de l'Iran (5 000 t). Les autres pays membres ont enregistré des volumes inférieurs. La figure 3 montre l'évolution de la production mondiale par groupes de pays producteurs : pays producteurs européens membres du COI ; autres pays membres du COI ; et pays non membres du COI.

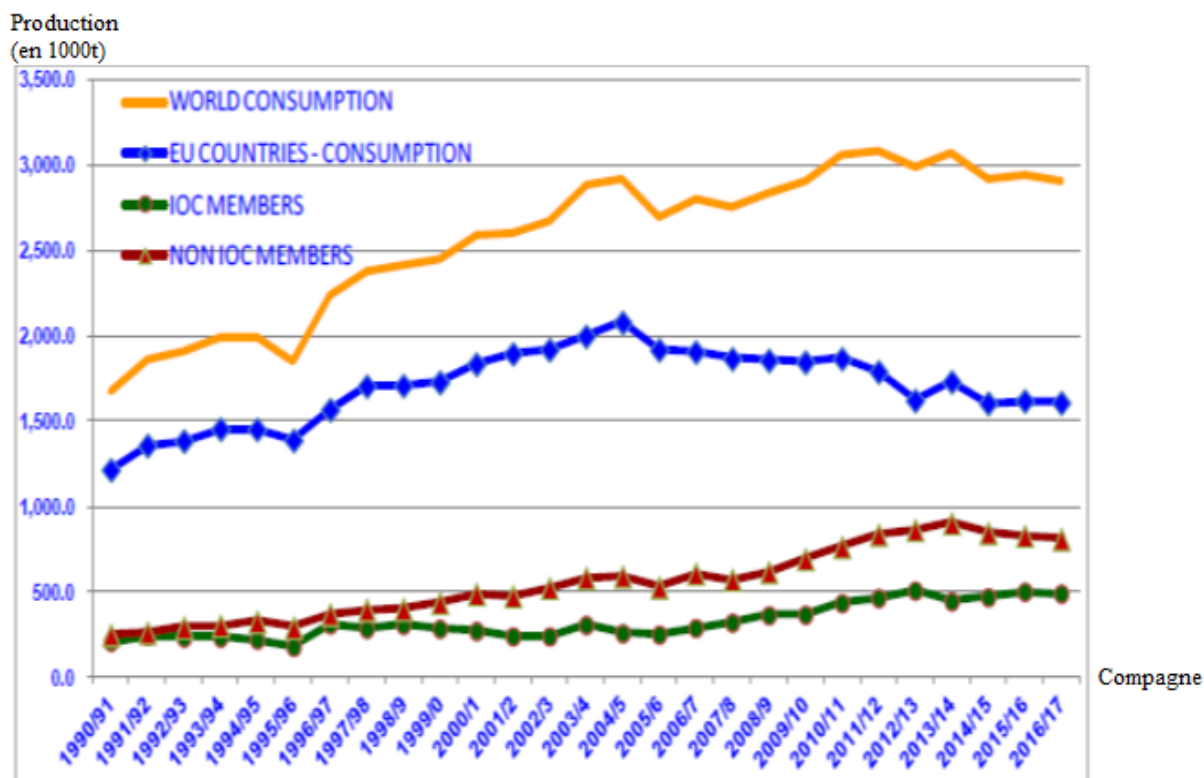


**Figure 3 :** Évolution de la production mondiale au cours des dernières campagnes [7]

En 2016/2017, la production mondiale d’huile d’olive pourrait, selon les derniers chiffres communiqués par les pays, diminuer de 14 % par rapport à 2015/16, avec 2 713 500 t, dont 2 519 000 t dans les pays membres du COI. Parmi eux, les pays européens produiraient 1 923 000 t, soit 17% de moins qu’en 2015/16. L’Espagne, avec une production estimée de 1 311 300 t, verrait sa production diminuer de 6 % par rapport à 2015/16. Viennent ensuite la Grèce, avec 260 000 t (- 19 %) ; l’Italie, avec 243 000 t (- 49 %) ; le Portugal, avec 93 600 t (- 14 %) ; et les autres pays producteurs européens, avec des volumes inférieurs.

Dans les autres pays membres du COI, la production pourrait diminuer de 7 % par rapport à la campagne précédente, en raison notamment de la diminution de la production en Tunisie (100 000 t, soit une chute de 29 %) ; au Maroc (110 000 t, - 15 %) ; en Algérie (74 000 t, soit - 11 %) : en Jordanie (23 000 t, - 22 %), au Liban (20 000 t, -13 %), et en Argentine et en Libye (15 500 t, soit - 18 % et -14 % respectivement). En revanche, la production augmenterait de 24 % en Turquie (177 000 t), de 8 % en Égypte (27 000 t), de 7% en Israël (16 000 t) et de 5 % en Albanie (11 000 t), ainsi que dans les autres pays, avec des volumes inférieurs [7].

## 2.2.2. Consommation



**Figure 4** : Évolution de la consommation mondiale au cours des dernières campagnes [7]

En 2015/16, la consommation mondiale a atteint 2 945 500 t, soit 1 % de plus par rapport à la campagne précédente. Le groupe des pays de l'UE/28 a vu sa consommation augmenter de 1 % (+ 14 000 t), avec un total de 1 618 500 t. Les pays qui ont enregistré les plus fortes augmentations sont la Grèce (+ 8 %), l'Espagne et l'Italie (+2 % respectivement) et les petits producteurs (Chypre, Croatie et Slovénie), dont la consommation a augmenté globalement de 20 %. En revanche, la France a consommé 4 % de moins par rapport à la dernière campagne.

Dans le reste des pays membres du COI, l'augmentation moyenne a été de 7 %, notamment grâce à l'Iran (+ 33 %), l'Algérie (+ 25 %), l'Égypte (+ 20 %), la Tunisie (+ 17 %), la Libye (+ 16 %), le Liban (+ 11 %), l'Argentine (+ 8 %) et la Jordanie (+ 4 %), alors que la consommation a diminué en Albanie (- 4 %), en Israël (- 3 %) et en Turquie (- 1 %). Dans les autres pays, le niveau de consommation a été similaire à celui de la campagne antérieure. Parmi les pays non membres du COI, la consommation a augmenté en Chine (+ 16 %), au Canada (+ 9 %), en Russie (+ 3 %), et aux États-Unis et en Australie (+ 5 % respectivement), alors qu'elle a diminué au Brésil (- 25 %) et au Japon (- 8 %).

La consommation mondiale d'huile d'olive pourrait atteindre 2 904 000 t en 2016/17, soit 1 % de moins par rapport à la campagne précédente. La figure 4 montre l'évolution mondiale de la consommation dans les trois groupes de pays : pays consommateurs européens, pays membres du COI et pays non membres du COI.

### **3. Secteur oléicole vert au Maroc**

#### **3.1. Présentation générale**

Le secteur oléicole revêt une importance essentielle au Maroc. Avec près de 998 000 ha dédiés à la culture de l'olivier (DDFP, 2016) il mobilise 65% de la superficie arboricole du pays et participe à hauteur de 5% dans la formation du PIB agricole. On estime également que l'exploitation de l'olive constitue la principale source de revenu pour plus de 450 000 exploitations agricole. Sur la base de la classification du COI (2015), le secteur oléicole vert au Maroc peut être défini comme l'ensemble des productions réalisées selon des procédés durables à partir de matière première issus d'oliveraies dites traditionnelles principalement caractérisées par une densité d'arbres inférieure à 180 arbres/ha.

#### **3.2. Caractéristiques de production**

Au cours des 5 dernières campagnes, plus de 90% des olives récoltées ont été destinées à la production de l'huile d'olive, principalement en vue de répondre à la demande du marché national. Sur la même période, la production d'olives de table, représentant moins de 10% de la production totale d'olives, a été plus largement destinée à l'exportation. On observe que malgré des fluctuations, il y'a un accroissement de la superficie oléicole de 29,1% entre 2008/2009 (773 000 ha) et 2014/2015 (998 000 ha). En effet la production marocaine d'olive a connu d'importantes fluctuations qui sont principalement attribuées à des facteurs tels que les aléas climatiques ou à l'alternance de l'olivier. On note également que le rendement moyen national demeure très modeste avec une valeur inférieure à 2 t/ha (0,5 à 1,5 t/ha en bour et entre 1,5 à 3 t/ha en irrigué).

Le tableau 1 présente l'évolution de la production d'olive, d'huile d'olive et d'olive de table au Maroc entre 2008 et 2015. Il révèle que la production nationale demeure pour

l'instant assez éloignée des objectifs de production de la filière tels qu'assignés par le PMV. Les niveaux actuels de production correspondent ainsi à 31,3% de l'objectif fixé en 2020 pour l'olive de table et 41,9% de celui fixé pour l'huile d'olive [8].

**Le tableau 1** : Evolution des productions du secteur oléicole [8]

<b>Campagne</b>	<b>Superficie (ha)</b>	<b>Production olives (t)</b>	<b>Rendement moyen (t/ha)*</b>	<b>Production Huile d'olive (t)</b>	<b>Production olives de table (t)</b>
<b>2008/2009</b>	773 000	850 000	1,10	85 000	100 000
<b>2009/2010</b>	813 000	1 500 000	1,85	140 000	90 000
<b>2010/2011</b>	839 000	1 500 000	1,79	150 000	120 000
<b>2011/2012</b>	885 000	1 300 000	1,47	130 000	100 000
<b>2012/2013</b>	922 000	1 114 000	1,21	120 000	100 000
<b>2013/2014</b>	947 000	1 570 000	1,66	150 000	120 000
<b>2014/2015</b>	998 000	1 143 000	1,15	120 000	100 000

\* Le rendement moyen ne tient pas compte des superficies non productives

### 3.3. Orientations stratégiques de la filière oléicole

Le Plan Maroc Vert s'est fixé d'ambitieux objectifs à l'horizon 2020 en matière d'extension de superficies, de production (olives, huiles d'olive, olives de table), de consommation et d'exportation de produits oléicoles (Tableau 2).

**Tableau 2** : Plan Maroc Vert pour 2020 : Objectifs du secteur oléicole [9]

<b>Superficie (ha)</b>	1 220 000
<b>Production totale d'olives (t)</b>	2 500 000
- Huile d'olive	330 000
- Olives de table	320 000

<b>Consommation nationale (kg/tête/an)</b>	
<b>- Huile</b>	4
<b>- Olives de table</b>	5
<b>Exportations (t)</b>	
<b>- Huile d'olive</b>	120 000
<b>- Olives de table</b>	150 000

Les actions prévues pour optimiser et restructurer le secteur oléicole à l'horizon 2020 comprennent :

- La création de nouvelles plantations sur plus de 440 000 ha ;
- la régénération des oliveraies existantes sur 300 000 ha ;
- l'installation de systèmes de micro-irrigation sur 136 000 ha de nouvelles plantations ou déjà existantes ;
- l'identification des projets d'agrégation potentiels : 170 projets (Pilier I) et 340 projets (Pilier II) ;
- le renforcement de programmes de transfert de technologies, de formation et de support technique pour les producteurs, en accord avec les besoins du secteur ;
- le renforcement de la recherche sur la culture de l'olivier et l'extraction de l'huile d'olive.

Les principaux axes de l'accord du programme sont :

- la réalisation des 510 projets associés visant à améliorer la productivité et la qualité
- un développement stable et durable ;
- l'installation de deux pôles de recherche en oléiculture à Marrakech et à Meknès pour renforcer les efforts dans ce domaine ;
- la promotion et la diversification des exportations ;
- le renforcement des programmes de supervision et de recherche appliquée [9].

## **4. Huile d'olive**

### **4.1. Définitions et classification**

L'huile d'olive est l'une des plus anciennes huiles végétales connues. Elle a une position exceptionnelle en raison de son goût agréable, son odeur et sa haute valeur nutritive. Cette huile, élément important du régime méditerranéen, est liée à la protection contre les maladies cardiovasculaires et le cancer en raison de son profil d'acides gras et de la présence de quantités mineures de constituants phénoliques. Une forte augmentation de la demande d'olives extra-vierges de haute qualité ces dernières années peut être attribuée non seulement à ses bienfaits potentiels pour la santé, mais aussi à ses propriétés organoleptiques particulières. L'objectif d'améliorer la qualité de l'huile d'olive vierge extra continue de stimuler la recherche de nouvelles technologies [10].

**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. Elle est commercialisée selon la norme du Conseil Oléicole International [11] et selon les dénominations et définitions ci-après :

- Les huiles d'olive vierges 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 d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

✓ Les huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état comportent :

**i) l'huile d'olive vierge extra** : 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 présente Norme ;

**ii) l'huile d'olive vierge** : 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 présente Norme ;

**iii) l'huile d'olive vierge courante** : 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 ;

✓ L'huile d'olive vierge non propre à la consommation en l'état dénommée huile d'olive vierge lampante 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.

- **L'huile d'olive raffinée** est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de 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.
- **L'huile d'olive** est l'huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'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.
- **L'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. Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après :
  - **L'huile de grignons d'olive brute** est l'huile de grignons d'olive dont les caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme. Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine ou destinée à des usages techniques.
  - **L'huile de grignons d'olive raffinée** est l'huile obtenue à partir de l'huile de grignons d'olive brute par des techniques de raffinage n'entraînant pas de 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.
  - **L'huile de grignons d'olive** est l'huile constituée par le coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'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. Ce coupage ne peut, en aucun cas, être dénommé « Huile d'olive ».

## 4.2. Composition chimique et caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive

L'huile d'olive se compose de 98 % à 99 % de triglycérides (triacylglycérols). Elle contient également des acides gras libres, dont la proportion est variable et dépend de l'hydrolyse des triglycérides. La composition en acide gras de l'huile d'olive change selon la variété, les conditions climatiques, et l'origine géographique. Le Conseil International d'Huile d'Olive (la norme IOOC- International Olive Oil Council), et la norme alimentaire du Codex Alimentarius, ont fixé des valeurs pour les teneurs en acides gras dans l'huile d'olive. L'huile d'olive se compose principalement d'acides gras mono-insaturés (72 %) avec 14 % d'acides gras polyinsaturés et 14 % d'acides gras saturés [12].

### 4.2.1. 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 et triacylglycérols**

#### Acides gras

Les travaux antérieurs menés , principalement par chromatographies en phases liquide et gazeuse, ont prouvé que les acides gras présents dans l'huile d'olive sont les acides: myristique (C14:0), palmitique (C16:0), palmitoléique (C16:1), heptadecanoïque (C17:0), heptadécénoïque (C17:1), stéarique (C18:0), oléique (C18:1), linoléique (C18:2), linoléinique (C18:3), arachidique (C20:0), eicosénoïque (C20:1), béhénique (C22:0) et lignocérique (C24:0).

Des limites admises pour ces acides gras sont présentées dans le Tableau 3. Des traces d'isomères géométriques peuvent être trouvées dans des échantillons d'huile d'olive [12].

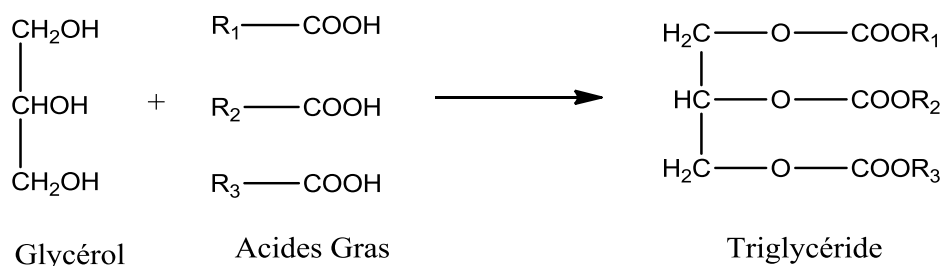
**Tableau 3 :** Composition en acides gras de l'huile d'olive [13]

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

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 la latitude, le climat, la variété et l'étape de maturité des olives.

### Triglycérides

Les triglycérides constituent environ **98%** 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 (figure 5).



**Figure 5 :** 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 [14].

Les triglycérides sont couramment désignés par trois lettres correspondant aux abréviations des acides gras qui estérifient le glycérol. Selon Tiscornia [15], 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 (palmitoyldioléine, entre 10 et 20 %), LOO (linoléoyldioléine, entre 10 et 20 %) (Avec O=acide oléique; L=acide linoléique; P=acide palmitique) [16] et [17]. Il est important à signaler qu'aucune norme ne fixe de limite quand aux proportions de triglycérides présents dans les huiles d'olive vierges.

#### **4.2.2. Fraction insaponifiables**

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

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

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

Les constituants mineurs de l'huile d'olive sont des indicateurs de son authenticité [9], de même que ses caractéristiques sensorielles [15].

### Les stérols

Les stérols végétaux appelés phytostérols occupent la plus grande partie de la matière insaponifiable des huiles constituants non glycéridique, ils représentent en poids environ 50% de l'insaponifiable.

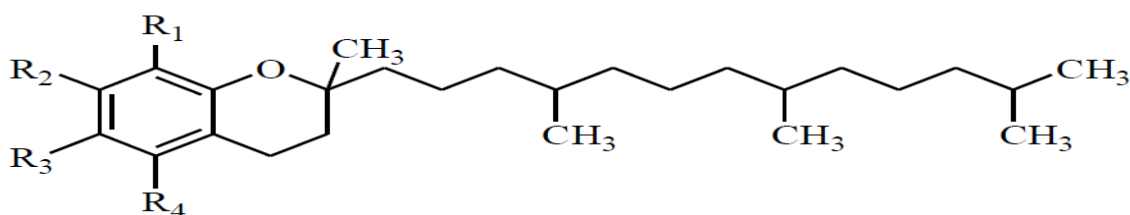
Le patrimoine en phytostérols de l'huile d'olive est singulier. En effet, c'est la seule huile qui contient un taux particulièrement élevé de  $\beta$ -sitostérol, substance qui s'oppose à l'absorption intestinale du cholestérol [16].

La composition stérolique est spécifique pour chaque espèce végétale. Plusieurs études ont identifiés trois principaux stérols dans les huiles d'olive : le  $\beta$ -sitostérol, le campestérol et le stigmastérol [17] et [18].

### Les Tocophérols

Ce sont des vitamines liposolubles. Les tocophérols ont une double action bénéfique, comme vitamine (Vitamine E) et comme antioxygène [19]. 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 [20] et [21].

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 [22]. La figure 6 présente la structure générale d'un tocophérol et le tableau 4 regroupe la structure des tocophérols.



**Figure 6:** Structure générale d'un tocophérol

**Tableau 4:** Structure des tocophérols

Structure	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>Alfa tocophérol</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>
<b>Béta tocophérol</b>	CH <sub>3</sub>	H	OH	CH <sub>3</sub>
<b>Gama tocophérol</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H
<b>Delta-tocophérol</b>	CH <sub>3</sub>	H	OH	H

Les tocophérols se distinguent sous quatre formes :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ . l' $\alpha$ -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 [23].

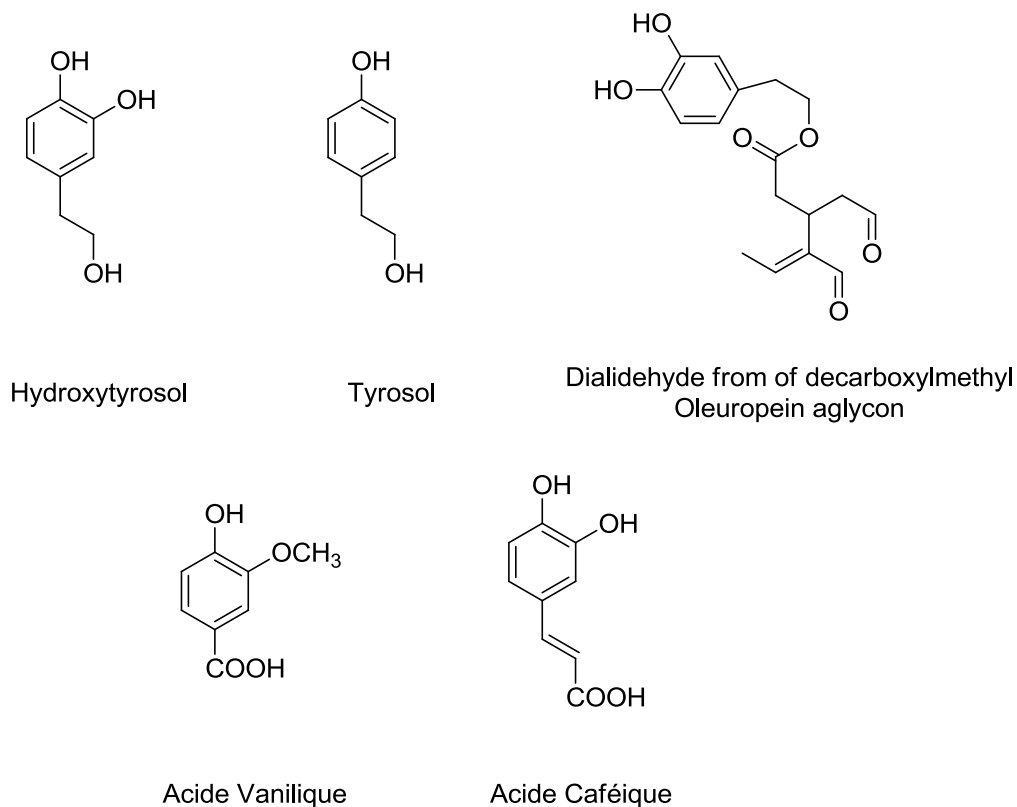
Cette différence structurale conduit à des pouvoirs antioxydants différents. Le delta tocophérol est souvent considéré comme le plus efficace mais leur activité relative dépend de la température et de la nature du substrat et un ordre différent a parfois été obtenu [24-25-26].

La quantité des tocophérols 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 [27], ainsi que les conditions et la durée de la conservation [28-29], 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 [30- 31-32].

### **Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques dont certains sont responsables de la saveur caractéristique de l'huile d'olive, ont des propriétés antioxydantes marquées. L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité oxydante, et améliorent considérablement sa saveur [33]. La maturité du fruit d'olive, le sol et les conditions climatiques affectent principalement la composition en phénols de l'huile d'olive vierge. Les composés phénoliques trouvés dans l'huile d'olive vierge sont : l'Oleuropéin (un hétérosidique ester d'acide élenoléique avec 3,4-dihydroxyphenethylalcohol (hydroxytyrosol)); le démethyloléuropéin (acide dérivé de l'oléuropéin); le ligstroside (un hétérosidique ester d'acide élenoléique avec 4-hydroxyphenethylalcohol (tyrosol)); l'acide caféique [34-35]. La majorité des composés phénoliques existant dans l'huile d'olive vierge est constituée de tyrosol et l'hydroxytyrosol [36-37].

La Figure 7 présente les structures chimiques de quelques composés phénoliques.



**Figure 7** : Structures chimiques de quelques composés phénoliques.

### Les alcools

- ✓ **Les dialcools triterpéniques** : La fraction insaponifiable de l'huile d'olive contient deux composés alcooliques triterpéniques pentacycliques : l'erythrodiol et l'uvaol. La détermination de ces deux composés peut être utile pour la détection de l'huile de grignon dans l'huile d'olive vierge [38]. D'après la réglementation CE, le taux de l'erythrodiol + uvaol ne doit pas excéder 4,5% pour une huile d'olive vierge.
- ✓ **Les Alcools terpéniques** : La présence d'alcools cycliques dans l'huile d'olive se limite à des taux très faibles.  
Ils sont présents dans l'huile d'olive à l'état libre ou bien estérifiés avec les acides gras. Parmi eux, le cycloarténol revêt un intérêt particulier: il augmente l'excrétion des acides biliaires, favorisant ainsi l'élimination fécale du cholestérol.
- ✓ **Les Alcools tri terpéniques** : Le composant dominant de cette famille est le 24-méthylène-cycloarthénol. Il y a aussi le cycloarthénol et la bêta-amirine. Le premier triterpène synthétisé chez l'olivier est le cycloarthénol qui est obtenu suite à une cyclisation du squalène [39, 40, 41, 42].

## **5. Différentes variétés cultivées**

La principale variété cultivée au Maroc est la "*Picholine Marocaine*" qui représente de l'ordre de 90 % des vergers. Elle est à double fin : huile d'olive et olives de table. L'huile extraite est de bonne qualité et de longue conservation (grâce aux antioxydants naturels contenus dans cette huile) même si le rendement oléique est moyen par rapport à d'autres variétés : 18 %. La densité des plantations va, selon l'âge du verger et sa situation géographique, de 80 à 400 pieds par hectare, rarement plus. Cependant, c'est une variété qui présente une forte alternance augmentée par la méthode traditionnelle de récolte par gaulage ainsi qu'une relative sensibilité à certaines maladies et ravageurs : œil de paon, mouche de l'olivier, psylle, cochenille provoquant la fumagine, etc. Le rendement moyen en olive par arbre est de l'ordre de 50 kg [43].

Deux clones de la "*Picholine Marocaine*" ont été développés par l'INRA Maroc : il s'agit de Hawziya et Menara qui apportent de meilleurs rendements : plus de 60 kg/arbre, une alternance réduite, une forte teneur en huile : jusqu'à 24 % ainsi qu'une bonne résistance au *Cycloconium*. Ces plants sont maintenant disponibles en pépinières agréés. Les fruits sont également à double fin.

Depuis quelques années, des variétés d'origine espagnole sont destinées uniquement à la trituration occupent des surfaces de vergers industriels de plus en plus importantes. Il s'agit essentiellement d'Arbequina et Arbosana qui sont plantés en haies sous forme d'arbustes avec une densité pouvant atteindre 1800 plants/ha. Tout peut-être mécanisé, de la plantation à la récolte en passant par la taille. Les rendements en olives peuvent être supérieurs à 15 tonnes/ha au bout de quelques années. Le rendement en huile est de l'ordre de 20%.

## **6. Huile d'olive et ses propriétés antioxydantes**

La teneur élevée en acides gras monoinsaturés (AGMI), en particulier l'acide oléique, qui joue un rôle très important dans la nutrition, et la richesse en polyphénols, tocophérols et phytostérols, qui sont des antioxydants importants, ont augmenté l'intérêt déjà très élevé de l'huile d'olive en tant que composante essentielle et symbole du régime méditerranéen.



### ➤ **Stress oxydatif et antioxydants**

L'oxydation est un mécanisme qui se produit non seulement au cours de l'élaboration des huiles mais également à l'intérieur de l'organisme humain. Des réactions qui provoquent la formation de radicaux libres (agents peroxydants) ont lieu en permanence dans l'organisme humain. En général, ces radicaux libres n'entraînent pas de dégâts importants, grâce à l'action protectrice des substances antioxydantes qui permettent dans une certaine mesure de maintenir un équilibre. Toutefois, la rupture de cet équilibre provoque un phénomène de "stress oxydatif" qui finit par altérer la fonction normale de la cellule ou entraîner la mort cellulaire.

L'oxydation est un phénomène complexe et fondamental dans le processus de vieillissement cellulaire. La peroxydation lipidique tend à être proportionnelle à la quantité des doubles liaisons qui existent dans un composé. L'acide oléique ne comportant qu'une seule double liaison, est peu susceptible à l'oxydation.

Les membranes cellulaires sont caractérisées par une teneur élevée en graisses et en cholestérol et leur composition dépend de l'alimentation. Lorsque le régime alimentaire est riche en huile d'olive, elles se détériorent moins facilement et vieillissent moins vite.

L'huile d'olive est composée d'environ 1,5% d'une fraction insaponifiable constituée d'antioxydants et d'autres composés mineurs qui se trouvent en plus grande proportion dans l'huile d'olive vierge.

### ➤ **Les antioxydants dans l'huile d'olive**

Les agents antioxydants sont la vitamine E (alpha-tocophérol), les caroténoïdes et les composés phénoliques (les phénols simples comme l'hydroxytyrosol et les phénols complexes comme l'oleuropéine) dont l'activité a été vérifiée in vitro et in vivo, ce qui a permis de découvrir de nouveaux effets positifs des antioxydants dans la prévention de certaines maladies et du vieillissement.

Le contenu phénolique des huiles d'olive varie en fonction du climat, du type de récolte, du degré de maturité des olives, des techniques de production et des méthodes de conservation. Les phénols ont de nombreuses fonctions biologiques : l'hydroxytyrosol inhibe l'agrégation plaquettaire et a une action anti-inflammatoire, et l'oleuropéine favorise la formation d'oxyde nitrique, puissant agent vasodilatateur, protecteur des vaisseaux sanguins et antibactérien.

L'huile d'olive n'exerce pas seulement un effet positif protecteur face à l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui, lorsqu'elles sont oxydées, sont athérogéniques, mais elle renforce également d'autres cellules de l'organisme face à l'action toxique des oxydants. Sa teneur élevée en antioxydants semble contribuer de manière importante à l'effet que le régime alimentaire méditerranéen exerce sur l'espérance de vie.

Ces agents antioxydants sont présents dans les légumes verts et dans les fruits. L'huile d'olive étant la seule huile produite directement à partir d'un fruit, elle conserve un grand nombre de ces substances, antioxydants et vitamines, qui lui confèrent une valeur nutritionnelle ajoutée.

Cette richesse en antioxydants est due probablement au fait que l'olive, qui est un fruit exposé à l'air, est obligée de se défendre de l'oxygène et doit par conséquent synthétiser une plus grande quantité de substances antioxydantes, que l'on retrouve par la suite dans l'huile dont elle est extraite.

L'huile d'olive vierge, qui n'a subi ni raffinage ni traitement industriel, est particulièrement riche en ces substances ; elle a alors une forte action antioxydante et un effet protecteur contre la lésion des cellules par les radicaux libres et contre la formation de cancers [5, 44, 45].

## **7. Huile d'olive et la santé**

- **Huile d'olive et maladies cardiovasculaires**

Différentes recherches ont permis de démontrer l'effet antithrombotique et antiagrégant plaquettaire de l'huile d'olive. Il a été vérifié que les régimes riches en huile d'olive permettaient en effet d'atténuer l'effet prothrombotique des aliments gras en évitant une coagulation sanguine excessive, ce qui explique la faible incidence d'infarctus du myocarde dans les pays où l'huile d'olive est la principale source de matière grasse. L'huile d'olive diminue les niveaux de cholestérol total, de cholestérol des LDL, et de triglycérides dans le sang -, mais ne modifie pas pour autant – elle peut même dans certains cas l'augmenter- le niveau du cholestérol des HDL, qui exerce un rôle protecteur et anti-athérogène.

De nombreuses études ont montré que le taux de cholestérol sanguin ne dépend pas de la quantité de corps gras absorbés quotidiennement mais de leur composition en acides gras.

Une consommation d'acides gras poly-insaturés abaisse le taux de cholestérol, tandis qu'une consommation en acides gras saturés l'augmente.

L'effet positif de la consommation d'huile d'olive dans le développement des maladies cardio-vasculaires, aussi bien en prévention primaire (en diminuant le risque de survenue d'un premier épisode de la maladie), qu'en prévention secondaire (une fois que le premier épisode a eu lieu en vue d'éviter une récurrence), a été vérifié [44,45,46].

- **Huile d'olive et le cancer**

Le cancer constitue une des principales causes de décès dans les pays développés et son incidence est de plus en plus importante.

Les liens entre l'alimentation et le développement d'un grand nombre de tumeurs malignes sont maintenant reconnus. L'un des risques les plus importants dans la formation du cancer est l'état oxydatif de la cellule : plus la susceptibilité de la cellule à l'oxydation est grande, plus le risque de cancer est important. Les cancers les plus directement liés au régime alimentaire sont les cancers du côlon, du rectum, de la prostate et du sein.

Des recherches ont récemment permis d'observer que le type de graisse consommée semblait avoir une influence plus grande sur l'apparition du cancer que la quantité de graisse consommée.

Des études épidémiologiques ont montré que les personnes de la région méditerranéenne ont une incidence plus faible de plusieurs cancers par rapport aux autres populations. La consommation d'huile d'olive est un facteur important dans le régime méditerranéen, et est généralement considérée comme bénéfique pour la santé. La consommation d'huile d'olive a été prouvée pour prévenir le cancer colorectal, le cancer du sein et le cancer de la peau [5,44, 45, 47].

- **Huile d'olive et le diabète**

Un régime alimentaire riche en huile d'olive ne constitue pas seulement une bonne alternative au traitement du diabète mais peut également permettre de prévenir ou de retarder l'apparition de la maladie, en évitant la résistance à l'insuline et ses éventuelles conséquences, en augmentant le cholestérol des lipoprotéines de forte densité (HDL), en diminuant les triglycérides et en permettant un meilleur contrôle de la glycémie et une diminution de la pression artérielle.

Il a été démontré qu'un régime alimentaire riche en huile d'olive, pauvre en graisses saturées, modérément riche en hydrates de carbone et en fibres solubles provenant des fruits, des légumes verts, des légumes secs et des céréales, constituait le choix alimentaire le plus efficace pour les sujets diabétiques. Ce régime permet non seulement de réduire la concentration des lipoprotéines athérogéniques (LDL) mais également d'améliorer le contrôle du glucose dans le sang et d'augmenter la sensibilité à l'insuline [5].

- **Huile d'olive et la peau**

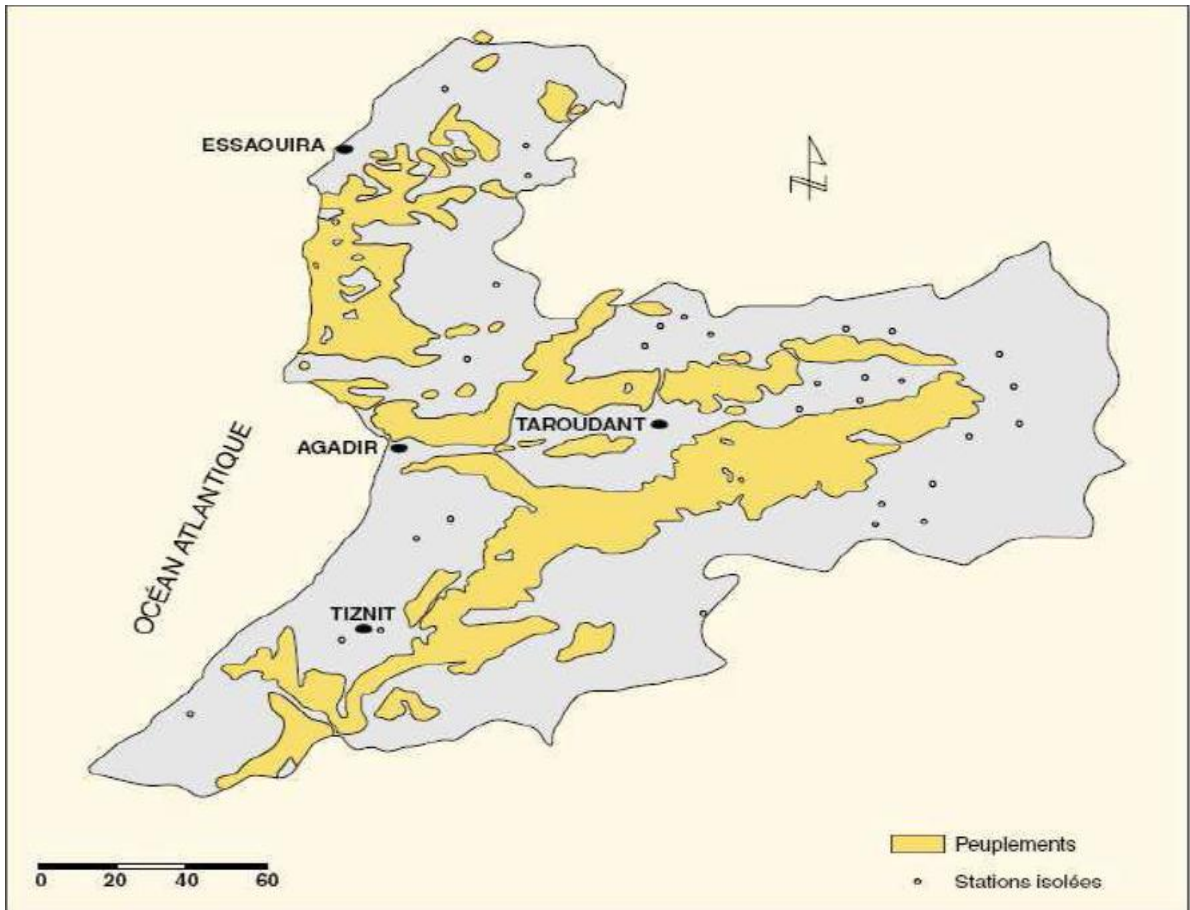
L'huile d'olive contient, en plus des polyphénols, une proportion importante de vitamine E, source principale de protection face aux radicaux libres qui provoquent l'oxydation cellulaire, ainsi que de vitamines A, D et K. À cet égard, l'huile d'olive est un bon allié de thérapies spécifiques dans des processus dermatologiques comme l'acné, le psoriasis et les exzémas séborréiques.

#### **IV. Arganier**

L'arganier (*Argania spinosa* (L.)) est un arbre endémique du Maroc, où il occupe la troisième place à l'échelle nationale après le chêne vert et le thuya [48]. C'est un arbre qui peut vivre jusqu'à 250 ans. Il est spécifique au sud-ouest du Maroc et s'étend principalement sur les provinces d'Essaouira, Agadir, Tiznit et Taroudant. La forêt d'arganier s'étend sur environ 800 000 ha, et compte plus de 20 millions d'arbres [49] (figure 8).

Cet arbre de la famille des Sapotacées, est particulièrement résistant aux conditions sèches et arides du sud-ouest marocain. Il peut en effet supporter des températures allant de 3 à 50°C, et se contenter d'une pluviométrie très faible.

L'Arganier, curiosité floristique et botanique, est l'arbre le plus remarquable du Maroc. C'est un arbre épineux, pouvant atteindre 8 à 10 mètres de haut [48]. Sa cime est large, étalée, dense et ronde. Son tronc est court, noueux, tourmenté, même souvent multiple et forme de plusieurs tiges entrelacées (figure 9a, 9b).



**Figure 8 :** Zone de répartition de l’arganier au Maroc [49].



**Figure 9 :** 9a. Arbre arganier

9b. Fruits de l’arganier

L'arganeraie joue donc un rôle socio-économique et environnemental de première importance dans ces zones géographiques. Son statut législatif particulier en fait une forêt domaniale dont le droit d'usage dédié aux populations locales est très étendue : droit de cueillette des fruits, de ramassage du bois à usage domestique et de parcours gratuit [50-51-52].

Cependant, victime de la sécheresse, mais aussi de l'évolution du mode de vie rural et du changement du climat, l'arganeraie est fragilisée. Sa surexploitation agricole, l'érosion des sols, l'avancée du désert sont autant d'agression de ce patrimoine unique. En moins d'un siècle, plus de la moitié de la forêt a disparu et sa densité moyenne est passée de 100 à 30 arbres par ha. Pourtant, tous les travaux de recherche montrent que l'arganier n'est pas en voie de disparition [50].

## 1. Huile d'argan

L'huile d'Argan est une huile d'excellente valeur alimentaire. Elle possède des propriétés diététiques très intéressantes, car elle est constituée à 80 % d'acides gras, insaturés dont une bonne proportion est celle d'acide linoléique. Actuellement, la production totale de l'huile d'Argan varie de 3000 à 4000 tonnes et représente donc au maximum 1,6 % de la consommation marocaine en huile alimentaire et 9 % de la production nationale [53, 54]. L'amande oléagineuse ne représente que 3 % du poids du fruit frais [54]. La composition chimique de l'huile d'argan s'est révélée intéressante par la nature de ces fractions glycérique (99%) et insaponifiable 1%. Les acides gras de l'huile d'argan sont à plus de 80% des acides insaturés. Les acides oléique et linoléique sont présents respectivement à près de 45% et 35%, ceci confère à cette huile de très bonnes qualités diététiques. L'insaponifiable contient des hydrocarbures et des carotènes 37,50%, des tocophérols 7,50%, des alcools triterpéniques 20%, des méthyl-stirols et stirols 20% et des xanthophylles 6,50% [55].

L'huile d'argan est relativement riche en tocophérols: 620 mg/Kg, ils sont constitués de :

69% de **Alfa tocophérol** (vitamine E),

16% de **Béta tocophérol**

13% de **Gama tocophérol**

2% de **Delta-tocophérol** [55].

La vitamine E est connue par ses propriétés eutrophiqes, c'est à dire qu'elle contribue à un état normal de nutrition avec un développement régulier de toutes les parties de

l'organisme.

## **2. Intérêt de l'huile d'argan**

### **2.1. Huile cosmétique**

L'huile d'argan destinée à la cosmétologie est préparée à partir des amandons non torréfiés. L'activité cosmétologique de l'huile d'argan est probablement liée à sa forte teneur en acides gras insaturés et en agents antioxydants. Ces derniers sont connus pour s'opposer à l'activité des radicaux libres dont l'effet est néfaste pour la peau.

L'application régulière sur la peau d'huile d'argan de qualité cosmétologique est conseillée pour le traitement des gerçures, des peaux sèches ou déshydratées et de l'acné.

A long terme, l'application d'huile d'argan conduit à une réduction de la vitesse d'apparition des rides et à la disparition des cicatrices provoquées par la rougeole ou la varicelle.

L'application d'huile d'argan est aussi préconisée pour le traitement des brûlures superficielles. Des massages à l'huile d'argan au niveau des articulations permettent aussi une réduction des douleurs rhumatismales. Finalement, appliquée sur la chevelure, l'huile d'argan permet de redonner aux cheveux éclat et brillance [56].

### **2.2. Huile alimentaire**

L'intérêt alimentaire de l'huile d'argan repose en partie sur sa très forte teneur en acides gras insaturés dont l'impact positif sur la santé humaine est bien connu. Les acides gras rencontrés dans l'huile d'argan appartiennent à la série dite des "oméga-6", dont la distribution, comparée aux "oméga-3", est primordiale pour de nombreux processus physiologiques.

La consommation régulière d'huile d'argan constitue donc une source privilégiée en acides gras essentiels (acide linoléique en particulier) et produit des effets particulièrement bénéfiques au niveau cardiovasculaire en diminuant le taux de cholestérol circulant.

La consommation d'huile d'argan prévient donc l'athérosclérose. En plus des bénéfices observés dans le domaine cosmétologique, la forte teneur en agents antioxydants (tocophérols, polyphénols) et phytostérols de l'huile d'argan alimentaire est aussi une

source de bienfaits. La faible teneur observée pour certains de ces composés explique que l'implication de chacune de ces familles dans l'amélioration de l'état de santé général des consommateurs soit encore à l'étude. Cependant, l'idée de leur participation générale est largement acceptée. C'est la raison pour laquelle l'huile d'argan est fréquemment classée parmi les nutraceutiques (ou aliments fonctionnels), familles de composés alimentaires dont la consommation régulière procure une amélioration générale de l'état de santé des consommateurs [56].

## **V. Amandier**

L'amandier (*Prunus dulcis* (Mill.) DA Webb ; syn. *P. amygdalus* Batsch] est une espèce du genre *Prunus* cultivé commercialement dans le monde entier pour ses grains. Pendant plusieurs siècles, l'amande est propagée, principalement par plantule, loin de son centre d'origine le long des deux rives du bassin méditerranéen. L'échange de l'amandier au quatrième siècle avant, conduit à la différenciation de deux groupes : les espèces méditerranéennes et d'espèces d'Asie centrale. L'amandier a évolué très lentement par les semis jusqu'au dix-neuvième siècle. Dans la zone méditerranéenne, la culture de l'amande dans plusieurs pays est souvent associée à certaines populations de semis. Cette zone est considérée comme un centre secondaire de domestication de l'espèce avec l'existence de matières végétales adaptées à la sécheresse et au gel. Les types adaptés à des zones de production ont émergé à travers la sélection naturelle et des droits de la pression de sélection. Au fil du temps, une transition s'est produite à partir d'un système agroforestière se caractérise par une grande diversité phénotypique à un système commercial semi-intensifs et intensifs qui s'appuie notamment sur l'utilisation de variétés sélectionnées localement [57].

### ➤ **Amandier au Maroc**

Deuxième espèce fruitière cultivée au Maroc après l'olivier, l'amandier occupe une aire de 128.000 hectares avec un peuplement de 16 millions d'arbres.

L'extension de la culture de l'amandier au Maroc découle de la plasticité de l'espèce et de sa faculté d'adaptation aux conditions pédoclimatiques les plus contrastées. Résistant remarquablement à la sécheresse, l'amandier présente par ailleurs une bonne adaptation au froid hivernal bien qu'il soit sensible aux gelées de fin d'hiver [58].



Au Maroc, l'amande est cultivée dans plusieurs régions du nord au sud, dans des conditions environnementales différentes, principalement dans des zones non irriguées de sols pauvres et ne reçoit que peu d'attention des agriculteurs. Le climat est principalement méditerranéen, devenant plus extrême vers les régions intérieures et sahariennes dans le Sud. La variabilité qui en résulte dans l'environnement et le climat s'est transformée en une grande diversité de géotypes d'amandes dans chaque région productrice, en raison du fait que près de 50% des amandiers cultivés au Maroc sont des semis, situés principalement dans le nord et le sud [58]. Les amandes, lorsqu'elles sont incorporées dans l'alimentation, ont été signalés à réduire le risque de cancer du côlon chez le rat et d'augmenter le HDL cholestérol et réduire le LDL cholestérol chez les humains. Ces activités peuvent être liées à la présence de flavonoïdes et d'autres composés phénoliques dans les noix [55] (figure 10).



**Figure 10 :** 10a. Arbre amandier

10b. Fruits de l'amandier

La moitié de la population d'Amandiers (six millions) est issue de semis. Elle est localisée essentiellement le long des vallées des principaux oueds du sud du pays et dans certaines zones de montagne [59].

## ➤ Culture en zones de montagne

Ces zones sont représentées par quatre ensembles localisés au Nord et au Sud du Maroc. Elles comprennent:

-*Au Nord* : la région d'AL HOCEIMA dans la chaîne du Rif avec comme site : Targuiste-Imzouren-B. Boufrah et Ajdir.

-*Au Centre* : la région d'AZILAL : Azilal-Ouaïzeght

-*Au Sud* : la région du HAOUZ : Imintanout-Amizmiz-Tahanaout.

- *La région du SOUSSE* : Tafraout - Tiznit.

L'ensemble de ces aires se situe entre les altitudes 60m (Imzouren) et 1430m (Azilal). Il occupe les étages bioclimatiques arides à hiver froid et tempéré, semi-arides à hiver tempéré et saharien à hiver froid.

### 1. Huile d'amande

L'huile d'amandes est obtenue par pression à froid des noyaux mûrs de *Prunus dulcis* (Miller) D. A. Webb var. *dulcis* (amande douce), de *Prunus dulcis* (Miller) D. A. var. *amara* (D.C.) Buchheim (amande amère) ou d'un mélange des deux. La pharmacopée européenne connaît deux types d'huile d'amande: l'huile d'amande vierge (*Amygdalae oleum virginale*) et l'huile d'amande raffinée (*Amygdalae oleum raffinatum*). Il s'agit d'un liquide jaune pâle (huile raffinée) ou jaune foncé (huile pressée à froid), limpide, de faible viscosité, ne séchant pas, doux au goût, avec une odeur caractéristique. Un agent antioxydant est ajouté à certaines huiles raffinées. Les deux types d'huile d'amande se distinguent non seulement par leur couleur, mais aussi plus particulièrement par leurs valeurs d'acides et de peroxydes, pour lesquelles la pharmacopée accepte des valeurs supérieures dans l'huile vierge.

L'huile d'amande joue un rôle important dans les soins de la peau et les produits de beauté. Cette huile a des propriétés apaisantes, soignantes et protectrices contribue en particulier pour les peaux sèches – à réduire le manque d'élasticité, les desquamations et les picotements. Ayant un faible potentiel allergisant, elle est très bien tolérée, notamment par la peau sensible. Dans le domaine alimentaire, l'huile d'amandes n'est que rarement utilisée dans la cuisine, mais elle entre dans la composition de sucreries. L'huile d'amande est utilisée essentiellement dans le domaine cosmétique (soins de la peau) et en médecine

(dermatologie, aromathérapie, huile pour massage). Il existe fondamentalement deux types d'amandiers: ceux à amandes amères et ceux à amandes douces. L'huile de table est exclusivement produite à partir d'amandes douces, car les amandes amères contiennent de l'acide cyanhydrique toxique.

L'huile d'amande est composée principalement de triglycérides, d'acide oléique (62 à 86%) et d'acide linoléique (20 à 30%). Comme toutes les huiles grasses, l'huile d'amande a tendance à s'oxyder et ne peut donc pas être conservée indéfiniment [60].

L'huile d'amande [Oleum amygdalae] a longtemps été utilisée dans les cercles de médecine complémentaire pour ses nombreux avantages pour la santé. L'huile d'amande a été utilisée pour ses nombreux bienfaits pour la santé et la beauté depuis les civilisations anciennes de l'Inde, la Chine et la Grèce. L'huile d'amande est aujourd'hui utilisée par les esthéticiennes, propriétés émoullientes naturelles et de rajeunissement de la peau. Elle est extrêmement populaire et recherchée principalement pour sa riche concentration en acides gras essentiels oléiques et linoléiques. L'huile d'amande est utilisée dans l'industrie cosmétique pour ses propriétés pénétrantes, hydratantes et restructurantes [61].

## **VI. Méthodes volumétriques chimiques, spectroscopiques et chimiométriques**

### **1. Méthodes volumétriques chimiques**

#### **1.1. Acidité**

L'acidité libre (A) est un indicateur qui permet d'évaluer l'altération de la matière grasse, comme conséquence 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 ethanologique d'hydroxyde de potassium (KOH). Dans le présent travail 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 :

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

**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).

### 1.2. 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 et un essai de contrôle (sans matière grasse) est fait dans les mêmes conditions. Cette analyse a été effectuée conformément à la norme AFNOR NF T60-220 de décembre 1968.

L'indice de peroxyde est donné par la formule suivante :

$$I_p = \frac{V - V_0}{P} \cdot 10$$

(meq  $O_2$  /Kg d'huile)

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

**V<sub>0</sub>** : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc ;

**P** : Prise d'essai en gramme.

### 1.3. Etat d'oxydation des huiles - Extinction spécifique

Tous les corps gras naturels contiennent de l'acide linoléique en quantité plus ou moins importante. L'oxydation d'un corps gras conduit à la formation d'hydroperoxydes linoléique qui absorbent la lumière ultraviolette au voisinage de 266 nm, si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires d'oxydation, en particulier des cétones insaturées qui absorbent la lumière vers 270 nm. Une prise de 0,25 grammes de l'huile et

dissoute dans 25 ml de cyclohexane. L'absorbance de la solution de matière grasse est mesurée dans une cuve de quartz par rapport à celle du solvant utilisé à l'aide d'un spectrophotomètre U.V / Visible à longueur d'onde spécifiques de 270 nm.

L'extinction à 270 nm d'un corps gras brut peut être considérée comme une image de son état d'oxydation, plus l'huile est peroxydée, plus l'extinction à 270 nm est forte, et plus elle est riche en produits secondaires d'oxydation en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière vers 270 nm.

#### **1.4. Indice de réfraction**

L'indice de réfraction est le rapport entre les vitesses de la lumière dans le vide et sa vitesse dans la substance. En pratique, la vitesse de la lumière dans l'air est utilisée à la place de celle dans le vide et la longueur d'onde choisie est celle de la moyenne des raies D du sodium (589,6) nm.

L'indice de réfraction d'une substance donnée varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente et avec la température. On note l'indice de réfraction  $n_D^t$  où « t » est la température en degré Celsius. Les mesures sont effectuées avec un réfractomètre d'ABBE, la température est fixée à 20°C.

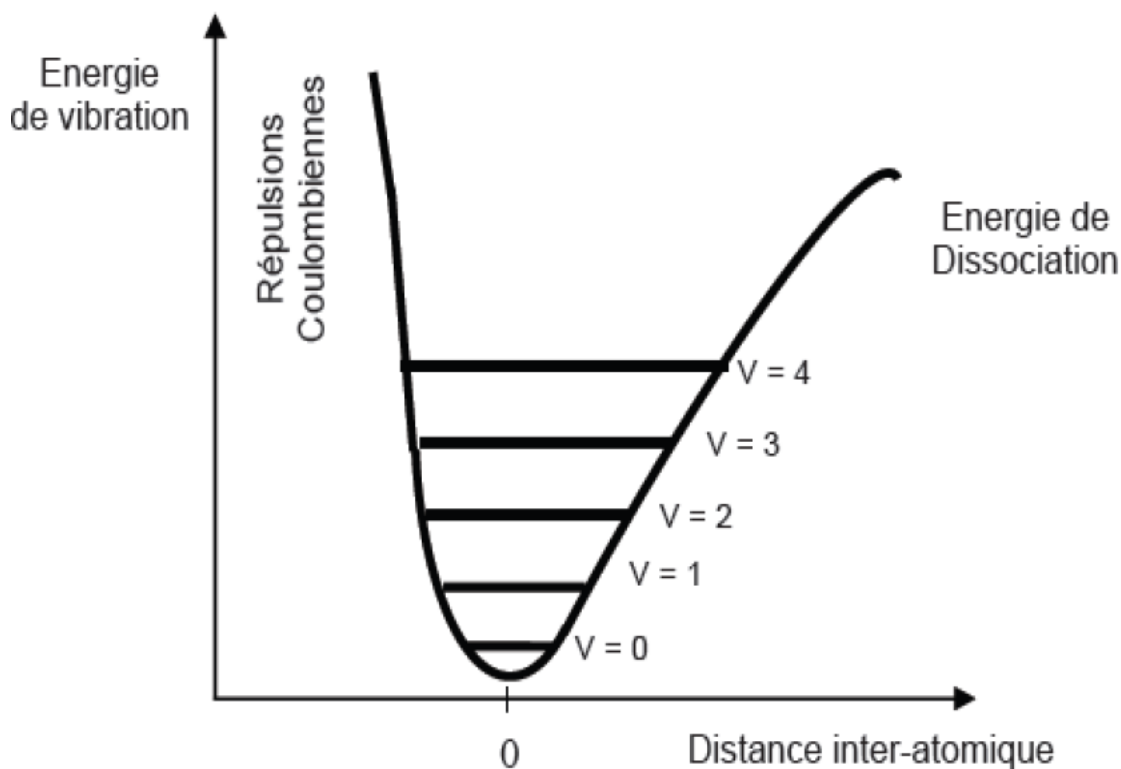
## **2. Méthodes spectroscopiques**

### **2.1. Spectroscopie infrarouge**

#### **2.1.1. Principe**

Le principe de la spectroscopie infrarouge a été souvent détaillé notamment par Bertrand [62] et par Rouessac [63]. Le rayonnement infrarouge (IR) est une radiation de nature électromagnétique, correspondant à la partie du spectre comprise entre  $12\ 800\text{ cm}^{-1}$  et  $10\text{ cm}^{-1}$ . 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 11:** 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 ( $U_0$ ) 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 ( $I_{éch}$ ) et sans échantillon ( $I_0$ ).

$$\mathbf{T} = \mathbf{I}_{\text{éch}} / \mathbf{I}_0 \quad (1)$$

Ce rapport s'appelle la transmittance et :

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

Où A est l'absorbance et le logarithme est népérien. On préfère exprimer A en fonction du nombre d'onde  $\nu$ , plutôt que de la longueur d'onde  $\lambda$ , car  $\nu$  est directement proportionnel à une énergie d'après la relation suivante :

$$\mathbf{E} = \mathbf{h}\nu = \frac{\mathbf{hc}}{\lambda} = \mathbf{hc}\bar{\nu}$$

Avec

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

$\nu$  : fréquence

c : célérité de la lumière, 3.108 m/s

### **2.1.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)**

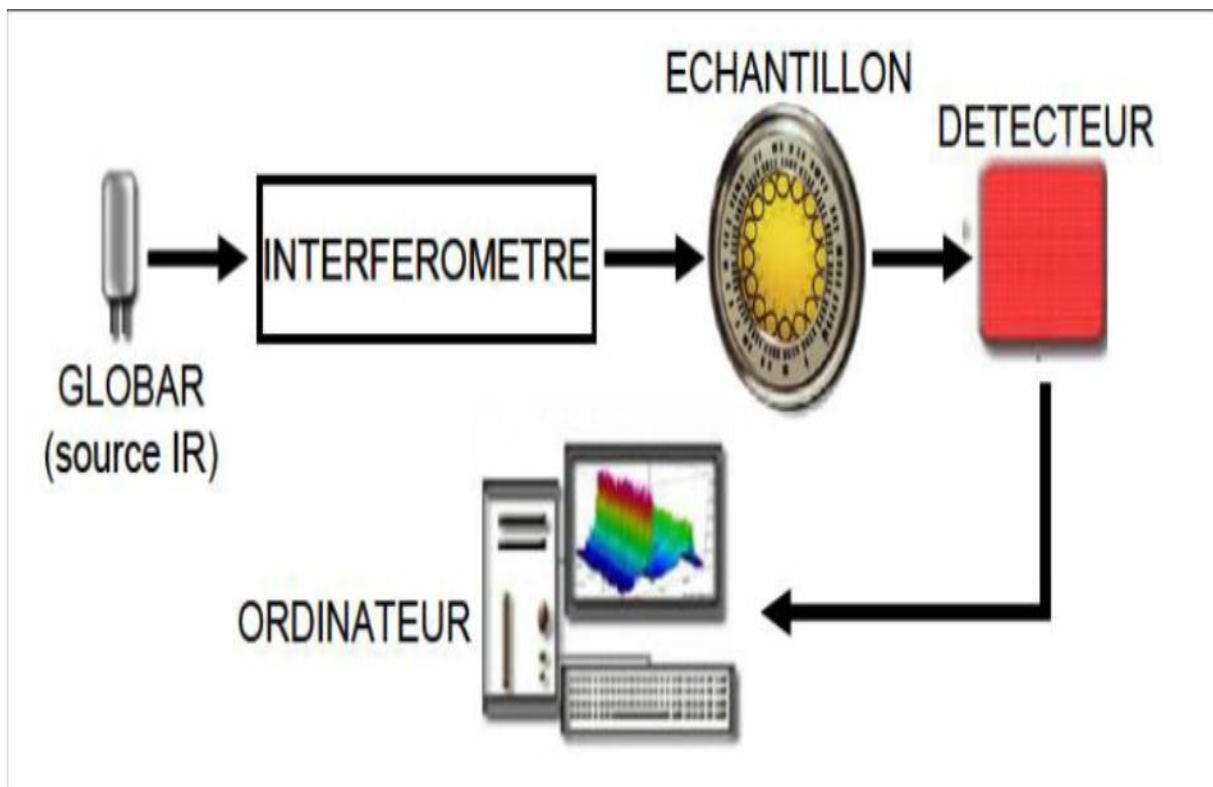
La spectroscopie moyenne infrarouge est beaucoup utilisée pour l'élucidation de structure des molécules pour des applications chimiques. La technique était limitée essentiellement par la lenteur d'acquisition des spectres car la séparation des longueurs d'onde était réalisée séquentiellement par un monochromateur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



**Figure 12:** Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier

- Une source lumineuse
- 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 [64,65].

## **2.2. Chromatographie en phase gazeuse**

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

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.

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.

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.

### **2.3. Chromatographie liquide haute performance (HPLC, High Performance Liquid Chromatography)**

D'une manière générale l'HPLC, qui fait intervenir une phase stationnaire solide constituée de particules fines et une phase mobile liquide, demeure la technique la plus souvent utilisée. En fait, elle présente de nombreux avantages telles que sa simplicité de mise en œuvre, sa reproductibilité, une gamme étendue de phases stationnaires commercialement disponibles permettant de moduler les interactions avec le soluté, et ses diverses possibilités de couplages avec d'autres techniques chromatographiques et/ou des systèmes de détection.

Parmi les différents systèmes de détection pouvant être couplés avec l'HPLC, les systèmes de détection les plus communément utilisés sont les détections par absorption dans l'ultraviolet visible (UV-Vis), fluorescence, diffusion de lumière (DEDL), électrochimie, spectrométrie de masse (MS, Mass Spectrometry) et résonance magnétique nucléaire (RMN). Outre ces avantages, cette technique peut être utilisée selon plusieurs modes de séparation en fonction des caractéristiques physico-chimiques des analytes à séparer dont le mode dit phase normale (NP, Normal Phase) dans lequel la phase stationnaire est polaire

et la phase mobile est apolaire, et le mode dit phase inverse (RP, Reversed Phase) dans lequel les polarités sont inversées, sont les deux principaux modes utilisés dans les travaux antérieurs

## **2.4. Spectrométrie d'Emission Atomique Source Plasma à Couplage Inductif (l'ICP-AES)**

### **• La source**

La source utilisée en ICP-AES est un plasma généré par couplage inductif. Un plasma est un gaz atomique électriquement neutre mais très ionisé. Il est constitué d'atomes neutres (atomes du gaz) et d'autant de charges positives (cations du gaz) que négatives (électrons). Le plasma le plus utilisé est le plasma d'argon car l'argon ne se recombine pas avec les espèces chimiques d'une façon stable et possède un potentiel d'ionisation très élevé (15,6 eV), ce qui permet l'excitation de la majorité des ions. De plus, il s'agit d'un gaz rare, il est ainsi difficile à ioniser et peut atteindre une température de plasma très élevée (de l'ordre de 10 000 K). En outre, l'argon possède l'avantage d'être un des gaz les plus présents sur Terre. L'hélium pourrait être utilisé, mais possède l'inconvénient d'être coûteux.

Un plasma d'argon est ainsi constitué d'atomes d'argon, d'ions argon  $Ar^+$  et d'électrons. L'inconvénient de l'argon est que celui-ci a une mauvaise conductibilité thermique, il est donc nécessaire d'avoir une bonne optimisation des paramètres pour permettre d'avoir des conditions très proches entre les mesures des différents échantillons, en particulier au niveau de la température [67].

### **• Composition d'un spectromètre ICP-AES**

Un spectromètre ICP peut être divisé en quatre parties :

- le système d'introduction de l'échantillon ;
- le système d'atomisation et d'excitation ;
- le système optique ;
- le système de détection.

## **3. Méthodes chimométrique**

### **3.1. Définition**

La Chimométrie est l'ensemble des méthodes mathématiques appliquées à la genèse, à la collecte et au traitement de l'information expérimentale. Leur mise en œuvre étant rendue possible grâce à l'outil informatique. Cela comprend notamment :

- Les méthodes multivariées d'analyse de données
- Les méthodes taxonomiques et de classification
- Les méthodes de traitement du signal
- La validation des méthodes de mesures
- La méthodologie des plans d'expérience

Les sciences analytiques constituent le champ d'application privilégié de la Chimométrie, pour l'optimisation et la validation des méthodes séparatives, pour l'étalonnage des méthodes spectrales ou bien pour l'analyse et la modélisation des données.

La chimométrie concerne l'utilisation de méthodes mathématiques ou statistiques pour le traitement de données chimiques, avec divers objectifs: la description des données sous une forme synthétique, la modélisation, la classification, les plans d'expériences, l'optimisation, etc.

Les **méthodes exploratoires** correspondent à l'objectif de description des données, et comprennent à la fois des méthodes élémentaires telles que le calcul de la moyenne et de l'écart type des données, ou des méthodes plus sophistiquées, comme l'Analyse en Composantes Principales, par exemple.

Les **méthodes de régression** ont comme objectif de décrire un modèle entre des variables indépendantes (par exemple, variables spectrales) et, par exemple, la variable de la concentration, afin de prédire au mieux, à partir des données, les valeurs de cette variable pour de nouveaux échantillons. Lorsqu'un tel modèle est établi, cela permet de remplacer la méthode de référence par la projection des nouvelles données sur ce modèle.

Les données spectrales brutes, telles qu'elles sont acquises par un spectromètre, ne revêtent pas obligatoirement la forme la mieux adaptée aux traitements ultérieurs. Il est donc souvent utile d'appliquer un prétraitement aux données avant leur exploitation par des méthodes chimométriques.

### **3.2. Prétraitements des données spectrales**

Les prétraitements ont deux objectifs principaux : l'amélioration du signal, et la condensation des données. Les prétraitements visant à améliorer le signal sont évidemment en relation avec le mode ultérieur d'exploitation des données spectrales et incluent :

- 1- la réduction du bruit dans les spectres
- 2- l'élimination de l'effet des déformations de la ligne de base
- 3- l'affinage de la position des bandes d'absorption
- 4- l'élimination des variations d'intensité globale sans intérêt

La condensation des données spectrales peut se faire par des méthodes reposant sur une décomposition spectrale en variables latentes, ou par des méthodes basées sur le choix a priori des variables ou des observations jugées pertinentes pour le problème considéré.

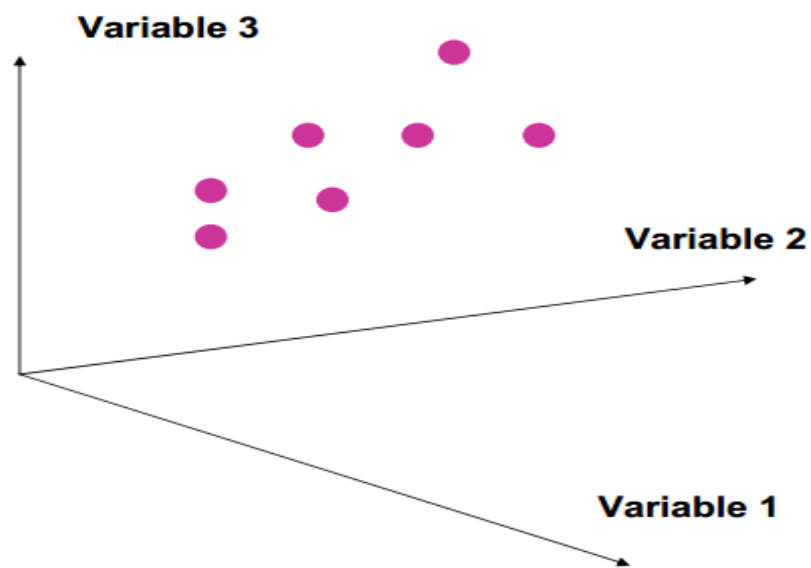
### ➤ **Méthodes exploratoires**

Les méthodes exploratoires ont comme objectif de décrire les données, sans utilisation de connaissances *a priori* (méthodes non supervisées). Ces méthodes comprennent des techniques telles que:

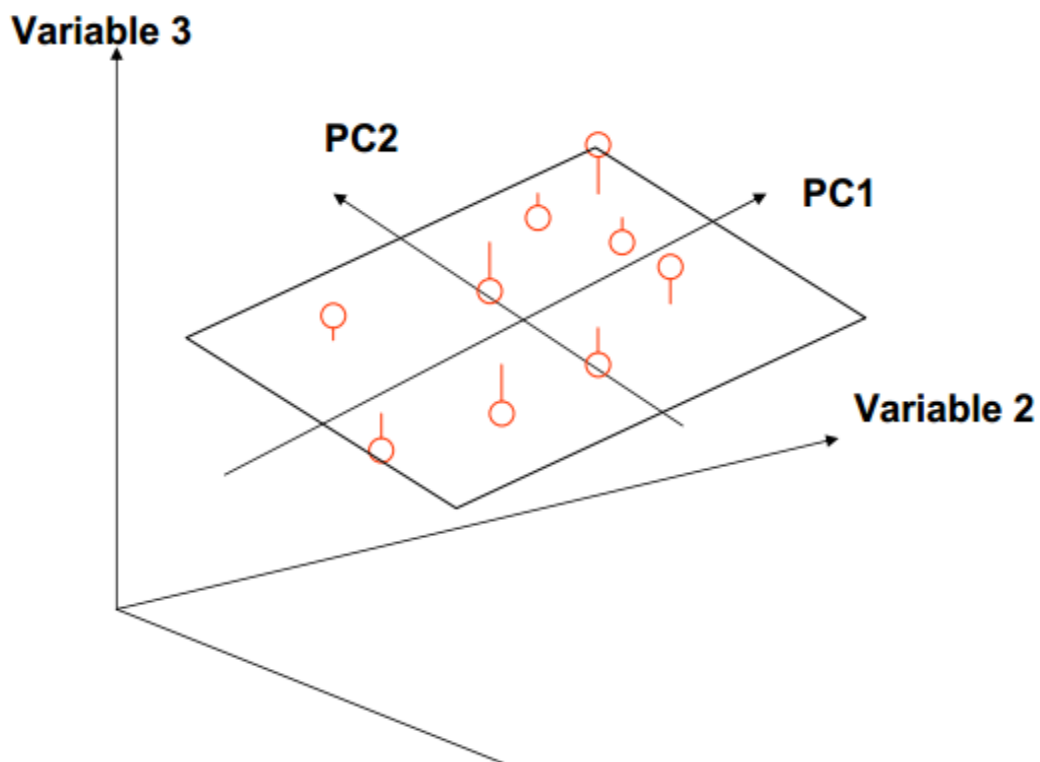
#### - **l'Analyse en Composantes Principales (ACP)**

Elle est particulièrement adaptée à l'étude exploratoire des données spectrales. Elle permet de remplacer les variables d'origine, fortement redondantes, par des variables synthétiques (variables latentes), les composantes principales, qui contiennent la quasi-totalité de l'information, et qui ont l'avantage d'être orthogonales entre elles. Ces composantes principales sont des combinaisons linéaires des variables de départ. A l'aide de l'ACP, il est souvent possible de condenser la collection spectrale dans des proportions très importantes: 20 composantes au maximum sont en général largement suffisantes pour résumer l'information utile, et la taille de la matrice des données peut être réduite par un facteur de 10 à 100 ou plus.

Dans l'espace original, la collection spectrale peut être représentée par un nuage de points dans un espace à  $p$  dimensions (figure 13). L'ACP consiste en une rotation (qui conserve les échelles et les distances entre les spectres). Cette rotation est effectuée de manière à placer les nouveaux axes dans la direction de plus grande dispersion du nuage de points. Le premier axe ( $PC_1$ ) correspond ainsi à la plus grande dispersion du nuage de points. Le deuxième axe ( $PC_2$ ) est orthogonal au premier et tient compte de la plus grande dispersion résiduelle, et ainsi de suite (figure 14). Une réduction de la dimension  $p$  est alors recherchée pour pouvoir simplifier le nuage des points.



**Figure 13 :** Nuage des spectres dans l'espace des p variables de départ



**Figure 14 :** Nuage des spectres dans l'espace factoriel ( $PC_1, PC_2, \dots$ )

Comme l'illustre le tableau 5, les composantes principales sont donc ordonnées par ordre décroissant d'inertie. Ainsi les composantes principales d'ordre « élevé » expliquent en général très peu de variance, et peuvent donc être éliminées de l'analyse.

**Tableau 5 :** Répartition de l'inertie de la matrice M des données centrées réduites sur les p composantes principales.

Composante Principale* (Vecteur propre)	Valeur propre	Part d'inertie associée à la composante principale	Cumul d'inertie selon le nombre de composantes principales
PC <sub>1</sub>	$\lambda_1$	$\lambda_1 / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_p)$	$\lambda_1 / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_p)$
PC <sub>2</sub>	$\lambda_2$	$\lambda_2 / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_p)$	$(\lambda_1 + \lambda_2) / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_p)$
PC <sub>3</sub>	$\lambda_3$	$\lambda_3 / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_p)$	$(\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3) / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_p)$
...	...	...	...
PC <sub>p</sub>	$\lambda_p$	$\lambda_p / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_p)$	1

\* avec :  $(PC_i)M = \lambda_i M$  et p = nombre de variables (de colonne) dans la matrice M.

Les coordonnées des points représentatifs des spectres dans ce nouveau repère sont les coordonnées factorielles. L'intérêt de l'ACP apparaît clairement lorsque les variables d'origine présentent de fortes corrélations. 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.

### ➤ Méthodes prédictives

Les méthodes de régression utilisées pour construire un modèle d'étalonnage à partir des données de spectroscopie IR sont nombreuses. Il existe deux familles différentes de méthodes de régressions linéaires : les régressions linéaires simples (univariées), et les régressions linéaires multiples (multivariées).

En fait, l'analyse multivariée est un outil pour l'étude chimométrique essentielles des données provenant d'observations faites sur plusieurs variables. Son but est de reprendre les informations contenues dans les données avec un nombre réduit de dimensions pour caractériser les éventuelles différences ou similitudes entre les observations (les individus ou les échantillons) et les variables.

La méthode PLS (la régression au sens des moindres carrés partiels) consiste en une régression de la variable à prédire,  $y$ , sur des variables latentes qui sont des combinaisons linéaires des variables  $x$  prédictives de départ (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Type de données utilisées par la méthode des moindres carrés partiels (PLS) basée sur de la méthode de la régression en composantes principales (PCR) de type :  $PC(Y)=PC(X).B + E$

Echantillons	Matrice des variables Y à prédire				Matrice des variables X explicatives				
	$y_{1,1}$	$y_{2,1}$	...	$y_{n,1}$	$X_{1,1}$	$X_{2,1}$	$X_{3,1}$	...	$X_{m,1}$
<b>Ech.1</b>	$y_{1,1}$	$y_{2,1}$	...	$y_{n,1}$	$X_{1,1}$	$X_{2,1}$	$X_{3,1}$	...	$X_{m,1}$
<b>Ech.2</b>	$y_{1,2}$	$y_{2,2}$	...	$y_{n,2}$	$X_{1,2}$	$X_{2,2}$	$X_{3,2}$	...	$X_{m,2}$
<b>Ech.3</b>	$y_{1,3}$	$y_{2,3}$	...	$y_{n,3}$	$X_{1,3}$	$X_{2,3}$	$X_{3,3}$	...	$X_{m,3}$
	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<b>Ech.p</b>	$y_{1,P}$	$y_{2,P}$	...	$y_{n,P}$	$X_{1,P}$	$X_{2,P}$	$X_{3,P}$	...	$X_{m,P}$

Avec :  $PC(X)$ = composantes principales de  $X$  et  $PC(Y)$ = composantes principales de  $Y$ ,  $B$  : matrice des coefficients de régression multiples et  $E$  : matrice des écarts.

- En spectroscopie Infra Rouge :  $X$  : Nombre d'onde et  $x_{i,j}$  : absorbance
- En chromatographie (HPLC ou CPG) :  $X$  : temps de rétention et  $x_{i,j}$  : intensité
- $Y$  : teneur en acides gras, acidité libre, indice d'iode, indice de peroxyde...

Les variables latentes sont déterminées en tenant compte non seulement des variables prédictives mais aussi de la variable à prédire. De ce fait, le modèle obtenu par PLS contient le plus souvent moins de variables latentes, ce qui implique une interprétabilité relativement plus aisée des résultats et une meilleure stabilité du modèle [62].

Comme l'ACP, PLS permet de réduire la dimensionnalité du système par rapport à la matrice de départ. Le choix des nouveaux axes ne se fait plus en fonction de la direction de variance maximale de la matrice  $X$ , comme dans l'ACP mais selon les directions de plus grandes variances des matrices  $X$  et  $y$  et de plus grande covariance entre  $X$  et  $y$ .

Lorsque plusieurs constituants chimiques doivent être évalués, une régression sur chacun des constituants pris séparément (méthode PLS1) peut être effectuée, ou une régression sur toutes les concentrations en même temps (algorithme PLS2).

La régression PLS permet de prendre en compte un grand nombre de variables observées sur un petit nombre d'échantillons. Elle permet aussi d'interpréter les relations entre les



variables prédictives et les concentrations à prédire. L'extraction des facteurs (variables latentes LVs) s'effectue à partir de la matrice de covariance spectre / concentration. Ces variables latentes sont des combinaisons linéaires des variables de départ, déterminées en tenant en compte des variables à prédire  $Y$  et des variables prédictives  $X$ .

La méthode PLS procède de manière itérative et détermine à chaque étape une variable latente qui est fortement reliée à  $Y$ , la force de liaison étant mesurée par l'importance de la covariance. Elle rajoute à ce niveau une subtilité qui permet d'obtenir des variables latentes orthogonales afin de faciliter leur interprétation [62].

Le point critique est le choix du nombre optimal de variables latentes (LVs). La raison pour laquelle le choix du nombre de variables latentes étant primordial est le problème d'un "*underfitting*" (lorsque trop peu de LVs sont choisies, elles ne contiennent pas toute l'information des données de départ nécessaire pour correctement prédire  $y$ ) ou d'un "*overfitting*" (lorsque trop de LVs sont sélectionnées, ils existent parmi elles des LVs non-informatives mais contenant du bruit qui risque d'être pris en compte dans le calcul des valeurs à prédire). Par conséquent, on a recours toujours à des méthodes de validation telles que la Validation Croisée et le critère de Durbin-Watson pour déterminer le nombre optimal de LVs.

La validation croisée « leave-one-out » est basée sur une procédure où tous les individus servent alternativement à élaborer le modèle et à le valider - ce qui consiste à élaborer autant de modèles qu'il y a d'individus en écartant à tour de rôle de l'étalonnage chacun des individus qui va servir ainsi à valider le modèle [62].

La vérification de la validation du modèle repose sur les trois facteurs suivants :

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

$$RMSEC\% = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{ic})^2}{n}} * \frac{100}{\bar{y}}$$

$$RMSECV\% = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{icv})^2}{n}} * \frac{100}{\bar{y}}$$

où

$y_i$  = la concentration observée.

$\hat{y}_i$  = la concentration prédite par le modèle de régression

$\bar{y}$  = la concentration moyenne observée.

$\hat{y}_{iC}$  = la concentration prédite par PLS pour un échantillon d'étalonnage.

$\hat{y}_{iCV}$  = la concentration prédite par Validation Croisée pour l'échantillon retirée.

$n$  = le nombre d'échantillons testés

Le principe de base de la validation croisée est que tous les individus du lot d'étalonnage servent à la fois à l'élaboration et à la validation du modèle. On distingue la validation croisée totale (si les échantillons sont retirés un à un) ou partielle (si les échantillons sont retirés par groupe). Chaque échantillon ou groupe d'échantillons est écarté à tour de rôle, et des modèles de régression basés de 1 à  $k$  variables latentes sont élaborés avec les individus restants [62]. De cette façon, pour chaque nombre de variables latentes, on développe autant de modèles qu'il y a d'individus ou de groupes d'individus. On utilise ces modèles pour prédire les valeurs des individus écartés.

## VII. Méthodes électrochimiques : Voltamétrie

La voltamétrie est une technique d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation des composés présents dans la solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel appliquée entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'une part d'identifier un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques) et d'autre part de déterminer leurs concentrations, sans oublier son rôle dans l'étude cinétique des réactions mises en jeu.

### 1. Composants et principes des techniques voltamétriques

Les unités de base d'un analyseur voltamétrique sont illustrées par la figure 15. Elles sont composées par :

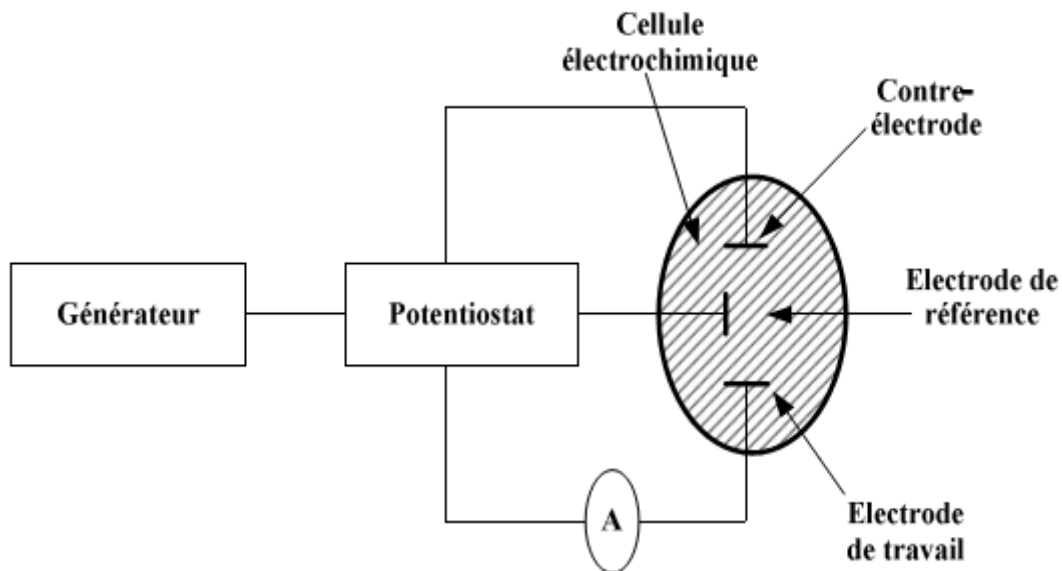
- Une cellule électrochimique de mesure comportant trois électrodes immergées dans la solution à analyser. Les trois électrodes sont:
  - i) **Une électrode de travail** (parfois appelée électrode indicatrice), constituée par l'électrode modifiée utilisée ; En règle générale, l'électrode de travail doit être stable pendant une très grande période, doit posséder un bon rapport signal/bruit du fond et doit être également simple à manipuler et à conditionner. De plus, les solutés à analyser doivent

y développer une cinétique de réaction électrochimique rapide dans un large domaine de potentiel accessible [68].

**ii) Une électrode de référence** : les électrodes de référence utilisées sont des électrodes d'argent / chlorure d'argent Ag/AgCl (KCl 3M) de marque BAS (Bioanalytical Systems, USA) ou l'électrode au calomel saturée (reliée à un capillaire de Luggin) de marque METTLER TOLEDO.

**iii) Une contre électrode ou électrode auxiliaire** : il s'agit d'une électrode en inox, en platine ou bien en carbone qui assure le passage du courant. En effet, les électrons libérés au cours la réaction d'oxydoréduction créent un courant entre l'électrode auxiliaire et l'électrode de travail.

- Un circuit potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant.



**Figure 15** : Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat

## 2. Analyses voltamétriques

Les techniques voltamétriques sont basées sur l'enregistrement du courant  $i$ , qui passe entre une électrode de travail (WE) et une électrode auxiliaire (AE), dû à la réduction ou à l'oxydation de l'élément à analyser [68]. Les différentes techniques voltamétriques découlent des innovations portant sur la façon dont le signal  $E = f(t)$  est imposé et le signal  $i = f(E)$  mesuré, qui ont été développées dans le but d'obtenir un rapport  $i(\text{Faradique})/i(\text{capacitif})$  maximal afin d'augmenter la sensibilité.

En voltamétrie, le potentiel  $E$  appliqué à l'électrode de travail varie en fonction du temps selon la relation :  $E = E_i \pm vt$

où  $v$  est la vitesse de variation de potentiel,  $v = dE/dt$ ,

$t$  est le temps et  $E_i$  le potentiel de départ.

Le courant  $i$  est mesuré en fonction du potentiel  $E$ . Les courbes  $i=f(E)$  obtenues sont appelées des voltammogrammes.

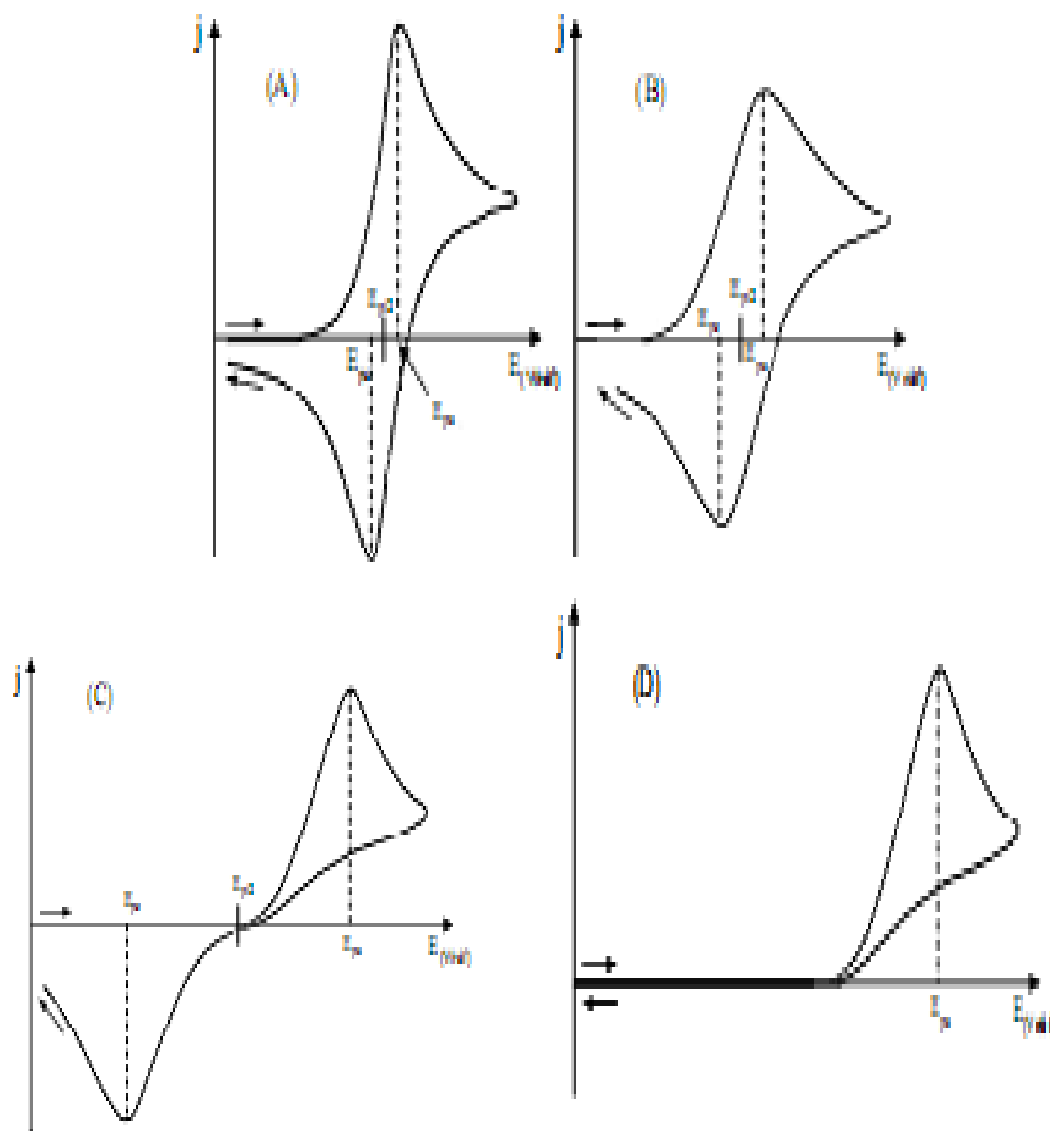
La variation du potentiel  $E$  peut être linéaire ou modulée, donnant lieu à des techniques possédant des caractéristiques différentes. Le courant  $i$  dans le circuit est principalement la somme de deux courants: le courant faradique,  $i_f$ , et le courant capacitif,  $i_c$ .

## 2.1. Voltamétrie linéaire

Dans la pratique, on peut obtenir plus d'informations sur le système électrochimique étudié à partir d'une seule expérience, en appliquant à l'électrode un balayage de potentiel variant avec le temps et en enregistrant directement la courbe  $i(E)$  correspondante. Si le mode de balayage correspond à une variation linéaire de potentiel avec le temps et on enregistre le courant en fonction du potentiel alors : c'est la voltamétrie à balayage linéaire [69].

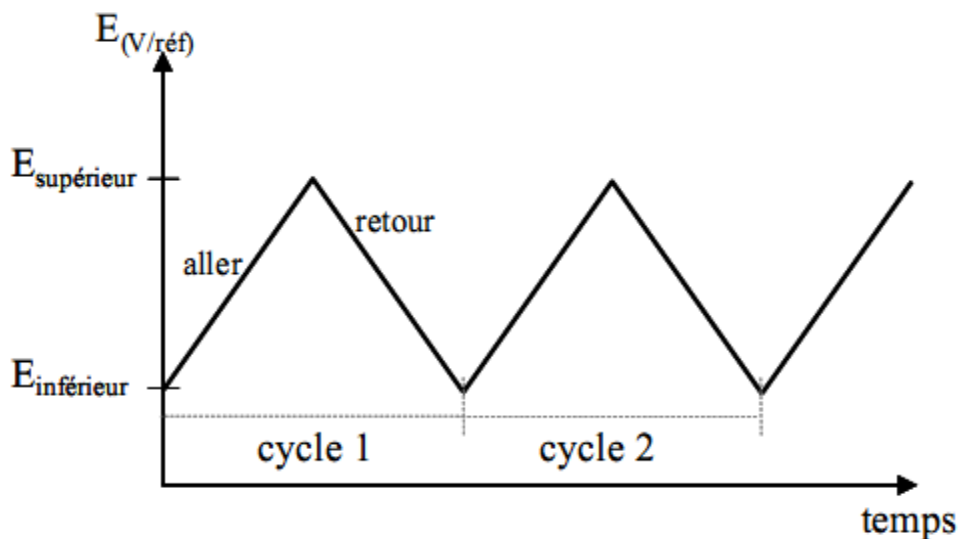
## 2.2. Voltamétrie cyclique

Le principe de la voltamétrie cyclique est comparable à la voltamétrie linéaire, mais le balayage des potentiels s'effectue de façon cyclique. Par exemple, après avoir balayé vers les potentiels anodiques ( $E$  supérieur) et réalisé des oxydations, on inverse le sens de variation du potentiel effectue pour une exploration vers les potentiels cathodiques ( $E$  inférieur). On enregistre donc sur le voltammogramme, les courbes de polarisations anodiques et cathodiques du système. Trois cas sont à considérer : les systèmes dits réversible, irréversible ou quasi-réversible. Sur la Figure 16 sont présentés les voltammogrammes cycliques caractéristiques de ces trois situations. Cette méthode consiste à analyser le comportement électrochimique d'un système en appliquant à une électrode un balayage de potentiel variant avec le temps et enregistré  $i(E)$ . Ceci revient à construire une surface tridimensionnelle  $[I, E, t(E(t))]$ .



**Figure 16 :** Voltammogrammes cycliques pour des systèmes : réversible (A), quasi réversible ((B) et (C)) et totalement irréversible (D)

Le signal électrique est fourni par un générateur qui délivre une tension en « dents de scie », les balayages anodiques et cathodiques sont alors réalisés à la même vitesse (figure 17). Mais il est également possible d'effectuer un balayage aller lent et revenir rapidement (ou l'inverse).



**Figure 17 :** Evolution du potentiel en fonction du temps en voltamétrie cyclique

La voltamétrie est largement utilisée pour acquérir des informations qualitatives sur les réactions électrochimiques sur le plan fondamental par des chimistes inorganiciens, des physico-chimistes et des biochimistes, ces réactions étudient le mécanisme et la cinétique des réactions d'oxydation et de réduction dans divers milieux, et celui du processus d'adsorption et de transfert électronique sur des surfaces chimiquement modifiées. Elle a l'avantage de donner rapidement des informations sur le processus redox.

Au milieu des années 1960, divers développements nouveaux ont amélioré significativement la sensibilité et la sélectivité des méthodes voltamétriques, c'est à cette époque que sont apparus les amplificateurs opérationnels, dispositifs peu coûteux, qui ont permis l'essor commercial d'une nouvelle génération d'appareils très performants qui ont attiré l'attention de plusieurs auteurs [70-71].

La voltamétrie cyclique, s'est surtout développée en tant que moyen d'étude des mécanismes des réactions d'oxydoréduction. Ses applications en analyse quantitative étant limitées. La principale fonction d'un potentiostat est de contrôler le potentiel et de mesurer le courant. Le potentiostat à trois électrodes est relié aux électrodes de travail, de référence, et contre électrode, ces électrodes sont immergées dans la solution à étudier.

La voltamétrie cyclique est la méthode de choix pour l'étude de la réversibilité d'un transfert électronique puisque l'on trace, sur le même voltamogramme, les courbes d'oxydation et de réduction. En électrochimie, on utilise souvent l'équation de Nernst :

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[OX]^a}{[Red]^b}$$

Avec :

E = potentiel d'oxydoréduction en volts

$E^0$  = potentiel d'électrode normal en volts

T = Température exprimée en Kelvin

F = 1 Faraday = 96 500 C

R = Constante des gaz parfaits : R = 8,31 unités SI

Les deux caractéristiques d'un voltamogramme sont le courant de pic ( $i_p$ ) et le potentiel de pic ( $E_p$ ). Le courant de pic est donné par l'équation de Sevcik-Randles [69]:

$$I_p = KAn^{3/2}D^{1/2}V^{1/2}C$$

Avec

K : coefficient numérique,

A : surface de l'électrode ( $cm^2$ ),

D : coefficient de diffusion de l'espèce étudiée ( $cm^2.s^{-1}$ )

V: vitesse de balayage ( $v.s^{-1}$ ),

C : concentration de l'espèce étudiée ( $mol.cm^{-3}$ ).

Le courant  $i_p$  étant proportionnel à la concentration de C de l'espèce analysée, remarquons que la grandeur  $I_p/CV^{1/2}$  est constante. Ce critère est souvent utilisé (à C variable) pour vérifier qu'il n'y a pas de réaction chimique couplée à la réaction électrochimique.

Pour ce système, l'écart entre les potentiels de pics d'oxydation et de réduction est indépendant de la vitesse de balayage :

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 0,06/n$$

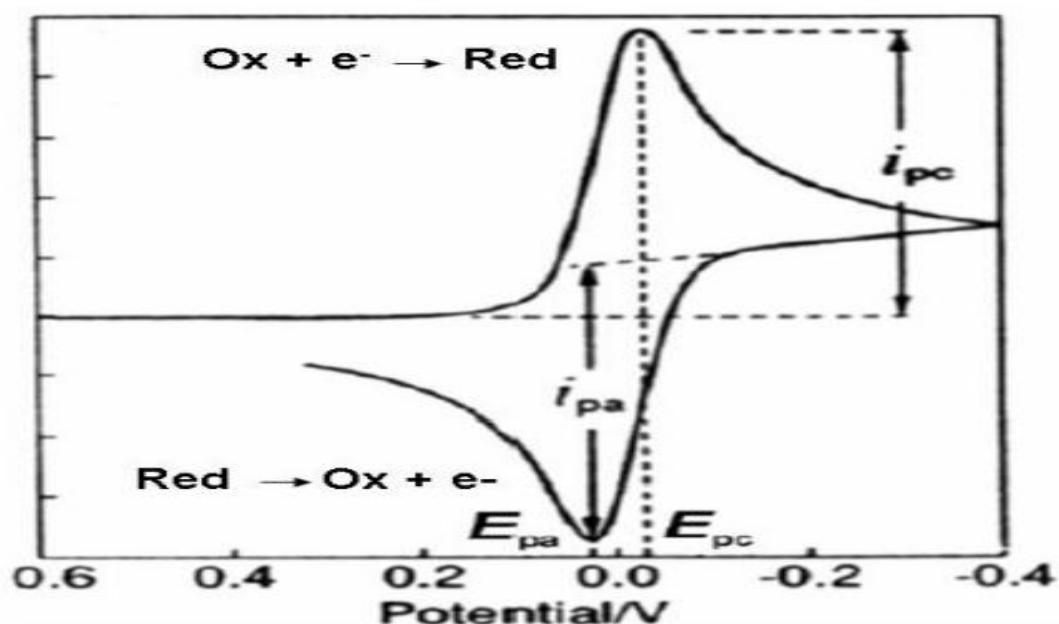
Avec n nombre d'électrons mis en jeu.

Le potentiel standard pour un système réversible est donné par :

$$E^0 = (E_{pa} + E_{pc})/2$$

Dans le cas d'un système irréversible, la loi de Nernst ne s'applique plus à l'électrode et  $\Delta E_p$  est plus grand et varie avec la vitesse de balayage.

Lors de l'application du potentiel, les espèces électroactives présentes à la surface de l'électrode s'oxydent (ou se réduisent) et l'intensité anodique (ou cathodique) augmente jusqu'à atteindre un maximum. Les courbes I-E ont donc la forme de pics (Figure 18). En effet, la concentration des espèces consommées à l'interface électrode / solution électrolytique diminue et, dans les conditions de diffusion linéaire semi-infinie, le courant après le pic diminue alors comme  $\frac{1}{(\pi t)^{1/2}}$  (loi de Cottrell). L'intensité du pic obtenu est proportionnelle à la concentration de l'espèce correspondante.



**Figure 18** : Voltamogramme cyclique enregistré pour un couple redox en solution.

Par la suite, une réaction d'oxydation de type :  $\text{Red} \rightarrow \text{Ox} + n e^-$  est considérée, avec uniquement l'espèce Red présente en solution au début de l'expérience.

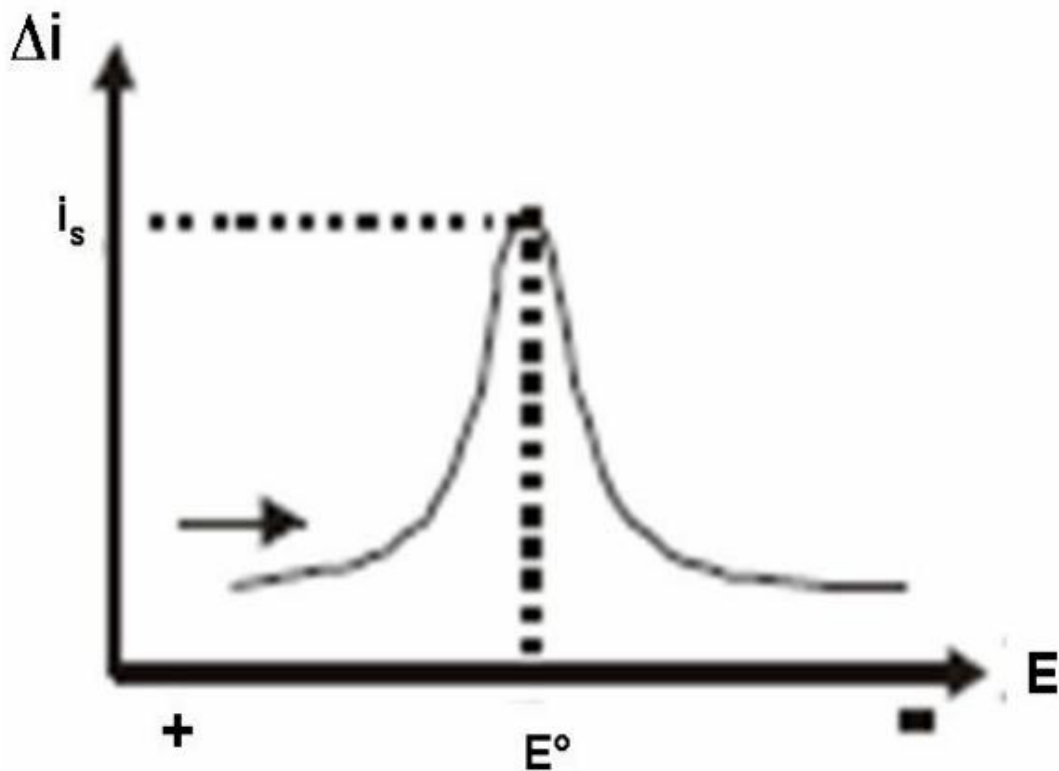
### 2.3. Voltamétrie à onde carrée (Square wave voltametry : SWV)

La voltamétrie à onde carrée est basée sur la combinaison d'une modulation d'onde carrée d'amplitude  $\Delta E = 50 \text{ mV}$  et de période  $1/f$  (typiquement la fréquence  $f = 50$  à  $200 \text{ Hz}$ ) avec une rampe en escalier (figure 19). Le signal mesuré est la différence  $\Delta i$  entre les courants mesurés, à la fin de chaque pulse montant et descendant de l'onde carrée, (figure

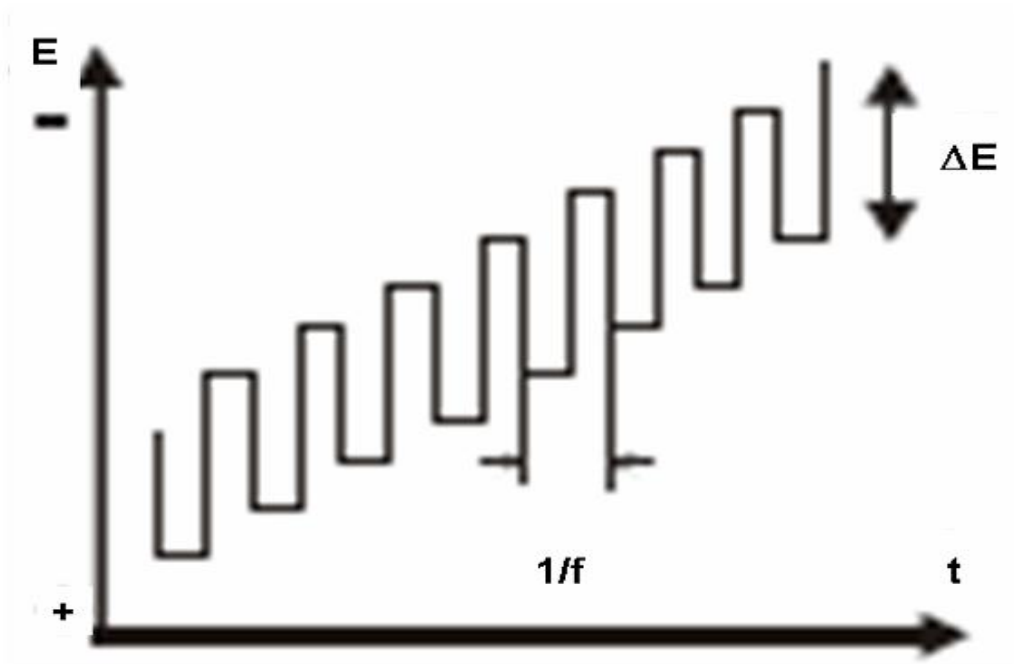


20). Le pas de potentiel  $\Delta E_p$ , la durée et l'amplitude sont des paramètres susceptibles d'influencer la largeur et la hauteur de pic, c'est-à-dire, le pouvoir de résolution et la sensibilité de la méthode. Le principal avantage de la SWV, est qu'elle permet de varier le potentiel à des vitesses beaucoup plus élevées, typiquement  $v = 400$  à  $1600 \text{ mV s}^{-1}$ , et ainsi permet d'augmenter le rapport  $i_f/i_c$  et par la sensibilité, en prenant avantage des réponses temporelles différentes du  $i_f$  et  $i_c$ .

En effet, après un changement instantané de potentiel, la décroissance du courant capacitif a lieu plus rapidement que la décroissance du courant faradique. En voltamétrie à onde carrée, deux courants sont mesurés : celui mesuré à la fin de pulse haut et celui mesuré à la fin du pulse bas. Ces deux courants sont ensuite automatiquement soustraits pour donner le courant (visualisé). Le signal est sous forme de pics et la variation de potentiel peut être rapide. Cette méthode autorise des vitesses de balayage de plus de  $1 \text{ v.s}^{-1}$ .



**Figure 19** : Allure de la tension imposée en escalier en fonction de temps.



**Figure 20 :** Voltamogramme résultant de la voltamétrie à onde carrée.

## Références

- [1] Processus collectif et produits de terroir dans une perspective durable. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1p.
- [2] La valorisation des produits de terroir ligné d'action du pilier 2 du plan Maroc vert SAM N°8 Novembre 2010.
- [3] Bajoub A., Hurtado-Fernández E., Ajal A., Fernández-Gutiérrez A., Carrasco-Pancorbo A., Ouazzani N., 2015. Quality and chemical profiles of monovarietal north Moroccan olive oils from "Picholine Marocaine" cultivar: Registration database development and geographical discrimination. Food Chemistry, (179):127–136.
- [4] Ouaouich A., Chimi H., 2007. Guide du producteur de l'huile d'olive.
- [5] Chanam J., Benlemlih M., 2012. Polyphénols d'huile d'olive, trésors santé.
- [6] HENRY S., 2003. L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Université henri poincare – nancy 1.
- [7] NEWSLETTER – MARCHÉ OLÉICOLE N° 110 – [Source: COI, novembre 2016].
- [8] Guillermo Valles M., 2017. Examen national de l'export vert du Maroc : produit oléicole, romarin et thym).
- [9] Source : ministère de l'Agriculture du Maroc.
- [10] Gharbya S., Harhara H., Matthäus B., Bouzoubaa Z., Charroufa Z., 2016. The chemical parameters and oxidative resistance to heat treatment of refined and extra virgin Moroccan Picholine olive oil. Journal of Taibah, 10:100–106.
- [11] 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.
- [12] Harwood J.L. & Aparicio R., (Eds.) 2000. Handbook of olive oil: Analysis and properties. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen publications, Inc., 620.
- [13] Codex Alimentarius, 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization.
- [14] Graille J., 2003. Lipides et corps gras alimentaires. Editions Paris Technique et Documentation, 469.
- [15] Tiscornia E., Fiorina N., Evangelisti F., 1982. Chemical composition of olive oil and variations induced by refining. Riv. Ital. Sost. Grasse, (59): 519-555.
- [16] Rayan D., Robards K., Lavee S., 1998. Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. Olivae, (72): 23-33.
- [17] 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.

- [18] 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): 116-129.
- [19] Osland R.E., 2002. Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition*, (22): 533-549.
- [20] Bentemim S., Manai H., Methnni K., 2008. Sterolic composition of Chetoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chemistry*, (10): 366-374.
- [21] Stiti N., Msallem M., Triki S., Cherif A., 2002. Etude de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive de différentes variétés Tunisienne. *La Rivista Italiana dell Sostanze Grasse*, (79) : 357-363.
- [22] Burton G. W., & Ingold K. U., 1986. Vitamin E: application of the principales of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *ACC. Chem. Res.*, (19): 194.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] Psomiadou E., Tsimidou M., 2001. Pigments in Greek Virgin Olive Oils: Occurrence and Levels. *J.Sci. Food Agric.*, (41): 640-647.
- [27] Jung, M. et Min, D., 1990. Effects of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -Tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J. Food Sci.*, (55): 1464-1465.
- [28] 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 .
- [29] Porter N. A., 1986. Mechanisms for the autoxidation of polyunsaturated lipids. *ACC. Chem. Res.*, (19): 262.
- [30] Aparicio R., & Luna G., 2002. Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, (104): 614-627.
- [31] Kiritsakis A. & Markakis P., 1987. Olive oil: a review. *Adv. Food Research*, (31): 453-482.
- [32] Psomiadou E., Tsimidou M., & Boskou D., 2000. Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oil. *J Agric. Food Chemistry*, (48): 1770-1775.

- [33] Freedman J.E., Farhat J.H., Loscalzo J., Keane J.F., 1996. Alpha-tocopherol inhibits aggregation of human platelets by a protein kinase C-dependent mechanism. *Circulation*, (94): 2434-2440.
- [34] 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.
- [35] 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.
- [36] 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.
- [37] Bianchi G., et Pozzi N., 1994. 3, 4-Dihydroxyphenylglycol, a major C6-C2 phenolic in *Olea Europea* fruits. *Phytochemistry*, (35): 1335-1337.
- [38] Le Tutour B. & Geudon D., 1992. Antioxidative activities of *Olea europaea* L. leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry*. (31): 286-292.
- [39] 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.
- [40] 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.
- [41] Sanchez Casas J., Osorio Bueno E., Montañó Garcia A. M., Martinez Cano M. (2004). Sterols and erythrodiol + uvaol content of virgin olive oils from cultivars of Extremadura (Spain). *Food Chemistry*, (87): 225–230.
- [42] López-López A., Montañó A., Ruíz-Méndez M.V., Garrido-Fernández A. (2008). Sterols, fatty alcohols, and triterpenic alcohols in commercial table olives. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, (85): 253–262.
- [43] El Mouhtadi I., Agouzzal M., Guy F., 2014. L'olivier au Maroc. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, (21): 203.
- [44] D. M. Salazar., I. López-Cortés., D. C. Salazar-García., 2017. *Olive Oil: Composition and Health Benefits*.
- [45] Monika Gorzynik-Debicka., Paulina Przychodzen., Francesco Cappello., Alicja Kuban-Jankowska., Antonella Marino Gammazza., Narcyz Knap., Michal Wozniak., and Magdalena Gorska-Ponikowska., 2018. Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Science Review*, (19): 547.
- [46] Mari´a-Isabel Covas., Valentini Konstantinidou., Montserrat Fito., 2009. Olive Oil and Cardiovascular Health. *Journal of cardiovascular pharmacology*, (19) :477-482.

- [47] Francesco Visioli., Paola Bogani., and Claudio Galli., 2006. Healthful Properties of Olive Oil Minor Components. University of Milan, Department of Pharmacological Sciences, 173-190.
- [48] RADI N., 2003. L'Arganier: arbre du sud-ouest Marocain, en péril, à protéger. THESE D'ETAT. UNIVERSITE DE NANTES.
- [49] Outmani N EL., 1988. La problématique de développement de l'arganeraie marocaine. In : Journées d'étude sur l'arganier, 23-24.
- [50] Benzyane M., 1995. Le rôle socio-économique et environnemental de l'arganier. Actes des Journées d'étude sur l'arganier, 29-30.
- [51] Naggar M., 2006. L'arganeraie : un parcours typique des zones arides et semi-arides marocaines. Article scientifique, Sécheresse (17), n° 1-2.
- [52] Chriqi A., Ballouk A., Houjjaji A., Adnan A., Bacha L., Addebbous R., 2003. L'huile d'argan : un produit de terroir.
- [53] Charrouf M., 1984. Contribution à l'étude chimique de l'huile d'Argania spinosa (L.) (Sapotaceae). Thèse Sciences Université de Perpignan.
- [54] M'hirit O., EL Habid A., 1989. L'arganier, une espèce fruitière à usage multiple. Formation Forestière Continue, Thème « l'arganier ». Station de Recherches Forestières, Rabat. 13-17, P: 6-8.
- [55] Charrouf Z., Guillaume D., 2007. Huile d'argan une production devenue adulte, Les Technologies de laboratoire.
- [56] El Hamzaouia A., Oukablia A., Charafia J., Mournib M., 2013. Moroccan almond is a distinct gene pool as revealed by SSRI. Scientia Horticulturae, (154):37-44.
- [57] Walali D., Raki M., 1999. La culture de l'amandier au Maroc. Economics of nuts in the Mediterranean basin Zaragoza, 71-75.
- [58] Kodad O., Estopanan G., Juan T., Socias R., 2014. Tocopherol concentration in almond oil from Moroccan seedlings: Geographical origin and post-harvest implications. Journal of Food Composition and Analysis, (33):161-165.
- [59] Jahanban Esfahlan A., Jamei R., Jahanban Esfahlan R., 2010. The importance of almond (*Prunus amygdalus* L.) and its by-products. Food Chemistry, (120): 349-360
- [60] Zeeshan A., 2010. The uses and properties of almond oil. UK Complementary Therapies in Clinical Practice, (16): 10-12.
- [61] Lin J.T., Liu S.C., Hu C.C., Shyu Y.S., Hsu C.Y., Yang D.J., 2016. Effects of roasting temperature and duration on fatty acid composition, phenolic composition, Maillard reaction degree and antioxidant attribute of almond (*Prunus dulcis*) kernel. Food Chemistry, (190): 520-528.
- [62] Bertrand D. & Dufour D., 2000. La spectroscopie et ses applications analytiques, Ed. Tec et Doc, Paris, 31-74.

- [63] Rouessac F. & Rouessac A., 1998. Analyse chimique: méthodes et techniques instrumentaux modernes. Durod, 4ème Ed., 147-171.
- [64] 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.
- [65] 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.
- [66] Tranchant J., 1996. Chromatographie et techniques séparatives.
- [67] FUGER D., 2011. Mise en application de processus analytique complexe Analyse de métaux par ICP-AES. Université de Strasbourg.
- [68] Bard A.J., Faulkner L.R., 1983 "Electrochimie. Principes, Méthodes et Applications"
- [69] Girault H.H., 2001. Electrochimie : physique et analytique, Presses polytechnique et universitaires romandes.
- [70] Idrissi L., 2006. Thèse de doctorat : Etude et développement de nouvelles méthodes électrochimiques pour la détermination des ions orthophosphate, nitrite, nitrate et ammonium. Université Mohammed V, 146.
- [71] Adams R.N., 1969. Electrochemistry at solid electrodes. Electroanalytical Chemistry and Electrochemistry, New York, 402.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**



# **Chapitre 1 : Caractérisation et valorisation de l'huile d'olive marocaine**

# **I. Caractérisation et discrimination des trois variétés d'huile d'olive cultivée au Maroc (" Hawziya ", " Menara " et " Picholine ")**

## **Résumé**

Le but de cette étude était de caractériser les huiles d'olive de trois variétés d'olivier les plus cultivées au Maroc. 36 échantillons d'huiles d'olive représentant de trois variétés (Hawziya, Menara et Picholine) ont été collectés puis stockés à 4 °C. Une caractérisation chimique de ces échantillons a été réalisée par la détermination de l'acidité libre, l'indice de peroxyde et l'absorbance dans l'ultraviolet ( $K_{232}$  et  $K_{270}$ ). Les mêmes échantillons ont été également analysés par chromatographie en phase gazeuse. La discrimination par chimiométrie a été réalisée en utilisant l'analyse discriminante des moindres carrés partiels (PLS-DA) de la composition en acides gras dans les échantillons d'huile d'olive vierge (HOV). Une classification satisfaisante entre les trois variétés a alors été obtenue.

## **1. Introduction**

Les produits et sous-produits de l'olivier sont riches en composés phénoliques considérés comme des antioxydants naturels [1-2]. La composition de ces composés phénoliques dépend de la variété d'olive, la météo, les pratiques culturelles, la période de stockage et le processus d'extraction de l'huile d'olive [3-6].

Au Maroc, il y a un manque d'études sur les produits et sous-produits de l'olivier, y compris le profil variétal. Ainsi, le but de ce travail est de comparer les performances des trois variétés d'olive établis au Maroc "Hawziya", "Menara" et "Picholine". Dans la présente étude, les paramètres relatifs à la qualité de l'huile telle que l'acidité libre, l'indice de peroxyde et de l'absorbance en spectroscopie UV à 232 et 270 nm sont approchés par rapport à la teneur en acide gras d'huile pour ces trois cultivars.

Plusieurs auteurs dans le monde ont investis dans l'huile d'olive vierge (HOV) en utilisant des méthodes analytiques physico-chimique couplées aux méthodes d'analyse des données [7-14]. Toutefois, il existe toujours un besoin aux méthodes analytiques de routine qui sont rapides, simples et robustes afin de contrôler la qualité des variétés de l'huile d'olive vierge (HOV). Dans le présent travail l'analyse en composante principale (ACP) et l'analyse discriminante des moindres carrés ; partiels (PLS-DA) ont été couplée aux données de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) afin d'assurer un contrôle de la

qualité, rapide, robuste et moins coûteux. En fait, la chromatographie en phase gazeuse n'étant pas toujours une technique d'analyse de routine, les laboratoires doivent assurer facilement l'accès à cette technique d'analyse présentée comme une méthode de référence. L'objectif de ce travail a été la classification chimiométrique de données chromatographiques (CPG) de l'huile d'olive vierge issue de trois variétés marocaines. Cette approche pourrait représenter une véritable nouveauté dans la caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive. Des données CPG ont été obtenues à partir de différents échantillons d'huile d'olive des trois variétés, dans la région marocaine Béni Mellal-Khénifra (Hawziya, Menara et Picholine).

La première exploration des données CPG, suite à une procédure appropriée d'analyse des données, a été performé par ACP. Ce qui a permis une visualisation simple et rapide des échantillons des 3 variétés dans trois classes. Puis la méthode PLS-DA supervisée, en utilisant les données CPG, a ensuite été appliquée pour la finition de la classification chimiométrique des échantillons inconnus.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Matériels végétal et zone géographique**

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

### **2.2. Collecte d'échantillons d'olives**

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

### **2.3. Extraction de l'huile**

Chacun des 36 échantillons d'olives a été broyé par un broyeur mécanique. La pâte obtenue est placée dans une centrifugeuse assurant une rotation de l'échantillon de 2000 t/min pour séparer entre la phase contenant le grignon et les margines d'une part et la phase huileuse d'autre part. L'huile obtenue est stockée à une température de 4 °C dans l'obscurité jusqu'à ce qu'au moment de l'analyse chimique ou spectroscopique.

### **2.4. Caractérisation physicochimique**

La détermination de l'indice d'acide et l'indice de peroxyde des échantillons d'huile a été effectuée selon les normes du Conseil oléicole international [15], l'acidité libre, exprimée en acide oléique (%); l'indice de peroxyde (IP) en (meqO<sub>2</sub>/kg). Les absorptions en UV ont été déterminées aux longueurs d'onde 232 nm et 270 nm (K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub>).

### **2.5. Chromatographie en phase gazeuse**

Pour déterminer la composition en acides gras des trois variétés, des esters méthyliques correspondant à ces acides ont été préparés dans le n-heptane (0,12g / 2ml), avec une solution de KOH à froid (2M) selon la norme NF EN ISO 5509. Ces esters méthyliques ont été analysés selon la norme ISO 5508 à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent Technologies 7890A (GC) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (T = 250 °C). La colonne utilisée est une colonne capillaire 60m x 0,25mm x 0,25 µm de silice. La pression de l'hydrogène comme gaz vecteur, s'élève à 178 kPa, avec un rapport de 1:70. La température du four était comme suit : 20 min à 210 °C, de 210 à 245 °C à 6 °C/ min puis 10 min à 245 °C. Toutes les analyses ont été effectuées en triple, et les résultats sont exprimés sous forme de moyenne et d'écart-type.

### **2.6. Méthodes chimiométrique**

L'exploitation et la classification des huiles provenant des trois variétés ont été approchées en couplant entre les données chromatographiques CPG d'une part et les méthodes ACP et PLS-DA d'autre part. Ces données chromatographiques sont les compositions moyennes, des échantillons issus des trois variétés, en termes d'acide gras

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

L'ACP permet de déterminer et comparer les principales caractéristiques des données CPG, et de mettre en évidence les liens entre les variables descriptives [16].

L'ACP projette le nuage de points dans un espace de représentation de petites dimensions. Elle calcule de nouvelles variables appelées composantes principales qui sont des combinaisons linéaires des variables de départ. L'objectif de l'analyse ACP est de simplifier, choisir la taille de l'espace de représentation en faisant un compromis entre deux buts contradictoires, prendre un faible espace dimensionnelle et garder un maximum de la variance expliquée.

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

Cette méthode a été appliquée pour trouver quelles seront les variables qui distinguent mieux les différents groupes d'échantillons représentés par leur bloc de données (axe X : CPG) selon leur maximum de covariance avec une classe cible définie dans une variable de pertinence de classe (axe Y : bloc de données) [17]. La méthode tente de décrire si un chromatogramme CPG d'un échantillon appartient ou non à une classe particulière. Selon le nombre de vecteurs Y en régression simultanée, deux différentes approches PLS-DA sont possibles. Dans le cas où une seule classe est modélisée à la fois, la méthode est dite ordinaire (PLS1-DA). Lorsque plusieurs classes sont modélisées simultanément, la méthode PLS2-DA modifiée peut être utilisée [18].

La sélection de nombre optimal de composants au sein de l'ACP et des variables latentes dans PLS-DA a été effectuée à partir de l'erreur de prédiction la plus basse dans la validation croisée en relation avec la valeur de PRESS<sub>k</sub>.

La somme des erreurs de prédiction des carrés pour le modèle, lorsque k facteurs (composants) sont inclus et le nombre d'éléments conférant une prédiction optimale pour la validation externe des échantillons sont non inclus dans l'étape d'étalonnage. Le modèle qui donne les plus faibles erreurs de prédiction relative à la validation externe est finalement choisi.

Dans ce travail, la méthode PLS2-DA a été préférée. Toutes les données ont été traitées par l'outil du logiciel Unscrambler, version X (Camo, Norvège).

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Caractérisation Physico-chimique

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

**Tableau 1** : Acidité libre, l'indice de peroxyde et l'absorbance de l'huile vierge K<sub>232</sub> et K<sub>270</sub> pour les trois variétés "Hawziya", "Menara" et "Picholine"

Variétés Caractéristiques		Hawziya	Menara	Picholine	Norme COI
Acidité libre (% d'acide oléique)	Min-Max	2,22-3,21	1,65-3,00	1,54-2,90	≤ 3,3
	moyenne	2,7892	2,6075	2,1350	
	*E.T	0,3309	0,4587	0,4992	
IP (mill. eq.O <sub>2</sub> /kg)	Min-Max	14,75-19,82	11,00-17,46	14,00-18,90	≤ 20
	moyenne	17,5858	14,9517	16,5158	
	*E.T	1,4660	2,1873	1,6330	
K <sub>232</sub>	Min-Max	1,90-2,50	2,09-2,44	1,97-2,36	-
	moyenne	2,2850	2,1975	2,2067	
	*E.T	0,1753	0,1037	0,1200	
K <sub>270</sub>	Min-Max	0,22-0,25	0,18-0,25	0,16-0,25	≤ 0,30
	moyenne	0,2408	0,2300	0,1992	
	*E.T	0,0100	0,0200	0,0250	

\* E.T: écart-type

Les résultats montrent que les pourcentages de l'acidité des huiles d'olive étudiés vont de 2,1350 à 2,7892 ce qui permet de les classer dans la catégorie des huiles d'olive vierge courantes tel quel est défini par les normes internationales. L'huile Hawziya possède un indice d'acide plus élevé que ceux du Menara et Picholine cultivars, sans dépasser les valeurs maximales définies par la norme internationale (Conseil Oléicole International 2015). Ces résultats sont influencés par la maturité des fruits et les variétés d'olivier.

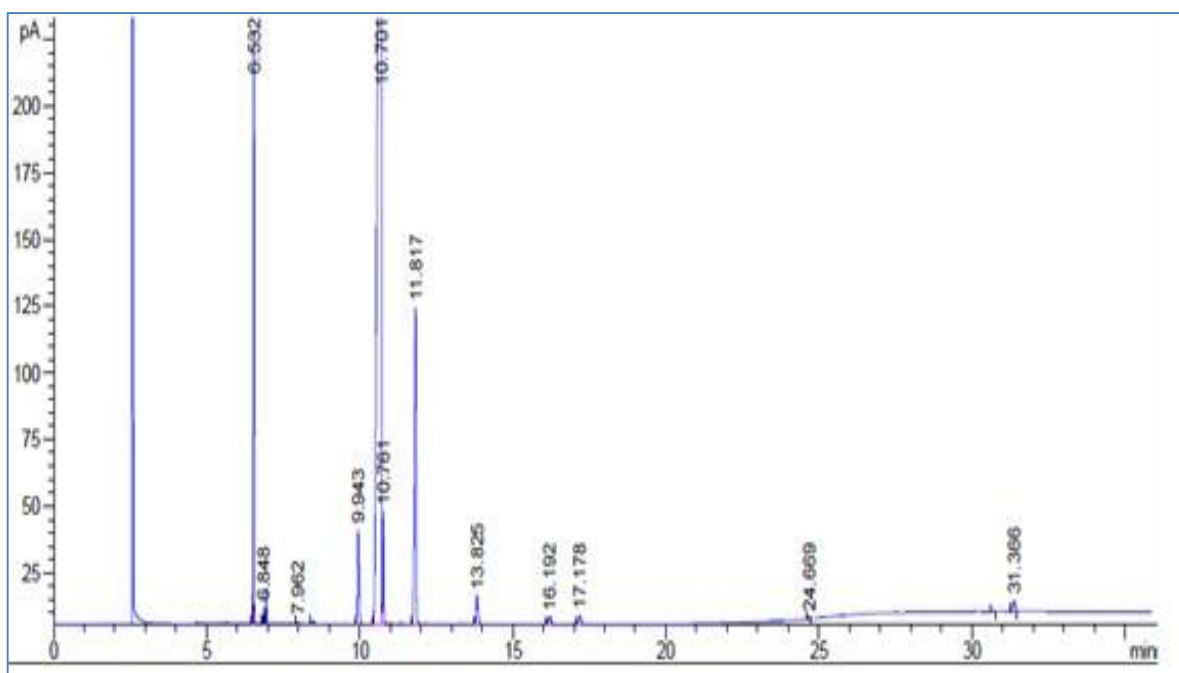
La valeur de peroxyde est légèrement supérieure pour Hawziya sans dépasser la limite fixée par la norme internationale (COI). Les valeurs de cet indice varient, pour les trois

huiles, entre 14,9517 et 17,5858 milléquivalents d'oxygène par kilogramme d'huile. Certains processus de dégradation des lipides sont évidemment dues aux différents procédés appliqués aux olives du champ jusqu'à l'huilerie. En effet durant les étapes qui précèdent l'extraction de l'huile (cueillette, stockage des olives,), deux types d'altérations peuvent se produire : l'acidification et le rancissement ; ce qui pourrait être à l'origine de l'augmentation des indices d'acide et de peroxydes.

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

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

La figure 1 ci-dessous présente un type des 36 chromatogrammes de gaz obtenus.



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

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

**Tableau 2 :** Acides gras majoritaires des trois variétés.

Nom commun	L'acide palmitique	L'acide stéarique	L'acide oléique	L'acide Vaccénique	L'acide linoléique	L'acide linoléinique	L'acide Arachidique	L'acide Gondoïque
La sténographie	16:0	18:0	18:1 $\omega$ 9	18:1 $\omega$ 7	18:2 $\omega$ 6	18:3 $\omega$ 3	20:0	20 :1 $\omega$ 9
Le temps de retention (min)	6,532	9,943	10,701	10,761	11,817	13,825	16,192	17,178

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

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

**Tableau 3 :** Moyennes et écart-types des principaux acides gras de chacune des trois variétés de l'huile d'olive vierge.

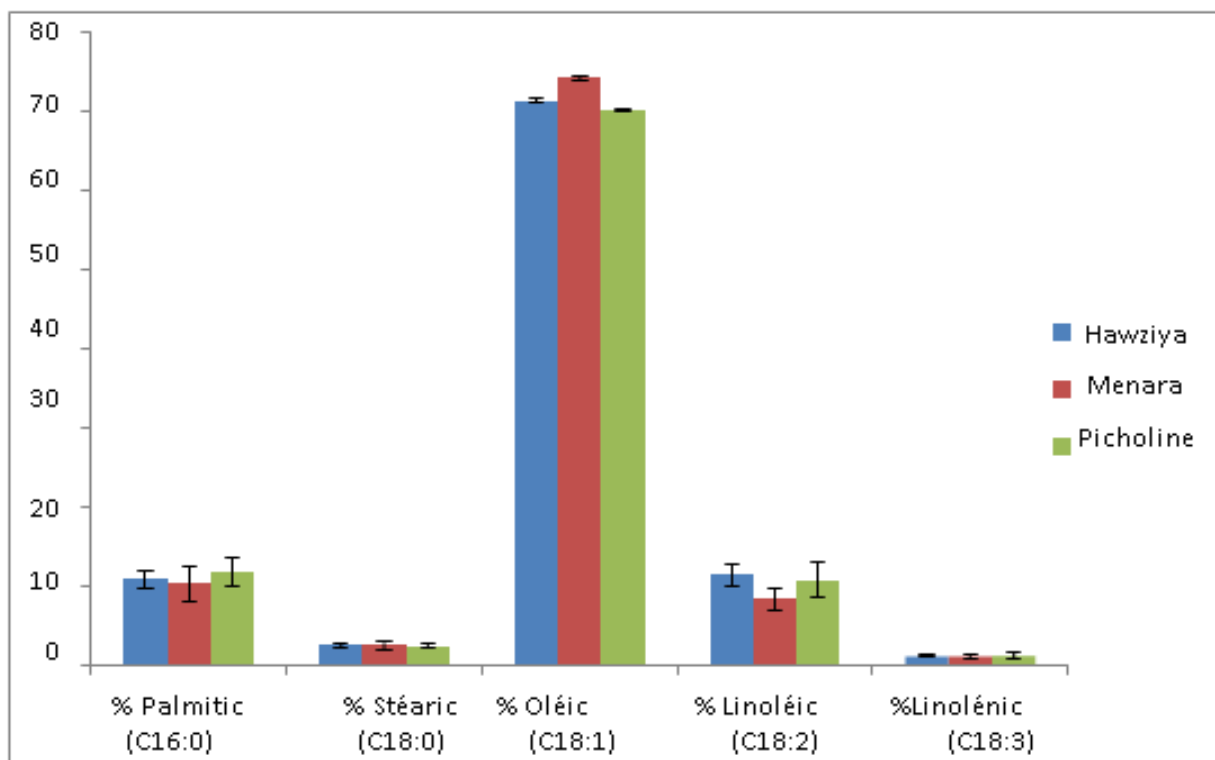
Variété		Hawziya	Menara	Picholine	Norme COI
% Myristique (C14:0)	Min-Max	0,02-0,23	0,02-0,24	0,02-0,23	$\leq 0,03$
	moyenne	0,0825	0,0825	0,0883	
	E.T	0,0784	0,0805	0,0767	
% Palmitique (C16:0)	Min-Max	9-12,38	6,11-13,22	9,64-15,22	7,5 -20,0
	moyenne	<b>10,7716</b>	<b>10,3</b>	<b>11,6733</b>	
	E.T	1,1889	2,2435	1,8158	
% Palmitoléique (C16:1)	Min-Max	0,66-2,01	0,66-3,98	0,66-3,98	0,3 -3,5
	moyenne	1,065	1,3683	1,5875	
	E.T	0,5196	1,1821	1,3056	
% Heptadécanoïque (C17:0)	Min-Max	0,04-3,57	0,04-3,87	0,04-3,57	$\leq 0,30$
	moyenne	0,7741	0,9108	1,0691	
	E.T	1,0245	1,3231	1,3296	
% Heptadécénoïque (C17:1)	Min-Max	0,05-0,82	0,05-0,82	0,05-0,82	$\leq 0,30$
	moyenne	0,33	0,4241	0,3283	
	E.T	0,3040	0,2973	0,3056	



<b>% Stéarique (C18:0)</b>	Min-Max	2,06-2,98	1,42-2,98	2,06-2,98	0,5 -5,0
	moyenne	<b>2,465</b>	<b>2,4358</b>	<b>2,4283</b>	
	E.T	0,3214	0,4386	0,3427	
<b>% Oléique (C18:1)</b>	Min-Max	70,95-71,77	73,77-74,66	69,95-70,46	55,0 -83,0
	moyenne	<b>71,2475</b>	<b>74,1583</b>	<b>70,0733</b>	
	E.T	0,3133	0,2890	0,1570	
<b>% Linoléique (C18:2)</b>	Min-Max	10,01-14,17	7,09-11,17	8,01-14,17	2,5 -21,0
	moyenne	<b>11,3391</b>	<b>8,415</b>	<b>10,7033</b>	
	E.T	1,4188	1,3794	2,2224	
<b>%Linoléique (C18:3)</b>	Min-Max	1,01-1,56	0,58-1,56	0,87-1,99	≤1,00
	moyenne	1,1283	1,12	1,1941	
	E.T	0,1700	0,2473	0,3101	
<b>%Arachidique (C20:0)</b>	Min-Max	0,21-0,6	0,11-0,6	0,21-0,6	≤0,6
	moyenne	0,4116	0,3858	0,4216	
	E.T	0,1029	0,1354	0,1007	
<b>% Gadoléique (C20:1)</b>	Min-Max	0,21-0,38	0,19-0,39	0,2-0,38	≤0,4
	moyenne	0,3083	0,3008	0,3066	
	E.T	0,0590	0,0693	0,0663	

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

En outre, le pourcentage de l'acide linoléique varie entre 8, 415 % à 11, 3391% pour les trois variétés avec une légère prédominance dans l'huile hawziya. Les pourcentages de l'acide linoléique des différentes huiles étudiées restent légèrement au-dessus de la valeur établie par le Conseil oléicole international qui est de 1 %.



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

Il est également intéressant de noter que le contenu d'acides gras essentiels (acide linoléique (18 : 2 $\omega_6$ ) et l'acide linoléique (18 :3 $\omega_3$ ) figurant dans les trois huiles, sont suffisants pour empêcher un État carenciel d'acide gras essentiel chez les personnes utilisant ces huiles comme principal lipides dans leur alimentation. A ce niveau nous notons que la composition en acides gras obtenus révèle une prédominance des acides gras mono-insaturés dans la variété Menara comme l'acide oléique.

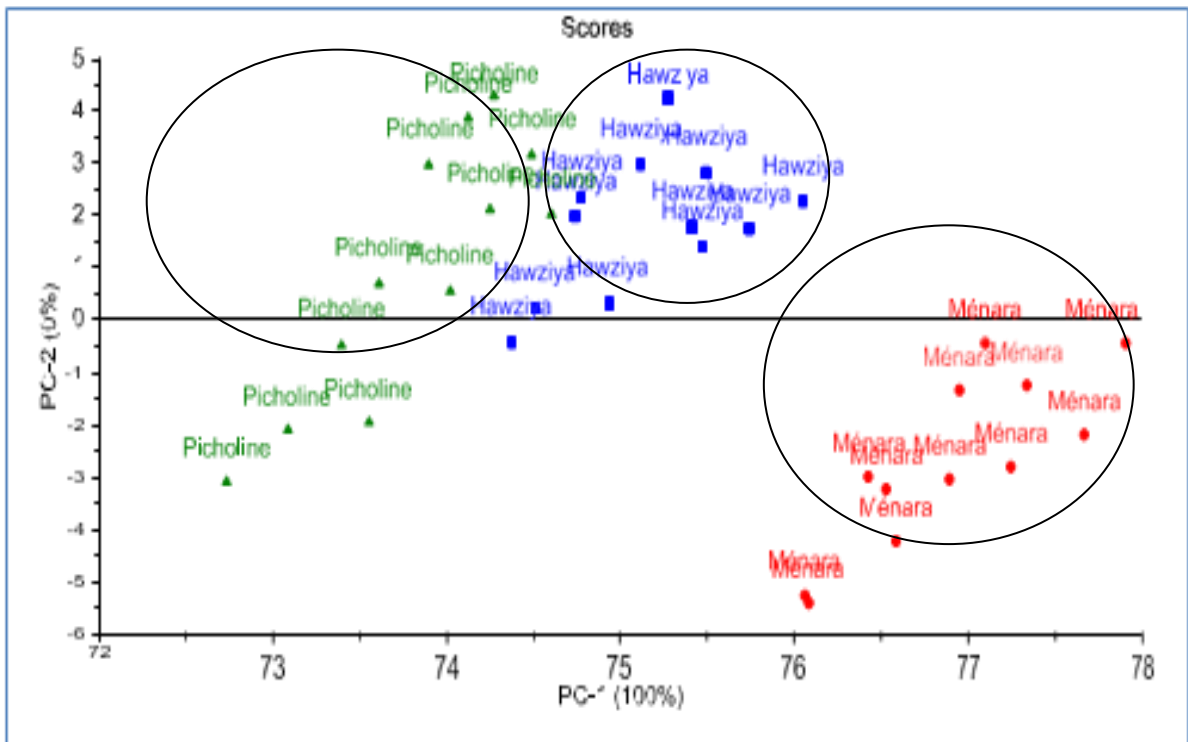
### 3.3. Méthodes chimiométrique

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

En effet, l'analyse multivariée est un outil chimiométrique essentiel pour étudier les données provenant d'observations faites sur plusieurs variables. Son objectif est de reprendre les informations contenues dans les données avec un nombre réduit de dimensions afin de caractériser au mieux les différences ou les similitudes entre les observations et les variables.

L'ensemble de données de chromatographie en phase gazeuse des échantillons d'huile d'olive a été soumis à l'outil de base pour l'analyse des données par application de l'analyse en composantes principales (ACP). Cette méthode statistique est très importante surtout dans les étapes préliminaires d'une analyse multivariée pour effectuer une analyse exploratoire afin d'avoir une vue de l'ensemble des données.

Après analyse de 36 échantillons d'huiles d'olive, l'analyse en composantes principales a été appliquée au premier ensemble de données de 36 échantillons de classification en explorant les données complètes. La PCA a été utilisée pour réduire la dimensionnalité des données afin d'obtenir une meilleure visualisation de la séparation en groupes selon les variétés. Le modèle PCA avec une composante explique 100% de la variance totale des données (PC<sub>1</sub> capturé à 100% et PC<sub>2</sub> capturé 0% de la variance respectivement). Le plan factoriel (PC<sub>1</sub>, PC<sub>2</sub>) fait distinguer trois groupes d'échantillons majeurs (Picholine, Menara et Hawziya) (figure 3).



**Figure 3:** Score parcelle de différents cultivars d'huiles pour PCA en utilisant 2 composantes principales

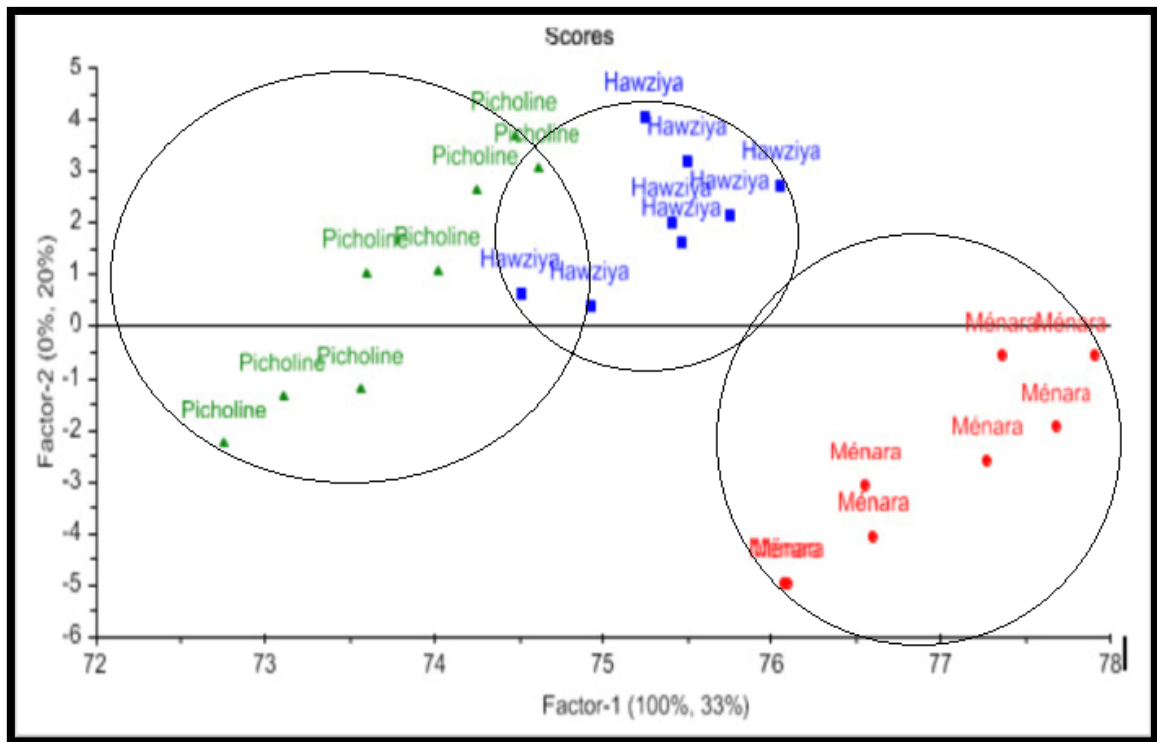
### 3.3.2 Discrimination des moindres carrés partiels PLS-DA

#### 3.3.2.1 Etalonnage

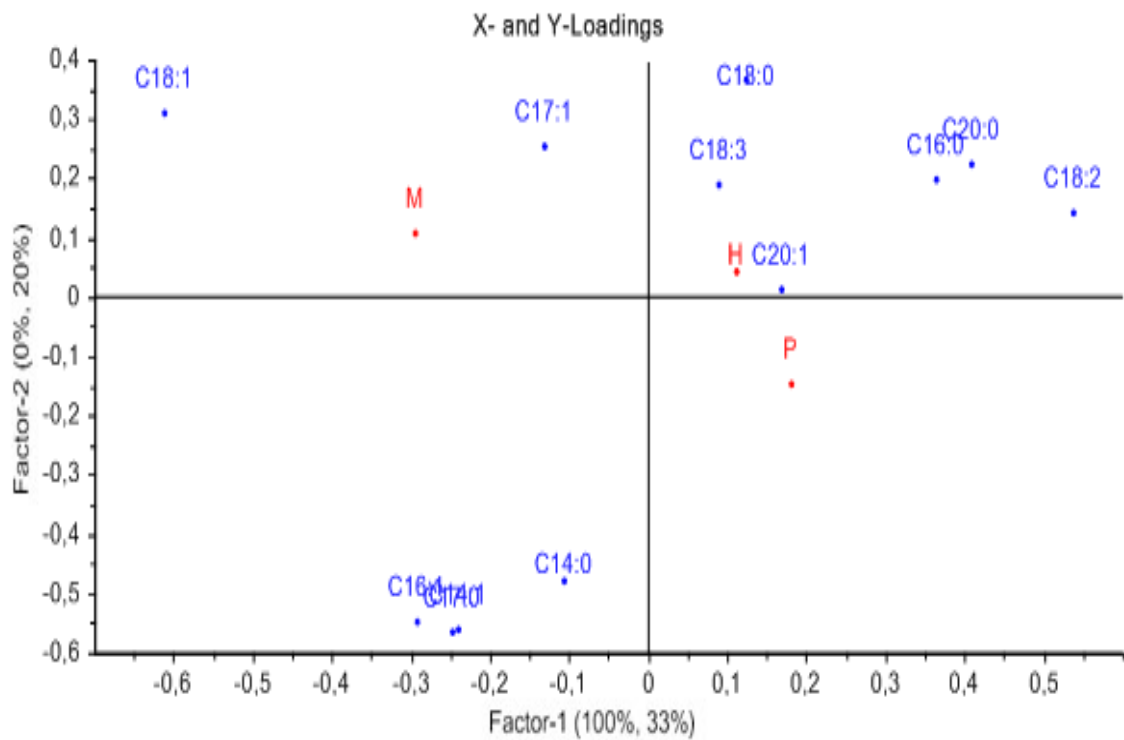
L'ensemble de 36 échantillons a été divisé en deux sous-ensembles de façon aléatoire en utilisant l'algorithme de Kennard-Stone (Kennard et Stone 1969). PLS2-DA a été utilisé pour construire un modèle d'étalonnage en utilisant le premier sous-ensemble de 24 échantillons. La validation du modèle externe a été réalisée en utilisant le deuxième sous-ensemble de 12 nouveaux échantillons d'huile d'olive (non utilisé pour le modèle d'étalonnage). Ce modèle PLS2-DA a été construit en considérant les données du GC comme des variables X, tandis que les variables Y ont été associées aux trois cultivars différents (une variable y différente pour chaque cultivar, avec 1 ou 0 selon qu'il appartient ou non au groupe de données considéré). Le modèle obtenu de cette manière a été capable de faire la distinction entre les trois variétés (Picholine, Hawziya et Menara), comme on peut le voir sur le graphique des scores PLS2-DA de la figure 4.

Le modèle d'étalonnage a d'abord été validé par une validation croisée interne complète. La comparaison entre différents modèles a été faite en considérant quelques chiffres de mérite tels que  $R^2$ , erreur quadratique moyenne de l'étalonnage (RMSEC) et erreur quadratique moyenne de la validation croisée (RMSECV). La figure 4 présente les scores PLS2-DA obtenus et graphiques de chargement (LV1 vs LV2) par l'analyse des données GC. Le modèle PLS2-DA pour les données CG nécessitait deux variables latentes et expliquait 53% de la variance dans le bloc Y avec 100% d'information des données GC (matrice X). La figure montre la répartition des scores pour les trois cultivars de VOO. Le modèle obtenu a permis de distinguer les trois cultivars satisfaisants (Hawziya, Picholine et Menara), comme on peut le voir sur le diagramme de score PLS2-DA (figure 4a).

La figure 4b présente la répartition des charges de tous les acides gras dans l'espace délimité par LV1 et LV2. LV1 distingue le C18: 0, le C18: 2, le C18: 3, le C20: 0, le C20: 1 et le C16:0 (Charges positives sur le côté droit de la parcelle) et le reste des acides gras étudiés (sur le côté gauche de la parcelle avec des chargements négatifs). Il a été possible de conclure que les acides linoléique, linoléinique, stéarique et palmitique sont capables de différencier les variétés des huiles étudiées. Picholine et Hawziya étaient plus riches en ces quatre acides gras et possèdent moins d'acide oléique que la variété de Menara.



(a)



(b)

**Figure 4:** Graphiques des Scores-Loadings de PLS2-DA dans l'analyse des données GC des variétés d'huiles étudiées

Figures de mérite obtenues par le modèle PLS2-DA de données CG en utilisant le sous-ensemble d'échantillons d'étalonnage sont donnés dans le tableau 4. Dans ce cas, des corrélations élevées entre les valeurs mesurés et prédits ( $R^2$  étaient autour de 0,962 et 0,989 dans tous les cas) et de faibles erreurs de prédiction (RMSEC comprises entre 0,059 et 0,098) ont été observées.

**Tableau 4 :** Chiffres de mérite obtenus par la discrimination PLS2-DA des trois cultivars d'échantillons d'huile d'olive vierge.

Classes	Les figures de merite <sup>b</sup>			
	R <sup>2c</sup>		RMSEC	RMSEC <sub>v</sub>
	L'étalonnage	La validation		
<b>Classe 1(Hawziya)</b>	0,768	0,965	0,065	0,073
<b>Classe 2(Picholine)</b>	0,962	0,954	0,098	0,106
<b>Classe 3(Menara)</b>	0,989	0,977	0,059	0,063

<sup>a</sup> Classes étudiées par PLS-DA.

<sup>b</sup> figures de mérite du modèle déclaré : R<sup>2</sup>C - R-carré dans l'étalonnage; RMSEC-erreur quadratique moyenne de l'étalonnage; RMSEC<sub>v</sub>-Root erreur quadratique moyenne de validation croisée.

### 3.3.2.2. Validation : prédiction de la variété des nouveaux échantillons d'huile

La capacité prédictive du modèle PLS2-DA utilisant des données CG a été testée sur 12 nouveaux échantillons, non utilisés dans l'étape d'étalonnage. Ceux-ci comprennent quatre échantillons d'huile d'olive vierge Picholine, quatre échantillons d'huile d'olive vierge Menara et quatre échantillons d'huile d'olive vierge Hawziya. Le PLS-DA affecte un échantillon d'huile à une classe d'huile particulière si la valeur prédite est comprise entre 0,5 et 1,5 pour cette classe. Le tableau 5 montre les résultats de la classification avec la comparaison entre les valeurs connues et prédites pour les trois cultivars d'huile d'olive.

Le tableau 5 montre que tous les échantillons de Picholine, Menara et Hawziya pour l'ensemble de données de validation ont été correctement classés. Cela signifie qu'une classification précise à 100% a été obtenue, c'est-à-dire que tous les échantillons d'huile d'olive de l'ensemble de données de validation correspondaient correctement aux trois classes correspondantes. Les valeurs prédites de PLS2-DA étaient toujours très proches de 0 ou 1. Ces résultats confirment que la capacité prédictive du modèle PLS2-DA développé était satisfaisante.

**Tableau 5:** Prédiction du cultivar des échantillons d'huiles par analyse chimométrique des données CG (la validation externe)

Échantillons	Classe 1:Hawziya		Classe 2:Picholine		Classe 3:Menara	
	Y-pred	Y-Ref	Y-pred	Y-Ref	Y-pred	Y-Ref
<b>H09</b>	<b>1,023</b>	<b>1</b>	0,101	0	0,096	0
<b>H10</b>	<b>0,738</b>	<b>1</b>	0,054	0	-0,054	0
<b>H11</b>	<b>0,941</b>	<b>1</b>	0,061	0	-0,067	0
<b>H12</b>	<b>0.721</b>	<b>1</b>	0,021	0	0,017	0
<b>M09</b>	0,133	0	-0,028	0	<b>0,934</b>	<b>1</b>
<b>M10</b>	-0,09	0	-0,157	0	<b>0,863</b>	<b>1</b>
<b>M11</b>	-0,109	0	0,199	0	<b>0,927</b>	<b>1</b>
<b>M12</b>	-0,062	0	0,127	0	<b>1,017</b>	<b>1</b>
<b>P09</b>	0,202	0	<b>0,871</b>	<b>1</b>	0,069	0
<b>P10</b>	0,048	0	<b>0,922</b>	<b>1</b>	0,042	0
<b>P11</b>	0,023	0	<b>1,003</b>	<b>1</b>	-0,065	0
<b>P12</b>	0,094	0	<b>0,953</b>	<b>1</b>	0,001	0

Par conséquent, il a été conclu à nouveau que les données de chromatographie en phase gazeuse couplées avec la méthode chimométrique PLS2-DA pouvaient être utilisées avec succès pour discriminer les variétés d'huile d'olive vierge.

#### 4. Conclusion

Selon les résultats rapportés, on peut conclure que GC suivi d'un traitement chimométrique des données, à savoir l'analyse en composantes principales, l'analyse

discriminante par régression des moindres carrés partiels, était une technique appropriée et puissante qui peut être utile pour la qualification indirecte des différents cultivars. L'analyse Discriminante permet de classer les HOV issus des cultivars Picholine, Menara et Hawziya en utilisant leurs données de CG. Des valeurs élevées de  $R^2$  et de faibles valeurs de RMSEC et de RMSECV ont été obtenues pour tous les paramètres analytiques étudiés. Cette étude démontre le grand potentiel de l'application d'outils chimiométriques en chromatographie en phase gazeuse pour la classification correcte des aliments.



## Références

- [1] Lesage-Meessen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J.C., Lorquin J., Delattre M., Simon J.L., Asther M., Labat M., J. Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chem.*, 75 (2001) 501-507.
- [2] Elbir M., Moubarik A., Rakib E. M., Grimi N., Amhoud A., Miguel G., Hanine H., Artaud J., Vanloot P., Mbarki M., Valorization of Moroccan olive stones by using it in particleboard panels. *Maderasciencia y tecnologia.*, 14 (2012) 361-371.
- [3] Borja R., Alba J., Banks C.J., Impact of the main phenolic compounds of olive mill wastewater (OMW) on the kinetics of acetoclastic methanogenesis. *Process Biochem.*, 32 (1997) 121–133.
- [4] Ergun Ergül F., Sargın S., Öngen G., Vardar Sukan F., Dephenolisation of olive mill wastewater using adapted *Trametes versicolor*. *International Biodeterioration & Biodegradation.*, 63 (2009) 1–6.
- [5] Fiorentino A., Gentili A., Isidori M., Monaco P., Nardelli A., Parrella A., Agric J., Environmental effects caused by olive mill wastewaters : toxicity comparison of low-molecular-weight phenol components. *Food Chem.*, 51 (2003) 1005–1009.
- [6] Davies Luísa C., Vilhena André M., Novais Júlio M., Martins-Dias Susete., *Journal Grasas y Aceites.*, Olive mill wastewater characteristics: Modelling and statistical analysis. 55 (2004) 233-241.
- [7] Pristouri G., Badeka A., Kontominas M.G., "Effect of packaging material.
- [8] headspace, oxygen and light transmission, temperature and storage time on quality characteristics of extra virgin olive oil." *Food Control.*, 21 (2010) 412-418.
- [9] Ollivier D., Artaud J., Pintel C., Durbec J.P., Guerer M., Differentiation of French Virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry.*, 97 (2006) 382-393.
- [10] Veillet S., Tomao V., Bornard I., Ruiz K., Chemat F. C. R., Chemical changes in virgin olive oils as a function of crushing systems: Stone mill and hammer crusher. more less. *J.Comptes Rendus Chimie.*, 12 (2009) 895-904.
- [11] De Luca M., Terouzi W., Ioele G., Kzaiber F., Oussama A., Oliverio F., Tauler R., Ragno G., Derivative FTIR spectroscopy for cluster analysis and classification of Morocco olive oils. *Food chemistry.*, 124 (2011) 1113-1118.
- [12] Rubén M. M., Lorenzo C., Emma C., Teodoro S. K., Alessandra B., A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils *Food Control.*, 21 (2010) 890-89.

- [13] Galtier O., Dupuy N., Le Dréau Y., Ollivier D., Pinatel C., Kister J., Artaud J., Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *J. Analytica Chimica Acta.*, 595(2007) 136-144.
- [14] Benlammaalam S., Chigr M., Hirri A., Auhmani A., Mbarki M., Characterization and Discrimination of Virgin Olive Oils from Different Moroccan Geographical Areas Using MIR Spectroscopy Coupled to Chemometric Methods *International Journal of Science and Research.*, 4 (2015) 2443-24484.
- [15] Elbir M., Es-Safi N., Amhoud A., Mbarki M., CHARACTERIZATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN OLIVE STONES OF THREE MOROCCAN VARIETIES *Maderasciencia y tecnologia.*, 14 (2012) 361-371.
- [16] Codex standard for olive oils and olive pomace oils codex stan, 33-1981.
- [17] Hirri A., Bassbasi M., Souhassou S., Kzaiber F., Oussama A., Prediction of Polyphenol Fraction in Virgin Olive Oil Using Mid-Infrared Attenuated Total Reflectance Attenuated Total Reflectance Accessory–Mid-Infrared Coupled With Partial Least Squares Regression. *International Journal of Food Properties*, DOI: 10.1080/10942912.2015.1059854.
- [18] Fraley C., Raftery AE. Model-Based Clustering, Discriminant Analysis and Density Estimation. *Journal of the American Statistical Association.*, 97 (2002) 611–612.
- [19] Massart D., Vandeginste B., Buydens L., de Jong S., Lewi P., Smeyers-erbeke J., *Handbook of chemometrics and qualimetrics*. Elsevier Science, Amsterdam (1998).

## **II. Etude analytique et chimiométrique de l'huile d'olive provenant de trois zones géographiques du Maroc**

### **Résumé**

L'huile d'olive vierge (HOV), présente des valeurs nutritionnelle et thérapeutique qui lui donnent une importance en agroalimentaire, santé et cosmétique. En fait, elle contient des acides gras, des triglycérides et des composés mineurs très importants, tels que des antioxydants et des vitamines. Dans ce travail, nous avons collecté 40 échantillons d'huiles d'olive qui ont été prélevés de 3 régions marocaines ; “Meknès Tafilalt”, “Tadla Azilal” et “Marrakech Tensift Alhaouz”. Une caractérisation physico-chimique de ces échantillons a été effectuée par la détermination des indices de peroxyde et d'acide, de l'indice de réfraction, de la densité, de la teneur en alpha tocophérol par HPLC et des éléments minéraux (Fe, Mg, Cu, Zn et Na) par ICP-AES. Une analyse des échantillons par spectroscopie moyen infrarouge a été réalisée pour s'assurer de la pureté des huiles et de la présence de leurs fonctions organiques.

Dans un but de classification et de discrimination entre ces huiles, nous avons procédé à un traitement chimiométrique en utilisant l'algorithme PCA sur les données spectroscopiques entre 600 et 4000  $\text{cm}^{-1}$  (2). La discrimination des échantillons HOV selon leurs origines géographiques a été faite à une erreur acceptable.

### **1. Introduction**

L'olivier (*Olea europaea* L.) est cultivé principalement dans la région méditerranéenne (Espagne, Italie, Grèce, Tunisie, Turquie, Maroc et Algérie) pour des raisons climatiques [1].

La forte demande d'huile d'olive est associée à la culture méditerranéenne basée sur des habitudes alimentaires corrélées aux avantages pour la santé. Ceci a été corrélé avec la présence d'une teneur élevée en acides gras monoinsaturés, en particulier l'acide oléique (60-80%) et sa richesse en composants mineurs, y compris les tocophérols et les composés phénoliques, que les autres huiles de graines manquent [2] [3] [4].

La qualité de l'huile d'olive vierge est également affectée par chaque étape de production: agronomique (olivier et olives), technologique (système d'extraction et conditions de

malaxage) et environnementale (température et lumière pendant le stockage de l'huile d'olive). L'utilisation de fruits d'olive sains au moment de l'extraction est une nécessité dans la production d'huiles d'olive vierges ayant un degré considérable de caractéristiques chimiques, nutritionnelles et sensorielles. Les matières premières de haute qualité doivent être suivies par les bons choix opérationnels au stade de la production [5].

Afin d'évaluer la qualité des huiles d'olive produites dans trois régions marocaines "Meknès Tafilalt", "Tadla Azilal" et "Marrakech Tansift Alhaouz", nous avons été intéressés par l'étude de la composition chimique de ces huiles. Pour ce faire, des échantillons ont été prélevés dans les moulins à huile traditionnels. Les analyses physico-chimiques de l'acidité libre, de la valeur du peroxyde, de l'indice de réfraction, de la densité, de la teneur en  $\alpha$ -tocophérol et la teneur en éléments minéraux a été effectuée.

L'objectif de ce travail a été la classification chimiométrique de données (IR) de l'huile d'olive vierge issue de trois régions marocaines. Cette approche pourrait représenter une véritable nouveauté dans la caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive. Des données IR ont été obtenues à partir de différents échantillons d'huile d'olive des 3 régions "Meknès Tafilalt", "Tadla Azilal" et "Marrakech Tansift Alhaouz".

## **2. Matériels et Méthodes**

### **2.1. Échantillons**

L'étude portait sur quarante échantillons d'huiles d'olive monovariétales collectés de trois régions au Maroc, la région de Marrakech-Tansift-Al Haouz , la région de Meknès-Tafilalt et la région de Tadla-Azilal : 13 de la région de Marrakech-Tansift-Al Haouz , 13 de la région de Meknès-Tafilalt et 14 de la région de Tadla-Azilal. Pendant la campagne agricole 2014/2015. Les échantillons ont été conservés à l'abri de la lumière au réfrigérateur à 4 ° C pour éviter le phénomène de l'auto-oxydation préalable l'analyse.

## **2.2. Acidité libre et indice de peroxyde**

Les deux variables ont été mesurées selon la méthode AFT.60.204/220 l'acidité libre, exprimée en acide oléique (%); la valeur de peroxyde (PV), qui est une mesure de la quantité d'hydroperoxydes (meqO<sub>2</sub> / kg) due à l'oxydation.

## **2.3. Détermination de l'indice de réfraction et de la densité**

Les mesures des densités et des indices de réfraction des échantillons d'huile d'olive ont été effectuées avec un compteur combiné, un compteur de densité et un réfractomètre à la fois. Delta Ranges METTLER TOLEDO est un système entièrement automatique pour la détermination simultanée de ces deux paramètres physiques avec une grande précision (quatre décimales). Avant chaque utilisation, l'appareil est calibré avec de l'eau distillée et de l'air

## **2.4. Détermination du contenu de $\alpha$ -tocophérol**

Pour l'analyse de  $\alpha$ -tocophérol, des échantillons d'huile d'olive vierge ont été dilués dans l'hexane (0,1 g dans 10 ml d'hexane contenant 0,01% de BHT), filtré à travers une membrane de 0,45  $\mu$ m puis directement injecté dans la colonne. La séparation des tocophérols a été réalisée dans le système HPLC (Agilent 1100, Agilent Technologies) avec une colonne Zobrax C18 (150 mm x 6 mm x 3,5  $\mu$ m). La phase mobile était le n-hexane / 2-propanol (99,5: 0,05, v / v) et le débit 0,8 mL / min). Couplé à un détecteur de fluorescence, quaternaire système de pompe, injecteur automatique et four pour contrôler la température de la colonne. Cette préparation d'échantillon était basée sur le travail de Cristiano Augusto Ballus et al. (2014) [6]. Les échantillons ont été préparés en trois exemplaires (n = 3).

## **2.5. Détermination du contenu minéral**

Le dosage des oligo-éléments étudiés (K, Mg, Na, Cu, Fe et Zn) a été réalisé par analyse par la Spectrométrie d'Emission Atomique de Plasma d'argon à Couplage Inductif (ICP-AES). Selon le mode opératoire suivant: 0,5 g d'huile a été pesé avec précision dans des tubes à vaisseaux, 1mL de HNO<sub>3</sub> concentré et 5mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont été ajoutés. Le mélange a

été laissé à température ambiante pendant 24 heures. Et ensuite les tubes ont été chauffés à 140°C pendant 4h. Après refroidissement, 1mL de HNO<sub>3</sub> a été ajouté et le volume final a été ajusté à 25 ml avec de l'eau désionisée et mesuré par spectroscopie d'émission atomique de plasma à couplage inductif (ICP-AES) [7,8].

L'appareil utilisé est un ICP-AES (Varian-Vista), équipé d'un nébuliseur ultrasonique Cetac. Les principaux paramètres d'analyse de l'appareil sont :

- ✓ Puissance de Rf : 0.7 - 1.5 kilowatt (1.2-1.3 kilowatt pour axial) ;
- ✓ Débit du gaz de plasma (Ar) : 10.5- 15 l/min (radiaux), 15 l/min (axiaux) ;
- ✓ Débit auxiliaire de gaz (Ar) : 15 l/min (axiaux) ;
- ✓ Taille de visionnement : 5-12 mm ;
- ✓ Temps de copie et de lecture : 1-5s (maximum 60 s) ;
- ✓ Temps de copie : 3 s (maximum 100 s).



Appareil utilisé de la Spectrométrie d'Emission Atomique de Plasma d'argon à Couplage Inductif (ICP-AES)

## 2.6. Spectroscopie moyen infrarouge

Les spectres sont obtenus à l'aide d'un système Bruker Tensor 27 FT-IR équipé d'un module "ATR" à réflexion unique "Golden Gate" chauffé, d'un détecteur TGS et d'un

splitter de rayon KBr. L'équipement est connecté à l'ordinateur et contrôlé par Win First Software - v1.1. Les spectres IR ont été réalisés dans le domaine de 4000 à 600  $\text{cm}^{-1}$ .



Appareil IR-TF Bruker Tensor 27 utilisé

## **2.7. Analyse en Composantes Principales**

L'ACP fournit une représentation graphique des similitudes et des différences entre les données dans l'espace défini par les composantes principales [9]. La méthode PCA a été utilisée pour réduire la dimension des données afin d'obtenir une meilleure visualisation de la séparation en groupes selon l'origine botanique et géographique [12].

Dans le présent travail, des spectres MIR ont été soumis à l'analyse par ACP afin d'examiner les regroupements possibles des huiles d'olives.

## **3. Résultats and discussion**

### **3.1. Caractérisation physicochimiques**

Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus de l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité des échantillons de l'huile d'olive issues de différentes régions.

**Tableau 1:** Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction et la densité de l'huile des trois régions

Région Caractéristiques		Marrakech- Tansift-Al Haouz	Tadla-Azilal	Meknès-Tafilalt	Normes COI
Acidité libre (% acide oléique)	Min-Max	1,24-3,2	0,92-2,21	0,82-2,14	≤ 3,3
	Average	2,1038	1,5976	1,5148	
	S.D*	0,0574	0,0240	0,0321	
IP (meq O <sub>2</sub> /Kg)	Min-Max	3,50- 17,18	8.02-18.83	3,24-17,24	≤ 20
	Average	15,3242	14,1294	10,4656	
	S.D*	0,02852	0,0376	0,0408	
L'indice de réfraction	Min-Max	1,4697-1,4699	1.4688-11.4698	1,4694-1,4698	1,4677- 1,4705
	Average	1,4698	1,4693	1,4696	
	S.D*	-	-	-	
La densité (g/ cm <sup>3</sup> )	Min-Max	0,9134-0,9137	0,9133-0,9138	0,9134-0,9142	0,910 à 0,916
	Average	0,9136	0,9135	0,9138	
	S.D*	-	-	-	

#### ➤ La densité et l'indice de réfraction

Les résultats de la densité et de l'indice de réfraction sont similaires dans le tableau 1 ci-dessus. Toutes les valeurs de densité semblent identiques et se situent dans le codex standard pour les huiles d'olive vierges et raffinées (0,910 à 0,916) g / cm<sup>3</sup>. La densité des huiles est généralement liée au degré d'insaturation et à l'état d'oxydation. Les indices de réfraction des échantillons analysés sont très similaires et sont conformes à la norme du COI pour l'huile d'olive (1,4677 à 1,4705). La densité et l'indice de réfraction sont des paramètres physiques pour identifier et juger la pureté de l'huile d'olive.



### ➤ **Acidité libre**

L'acidité libre des échantillons d'huile d'olive étudiés est comprise entre 1,5148 et 2,1038 %. Sur la base de ces résultats et selon la norme commerciale du COI, aucun échantillon analysé n'est une sorte d'huile d'olive vierge lampante (acidité supérieure à 3,3%). De même, les huiles étudiées peuvent être classées en deux catégories distinctes (COI, 2015) [13] : La classe d'huile d'olive vierge avec une acidité libre entre 0,8 et 2%, cette classe contient les échantillons des deux régions Tadla-Azilal et Meknès-Tafilalt, et la classe de L'huile d'olive vierge commune avec une acidité libre comprise entre 2 et 3,3%, cette classe contient les échantillons de la région Marrakech-Tansift-Al Haouz. Ces derniers possèdent un indice d'acide plus élevé que ceux des deux autres régions Tadla-Azilal et Meknès-Tafilalt, sans dépasser les valeurs maximales définies par la norme internationale (Conseil Oléicole International 2015) [13]. Ces résultats peuvent s'expliquer par l'état avancé de la maturité des fruits, le manque de précautions prises lors de la récolte ou de l'entreposage des olives.

### ➤ **Indice de peroxyde**

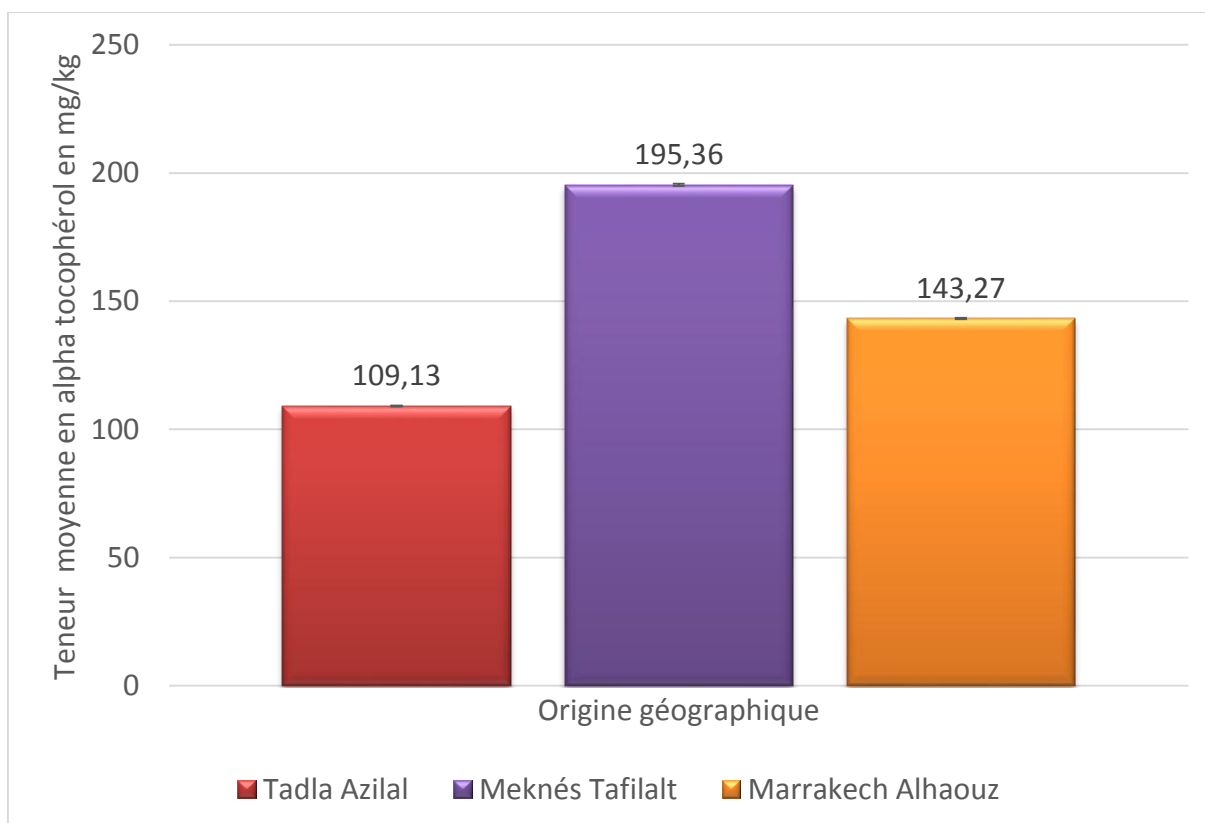
Nous notons que les valeurs de peroxyde vont de 10,4656 pour Meknès-Tafilalt à 15,3242 (még O<sub>2</sub> / kg) d'huile d'olive pour la région de Marrakech-Tansift-Al Haouz. Ces valeurs restent inférieures à la limite établie par la norme commerciale du CIO pour les huiles d'olive extra vierge ( $\leq 20$  még O<sub>2</sub> actif /kg huile d'olive) (COI, 2015) [13]. Cela signifie que les échantillons d'huile d'olive étudiées aura une bonne durée de conservation. Les valeurs de peroxyde les plus élevés obtenus sont des deux régions Tadla-Azilal et Marrakech-Tensift-Al Haouz (14,1294 et 15,3242 még O<sub>2</sub> actif / kg). Cela s'explique par l'oxydation des huiles d'olive suivant les conditions de récolte et post-récolte des olives.

### **3.2. Détermination du contenu de $\alpha$ -tocophérol :**

Les résultats obtenus de la teneur en alpha tocophérol dans l'huile d'olive des zones géographiques étudiées sont présentés dans la figure ci-dessous.

.Le contenu et la composition des tocophérols sont d'autres critères importants pour l'évaluation de la qualité de l'huile [14].

La quantité de  $\alpha$ -tocophérols sont comprises entre 109,13 ppm pour la région de Tadla Azilal et 190,36 ppm pour la région de Meknès Tafilalt .D'autres auteurs ont trouvé des teneurs en tocophérol de l'huile d'olive dans la même gamme par rapport à nos résultats [6,14].



**Figure 1:** Moyenne de l'alpha tocophérol en mg/kg des huiles étudiées de différentes régions

Dans l'huile d'olive vierge, l'alpha-tocophérol représentant plus de 95% de la teneur totale en tocophérol comprise presque entre 50 et 300 mg / kg. La teneur et la composition de l'huile d'olive vierge en tocophérol dépendent de plusieurs facteurs agronomiques tels que le cultivar, la maturité des fruits et les conditions agroclimatiques.

Il a été bien établi que l'alpha-tocophérol agit en tant qu'antioxydant de rupture radicalaire principal dans les membranes et les lipoprotéines dans les systèmes plasmatiques et alimentaires. En raison de son potentiel antioxydant et divers rôles au niveau moléculaire, l'alpha-tocophérol alimentaire a montré qu'il réduisait le risque de maladies cardiovasculaires et de certains types de cancer [15].

### 3.3.Détermination des éléments minéraux

Le tableau 2 illustre la concentration des éléments minéraux (Cu, Fe, Mg, Na et Zn) dans l'huile d'olive des trois régions ‘‘Meknès Tafilalt’’, ‘‘Tadla Azilal’’ et ‘‘Marrakech Tansift Alhaouz’’.

**Tableau 2:** Concentration des éléments minéraux dans l'huile d'olive des trois régions en (mg /kg)

<b>Métal</b>	<b>Ligne spectrale (nm)</b>	<b>Meknès -Tafilalt</b>	<b>Tadla -Azilal</b>	<b>Marrakech-Alhaouz</b>
<b>Cu</b>	327,393	0,04	1,08	2,14
<b>Fe</b>	238,204	2,71	3,93	1,94
<b>Mg</b>	280,271	245	150	90
<b>Na</b>	589,592	159	517	297
<b>Zn</b>	213,857	55	30	64

Les huiles végétales sont importantes pour la nutrition mondiale et la concentration des métaux peut affecter la santé humaine, de sorte que de nombreux chercheurs s'intéressent à l'étude des huiles végétales comestibles. Cependant, il existe plusieurs études sur la détermination des métaux dans l'huile végétale en particulier l'huile d'olive en raison de la preuve de son effet bénéfique sur la santé [16].

Le tableau 2 montre les résultats pour la détermination des éléments par ICP-AES. Le pouvoir de détection de cette technique était suffisamment élevé pour la détermination de Cu, Fe, Mg, Na et Zn dans des échantillons digérés d'huiles comestibles.

Des variations de concentration des métaux ont été observées parmi les échantillons d'huile d'olive provenant de différentes régions. Ces variations pourraient être influencées par les sols, les engrais, la maturation et les méthodes de traitement, ou peuvent être affectées par les conditions météorologiques et environnementales (pluie, température, vent). La concentration moyenne dans tous les échantillons est détectée pour Na qui va de 159 à 517 mg/kg. Les résultats indiquent que les concentrations de Mg peuvent changer selon la maturation et les méthodes de traitement. Les teneurs de Na dans l'échantillon d'huile

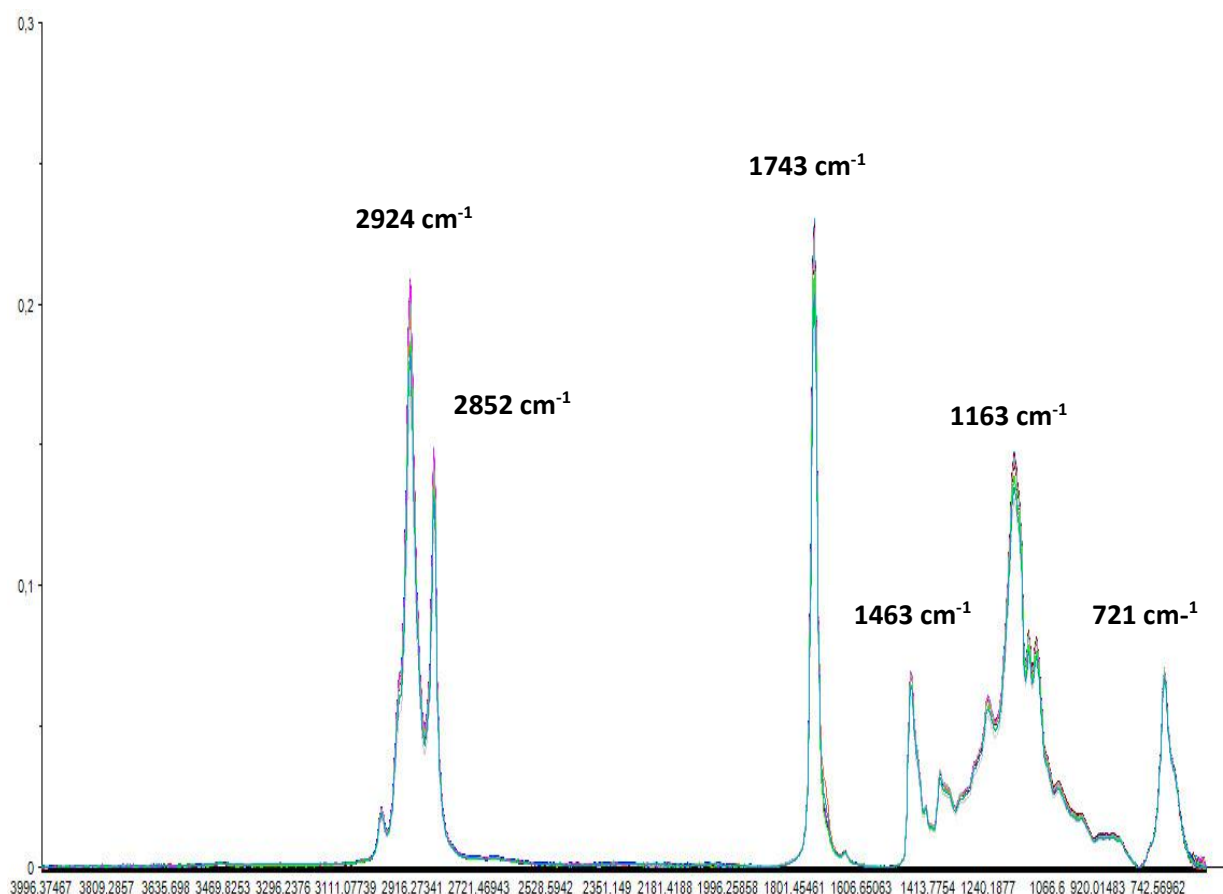
d'olive ont été comparées à d'autres études. Dans l'étude de Iva Juranovic Cindric, les teneurs de Na sont comprises entre 34 et 34,5 mg / kg [17].

La concentration d'éléments peut affecter la qualité de l'huile d'olive en termes de capacité de stockage, de fraîcheur ou de toxicité. Les niveaux de Cu, Fe et Zn provoquent une augmentation du taux d'oxydation de l'huile. Les niveaux de concentration de ces éléments dans les échantillons d'huile d'olive sont donnés au tableau qui montre que les niveaux de cuivre Cu dans les échantillons d'huile d'olive varient entre 0,04 et 2,14 mg / kg. La concentration de Cu est influencée par les engrais et les fongicides qui sont ajoutés aux oliviers pour lutter contre les maladies fongiques. De plus, une faible concentration de Cu peut agir comme un catalyseur dans le processus d'oxydation, donc la concentration en Cu doit être contrôlée car elle influence la qualité de l'huile d'olive. Le Codex Alimentarius recommande que la concentration de Cu dans l'huile d'olive ne soit pas supérieure à 0,4 mg / kg. Nos valeurs variaient entre 0,04 et 2,14 mg / kg seulement les échantillons de la région de Meknès Tafilalt qui ne dépassent pas la valeur fixée. Nos résultats pour Fe varient entre 1,94 et 3,93 mg/kg sont inférieurs à 5 mg / kg, ils sont donc d'accord avec le codex Alimentarius [18].

Les teneurs en métaux dans les huiles végétales sont importantes en raison de toxicologiques ainsi que leurs points de vue nutritionnels. Les métaux en traces présents dans les huiles peuvent être d'origine naturelle ou présente en raison des procédures de traitement. Il est possible de trouver la présence de métaux due à une variété de facteurs tels que les processus de traitement, les procédures d'emballage, plomberie d'eau, présence de résidus de fongicides utilisés en agriculture ou la présence d'autoroutes, d'industries près du site de culture [19].

### **3.4. Spectroscopie moyen infrarouge**

La figure suivante montre les spectres MIR-TF de l'huile d'olive dans la région de fréquence de 4000 à 600  $\text{cm}^{-1}$ , obtenus pour les échantillons des huiles classées dans les deux catégories "vierge" et "vierge commune" respectant la norme du COI en terme de peroxyde et d'acidité (COI, 2015) [13]. Les spectres obtenus des échantillons sont très similaires (figure 2).



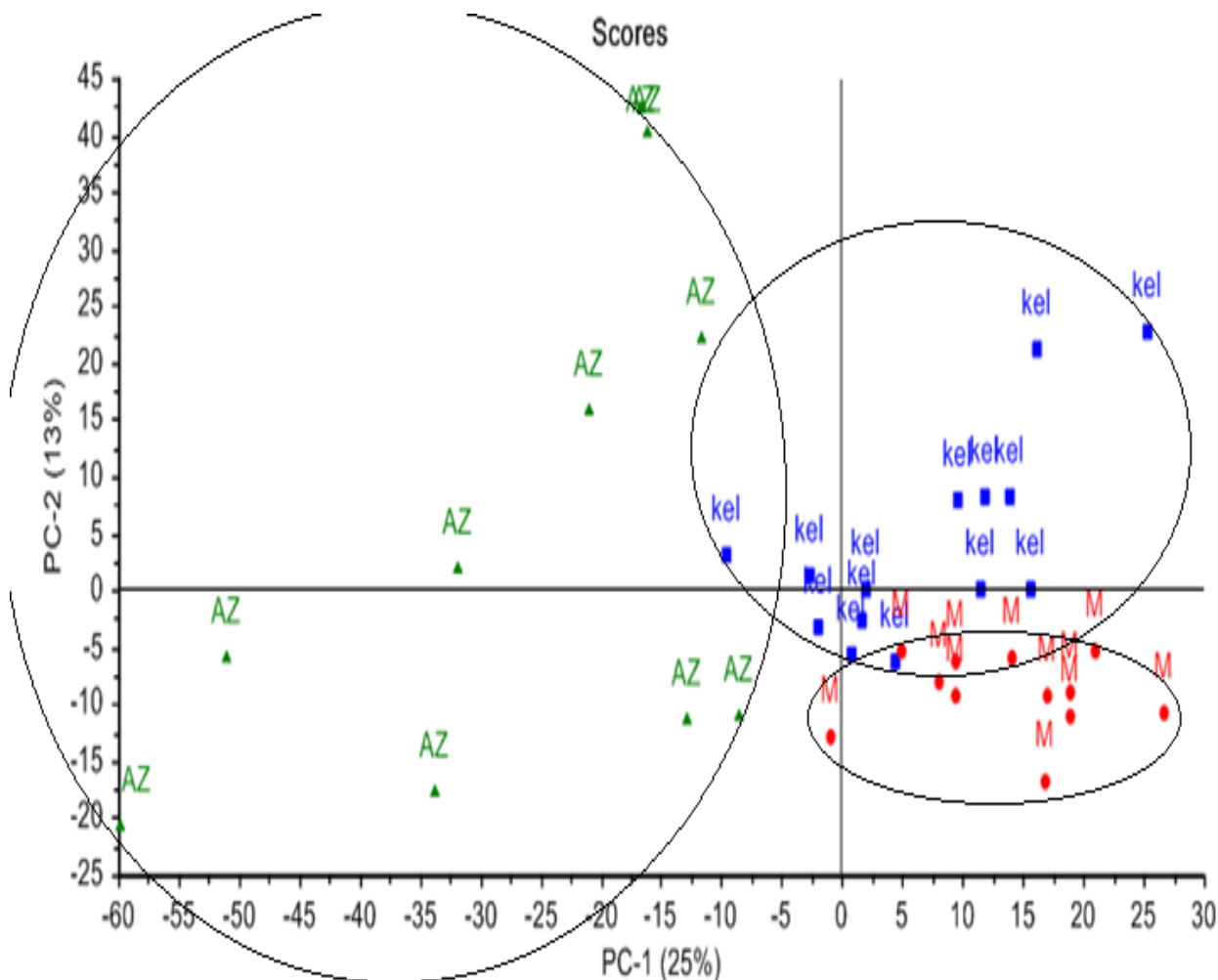
**Figure 2 :** Spectres MIR-TF des échantillons d'huiles d'olive des trois régions

L'affectation des groupes fonctionnels responsables de l'absorption infrarouge est la suivante: 2924 et 2852  $\text{cm}^{-1}$  (étirement symétrique et asymétrique de  $-\text{CH}_2$ ), 1743  $\text{cm}^{-1}$  (C = O étirement), 1463  $\text{cm}^{-1}$  ( $-\text{CH}_2$  en flexion), 1377  $\text{cm}^{-1}$  (pliage  $-\text{CH}_3$ ), 1238  $\text{cm}^{-1}$  (étirement en C-O) 1163  $\text{cm}^{-1}$  (C-O étirement;  $-\text{CH}_2$  pliage), 1114  $\text{cm}^{-1}$  (étirement C-O), 1099  $\text{cm}^{-1}$  (étirement C-O) et 721  $\text{cm}^{-1}$  (cis-CH = CH- flexion hors du plan) [2,11,20].

### 3.5. Analyse en Composantes Principales

Afin de pouvoir discriminer entre les spectres MIR-TF sur la base de données spectroscopiques, nous avons utilisé le logiciel Unscrambler dans toute la zone spectrale du MIR.

Après l'analyse de 40 échantillons d'huiles d'olive par infrarouge à transformé de fourrier, l'analyse en composantes principales a été appliquée (figure 3).



**Figure 3 :** Représentation ACP des spectres MIR-TF des échantillons des huiles d’olives Mekkès-Tafilalt (M) et Marrakech-Tansift-Al Haouz (kel) Tadla-Azilal (AZ)

D’après la figure 3, l’ACP des huiles d’olives montre que la première composante principale  $PC_1$  et la deuxième composante principale  $PC_2$  expliquent, respectivement, 25% et 13% soit 38% de la variance totale. En fait, la composante  $PC_1$  renseigne sur le maximum d’information et la composante  $PC_2$  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, il y a une discrimination entre les huiles provenant de Tadla-Azilal. Ce dernier résultat peut être expliqué par une différence de spécificités telles

que celles liées au microclimat et au sol du fait que les échantillons sont collectés de la plaine et de la montagne. En fait, grâce aux couplages entre méthodes physicochimiques analytiques d'une part et des méthodes chimométriques d'autre part, divers travaux antérieurs ont évoqués les spécificités régionales des huiles d'olives produites dans le monde

#### **4. Conclusion**

Le présent travail a montré les différents paramètres de qualité des huiles d'olives issues des trois régions du Maroc Meknès-Tafilalt, Tadla-Azilal et Marrakech-Tansift-Alhaouz.

L'huile d'olive vierge produite au niveau de ces trois zones géographiques marocaines étudiées, présente des caractéristiques chimiques et physiques comme l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité qui sont conformes à celles recommandées par la norme du Conseil Oléicole International(COI). Par contre, autres caractéristiques telles que la teneur en quelques éléments minéraux comme le Cu ne sont pas conformes à cette norme.

Ce travail contribue au fait de combler le besoin en termes de caractérisation chimique et de classification de l'huile d'olive de la variété Picholine Marocaine selon différentes zones géographiques du Maroc. Nous observons qu'il y a certaines discriminations entre les trois groupes d'huiles provenant des trois zones géographiques. Les résultats montrent que les huiles de la région de Meknès-Tafilalt seraient plus riches en alpha tocophérol (195,36mg/kg) par rapport aux celles de Marrakech-Alhaouz (143,27mg/kg) et de Tadla-Azilal (109,13 mg/kg). 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 ces différentes zones au Maroc.

D'après les résultats rapportés, on peut conclure que la spectroscopie FTIR suivie d'un traitement chimométrique des données, à savoir l'analyse en composantes principales, a été déterminante et efficace pour la discrimination de ces huiles. Un tel développement des méthodes, basé sur le couplage entre une méthode analytique d'une part et une méthode statistique d'autre part, assure des résultats avec une précision acceptable dans un minimum de temps simple et avec un coût moindre.

## Références

- [1] Bakhouché A., Lozano-Sánchez J., Beltrán-Debón R., Joven J., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., 2013. Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. *Food Research International*, (50): 401–408.
- [2] Gouvinhas I., M.M.M. de Almeida J., Carvalho T., Machado N., I.R.N.A. Barros A., 2015. Discrimination and characterization of extra virgin olive oils from three cultivars in different maturation stages using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics. *Food Chemistry*, (174): 226–232.
- [3] Peres F., Martins L.L., Mourato M., Vitorino C., Antunes P., Ferreira-Dias S., 2016. Phenolic compounds of ‘Galega Vulgar’ and ‘Cobrançosa’ olive oils along early ripening stages. *Food Chemistry*, (211): 51–58.
- [4] Karabagias., Michos Ch., Badeka A., Kontakos S., Stratis I., Kontominas M.G., 2013. Classification of Western Greek virgin olive oils according to geographical origin based on chromatographic, spectroscopic, conventional and chemometric analyses. *Food Research International* (54):1950–1958.
- [5] Jolayemi O.S., Tokatli F., Ozen B., 2016. Effects of malaxation temperature and harvest time on the chemical characteristics of olive oils. *Food Chemistry* (211):776–783.
- [6] Ballusa C. A., Dillenburg Meinharta A., Teixeira Godoy H., 2014. A quantitative study on the phenolic compound, tocopherol and fatty acid contents of monovarietal virgin olive oils produced in the southeast region of Brazil. *Food Research International*, 62: 74–83
- [7] Ennoukha F., Bchitoua R., Mohammed F., Guillaume D., Harhard H., Bouhaoussa A., 2017. Study of the effects of extraction methods on Argan oil quality through its metal content. *Industrial Crops & Products* (109):182–184
- [8] Gouvinhas I I., Dominguez-Perles R., Machado N., Carvalho T., Matos C., A I. R. N. A. Barros A., 2016. Effect of Agro-Environmental Factors on the Mineral Content of Olive Oils: Categorization of the Three Major Portuguese Cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, (93) :813–822.
- [9] Elbir M., Amhoud A., Houlali I., Moubarik A., Hasib H., Jouad A., Mbarki M., 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.
- [10] Gouvinhas I., M.M.M. de Almeida J., Carvalho T., Machado N., I.R.N.A. Barros A., 2015. Discrimination and characterization of extra virgin olive oils from three cultivars in different maturation stages using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics. *Food Chemistry*, (174): 226–232.
- [11] Benlamaalam S., Chigr M., Hirri A., Auhmani A., Mbarki M., 2015. Characterization and Discrimination of Virgin Olive Oils from Different Moroccan Geographical Areas



Using MIR Spectroscopy Coupled to Chemometric Methods. *International Journal of Science and Research*, 4 (6) 2443-2448.

[12] Popescu R., Costinel D., Dinca O. R., Marinescu A., Stefanescu I., Ionete R. E., 2015. Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics. *Food Control* (48):84-90.

[13] Conseil Oléicole International, 2015. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. COI/T.15/NC n° 3/Rév.8.

[14] Gharbya S., Harhara H., Matthäus B., Bouzoubaa Z., Charroufa Z., 2016. The chemical parameters and oxidative resistance to heat treatment of refined and extra virgin Moroccan Picholine olive oil. *Journal of Taibah*, (10): 100–106.

[15] Azlan A., Nagendra Prasad K., Hock Eng Khoo, Nurnadia A.-A., Alina M., Amin I., Zulkhairi A., 2010. Comparison of fatty acids, vitamin E and physicochemical properties of *Canarium odontophyllum* Miq. (dabai), olive and palm oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, (23):772–776.

[16] Fuqha E.B., 2015. Thèse de doctorat Determination of Some Metallic Elements and their Effect on Physical Properties of Edible Olive Oil in Palestine An-Najah National University - Nablus, Palestine.

[17] Juranovic Cindric I., Zeiner M., Steffan I., 2007. Trace elemental characterization of edible oils by ICP–AES and GFAAS. *Microchemical Journal* (85) :136–139.

[18] Codex Alimentarius, 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS CODEX STAN 210-1999.

[19] Nunes L.S., Barbosa J.T.P., Fernandes A.P., Lemos V.A., dos Santos W.N.L., Graças A. Korn M., Teixeira L.S.G., 2011. Multi-element determination of Cu, Fe, Ni and Zn content in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry and microemulsion sample preparation. *Food Chemistry*, (127):780–783.

[20] Hirri A., Bassbasi M., Platikanov S., Tauler R., Oussama A., 2016. FTIR Spectroscopy and PLS-DA Classification and Prediction of Four Commercial Grade Virgin Olive Oils from Morocco. *Food Analytical Methods* (9):974–981.

## Chapitre 2: Valorisation des noyaux et de l'huile d'olive par méthodes électrochimique

# **I. Evaluation électrochimique de la capacité antioxydante du noyau d'olive marocain**

## **Résumé**

Le but de cette étude était d'évaluer la capacité antioxydante totale de différents échantillons de noyaux d'olive marocains par les méthodes électrochimiques. Cet article présente la préparation et la caractérisation du capteur ampérométrique  $H_2O_2$  et son utilisation pour l'évaluation antioxydante des noyaux d'olive provenant de différentes variétés Marocaines. Les résultats obtenus ont été trouvés en bonne corrélation avec la réalité.

## **1. Introduction**

L'huile d'olive vierge est la principale source de lipides dans le régime méditerranéen; il est obtenu à partir du fruit de plusieurs cultivars d'olive, fournissant des huiles avec différentes compositions et propriétés. Les compositions de l'huile d'olive et ses caractéristiques sensorielles en plus d'être fortement dépendantes du cultivar sont également influencées par plusieurs autres facteurs à savoir les conditions climatiques et agronomiques, le temps de récolte et les pratiques agricoles. Les huiles d'olive vierges représentent une riche source d'antioxydants naturels tels que les composés cinnamiques et phénoliques. Les avantages de la consommation des composés phénoliques sont associés à leurs activités antioxydantes [1-2], liées à leur structure moléculaire [3]. Il est rapporté que ces composés phénoliques peuvent empêcher la peroxydation des lipides par l'intermédiaire d'un atome d'hydrogène provenant du ou des groupes hydroxyles attachés au noyau benzénique [13]. Les antioxydants sont des molécules qui peuvent retarder ou même presque empêcher le développement de l'oxydation par trempe directe des espèces réactives de l'oxygène, formées lors des processus d'oxydation radicalaire.

Les espèces réactives de l'oxygène, y compris l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le peroxyde d'hydrogène qui est souvent classé, non comme radical libre mais comme groupe réactif de l'oxygène, et le radical hydroxyle (OH), sont générés naturellement in vivo au cours des processus métaboliques, et maintiennent un niveau d'équilibre dans les organismes vivants normaux [4]. Cependant, lorsqu'un corps est soumis à des facteurs de stress environnementaux ou comportementaux (pollution, exposition au soleil, tabagisme,

consommation excessive d'alcool, etc.), des ROS en excès sont générés [5]. Si l'excès de ROS ne peut pas être nettoyé à temps, ils attaqueraient et induiraient des dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides et entraveraient les fonctions cellulaires normales [6]. Par conséquent, la surproduction de ROS est associée à de nombreuses maladies comme le cancer et la maladie d'Alzheimer, ainsi que le vieillissement rapide. Dans les systèmes vivants, les effets délétères du ROS peuvent être neutralisés par les systèmes antioxydants endogènes et exogènes [7]. Les antioxydants sont des substances synthétiques ou naturelles qui empêchent ou retardent les dommages oxydatifs en piégeant les radicaux libres. Les fruits et les légumes sont de bonnes sources de grandes quantités d'antioxydants connus. Plusieurs méthodes analytiques ont été développées pour l'évaluation de la capacité antioxydante totale de l'huile d'olive. Un certain nombre de ces méthodes mesurent l'inhibition d'un radical stable ou artificiel lors de l'addition d'huile d'olive. Les méthodes spectrométriques sont principalement utilisées dans l'analyse des propriétés antioxydantes. Cependant, ces méthodes dépendent de nombreux paramètres tels que la température, le temps d'analyse, le caractère d'un composé ou d'un mélange de composés, la concentration d'antioxydants et de nombreuses autres substances [8-10]. Les méthodes électrochimiques utilisées pour la détermination de la capacité antioxydante sont encore en développement. Ceux-ci fournissent une méthode alternative rapide, simple et sensible dans l'analyse des composés bioactifs associés au piégeage des radicaux ainsi que la capacité antioxydante elle-même [11-12]. Ce travail vise à déterminer la capacité antioxydante du noyau d'olive marocain en fonction du cultivar.

## **2. Matériels et méthodes**

### **2.1. Appareillage**

Les expériences électrochimiques ont été réalisées à l'aide d'un potentiostat voltalab (modèle PGSTAT 100, Eco Chemie B. V., Utrecht, Pays-Bas) piloté par le logiciel de traitement des données électrochimiques à usage général (logiciel voltalab master 4). Toutes les expériences électrochimiques ont été réalisées dans une cellule standard à un compartiment à trois électrodes. L'électrode de référence était SCE et la contre-électrode était du platine. Tous les potentiels d'électrode ont été référés à cette électrode de référence.

L'électrode de travail était une électrode en pâte de carbone modifiée par du cuivre (Cu-CPE).

## **2.2. Préparation de l'électrode électrochimique**

La pâte de carbone non modifiée a été préparée en ajoutant de l'huile de paraffine à la poudre de carbone et soigneusement mélangée dans un mortier et un pilon. La pâte résultante a été emballée dans l'électrode et la surface a été lissée. L'électrode électrochimique a été développée en déposant le cuivre à un potentiel fixe (0,1 V pendant 1 heure) sur la surface de l'électrode en pâte de carbone.

## **2.3. La préparation des échantillons**

Les échantillons collectés des variétés marocaines Picholine, Hawziya et Menara qui ont été implantées dans la région de Tadla Azilal au Maroc. Trois échantillons moyens des noyaux d'olives issues des trois variétés d'olives ont été préparés selon la procédure suivante.

- Faire bouillir les olives dans de l'eau (300 mL) pendant 8 minutes.
- Laisser refroidir naturellement. Laisser les noyaux dans de l'eau si l'on ne peut pas les dépulper immédiatement
- Dépulper les olives en les écrasant une à une manuellement ;
- Placer les noyaux dans de l'eau si l'on ne peut pas les brosser immédiatement.
- Brosser chaque noyau avec une brosse à dent dure.
- Laisser sécher à l'air sur un papier absorbant (2-4 jours).

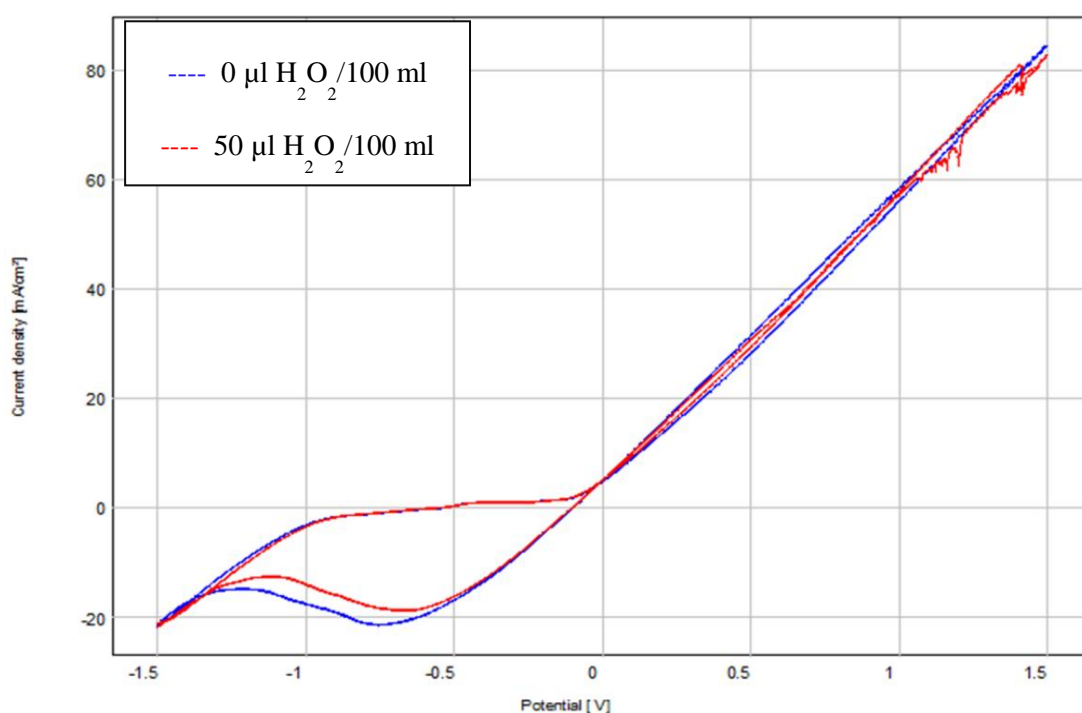
## **2.4. Extraction des composés phénoliques**

Chacun des trois échantillons moyens des noyaux est broyé dans un mortier métallique en acier inox. La poudre obtenue de chaque échantillon est mise dans un soxhlet pour extraction solide-liquide des fractions polyphénoliques à l'aide de l'éthanol durant une durée de 6h. Les 3 extraits phénoliques ont été conservés à une température de -4 °C.

### 3. Résultats et discussion

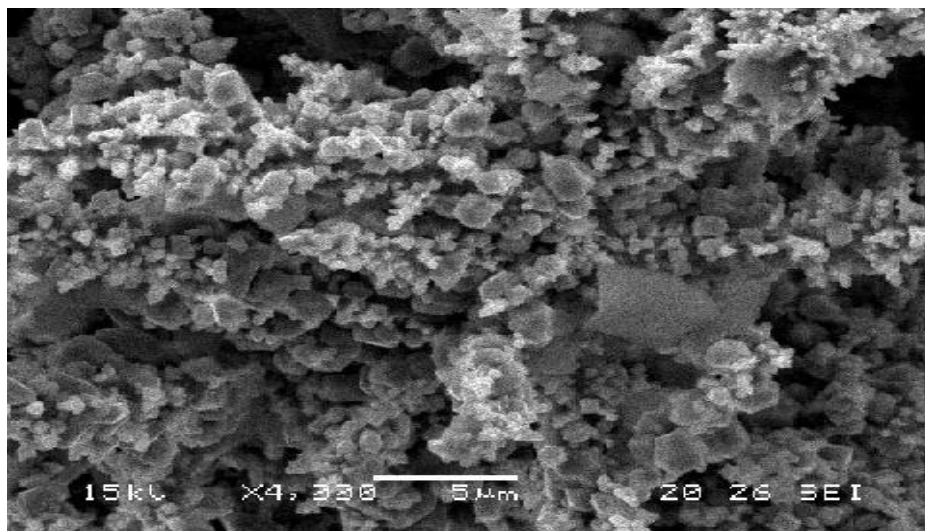
#### 3.1. Comportement électrochimique de l'électrode préparée

Les voltammogrammes cycliques (CVs) de l'électrode de pâte de carbone modifiée au cuivre (Cu-CPE) et de l'électrode de pâte de carbone (CPE) ont été enregistrés dans l'électrolyte de support ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Nous pouvons voir que la forme du voltammogramme cyclique a été modifiée en présence de cuivre à la surface de CPE, suggérant que l'électrode de pâte de carbone a été effectivement modifiée par le cuivre (figure 1).



**Figure 1 :** Voltammogrammes cycliques de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dans une solution de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1 M pH  $\approx$  7,4 à Cu-CPE, vitesse de balayage 50 mV / s.

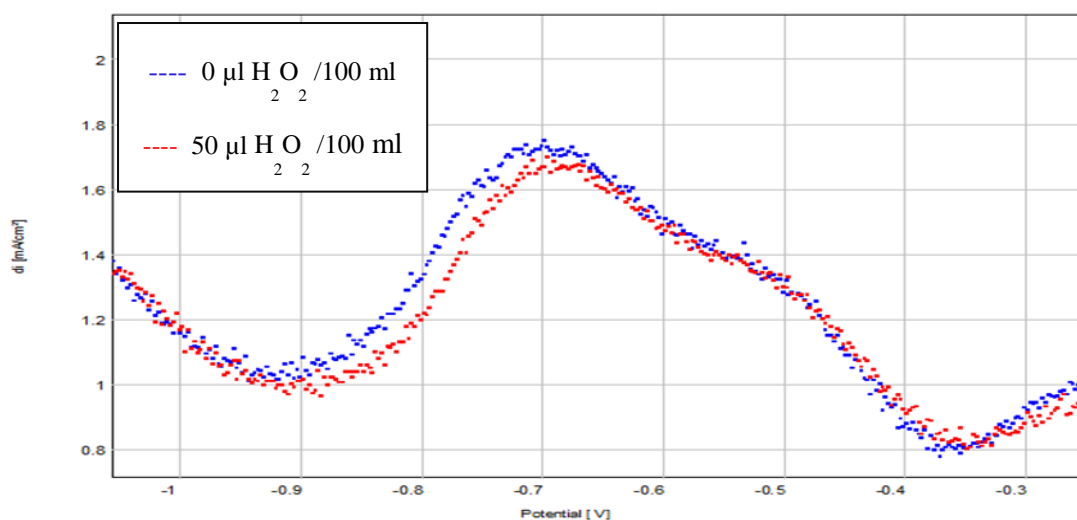
La structure de surface de la pâte de carbone modifiée au cuivre a été observée en utilisant la microscopie électronique à balayage (Figure 2). La couche de film de cuivre a été formé sur la surface de l'électrode en pâte de carbone; il n'a pas été désagrégé ou détaché de la surface lorsqu'il a été immergé dans la solution d'électrolyte de support.



**Figure 2 :** Micrographie électronique à balayage de Cu-CPE.

### 3.2. Graphique d'étalonnage

La détection de  $H_2O_2$ , a été examinée par voltamétrie à onde carrée, dans le capteur électrochimique. La réponse de l'électrode a été testée pour différentes quantités de  $H_2O_2$ , allant de  $50 \mu L / 100 mL$  à  $400 \mu L / 100 mL$  (solution  $Na_2SO_4$   $0,1 M$ ). La figure 3 montre quelques courbes typiques de voltamétrie à onde carrée enregistrées à l'électrode Cu-CPE.

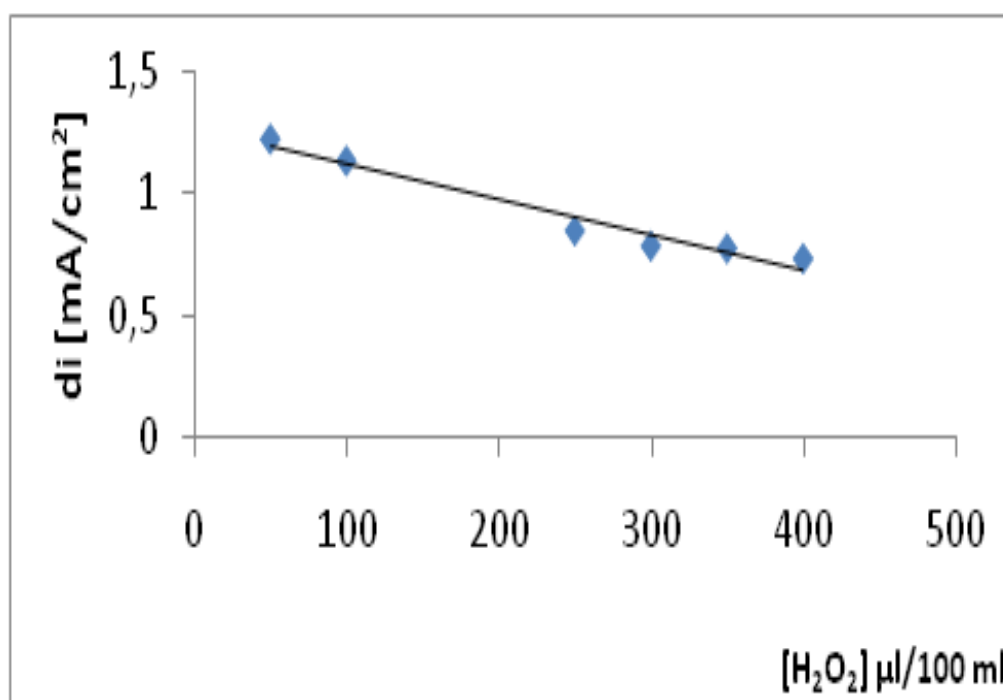


**Figure 3 :** Voltamogrammes à ondes carrées de  $H_2O_2$ , dans une solution de  $Na_2SO_4$   $0,1 M$   $pH \approx 7,4$  à Cu-CPE, vitesse de balayage  $50 mV / s$ .

Un graphique d'étalonnage a ensuite été construit à partir des courants observés. La réponse voltamétrique en onde carrée était presque linéairement dépendante de la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (figure 4). L'analyse de régression linéaire a donné l'équation suivante :

$$i_p = -0,0014 [H_2O_2] + 1,2646$$

avec un coefficient de corrélation de 0,9599.

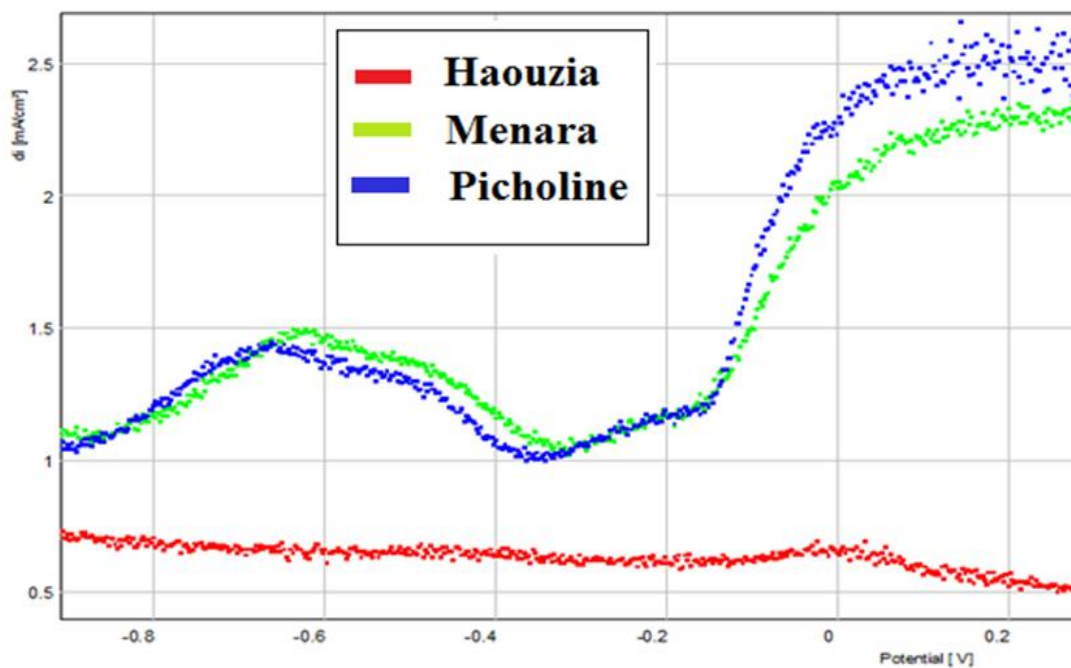


**Figure 4 :** Graphique d'étalonnage

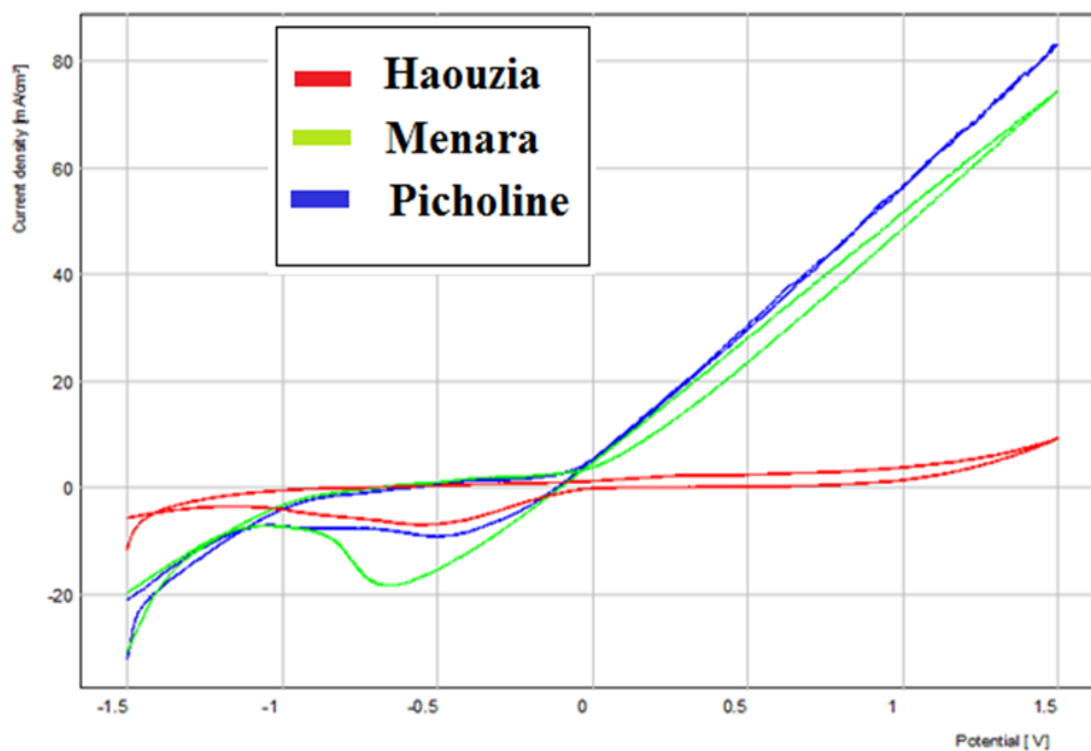
### 2.3. Détermination de la capacité antioxydante

Les propriétés anti-oxydantes des molécules étudiées ont été évaluées par la voltamétrie cyclique et la voltamétrie à onde carrée, en comparant la réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Des expériences VC préliminaires ont été réalisées pour étudier l'effet de l'ajout d'une quantité spécifiée de chaque échantillon étudié à la solution électrolytique contenant [50 µL [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] / 100 mL]. En comparant les trois voltamogrammes de l'électrode Cu-CPE (figures 5, 6 et 7), on note que le pic de réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diminue en présence des échantillons étudiés.

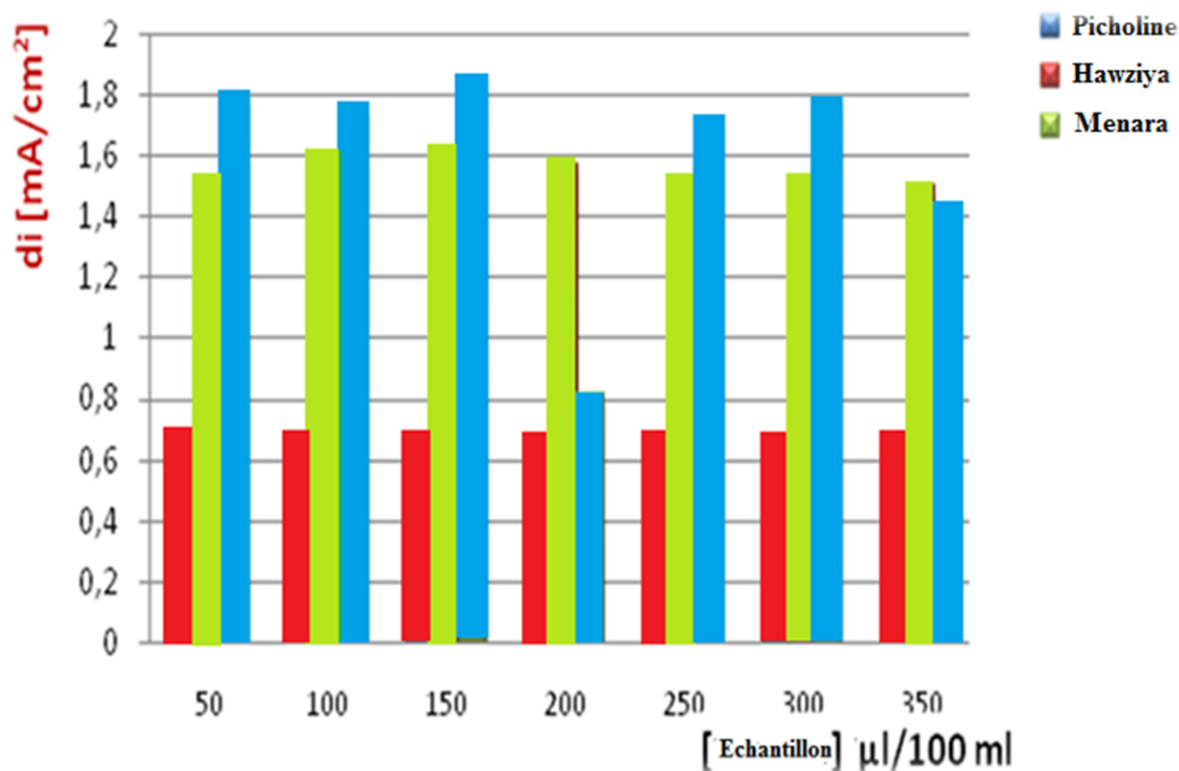




**Figure 5 :** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés au Cu-CPE dans une solution de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1 M contenant 50  $\mu\text{l}$  / 100 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  et 350  $\mu\text{l}$  / 100 ml de l'extrait phénolique.



**Figure 6 :** Voltammogrammes cycliques enregistrés à Cu-CPE dans du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1 M, contenant 50  $\mu\text{l}$  / 100 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  et 350  $\mu\text{l}$  / 100 ml de l'extrait phénolique.



**Figure 7 :** Évolution de la densité de courant de réduction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  avec la concentration de différents échantillons étudiés

L'effet d'inhibition de la réduction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  varie comme suit:

Échantillon de Haouzia > Échantillon de Picholine > Échantillon de Menara

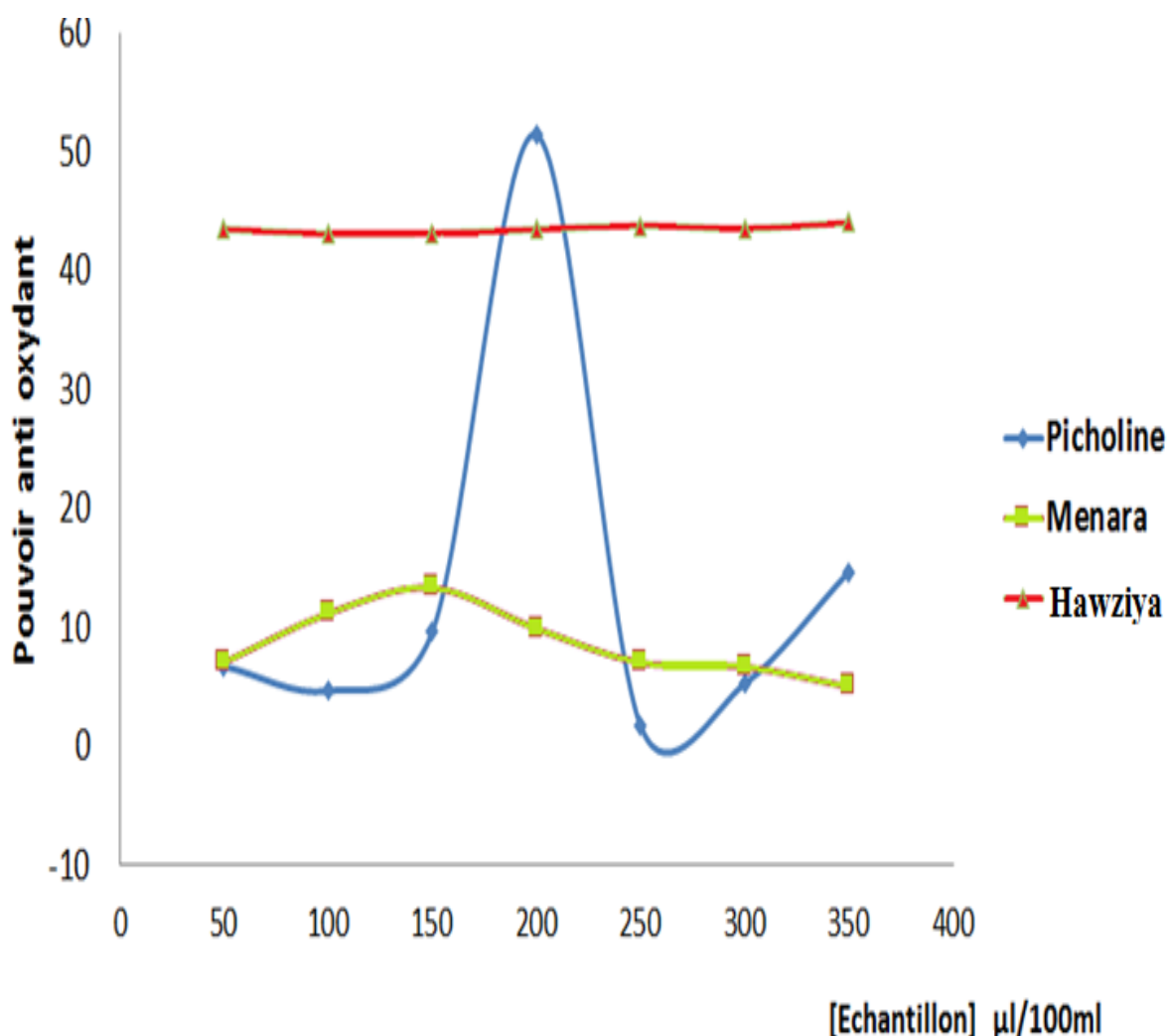
Pour obtenir les résultats présentés sur la figure 7, nous avons procédé comme suit:

- Additions progressives, de chacun des trois échantillons des variétés testés, dans une solution électrolytique contenant du  $\text{H}_2\text{O}_2$
- les densités de courant de réduction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  sont déterminées par la méthode de voltamétrie à ondes carrées.
- A partir du graphique d'étalonnage déjà tracé (figure 4), nous déterminons la quantité de  $\text{H}_2\text{O}_2$  inhibée par l'addition de l'échantillon.

Les valeurs de la capacité antioxydante (AOC) correspondantes ont été calculées en utilisant la relation:

$$\text{CAO} = \frac{I_{H_2O_2} - I_{H_2O_2 \text{ en présence d'échantillon antioxydant}}}{I_{H_2O_2}} * 100$$

Où  $I_{H_2O_2}$ , est la densité de courant due à la réduction de  $H_2O_2$ , et,  $I_{H_2O_2}$  en présence de l'échantillon antioxydant, représentent la densité de courant due à l'addition d'échantillon antioxydant. Les résultats sont résumés dans la figure 8.



**Figure 8** : le pouvoir antioxydant des échantillons étudiés

La capacité antioxydante (AOC) des échantillons étudiés varie dans le sens suivant: Échantillon de Haouzia > (Échantillon de Picholine, Échantillon de Menara) À l'exception d'une concentration d'échantillon proche de 200 µl, le noyau de picholine présente la meilleure capacité antioxydante.

#### **4. Conclusion**

Un système analytique électrochimique pour l'évaluation de la capacité antioxydante a été développé. Le principal avantage de la nouvelle approche repose sur le couplage de l'analyse radicalaire et de l'inhibition de la réduction de  $H_2O_2$  par les extraits phénoliques des différentes variétés d'olive. Les résultats obtenus montrent que le système proposé est rapide, sensible et mieux adapté que des méthodes conventionnelles.

## Références

- [1] Vinson A.J., Hao Y., Su X., Zubic. L., 1993. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. *J. Agric Food Chem*, (46) : 3630-3634.
- [2] Sawa T., Nakao M., Ono K., 1999. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds : implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. *J. Agric. Food Chem*, (47) : 397-402.
- [3] Servili M., Esposito S., Urbani R., Taticch A., Montedoro C.F., 2009. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, (17) : 76-84.
- [4] Jeffrey S.A., Mahadevan R., Watee C., Paul G., Wayne J.H., Sresh C.S., 1999. Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism. *Free Radical Biology and Medicine*, (26) :869-880.
- [5] Q.J. Liu, H.F. Liu, Z.I. Yuan, D.W. Wei, Y.Z. Ye, Evaluation of antioxidant activity of chrysanthemum extracts and tea beverages by gold nanoparticles-based assay. *Biointerfaces*, 92(2012)348-352.
- [6] Bian C.L., Xiong H.Y., Zhang X.H., Wen W., Wang S.F., 2011. An electrochemical biosensor for analysis of Fenton-mediated oxidative damage to BSA using poly-o-phenylenediamine as electroactive probe. *Biosensors and Bioelectronics*, (28) :216-220.
- [7] Wang X., Jiao C., Yu Z., 2014. Electrochemical biosensor for assessment of the total antioxidant capacity of orange juice beverage based on the immobilizing DNA on a poly l-glutamic acid doped silver hybridized membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical*, (192) :628-633.
- [8] Rop o., Jurikova t., Mlcek j., Kramarova d., 2011. Antioxidant capacity scavenging radical activity and selected chemical composition of native apple cultivars from central europe. *J. Food qual*, (34) : 187.
- [9] Rop O., Mlcek J., Jurikova T., Valsikova M., Sochor J., Reznicek V., Kramarova D., 2010. Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) cultivars. *J. Med. Plants Res*, (4) : 24-31.
- [10] Rop O., Reznicek V., Mlcek J., Jurikova T., Balik J., Sochor J., Kramarova D., 2011. Antioxidant and radical oxygen species scavenging activities of 12 cultivars of blue honeysuckle fruit. *Hortic. Sci.*, (38) :63.

[11] Prieto-Simon B., Cortina M., Campas M., Calas-Blanchard C., 2008. Electrochemical biosensors as a tool for antioxidant capacity assessment. *Sens Actuators B Chem*, (129): 459-466.

[12] Campanella L. , Martini E., Tomassetti M., 2005. Antioxidant capacity of the algae using a biosensor method .*Talanta*, (66):902.

[13] Sawa T., Nakao M., Akaike T., Ono K., Maeda H., 1999. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. *J. Agric. Food Chem*, (47) :397-402.

## II. Évaluation électrochimique de la capacité antioxydante des huiles d'olive vierge

### Résumé

La voltamétrie cyclique (CV) et la voltamétrie d'onde carrée (SWV) ont été utilisées pour étudier le comportement électrochimique et évaluer la capacité antioxydante de l'huile d'olive vierge. Tout d'abord, dans ce travail, nous illustrons les méthodes électrochimiques basées sur la préparation et la caractérisation du capteur ampérométrique  $H_2O_2$ , puis on a évalué la capacité antioxydante de l'huile d'olive vierge en mesurant l'effet de l'huile d'olive vierge sur la réduction de  $H_2O_2$ .

### 1. Introduction

Les principaux composés phénoliques de l'huile d'olive : hydroxytyrosol, tyrosol, et l'oleuropéine, ont démontré une activité antioxydante très élevée. Le stress oxydatif provoqué par la production d'espèces réactives de l'oxygène est liée à diverses conditions pathologiques [1]. Plusieurs auteurs ont montré que les radicaux libres conduisent à la pathogenèse de diverses maladies dont le diabète, l'hypertension, l'inflammation et le cancer [2]. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS), naturellement générée pendant le métabolisme, peut endommager les structures biologiques comme les protéines, les lipides ou l'ADN. Normalement, les cellules se défendent contre les DS dommages avec les enzymes, mais parfois les défenses naturelles sont submergés par une trop grande production de ROS et une situation de stress oxydatif se produit. Dans ce cas, les macromolécules cellulaires et extracellulaires (protéines, lipides et acides nucléiques) peuvent endommager les structures biologiques comme les protéines, les lipides ou l'ADN. Normalement, les cellules se défendent contre les dommages de ROS avec des enzymes, mais parfois les défenses naturelles sont submergées par une génération excessive de ROS et une situation de stress oxydatif se produit. Dans ce cas, les macromolécules cellulaires et extracellulaires (protéines, lipides et acides nucléiques) peuvent subir des dommages oxydatifs, causant des lésions tissulaires [3, 4].

Une grande variété de capteurs et biocapteurs électrochimiques ont déjà été proposées pour l'évaluation de la capacité antioxydante [5-14]. La plupart d'entre eux sont basés sur la détection ampérométrique de  $H_2O_2$ , résultant de la dismutation catalysée de radicaux superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ) en présence de superoxyde dismutase [15-17]. Le but de ce travail était

d'étudier les propriétés électrochimiques des antioxydants contenus dans l'huile d'olive vierge, en utilisant une électrode en pâte de carbone modifiée en cuivre, un site de réactions de réduction oxydante.

## **2. Section expérimentale**

### **2.1. Appareillage**

Les mesures électrochimiques de l'appareil ont été enregistrées sur un instrument (potentiostat Voltalab PGSTAT modèle 100, Eco Chemie B. V., Utrecht, Pays-Bas) conduit par l'objet général des systèmes électrochimiques logiciels de traitement des données (master 4) logiciel voltalab. La cellule est équipée d'une électrode de pâte de carbone modifiée en cuivre (Cu-CPE), une électrode de platine d'une zone plus vaste et une électrode de référence Ag/AgCl.

### **2.2. Préparation de la Cu-CPE**

L'électrode de pâte de carbone modifiée par le cuivre, détaillé dans la partie précédente de ce chapitre page 103.

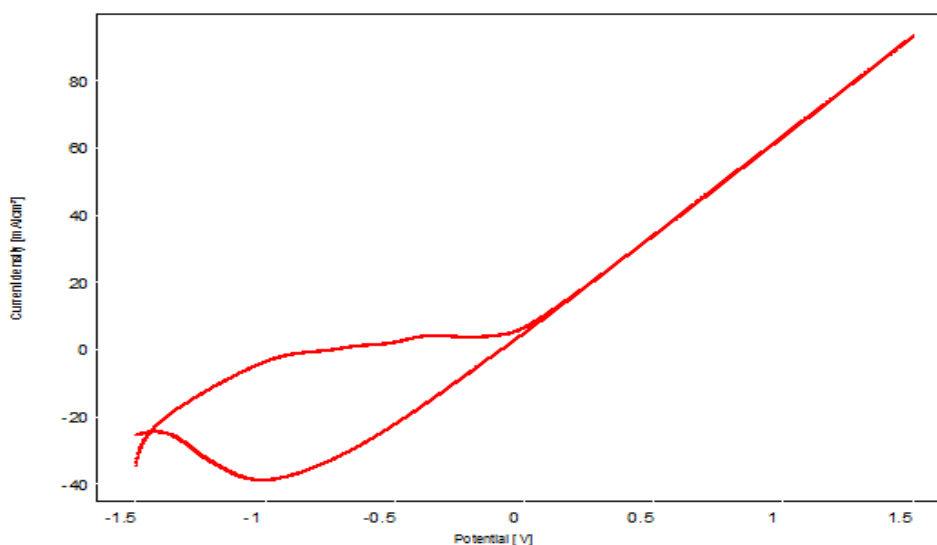
### **2.3. Échantillons**

L'étude portait sur trente échantillons d'huiles d'olive monovariétales de la variété Picholine collectés de deux régions au Maroc, la région de Marrakech-Tansift-Al Haouz et la région de Tadla-Azilal : 10 de la région de Marrakech-Tansift-Al Haouz de l'année 2013/2014, 20 échantillons de la de la région de Tadla-Azilal de deux successives 2013/2014 et 2014/2015. Les échantillons ont été conservés à l'abri de la lumière au réfrigérateur à 4° C pour éviter le phénomène de l'auto-oxydation préalable l'analyse.



### 3. Résultats et Discussion

Les voltamogrammes cycliques de Cu-CPE sont enregistrés dans la solution électrolytique. Le  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1 M à une vitesse de balayage de 100 mV / s est représenté sur la figure 1. Il s'agit d'un voltamogramme typique en cuivre qui montre deux pics redox, le premier dans la direction du balayage cathodique, à environ -0,9 V, et le second, dans la direction opposée à -0,2 V.

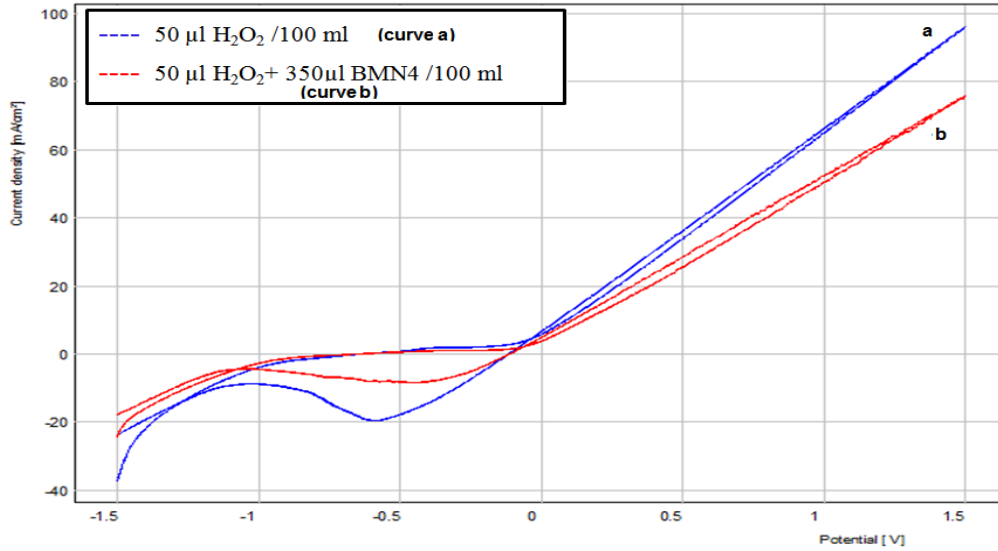


**Figure 1 :** Voltamogrammes cycliques enregistrés à Cu-CPE dans une solution 0,1 M de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , taux de balayage de 100 mV / s.

La structure de surface de la pâte de carbone modifiée par le cuivre a été observée à l'aide d'une microscopie électronique à balayage (page 105).

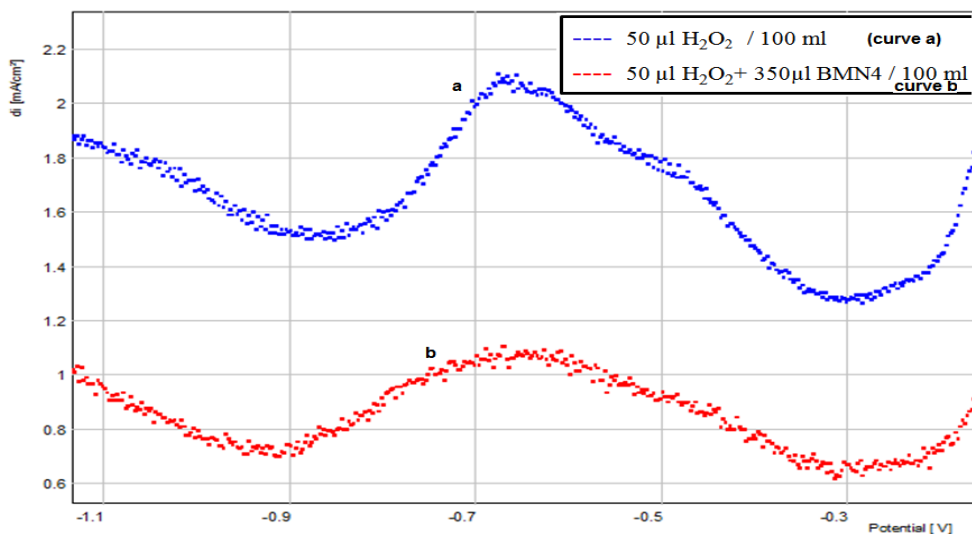
Tout d'abord, nous avons tracé la courbe d'étalonnage,  $\text{H}_2\text{O}_2$  du SWV enregistré au Cu-CPE dans du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1 M, contenant diverses concentrations de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La réponse voltammétrique de l'onde carrée était presque linéaire en fonction de la concentration en Oxygène radical (figure 3).

Après l'addition de 350  $\mu\text{l}$  / 100 ml de l'échantillon (huile d'olive vierge -HOV-), la densité de courant de réduction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  diminue (figure 4), entraînant par la suite une diminution de la concentration de radicaux libres dans la solution, ce qui conduit à la conclusion que HOV inhibe la capacité d'oxydation du  $\text{H}_2\text{O}_2$ .(oxydative)



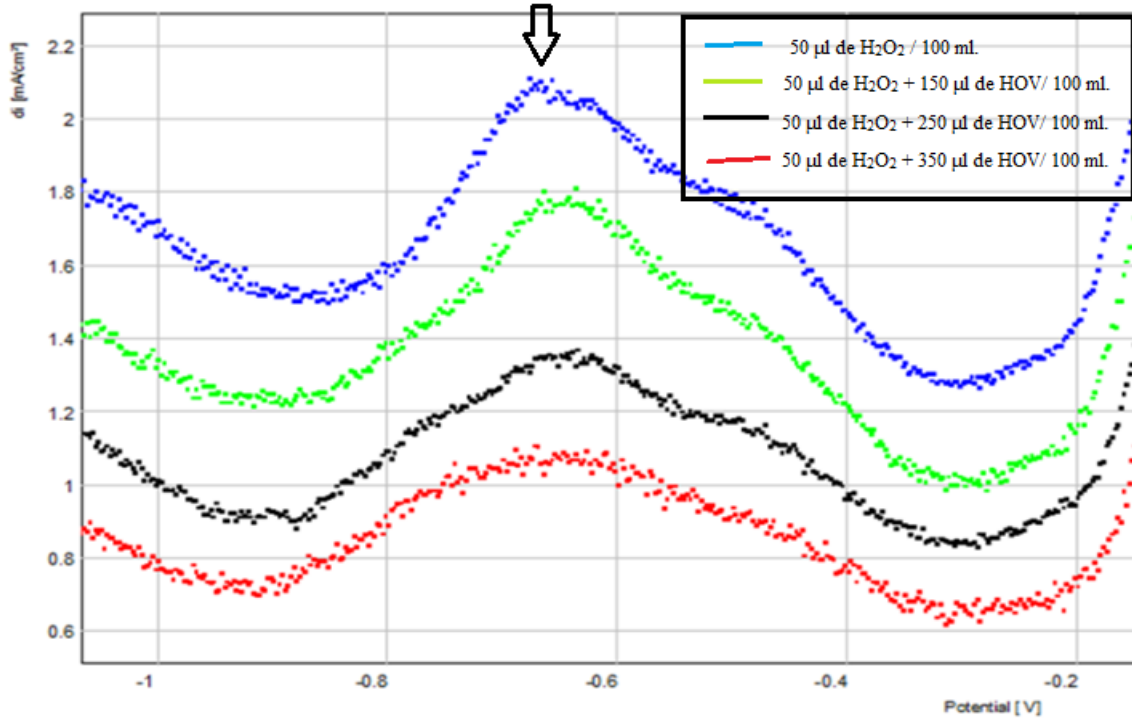
**Figure 2 :** Voltamogrammes cycliques enregistrés au CPE-Cu, le CPE dans une solution de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1 M contenant  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a- en l'absence de HOV, b- en présence de HOV

La figure 3 montre la performance de l'électrode en pâte de carbone modifiée en cuivre en présence d'antioxydant (350  $\mu\text{l}$  d'huile d'olive vierge) et du radical hydroxyle (50  $\mu\text{l}$ ). Pour effectuer l'étude électrochimique, tous les pics actuels ont été comparés au courant de signal obtenu avec le  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La réduction électrochimique des radicaux se manifeste par une voltamétrie à onde carrée par un pic défini à environ -0,6 V. L'addition de l'échantillon antioxydant à la solution contenant le radical libre entraîne la diminution de la densité de ce pic actuelle.



**Figure 3 :** Voltamogrammes d'ondes carrées enregistrés à Cu-CPE, en CPE dans une solution 0,1 M de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  contenant  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a- en l'absence de HOV, b- en présence de HOV.

La densité de courant de réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diminue avec l'augmentation de la quantité d'échantillon antioxydant (HOV) (figure 4).

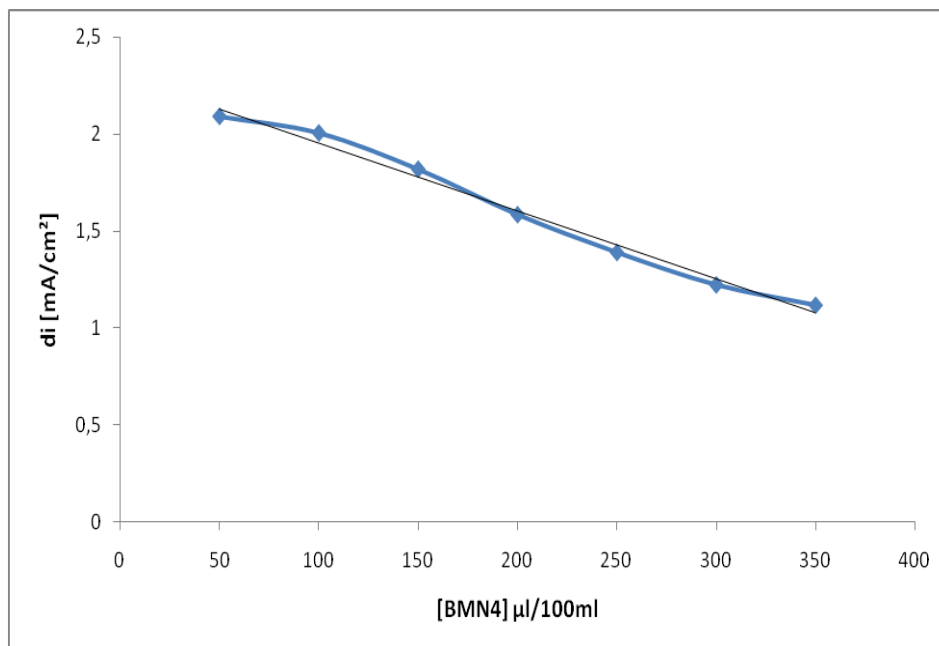


**Figure 4 :** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés à Cu-CPE, dans CPE dans une solution 0,1 M de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> contenant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Effet du HOV.

La réponse voltammétrique de l'onde carrée était presque linéaire en fonction de la concentration d'échantillon (HOV) (figure 5) a donné:

$$I \text{ (mA/cm}^2\text{)} = -0.003 \text{ [échantillon]} + 2.306$$

avec un coefficient de corrélation de 0,988.



**Figure 5 :** Evolution de la densité du courant de réduction  $H_2O_2$  avec la concentration de HOV.

Les valeurs de capacité antioxydante correspondantes, a été calculée à l'aide de la relation :

$$CAO = \frac{I_{H_2O_2} - I_{H_2O_2 \text{ en présence d'échantillon antioxydant}}}{I_{H_2O_2}} * 100$$

Où  $I_{H_2O_2}$  est la densité de courant due à la réduction de  $H_2O_2$

$I_{H_2O_2}$ -l'échantillon d'antioxydant représente la densité de courant due à l'addition d'échantillon antioxydant.

Dans ce travail, nous avons calculé et comparé les capacités antioxydantes de plusieurs échantillons d'huile d'olive vierge, collectés des deux régions différentes Tadla Azilal et Marrakech Tansift Alhaouz, au Maroc. Les résultats sont affichés dans l'histogramme suivant (figure 6):

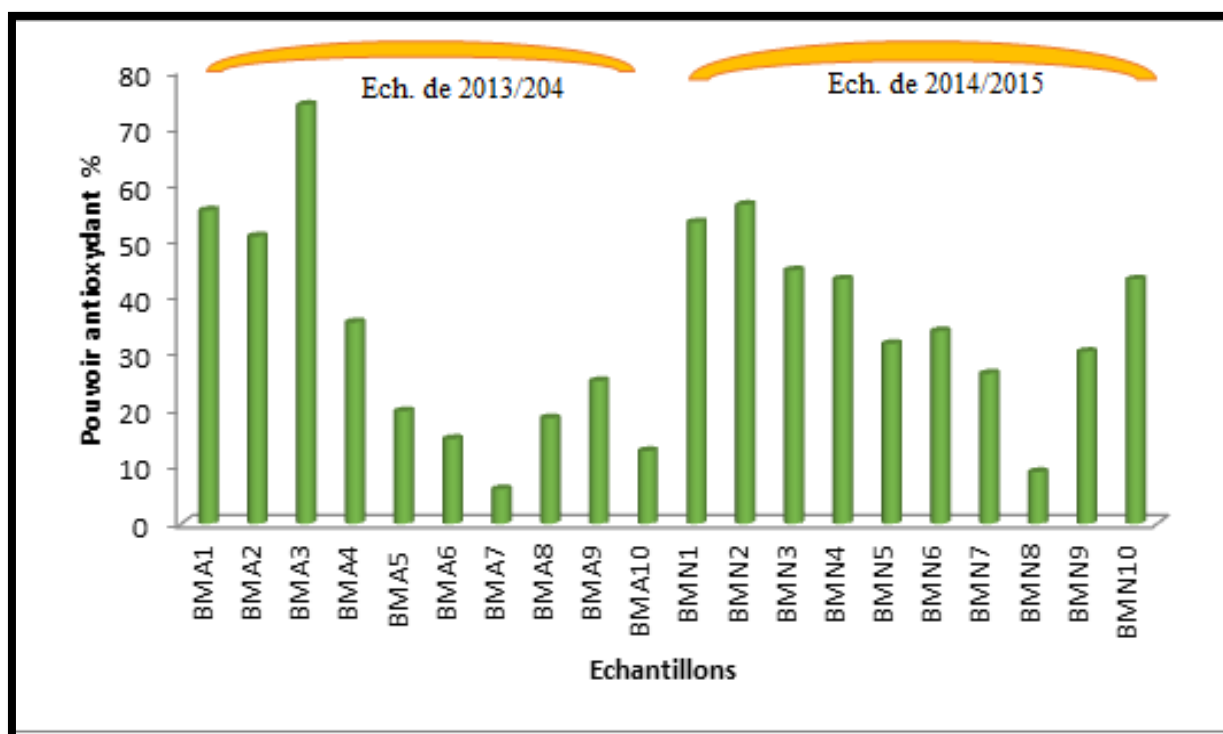


**Figure 6** : Comparaison de l'CAO des échantillons d'huile d'olive issues de deux différentes régions

Plusieurs échantillons d'huiles d'olive vierge ont été testées à différentes concentrations allant de 50 à 350  $\mu\text{l}/100\text{ml}$  pour déterminer leurs capacités antioxydante, ces échantillons ont été collectés de deux différents sites, au Maroc.

La plupart des échantillons étudiées présentent plus de 20% de la capacité antioxydante. Les échantillons de la région de Marrakech-Tansift-Alhaouz présente un pouvoir antioxydant moyen de 54% supérieur à celui des échantillons de la région de Tadla-Azilal qui est de 37%.

Après nous avons calculé et comparé les capacités antioxydantes de plusieurs échantillons d'huile d'olive vierge, de la même région Tadla Azilal et de deux années successives 2013/2014 (BMA) et 2014/2015 (BMN). Les résultats sont affichés dans l'histogramme suivant (figure 7).



**Figure 7 :** Comparaison de l'CAO des échantillons d'huile d'olive de deux années successives de la région de Tadla-Azilal

La plupart des échantillons étudiés présentent plus de 10% de la capacité antioxydante. Les échantillons de l'année 2014/2015 présente un pouvoir antioxydant moyen de 37% supérieur à celui des échantillons de l'année 2013/2014 qui est de 31%.

#### 4. Conclusion

Une électrode de carbone modifiée par le cuivre pour la quantification de la capacité antioxydante d'une variété d'huile d'olive vierge a été préparée et caractérisée dans des milieux électrolytiques. Tout d'abord, une courbe d'étalonnage est déterminée à partir de la relation entre la densité de courant de réduction de  $H_2O_2$  et la concentration de  $H_2O_2$ . L'huile d'olive vierge avait la capacité d'inhiber la réduction des radicaux superoxydes qui sont responsable de l'oxydation des cellules, provoquant un stress oxydatif subséquent.

## Références

- [1] Valko M., Leibfritz D., Mancol J., Cornin MTD., Mazur M., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, (39): 44-84.
- [2] Halliwell B., 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*, (344)721-724.
- [3] Mello L., Kubota L., 2007. Biosensors as a tool for the antioxidant status evaluation, *Talanta*, (72), 335-348.
- [4] Campanella L., Bonnani A., Finotti E., Tomassetti M., 2004. Biosensors for determination of total and natural antioxidant capacity of red and white wines: comparison with other spectrophotometric methods, *Biosens. Bioelectron.*, (19): 641-651.
- [5] Campanella L., Favero G., Persi L., Tomassetti M., 1999. Superoxide Dismutase Biosensors for Superoxide Radical Analysis, *Anal. Lett.*, (32): 2559-2581.
- [6] Bonnani A., Campanella L., Gatta T., Gregoria E., Tomassetti M., 2007. Evaluation of the antioxidant and prooxidant properties of several commercial dry spices by different analytical methods, *Food Chem.*, (102): 751-758.
- [7] Campanella L., Bonnani A., Favero G., Tomassetti M., 2003. Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *Bioanal. Chem.*, (375), 1011-1016.
- [8] Di J., Bi S., Zhang M., 2004. Surface plasmon resonance immunosensor for the detection of *Salmonella typhimurium*. *Biosens. Bioelectron.*, (19), 1497-1486.
- [9] Tiam Y., Okajima T., Kitamura F., Ohsaka T., 2002. A SOD-Based Amperometric Biosensor for Superoxide Ion. *J. Korean Electrochem. Soc.*, (5): 212-215.
- [10] Emregul E., 2005. Development of a new biosensor for superoxide radicals. *Anal. Bioanal. Chem.*, (383): 947-954.
- [11] Mesaros S., Vankova Z., Mesarsova A., Tomcik P., Grufeld S., 1998. Electrochemical determination of superoxide and nitric oxide generated from biological samples. *Bioelectrochem. Bioenergy*, (46): 33-37.
- [12] Ignatov S., Shishniashvili D., Ge B., Scheller F., Lisdat F., 2002. Amperometric biosensor based on a functionalized gold electrode for the detection of antioxidants. *Biosens. Bioelectron.*, (17): 191-199.
- [13] Lisdat F., Ge B., Rezeka R., Kozniewska E., Fresenius J., 1999. *Anal. Chem.*, (365) 494-498.
- [14] Beissenhirtz M., Scheller F., Lisdat F., 2003. Immobilized Cytochrome c Sensor in Organic/Aqueous Media for the Characterization of Hydrophilic and Hydrophobic Antioxidants. *Electroanal.*, (15): 1425-1435.

- [15] Cervantes M.I., Balderas P. M., Banos J. J., Ibarra M. O., Rojas B. F., Campos, M. E. Rojo O. N., Tachiquin M. R., Plata A. O., 2013. Comparison of antioxidant activity of hydroethanolic fresh and aged garlic extracts and their effects on cerebral ischemia, *Food chemistry*, (140): 343-352.
- [16] Aguilera P., Cardenas M. E. , Plata A. O., Aparicio D. L., D. Barrera D., Rojo M.E. , 2010. Aged garlic extract delays the appearance of infarct area in a cerebral ischemia model, an effect likely conditioned by the cellular antioxidant systems, *Phytomedicine*, (17): 241-247.
- [17] Mousa A. S., Mousa S. A., 2007. Cellular effects of garlic supplements and antioxidant vitamins in lowering marginally high blood pressure in humans: pilot study, *Nutrition Research*, (27): 119-123.
- [18] Alsabri Sami G., El-Basir Hanan M. , Rmeli Nouri B., Mohamed Salah B., Allafi Aemen A., Zetrini Abdumottaleb A. , Salem Asma A., Mohamed Sofian S., Gbaj Abdul., El-Baseir Mokhtar M., 2013. Phytochemical screening, antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities study of *Arbutus pavarii* plant, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, (1) :32-36.



## Chapitre 3 : Etude comparative des huiles végétales

## **I. Etude comparative des huiles végétales du Maroc : L'huile d'olive, l'huile d'argan et l'huile d'amande**

### **Résumé :**

L'importance des huiles végétales est bien établie. L'huile d'olive entre dans le régime appelé la Méditerranée qui est connu efficace contre le cancer et le mauvais cholestérol. Au Maroc dans le cadre du " Plan national d'olive", il était prévu d'une part à améliorer la productivité du patrimoine existant d'olive, et aussi de créer de nouvelles plantations. Les huiles végétales telles que l'huile d'olive vierge (HOV), l'huile d'argan (HAr) et l'huile d'amande (HAm) ont une valeur nutritionnelle et thérapeutique élevée. En fait, elles contiennent des acides gras, des triglycérides et des composés mineurs très importants tels que les antioxydants et les vitamines.

Dans ce travail, nous avons recueilli 40 échantillons d'huiles (13 HOV, 14 HAm et 13 HAr). Une caractérisation physico-chimique de ces échantillons a été effectuée par la détermination des indices de peroxyde et d'acide, de l'indice de réfraction, de la densité, de la teneur en alpha tocophérol par HPLC et des éléments minéraux (Fe, Mg, Cu, Zn et Na) par ICP-AES. Une analyse des échantillons par spectroscopie moyen infrarouge a été réalisée pour s'assurer de la pureté des huiles et de la présence de leurs fonctions organiques, dans le cadre d'une étude comparative de ces trois types d'huiles

### **1. Introduction**

Récemment, les produits dits écologiques et naturels sont devenus de plus en plus populaires. Sans aucun doute, cela est dû à l'augmentation du nombre de rapports sur les effets nocifs sur le corps humain de diverses substances chimiques couramment utilisées. Cela permet aux individus de rechercher des produits cosmétiques de manière naturelle, contenant le plus petit nombre possible d'additifs artificiels. Les huiles végétales sont relativement nouvelles sur le marché des cosmétiques [1]. Ces huiles extraites des plantes ont une riche histoire d'utilisation par les populations locales en tant que source de nourriture, d'énergie, de médicaments et pour des applications cosmétiques [2]. Les huiles végétales, servant de base cosmétique, empêchent la perte d'eau à travers la peau, principalement en formant une couche protectrice sur l'épiderme. En outre, ils adoucissent

la couche cornée et réduisent l'inflammation de la peau, affaiblissant ainsi la sensation de douleur. En outre, elles jouent un rôle très important dans le bon fonctionnement du corps humain [3].

Au Maroc, une gamme d'huiles végétales, telles que l'huile d'olive, l'huile d'amande et l'huile d'argan sont utilisées directement dans les produits cosmétiques sous forme de bases huileuses et d'émollients.

L'huile d'olive vierge (HOV) est un produit de l'extraction de l'olive et elle est considérée comme l'une des meilleures sources d'acides gras et d'antioxydants naturels tels que les composés phénoliques et les tocophérols [4].

L'huile d'amande a longtemps été utilisée dans les cercles de médecine complémentaire pour ses nombreux avantages pour la santé. Il a été démontré que l'huile d'amande possède plusieurs propriétés, notamment des effets anti-inflammatoires, immunitaires et anti-hépatotoxiques. Il est également utilisé comme composant des crèmes pour la peau sèche, des produits anti-rides et anti-âge dans l'industrie cosmétique ainsi qu'à des fins pharmaceutiques [5]. L'huile d'amande cosmétique est préparée par pressage à froid des grains d'amande.

Actuellement, l'huile d'argan a gagné une popularité dans le monde entier en raison de sa qualité, ces avantages potentiels pour la santé découlant de son utilisation et de son contrôle stricte de la pureté. L'huile d'argan, obtenue à partir de la fosse d'*Argania spinosa*, existe en tant que huile de beauté et huile comestible. L'huile de beauté est préparée à partir de grains non grillés et possède de nombreuses propriétés dermo cosmétiques [6].

L'objectif principal de la présente étude était l'évaluation de la qualité des huiles végétales produites au Maroc : l'huile d'olive, d'amande et d'argan (Cosmétiques). Pour ce faire, des échantillons ont été prélevés dans des huileries traditionnelles pour les échantillons d'huile d'olive et des coopératives pour les huiles d'amande et d'argan. Des analyses physicochimiques de l'acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction, densité, teneur en  $\alpha$ -tocophérol, teneur en éléments minéraux et une caractérisation par infrarouge à transformé de fourrier ont été réalisées.

## **2. Matériels et Méthodes**

### **2.1. Échantillons**

L'étude est portée sur quarante échantillons d'huiles végétales : 13 de l'huile d'argan, 13 de l'huile d'amande achetés au niveau de différentes coopératives de femmes et 14 échantillons de l'huile d'olive prélevés des huileries traditionnelles. Pendant la campagne agricole 2015/2016. Les échantillons ont été conservés dans des bouteilles de verre propres et sèches dans le réfrigérateur à 4 ° C pour éviter le phénomène d'auto-oxydation préalable à l'analyse.

### **2.2. L'acidité libre et l'indice de peroxyde**

Les deux variables ont été mesurées conformément à la norme AFNOR NF T60-204/220 : l'acidité libre, exprimée en acide oléique (%); la valeur de peroxyde (PV), qui est une mesure de la quantité d'hydroperoxydes ( $\text{meqO}_2 / \text{kg}$ ) due à l'oxydation. Elles sont définies ci-dessous :

- L'acidité (A) est le pourcentage d'acides gras libres exprimé conventionnellement selon la nature du corps gras, en acides oléiques de poids moléculaire (282) ;
- L'indice de peroxyde (Ip) est le nombre de milliéquivalent d'oxygène par kilogramme de corps gras ;

### **2.3. Détermination de l'indice de réfraction et de la densité**

Les mesures des densités et des indices de réfraction des échantillons d'huile d'olive ont été effectuées avec un compteur combiné, un compteur de densité et un réfractomètre à la fois, cité au chapitre 1 page 87.

### **2.4. Détermination du contenu de $\alpha$ -tocophérol**

L'analyse de  $\alpha$ -tocophérol, des échantillons d'huile d'olive végétales étudiées a été introduite au chapitre 1 page 87.

### **2.5. Détermination du contenu minéral**

Le dosage des oligo-éléments étudiés (K, Mg, Na, Cu, Fe et Zn) a été réalisé par analyse par la Spectrométrie d'Emission Atomique de Plasma d'argon à Couplage Inductif (ICP-AES), selon le mode opératoire détaillé au chapitre 1 page 87.

## 2.6. Spectroscopie moyen infrarouge

Les spectres sont obtenus à l'aide d'un système Bruker Tensor 27 FT-IR équipé d'un module "ATR" à réflexion unique "Golden Gate" chauffé, d'un détecteur TGS et d'un splitter de rayon KBr. Les spectres IR ont été réalisés dans le domaine de 4000 à 600  $\text{cm}^{-1}$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Caractérisation physicochimique

Les tableaux 1, 2 et 3 présentent les résultats obtenus de l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité des huiles végétales étudiées.

**Tableau 1:** Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction et densité de l'huile d'olive

huile végétale Caractéristiques		Huile d'Olive	Normes COI
Acidité libre (% acide oléique)	Min-Max	0,82-2,98	$\leq 3,3$
	Moyenne	1,93	
	Ecart type	0,47	
IP (meq $\text{O}_2/\text{Kg}$ )	Min-Max	7,87- 16,92	$\leq 20$
	Moyenne	13,67	
	Ecart type	2,98	
L'indice de réfraction	Min-Max	1,4699-1,4704	1,4677-1,4705
	Moyenne	1,4702	
	Ecart type	-	
La densité ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	Min-Max	0,9134-0,9141	0,910 à 0,916
	Moyenne	0,9137	
	Ecart type	-	

**Tableau 2:** Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction et densité de l'huile d'Argan

<b>Huile végétale</b> <b>Caractéristiques</b>		<b>Huile d'Argan</b>	<b>la norme marocaine (NM 08.5.090)</b>
<b>Acidité libre (% acide oléique)</b>	Min-Max	0,32-2,15	≤ 2,5
	Moyenne	1,25	
	Ecart type	0,50	
<b>IP (meq O<sub>2</sub>/Kg)</b>	Min-Max	3,97- 12,66	≤ 20
	Moyenne	8,97	
	Ecart type	2,36	
<b>L'indice de réfraction à 20°C</b>	Min-Max	1,4685-1 ,4691	1,463-1,472
	Moyenne	1,4688	
	Ecart type	-	
<b>La densité (g/ cm<sup>3</sup>)</b>	Min-Max	0,9130-0,9137	0,906 à 0,919
	Moyenne	0,9134	
	Ecart type	-	

**Tableau 3:** Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction et densité de l'huile d'Amande

<b>huile végétale</b> <b>Caractéristiques</b>		<b>Huile d'Amande</b>	<b>Norme CA (huile végétale)</b>
<b>Acidité libre (% acide oléique)</b>	Min-Max	0,9-2,31	≤ 4
	Moyenne	1,18	
	Ecart type	0,71	
<b>IP (meq O<sub>2</sub>/Kg)</b>	Min-Max	5,09- 14,41	≤ 15
	Moyenne	10,06	
	Ecart type	2,73	
<b>L'indice de réfraction</b>	Min-Max	1,4696-1,4704	1,469-1,472
	Moyenne	1,4699	
	Ecart type	-	
<b>La densité (g/ cm<sup>3</sup>)</b>	Min-Max	0,9141-0,9151	0,911 à 0,917
	Moyenne	0,9146	
	Ecart type	-	

L'indice d'acide des graisses est un paramètre approprié reflétant leur degré d'altération. C'est un critère chimique de fraîcheur et de pureté de l'huile.

Les trois tableaux (1-3) donnent l'acidité et l'indice de peroxyde pour les trois types d'huiles végétales. Les échantillons de l'huile d'olive (tableau1) présentent des valeurs de l'acidité, entre 0,82 et 2,98. Les valeurs de l'indice de peroxyde sont respectivement entre 7,87 et 16,92 m.éq O<sub>2</sub>/Kg d'huile. Les échantillons de l'huile d'argan (tableau 2) présentent assez de différence. Les valeurs de l'acidité sont entre 0,32 et 2,15 d'acidité et celles de l'indice de peroxyde sont, respectivement, entre 3,97 et 12,66 méq O<sub>2</sub>/Kg d'huile. Les échantillons de l'huile d'amande (tableau 3) ont des valeurs de l'acidité entre 0,9 et 2,31 d'acidité et celles de l'indice de peroxyde sont, respectivement, entre 5,09 et 14,41 méq O<sub>2</sub>/Kg d'huile. L'huile d'olive possède un indice d'acide et de peroxyde plus élevés que ceux d'argan et d'amande, sans dépasser les valeurs maximales définies par la norme internationale (Conseil Oléicole International 2015) [8].

La détermination de la valeur d'acide est souvent utilisée comme indication générale de l'état de l'huile. En effet, une augmentation de la valeur de l'acide s'accompagne d'un développement de saveurs et d'odeurs désagréables.

En général, la valeur du peroxyde augmente avec le temps de stockage. Les huiles exposées à la fois à l'oxygène atmosphérique et à la lumière ont montré une augmentation beaucoup plus importante de la valeur du peroxyde pendant le stockage [9].

Le Comité sur les graisses et les huiles du Codex Alimentarius ne décrit pas les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'amande car elle est produite à petite échelle dans quelques pays comme la France, l'Espagne et les Etats-Unis.

#### ➤ **La densité**

L'indice de densité est considéré comme le critère physique contrôlant la pureté de l'huile extraite. La valeur obtenue, 0,9137, pour l'huile d'olive est proche de celle trouvée par Maaouni [10] à 0,9138. Ainsi, la densité de l'huile d'argan est proche de l'huile d'olive (0,910-0,916) et de l'huile d'amande (0,911-0,917).

#### ➤ **L'indice de réfraction**

Les indices de réfraction des huiles étudiées, IR à 20°C sont donnés dans les tableaux (1-3). Les échantillons d'huiles végétales ont des valeurs de RI différentes. Cette tendance

suggère que l'indice de réfraction pourrait être utilisé dans l'identification préliminaire des huiles et des graisses [9]. L'indice de réfraction joue un rôle important dans de nombreuses branches de la physique, de la biologie et de la chimie [9]. L'indice de réfraction des graisses et des huiles est sensible à leur composition. Dans les graisses, le RI augmente avec l'augmentation de la longueur de chaîne des acides gras dans les triglycérides ou avec une insaturation croissante.

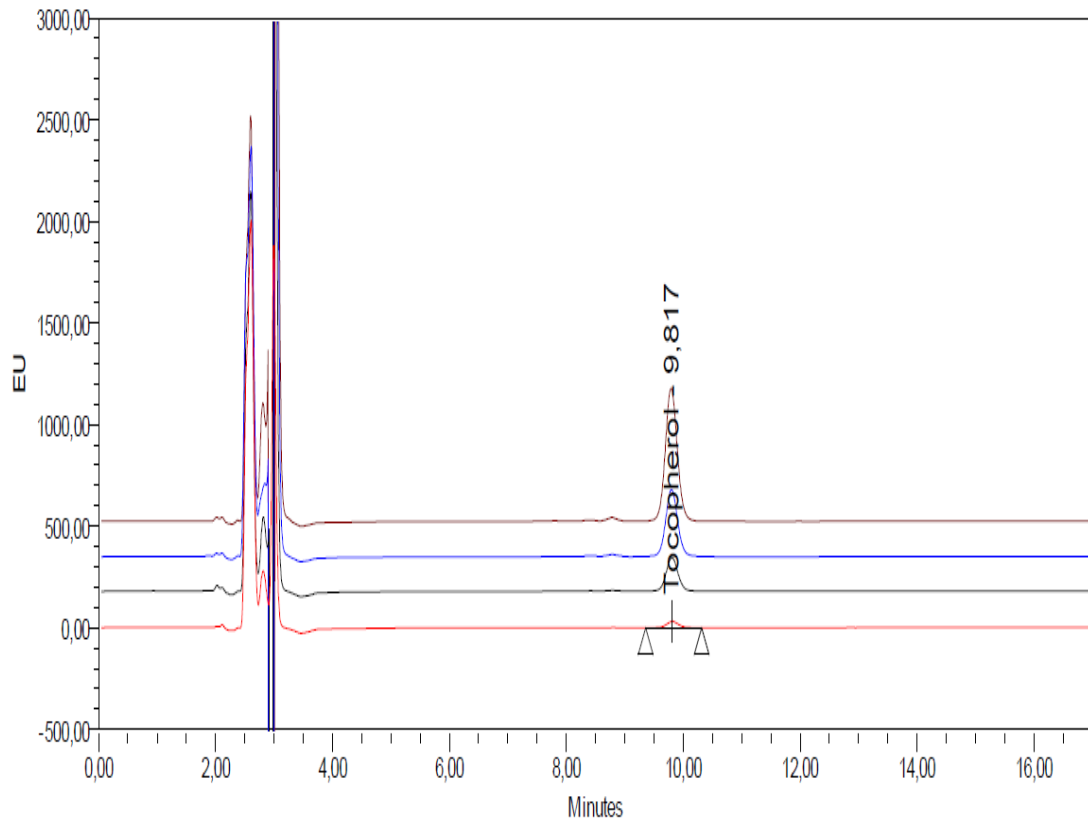
### **3.2. Détermination du contenu en l' $\alpha$ -tocophérol**

Les deux figures ci-après présentent un Chromatogramme HPLC de standard d' $\alpha$ -tocophérol seul et un type des 40 Chromatogrammes HPLC obtenus de l'échantillon d'huile d'argan (figure 1,2).

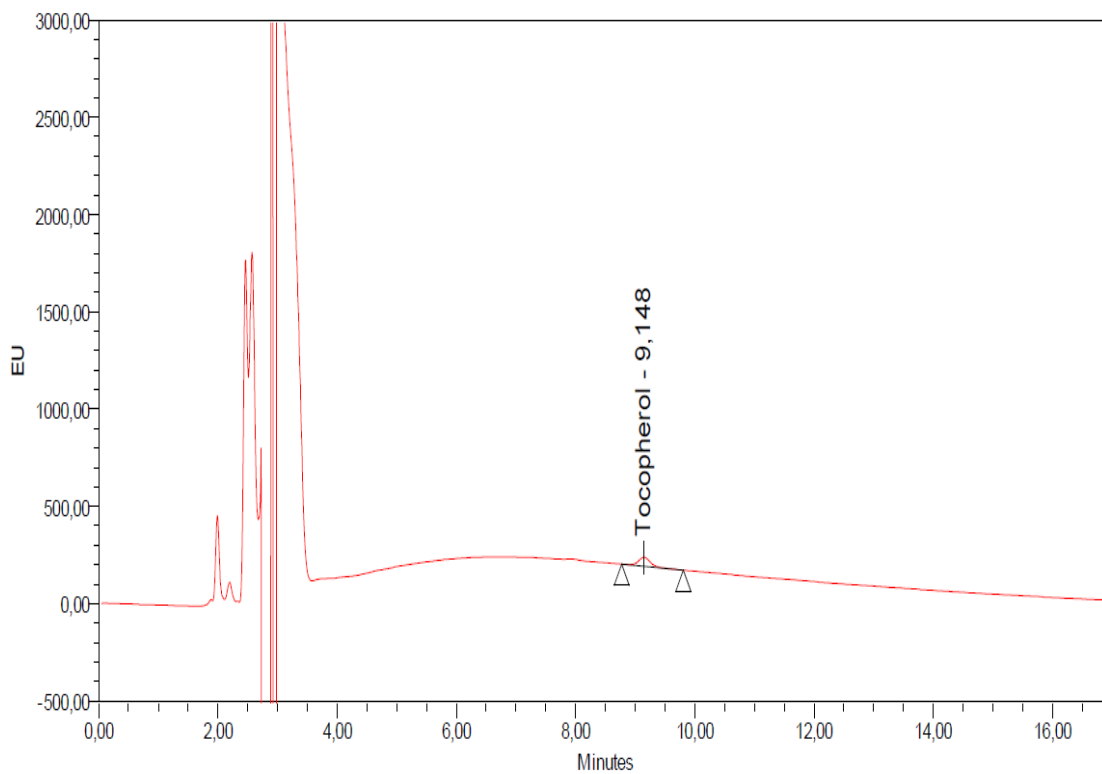
L'huiles végétale est la principale source de vitamine E. Elle constitue l'antioxydant naturel le plus important, elle assure non seulement une bonne conservation de l'huile, mais montre également un avantage pharmacologique dans le piégeage des radicaux libres oxygénés produits lors de réactions d'oxydo-réduction physiologiques [11].

La vitamine E est la principale vitamine liposoluble dans les huiles végétales, qui contiennent des concentrations totales de tocophérols de l'ordre de 200 à 1000 mg / kg. Ces composés sont généralement issus de l'extraction de graines oléagineuses [12].



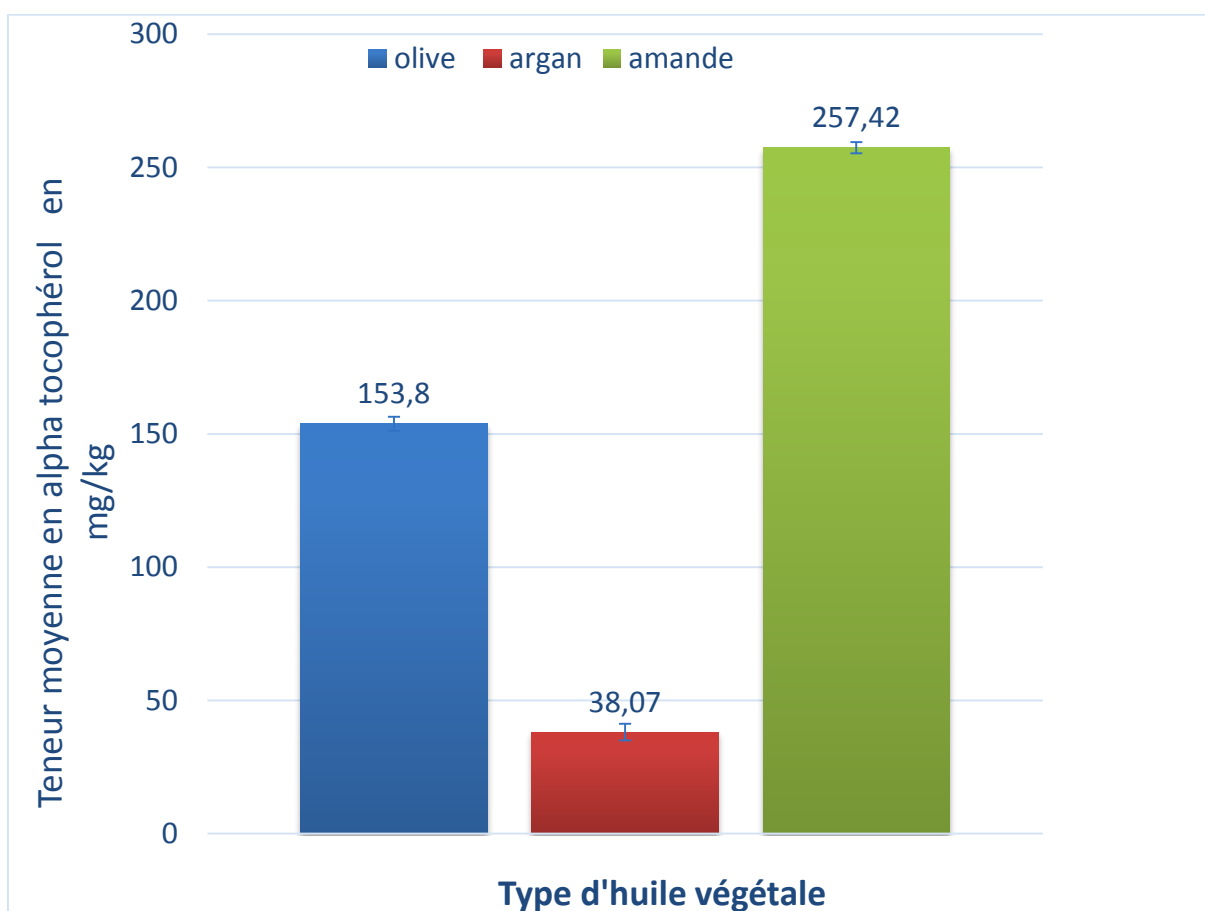


**Figure 1 :** Chromatogramme HPLC de standard d' $\alpha$ -tocophérol seul



**Figure 2 :** Chromatogramme HPLC de l' $\alpha$ -tocophérol de l'échantillon d'huile d'argan

La figure 3 présente la moyenne de l'alpha tocophérol trouvée pour les huiles végétales étudiées.



**Figure 3:** Moyenne de l'alpha tocophérol des trois types d'huiles étudiées

En ce qui concerne l'analyse quantitative, les teneurs moyennes suivantes d'alpha-tocophérol se rapportant à chaque type d'huile ont été relevées:  $(153,8 \pm 36,92)$  mg / kg d'huile d'olive;  $(257,42 \pm 4,13)$  mg / kg d'huile d'amande et  $(38,07 \pm 4,16)$  mg / kg d'huile d'argan. Après analyse statistique, une différence significative entre les concentrations en alpha-tocophérol a été vérifiée dans les huiles évaluées. Il a été observé que, parmi les produits analysés, les plus riches en alpha-tocophérol sont les huiles d'amande et d'olive, la concentration d'alpha-tocophérol obtenue pour les trois huiles dans cette étude était inférieure que la valeur trouvée dans une étude menée en Espagne par **Rueda** ( $48,8 \pm 11,8$  mg/kg d'alpha tocophérol pour l'huile d'argan  $169 \pm 4,19$  mg/kg pour l'huile d'olive et  $481 \pm 0,05$  mg/kg pour l'huile d'amande) [13]. D'autres travaux avaient décrit des valeurs légèrement différentes pour l'huile d'argan  $35 \pm 1$  mg/kg et plus supérieurs pour l'huile

d'olive  $190 \pm 1$  mg/kg [14]. Ces valeurs concordent avec la norme marocaine 08.05.090 représentée par 14,4-38,4 mg / kg (SNIMA, 2003) [15] Pour l'huile d'argan.

Il a été rapporté que la durée de stockage et les conditions d'extraction affectent également la teneur en tocophérols dans ces huiles [16].

Parmi les constituants mineurs, le tocophérol constitue la principale différence entre l'huile d'argan et les autres huiles comestibles.

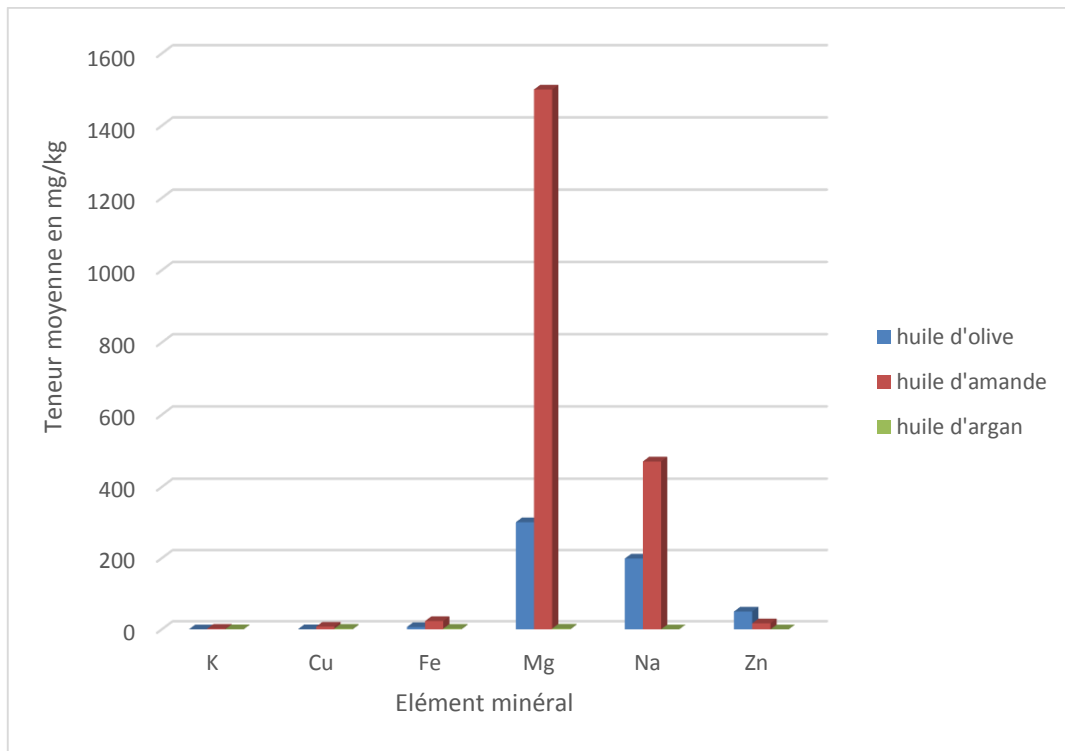
### 3.4.Détermination des éléments minéraux

Les techniques les plus couramment utilisées pour la détermination des métaux dans les échantillons d'huile sont ICP AES. Les résultats sont présentés comme la moyenne des valeurs moyennes de chaque huile (tableau 4).

**Tableau 4:** Teneurs des éléments minéraux dans les trois types d'huile étudiés en (mg /kg)

élément	Ligne spectrale (nm)	huile d'olive	huile d'amande	huile d'argan
<b>K</b>	766,49	0,174	1,926	0,42
<b>Cu</b>	327,393	0,302	7,705	1,972
<b>Fe</b>	238,204	6,607	23,38	1,94
<b>Mg</b>	280,271	301	1500	2,10
<b>Na</b>	589,592	198,9	470,5	0,154
<b>Zn</b>	213,857	50	17	0,15

Le tableau 4 et la figure 4 montrent les résultats obtenus pour la détermination des éléments minéraux par ICP-AES.



**Figure 4:** Les teneurs en éléments minéraux dans les trois types d'huile étudiés en (mg /kg)

Le pouvoir de détection de la technique ICP-AES était suffisamment élevé pour la détermination de Cu, Fe, Mg, Na et Zn dans des échantillons d'huiles. Des teneurs de 0,15 mg/kg de Zn dans les échantillons d'huiles d'argan à 50 mg/kg dans les échantillons d'huiles d'olive ont été trouvées. L'huile d'amande diffère des autres huiles en ce qui concerne la teneur de K (1,926 mg/kg). Pour les autres huiles, la teneur de K était en dessous de 1 mg /kg. Les échantillons d'huile d'olive et d'huile d'amande contiennent des quantités plus élevées de Mg (301 à 1500 mg / kg) que les échantillons d'huiles d'argan analysées (10 mg / kg). La teneur de Na des huiles étudiées est assez élevée, en particulier pour l'huile d'olive (198,9 mg / kg) et l'huile d'amande (470,5 mg/ kg). Des quantités assez élevées de Fe et Cu ont été trouvées dans l'huile d'amande (23,38 Fe mg / kg et 7,705 Cu mg/kg).

De plus, les échantillons d'huiles d'amande présentent des teneurs plus élevées en Mg, Na, Cu et Fe par rapport à l'huile d'argan et une teneur plus faible de Zn que l'huile d'olive. Des résultats similaires ont été obtenus dans la comparaison entre la composition des oligo-éléments d'argan et d'olive ; Les échantillons d'huiles d'olive contenaient des teneurs aussi élevées de Mg, Na et de Zn que les huiles d'argan et elles présentent une

teneur faible de Cu. Ces résultats sont un peu similaires à ceux rapportés pour d'autres pays, tels que la Turquie et Palestine [6, 17,18].

Les échantillons d'huiles d'argan ont une teneur moyenne de Fe de 1,94 mg/kg inférieure à la valeur fixée par le Codex Alimentarius qui est 5 mg/kg et aussi celle fixée par le Conseil d'Olive International (3mg/kg). Pour les autres types d'échantillons d'huiles d'olive et d'amande la teneur moyenne en Fe dépasse la limite recommandée. La valeur moyenne de Cu était de 0,302 mg/kg pour l'huile d'olive est inférieure à celle fixée à par le Codex Alimentarius [19] (0,4mg/kg) et presque égale à celle recommandée par le COI (0,3mg/kg), cette teneur est supérieure à celle enregistrés pour les échantillons d'amande et d'argan.

La qualité et la composition chimique de l'huile extraite peuvent varier d'une méthode d'extraction à l'autre. La qualité de l'huile et sa stabilité sont très importantes pour l'utilisation souhaitable du consommateur. La qualité de n'importe quelle huile est indiquée par quelques propriétés physicochimiques qui fournissent une indication sur la qualité nutritive et physique de l'huile. Pour conserver la qualité de l'huile, il faut veiller à ne pas déformer les huiles végétales car elles subissent facilement une détérioration oxydative, ce qui raccourcit la durée de conservation.

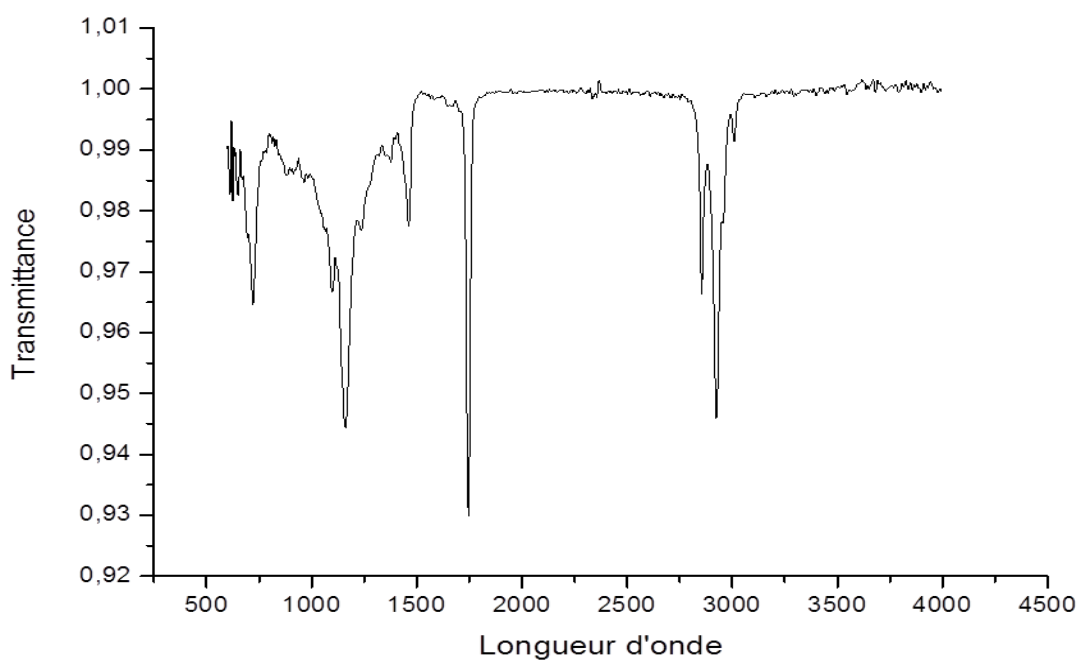
L'un des critères de qualité les plus importants des huiles végétales est leur teneur en métal. La présence de métaux dans les huiles végétales est due à la fois à des facteurs endogènes, liés au métabolisme végétal ainsi qu'à des facteurs exogènes dues à la contamination lors des techniques agronomiques de production et de collecte des graines lors des procédés d'extraction et de traitement, matériaux d'emballage et le stockage [18].

### **3.4. Spectroscopie moyen infrarouge**

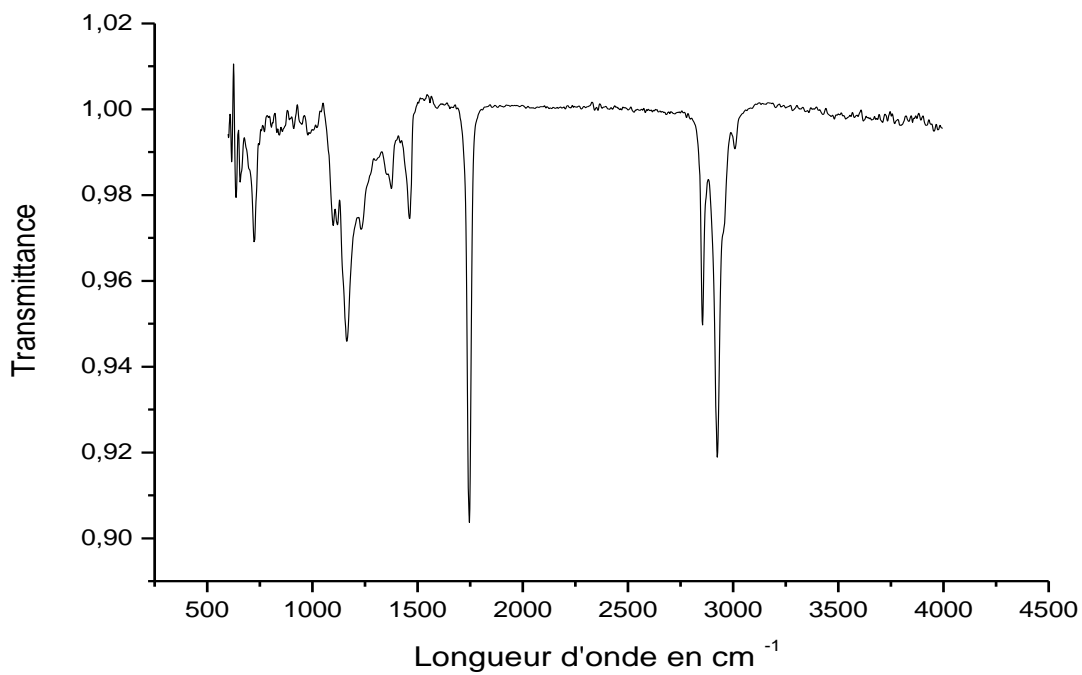
Les figure 5a, 5b, 5c montrent les spectres MIR-TF obtenus de chaque échantillon d'huiles d'olive, d'argan et d'amande de 600 à 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

La figure 5d présente les spectres de tous les échantillons superposés (pas de différence). Les spectres FTIR de tous les échantillons ont présenté des différences spectrales dues à certains pics, à savoir à 721  $\text{cm}^{-1}$  associé aux modes de basculement  $\text{CH}_2$ , et à 1097, 1117, 1160 correspondant aux vibrations d'étirement C-O, le dernier présentant une forte intensité, et constituant une caractéristique des esters aliphatiques. Un autre pic lié à

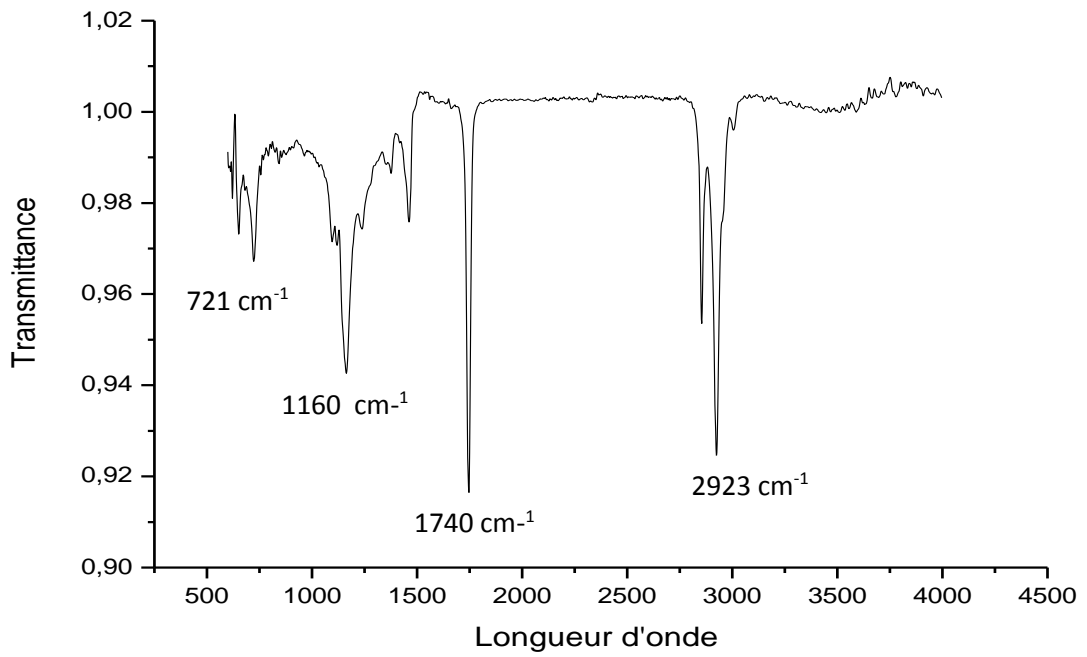
l'étirement C-O est trouvé, à  $1236\text{ cm}^{-1}$ , dans ce cas présentant une certaine contribution des modes de flexion  $\text{CH}_2$ .



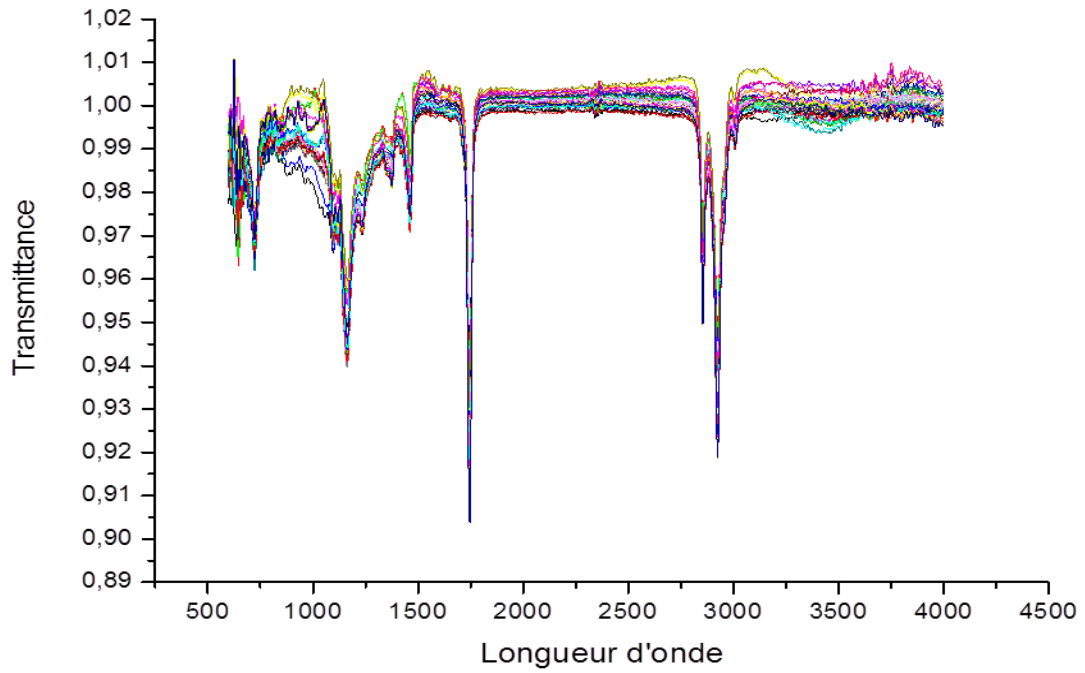
**Figure 5a** : Spectre MIR-TF d'échantillon d'huile d'amande



**Figure 5b** : Spectre MIR-TF d'échantillon d'huile d'argan



**Figure 5c :** Spectre MIR-TF d'échantillon d'huile d'olive



**Figure 5d :** Spectres MIR-TF superposés de 40 échantillons d'huiles analysées

En ce qui concerne les chaînes alkyls, il y a deux pics supplémentaires à pointer dans ce domaine fréquentiel ( $<1800\text{ cm}^{-1}$ ), à  $1374$  et  $1746\text{ cm}^{-1}$ , le premier en raison de la flexion symétrique des groupes terminaux ( $\text{CH}_3$ ), tandis que le dernier peut être affecté à la vibration d'étirement des groupes  $\text{CH}_2$ . Enfin, dans cet intervalle de fréquence, le pic fort à  $1740\text{ cm}^{-1}$  provient de la vibration d'étirement du carbonyle ( $\text{C=O}$ ), associée dans ce cas à la liaison triglycéride ester, ainsi que du groupe carboxylique des acides gras libres.

Les modes d'étirement  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$  (fraction aliphatique des acides gras) sont observés dans la région à haut nombre d'onde ( $2750\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ ), où les vibrations d'étirement symétriques et asymétriques des groupes  $\text{CH}_2$  sont responsables des absorbances à  $2853$  et  $2923\text{ cm}^{-1}$ . De plus, un épaulement à  $2953\text{ cm}^{-1}$  est également visible dans cet intervalle, en raison de l'étirement asymétrique du groupe terminal ( $\text{CH}_3$ ) des chaînes alcanes [20, 21,22].

#### 4. Conclusion

Cette étude a montré les différents paramètres de qualité des huiles végétales cosmétiques les plus répandues au Maroc : l'huile d'olive, l'huile d'argan et l'huile d'amande, et qui sont issues de différentes zones géographiques du Maroc.

Les huiles étudiées, présentent des caractéristiques chimiques et physiques comme l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité qui sont conformes à celles recommandées par la norme du Conseil Oléicole International (COI). L'huile d'olive possède un indice d'acide et de peroxyde plus élevés que ceux d'argan et d'amande.

Par contre d'autres caractéristiques telles que la teneur en quelques éléments minéraux comme le Cu ne sont pas conformes à cette norme. On trouve que les échantillons d'huile d'amande possèdent des teneurs plus élevées en termes de Fe, Cu, Mg et Na par rapport aux autres types d'huiles. Les résultats montrent aussi que les huiles d'amande sont plus riches en alpha tocophérol ( $257,42\text{ mg/Kg}$ ) par rapport aux celles de l'huile d'olive ( $153,8\text{ mg/kg}$ ) et de l'huile d'argan ( $38,07\text{ mg/kg}$ ). Ce qui a été confirmé par la littérature.

Les résultats de la spectroscopie FTIR nous ont permis de s'assurer de la pureté des différentes huiles et de la présence de leurs fonctions organiques.

Ainsi, ce travail contribue à une meilleure connaissance de la qualité des huiles végétales cosmétiques marocaines et à l'établissement d'une base de données des huiles produites dans des différentes zones au Maroc.



## Références

- [1] Ligeża M., Wyglądacz D., Tobiasz A., Jaworecka K., Reich A., 2016. Natural cold pressed oils as cosmetic products. *Family Medicine & Primary Care Review*, (18): 443–447.
- [2] Vermaak I., Kamatou G.P.P., Komane-Mofokeng B., Viljoen A.M., Beckett K., 2011. African seed oils of commercial importance -Cosmetic applications. *South African Journal of Botany*, (77): 920–933.
- [3] ZIELIŃSKA A., Nowak I., 2014. Fatty acids in vegetable oils and their importance in cosmetic industry. *CHEMIK*, (68): 103–110.
- [4] Ballusa C. A., Dillenburg Meinharta A., Teixeira Godoy H., 2014. A quantitative study on the phenolic compound, tocopherol and fatty acid contents of monovarietal virgin olive oils produced in the southeast region of Brazil. *Food Research International*, (62): 74–83
- [5] Sakar E.H., El Yamani M., Rharrabti Y., 2017. Variability of oil content and its physico-chemical traits from five almond (*Prunisdulcis*) cultivars grown in northern Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, (8): 2679-2686.
- [6] Ennoukha F., Bchitoua R., Mohammed F., Guillaume D., Harhard H., Bouhaoussa A., 2017. Study of the effects of extraction methods on Argan oil quality through its metal content. *Industrial Crops & Products*, (109):182–184.
- [7] Gouvinhas I I., Dominguez-Perles R., Machado1 N., Carvalho T., Matos C., A I. R. N. A. Barros A., 2016. Effect of Agro-Environmental Factors on the Mineral Content of Olive Oils: Categorization of the Three Major Portuguese Cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, (93):813–822.
- [8] Conseil Oléicole International, 2015. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. COI/T.15/NC n° 3/Rév.8 février 2015
- [9] AL Majidi M.I.H., Taleb Bader A., 2015. Physicochemical Characteristics of Some Imported Edible Vegetable Oils in Iraq. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, (5): 488-494
- [10] Maaouni M., Benali A., Mourhat Z., Ait Ider A., Rabi S., Mbarki M., 2017. Physico Chemical Characterization of Olive Oils produced in the rural commune of Tagzirt, province of Beni Mellal, Morocco. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, (20) : 817-826.
- [11] Radi N., 2003. Thèse de doctorat, L'Arganier arbre du sud-ouest marocain, en péril, à protéger, Université de Nantes, p. 59.
- [12] GRILO E.C., COSTA P. N., Sânzio GURGEL C.S., BESERRA A.F., ALMEIDA F.N., DIMENSTEIN R., 2014. Alpha-tocopherol and gamma-tocopherol concentration in vegetable oils. *Food Science and Technology*, (34):379-385.

- [13] Rueda A., Samaniego-Sánchez C., Olalla M., Giménez R., Cabrera-Vique C., 2016. Combination of Analytical and Chemometric Methods as a Useful Tool for the Characterization of Extra Virgin Argan Oil and Other Edible Virgin Oils. Role of Polyphenols and Tocopherols. *Journal of AOAC International*, (99): 489 -494
- [14] Taribak C., Casas L., Mantell C., Elfadli Z., E.Metni R., J. Martínez de la Ossa E., 2013. Quality of Cosmetic Argan Oil Extracted by Supercritical Fluid Extraction from *Arganiaspinosa* L. *Journal of Chemistry*.
- [15] Service de normalisation industrielle marocaine (Snima). Huiles d'argane. Spécifications. Norme marocaine NM 08.5.090. Rabat : Snima, 2003.
- [16] El Kharrassi Y., Maata N., Mazri M.A., El Kamouni S., Talbi M., El Kebbaj R., Moustaid K., Essamadi A.K., Andreoletti P., El Mzouri E. H., Cherkaoui-Malki M., Nasser B., 2017. Chemical and phytochemical characterizations of argan oil (*Arganiaspinosa* L. *skeels*), olive oil (*Olea europaea* L. cv. *Moroccan picholine*), cactus pear (*Opuntia megacantha salm-dyck*) seed oil and cactus cladode essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*.
- [17] Musa Özcan M., 2006. Determination of the mineral compositions of some selected oil-bearing seeds and kernels using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), *GRASAS Y ACEITES*, (57): 211-218.
- [18] Fuqha E.B., 2015. Thèse de doctorat Determination of Some Metallic Elements and their Effect on Physical Properties of Edible Olive Oil in Palestine An-Najah National University - Nablus, Palestine.
- [19] Codex Alimentarius, 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS CODEX STAN 210-1999
- [20] Gouvinhas I., M.M.M. de Almeida J., Carvalho T., Machado N., I.R.N.A. Barros A., 2015. Discrimination and characterization of extra virgin olive oils from three cultivars in different maturation stages using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics. *Food Chemistry*, (174): 226–232.
- [21] Benlamaalam S., Chigr M., Hirri A., Auhmani A., Mbarki M., 2015. Characterization and Discrimination of Virgin Olive Oils from Different Moroccan Geographical Areas Using MIR Spectroscopy Coupled to Chemometric Methods. *International Journal of Science and Research*, (4):2443-2448.
- [22] Hirri A., Bassbasi M., Platikanov S., Tauler R., Oussama A., 2016. FTIR Spectroscopy and PLS-DA Classification and Prediction of Four Commercial Grade Virgin Olive Oils from Morocco. *Food Analytical Methods*, (9) :974–981.

## **CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

L'objectif de ce travail était l'étude et la valorisation des produits et des sous-produits de l'olivier de différentes variétés et régions marocaines dans un premier temps et la comparaison de l'huile d'olive à d'autres huiles végétales connues comme l'huile d'amande et l'huile d'argan afin d'établir le profil de quelques caractéristiques chimiques de chaque huile. Ce travail de recherche s'articule autour de deux axes principaux :

Le premier axe s'intéresse à la caractérisation et la classification de l'huile d'olive marocaine ainsi l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive et du noyau d'olive par des méthodes électrochimiques. Le second axe consiste à une étude comparative entre l'huile d'olive avec des huiles végétales marocaines comme l'huile d'argan et l'huile de point de vue cosmétique :

- L'huile Hawziya possède un indice d'acide plus élevé que ceux des cultivars Menara et Picholine cultivars, sans dépasser les valeurs maximales définies par la norme internationale (Conseil Oléicole International 2015).

Une analyse par CPG a été effectuée sur une série de 36 échantillons d'huiles d'olive vierges. En fait les trois variétés sont riches en acide oléique (C18 :1  $\omega$ 9), le taux de cet acide dans les variétés étudiées est 74 % pour Menara, 71 % pour Hawziya et 70% pour Picholine.

En outre, le pourcentage de l'acide linoléique varie entre 8, 415 % à 11, 3391% pour les trois variétés avec une légère prédominance dans l'huile de la Picholine. Les pourcentages de l'acide linoléique des différentes huiles étudiées restent légèrement au-dessus de la valeur établie par le Conseil oléicole international qui est de 1 %. L'application de la chimométrie sur les données CPG par la méthode de l'analyse en composantes principales (ACP) a permis une discrimination entre les échantillons d'huiles d'olives de différentes variétés. La représentation ACP de ces huiles a montré que la première composante principale PC1 et la deuxième composante principale PC2 expliquent, respectivement, 100% et 0 % soit 100 % de la variance totale. Par conséquent, il y a une meilleure discrimination entre les 3 cultivars d'huiles. Après l'application de la méthode PLS-DA de prédiction des nouveaux échantillons, ce modèle a montré une capacité prédictive satisfaisante et une classification précise à 100% des échantillons d'olive.

- L'huile d'olive vierge produite au niveau de ces trois zones géographiques marocaines étudiées, présente des caractéristiques chimiques et physiques comme l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité qui sont conformes à celles

recommandées par la norme du Conseil Oléicole International(COI). Par contre d'autres caractéristiques telles que la teneur en quelques éléments minéraux comme le Cu ne sont pas conformes à cette norme.

- Les résultats montrent que les huiles de la région de Meknés-Tafilalt seraient plus riches en alpha tocophérol (195,36 mg/kg) par rapport à celles de Marrakech-Alhaouz (143,27mg/kg) et de Tadla-Azilal (109,13 mg/kg). 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 ces différentes zones au Maroc.
- Les spectres FTIR des huiles d'olive vierges sont très similaires. Alors, nous avons eu recours à la chimiométrie 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, 25% et 13% soit 38% de la variance totale. Par conséquent, il y a certaines discriminations entre les 3 groupes d'huiles provenant des trois régions (Tadla-Azilal, Marrakech-Tansift-Alhaouz et Meknés-Tafilat).
- Une électrode de carbone modifiée par le cuivre pour la quantification de la capacité antioxydante d'une variété d'huile d'olive vierge a été préparée et caractérisée dans des milieux électrolytiques. Tout d'abord, une courbe d'étalonnage est déterminée à partir de la relation entre la densité de courant de réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'huile d'olive vierge avait la capacité d'inhiber la réduction des radicaux superoxydes qui sont responsable de l'oxydation des cellules, provoquant un stress oxydatif subséquent.
- Les résultats obtenus montrent que la capacité antioxydante (AOC) des noyaux étudiés varie dans le sens suivant :  
Échantillon de Hawziya > (Échantillon de Picholine, Échantillon de Menara).  
La plupart des échantillons d'huiles étudiées présentent plus de 20 % de la capacité antioxydante.
- La plupart des échantillons étudiées présentent plus de 10% de la capacité antioxydante. Les échantillons de l'année 2014/2015 présente un pouvoir antioxydant moyen de 37% supérieur à celui des échantillons de l'année 2013/2014 qui est de 31%.

- Les huiles étudiées (huile d'amande, huile d'olive' et huile d'argan), présentent des caractéristiques chimiques et physiques comme l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice de réfraction et la densité qui sont conformes à celles recommandées par la norme du Conseil Oléicole International(COI). L'huile d'olive possède un indice d'acide et de peroxyde plus élevés que ceux d'argan et d'amande. Par contre, autres caractéristiques telles que la teneur en quelques éléments minéraux comme le Cu ne sont pas conformes à cette norme. On trouve que les échantillons d'huile d'amande possèdent des teneurs plus élevées en termes de Fe, Cu, Mg et Na par rapport aux autres types d'huiles. Les résultats montrent aussi que les huiles d'amande sont plus riches en alpha tocophérol (257,42 mg/Kg) par rapport à celles de l'huile d'olive (153,8mg/kg) et de l'huile d'argan (38,07 mg/kg).
- Les résultats de la spectroscopie FTIR nous ont permis de s'assurer de la pureté des différentes huiles et de la présence de leurs fonctions organiques.  
Ainsi, ce travail contribue à une meilleure connaissance de la qualité des huiles végétales cosmétiques marocaines et à l'établissement d'une base de données des huiles produites dans des trois différentes zones géographiques au Maroc.

## **PERSPECTIVES**

L'olivier, l'arganier et l'amandier possèdent plusieurs propriétés étudiées dans le présent travail donnant des résultats préliminaires et nécessitant des études complémentaires approfondies. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- 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.
- Application des autres méthodes chimiométriques pouvant détecté d'éventuelles différences en composition chimique en termes de composés phénoliques antioxydants pour l'huile d'olive vierge de différentes provenances variétales et géographiques.
- Caractérisation quantitative des composés phénoliques issus de différentes huile végétale par des méthodes de séparation plus performantes (CLHP/SM, CG/SM...).
- Valorisation des huiles végétales en tant que produits de terroir, grâce à leur effet antioxydant, voire antitumoral.