



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



N° d'ordre : 185 /2018

Centre d'Études Doctorales « Sciences et Techniques »
Formation doctorale « Ressources Naturelles, Environnement et Santé »

THÈSE

Présentée par

Mohamed MAAOUNI

Pour l'obtention du grade de

Docteur

Spécialité : Chimie

Option : Agroalimentaire-Chimie

EVALUATION DE LA QUALITÉ DES HUILES D'OLIVE EXTRAITES DE LA VARIÉTÉ « PICHOLINE MAROCAINE » PAR CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE. EFFET DU DEGRÉ DE MATURITÉ DES OLIVES ET APPORTS DES METHODES CHIMIOMÉTRIQUES.

Soutenue le 22 Décembre 2018 devant la commission d'examen :

Najat EL HADRI	Professeur à la FS - UAC - Marrakech	Présidente
Hassan CHAAIR	Professeur à la FST- UH II - Mohammedia	Rapporteur
Mohammed CHIGR	Professeur à la FST- USMS - Béni Mellal	Rapporteur
Amine MOUBARIK	Professeur à la FP- USMS - Béni Mellal	Rapporteur
Noureddine BARKA	Professeur à la FP- USMS - Khouribga	Examineur
Souad RABI	Professeur à la FST- USMS - Béni Mellal	Examinatrice
Malika EHAJIA	Professeur à la FST- USMS - Béni Mellal	Co-directrice de thèse
Mohamed MBARKI	Professeur à la FST- USMS - Béni Mellal	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 mon cher père
pour leur amour et leur support continu,
Je vous dois tous mes succès, tous mes bonheurs et toutes mes joies.*

*A mes chères sœurs
A mes chers frères
Je suis très heureux et fier de votre présence à mes côtés.
Et j'espère vous honorer par le titre de Docteur.*

*A toute ma famille,
A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du supérieur,
A tous mes amis*

*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*

Fiche présentative de la thèse

❖ **Nom et prénom de l'auteur :** Mohamed MAAOUNI

❖ **Intitulé de la thèse :**

Evaluation de la qualité des huiles d'olive extraites de la variété « picholine marocaine » par caractérisation physico-chimique. Effet du degré de maturité des olives et apports chimométriques.

❖ **Directeur de la thèse :** Pr. Mohamed Mbarki

❖ **Formation doctorale :** Ressources Naturelles, Environnement et Santé (RNES)

❖ **Directeur du CED :** Pr. Said Melliani

❖ **Responsable de Formation Doctorale :** Pr. Abdelmajid Zyad

❖ **Lieux de réalisation des travaux :**

➤ Institution : Université Sultan Moulay Slimane - Faculté des Sciences et Technique Béni Mellal

✓ Laboratoire de recherche : Laboratoire des Procédés Chimiques et Matériaux Appliqués (LPCMA)

➤ Laboratoire Nationale de Contrôle de Médicaments (LNCM), Rabat

❖ **Période de réalisation des travaux :** 2012-2018

❖ **Mots clés :** HPLC, GPC, FT-MIR, outils chimométriques, huile d'olive vierge, caractérisation physico-chimique, indice de maturité des olives, contrôle de qualité.

❖ Publications :

1. **Maaouni M.**, Benali A, Moughat Z, Ait ider A, Rabi S and 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*, Vol. 20, No. 3, pp. 817–826.
2. Mourhat Z., Hirri A., **Maaouni M.**, Benlamaalam S., Chigr M., Echajia M., Rabi S., Mbarki M. (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. **Maaouni M.**, Echajia M, and Mbarki M. Assessment of the physico-chemical quality of Tagzirt virgin olive oil according to the olive harvest period. (*Article soumis pour publication*).
4. **Maaouni M.**, Echajia M, and Mbarki M. Evolution of the acid and minor compounds contents of Tagzirt virgin olive oil depending on the olive picking period. (*Article soumis pour publication*).
5. **Maaouni M.**, Echajia M, and Mbarki M. Classification of monovarietal olive oils from the Beni Mellal-khenifra region (Morocco) by FT-IR spectroscopy coupled with chemometric methods (ACP, PLS). (*Article soumis pour publication*).

❖ Communications :

➤ Communication Orale :

1. **M. Maaouni**, M. Wong Chi Man, C. Bied, N. Rahier. Silices hybrides comme nouveaux catalyseurs hétérogènes : préparation, caractérisation et utilisation en catalyse asymétrique. Le 2^{ème} Workshop sur la Chimie Moléculaire et Perspectives, FST Béni Mellal, le 23-29 Mai 2013.

➤ Communications par affiche :

1. **M. Maaouni**, A. Ait ider, A. Benali, S. Rabi and M. Mbarki. Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites à la commune rurale de Tagzirt, province de Béni Mellal- Maroc. International Meeting on Chemometrics, Quality and Molecular Chemistry, (Beni Mellal, Morocco), du 21 au 23 Avril 2016.
2. **M. Maaouni**, A. Ait ider, S. Rabi and M. Mbarki. Exploiting X-ray diffractometry and optical polarized light microscopy for the diagnosis of urolithiasis. XVI Chemometrics in Analytical Chemistry, (Barcelona, Spain), du 06 au 10 Juin 2016.

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, de mon respect et ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier également Mme la professeur Malika Echajia d'avoir accepté de co-encadrer la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère gratitude et de ma profonde reconnaissance.

Je souhaite remercier chaleureusement M. Abdelkader Benali, Cadre au sein du 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.

J'adresse, aussi, mes sincères remerciements au personnel de la FST de Béni Mellal particulièrement les professeurs, les docteurs (Zineb Moughat, L. Alami, Aziz Hirri, Mustapha Elbir) et les thésards (Samira Omari et mon camarade de thèse Mr. Abdelouahed Ait ider) pour leurs encouragements et leurs aides précieux.

Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude et tout mon amour à mes parents, mes sœurs et mes frères, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances. Ainsi qu'à tous mes proches et voisins qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles.

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

Le secteur des huiles végétales alimentaires représente l'un des secteurs les plus déficitaires au Maroc. Le manque de données sur les huiles d'olives marocaines nous a amenés à entreprendre le présent travail.

En effet, Le sujet de la présente thèse s'inscrit dans le cadre de l'étude et la proposition des voies de valorisation de l'huile d'olive pour un développement durable du secteur oléicole au Maroc et la contribution à la connaissance scientifique internationale dans ce domaine.

La première partie de ce travail porte sur l'évaluation des propriétés nutritionnelles et organoleptiques par caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive extraite de la variété Picholine Marocaine (PM), à la commune de Tagzirt, Région de Béni Mellal, Maroc ; l'objectif primordial de cette étude est de contribuer à une meilleure connaissance de la qualité de l'huile d'olive étudiée, en vue de l'améliorer, et de contribuer aussi à l'établissement de bases de données des huiles d'olive produites dans la région.

Le but de la seconde partie était d'étudier l'influence de la maturation des olives de la variété (PM) sur la qualité de l'huile afin de déterminer un moment de récolte optimal en fonction des avantages nutritionnels et commerciaux.

La dernière partie consiste à la contribution au contrôle de la qualité de l'huile d'olive par le biais d'une étude chimiométrique en couplant des outils chimiométriques (ACP, PLS-DA) à la spectroscopie infrarouge pour pouvoir discriminer entre les différentes catégories de qualité d'huiles d'olives.

Mots Clés: Huile d'olive, caractérisation physico-chimique, degré de maturité des olives, spectroscopie infrarouge, méthodes chimiométriques (PCA, PLS-DA).

Abstract

The vegetable oils sector is one of the most deficit sectors in Morocco. The lack of data on Moroccan olive oils has led us to undertake the present work.

Indeed, the subject of the present thesis is part of the study and the proposal of ways of valorization of the olive oil for a sustainable development of the olive-growing sector in Morocco and the contribution to the international scientific knowledge in this domain.

The first part of this work focuses on the evaluation of nutritional and organoleptic properties by physicochemical characterization of olive oil extracted from the Moroccan picholine variety in the commune of Tagzirt. The primary objective of this study is to contribute to a better knowledge of the quality of the olive oil studied, with a view to improving it, and also to contribute to the establishment of databases olive oils produced in the region of Beni Mellal-Khenifra in Morocco.

The aim of the second part was to study the influence of the ripening of the olives studied on the quality of the oil in order to determine an optimal harvest time according to the nutritional and commercial advantages.

The last part consists of contributing to the quality control of olive oil by means of a chemometric study by coupling chemometric tools (PCA, PLS-DA) with infrared spectroscopy in order to be able to discriminate between different levels of olive oils quality.

Keywords: Olive oil, physicochemical characterization, olives ripeness, infrared spectroscopy, chemometrics methods (PCA, PLS-DA).

ملخص

يعتبر قطاع الزيوت النباتية واحدًا من أكثر القطاعات عجزًا في المغرب. وقد أدى نقص البيانات حول زيت الزيتون المغربية إلى القيام بهذا البحث.

إن موضوع هذه الرسالة هو دراسة واقتراح طرق لتثمين زيت الزيتون من أجل التنمية المستدامة لقطاع زراعة الزيتون في المغرب والمساهمة في المعرفة العلمية الدولية في هذا المجال.

يركز الجزء الأول من هذا العمل على تقييم الخواص الغذائية والحسية عن طريق التوصيف الفيزيوكيميائي لزيت الزيتون المستخلص من صنف "البيشولين المغربية" في بلدية تاغزيرت، إقليم بني ملال، المغرب. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو المساهمة في معرفة أفضل لجودة زيت الزيتون المدروس، بهدف تحسينها، وكذلك المساهمة في إنشاء قواعد بيانات لزيت الزيتون المنتج في المنطقة.

الغرض من الجزء الثاني هو دراسة تأثير مدى نضج ثمار الزيتون من صنف "البيشولين المغربية" على جودة الزيت المستخلصة من أجل تحديد وقت الجني الأمثل وفقا للفوائد الغذائية والتجارية.

يتمثل الجزء الأخير لهذا البحث في المساهمة في مراقبة الجودة لزيت الزيتون بواسطة دراسة كيميومترية عن طريق اقتران أدوات كيميومترية مع التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء، مما يمكن من التمييز بين الفئات المختلفة لجودة زيت الزيتون.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون ، التوصيف الفيزيوكيميائي ، نضج ثمار الزيتون ، التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء ، طرق كيميومترية.

Liste des abréviations

ACP	: Analyses en composantes principales
AGE	: Acides gras essentiels
AGI	: Acides gras insaturés
AGMI	: Acides gras mono-insaturés
AGPI	: Acides gras poly-insaturés
AGS	: Acides gras saturés
ATR	: Réflexion totale atténuée
CAMO	: Computer Aided Modeling
CE	: Commission Européenne
COI	: Conseil Oléicole International
EV	: Vierge Extra
FT-IR	: Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
HCA	: Classification hiérarchique
IR	: Infrarouge
LDL	: low density lipoprotein
LOD	: Limite de détection
LV	: Vierge Lampante
LVs	: Variables latentes
MIR	: Spectroscopie moyen infrarouge
MIR-TF	: Spectroscopie moyen infrarouge a transformée de Fourier
MLR	: Régression Linéaire Multiple
MSC	: Correction Multiplicative de diffusion
OV	: Vierge Ordinaire (Courante)
PC1	: Composante principale 1
PC2	: Composante principale 2
PCR	: Régression sur Composantes Principales
PLS	: Régression des moindres carrés partiels (Partial Least Square)
PLS-DA	: Partial least square discriminante
PNO	: Plan Oléicole National
Predi.	: Valeurs prédites
RE%	: Erreur relatif de prédiction en pourcents
Ref.	: Valeurs de référence
RMSEC	: Erreur quadratique de d'étalonnage
RMSEC _v	: Erreur quadratique de validation croisée
RMSEP	: Erreur standard de prédiction
SMIR	: Spectroscopie moyen infrarouge
SNV	: Déviation Normale Standardisée
SPIR	: Spectroscopie proche infrarouge
UV	: Ultraviolet
V	: Vierge
VOO	: Virgin Olive Oil

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques et limites prévues par la norme commerciale internationale applicable aux huiles d'olives et grignons d'olives.....	33
Tableau 2 : Nomenclature des principaux acides gras.....	38
Tableau 3 : Sources d'Acides Gras Essentiels.....	41
Tableau 4 : Les différents composés phénoliques dans l'huile d'olive.....	45
Tableau 5 : Identification des pics chromatographiques d'une huile d'olive.....	67
Tableau 6 : Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction et la densité des échantillons d'huiles d'olive étudiés.....	92
Tableau 7 : Proportions en acide oléique des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés ...	100
Tableau 8 : Composition des acides gras (en pourcentage) de l'huile d'olive vierge de la variété Picholine marocaine aux différentes étapes de la maturité de l'olive.....	123
Tableau 9 : Catégories de qualité des différents échantillons.....	139
Tableau 10 : Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA.....	145
Tableau 11 : Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA.....	146
Tableau 12 : Classification de nouveaux échantillons d'huile (validation externe).....	147

Liste des Figures

Figure 1 : Composition physique de l'olive (la drupe)	25
Figure 2 : Schéma des quatre principales étapes de l'extraction de l'huile d'olive.....	32
Figure 3 : Représentation des acides gras	37
Figure 4 : Structure des doubles liaisons <i>cis</i> et <i>trans</i>	39
Figure 5 : structure d'un triglycéride.....	42
Figure 6 : Principaux domaines du spectre électromagnétique en termes de fréquence (Hz) et de longueur d'onde (λ).....	52
Figure 7 : Modes de vibrations moléculaires.....	56
Figure 8 : Schéma d'un spectromètre avec interféromètre de Michelson	58
Figure 9 : Niveaux énergétiques des orbitales moléculaires impliquées dans les transitions électroniques.	60
Figure 10 : Spectromètre de type séquentiel à optique normale	62
Figure 11 : Schéma du détecteur FID.....	65
Figure 12 : Schéma du détecteur DAD	65
Figure 13 : Chromatogramme des esters méthyliques d'une huile d'olive	67
Figure 14 : Les différentes étapes d'une application analytique	74
Figure 15 : les extinctions spécifiques en UV des échantillons d'huile d'olive analysés	95
Figure 16 : Teneurs en chlorophylle des échantillons d'huiles d'olive étudiés	96
Figure 17 : Teneurs en composés phénoliques des échantillons d'huiles d'olive étudiés.....	97
Figure 18 : Teneur en α -tocophérol dans les échantillons analysés.....	99
Figure 19 : Influence physico-chimique de la maturation sur l'olive et sur l'huile d'olive.....	109
Figure 20 : Les huit classes de maturation des olives	109
Figure 21 : Influence de la date de récolte sur l'indice de maturité des olives « saison 2015/16 »	113
Figure 22 : Evolution de la fraction d'huile, exprimée en pourcentage de poids sec, extraite à différents stades de maturité	114
Figure 23 : Indice de réfraction (IR) et densité (D) des huiles en fonction de l'indice de maturité des olives (IM)	115
Figure 24 : Evolution de l'acidité libre (exprimée en pourcentage d'acide oléique) en fonction d'IM des olives	116
Figure 25 : Evolution de l'indice de peroxyde au cours des différents stades de maturité des olives.....	117
Figure 26 : Evolution des coefficients K_{232} et K_{270} en fonction de l'IM des olives.....	118

Figure 27 : Evolution de la stabilité des échantillons d'huile d'olive étudiés en fonction de l'IM des olives	118
Figure 28 : Evolution de la teneur en chlorophylles (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine Marocaine à différents stades de maturité	119
Figure 29 : Evolution de la teneur en caroténoïdes (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine Marocaine à différents stades de maturité	120
Figure 30 : Evolution de la teneur en phénols (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine Marocaine à différents stades de maturité	121
Figure 31 : Evolution de la teneur en α -tocopherol (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine marocaine à différents stades de maturité	122
Figure 32 : Evolution de la composition acide de l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine marocaine à différents stades de maturité	123
Figure 33 : Indice d'acidité pour les différents échantillons	135
Figure 34 : Indice de peroxyde pour les différents échantillons	136
Figure 35 : Coefficients K_{232} , K_{270} et ΔK pour les différents échantillons	137
Figure 36 : Teneur en polyphénols totaux de tous des échantillons	138
Figure 37 : Spectres moyens infrarouge des échantillons d'huile d'olive vierge dans la gamme spectrale 4000-600 cm^{-1}	140
Figure 38 : Plot des scores en 3D (PC1 vs PC2 - PC3) d'analyses ACP des caractéristiques physicochimiques des huiles	141
Figure 39 : Graphique de biplot.....	142
Figure 40 : Plot des scores en trois dimensions	143
Figure 41 : Courbe de variance résiduelle du modèle ACP	143
Figure 42 : PLS-DA plot des scores (en 3D) des échantillons d'huile d'olive de différentes catégories	145

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	18
PARTIE I: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	20
Chapitre 1: Généralités	22
I. Introduction	22
II. Aperçu historique.....	22
III. Eléments botaniques	23
1. Nomenclature systématique de l'olivier	23
2. Description botanique	24
3. Les variétés d'olives.....	26
4. Développement de l'arbre	27
5. Facteurs de développement de l'olivier	28
5.1. Facteurs climatiques.....	28
5.2. Facteurs géologiques	28
IV. Huile d'olive.....	29
1. Définition	29
2. Elaboration de l'huile d'olive	30
2.1. Maturation des olives.....	30
2.2. Techniques de transformation de l'olive à l'huile.....	30
3. Critères de qualité des huiles d'olives	32
4. Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive	33
V. Composition chimique de l'huile d'olive	35
A- Composition de l'olive	35
B- Composition de l'huile d'olive.....	36
1. Fraction saponifiable	36
2. La fraction insaponifiable (composés « mineurs »).....	43
VI. Bénéfices santé associés à l'huile d'olive.....	46
VII. Le secteur oléicole.....	47
VIII. Bilan.....	48
IX. Références	49
Chapitre 2: Méthodologie	52
I. Les techniques spectroscopiques.....	52
1. La spectroscopie infrarouge	54
2. La spectroscopie UV/Visible.....	59
II. La chromatographie	62
III. Analyse des acides gras	66
IV. Chimométrie.....	68
1. Prétraitements mathématiques appliquées aux spectres infrarouges.....	68
2. Méthodes chimométriques appliquées.....	70
3. Développement d'une méthode d'analyse.....	73
4. Paramètres d'évaluation de la qualité des modèles	74
5. Logiciels de traitement des données spectrales	77

6. Spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques et leurs applications.....	77
V. Références	79

PARTIE II : ETUDE EXPÉRIMENTALE 82

Chapitre 1: Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive extraite de la variété Picholine Marocaine à la commune rurale de Tagzirt, province de Béni Mellal, Maroc.....83

I. Introduction	83
II. Matériels et méthodes	84
1. Echantillonnage	84
2. Détermination de l'indice de réfraction et de la densité	85
3. Détermination de l'indice d'acidité.....	85
4. Détermination de l'indice de peroxyde	86
5. Analyse spectro-photométrique dans l'Ultra-Violet.....	87
6. Détermination de la teneur en chlorophylle.....	89
7. Détermination de la teneur en composés phénoliques	89
8. Détermination de la teneur en α -tocophérol.....	90
9. Détermination de la proportion d'acide oléique	90
III. Résultats et discussions.....	91
1. Indice de réfraction et densité	92
2. Acidité libre.....	92
3. Indice de peroxyde (IP)	94
4. Absorbance dans l'ultraviolet.....	94
5. Teneur en pigment chlorophylle	95
6. Teneur en composés phénoliques	97
7. Teneur en α -tocophérol.....	98
8. Proportion en acide oléique.....	99
IV. Conclusion	101
V. Références	103

Chapitre 2: Effet du degré de maturité des olives de la variété Picholine Marocaine sur la qualité de l'huile d'olive vierge 106

I. Introduction	106
II. Matériels et méthodes	107
1. Echantillonnage	107
2. Détermination de l'indice de maturité des olives (IM)	108
3. Analyses physico-chimiques.....	110
4. Détermination de la teneur en pigments carotènes	111
5. Analyses des acides gras.....	111
6. Essai Rancimat.....	111
7. Etude de la rhéologie	Error! Bookmark not defined.
8. Teneur en huile des olives	112
III. Résultats et discussions.....	112
1. Evaluation des analyses des huiles.....	113
1.1. Indice de maturité des olives	113
1.2. Evolution de la teneur en matières grasses	114
1.3. Evolutions de l'indice de réfraction (IR) et de la densité (D)	115

1.4.	Evolution de l'acidité	115
1.5.	Evolution de l'indice de peroxyde.....	116
1.6.	Evolution des coefficients d'extinction K_{232} , K_{270} et ΔK	117
1.7.	Evolution de la stabilité de l'huile.....	118
1.8.	Evolution de la teneur en pigments	119
1.8.1.	Chlorophylles	119
1.8.2.	Carotènes.....	120
1.9.	Evolution de la teneur en polyphénols totaux	120
1.10.	Evolution de la teneur en α -tocopherol	121
1.11.	Evolution de la composition en acides gras.....	122
1.12.	Etude rhéologique.....	124
2.	Bilan des analyses analytiques	124
IV.	Conclusion	126
V.	Références	127

Chapitre 3 : Classification et contrôle de qualité d'huiles d'olive extraites de la variété Picholine Marocaine à la commune de Tagzirt, province de Béni Mellal, par utilisation de la spectroscopie FT-IR couplée aux méthodes chimiométriques.

.....	130	
I.	Introduction	130
II.	Matériels et méthodes	131
1.	Préparation des échantillons	131
2.	Méthodes Analytiques.....	131
2.1.	Analyses physico-chimiques.....	131
2.2.	Instrumentation et analyse en moyen infrarouge (MIR).....	132
2.3.	Méthodes chimiométriques appliquées.....	132
2.3.1.	Analyse en composantes principales	132
2.3.2.	Analyse discriminante PLS-DA.....	133
III.	Résultats et discussion	134
1.	Evaluation des analyses des huiles	134
1.1.	Indice d'acidité.....	135
1.2.	Indice de peroxyde.....	135
1.3.	Coefficients d'extinction K_{232} , K_{270} et ΔK	136
1.4.	Polyphénols totaux	138
1.5.	Bilan des analyses analytiques	138
2.	Evaluation chimiométrique	139
2.1.	Acquisition des Spectres Moyen Infrarouge	139
2.2.	Analyse exploratoire des données	141
2.3.	Régression des moindres carrés partiels Discriminants (PLS-DA)	144
IV.	Conclusion	148
V.	Références	149

CONCLUSION GÉNÉRALE152

Introduction générale

Depuis des siècles, l'olivier est compagnon de la vie des hommes. L'huile d'olive, elle, est la plus ancienne huile alimentaire connue.

De nos jours, de nombreuses études scientifiques confirment l'importance d'une alimentation saine pour la santé. C'est pourquoi, l'huile d'olive fait l'objet de nombreuses recherches pour confirmer les vertus ancestrales qui lui sont attribuées.

L'huile d'olive vierge, en particulier l'huile d'olive extra-vierge, constitue l'une des huiles végétales les plus appréciées et consommées dans le monde entier en raison de ses propriétés organoleptiques renommées. Elle est la principale source de lipides dans le régime alimentaire méditerranéen et a été liée à des avantages positifs pour la santé [1], [2]. Au cours des dernières décennies, il y a eu une augmentation significative de la consommation mondiale d'huile d'olive, même dans les pays où elle n'est pas produite, comme le Canada et le Japon [3]. En effet, en raison de la teneur significative en composés bioactifs tels que les phénols, les phytostérols ou les tocophérols, sa consommation régulière améliore le statut antioxydant et le profil lipidique sanguin, réduisant ainsi l'incidence de certaines maladies dégénératives comme l'athérosclérose ou le cancer [4] [6], [7], [8].

L'évolution de la consommation d'huile d'olive vierge au niveau international dépend de sa qualité. En effet, plusieurs paramètres sont associés à l'évaluation de la qualité et de la pureté de l'huile d'olive. Selon la norme du Conseil Oléicole International, la qualité des huiles d'olive est un ensemble de caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques qui classent les huiles en différentes catégories [9]. Cette qualité est influencée par plusieurs facteurs tels que les pratiques de culture, le système d'irrigation, le moment de la récolte, le processus d'extraction et les conditions de stockage [10]. Tous ces paramètres exigent une étude attentive et de la maîtrise afin d'obtenir une huile d'olive de bonne qualité.

Le sujet de la présente thèse s'inscrit dans le cadre de l'étude et la proposition des voies de valorisation de l'huile d'olive pour un développement durable du secteur oléicole au Maroc et la contribution à la connaissance scientifique internationale dans ce domaine.

Ce présent mémoire est divisé en deux parties :

La première partie est consacrée à une étude bibliographique.

Le premier chapitre de cette partie, présentera quelques généralités sur l'olivier, son fruit ainsi que l'huile d'olive.

Dans le second chapitre, nous rappelons d'une manière générale le principe de certaines méthodes expérimentales utilisées lors de cette étude telles que la spectroscopie infrarouge, la chromatographie, la chimométrie ainsi que leurs applications.

La seconde partie, partie expérimentale, s'articule autour de trois chapitres.

Le premier chapitre porte sur l'évaluation des propriétés nutritionnelles et organoleptiques par caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive extraite de la variété « Picholine Marocaine », produite à la commune de Tagzirt dans la région Béni Mellal-Kénifra au Maroc. L'objectif principal de cette étude est de contribuer à une meilleure connaissance de la qualité de l'huile d'olive, en vue de l'améliorer, et à l'établissement de bases de données de l'huile d'olive produite dans cette région.

Le deuxième chapitre a pour but d'améliorer les connaissances sur l'effet de la maturation des fruits sur la qualité de l'huile d'olive, puis de déterminer un temps de récolte optimal en fonction des avantages nutritionnels et commerciaux.

Le dernier chapitre consiste en la contribution au contrôle de la qualité de l'huile d'olive par le biais d'une étude chimométrique en couplant l'analyse en composantes principales (ACP) et la régression au sens des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA) à la spectroscopie moyen infrarouge pour pouvoir discriminer entre les différentes catégories de qualité d'huiles d'olive étudiées.

Références

- [1] Tanjour, Z. (2014). An evaluation of physicochemical parameters of some wild olive oil varieties in Syrian Coastal Territory. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 2, 146-153.
- [2] Foscolou, A., Cristselis, E. et Panagiotakos, D. (2018). Olive oil consumption and human health: A narrative review. *J. Maturitas*, 118, 60-66.
- [3] Mili, S. (2006). Olive Oil Marketing on Non-Traditional Markets: Prospects and Strategies. *New Medit*, 5(1), 27-37.
- [4] Cicerale, S., Conlan, X. A., Sinclair, A. J. et Keast, R. S. J. (2009). Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(3), 218-236.
- [5] Kritchevsky, D. et Chen, S. C. (2005). Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research*, 25(5), 413-428.
- [6] Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A. et Fernández-Gutiérrez, A. (2010). *Composición del aceite de oliva*. In: Fernández-Gutiérrez, F. et Segura-Carretero, A. (Eds.), *El Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía*, Málaga: Fundación Unicaja, 195-224.
- [7] Normén, A. L., Brants, H. A., Voorrips, L. E., Andersson, H. A., Van Den Brandt, P. A. et Goldbohm, R. A. (2001). Plant sterol intakes and colorectal cancer risk in the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(1), 141-148.
- [8] Perona, J. S., Cabello-Moruno, R. et Ruiz-Gutiérrez, V. (2006). The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(7), 429-445.
- [9] International Olive Council. (2015, February). *TRADE STANDARD APPLYING TO OLIVE OILS AND OLIVE-POMACE OILS*. COI/T. 15/NC N° 3/ Rev. 8.
- [10] Pinatel, C., Petit, C., Ollivier, D. et Artaud, J. (2004). Outils pour l'amélioration organoleptique des huiles d'olive vierges. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 11(3), 217-222.

Partie I : Etude Bibliographique

Chapitre 1: Généralités

I. Introduction

L'huile d'olive est l'une des plus anciennes huiles végétales connues, produites principalement dans les pays entourant la mer Méditerranée. C'est un jus de fruit naturel, obtenu à partir du fruit de l'arbre *Olea europea*, avec une composition et une qualité uniques. En outre, l'huile d'olive est l'une des rares huiles qui peuvent être consommées sous sa forme naturelle, conservant ainsi tous ses constituants naturels. L'huile d'olive est un élément clé du régime méditerranéen traditionnel, qui est associé à une vie relativement longue et en bonne santé. La consommation d'huile d'olive a également augmenté dans les zones non méditerranéennes en raison de l'intérêt croissant pour le régime méditerranéen et de la tendance des consommateurs à sélectionner les aliments les moins transformés. Les consommateurs exigent de plus en plus que la qualité alimentaire élevée soit maintenue pendant la période comprise entre l'achat et la consommation. Ces attentes sont une conséquence non seulement de l'exigence principale selon laquelle les aliments doivent rester sains et valides, mais aussi de la nécessité de minimiser les changements indésirables dans la qualité sensorielle [1].

Ce chapitre est consacré à la présentation de notions générales sur l'olivier, le fruit d'olivier et l'huile d'olive, y compris leurs compositions et leurs propriétés chimiques.

II. Aperçu historique

Bien que les historiens et les archéologues ne soient pas unanimes sur le pays d'origine de l'olivier, cet arbre a incontestablement trouvé en Méditerranée des conditions naturelles, principalement climatiques, auxquelles il s'est parfaitement adapté [2].

Le berceau de l'olivier fut vraisemblablement l'Asie Mineure ou la Crète. Les premières traces que l'on a de cet arbre datent de 37 000 ans avant Jésus Christ (av.J.-C.), sur des feuilles fossilisées découvertes dans les îles de Santorin, en Grèce. Les premières plantations remontent à 3000 ans av.J.-C., dans le Croissant fertile, aire englobant l'Égypte, la Syrie, la Palestine et la Phénicie. Puis il se propage vers la Grèce à travers l'Anatolie, puis vers la Crète et l'Égypte [3]. C'est d'ailleurs en Égypte que sont

apparues les premières inscriptions relatives à l'huile d'olive, sur les bas-reliefs des tombes pharaoniques de l'Ancien Empire, environ 2500 ans av.J.-C. [4].

Avec le XVI^{ème} siècle s'ouvre une période de conquête qui a conduit l'olivier à son extension territoriale maximale, sous l'influence d'une demande croissante. Les caravelles espagnoles introduisent l'olivier sur les terres du Nouveau Monde, comme au Mexique, au Pérou (en 1560), au Chili, en Argentine et en Californie.

Au cours des périodes plus récentes, l'expansion de l'olivier s'est poursuivie en s'implantant en Afrique du Sud, en Australie, au Japon et en Chine. Mais l'olivier ne disparaît jamais des rives de la Méditerranée, et son "or liquide" reste, quelque soit le temps et l'espace, le symbole et la richesse du monde méditerranéen [5].

III. Eléments botaniques

Réputé immortel, l'olivier est un végétal à la croissance lente mais d'une longévité exceptionnelle.

1. Nomenclature systématique de l'olivier

– Classification [6]

Embranchement	PHANEROGAMES
Sous-embranchement	ANGIOSPERMES
Classe	DICOTYLEDONES
Sous-classe	ASTERIDAE
Ordre	GENTIANALES
Famille	OLEACEAE
Genre	<i>OLEA</i>
Espèce	<i>OLEA EUROPAEA L.</i>

Genre *Olea*: il a été ainsi désigné par le botaniste Tournefort. Il regroupe un grand nombre d'espèces (trente à quarante selon les auteurs) réparties sur les cinq continents.

Espèce *Olea europaea L.*: elle a été nommée par le savant suédois Linné en raison de son aire géographique. C'est l'unique espèce du bassin méditerranéen représentative du genre *Olea*. On distingue deux sous-espèces :

- l'olivier cultivé : *Olea europaea sativa*
- l'olivier sauvage ou oléastre : *Olea europaea sylvestris*

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

2. Description botanique

Nous parlerons de l'olivier sous sa forme cultivée.

– Aspect général [7], [8]

L'olivier se caractérise par un tronc bas, de couleur grise. C'est un arbre à croissance lente qui peut atteindre 15 à 20 mètres de hauteur selon les sols et les climats. On le taille entre 3 et 5 mètres pour en améliorer la productivité et en faciliter la cueillette. Il est toujours vert, d'un vert terre et brun grisâtre, mais dont les dimensions et les formes peuvent être très variables. C'est le seul arbre fruitier à feuilles persistantes. S'il n'est pas taillé, son port est pyramidal.

– Le système racinaire

Le système racinaire s'adapte aux conditions de sol et n'émet de racines profondes que si les conditions hydriques et minérales l'exigent.

L'olivier présente un système racinaire à développement latéral, avec trois ou quatre racines dominantes et un important chevelu. La profondeur d'enracinement ne dépasse pas 70 cm.

Sous le tronc, ce système racinaire forme une souche ligneuse parfois énorme appelée "matte" ou "gourgue" où s'accumulent d'importantes quantités de réserve qui lui permettront de résister à des conditions difficiles [9].

– Le tronc [7]

Le tronc des jeunes oliviers est droit et circulaire. En vieillissant, il se déforme et acquiert son aspect tourmenté caractéristique. Des zones successives de dépression, les cordes, apparaissent. Dans les zones très humides, des caries peuvent déformer le bois pourtant très dur.

– La feuille [7], [10]

Les feuilles de l'olivier sont persistantes et d'une durée de vie de trois ans. La face supérieure est luisante de couleur vert foncé, tandis que la face inférieure présente un aspect argenté dû à une pruine.

Le dessus des feuilles exposé au soleil est protégé par une cuticule vert sombre d'une texture vernissée, imperméable. La face inférieure est duveteuse et contrôle la sortie des eaux par un poil qui le coiffe à la manière d'un parasol.

En moyenne, les feuilles de l'olivier mesurent de 2 à 8 centimètres de long et de 0.5 à 1.5 centimètres de large.

– La fleur [7], [11]

Dès le début du mois de mai, on peut voir fleurir les oliviers, cependant la floraison ne dure qu'une huitaine de jours. Ce sont des fleurs hermaphrodites, tétramères. Au cœur de la fleur, l'ovaire à deux loges se prolonge par un épais stigmate, et les deux étamines saillantes s'attachent sur le tube de la corolle. Les fleurs sont petites, blanches, odorantes, regroupées en grappes dressées à l'aisselle des feuilles.

– Le fruit (Olive)

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 (fig. 1).

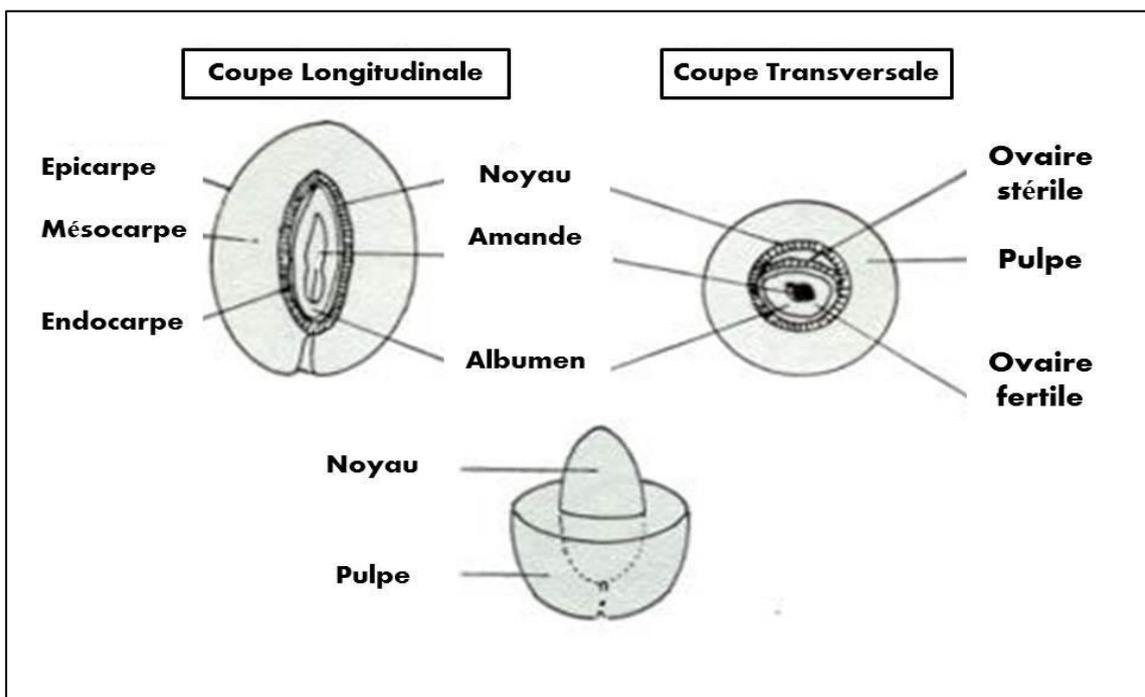


Figure 1 : Composition physique de l'olive (la drupe) [2]

3. Les variétés d'olives

La principale variété cultivée au Maroc est la Picholine Marocaine, présente à plus de 96 % dans les plantations du pays. Les 4 % restants se composent de la Picholine Languedoc, de la Dahbia et de la Meslala, qui sont cultivées en régime irrigué (Haouz, Tadla, El Kelâa) et de quelques variétés espagnoles et italiennes telles que la Picual, la Manzanilla, la Gordal et la Frantoio.

L'Institut National de la Recherche Agricole a commencé à étudier la Picholine Marocaine il y a quelques années dans le cadre de son programme pour l'amélioration variétale afin de sélectionner les clones les plus performants. Ce travail a conduit à la sélection de deux clones viables, baptisés Haouzia et Menara [12], qui sont actuellement en cours de diffusion par le Ministère de l'Agriculture à travers ses Directions Régionales.

– Picholine Marocaine

Elle est communément dénommée Zitoun Beldi. La nomination Picholine Marocaine lui a été attribuée par les colons français pour la distinguer de la Picholine de Languedoc puisque les formes des fruits de ces variétés se ressemblent. Une étude récente a montré que la Picholine Marocaine est une variété avec un génotype dominant qui donne une situation particulière pour l'oléiculture du Maroc.

Ses fruits ont une forme symétrique ovoïde ou légèrement allongée, une base tronquée et un mucron peu marqué. Sa teneur moyenne en huile varie de 15 à 25 % par rapport au poids frais. Elle est la plus recherchée par les industriels ; en effet, elle s'adapte à toutes les préparations des olives de table et donne une huile de très bonne qualité lorsqu'elle est triturée dans de bonnes conditions.

– Haouzia

Cette variété récente est issue d'une sélection clonale de la Picholine Marocaine. Elle se distingue des autres clones par un nombre de fleurs parfaites par inflorescence, une entrée en production précoce, une meilleure capacité de multiplication par bouturage semi-ligneux et une productivité élevée. C'est également une variété rustique, présentant une capacité rhizogène élevée.

En régime irrigué, les premiers fruits apparaissent dès la troisième année. Son époque de floraison est intermédiaire, elle est autocompatible et présente un pourcentage d'avortement ovarien élevé. Elle est souvent associée au pollinisateur

Picholine Languedoc. Sa productivité est élevée et alternante, son époque de maturation est intermédiaire. Elle est utilisée pour la production d'huile d'olive (rendement de 23 %) comme pour la préparation d'olives vertes. La pulpe se sépare facilement du noyau. Elle est très résistante à la maladie de l'œil de paon, et tolérante à la tuberculose et à la sécheresse.

– **Menara**

Nouvelle variété issue d'une sélection clonale de la Picholine Marocaine, elle se distingue de celle-ci par une meilleure aptitude à la multiplication par bouturage semi-ligneux, le nombre supérieur de fleurs parfaites par inflorescence, une entrée en production précoce et une productivité élevée. Elle est très rustique et présente une capacité rhizogène élevée.

En régime irrigué, elle se développe et entre en production très rapidement (dès la troisième année). Son époque de floraison est intermédiaire et bien qu'elle soit partiellement autocompatible, il est recommandé de l'associer avec un pollinisateur adéquat tel que la Picholine Languedoc. Elle présente un pourcentage d'avortement ovarien moyen et produit un pollen abondant. Son époque de maturation est intermédiaire. Elle est utilisée pour la production d'une huile d'olive de bonne qualité (teneur en huile de 24 %) comme pour la confiserie en vert ou en noir. La pulpe des fruits se sépare facilement du noyau. Elle est particulièrement résistante à la tuberculose.

4. Développement de l'arbre [13]

L'olivier se développe en quatre périodes:

- ✓ Période de jeunesse (1-7 ans) : c'est la période de croissance, de taille et de floraison. L'olivier s'installe, s'étoffe mais ne produit rien.
- ✓ Période d'entrée en production (7-35 ans) : c'est en quelque sorte la période d'adolescence de l'arbre qui se prépare à l'établissement de productions régulières et importantes.
- ✓ Période adulte (35-100 ans) : période de pleine production (rendement de 15 à 25 kg d'olives par arbre). L'olivier est dans la force de l'âge.
- ✓ Période de sénescence (au-delà de 150 ans) : fin de la vie productive de l'arbre, petit à petit il produit moins. Les branches charpentières meurent, le tronc éclate.

C'est au Portugal, dans la région de l'Algarve que l'on trouve le plus vieil olivier âgé de 2000 ans (datation au carbone 14) [8].

5. Facteurs de développement de l'olivier [14]

L'olivier dépend de différents facteurs climatiques et géologiques.

5.1. Facteurs climatiques

L'olivier lui faut un hiver doux avec une moyenne de 8 à 9°C, température à laquelle il entre en végétation. Il ne résiste pas à une température inférieure avoisinant les -7 à -10 °C.

De même, pendant l'automne et le printemps, des pluies suffisantes sont nécessaires. L'été, il peut résister aux températures élevées moyennant un approvisionnement d'eau suffisant. La floraison printanière est déclenchée par une température de 20 à 22°C.

Du point de vue altitude, l'olivier est absent au-dessus d'un palier de 1000 à 2000 mètres. L'éclairement doit être abondant afin que l'arbre végète et fructifie normalement.

Enfin, la pluviosité moyenne annuelle est de 700 millimètres. Par effet inverse, une région trop pluvieuse favorise le développement de maladies parasitaires: cyclonium, fumagine, cochenille ...

Ainsi, la limite nord est fixée par les basses températures hivernales ou printanières, et la limite sud par la sécheresse de l'air ambiant et l'absence de pluies.

5.2. Facteurs géologiques

L'olivier s'adapte à des sols variés. Il pousse sur des sédiments siliceux ou calcaires. Seuls les terrains très argileux ne lui conviennent pas.

Ainsi rares sont les arbres qui s'accommodent aussi bien que l'olivier de sols réputés stériles et sans valeur pour les autres cultures.

Si l'olivier est moins exigeant que les autres arbres, c'est grâce à son puissant système racinaire qui lui permet d'aller chercher dans les couches les plus profondes du sol les éléments nutritifs.

Par contre, il n'aime pas le vent qui peut provoquer des pertes importantes pendant la floraison ou la maturation des fruits. Un sol trop humide, en raison de la présence de couches phréatiques ou de drainage, ne lui est pas trop profitable.

IV. Huile d'olive

1. Définition

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier 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 les dénominations et définitions ci-après [15] :

L'huile d'olive vierge est l'huile obtenue de 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.

Selon ses caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques, l'huile d'olive vierge est classée en deux grands groupes :

✓ **L'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état comporte :**

- **Huile d'olive vierge extra** : l'acidité, exprimée en acide oléique doit être inférieure à 0,8 g / 100 g d'huile. Au niveau des caractéristiques organoleptiques, cette huile a une présence de fruité et une absence de défaut.
- **Huile d'olive vierge** : l'acidité, exprimée en acide oléique doit être inférieure à 2 g / 100 g d'huile. Au niveau des caractéristiques organoleptiques, cette huile a une présence de fruité et une présence possible de défauts légers.
- **Huile d'olive vierge courante** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 g / 100 g d'huile et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.

✓ **L'huile d'olive vierge non propre à la consommation :**

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 g / 100 g d'huile et/ou dont les caractéristiques organoleptiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente norme. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques. On distingue, l'huile d'olive raffinée et l'huile d'olive simple.

2. Elaboration de l'huile d'olive

2.1. Maturation des olives

D'avril à juin, l'olivier se couvre de minuscules fleurs blanches. Seulement cinq fleurs sur cent sont fécondées.

Une fois les fleurs fânées, leur cœur se transforme peu à peu en noyau : c'est la nouaison. Au cours de l'été, le noyau durcit progressivement (sclérisation) et s'entoure de pulpe pour constituer une drupe charnue.

S'ensuit la véraison, c'est-à-dire le moment où l'olive passe d'une couleur vert acide au vert tendre. Jusqu'à ce stade, il n'y a pas d'huile dans l'olive, mais un mélange d'acides gras organiques et de sucres. La transformation des protides et des glucides en lipides va débiter par la suite. L'olive atteint sa taille adulte vers mi-octobre et poursuit sa maturation jusqu'à la mi-novembre ou janvier selon les variétés et les conditions climatiques locales. La couleur de l'épiderme et de la chair vire graduellement du vert au rouge pourpre pour se rapprocher du noir à l'entrée de l'hiver.

Quant à la synthèse de l'huile dans le fruit, ou lipogénèse, elle débute après la sclérisation du noyau, en août. Avec la maturation de la drupe, l'huile s'accumule sous forme de gouttelettes qui s'agglomèrent dans les cellules du mésocarpe. Plus l'olive mûrit, plus elle s'enrichit en huile [9].

2.2. Techniques de transformation de l'olive à l'huile

L'huile d'olive est obtenue par trituration des péricarpes des fruits et pas de leurs graines, dans un moulin à huile spécifique. La teneur en huile varie en fonction du terroir, de la variété (cultivar), du stade de maturité à la récolte et des pratiques agronomiques locales.

2.2.1. Récolte des olives ou olivaison

La période de récolte des olives va de septembre à février en fonction de leurs utilisations (olives de table plus précoce que pour l'huile) ainsi qu'en fonction de la variété d'olives (Picholine variété précoce, Tanche variété tardive). Les conditions climatiques ainsi que la région de production ont également un impact sur la vitesse de maturation des olives et donc sur la période optimale de récolte [16].

Il existe de nombreuses techniques de récolte des olives variant en fonction de la destination finale de ces olives, de la nature du sol et de la superficie de l'exploitation.

2.2.2. Triage, stockage et lavage des olives [7], [17]

Quelle que soit la méthode de cueillette utilisée, un triage des olives est nécessaire afin d'éliminer feuilles, brindilles, petits cailloux, terre (qui donnent un goût amer à l'huile). Ensuite, les olives sont aussitôt transportées au moulin dans des corbeilles, des caisses de bois ou des cagettes ajourées, assurant une bonne respiration des fruits.

La durée de stockage doit être la plus courte possible. De plus, de bonnes conditions de stockage sont déterminantes pour la qualité de l'huile. Le stockage des olives demeure néanmoins une phase critique. En effet, l'altération de l'huile est causée par des phénomènes d'hydrolyse et de lipolyses enzymatiques ou microbiennes. Il faut donc prendre grand soin des olives et les stocker en couche mince dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière.

Les olives, enfin, sont lavées à l'eau froide. Les laveuses à olive constituent l'étape entre stockage et fabrication de l'huile. Le lavage permet d'améliorer les qualités organoleptiques de l'huile.

2.2.3. Principe de base de l'extraction de l'huile d'olive [7]

La méthode de pression pour extraire l'huile d'olive remonte à au moins 5000 ans.

Les différents procédés utilisés pour l'extraction de l'huile d'olive peuvent employer des techniques et des instruments divers mais tous suivent un même principe de base (fig. 2):

- Broyage: l'huile est contenue dans de minuscules vacuoles dans les cellules des olives. C'est en brisant la paroi de ces vacuoles que l'on peut la récupérer. Le

broyage peut être effectué avec des meules en pierre ou avec un broyeur métallique. A l'issue du broyage, on obtient une pâte.

- Malaxage: la pâte est malaxée pour libérer une quantité d'huile maximale.
- Séparation des phases: elle permet de dissocier la phase solide (appelée grignon) de la phase liquide qui renferme l'huile et les eaux de végétation.
- Décantation: elle consiste à séparer l'huile des eaux de végétation appelées margines.

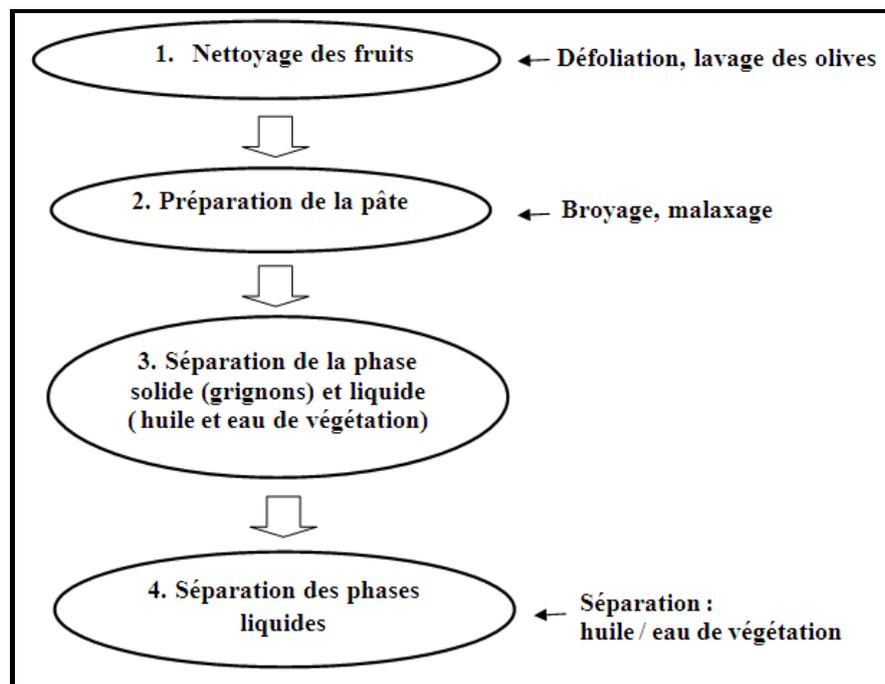


Figure 2 : Schéma des quatre principales étapes de l'extraction de l'huile d'olive

L'huile d'olive est immédiatement stockée dans les meilleures conditions: en effet, même si l'huile d'olive résiste assez bien à l'oxydation, elle absorbe facilement les odeurs et les saveurs de son environnement. Ses qualités organoleptiques peuvent alors être modifiées d'où l'utilisation de cuves en inox généralement.

3. Critères de qualité des huiles d'olives

Le Conseil Oléicole International (COI) et le règlement de la Commission Européenne (CE)[18] ont défini la qualité d'huile d'olive, basée sur les paramètres physico-chimiques, qui incluent le pourcentage d'acide gras libre, la teneur en indice de peroxyde, les coefficients des extinctions spécifiques K_{232} et K_{270} , ainsi que les caractéristiques sensoriels (goût, odeur, couleur).

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont proposé d'inclure les phénols comme un bon indicateur de qualité d'huile [19-20-21].

Les normes du Codex Alimentaires (1993) ont établi des critères complémentaires de qualité des différentes catégories d'huile d'olive. Elles incluent des limites suggérées pour les substances volatiles, les impuretés insolubles, les insaponifiables, les oligo-métaux, la densité et l'indice de réfraction. Quant au règlement de la CE, il est plus spécifique au sujet de l'évaluation sensorielle (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques et limites prévues par la norme commerciale internationale applicable aux huiles d'olives et grignons d'olives

	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante
-odeur - gout - couleur	-irréprochable -irréprochable -claire (jaune à vert)	-irréprochable -irréprochable -claire (jaune à vert)	-bonne -bon -claire (jaune à vert)	défectueux défectueux
Acidité libre en % exprimée en acide oléique	≤0,80	≤2	≤3,3	>3,3
Indice de peroxyde en meq d'O ₂ de peroxyde par kg	≤ 20	≤20	≤20	Non limité
Absorbance dans l'ultra-violet -à 270 nm -à 232 nm - Δ K	< 0,22 < 2,5 < 0,01	< 0,25 < 2,6 < 0,01	< 3,0 < 0,01	
teneur en eau et en matière volatiles %	≤ 0,2	≤0,2	≤0,2	
Traces métalliques mg/kg : - Fer - Cuivre	≤3 < 0,1	≤3 < 0,1	≤3 < 0,1	≤3 < 0,1

4. Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive

Etant donné l'image très positive de l'huile d'olive, le Conseil Oléicole International vise à améliorer encore la qualité du produit qui dépend de plusieurs facteurs :

- En premier lieu, de la qualité des olives dont elle provient et en plus, des différentes étapes qui s'étendent de la production (labour, l'âge de l'arbre, taille des oliviers, quantité d'engrais, l'irrigation, la variété) à la cueillette des olives (l'état du fruit, son degré de maturation au moment de ramassage) et de la fabrication à la conservation de l'huile [22-23-24].

- Le lavage des olives après la récolte : l'olive doit subir un lavage qui permet d'éliminer les levures et les microorganismes qui se trouvent sur la pellicule des drupes. Ces organismes unicellulaires peuvent passer dans l'huile et se développer, atténuant ainsi la qualité de l'huile [25]. Au bout de quelques mois de stockage l'huile devient de goût rance et dégage des odeurs désagréables. De même, l'opération d'effeuillage est nécessaire et recommandée pour améliorer la qualité des huiles produites.
- Le traitement thermique de l'olive affecte d'autres traits de la qualité, comme la stabilité oxydative, la composition en arôme et également un changement du contenu de pigment de l'huile d'olive vierge [26].
- Les différents procédés d'extraction affectent la qualité de l'huile d'olive vierge et certains composants chimiques comme les polyphénols qui sont très solubles dans l'eau. En effet, l'huile d'olive vierge extraite à partir de la méthode dite de centrifugation contient moins de polyphénols; du fait que l'eau utilisée pour diluer la pâte, est tiède. Une augmentation dans la quantité de cette eau, dissout partiellement les polyphénols et réduit leur taux, et par conséquent la stabilité de l'huile d'olive au cours du stockage [27]. En revanche, l'huile obtenue par pression a les mêmes teneurs en ces composés, car elle ne nécessite pas l'ajout de l'eau [28]. Dans la plupart des huileries traditionnelles, le lavage des olives n'est pas pratiqué, alors que pour le système à 3 phases, il est appliqué après l'effeuillage.
- La température d'extraction : l'extraction se fait à froid, car à partir de 25° C, les arômes sont modifiés. Par ailleurs, Ouaini et ses collaborateurs [25], estiment qu'une température supérieure à 28° C au cours du broyage et du malaxage a un impact sur la qualité de l'huile. Ainsi un contact long entre la phase organique contenant l'huile et la phase aqueuse (margine), au cours de la décantation dans les procédés traditionnels, conduit à des phénomènes d'oxydation.
- Le stockage et la conservation constituent des facteurs importants dans la qualité de l'huile destinée à la consommation. En effet, une fois l'huile obtenue, il est important de la stocker, à l'abri de la lumière et, dans un endroit frais et sec avec un minimum de contacts avec l'air, de préférence dans des récipients en acier inoxydable ou en verre et non en matière en plastique qui donne un mauvais goût à l'huile [29]. Des

changements de température de conservation favorisent la dégradation de l'huile d'olive.

V. Composition chimique de l'huile d'olive

Notons ici que les origines variétales des olives, leur maturité et les procédés d'extraction entraînent des différences dans la composition de l'huile.

Avant d'étudier la composition chimique de l'huile d'olive, nous allons décrire celle de son fruit.

A- Composition de l'olive

Les constituants du fruit frais sont:

- Eau: 70 à 75 % du poids total de l'olive avant la lipogenèse. Elle diminue ensuite régulièrement et parallèlement à l'augmentation des matières grasses ;
- Lipides: 17 à 30 % du poids total du fruit en fin de maturité, sous forme de triglycérides, de lipoprotéines et de cutine;
- Protides: 1 % du poids de la pulpe;
- Glucides: 6 à 10 % du poids de la pulpe, parmi lesquels du glucose, du fructose, du mannitol et des polysaccharides (cellulose, hémicellulose, gommages);
- Acides organiques: acides citrique, malique et oxalique sont disséminés en petite quantité dans la pulpe;
- Éléments minéraux: soufre, phosphore, chlore, sodium, magnésium, calcium, fer, cuivre, manganèse, iode;
- Substances colorantes: chlorophylles, caroténoïdes, anthocyanes ;
- Cires et résines;
- vitamines : carotènes (vitamine A), vitamine C, vitamine B1, vitamine E;
- Substances phénoliques : principalement l'oleuropéine (2 % dans le fruit vert frais), le verbascoside, mais aussi la rutine, la lutéoline-7-glucoside, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'acide caféique. La variabilité de la teneur et de la composition de ces composés dépend de la variété et du stade de maturité de

l'olive à la récolte. L'oleuropéine est responsable du goût très amer de l'olive encore verte. Avec le verbascoside, ils interviennent dans les phénomènes de brunissement du fruit (généralement d'origine enzymatique), suite à une mauvaise manipulation des olives pendant la récolte ou le transport [9-30-31].

Au cours de la maturation, les teneurs en glucides, protides et oleuropéine diminuent, alors que celle en huile augmente progressivement. Au stade de maturité, la plupart des variétés contiennent 30 % d'huile, présente, en majorité, dans la pulpe et dans l'amande du noyau [9]. Rappelons ici qu'il faut environ 5 kilogrammes d'olives pour obtenir 1 litre d'huile.

B- Composition de l'huile d'olive

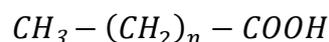
Comme toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est composée d'une fraction saponifiable (triglycérides) et d'une fraction insaponifiable (composants mineurs).

1. Fraction saponifiable

Cette fraction représente 98 à 99 % de l'huile d'olive. Elle est composée essentiellement de triglycérides, esters du glycérol et d'acides gras.

1.1. Les acides gras (AG) [32], [33]

Les AG peuvent exister à l'état libre dans la nature. Ce sont des composés organiques à base de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ils sont formés d'une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue et d'un groupe carboxyle.



Les AG présents dans les aliments ont donc des longueurs de chaîne variables. Le plus souvent, les AG constitutifs des graisses alimentaires comprennent de 16 à 20 atomes de carbone. La longueur de la chaîne est importante car elle détermine les caractéristiques physiques de la matière grasse. Les AG à chaîne courte sont fluides à température ambiante, les AG à longue chaîne donnent des graisses solides à cette température.

1.1.1. Nomenclature des acides gras

Tous les acides gras sont constitués par une chaîne hydrocarbonée qui présente :

- un groupement méthyle (-CH₃) à l'une de ses extrémités;

- un groupement carboxyle (-COOH) à l'autre extrémité qui confère à l'acide gras son caractère acide;
- des atomes de carbone dont le nombre et la valence constituent les seuls éléments de différenciation des acides gras [34].

En chimie, on désigne les doubles liaisons sur la chaîne carbonée ou les substitués en comptant, en position 1, l'atome de carbone du groupement carboxyle. Ainsi, les doubles liaisons de l'acide linoléique lui donnent en systématique chimique l'appellation d'acide 9,12 octadécadiénoïque. La désignation abrégée de l'acide linoléique est 18:2 (18 atomes de carbones : 2 doubles liaisons).

La dernière double-liaison se situe à six atomes de carbone de l'extrémité du groupement méthyle, ce qui est un aspect important pour certaines enzymes. Cet acide est considéré comme un acide de la série n-6 ou ω 6 (fig. 3).

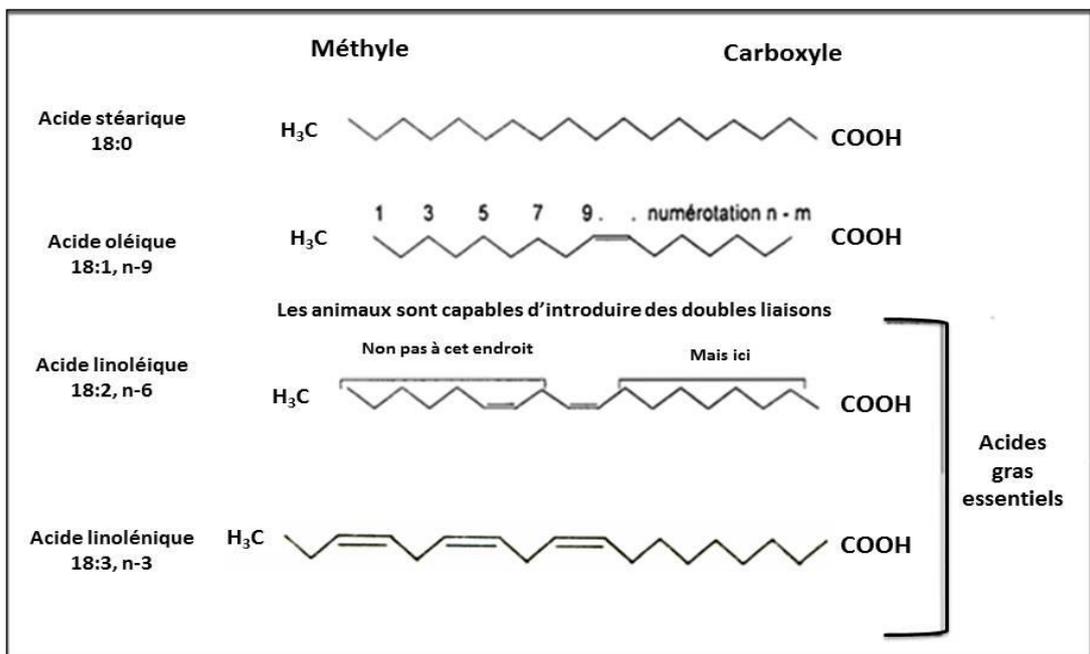


Figure 3 : Représentation des acides gras

Le tableau 2, suivant, indique l'appellation courante, l'appellation en systématique chimique et l'abréviation de quelques acides gras alimentaires.

Tableau 2: Nomenclature des principaux acides gras

NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE	NOMBRE DE DOUBLE LIAISON	DENOMINATIONS COMMUNES	DENOMINATIONS CHIMIQUES ^(a)	FORMULES SIMPLIFIEES ^(b)
4	0	Butyrique	Butanoïque	4 : 0
6	0	Caproïque	Hexanoïque	6 : 0
8	0	Caprylique	Octanoïque	8 : 0
10	0	Caprique	Décanoïque	10 : 0
12	0	Laurique	Codécanoïque	12 : 0
14	0	Myristique	Tétradécanoïque	14 : 0
16	0	Palmitique	Hexadécanoïque	16 : 0
16	1	Palmitoléique	9-Hexadécaénoïque	16 : 1 (n-7)
18	0	Stéarique	Octadécanoïque	18 : 0
18	1	Oléique	9-Octadécaénoïque	18 : 1 (n-9)
18	2	Linoléique	9,12- Octadécadiénoïque	18 : 2 (n-6)
18	3	γ-Linolénique	6,9,12- Octadécatriénoïque	18 : 3 (n-6)
18	3	α-Linolénique	9,12,15-Octadécatriénoïque	18 : 3 (n-3)
20	0	Arachidique	Eicosanoïque	20 : 0
20	4	Arachidonique	5,8,11,14- Eicosatétraénoïque	20 : 4
22	0	Béhénique	Docosnoïque	22 : 0

^(a) Les chiffres qui apparaissent dans la dénomination chimique de l'acide indiquent les positions des doubles liaisons, numérotées à partir du groupement carboxyle (-COOH).

^(b) Les chiffres avant et après les deux points indiquent respectivement le nombre d'atomes de carbone et le nombre de doubles liaisons présentes dans l'acide gras.

Les doubles liaisons dans les acides gras présentent une configuration *cis*. Le premier membre des acides gras de la série n-3 est l'acide alpha-linolénique (acide 9,12,15 octadécatriénoïque). Les acides gras des séries n-6 et n-3 possèdent des doubles-liaisons *cis* qui sont interrompues par des groupements méthylènes. Une double-liaison peut passer d'une configuration *cis* à une configuration *trans* (isomérisation géométrique) ou encore occuper une autre position sur la chaîne carbonée (isomérisation de position) (fig. 4).

La structure d'un acide gras *trans* est analogue à celle d'un acide gras saturé. Il en résulte que leurs points de fusion sont analogues. L'isomérisation *trans* peut être considérée comme étant un intermédiaire entre un acide gras insaturé *cis* original et un acide gras complètement saturé.

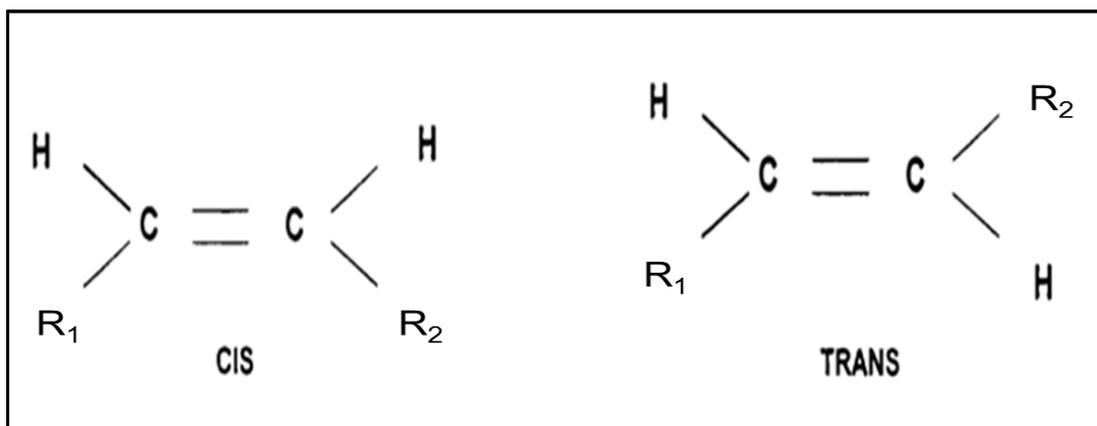


Figure 4 : Structure des doubles liaisons *cis* et *trans*

1.1.2. Classification des acides gras

Les acides gras les plus abondants dans l'alimentation sont les acides gras à chaîne droite comportant un nombre pair d'atomes de carbone. Leur classification se fera selon deux critères [34]:

❖ Selon la longueur de la chaîne carbonée

Les longueurs des chaînes couvrent un large éventail, depuis un acide à 4 atomes de carbone contenu dans le lait jusqu'aux acides gras à 30 atomes de carbone qu'on trouve dans certaines huiles de poissons. Ainsi, on distingue:

- Les acides gras à chaîne courte comportant 4 à 7 atomes de carbone;
- Les acides à chaîne moyenne comportant 8 à 13 atomes de carbone;
- Les acides gras à chaîne longue comportant 14 à 19 atomes de carbone;
- Les acides gras à chaîne très longue renfermant 20 atomes de carbone et plus.

Cette classification présente l'avantage de recouper des différences concernant les caractéristiques physiques, métaboliques et fonctionnelles des acides gras. Ainsi, les acides gras alimentaires à chaîne courte et moyenne sont directement résorbés vers le sang au cours de la digestion, alors que les acides gras à chaîne longue et très longue devront préalablement emprunter la voie lymphatique. Cette ségrégation est due à des différences de solubilité dans l'eau des acides gras selon la longueur de leurs chaînes. De même, les acides gras alimentaires à chaîne courte et moyenne constituent uniquement une source d'énergie pour l'organisme humain, alors que les acides gras à chaîne longue et très longue ont en plus un rôle dans l'élaboration structurale des membranes cellulaires et exercent, pour certains d'entre eux, des fonctions biologiques spécifiques.

❖ **Selon le degré d'insaturation de la chaîne carbonée**

Le nombre de doubles liaisons détermine trois groupes d'acides gras:

➤ **Acides gras saturés (AGS)**

Ils représentent entre 12 à 18 % (selon les productions) de la teneur en lipides de l'huile d'olive. Les acides gras saturés les plus fréquents dans notre alimentation sont l'acide palmitique (C16 :0) et l'acide stéarique (C18 :0), apportés surtout par les produits d'origine animale et l'huile de Palme. Les produits laitiers apportent aussi des acides butyriques et des acides myristique et laurique, également présents dans certaines graisses végétales (coprah, palmiste).

➤ **Acides gras mono-insaturés (AGMI)**

Ils représentent entre 7 à 13 % (selon les productions) de la teneur en lipides de l'huile d'olive. Les acides gras mono-insaturés (AGMI) comportent deux familles, n-7 et n-9 dont le représentant principal très répandu est l'acide oléique (C18:1) que l'on trouve dans les huiles végétales (olive, colza, ...) et dans les produits d'origine animale.

➤ **Acides gras poly-insaturés (AGPI)**

Ils représentent entre 7 à 13 % (selon les productions) de la teneur en lipides de l'huile d'olive. La présence de doubles liaisons confère de la fluidité à la matière grasse, qui est d'autant plus grande que le nombre de doubles liaisons est plus élevé. On distingue deux familles selon la place de la première double liaison sur la chaîne carbonée: Les acides gras linoléiques (oméga 6) et alpha-linolénique (oméga 3) sont essentiellement apportés par les huiles végétales. Il est indispensable que l'homme se procure ces acides gras par son alimentation car son organisme est incapable de les synthétiser. Ils constituent à ce titre des acides gras essentiels (AGE).

✓ **L'acide linoléique (oméga 6)**

C'est l'acide principal dans l'huile de pépins de raisin, de tournesol, de soja, de noix, de maïs et de germe de blé. A l'heure actuelle, notre alimentation en apporte suffisamment. En effet, en plus des huiles, on en trouve dans tous les produits animaux terrestres et dans le lait maternel.

✓ **L'acide α -linoléique (oméga 3)**

Moins répandu, on le trouve dans certains fruits oléagineux (noix) et dans les huiles de colza, de noix, de soja et de lin. Contrairement à l'acide linoléique $\omega 6$, l'alimentation actuelle apparaît déficitaire en acide α -linoléique.

1.1.3. Notion d'acides gras essentiels (AGE)

Les espèces animales ne sont pas capables d'assurer la désaturation en position 6 et 3. Ainsi, on dit que l'acide linoléique et l'acide α -linoléique sont essentiels. Ces deux AGE sont indispensables à notre organisme qui ne sait pas les synthétiser. Ils doivent donc être absolument apportés par notre alimentation. En effet, c'est à partir d'eux que seront synthétisées, dans nos tissus et notamment au niveau du foie, des substances comme les prostaglandines ou encore les leucotriènes. Une carence grave en AGE pourra être responsable de nombreux troubles pathologiques tels qu'une sécheresse cutanée, un arrêt de croissance chez les enfants, une perte de cheveux, des symptômes neurologiques avec perte d'équilibre, une sensibilité accrue aux infections, une augmentation des besoins énergétiques. Ces besoins en AGE ont été évalués, la FAO conseille un apport moyen en acide linoléique égal à 3 % de l'énergie totale pour un homme en bonne santé; la valeur sera plus élevée chez la femme enceinte ou allaitante. De même, un apport moyen en acide linoléique recommandé est de 0.5 à 1 % de l'énergie totale. En équivalence d'huile d'olive, cela correspond à la consommation de 3 à 4 cuillerées à soupe quotidiennement. Il existe différentes sources d'AGE:

Tableau 3 : Sources d'AGE

NOM DE L'ACIDE GRAS	TYPE	SOURCES
Acide linoléique	Polyinsaturé $\omega 6$	Huile et margarine de tournesol, huile de maïs, de pépins de raisin, d'olive
Acide α -linoléique	Polyinsaturé $\omega 3$	Huile et margarine de colza, huile de soja, noix, lin, olive, poissons gras (hareng, sardine, saumon, thon), huile de foie de morue

1.1.4. Caractéristiques de quelques huiles

Parmi les caractéristiques dépendant des acides gras contenus dans les lipides, nous citons [35-36]:

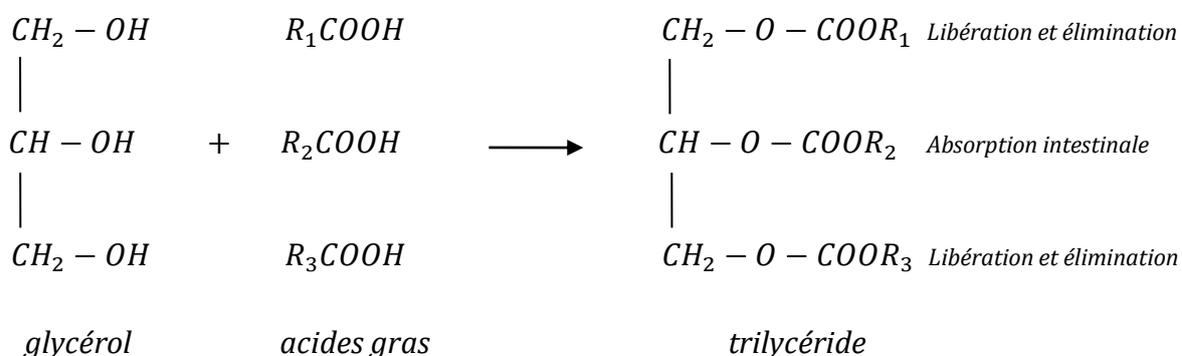
- Les huiles riches en acides gras saturés et en acide oléique telles que l'huile d'olive avec respectivement 14% et 81%,

- Les huiles riches en acides gras poly-insaturés telles que l'huile de soja avec 58% dont 50 à 60% d'acide linoléique, 20 à 30% d'acide oléique et 5 à 9% d'acide linoléique.
- Les huiles intermédiaires telles que l'huile de colza avec 33% d'acides gras polyinsaturés, 60% d'acide oléique et 7% d'acides gras saturés.

On remarque que l'acide oléique est le constituant majoritaire de l'huile d'olive (55 à 83 %), ce qui la rend exceptionnellement riche en AGMI. Ainsi, l'huile d'olive se distingue des autres huiles et autres corps gras alimentaires car c'est celui qui est le plus riche en acide oléique. Cet AGMI lui confère de nombreuses propriétés et constitue un de ses atouts majeurs. D'autre part, on constate que l'huile d'olive est assez pauvre en AGS et contient des AGPI en quantité satisfaisante.

1.2. Les triglycérides (TG)

Mise en évidence par Chevreul en 1823, la structure d'un triglycéride résulte de la combinaison des trois fonctions alcooliques d'une molécule de glycérol avec les fonctions carboxyles de trois molécules d'acides gras (fig. 5).



Les Radicaux R_1 , R_2 et R_3 sont des chaînes carbonées linéaires.

Figure 5 : structure d'un triglycéride

Les TG sont pour la plupart hétérogènes car ils sont estérifiés par des AG différents qui caractérisent le type spécifique de graisse alimentaire.

D'après une étude du Professeur Renaud (1995) [37], au cours de la digestion, les AG situés en position externe, 1 ou 3, se libèrent de leur attache et peuvent être éliminés par l'organisme lorsqu'ils forment avec le calcium intestinal des sels insolubles. En revanche, celui situé en position 2 est de préférence absorbé au travers de la paroi intestinale. Autrement dit, seuls les AG en position 2 sur le glycérol agissent au niveau métabolique

puisque ce sont les seuls à être absorbés. Or, l'huile d'olive a la composition en AG en position 2 la plus optimale en ce qui concerne les besoins nutritionnels.

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 (linoléyldioléine, entre 10 et 20 %). Les triglycérides entièrement saturés tels que le PPP, SSS, PSP, SPS, etc, ne sont pas trouvés dans l'huile d'olive. En règle générale, les chaînes saturées sont fixées en position R₁ ou R₃ tandis que la position R₂ est occupée préférentiellement par des acides gras insaturés ; (avec O=acide oléique; L=acide linoléique; P=acide palmitique; S=acide stéarique) [38].

2. La fraction insaponifiable (composés « mineurs »)

L'insaponifiable correspond à l'ensemble des constituants d'un corps gras qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants des graisses. Si l'huile d'olive possède des propriétés médicales, c'est en partie dû à sa teneur en acide oléique, mais c'est aussi grâce à sa fraction insaponifiable : cette fraction contient des constituants dits « mineurs » par leur faible proportion dans la composition chimique de l'huile d'olive, mais qui lui apportent une valeur biologique d'une grande richesse [39]. Leur présence résulte du mode d'extraction de l'huile d'olive, soit une simple extraction mécanique du fruit, excluant les substances chimiques et la chaleur. Une huile raffinée aura perdu ses caractéristiques organoleptiques et la plupart de ses composés mineurs. L'insaponifiable représente de 0.4 à 0.8 % de l'huile d'olive. Elle est constituée:

- d'hydrocarbures
- de stérols
- d'alcools terpéniques
- de tocophérols
- de composés phénoliques
- de phospholipides
- de pigments (chlorophylle, caroténoïdes)

2.1. Les hydrocarbures

Ce sont quantitativement les principaux composants de la fraction insaponifiable. Le composant majeur est le squalène (C₃₀H₅₀) à la teneur de 300 à 700 mg/100 g. Il représente 30 à 50 % de cette fraction. C'est un hydrocarbure polyénique dont la teneur

est plus élevée que dans n'importe quelle autre huile végétale ou animale. Le squalène est un précurseur métabolique du cholestérol et autres stérols.

Il y a également des hydrocarbures aromatiques, parmi lesquels plus de 77 composés, conférant à l'huile d'olive arôme et saveur [39]. Ces composés ne sont pas à sous-estimer car ils ont une incidence positive sur la digestion. En effet, il a été démontré que lorsqu'on trouve du plaisir dans l'odeur et la saveur d'un aliment, la composition du suc gastrique se trouve être modifiée en raison d'une concentration accrue de la pepsine, en assurant ainsi une meilleure activité digestive [40].

2.2. Les stérols [32]

Ils représentent environ 15 % de la fraction insaponifiable, soit 100 à 200 mg pour 100 grammes. La quantité totale de stérols varie suivant la variété des olives et leur degré de maturité.

Le principal stérol est le β -sitostérol qui représente jusqu'à 90 à 95 % de tous les stérols présents. Celui-ci est intéressant car il s'oppose à l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire. L'huile d'olive est la seule huile à contenir un taux particulièrement élevé de ce type de stérols.

D'autres phytostérols sont présents: le campestérol et le stigmastérol.

2.3. Les alcools terpéniques [39]

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.

On trouve aussi de l'érythrodiol et de l'uvaol, rencontrés exceptionnellement ailleurs.

2.4. Les tocophérols [41]

Ce sont des vitamines liposolubles. Les tocophérols sont des composés importants de l'huile d'olive en raison de leur contribution à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles de l'huile.

Ce sont de puissants agents antioxydants capables de lutter contre l'attaque des radicaux libres. On distingue 4 types de tocophérols : α , β , γ et δ .

Les α -tocophérols ou vitamine E qui représente 90 % des formes de tocophérols. Cette forme possède la plus forte activité vitaminique et est la plus active. Elle s'oppose au noircissement et à la polymérisation de l'huile, et protège contre les mécanismes athérogènes. La teneur moyenne en α -tocophérol de l'huile d'olive est de 18 mg pour 100 g.

2.5. Les composés phénoliques [42]

Présents en assez grande quantité (20 à 500 mg pour 100 g), ils exercent une activité antioxydante importante. Les composés phénoliques sont (Tableau. 4):

Tableau 4 : Les différents composés phénoliques dans l'huile d'olive.

Alcools phénoliques	tyrosol hydroxytyrosol
Acides phénols libres série des benzoïques	acide proto-catéchique acide gallique acide vanillinique et homovanillique acide syringique
Acides phénols libres série des cinnamiques	acide p-coumarique acide caféique acide sinapique
Dérivés estérifiés de l'acide caféique	verbascoside
Dérivés estérifiés de l'acide élénolique	Oleuropéine
Flavonoïdes	flavones (lutéoline) flavonols (quercétine, kaempférol)

Les composés les plus abondants sont l'oleuropéine, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'acide homovanillique et le verbascoside.

La composition en polyphénols de l'huile d'olive dépend de la variété et de la maturité des olives mais aussi des procédés technologiques utilisés pour séparer la phase aqueuse (margines) de la phase huileuse.

Le principal responsable de l'action antioxydante des polyphénols semble être l'hydroxytyrosol. C'est en partie grâce à lui que l'huile d'olive montre une aussi grande stabilité face à l'oxydation. L'hydroxytyrosol est, en effet, bien connu pour la protection «antiperoxyde» qu'il confère à l'huile d'olive.

2.6. Les phospholipides

Constituants essentiels des cellules vivantes, ils sont présents en très petite quantité: 5 à 15 mg pour 100 g. L'huile d'olive en contient moins que les huiles de graines. Il s'agit de la phosphatidylcholine et phosphatidyléthanolamine.

2.7. Les pigments [47]

a- La chlorophylle: sa présence est visible car c'est elle qui donne la couleur verte de l'huile. Sa quantité peut varier en fonction de nombreux facteurs. Ce pigment vert naturel stimule dans l'organisme la croissance cellulaire, l'hématopoïèse et accélère les processus de cicatrisation. Sa teneur est de l'ordre de 0.1 à 1 mg pour 100 g.

A noter que la chlorophylle oxyde l'huile en présence de lumière alors qu'à l'obscurité elle possède une activité antioxydante. C'est une des raisons pour lesquelles il est conseillé de conserver l'huile d'olive à l'abri de la lumière.

b- Les caroténoïdes : ce sont également des pigments naturels mais à structure d'hydrocarbure. Parmi eux, on trouve le β -carotène (provitamine A) à des concentrations variables (0.3 à 3.7 mg pour 1 kg). Il fournit par clivage de la vitamine A. L'huile d'olive est d'ailleurs la seule huile végétale à en posséder. Au-delà de l'intérêt vitaminique (rôle dans la vision), le β -carotène joue un rôle d'antioxydant.

Les caroténoïdes se décomposent également au cours du stockage de l'huile, en particulier si celle-ci est exposée à la lumière. Dans ces conditions, l'huile d'olive peut devenir totalement incolore après 4 ou 5 ans.

VI. Bénéfices santé associés à l'huile d'olive

De nombreuses recherches récentes ont confirmé les bienfaits de l'huile d'olive pour la santé. Riche en acides gras insaturés, principalement l'acide oléique, en antioxydants (polyphénols), en vitamine E et autres constituants, l'huile d'olive diminue le risque des maladies cardiovasculaires, le taux du mauvais cholestérol (LDL) [44] dans le sang et protège contre la formation de cellules cancérogènes.

En effet, depuis la fin des années 50, des études épidémiologiques ont permis de constater que les maladies cardio-vasculaires, c'est-à-dire l'athérosclérose, la maladie coronarienne et l'infarctus et la mortalité dont ils sont responsables, n'avaient pas du tout la même fréquence dans les pays du Nord de l'Europe et ceux du pourtour

méditerranéen. Dans les pays méditerranéens où l'huile d'olive constitue la principale source de matières grasses dans l'alimentation quotidienne, on constate qu'il y a moins de gens souffrant de maladies cardio-vasculaires [45-46].

L'huile d'olive contient des anti-oxydants qui s'opposent à l'oxydation des lipoprotéines LDL, une des premières étapes importantes dans le développement de l'athérosclérose. Elle s'oppose, dans une certaine mesure, à l'agrégation des plaquettes et à la formation des caillots qui peuvent déclencher l'infarctus du myocarde. Par ailleurs, plusieurs études ont montré qu'un supplément en vitamine E entraîne une augmentation des taux de tocophérol, aussi bien dans le plasma que dans les particules des LDL [47].

VII. Le secteur oléicole

Au Maroc, le secteur oléicole joue un rôle très important sur le plan socio-économique. Il contribue activement à la fixation des populations en milieu rural en offrant plus de 15 millions de journées de travail [48]. Avec une production nationale de 120 000 tonnes d'huile d'olive [49].

En fait, au niveau national, la culture de l'olivier a connu un développement rapide pour passer de quelques milliers d'hectares, au lendemain de l'indépendance, à environ 900.000 ha en 2014 [49]. Dans le contexte économique actuel, les attentes et les appuis accordés à cette filière visent l'extension des superficies et la modernisation du secteur.

Compte tenu de la demande mondiale croissante en huile d'olives, cette filière a, depuis longtemps, retenu l'attention du gouvernement Marocain qui lui a dédié tout un plan : le plan oléicole (PNO), mis en place depuis 1998. Ce plan est forcé, ensuite, par le « Plan Maroc Vert (2008-2022) ». C'est une nouvelle stratégie agricole du pays, adoptée en avril 2008. Il a enclenché une nouvelle dynamique du développement agricole au Maroc [50].

Pour donner un nouveau souffle aux efforts déployés dans le cadre des plans nationaux oléicoles, le Plan Maroc Vert a prévu le développement de la filière oléicole autour de :

- ✓ Création de nouveaux pôles oléicoles intensifs et productivistes par l'extension des superficies de l'olivier ;

- ✓ Intensification des oliveraies existantes ;
- ✓ Projets sociaux de reconversion dans l'oléiculture ;
- ✓ Le développement de l'interprofession autour de domaines structurants notamment la logistique, la formation, Recherche & Développement et la qualité ;
- ✓ La valorisation de la production par la mise en place de normes qualité strictes et la promotion de la traçabilité et de la certification, le développement de la labellisation [50].

VIII. Bilan

En résumé, nous avons présenté l'olivier dans son aspect historique et botanique, nous avons décrit la composition générale de l'olive, des huiles et des graisses puis, nous avons donné brièvement une présentation de la position du secteur oléicole au Maroc, ainsi que les différentes stratégies mises en jeu pour l'améliorer et le développer.

Nous avons cité aussi des notions générales sur le fruit d'olivier et l'huile d'olive, y compris la composition et les propriétés chimiques de l'huile d'olive, et les principaux concepts relatifs à la production et la qualité d'huile d'olive ainsi que les bénéfices santé qui lui sont associés.

IX. Références

- [1] Morelló, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J. et Romero, M. P. (2004). Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85(3), 357-364.
- [2] Amouretti, M. C. (1985). *Le livre de l'olivier*, Edisud, 170.
- [3] Fouin, J. et Sarfati, C. (2002). *Le guide des huiles d'olive*. Editions du Rouergue, 335.
- [4] De Barry, N. (1999). *L'ABCdaire de l'huile d'olive*. Editions Flammarion, 119.
- [5] Jacotot, B. (1993). *L'huile d'olive de la gastronomie à la santé*, Editions Artulen, 224.
- [6] Comte, H. (1990). *Le tour de l'olivier*. Editions Régine Vallée, 116.
- [7] Douat, R. (1998). *Guide complet de la culture de l'olivier*. Paris: De Vecchi, 130.
- [8] Moreaux, S. (1997). *L'olivier*, Arles: Acte Sud, 96.
- [9] Argenson, C. (1999). *L'olivier, Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL)*, 204.
- [10] Pellecuer, J. (1985). *Connaître, trouver, identifier, utiliser les plantes médicinales des régions méditerranéennes*. Edition SAEP, 145.
- [11] Douat, R. (1998). *Guide complet de la culture de l'olivier*. Paris: De Vecchi, 130.
- [12] Mahhou, Y., Nabil, A., Hadiddou, A., Oukabli et Mamouni, A. (2012). *Performances des variétés d'olivier : Arbéquine, Haouzia et Menara en conditions pluviales dans la région de Meknès au Maroc*. Revue officielle du Conseil oléicole international. N° 118.
- [13] Loussert, R. et Brousse, G. (1978). *L'olivier, techniques agricoles et production, méditerranéenne*. Paris: Maisonneuve et Larose, 128.
- [14] DE Barry N. (1999). *ABCdaire de l'huile d'olive*. Paris: Flammarion, 120.
- [15] Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. (2013, Mai). Conseil oléicole international, COI/T.15/NC n°3/Rév.7, Madrid, Espagne.
- [16] Sébastien, V. *Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation*. Thèse de doctorat. Spécialité chimie, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse.
- [17] Argenson, C., (1999). Cueillette des olives, stockage, pressage et qualité *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 6(1), 48.
- [18] Commission du Codex Alimentarius. (1993). Norme Révisée pour les huiles d'olives, CL 1993/15-FO.
- [19] Blekas, G., Psomiadou, E., Tsimidou, M. et Boskou, D. (2002). On the importance of total polar phenols to monitor the stability of greek virgin olive oil. *European Journal of lipid Science and technology*. 104(6), 340-346.
- [20] Psomiadou, E., Konstantinos, X., Blekas, K.G., Tsimidou, M. Z. et Boskou, D. (2003). Proposed parameters for monitoring quality of virgin olive oil (koroneiki CV). *European Journal of lipid Science and technology*, 105(8), 403-409.

- [21] Ranalli, A., Ferrante, M. L., De Mattia, G. et Costantini, N. (1999). Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 417-424.
- [22] Médawar, S. (2001). *L'olivier, situation au Liban, technique de culture et étude de faisabilité*. Publication: Institut libanais de développement économique et social.
- [23] Angerosa, F. (2002). Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 639-660.
- [24] Venkateshwarlu, G. L., Meyer, A. S. et Jacobsen, C. (2004). Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6564-6571.
- [25] Ouaini, N., Medawar, S., Daoud, R., Ouaini, R., Chebib, H., Rutledge, D. et Estephan, N. (2005). Etat actuel des huileries d'olive au Liban. Potentiel de production. *New Medit*, 4, 31-35.
- [26] Pérez, A.G., Luaces, P., Ríos, J.J., Garcia, J. M. et Sanz, C. (2003). Modification of volatile compound profile of virgin olive oil due to hot-water treatment of olive fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6544-6549.
- [27] Tsimidou, M., Papadopoulos, G. et Boskou, D. (1992). Determination of phenolic compounds in virgin olive oil by reverse-phase HPLC with emphasis on UV detection. *Food Chemistry*, 44, 53-60.
- [28] Di Giovacchino, L., Sestili, S. et Di Vincenzo, D. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 587-601.
- [29] Cossut, J., Defrenne, B., Desmedt, C., Ferroul, S., Garnet, S., Humbert, S., Roelstraete, L., Vanexeem, M. et Vidal, D. (2002). *Les corps gras : Entre Tradition et Modernité*. Projet en Gestion de la qualité Nutritionnelle et Marketing des produits alimentaires, 139.
- [30] Bianchi, G. (1999). Extraction systems and olive oil. *OCL*, 6(1), 49-55.
- [31] Conseil Oléicole International. (1997). *Encyclopédie mondiale de l'olivier*. Editions COI, 479.
- [32] Viola, P. (1998). *L'olivier, l'huile d'olive*. Conseil Oléicole International, 115-122.
- [33] Karleskind. (1992). *Manuel des corps gras*. Edition Lavoisier, 1500.
- [34] Rapport d'une consultation mixte d'experts. (1977, septembre). *Le rôle des graisses et huiles alimentaires en nutrition humaine*. Publié par l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et l'organisation mondiale de la santé, Rome. 5-7.
- [35] Chekroun N (2014). Détermination de la capacité antioxydante des huiles végétales: Huile Afia. Rapport master.Chimie Physique et Analytique.Université aboubaker belkayd algérie.
- [36] Charles, A. et Den, G. (1997). *Abrégé de Biochimie alimentaire*. 4ème Edition: Masson, Paris, 225-232.
- [37] Renaud, S. (1995). Cretan Mediterranean on diet for the prevention of coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61(03), 1360-1367.
- [38] Ollivier, D., Pinatel, C. et Artaud, J. (2005). Caractérisation sensorielle et chimique d'huiles d'olive vierges de cinq AOC françaises. *Le Nouvel Olivier*, 44, 4-12.

- [39] Jacotot, B. (1993). *L'huile d'olive de la gastronomie à la santé*. Paris: Artulen, 280.
- [40] [http :www.europa.eu.int/huiled'olive](http://www.europa.eu.int/huiled'olive)
- [41] Simopoulos, A. P. et Visioli, F. (2000). Mediterranean diets. *World. Rev. Nutr. Diet*, 8, 56-77.
- [42] Leger, C.L. (1999). Les composés phénoliques et leurs propriétés biologiques. *Corps Gras Lipides*, 6(1), 60-63.
- [43] Ryan, D. (1998). Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72, 23-33.
- [44] Pelletier, X., Belbraouet, S. et Mirabel, D. (1995). A diet moderately enriched in phytosterols lowers plasma cholesterol concentrations in normocholesterolemic humans. *Ann. Nutr. Metab*, 39, 291-295.
- [45] Mata, P., Alonso, R. et Lopez-Farra, A. (1996). Effect of dietary fat saturation on LDL oxidation and monocyte adhesion to human endothelial cells in vitro. *Arterioscler Throm Vasc Biol*, 16, 1347-1355.
- [46] Jialal, I. et Devaraj, S. (1996). Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chem*, 42, 498-506.
- [47] Simons, L. A., Von Konigsmark, M. et Balasubramaniam, S. (1996). What dose of vitamin E is required to reduce susceptibility of LDL to oxidation? *Aust NZ J Med*, 26, 496-503.
- [48] Indicateurs macroéconomiques et agricoles. (2009). Direction de la production végétale, département lié au ministère de l'agriculture, Rabat, Maroc. 1-21.
- [49] Chiffres du marché mondial des huiles d'olives. (2014, novembre). Conseil oléicole international.
- [50] AFD. (2011). *Etude de faisabilité du Programme d'Appui au Plan Maroc Vert*. Financé par l'AFD, Rapport Final, 16.

Chapitre 2: Méthodologie

I. Les techniques spectroscopiques

La spectroscopie, ou spectrométrie, est l'étude expérimentale du spectre d'un phénomène physique. Les techniques spectrométriques permettent l'analyse de rayonnement électromagnétique de toutes les gammes de fréquence ou longueur d'onde (fig. 6).

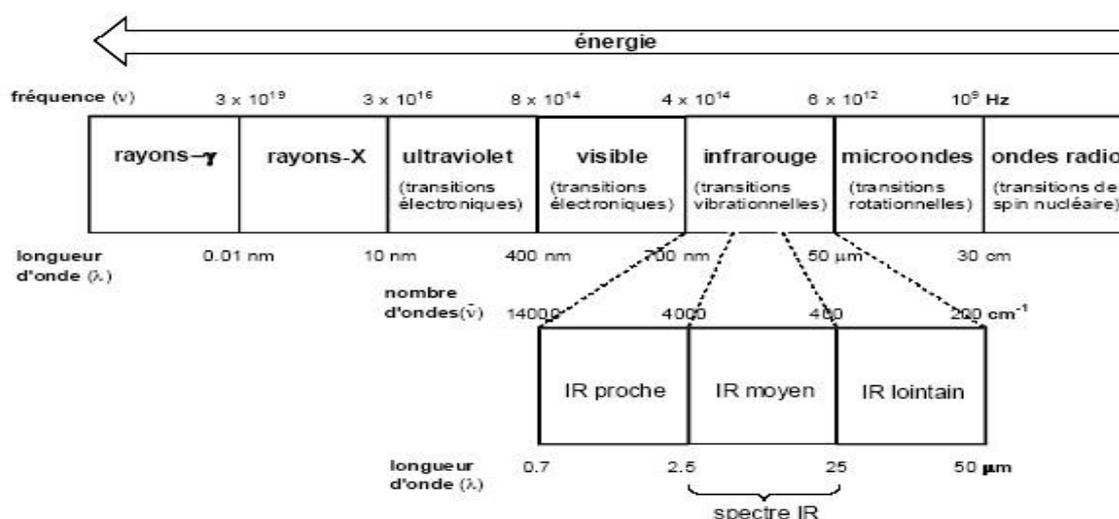


Figure 6 : Principaux domaines du spectre électromagnétique en termes de fréquence (Hz) et de longueur d'onde (λ)

Le spectre électromagnétique est découpé en divers domaines selon la longueur d'onde et le type de phénomène physique émanant de ce type d'onde. Il correspond à des transitions entre les niveaux d'énergie qui sont associés aux différents mouvements de la molécule :

- Les spectres électroniques retranscrivent les transitions entre les niveaux d'énergie qui sont associés aux électrons dans le domaine de l'ultraviolet et du visible,
- Aux transitions entre niveaux d'énergie de vibration correspondent les spectres de vibration qui sont enregistrés dans les domaines du proche et moyen, infrarouge,
- Les transitions entre niveaux d'énergie de rotation donnent des spectres dans le domaine de l'infrarouge lointain et les micro-ondes.

Ainsi l'énergie d'une molécule résulte à la fois de son niveau d'énergie électronique, de son niveau d'énergie de vibration et de son énergie de rotation ($E = E_e + E_v + E_r$). Mais les niveaux énergétiques ne sont pas du même ordre de grandeur suivant qu'il s'agit de niveaux d'énergie électronique, de vibration ou de rotation.

Seuls deux domaines du spectre électromagnétique (utilisés dans cette étude) seront détaillés par la suite :

- Le domaine du moyen infrarouge, allant de 4000 à 400 cm^{-1} (25 – $2,5 \text{ }\mu\text{m}$), permettant d'étudier les vibrations fondamentales et les structures rotationnelle et vibrationnelle associées,
- Et le domaine de l'Ultraviolet UV/Visible plus énergique encore, allant de 50000 à 14000 cm^{-1} ($0,7$ – $0,2 \text{ }\mu\text{m}$) permettant d'étudier les transitions électroniques.

La spectroscopie est une méthode analytique quantitative permettant de mesurer l'absorbance d'une substance chimique, généralement en solution, à une longueur d'onde prédéfinie. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert.

Cette loi fut découverte par Bouguer (1729), puis reprise par Lambert (1760). Finalement Beer (1852) y introduisit la concentration, lui donnant la forme sous laquelle elle est utilisée aujourd'hui (éq. 1).

$$\text{Equation (1): } I = I_0 \cdot e^{-\epsilon lc} \quad \text{ou encore} \quad A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \epsilon lc$$

Avec A l'absorbance de la solution à une longueur d'onde donnée, I_0 l'intensité lumineuse d'origine, I l'intensité lumineuse ayant traversé l'échantillon, ϵ le coefficient d'extinction molaire ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), l la longueur du trajet optique (ou la largeur de la cuve en cm) et c la concentration de la solution ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Le coefficient d'extinction molaire dépend de la longueur d'onde, du solvant, de la substance étudiée et de la température. La loi de Beer-Lambert est additive. Cela signifie qu'à une longueur d'onde donnée, l'absorbance d'un

mélange de plusieurs espèces absorbantes à cette longueur d'onde est égale à la somme des absorbances des différentes espèces pris individuellement.

1. La spectroscopie infrarouge

1.1. Principe de la spectroscopie Infrarouge

Le principe de la spectroscopie infrarouge a été détaillé notamment par Bertrand et par Rouessac [1], [2]. Le rayonnement infrarouge est une radiation de nature électromagnétique, correspondant à la partie du spectre comprise entre $12\ 800\text{ cm}^{-1}$ et 10 cm^{-1} . La fenêtre spectrale de l'IR se décompose en 3 parties : le proche, le moyen et le lointain IR.

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

La spectroscopie IR est basée sur l'interaction de la lumière IR avec le nuage électronique des liaisons chimiques. Généralement dans la majorité des spectroscopies optiques comme la spectroscopie de fluorescence, l'absorption d'énergie permet à un électron d'une liaison chimique de passer d'un état fondamental à un état excité. Dans le cas de la spectroscopie d'absorption IR, le rayonnement émis par la source polychromatique n'est généralement pas assez énergétique pour provoquer des transitions électroniques, mais il induit des transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnelle.

La spectroscopie infrarouge est basée donc sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau infrarouge est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchi ou transmise. Le rayonnement infrarouge fournit des *quanta* d'énergie pouvant provoquer la transition des électrons entre les niveaux de rotation et de

vibration des liaisons atomiques ($4-40 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) mais ne peut pas provoquer des transitions entre les niveaux électroniques ($400 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Généralement le domaine infrarouge (moyen infrarouge) situé entre $2,5$ et $25 \mu\text{m}$ (4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1}) correspond au domaine d'énergie de vibration de la majorité des molécules organiques et inorganiques.

1.2. Vibration des molécules

D'après Banwell, la spectroscopie vibrationnelle étudie la réponse de la matière lorsqu'elle est irradiée par des ondes électromagnétiques [3] dans le domaine d'ultraviolet, du visible et d'infrarouge. Lorsqu'une molécule est irradiée par la lumière, elle va absorber de l'énergie pour passer d'un état d'énergie dit initial à un état d'énergie excité dit supérieur. Les transitions qui sont observées au cours du phénomène d'absorption : une transition électronique caractérisée par le passage d'un électron à une orbite supérieure, une transition vibrationnelle où il y a une augmentation de l'amplitude de vibration entre les atomes et une transition rotationnelle dont une modification de la vitesse de rotation des molécules sur elles-mêmes.

Les types de bandes de vibrations sont : des bandes fondamentales qui sont enregistrées dans le moyen infrarouge, elles résultent du passage d'un niveau initial au premier niveau excité. Les bandes harmoniques se retrouvent dans le proche infrarouge, elles correspondent au passage de l'état initial aux niveaux énergétiques supérieurs [4]. Les bandes de combinaison sont le troisième type et sont présents aussi dans le proche infrarouge, elles résultent soit de la somme ou de la différence de deux vibrations fondamentales.

La condition principale pour qu'une molécule interagisse avec un rayonnement infrarouge (IR) est que la molécule forme un dipôle. Ce dernier a lieu si la molécule comporte des atomes de charges différentes. Si c'est le cas, la molécule forme un dipôle continu et la liaison chimique est dite polaire. Le moment dipolaire μ est donné par l'équation (2):

$$\text{Equation (2) : } \vec{\mu} = q \cdot \vec{d}$$

Avec : q est la charge absolue portée par chacun des deux atomes et d est la distance entre les atomes.

La molécule est qualifiée active en infrarouge s'il y a un changement du moment dipolaire. Les charges électriques des molécules homonucléaires (constituées de deux atomes identiques) sont les mêmes. Les centres de gravité des charges sont superposés. Dans ce cas, le moment dipolaire est égal à zéro même si la molécule est en vibration. Donc, la molécule est inactive en infrarouge.

Les bandes d'absorption sont apparues suite à la diminution de l'énergie de la lumière infrarouge, après avoir interagit avec la matière. Le MIR comporte la majorité des bandes d'absorptions. Les fréquences de vibration [5] sont en fonction de la masse réduite de la molécule (μ) et la constante de force de liaison (k), ainsi que d'autres facteurs à savoir, la conformation des molécules, l'électronégativité des atomes environnants, les liaisons d'hydrogène et les effets stériques. La figure (7) représente les modes de vibrations moléculaires.

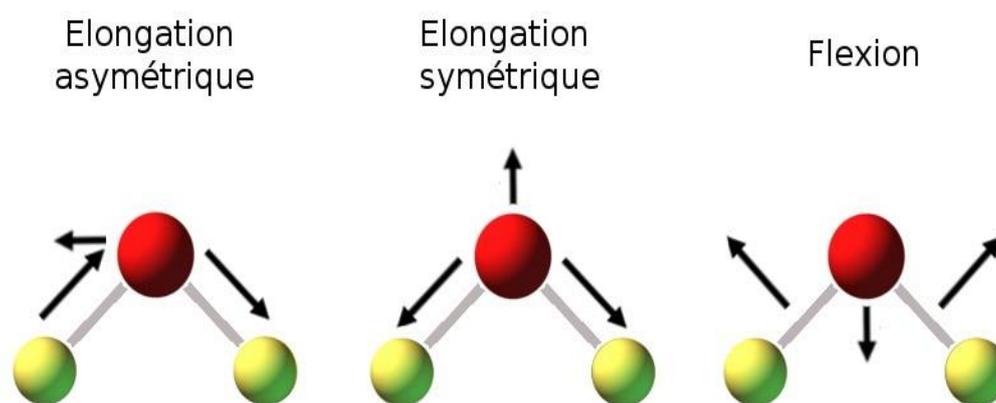


Figure 7 : Modes de vibrations moléculaires

Les variations vibrationnelles et rotationnelles sont les formes d'absorption des rayonnements infrarouge, au sein de la molécule. En général, deux types de vibrations peuvent être mis en œuvre :

- L'élongation où deux atomes s'éloignent l'un de l'autre.
- La déformation (flexion) provoque une modification des angles de liaison et qui comporte le cisaillement, le balancement, la rotation plane et la torsion.

Généralement, les élongations sont situées dans une gamme de nombres d'onde supérieure à celle des déformations [6].

1.3. Spectroscopie en moyen infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)

La spectroscopie en moyen infrarouge (MIR) est caractérisée par sa sensibilité et sa facilité d'utilisation. C'est une technique d'analyse non destructive qui peut être utilisée sur tous types d'échantillons quelle que soit leur origine (organique, minérale ou organométallique) et leur état physique (gazeux, liquide, solide). Chaque bande spectrale correspond à une liaison particulière, ce qui permet d'identifier la molécule analysée.

– Description d'un spectromètre FT-IR

Un spectrophotomètre comporte quatre parties essentielles [7], [8] :

- Une source lumineuse : pour notre cas, le Global est utilisé pour le moyen IR. Il est constitué d'un bâtonnet en carbure de silicium (SiC) et fonctionne à des températures de l'ordre de 1500°C.
- Un dispositif permettant de générer les interférences : l'interféromètre de Michelson pour l'IRTF.
- Un système de présentation de l'échantillon : ce système dépend de la technique spectroscopique employée. Pour l'étude, des accessoires de transmission et de réflexion totale atténuée (ATR) ont été utilisés.
- Un ou plusieurs capteurs photosensibles : le spectromètre utilisé comporte un détecteur MCT (Mercure Cadmium Tellure). Il est constitué d'un monocristal en alliage de mercure cadmium tellure déposé sur un support inerte. Pour une plus grande sensibilité, ce détecteur est maintenu à la température de l'azote liquide (77 K).

– Fonctionnement du spectromètre FT-IR

Le principe de fonctionnement est basé sur l'interaction rayonnement-matière. Sous l'effet d'un rayonnement incident, une molécule absorbe de la lumière pour passer d'un niveau d'énergie initial E_1 à un niveau supérieur E_2 . On parle de spectroscopie infrarouge lorsqu'il y a seulement, une modification des énergies vibrationnelles et rotationnelles des molécules.

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier [9], [10] qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et qui mesure les longueurs d'onde absorbées et les intensités de l'absorption. Le faisceau infrarouge provenant de la source est dirigé vers l'interféromètre de Michelson qui va moduler chaque longueur d'onde du faisceau à une fréquence différente. Dans l'interféromètre le faisceau lumineux arrive sur la séparatrice. La moitié du faisceau est alors dirigée sur le miroir fixe, le reste passe à travers la séparatrice et est dirigé sur le miroir mobile. Quand les deux faisceaux se recombinent, des interférences destructives ou constructives apparaissent en fonction de la position du miroir mobile. Le faisceau modulé est alors réfléchi des deux miroirs vers l'échantillon, où des absorptions interviennent. Le faisceau arrive ensuite sur le détecteur pour être transformé en signal électrique.

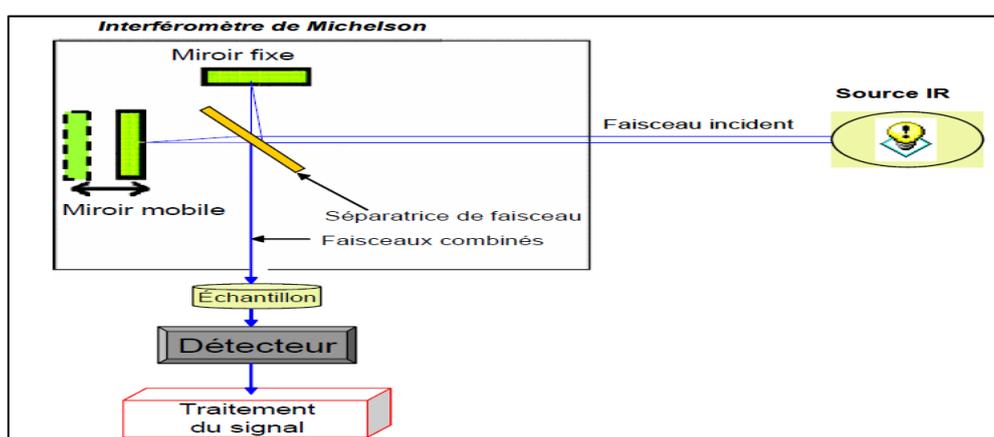


Figure 8 : Schéma d'un spectromètre avec interféromètre de Michelson

Le signal du détecteur apparaît comme un interférogramme, c'est à dire une signature de l'intensité en fonction de la position du miroir. L'interférogramme est la somme de toutes les fréquences du faisceau. Cet interférogramme est ensuite converti en un spectre infrarouge par une opération mathématique appelée transformée de Fourier.

– **Interprétation d'un spectre moyen infrarouge**

La position, le nombre et l'intensité des bandes renseignent sur la nature et la concentration relative des groupements fonctionnels (C=O, C-O, etc...) et structuraux (CH₃, CH₂, etc...) présents au sein des composés constituant l'huile d'olive.

En général, le spectre moyen infrarouge est divisé en quatre régions [11]:

- ✓ La région qui s'étend de 3700 à 2500 cm^{-1} est nommée région d'élongation d'hydrogène parce que les vibrations d'élongation des liaisons C-H, O-H et N-H apparaissent à ces nombres d'onde.
- ✓ La région d'élongation des doubles liaisons allant de 2000 à 1600 cm^{-1} et on y trouve les bandes des liaisons C=C, C=O, et C=N.
- ✓ La région s'étalant de 1600 à 1000 cm^{-1} est la région d'empreinte digitale. Cette région est très complexe et difficile à interpréter à cause du grand nombre de bandes d'infrarouge qui se trouvent dans cette région (les vibrations d'élongation des liaisons simples C-O, C-C et C-N, vibrations de déformation de la liaison C-H, et quelques bandes relatives aux cycles de benzène). L'utilité de ce dernier est que les nombreuses bandes peuvent servir comme une empreinte digitale pour des molécules.
- ✓ La région allant de 1000 à 400 cm^{-1} , est appelée parfois la région aromatique, car les bandes intenses caractéristiques des cycles de benzène sont présentes dans cette région.

2. La spectroscopie UV/Visible

2.1. Généralités

La mesure de l'absorption des radiations électromagnétiques par la matière dans le domaine de l'UV/visible apporte peu d'informations structurales, en revanche, elle est très utile pour les analyses quantitatives. A partir de la loi de Beer et Lambert, elle permet de déterminer la concentration d'un composé contenu dans une solution transparente à partir de l'absorbance spécifique de ce composé. Le domaine de l'UV/Visible est compris de 190 à 750 nm et peut être divisé en deux parties : l'ultraviolet allant de 190 à 400 nm, et le visible allant de 400 à 750 nm.

- Description des niveaux d'énergie électronique

L'absorption est due à l'interaction de la radiation avec l'échantillon. Lorsqu'il absorbe un photon, l'énergie d'un ou plusieurs électrons de valence se trouve accrue, entraînant des transitions électroniques de valence entre les orbitales moléculaires, désignées par σ et π si ce sont des orbitales liantes, par σ^*

et π^* s'il s'agit d'orbitales anti-liantes et n s'il s'agit d'orbitales non liantes intervenant très peu dans la liaison chimique. Les niveaux énergétiques de ces orbitales moléculaires sont schématisés sur la figure (9) dans le cas des composés organiques.

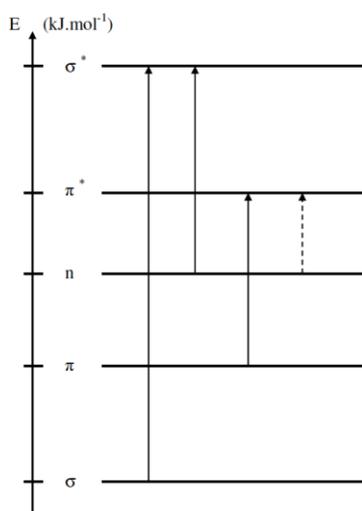


Figure 9 : Niveaux énergétiques des orbitales moléculaires impliquées dans les transitions électroniques.

- Règles de sélection et transitions permises

Une transition UV-visible (180 à 750 nm) correspond à la transition d'un électron d'une orbitale moléculaire fondamentale occupée à une orbitale moléculaire excitée vacante. La matière absorbe alors un photon dont l'énergie correspond à la différence d'énergie entre le niveau fondamental et le niveau excité. Mais toutes les transitions énergétiquement possibles ne sont pas permises. Les transitions permises sont celles qui provoquent une variation du moment dipolaire électrique et sont celles symbolisées sur la la figure (9). En d'autres termes, le photon fait changer la symétrie de l'orbitale occupée par l'électron avant et après la transition mais ne fait pas changer le spin de cet électron.

- Les différents types de transitions et chromophores

Les groupes fonctionnels responsables de l'absorbance d'un composé en UV/Visible sont appelés groupements chromophores ($C=C$, $C=O$, $C=N$, $C\equiv C$, $C\equiv N\dots$). Un même groupement lorsqu'il est isolé absorbe toujours aux mêmes longueurs d'onde. Par contre, lorsque les chromophores sont proches les uns des autres ceux-ci ont tendance à absorber plus fortement à des longueurs d'onde

plus élevées. La longueur d'onde d'absorption dépend de la nature des orbitales mises en jeu.

- ✓ Transition $\sigma\text{-}\sigma^*$: la grande stabilité des liaisons σ des composés organiques fait que la transition d'un électron d'une OM liante σ vers une OM anti-liante σ^* demande beaucoup d'énergie. La bande d'absorption correspondante est intense et située dans l'UV-lointain, vers 130 nm.
- ✓ Transition $n\text{-}\pi^*$: elle résulte du passage d'un électron d'une OM non-liante n à une OM anti-liante π^* . Ce type de transition a lieu dans le cas des molécules comportant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres appartenant à un système insaturé. La bande correspondante est faible car la transition est interdite. La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle située entre 270 et 280 nm. Le coefficient d'absorption molaire est faible.
- ✓ Transition $n\text{-}\sigma^*$: le transfert d'un électron du doublet n d'un hétéroatome (O, N, S, Cl..) à un niveau σ^* est observé pour les alcools, les éthers, les amines ainsi que pour les dérivés halogénés. Cette transition donne une bande d'intensité moyenne qui se situe à l'extrême limite du proche-UV.
- ✓ Transition $\pi\text{-}\pi^*$: la transition électronique dans les composés possédant une double liaison isolée conduit à une forte bande d'absorption vers 165-200 nm.

En pratique, ne seront donc observées que des transitions de type $\pi\rightarrow\pi^*$ et, avec une très faible intensité, des transitions de type $n\rightarrow\pi^*$. L'information contenue dans un spectre électronique concerne donc essentiellement les insaturations de la molécule étudiée : une absorption ne peut avoir lieu qu'en présence de doubles liaisons.

2.2. Instrumentation

Un spectromètre est constitué de trois parties distinctes : la source lumineuse, le système dispersif, et le détecteur.

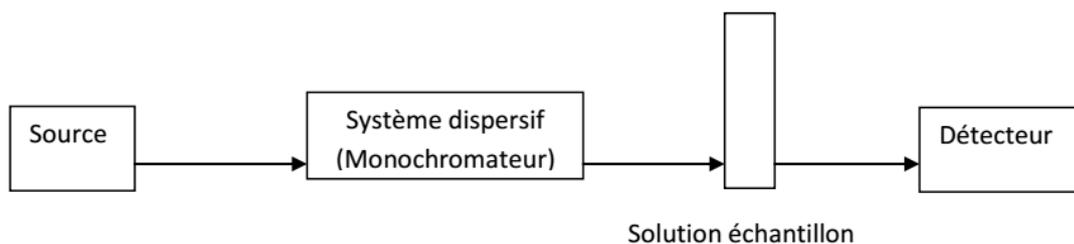


Figure 10 : Spectromètre de type séquentiel à optique normale

La source qui a été utilisée est une lampe à arc de xénon. Elle est utilisée dans tous les appareils de routine. Elle émet dans le domaine de l'UV/Visible (200 à 700 nm) mais également en partie dans le proche infrarouge (700 à 1100 nm).

Pour les appareils séquentiels (fig. 10), le système dispersif est un monochromateur qui permet de sélectionner une gamme la plus étroite possible de longueurs d'onde à partir d'un faisceau lumineux de gamme de longueurs d'onde plus large.

Le rôle du détecteur à diode est de transformer l'intensité lumineuse reçue en signal électrique proportionnel.

II. La chromatographie

La chromatographie est une technique physique de séparation de composés chimiques en mélange dans un échantillon. Les composés sont entraînés par une phase mobile (liquide, gaz ou fluide supercritique) le long d'une phase stationnaire (silice, polymère, silice greffée, etc...) contenue dans une colonne chromatographique. En fonction de la nature de la phase mobile, il s'agira de chromatographie gazeuse (CPG), de chromatographie liquide (CL) ou de chromatographie supercritique. Chaque composé se déplace à une vitesse propre dépendant de ses caractéristiques et de celles des deux phases. Ainsi, il ne peut y avoir séparation que si les caractéristiques des composés sont différentes et si leurs interactions avec la phase stationnaire et/ou la phase mobile sont différentes. Cette technique séparative peut être couplée à un (ou plusieurs) détecteurs en vue d'une analyse qualitative ou quantitative. Les colonnes utilisées à l'heure actuelle en chromatographie gazeuse sont des colonnes dites capillaires creuses, de faibles diamètres (de 0.25 à 0.53 mm) et de longueur de quelques dizaines de mètres (10 à 60 m). Elles sont constituées d'un matériau

inerte (souvent de la silice fondue) tapissé sur la face interne d'un film fin (de 0.10 μm à 5 μm) de phase stationnaire. Deux grands types de phases stationnaires sont majoritaires sur le marché : les polysiloxanes, et les polyéthylènes et polypropylènes glycols.

Les colonnes utilisées en chromatographie liquide haute pression (CLHP) sont des colonnes dites remplies, de 2 à 5 mm de diamètre et de 5 à 50 cm de longueur. Elles sont constituées d'un matériau inerte (souvent de l'acier, pouvant résister à de fortes pressions) rempli soit de particules solides (de diamètre et de porosité variables) soit d'un monolithe, souvent constitués de silice. La phase stationnaire est soit la silice elle-même, soit de la silice greffée sur la par des groupements organiques polaires (aminopropyle, glycéropropyle...) ou des groupements alkyles apolaires (C_4 , C_8 , C_{18} ...) ou encore des groupements alkyles portant des groupements polaires. Dans cette étude, une colonne monolithe greffée en C_{18} a été utilisée.

Quand un composé de masse totale m_T est introduit dans la colonne, il se répartit dans la phase mobile en une quantité m_M et dans la phase stationnaire en une quantité m_S . Si les conditions opératoires sont conservées, ces quantités sont constantes durant la migration du composé dans la colonne. Le rapport de ces quantités est appelé facteur de rétention k . Il dépend du rapport des volumes de phase mobile V_M et de phase stationnaire V_S , appelé en chromatographie gazeuse rapport de phase β . k est propre à un composé car il est fonction de l'intensité de ses interactions avec la phase stationnaire et/ou la phase mobile, traduite par le coefficient de distribution de Nernst (K), qui correspond au rapport de la concentration du composé dans la phase stationnaire (C_S) sur la concentration de celui dans la phase mobile (C_M) (éq. 3). Ainsi k traduit la capacité de rétention de la colonne.

$$\text{Equation (3) : } k = \frac{m_S}{m_M} = \frac{C_S V_S}{C_M V_M} = \frac{K}{\beta}$$

Les valeurs de k et de K sont fonction de la rétention du composé : plus elles sont grandes, plus il est retenu.

La quantité de chaque composé sortant de la colonne après des équilibres successifs est ensuite détectée par un détecteur adapté et est représentée sous forme d'un pic chromatographique sur un graphique en deux dimensions, appelé chromatogramme, montrant la réponse du détecteur en fonction du temps. Le temps de rétention (t_R) d'un composé correspond au temps nécessaire pour que celui-ci atteigne le détecteur et est visualisé par le sommet du pic auquel il correspond. Il est égal à t_M , temps pendant lequel il se trouve dans la phase mobile et se déplace à la même vitesse que celle-ci, et t_S , temps durant lequel il est fixé à la phase stationnaire et reste immobile. Le temps de rétention est caractéristique du composé et permet ainsi l'identification de composés par comparaison des temps de rétention d'échantillons et de standards obtenus dans les mêmes conditions chromatographiques.

En sortie de colonne, les composés arrivent au niveau du détecteur. Certains, dit universels sont sensibles à quasiment tous les composés élués (par exemple, le détecteur à conductibilité thermique ; TCD), d'autres par contre sont spécifiques (par exemple, le détecteur à capture d'électrons ; ECD). Un des détecteurs les plus utilisés en CPG est le détecteur à ionisation de flamme (FID; fig. 11). Ce détecteur est parfaitement adapté à la détection des composés organiques non chlorés. Le flux gazeux en sortie de colonne pénètre dans la flamme d'un brûleur alimentée par un mélange d'hydrogène et d'air. Cette flamme dégrade l'échantillon en ions et particules chargées, entraînant un faible courant ionique (de l'ordre de 10-12 A) entre les deux électrodes du détecteur. L'extrémité du brûleur constitue la première électrode (masse) et un anneau entourant la flamme, la seconde. Le courant ionique est ensuite amplifié en une tension mesurable.

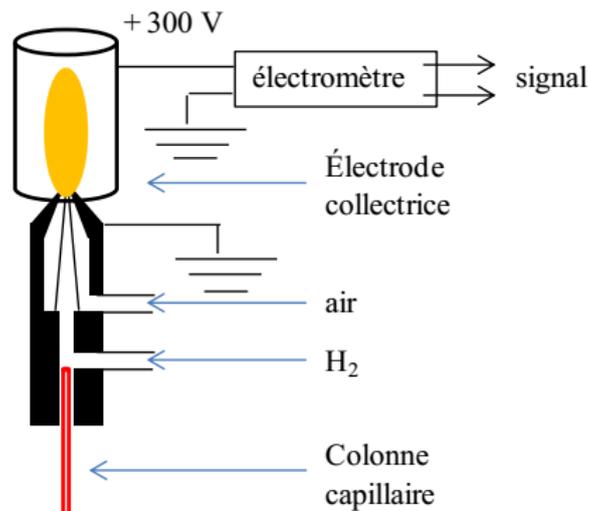


Figure 11 : Schéma du détecteur FID

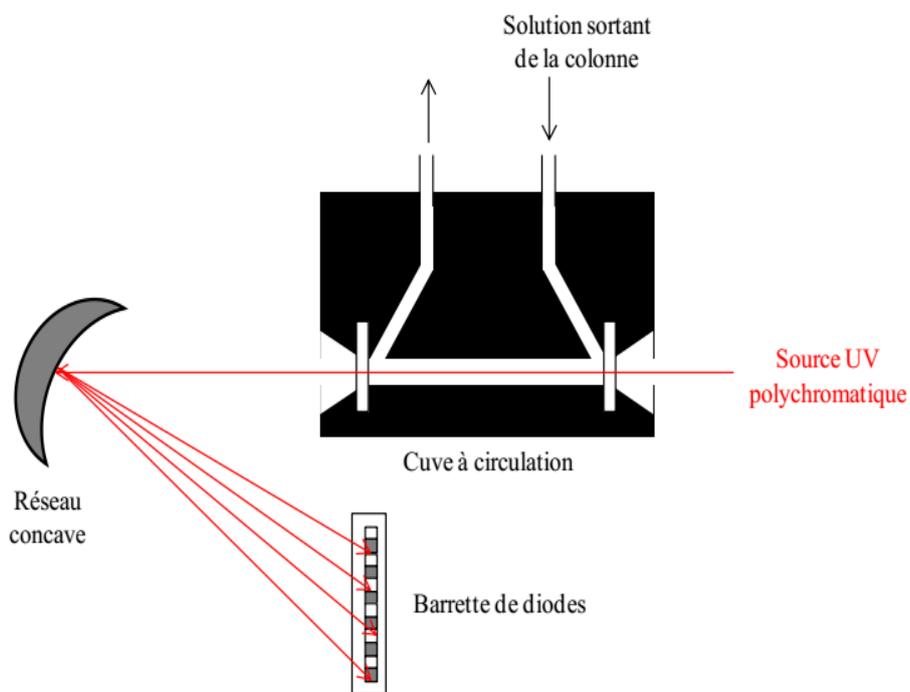


Figure 12 : Schéma du détecteur DAD

Les détecteurs les plus utilisés en CLHP sont les détecteurs spectrophotométriques dans le domaine de l'UV/visible soit mono longueur d'onde, soit multi longueurs d'onde (détecteur à barrette de diodes ou en anglais Diode Array Detector (DAD)). Le détecteur DAD (fig. 12) permet soit de mesurer l'absorbance à plusieurs longueurs d'onde simultanément, soit de capter tout un domaine de longueurs d'onde sans interrompre la circulation dans la colonne.

Le rayonnement électromagnétique d'une source poly-chromatique, émettant en UV, traverse la solution avant d'être réfléchi à un angle dépendant de la longueur d'onde d'émission par un miroir concave. L'absorbance pour chaque longueur d'onde est alors mesurée par une barrette de diodes. La limite de la résolution dépend de la taille des diodes.

Si la réponse du détecteur est proportionnelle à la quantité de composés qu'il détecte, l'aire d'un pic est proportionnelle à la quantité du composé auquel il correspond. Le coefficient de proportionnalité entre l'aire (A) et la quantité de composé (m) ou la concentration de celui-ci (C) dans le volume (V) d'échantillon injecté ($m = C V$), appelé coefficient de réponse absolu ($k = m/A = CV/A$) peut être différent pour chaque composé. Par étalonnage externe, c'est-à-dire par le biais d'une gamme d'étalonnage du composé standard correspondant, il est possible de déterminer la concentration d'un composé dans l'échantillon. Afin de palier les dérives instrumentales et les erreurs d'injection, le recours à l'étalonnage interne peut être nécessaire. Un étalon absent dans l'échantillon et ayant des propriétés chromatographiques proches de celles du composé à quantifier, est ajouté en quantité connue dans l'échantillon avant d'injecter celui-ci. Puisque tous les composés sont injectés en un même volume, le coefficient de réponse relatif à l'étalon sera utilisé pour quantifier le composé. Il correspond au rapport du coefficient de réponse absolu du composé et celui de l'étalon et doit être déterminé par le biais d'une gamme d'étalonnage du composé et de l'étalon.

La composition en acides gras des triglycérides constituant les échantillons d'huile d'olive a été déterminée par CPG et la composition phénolique des huiles d'olive a été déterminée par CLHP par étalonnage interne en considérant tous les facteurs de réponses relatifs égaux à 1.

III. Analyse des acides gras

Après estérification des acides gras présents dans les échantillons, cette méthode de séparation a permis la séparation des esters méthyliques des acides gras selon la méthode décrite par la réglementation du COI. Le détail des conditions opératoires est donné dans la partie expérimentale, (Chapitre 1, Paragraphe II-9). Un des chromatogrammes obtenus pour l'huile fraîche est représenté sur la figure (13). Les pics ont été identifiés en comparant leurs

temps de rétention à ceux de standards et en se basant sur les données de la littérature [12]. Les acides gras indiqués aux sommets des pics des esters méthyliques sont les acides gras contenus dans l'échantillon et sont repris dans le tableau (5).

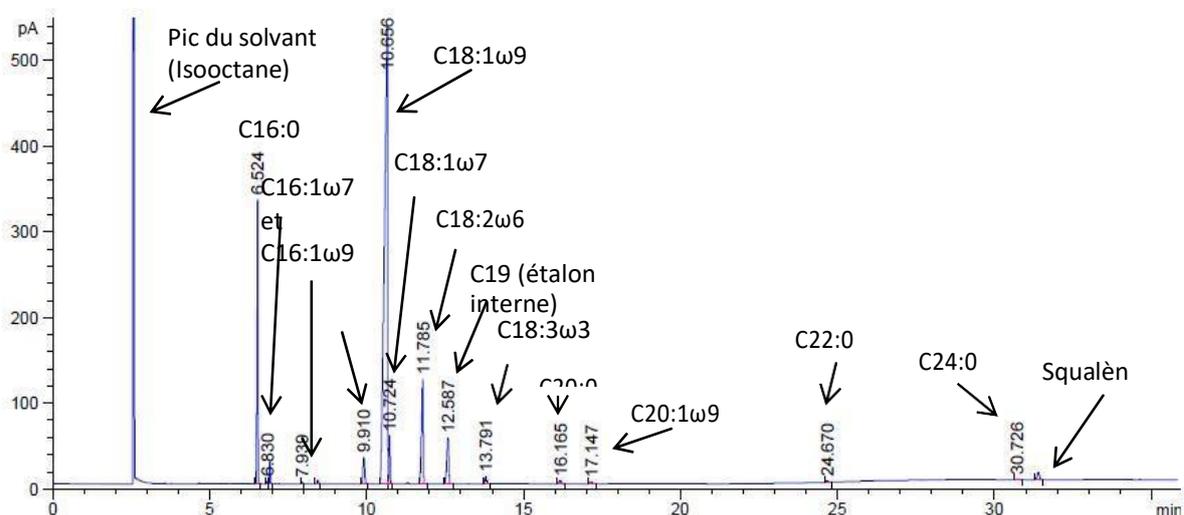


Figure 13 : Chromatogramme des esters méthyliques d'une huile d'olive [13].

Tableau 5 : Identification des pics chromatographiques d'une huile d'olive

Symbole	identification	Nom usuel
C16:0	acide hexadecanoïque	acide palmitique
C16:1 ω 9	acide 7-hexadecénoïque	acide hypogéique
C16:1 ω 7	acide 9-hexadecénoïque	acide palmitoléique
C17:0	acide heptadecanoïque	acide margarique
C17:1 ω 8	acide 9-heptadecénoïque	acide margaroléique
C18:0	acide octadecanoïque	acide stéarique
C18:1 ω 9	acide 9-octadecénoïque	acide oléique
C18:1 ω 7	acide 11-octadecénoïque	acide cis vaccénique
C18:2 ω 6	acide 9,12-octadécadiénoïque	acide linoléique
C18:3 ω 3	acide 9,12,15-octadécatriénoïque	acide linoléinique
C20:0	acide eicosanoïque	acide arachidique
C20:1 ω 9	acide 11-eicosénoïque	acide gondoïque
C22:0	acide docosanoïque	acide béhénique
C24:0	acide tétracosanoïque	acide lignocérique

Les acides gras ont été classifiés en trois catégories : les acides gras saturés (AGS), contenant le C16:0, le C17:0, le C18:0, le C20:0, le C22:0 et le C24:0 ; les acides gras mono-insaturés (AGMI), contenant le C16:1 ω 9, le C16:1 ω 7, le C17:1 ω 8, le C18:1 ω 9, le C18:1 ω 7 et le C20:1 ω 9 ; et les acides gras polyinsaturés (AGPI), contenant le C18:2 ω 6 et le C18:3 ω 3.

IV. Chimiométrie

La chimiométrie est la discipline de la chimie analytique qui utilise les méthodes mathématiques, statistiques et les outils informatiques pour extraire de l'information utile contenue dans les données de mesures expérimentales [14]. Cette discipline a trois objectifs principaux [15] :

- Le premier est la planification et l'organisation des expériences [16] pour avoir le maximum d'information avec le minimum des essais : plans d'expériences.
- Le second objectif est la description et l'exploration des données sous forme synthétique : l'analyse en composantes principales (ACP) est l'une des méthodes descriptives exploratoires [17].
- Enfin, son dernier objectif est la prédiction, soit de valeurs continues comme avec les méthodes de régression comme la PLS [18], soit de classer avec une analyse discriminante comme la PLS-DA [19].

1. Prétraitements mathématiques appliqués aux spectres infrarouges

Les étapes de prétraitement interviennent avant l'établissement du modèle prédictif. Pour obtenir la meilleure modélisation, il est parfois nécessaire d'effectuer certains prétraitements sur les données spectrales de manière à corriger certains défauts des spectres. Les prétraitements utilisés sont les suivants.

– La correction de la ligne de base

La correction de la ligne de base consiste à modéliser les variations incontrôlées du spectre et de les soustraire au signal observé. Généralement on utilise des fonctions polynomiales de degré compris entre 2 et 6.

– La normalisation

Cette correction permet de réduire les variations incontrôlées de l'intensité générale des spectres qui n'est pas toujours maîtrisée et qui peuvent être dues au trajet optique, à l'épaisseur des cellules, aux différences de distributions granulométriques. Pour corriger ce défaut, on normalise la valeur de chaque

variable en la divisant par un nombre « a » supposé représentatif de l'intensité générale du spectre. « a » est calculé de différente manière suivant la normalisation souhaitée : ce nombre peut être la plus grande valeur absolue, la valeur moyenne ou encore la gamme de variation (max-min).

– **Standard Normate Variate (SNV)**

Cette méthode s'applique à chaque spectre individuellement. Elle consiste à calculer la déviation standard de l'ensemble des absorbances du spectre et de les diviser par cette valeur de manière que chaque spectre ait une déviation standard égale à 1. Les équations ci-dessous représentent le calcul de la valeur corrigée pour chaque variable x et le calcul de la déviation standard (std.X).

$$X_{corj} = \frac{X_j - \bar{X}}{std.X}$$

$$std.X = \sqrt{\frac{\sum_j^n (X_j - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

– **Le lissage**

Le lissage permet de diminuer le bruit. La méthode la plus simple est la moyenne mobile. Chaque valeur est remplacée par la valeur moyenne des variables les plus proches. Une autre méthode consiste à prédire la valeur de chaque variable en établissant un modèle quadratique sur un segment dont le nombre de points a été choisi au préalable.

– **La dérivée**

La dérivée est le premier prétraitement qui fut utilisé. Elle permet de réduire la dérive de la ligne de base, de séparer plus clairement les bandes d'absorption et d'exalter l'information spectrale. Il existe plusieurs méthodes de calcul de la dérivée. Durant cette étude la méthode de Savitzky et Golay a été utilisée. Elle consiste à calculer un polynôme de degré k, ajusté sur au moins k+1 points autour du point à dériver et de calculer la dérivée de ce polynôme. L'opération est conduite simultanément sur tous les points du spectre. L'inconvénient de la

dérivée est que ce prétraitement a tendance à augmenter le bruit et ne permet pas ensuite d'interpréter aisément les loadings.

2. Méthodes chimiométriques appliquées

Le choix de la méthode d'analyse est fonction de l'objectif de l'étude. Il peut s'agir d'une analyse quantitative, \mathbf{Y} contient alors des valeurs continues comme par exemple des valeurs de concentrations. Il peut s'agir de la détermination d'une propriété, de l'appartenance à une classe. Dans ce cas, l'analyse est qualitative et les valeurs de \mathbf{Y} sont codées de manières discrètes. C'est l'objectif principal de notre étude.

L'analyse qualitative concerne la discrimination des échantillons par une frontière et la classification, c'est-à-dire l'attribution des échantillons dans différents groupes en fonction de la valeur d'une propriété d'intérêt. L'application des méthodes de classification est importante en chimie, en biologie et en agroalimentaire. On distingue les méthodes dites supervisées et les méthodes non supervisées (dite méthodes exploratoires). Par définition, pour les méthodes non supervisées (clustering), les échantillons sont regroupés sans connaissance a priori de leur appartenance à une classe, c'est-à-dire que seule la matrice X intervient.

Dans le cas de méthodes de classification supervisées, l'attribution des classes pour les échantillons du lot de données nécessite la connaissance de la propriété de référence.

4.1. Analyse en Composantes Principales : ACP

L'ACP permet de déterminer les caractéristiques principales des spectres, de les comparer entre elles et de mettre en évidence des liens entre les variables descriptives (les absorbances aux différentes longueurs d'onde) [20].

L'ACP projette le nuage de points dans un espace de représentation de faibles dimensions [21]. Elle calcule de nouvelles variables, appelées composantes principales qui sont des combinaisons linéaires des absorbances de départ. Puisque l'objectif de l'analyse est la simplification, il faut choisir la dimension de l'espace de représentation en effectuant un compromis entre deux objectifs

contradictoires : prendre un espace de faibles dimensions et conserver une variance expliquée maximale.

- ✓ Le centre de gravité du nuage de points est calculé. Il s'agit du point ayant pour coordonnées les moyennes des coordonnées des individus. Les données sont centrées, ce qui correspond à une translation du repère. Ainsi, l'origine du nouveau repère est le centre de gravité du nuage initial.
- ✓ Le premier axe principal est la droite passant par l'origine qui restitue le maximum d'inertie, c'est-à-dire le maximum de variance. Le deuxième axe est orthogonal au premier, passant par l'origine qui approxime le mieux les données, c'est-à-dire, qui exprime le mieux la variance résiduelle. Les composantes suivantes sont déterminées de la même façon.
- ✓ Ensuite, les coordonnées des individus dans le nouvel espace sont calculées.

Mathématiquement, l'ACP consiste à calculer des combinaisons linéaires des variables de départ donnant de nouvelles composantes, appelées composantes principales qui contiennent la plus grande partie de la variabilité de la matrice de données originales [22]. L'ACP projette les données (données spectrales) dans un espace de représentation de faibles dimensions. Quand les données de départ sont des spectres tels que les spectres infrarouges, les vecteurs propres associés aux composantes principales sont équivalents à des spectres de produits purs, et les coordonnées factorielles sont analogues à des concentrations [23].

La décomposition matricielle de l'ACP permet d'obtenir des matrices des coordonnées factorielles (ou «scores») et des contributions factorielles (ou «loadings»), selon l'équation (4) :

$$\text{Equation (4) : } X = T \cdot P^T + E$$

Avec : \mathbf{X} (n, p) est la matrice de données originale, \mathbf{T} (n, k) sont les coordonnées factorielles des individus sur les composantes principales et \mathbf{P}^T (k, p) sont les contributions factorielles des variables originales aux composantes principales.

Le calcul des composantes principales (CPs), n'est qu'une approximation de la matrice de données originales \mathbf{X} où \mathbf{E} (n, p) est la matrice des écarts entre les valeurs des données originales et cette approximation. Les coordonnées \mathbf{T} et les contributions factorielles \mathbf{P} contiennent toute l'information importante relative aux variables et aux objets, respectivement. Les écarts \mathbf{E} portent l'information sur la dispersion résiduelle, qui n'est pas importante pour décrire le comportement des échantillons.

D'un point de vue géométrique, l'ACP peut être plus facilement comprise comme une méthode de rotation des données pour que l'observateur soit le mieux placé pour comprendre les relations relatives entre les individus, entre les variables et de même entre individus et variables. Les coordonnées factorielles sont des représentations des individus sur des plans construits à partir des composantes principales, où l'on peut détecter des répartitions structurées des objets, la formation de groupes ou la présence d'individus aberrants.

2.2- Partial least square discriminante (PLS-DA)

En général, les méthodes de discrimination ont comme objectif de mettre en relation une variable qualitative indiquant l'appartenance des objets à des classes et un ensemble de variables quantitatives. Elles sont appelées aussi méthodes d'apprentissage supervisé. La méthode de régression au sens des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA) est une méthode de classification supervisée, qui est maintenant très utilisée dans le domaine de l'agroalimentaire [23]. La connaissance a priori de l'appartenance des objets aux différentes classes est utilisée pour définir une règle d'affectation.

L'objectif principal de la méthode est de séparer des groupes d'individus d'une manière concrète. Son principe fondamental est basé sur la création de nouvelles variables Y , formées par les indicateurs des groupes et d'appliquer la régression PLS2 sur ces nouvelles variables. Considérons, un individu i appartenant à un groupe k , donc la ligne i de la variable Y est un vecteur dont tous les éléments prennent la valeur de 0 , à l'exception de l'élément en position k , qui prend la valeur de 1 . Les composantes discriminantes de la PLS-DA [24] peuvent être représentées sous forme de cartes factorielles. La qualité du modèle élaboré est influencée directement par le nombre de variables latentes choisies.

Ce choix du nombre de variables latentes est choisi en fonction de l'erreur de prédiction du modèle d'étalonnage pré-établi.

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

3. Développement d'une méthode d'analyse

Le développement des applications analytiques (quantitative et qualitative) est la partie la plus difficile et souvent la plus onéreuse. Elle se déroule en plusieurs étapes, et principalement on trouve:

- Collecte d'un ensemble de produits représentatifs: Sélection des échantillons adéquats, représentatifs des composés à analyser ;
- Enregistrement des spectres de la collection complète: Recueil des données (Analyses constantes et reproductibles nécessaires) ;
- Etablissement d'un modèle prédictif par l'application de méthodes statistiques multidimensionnelles, après création d'une collection d'étalonnage (de calibration) et une de validation : Application d'une modélisation chimiométrique qui va permettre d'optimiser les jeux d'étalonnage, d'assurer la robustesse de la méthode et éventuellement assurer son transfert sur d'autres appareils ;
- Etape de prédiction, qui se fait par l'application du modèle sur un ensemble d'échantillons inconnus: Vérification de la méthode (robustesse, précision, exactitude, spécificité) afin de s'assurer de sa fiabilité [25].

Les grandes étapes de la mise au point d'une application analytique (qualitative) sont résumées dans la figure (14) :

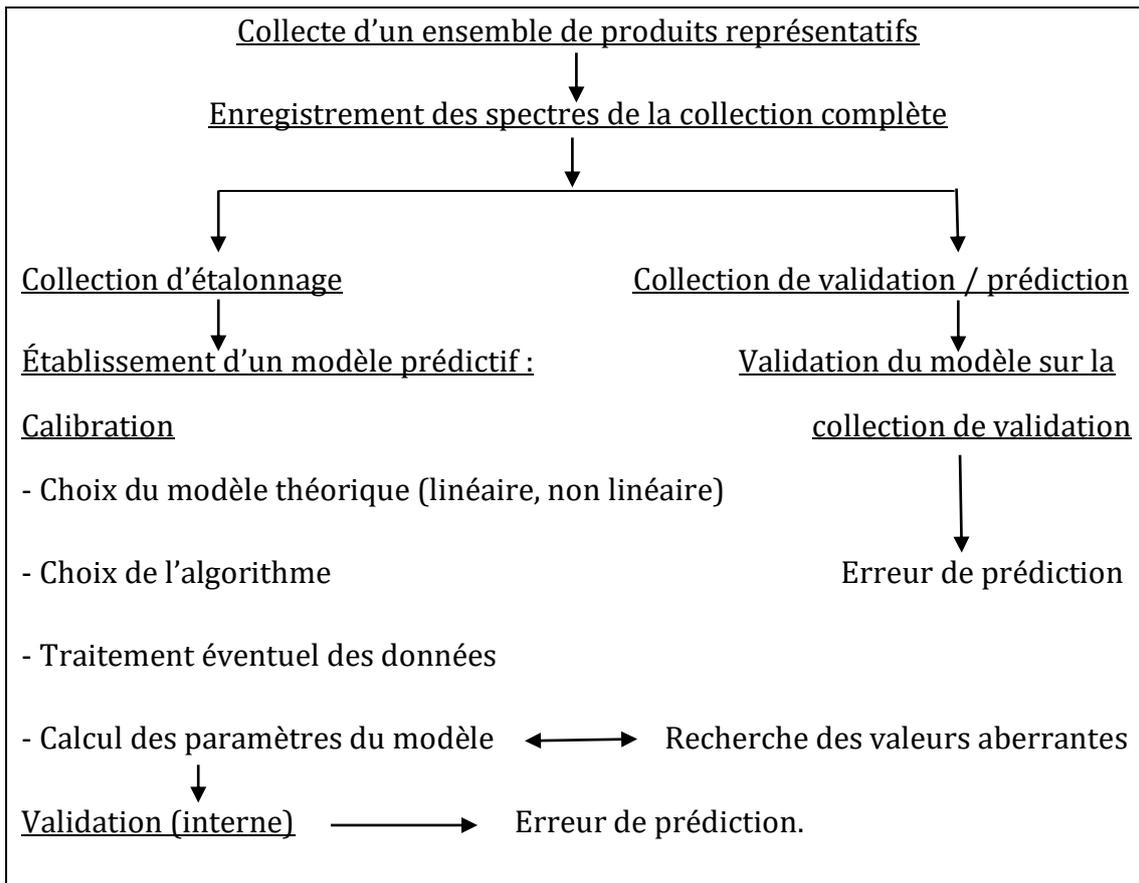


Figure 14 : Les différentes étapes d'une application analytique

4. Paramètres d'évaluation de la qualité des modèles

4.1. Modèle de calibration

Différents critères statistiques permettent d'évaluer la qualité des étapes d'étalonnage et de validation. Tout d'abord, deux paramètres permettent de vérifier les performances d'étalonnage. Il s'agit de l'erreur quadratique d'étalonnage (RMSEC) et du coefficient de détermination R^2 qui correspond au carré du coefficient de corrélation R . Le RMSEC mesure les écarts entre la valeur prédite par spectroscopie moyen infrarouge et la valeur de référence. Le RMSEC est donné par l'équation (5) et le coefficient de corrélation R est donné par l'équation (6) [26].

$$\text{Equation (5) : } RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\hat{y}_j - y_j)^2}{n}}$$

Avec :

y_j : la concentration de référence pour l'échantillon j

\hat{y}_j : la concentration prédite pour l'échantillon j

n : nombre d'échantillons dans le lot d'étalonnage

$$\text{Equation (6) : } R = \frac{\text{cov}(y', y)}{\sigma_{y'} \cdot \sigma_y}$$

Avec :

cov (y', y) est la covariance de y' et de y

$\sigma_{y'}$, σ_y sont les écarts-types respectifs de y' et y

4.2. Validation croisée totale

La validation d'un modèle est basée sur la vérification à quel point le modèle se produira sur de nouvelles données de même nature qui ont été utilisées dans l'élaboration du modèle d'étalonnage. La validation d'un modèle estime l'incertitude des prévisions futures qui peuvent être faites avec le modèle. Si l'incertitude est relativement faible, le modèle peut être considéré comme validé. Bien que l'objectif soit d'avoir suffisamment d'échantillons pour mettre une quantité raisonnable de côté comme un ensemble de test, cela n'est pas toujours possible en raison, par exemple, pour le coût des échantillons ou des essais de référence. La meilleure alternative à un test indépendant pour la validation est d'appliquer la validation croisée.

Avec la validation croisée totale, les mêmes échantillons sont utilisés à la fois pour l'élaboration et les tests du modèle [27]. Quelques échantillons sont enlevés de l'ensemble de données d'étalonnage et le modèle d'étalonnage est élaboré à partir des données restantes. Ensuite, les valeurs pour les échantillons enlevés sont prédites et les erreurs de prédiction sont calculées. Le processus est répété avec un autre sous ensemble de l'ensemble d'étalonnage, et ainsi de suite jusqu'à ce que tous les objets soient testés, puis tous les résidus de prédiction sont combinés pour calculer les erreurs résiduelles.

Pour évaluer la qualité du modèle, l'erreur quadratique de validation croisée, notée $RMSEC_v$ (Root Mean Square Error of Cross Validation) et le coefficient de détermination R^2_{cv} sont calculés. La formule de $RMSEC_v$ est donnée par l'équation (7) :

$$\text{Equation (7) : } RMSEC_v = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - y_i)^2}{n}}$$

Avec :

y_i est la concentration observée

\hat{y}_{icv} est la concentration prédite par validation pour l'échantillon retiré

n est le nombre d'échantillons testés (nombre d'échantillon dans le jeu d'étalonnage)

Le coefficient de détermination R^2_{cv} qui correspond au carré du coefficient de corrélation R étant donné par l'équation (8) :

$$\text{Equation (8) : } R^2_{cv} = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

4.3. Validation externe

L'étape de validation externe permet de tester le modèle d'étalonnage [28,29] sur un groupe d'échantillons externe qui ne sont pas contribués dans l'élaboration du modèle d'étalonnage. Les valeurs de Y prédites sont ensuite comparées aux valeurs de Y observées, ce qui donne un résidu de prédiction pouvant être utilisée pour calculer une variance résiduelle de validation. Au cours de cette étape, différents indicateurs statistiques sont calculés : le coefficient de détermination de prediction (R^2_p), l'erreur standard de prédiction (Root Mean Square Error of Prediction: RMSEP), l'erreur relatif de prédiction en pourcentage (RE %) et la limite de detection (LOD) qui sont donnés par les équations (9), (10), (11) et (12) respectivement.

$$\text{Equation (9): } R^2 p = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

$$\text{Equation (10): } RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m (y_j - y'_j)^2}{n}}$$

$$\text{Equation (11): } RE \% = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i)^2}} \times 100$$

$$\text{Equation (12): } LOD = 3 * RMSEP$$

5. Logiciels de traitement des données spectrales

De nombreux logiciels de statistiques peuvent être utilisés pour traiter des données spectrales. Ils doivent permettre de tenir compte des spécificités de ces données, en termes de volume et leur nature. Ils doivent également fournir des outils de manipulations et de représentations graphiques des données. En effet, il existe plusieurs logiciels, parmi lesquels on peut citer : Simca-P, SPSS, Matlab et the Unscrambler.

Dans notre cas, tous les calculs ont été réalisés en utilisant la version du logiciel the Unscrambler 10.1 de CAMO (Computer Aided Modeling, Trondheim, Norway). Ce logiciel possède de nombreux outils statistiques utiles pour l'étalonnage multidimensionnel et des fonctions de prétraitement des spectres.

6. Spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimométriques et leurs applications

Le développement des applications du moyen infrarouge en agroalimentaire est récemment connus, suite au développement d'appareils basés sur la transformée de Fourier et de nouveaux dispositifs de présentation des échantillons beaucoup plus pratiques [30]. Ainsi qu'elle a été appliquée dans

plusieurs domaines : l'adultération du café torréfié [31], l'adultération d'huile d'Avocat [32] et la discrimination des Saucisses de jambon chinois [33].

Dans le domaine des huiles, plusieurs travaux ont été entamés. D'une part, l'application de la spectroscopie infrarouge couplée à la PLS a permis la classification des huiles d'olive selon les origines géographiques [34] ou bien selon les variétés [35]. D'autre part, la spectroscopie MIR est devenue une méthode de routine pour doser les acides gras "*cis*" et "*trans*" dans les huiles et les matières grasses. En utilisant l'ATR, Belton P. S. et al. [36] ont dosé les acides gras "*trans*" insaturés dans les huiles et les matières grasses.

Ainsi, l'adultération d'huile d'Argan par d'autres huiles végétales (des huiles de tournesol et de soja) a été étudiée par spectroscopie infrarouge couplée la chimiométrie [37].

Les huiles des moteurs ont été aussi étudiées par la spectroscopie infrarouge et la chimiométrie. Des auteurs ont utilisé cette technique pour évaluer la qualité des huiles de moteurs SAE30 à la réception selon la conformité [38].

Les résultats de ces travaux montrent que la méthode de la spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques, peut être utilisée comme une méthode d'analyse rapide, sensible, robuste et à faible coût.

Dans le même sens, notre étude vise à développer d'autres applications de la spectroscopie infrarouge combinée à la chimiométrie pour le contrôle qualité des huiles d'olives.

V. Références

- [1] Bertrand, D. et Dufour, E. (2006). La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques. TEC & DOC, Paris. 31-74, 156-157, 261-266, 284, 566.
- [2] Rouessac, F. et Rouessac, A. (1998). *Analyse chimique: méthodes et techniques instrumentales modernes*. Dunod. 4ème Ed., 147-171.
- [3] Banwell, C. (1983). *Fundamentals of molecular spectroscopy*. Mc Graw Hill, Londres, 338-345.
- [4] Workman J. (1992). *NIR spectroscopy calibration basics, in Handbook of near infrared analysis*. Eds by D.A. Burns and E.W. Ciurczak, Marcel Dekker, New York, 247-280.
- [5] Essendoubi, M. (2007). *Identification et typage par micro spectroscopie IRTF des levures du genre Candida d'origine clinique*. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne.
- [6] Dalibart, M. et Servant, S. (2000). Spectroscopie dans l'infrarouge. *Techniques de l'ingénieur*. 2845, 1-26.
- [7] Bellon-Maurel, V. (1992). *Application de la spectroscopie proche infrarouge au contrôle en ligne de la qualité des fruits*. Thèse Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- [8] Helm, D., Labischinski, H., Schallehn, G. et Naumann, D. (1991). Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy. *J. Gen. Microbiol.* 137, 69-79.
- [9] Kloos, G. (1996). Design of a Michelson interferometer for the measurement of electrostrictive strains. *Optics & Laser Technology*, 28, 481-484.
- [10] Zhang, J., Xu, J. Q., Gao, Y. CH. et Sh, Ch. Si. (2009). Modified Michelson interferometer for probing refractive index of birefringent crystal CSBN50. *Optics and Lasers in Engineering*, 47, 1212-1215.
- [11] Smith, B. (1999). *Infrared spectral interpretation: A systematic approach*. CRC Press, Washington, DC, 1-29.
- [12] Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J. P. et Guère, M. (2003). Triacylglycerol and Fatty Acid Compositions of French Virgin Olive Oils. Characterization by Chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5723-5731.
- [13] International Olive Council. (2015, February). *Determination of fatty acid methyl esters by Gas Chromatography*. COI/T.20/Doc. No 33.
- [14] Massart, D., Vandeginste, B. et Buydens, L. (1997). *Handbook of chemometrics and Qualimetrics: Part A*. Elsevier science Ed; Amsterdam, 20.
- [15] Bertrand, D. (2006). Les méthodes d'analyse rapides dans les industries agroalimentaires, in: D. Bertrand, E. Dufour (Eds.), *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, Lavoisier, Paris, France, 4-28.
- [16] Goupy, J. (1999). *La méthode des plans d'expériences*. Ed, Dunod, Paris.
- [17] Joliffe, T. (1986). Principal component analysis. *Springer-Verlag, New York*, 271.
- [18] Tenenhaus, M. (1999). L'approche PLS. *Revue de Statistique Appliquée*, 472-55.
- [19] Bardos, M. (2001). Analyse Discriminante. Ed, Dunod, Paris, 223.

- [20] Yves roggo. (2003). *Détermination de la qualité de la bettrave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimiométrie*. Thèse de doctorat. Université des sciences et technologies de Lille.
- [21] Danzart, M. (1990). *Statistique descriptive*. Inb: SSHA and ISHA, Analyse sensorielle. Manuel méthodologique, Tec & Doc, Paris, 209.
- [22] Eriksson, L., Johansson, E., Kettaneh, N. et Wold, S. (2001). *Multi- and Megavariate Data Analysis. Part I- Basic principles and applications*. Umetrics AB, Umea, Sweden 1-527.
- [23] Pizarro, C., Rodríguez-Tecedor, S., Pérez-del-Notario, N., Esteban-Díez, I. et González-Sáiz J. M. (2013). Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. *Food Chemistry*, 138, 915-922.
- [24] Fraley, C. et Raftery, A. E. (2002). Model-Based Clustering, Discriminant Analysis and Density Estimation. *Journal of the American Statistical Association*, 97, 611-612.
- [25] Terouzi, W. (2013). *Caractérisation Et Classification Des Olives Et Huiles D'olive Marocaines Par Spectroscopie Moyen Infrarouge Et Chimiométrie*. Thèse de doctorat. Université Sultan Moulay Slimane.
- [26] Martens, H. et Naes, T. (1990). *Multivariate calibration*, Wiley & Sons, Chichester, 419. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 46, 1541.
- [27] Davies, A. M. C. (1998). Cross validation, do we love it too much? *Spectroscopy Europe*, 18.
- [28] Golbraikh, A. et Tropsha, A. (2002). Beware of q². *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20, 269-276.
- [29] Tropsha, A. et Golbraikh, A. (2007). Predictive QSAR modeling workflow, model applicability domains and virtual screening. *Current Pharmaceutical Design*, 13, 3494-3504.
- [30] Cuny, M. (2008). *Authenticité des produits agroalimentaires par spectroscopie RMN 1H et outils chimiométriques*. Thèse de doctorat, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech.
- [31] Reis, N. (2013). Quantitative evaluation of multiple adulterants in roasted coffee by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and chemometrics. *Talanta*, 115, 563-568.
- [32] Quiñones-Islas, N. (2013). Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. *Food Research International*, 51, 148-154.
- [33] Xu, L. (2012). Rapid discrimination of pork in Halal and non-Halal Chinese ham sausages by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and chemometrics. *Meat Science*, 92, 506-510.
- [34] De Luca, M., Terrouzi, W., Giuseppina, I., Kzaiber, F., Oussama, A., Filomena, O., Tauler, R. et Gaetano, R. (2011). Derivative FT-IR spectroscopy for cluster analysis and classification of morocco olive oils. *Food Chemistry*, 124, 1113-1118.
- [35] Terouzi, W., De Luca, M., Bolli, A., Oussama, A., Patumi, M., Ioele, G. et Ragno, G. (2011). A discriminant method for classification of Moroccan olive varieties by using direct FT-IR analysis of the mesocarp section. *Vibrational Spectroscopy*, 56, 123-128.

- [36] Belton, P.S., Wilson, R.H., Sadeghi, H., Orabchi, J. et Peers, K. E. (1988). A rapid method of the estimation of isolated *trans* double bands in oils and fats using Fourier transform infrared spectroscopy combined with attenuated total reflectance. *Lebensm. Wiss. U, Technol.*, 21, 153-157.
- [37] Elabadi, F., Oussama, A. et Olivier, D. (2012). Analysis of Argan Oil Adulteration Using Infrared Spectroscopy. *Spectroscopy Letters*, 45, 458–463.
- [38] Hirri, A., Bassbasi, M. et Oussama, A. (2013). Classification And Quality Control Of Lubricating Oils By Infrared Spectroscopy And Chemometric. *International Journal of Advanced Technology & Engineering Research*, 3, 59-62.

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre 1: Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive extraite de la variété Picholine Marocaine à la commune rurale de Tagzirt, province de Béni Mellal, Maroc

I. Introduction

L'huile d'olive fait partie, depuis 2010, de la liste de l'UNESCO du patrimoine culturel immatériel de l'humanité. Elle se trouve être un produit doté de grandes qualités organoleptiques et nutritionnelles qui lui valent l'honneur d'être servie sur les plus grandes tables, citée par les plus grands chefs et étudiée par le monde scientifique. L'huile d'olive est composée d'environ 99 % de triglycérides. Sa composition en acides gras est caractérisée par une teneur importante en acides gras mono-insaturés, en particulier en acide oléique et en acides gras poly-insaturés (linoléique, et acide linoléique). L'autre attrait de l'huile d'olive réside en sa richesse en composés minoritaires tels que les composés phénoliques et les tocophérols.

La forte demande en huile d'olive vierge de bonne qualité au cours des dernières années est due à ses vertus thérapeutiques qui sont liés à ses activités biologiques et ses propriétés organoleptiques [1], [2]. En effet, un grand nombre de pays ont déployé des efforts particuliers pour améliorer la production d'huile d'olive tant sur le plan quantitatif que qualitatif. Cette nouvelle donnée a eu des conséquences importantes sur la filière désormais soumise à une forte concurrence où la qualité et la différenciation des huiles d'olive deviennent un facteur de compétitivité de ce secteur.

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

Le patrimoine oléicole constitue la principale essence fruitière au niveau de la région Béni Mellal-Khénifra représentant ainsi près de 60 % des plantations fruitières dans cette zone. Au cours de ces dernières années, la filière oléicole a connu un dynamisme important à travers l'extension des superficies oléicoles. Le profil variétal est très dominé par la variété dite "Picholine Marocaine" qui représente 78 % de la superficie totale oléicole (DRABMK, 2016). Le secteur de transformation des olives dans la région est caractérisé par la vétusté de son parc et la dominance des moulins traditionnels influant négativement sur la qualité de l'huile. En outre, l'absence de données sur la qualité de l'huile d'olive produite à la commune de Tagzirt nous a amené à entreprendre le présent travail.

Par ailleurs, la qualité d'une huile d'olive dépend aussi entre autres, de facteurs environnementaux et agronomiques, du procédé de fabrication et aussi du conditionnement. Elle est évaluée par des paramètres physico-chimiques et des caractéristiques organoleptiques règlementés par des normes internationales. Des valeurs limites sont fixées pour définir différentes catégories de qualité dont la meilleure est « huile vierge extra ».

Afin d'évaluer la qualité de nos huiles d'olive, nous nous sommes intéressés à l'étude de la composition chimique de ces huiles. Pour ce faire, quinze échantillons d'huiles d'olive ont été collectés de moulins à huile traditionnels de la commune de Tagzirt. Les analyses physico-chimiques suivantes: l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice de réfraction, la densité, le pH, les coefficients d'extinctions spécifiques K_{232} K_{270} , la variation de l'extinction spécifique ΔK , la teneur en chlorophylles et en α -tocophérol, la teneur en composés phénoliques et la proportion en acide oléique ont été effectuées.

II. Matériels et méthodes

1. Echantillonnage

L'étude a porté sur quinze échantillons d'huiles d'olive monovariétales (E_1 à E_{15}) du principal cultivar marocain, à savoir la Picholine Marocaine. Ces échantillons ont été collectés de moulins à huile traditionnels équipés d'un système de broyage à pierres de granit, à la commune rurale de Tagzirt, située à

une distance de 20 Km à l'Est de la ville de Béni Mellal, (32°20'22" N; 6°21'39" W; Altitude: 530 m), dans le centre du Maroc, au cours de la campagne 2015/2016. Les échantillons ont été conservés à 4 °C dans l'obscurité en utilisant des bouteilles en verre ambré, sans espace de tête pour chasser l'air, afin d'éviter le phénomène d'auto-oxydation avant l'analyse.

2. Détermination de l'indice de réfraction et de la densité

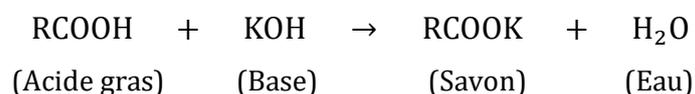
Les mesures des densités et des indices de réfraction des échantillons d'huile d'olive ont été effectuées à l'aide d'un Réfracto-Densimètre « Delta Range DR 45 METTLER TOLEDO ». C'est un système entièrement automatique pour la détermination simultanée de ces deux paramètres physiques à la fois, avec une précision élevée (quatre décimales). Avant chaque utilisation, l'appareil est calibré avec de l'eau distillée et de l'air.

3. Détermination de l'indice d'acidité

L'indice d'acidité est un indicateur permettant d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutive à de mauvais traitements ou à une mauvaise conservation. Il permet de déterminer la teneur en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides [3]. Il est exprimé en % d'acide oléique, et est mesuré par la quantité de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras.

La détermination de l'acidité des huiles a été effectuée conformément à la méthode décrite par le C.O.I. [4] dont le principe est le suivant : nous avons mis en solution une prise d'essai (1 gramme) dans un mélange de solvant (12,5 ml d'éthanol / 12,5 ml d'éther diéthylique), puis nous avons titré les acides gras présents à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium (0,1 N) en présence de la phénolphtaléine comme indicateur coloré. Un essai témoin (sans matières grasses) a été réalisé dans les mêmes conditions.

Le principe de la détermination de l'indice d'acidité d'une huile consiste en un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant :



L'acidité est calculée en pourcentage en masse comme suit:

$$\text{Acidité (\%)} = \frac{(V - V_0) \times N \times M}{10 m}$$

Avec :

V = volume de titrage en (ml)

V_0 = volume d'hydroxyde de potassium (0,1 N)
utilisé pour le blanc (ml)

N = normalité de la solution d'hydroxyde de potassium en (mol/l)

M = masse molaire de l'acide oléique en (g/mol)

m = masse de la prise d'essai en (g)

4. Détermination de l'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 est le nombre d'hydroperoxydes formés dans un corps gras au cours de sa conservation, il renseigne sur l'état de son oxydation. Ainsi, les huiles d'olive perdent leur fraîcheur à partir d'un indice de peroxyde supérieur ou égal à 20 méq d'O₂/kg.

Il estime l'état d'auto-oxydation de l'huile, qui est un mécanisme lent mais inéluctable. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (température élevée, eau, enzyme, traces de métaux Cu, Fe...). Cette auto-oxydation ou rancissement aldéhydique conduit dans un premier temps à la formation de peroxydes (ou hydroperoxydes) qui se décomposent ultérieurement en dérivés carbonylés aldéhydes et hydrocétones (responsables de l'odeur de rance) et en divers produits oxygénés (alcools, acides...).

L'indice de peroxyde (IP), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme d'huile (méq.O₂/kg d'huile), a été déterminé selon la méthode décrite par le C.O.I selon la norme ISO 3960 (COI, 1995) [4] : On pèse environ 1g d'huile dans un erlenmeyer de 250 ml auquel on ajoute 10 ml de chloroforme et 15 ml d'acide acétique et immédiatement après 1 ml d'une solution aqueuse

saturée d'iodure de potassium. On agite pendant une minute et on met le mélange à l'obscurité pendant 5 min. on ajoute 75 ml d'eau distillée en agitant rigoureusement et lorsque la solution devient jaune-clair, on ajoute quelques gouttes d'empois d'amidon (indicateur), si une couleur violacée apparaît après agitation énergique, il y a présence de peroxyde. Le dosage se fait alors avec une solution de thiosulfate de sodium (0,01 N). Le point d'équilibre est déterminé lorsque la couleur de la solution passe du brun au transparent. Un essai à blanc sans le corps gras est effectué parallèlement au premier essai.

L'indice de peroxyde est déterminé selon la formule suivante:

$$IP \text{ (még. } O_2/\text{kg)} = \frac{1000 (V - V_0) \times C}{m}$$

Avec :

V = volume utilisé de la solution de thiosulfate de sodium (ml)

V_0 = volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour le blanc (ml)

C = concentration du thiosulfate de sodium (mol/l)

m = masse de la prise d'essai en (g)

5. Analyse spectro-photométrique dans l'Ultra-Violet

La spectrophotométrie UV est utilisée pour déceler les composés oxydés anormaux dans une huile d'olive vierge. Cette huile accuse un pic d'absorption entre 203 et 208 nanomètres et est transparente au-delà de 210 nm. Les composés provenant de l'oxydation de l'huile présentent des absorptions pour les radiations de longueur d'onde suivantes:

- ✓ 232 nm pour les hydroperoxydes
- ✓ 270 nm pour les composés carbonylés
- ✓ 260, 268 et 280 nm pour les triènes conjugués

Aussi l'étude de la bande 230 à 300 nm est particulièrement intéressante pour révéler l'état d'oxydation d'huile. En pratique, l'extinction spécifique dans l'UV est calculée à partir d'une solution à 1 % sous une épaisseur de 1 cm, à l'aide d'une longueur d'onde de 232 nm et 270 nm.

Les valeurs de l'IP \leq 20 még.O₂/Kg d'huile ne signifient pas toujours l'absence du phénomène d'oxydation. Le recours à la détermination des coefficients

d'extinction spécifique (K_{232} , K_{270}) d'absorbance dans l'ultraviolet, renseigne sur la présence ou l'absence de produits d'oxydation secondaire dans l'huile [5], [6].

Les coefficients des extinctions spécifiques K_{232} et K_{270} des huiles dans l'ultraviolet qui constituent un important paramètre de qualité des huiles, sont calculés respectivement à partir de l'absorption à 232 et 270 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV selon la méthode décrite par le C.O.I [4] : Les échantillons d'huile d'olive (0,05 g à 0,25 g) sont dilués dans l'hexane (25 ml) jusqu'à l'obtention de densités optiques (DO) inférieures à 1. La lecture des absorbances est effectuée dans une cuve en quartz par rapport à celle du solvant, sur un spectrophotomètre UV visible, équipé d'une cellule de 1 cm d'épaisseur.

La loi de Beer Lambert précise que, pour un soluté donné en solution à une longueur d'onde λ , l'absorbance A est proportionnelle à l'épaisseur de la couche liquide traversée (l'épaisseur ' l ' de la cuve) par le faisceau lumineux et à la concentration C du corps dans la solution.

$$A_{\lambda} = \varepsilon \times l \times C$$

Avec :

A_{λ} = absorbance à la longueur d'onde λ

C = concentration, en grammes par 100 ml, de l'échantillon

l = épaisseur de la cuve

ε = coefficient d'extinction molaire

Les valeurs des extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm sont calculées en utilisant la formule suivante:

$$K = \frac{A_k}{C \times S}$$

Avec :

A_k = absorbance à la longueur d'onde k ;

C = concentration de la solution en (g/100ml);

S = chemin optique (1 cm).

Cette analyse prévoit aussi la détermination de la variation de l'extinction spécifique ΔK selon l'équation suivante :

$$\Delta K = K_m - \frac{(K_{m-4} + K_{m+4})}{2}$$

Où K_m est l'extinction spécifique à la longueur d'onde d'absorbance maximale m , aux environs de 270 nm.

6. Détermination de la teneur en chlorophylle

La teneur de chaque échantillon d'huile d'olive en pigments chlorophylles a été déterminée en utilisant un spectrophotomètre Perkin Elmer lambda 35 à travers l'absorbance A de l'huile d'olive à 630, 670 et 710 nm. Les échantillons ont été remplis directement dans une cellule en verre de 1 cm de longueur (L). Le tétrachlorure de carbone pur a été utilisé comme référence [7]. Le pigment chlorophylle a été calculé par:

$$\text{Chlorophylle (mg/kg)} = \frac{\left[A_{670} - \frac{(A_{630} + A_{710})}{2} \right]}{0,1086 \times L}$$

Avec :

Chlorophylle = teneur en pigments chlorophylles (mg/kg)

A_λ = absorbance à la longueur d'onde λ

L = épaisseur de la cuve

7. Détermination de la teneur en composés phénoliques

Les polyphénols totaux sont dosés par le suivi de leur capacité à réduire les acides phosphotungstique et phosphomolybdique, contenus dans le réactif de Folin, en oxydes de tungstène et molybdène. Ces derniers présentent une coloration bleutée mesurée à 760 nm.

La méthode de Folin-Ciocalteu [8] a été utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols totaux. 1ml d'huile est mélangé avec 9 ml d'un mélange d'eau/méthanol (25/75 v/v). Le mélange est placé au vortex pendant 1 min pour extraction des polyphénols dans le milieu méthanolique, puis 1ml de dichlorométhane est ajouté pour permettre à la partie huileuse de passer dans la phase inférieure et faciliter ainsi le recueil de 9ml du surnageant méthanolique. 1ml de réactif de Folin dilué 10 fois dans l'eau est ajouté et le mélange est laissé 2min à température ambiante avant d'ajouter 1ml de carbonate de sodium (75 g/L). Le mélange est chauffé pendant 15 min à 50 °C puis analysé à 760 nm.

L'étalonnage externe utilise l'acide gallique entre 0 et 500 mg/L du mélange méthanol-eau (0; 100; 200; 300; 400 et 500) qui est directement mélangé au Folin. La droite d'étalonnage externe est décrite par l'équation:

$$y = 1,665 x (R^2 = 0,9913).$$

8. Détermination de la teneur en α -tocophérol

L' α -tocophérol a été évalué selon la méthode IUPAC 2432 (IUPAC, 1992), [9]. Des échantillons d'huile de 2 g ont été dissous dans 25 ml d'hexane, filtrés (0,45 μ m) et injectés (20 μ l) dans le système CLHP (Agilent 1100, Agilent Technologies) avec une colonne Zobrax C18 (150 mm x 6 mm x 3,5 μ m). La phase mobile est le n-hexane/2-propanol (99,5/0,05 v/v) et le débit est de 0,8 ml/min. L' α -tocophérol individuel a été identifié à 295 nm et quantifié en mg/100g d'huile en utilisant l'étalant externe correspondant, le α -tocophérol (Sigma-Aldrich). La concentration du α -tocophérol dans les échantillons est déterminée par rapport de la surface de pic et de celle de la norme et les résultats sont ajustés en fonction de la densité moyenne de l'huile d'olive.

La teneur en α -tocophérol, (W), de l'échantillon, exprimée en milligrammes par kilogramme d'huile (mg/kg), est donnée par la formule:

$$W = \frac{\rho \times \bar{A}_t \times V}{\bar{A}_s \times m}$$

Avec :

ρ = concentration du α -tocophérol dans la solution standard en (μ g/ml)

\bar{A}_s = moyenne des aires de pics obtenues pour la norme α -tocophérol

\bar{A}_t = moyenne des aires de pics obtenues pour l' α -tocophérol dans l'échantillon d'essai

m = masse, en grammes, de l'échantillon d'essai

V = volume préparé de solution d'essai (= 1,5 ml)

9. Détermination de la proportion d'acide oléique

Le profil d'acide gras est généralement déterminé en évaluant les esters méthyliques d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG), comme suggéré par la réglementation du COI. En bref, 0,1 g d'huile est pesée et diluée avec 2 ml d'heptane et 0,2 ml de KOH méthanolique 2N. La solution obtenue est

vigoureusement secouée pendant 30 secondes et laissée stratifier jusqu'à ce que la solution supérieure devienne limpide. La solution supérieure est recueillie et évaporée à sec sous flux d'azote gazeux. L'ester méthylique est remis en solution dans 1 ml d'heptane et injecté dans la CPG. L'analyse a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse HP 6890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$). La colonne utilisée est une colonne capillaire Carbowax de type (30 m x 0,32 mm x 0,25 microns). Le gaz porteur était de l'azote à un débit de 2,5 ml/min. Le programme de température du four était de 140 à 240 $^{\circ}\text{C}$, le gradient de température était de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ pendant 10 minutes. L'identification des pics a été effectuée en présence de témoins et le calcul du pourcentage d'acide oléique a été effectué au moyen d'un intégrateur automatique. Toutes les analyses ont été effectuées en triple et les résultats sont exprimés en moyennes.

III. Résultats et discussions

Le tableau 6 suivant regroupe les résultats d'analyses de l'acidité libre, de l'indice peroxyde, de l'indice de réfraction et de la densité des échantillons d'huiles d'olive étudiés.

Tableau 6: Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction et la densité des échantillons d'huiles d'olive étudiés

Echantillon	Indice de réfraction	Densité	Acidité libre (% d'acide oléique)	Indice de peroxyde (meq d'O ₂ actif / kg d'huile)
E ₁	1,4693	0,9138	1,14±0,01	7,31±0,02
E ₂	1,4697	0,9141	1,02±0,01	14,53±0,02
E ₃	1,4695	0,9139	1,98±0,01	09,11±0,02
E ₄	1,4694	0,9138	1,17±0,01	11,85±0,02
E ₅	1,4696	0,9138	1,00±0,01	09,13±0,02
E ₆	1,4693	0,9138	0,80±0,01	13,45±0,02
E ₇	1,4693	0,9135	2,24±0,01	5,95±0,02
E ₈	1,4694	0,9138	1,35±0,01	15,34±0,02
E ₉	1,4692	0,9133	1,56±0,01	12,97±0,02
E ₁₀	1,4692	0,9135	0,7±0,01	11,70±0,02
E ₁₁	1,4693	0,9136	1,72±0,01	10,43±0,02
E ₁₂	1,4694	0,9137	1,64±0,01	15,26±0,02
E ₁₃	1,4694	0,9136	2,12±0,01	08,09±0,02
E ₁₄	1,4690	0,9129	1,33±0,01	09,48±0,02
E ₁₅	1,4693	0,9137	0,96±0,01	13,22±0,02
Normes COI	1,4677-1,4705	0,910-0,916	≤ 3,3	≤ 20

1. Indice de réfraction et densité

La densité et l'indice de réfraction sont des paramètres physiques permettant d'identifier et de juger la pureté et l'authenticité de l'huile d'olive.

Comme indiqué dans le tableau ci-dessus, toutes les valeurs de la densité semblent être identiques et conformes à la norme du codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées (0,910 à 0,916) g/cm³. La densité des huiles est généralement liée au degré d'insaturation et à l'état d'oxydation. A l'instar des densités, les indices de réfraction des échantillons analysés sont très similaires et conformes à la norme du Codex Alimentarius pour les huiles (1,4677 à 1,4705).

2. Acidité libre

L'acidité libre des échantillons d'huiles d'olive étudiés est comprise entre 0,7 et 2,24 % (tableau 6). Sur la base de ces résultats et selon la norme commerciale du COI, aucun échantillon analysé n'est classé huile d'olive vierge lampante (acidité supérieure à 3,3 %). En outre, les huiles étudiées peuvent être classées en trois catégories distinctes (COI, 2011):

- ✓ La classe de l'huile d'olive extra vierge dont l'acidité libre est inférieure ou égale à 0,8 %. Cette classe regroupe les échantillons E₆ et E₁₀.
- ✓ La classe de l'huile d'olive vierge avec une acidité libre comprise entre 0,8 et 2 %, cette classe contient les échantillons E₁, E₂, E₃, E₄, E₅, E₈, E₉, E₁₁, E₁₂, E₁₄ et E₁₅
- ✓ Et enfin la classe de l'huile d'olive vierge ordinaire ou courante qui est d'une acidité libre comprise entre 2 et 3,3%, cette classe contient les échantillons E₇ et E₁₃.

Les deux premières catégories présentent un pourcentage de 86,7 % de tous les échantillons analysés, deux huiles d'olive extra vierges et onze huiles d'olive vierges, ce résultat indique une bonne qualité globale qui peut être due à la fois à la fraîcheur des olives broyées et à la fraîcheur des huiles d'olive étudiées elles-mêmes, ainsi qu'une bonne conservation des fruits après la récolte.

D'un autre côté, ces résultats montrent une forte variation de l'acidité de différents échantillons ; ceci peut être attribué aux différents temps de séjour des olives avant broyage. En effet, les acides gras libres résultent de l'action de la lipase sur les triglycérides, ou d'une autre activité hydrolytique de ces triglycérides et cela peut se produire avant, pendant ou après le broyage des olives.

L'acidité élevée que nous avons obtenue pour la troisième catégorie peut être expliquée par l'état avancé de la maturité des fruits, le manque de prises de précautions lors de la récolte ou le stockage des olives qui entraînent la détérioration des fruits et par conséquent l'augmentation de la teneur en acides gras libres, sous l'action des lipases [10]. Cependant, les valeurs observées de l'acidité libre dans cette étude sont inférieures à celles notées par Boulfane et al. [11], qui ont obtenu des valeurs comprises entre 1,77 et 5,83 % pour les différentes huiles d'olive étudiées de la région de Chaouia, et elles sont également inférieures à celles annoncées par Benabid et al. [12], qui ont trouvé des valeurs comprises entre 0,77 et 9,26 % pour les différentes huiles d'olive analysées de la région algérienne. Par contre, nos résultats sont plus élevés que

ceux rapportés par Tanouti et al. [13], qui ont noté que l'acidité libre reste inférieure à 0,8 % pour l'huile d'olive produite dans l'est du Maroc.

3. Indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde (IP) d'une huile d'olive est une mesure brute de son oxydation primaire due à l'exposition à l'oxygène. Cette oxydation conduit à des produits d'oxydation secondaires qui donnent des arômes et des odeurs indésirables (rancissement). En général, des indices de peroxyde élevés impliquent une huile oxydée et donc un produit de moindre qualité [14]. Les résultats pour les teneurs en peroxydes des échantillons analysés sont présentés dans le tableau (6). Ils sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme d'huile (meq.O₂/ kg).

On constate que ces valeurs vont de 5,95 pour l'échantillon E₇ à 15,34 (meq.O₂/kg) pour l'échantillon E₈. Ces valeurs restent inférieures à la limite établie par la norme commerciale du COI pour les huiles d'olive extra vierge (≤ 20 meq.O₂/kg) (CIO, 2011). Cela signifie que les huiles d'olive étudiées auront une bonne durée de conservation. Des niveaux élevés de l'IP à l'étape de mise en bouteille ne sont pas une bonne indication d'une longue durée de conservation.

L'indice de peroxyde le plus élevé obtenu était de 15,34 (meq.O₂/kg) (E₈). Ceci peut être expliqué par l'oxydation des huiles d'olive en fonction des conditions de récolte et de post-récolte des olives [15].

Tanouti et al. [13] ont noté des valeurs similaires pour les huiles d'olive produites dans l'est du Maroc (7 à 15,4 meq.O₂/kg). Bien que Abu-Reidah et al. [16] ont obtenu des valeurs beaucoup plus faibles (8,20 à 11,37 meq.O₂/kg) pour les huiles d'olive de Palestine. Par contre Boulfane et al. [11] ont rapporté des valeurs plus élevées (10,96 à 18,7 meq.O₂/kg d'huile d'olive) pour les huiles d'olive de la région de Chaouia.

4. Absorbance dans l'ultraviolet

Les valeurs des extinctions spécifiques obtenues pour les échantillons étudiés par les ultraviolets à 232 nm et 270 nm et la variation ΔK sont indiquées sur la figure (15):

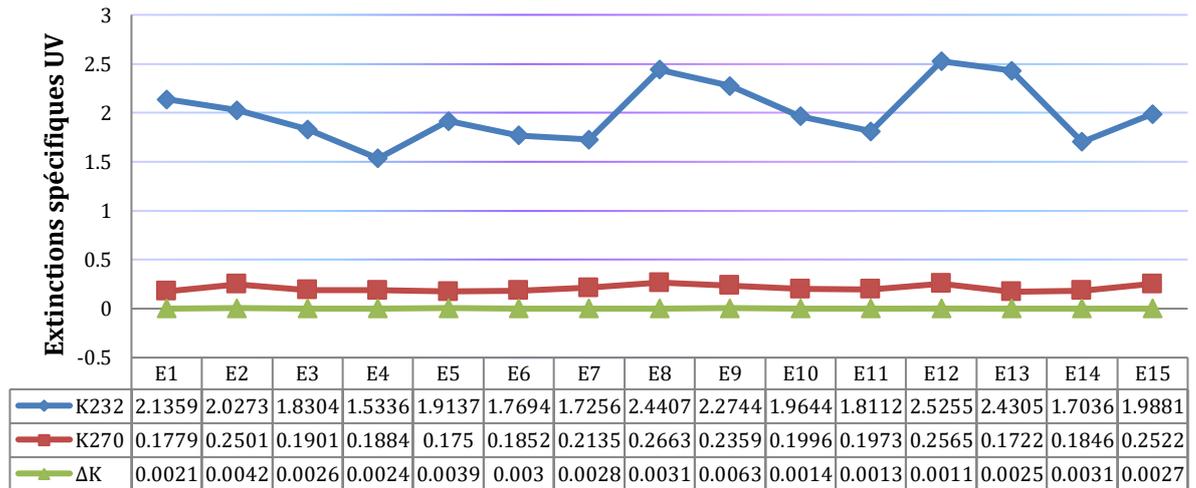


Figure 15: les extinctions spécifiques en UV des échantillons d'huile d'olive analysés

On remarque que toutes Les valeurs des extinctions spécifiques ultraviolet K_{232} et K_{270} obtenues pour tous les échantillons ne dépassent pas les limites fixées par le Conseil oléicole international pour les huiles d'olive vierges (COI, 2011), respectivement inférieures ou égales à 2,60 et 0,25, à la seule exception de l'échantillon E_8 ($K_{270} = 0,2663$). Cette exception peut avoir plusieurs explications telles que la récolte tardive des olives, une exposition excessive des olives et des huiles extraites à l'air et/ou à la lumière, ainsi qu'un éventuel réchauffement de la pâte au cours du broyage [13]. Il est à noter que cette huile présentait la valeur d'indice de peroxyde la plus élevée (15,34 meq.O₂/kg). Les extinctions spécifiques à 232 nm et à 270 nm de l'huile d'olive reflètent son état d'oxydation. Plus l'extinction à 232 nm est forte, plus l'huile est peroxydée. De même, plus l'extinction à 270 nm est élevée, plus l'huile est riche en produits d'oxydation secondaire, ce qui reflète sa faible conservation pendant le stockage [7]. Quant à la variation de l'extinction spécifique, elle varie d'un échantillon à l'autre mais sa valeur est comparable à celle établie par le COI ($\Delta K < 0.01$), (COI, 2011).

5. Teneur en pigment chlorophylle

La teneur en pigments chlorophylles est considérée comme l'un des facteurs les plus importants influençant la qualité de l'huile d'olive. La chlorophylle joue un rôle vital dans la détermination de la couleur de l'huile d'olive, et la couleur joue un rôle clé dans l'acceptabilité chez les consommateurs. En fait, de nombreux consommateurs préfèrent une huile d'olive de couleur verte foncée,

comme dans les huiles vierges [17]. D'un autre côté, le taux de la chlorophylle affecte également la stabilité oxydante de l'huile d'olive, car il est impliqué dans l'auto-oxydation dans l'obscurité et d'un autre coté dans le mécanisme de photo-oxydation sous l'effet de la lumière. La couleur est un attribut important pour les consommateurs, qui associent les teintes vertes de la chlorophylle dans l'huile avec la fraîcheur des produits [18].

Les teneurs en chlorophylles obtenues pour les échantillons étudiés, exprimées en partie par million (ppm), figurent sur la figure (16) ci-dessous:

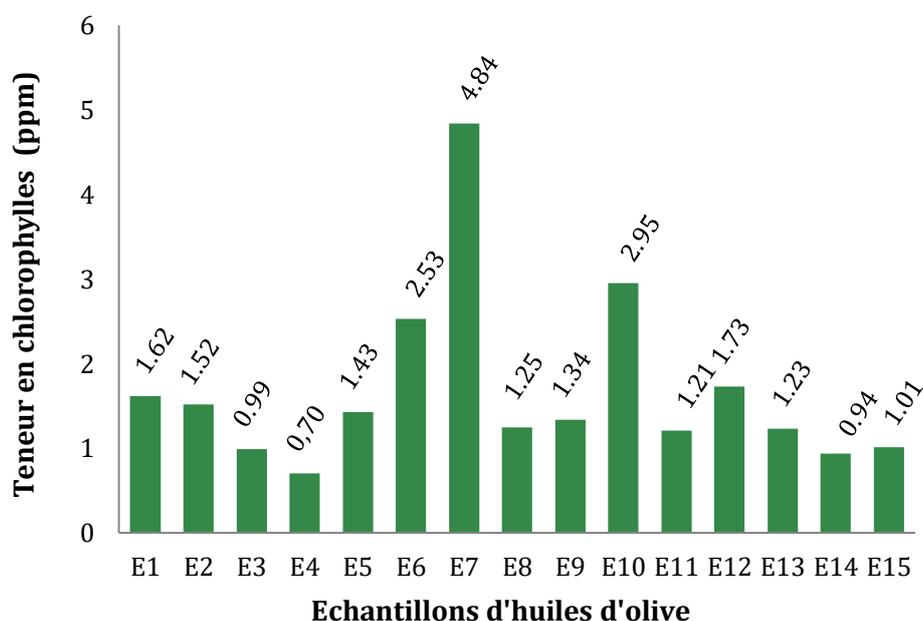


Figure 16: Teneurs en chlorophylle des échantillons d'huiles d'olive étudiés

La teneur en chlorophylle pour la plupart des échantillons analysés est strictement inférieure à 2 ppm. Ces faibles niveaux sont souhaités pour éviter l'action pro-oxydante des pigments chlorophylles et assurer ainsi une conservation appropriée des huiles [19] ; D'où l'intérêt de produire des huiles d'olive à partir d'olives mûres et d'enlever les feuilles lors de l'extraction de l'huile. En effet, certains chercheurs ont constaté que la concentration de chlorophylle est élevée - jusqu'à 80 mg/kg d'huile - au début de la période de maturation, et très faible - environ 2 mg/kg d'huile - lorsque le fruit est bien mûr [20]. Cette diminution est due à la dégradation de la chlorophylle produisant la phéophytine qui donne à l'huile sa couleur jaune [21]. Les échantillons E₆, E₇ et E₁₀ ont des teneurs en chlorophylles légèrement plus élevées, respectivement:

2,53, 2,95 et 4,84 ppm. Cela peut être expliqué notamment par une récolte précoce des olives triturées.

6. Teneur en composés phénoliques

Les composés phénoliques sont peut-être les plus importants des composés mineurs dans l'huile d'olive, en raison de leur effet antioxydant puissant et leur contribution résultante à la stabilité oxydative, donc à une longue durée de conservation de l'huile. Les teneurs en composés phénoliques obtenus pour les échantillons étudiés, exprimées en ppm, sont indiquées dans la figure (17):

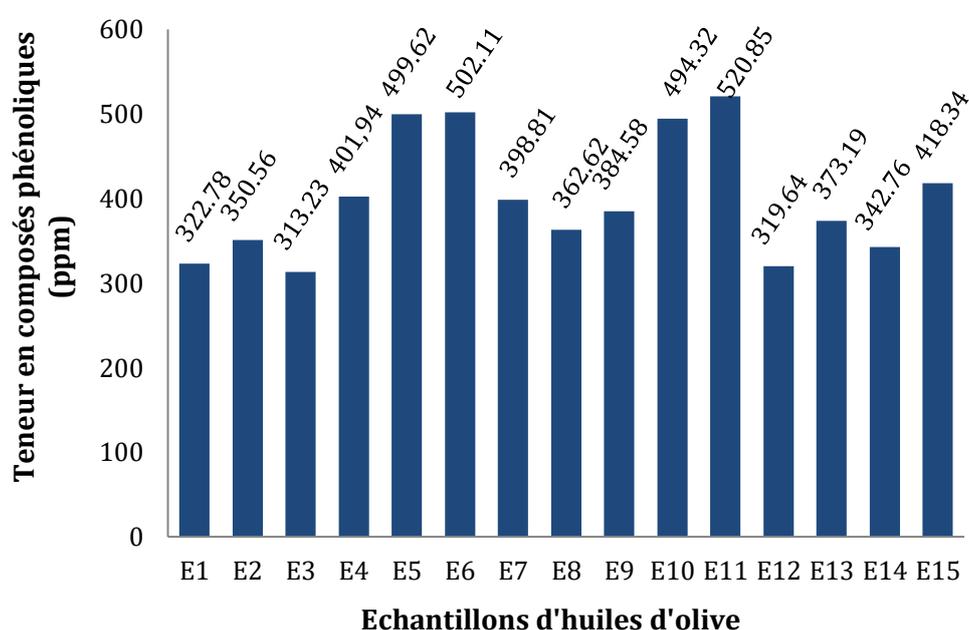


Figure 17: Teneurs en composés phénoliques des échantillons d'huiles d'olive étudiés

Les résultats obtenus montrent que les huiles d'olive étudiées contiennent des quantités considérables de composés phénoliques. Ces quantités varient entre 313,23 (E₃) et 520,85 ppm (E₁₁). Les résultats obtenus concordent avec ceux notés par Abu Reidah et al. [16] qui ont trouvé des valeurs allant de 318,99 à 469,96 ppm pour les huiles palestiniennes. Cependant, elles sont beaucoup plus élevées que celles obtenues pour l'huile d'olive produite dans la région de Tadla (179,9 à 281,35 mg/kg) [22].

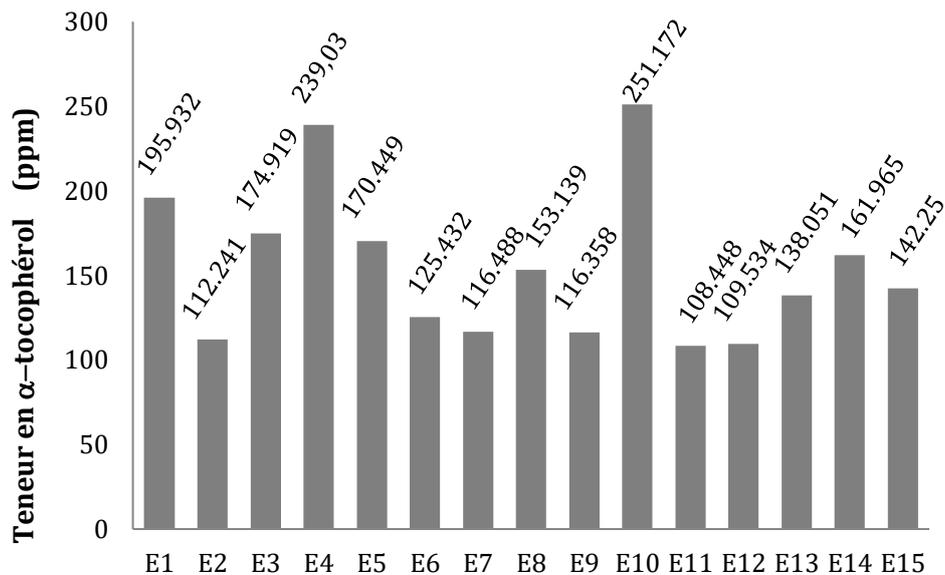
Les composés phénoliques passent dans l'huile lors de l'extraction. Ils sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation et assurent une meilleure stabilité pendant le stockage et un goût amer [13]. Les variations observées dans les concentrations peuvent être dues à

la différence de maturité des olives avant broyage (olives de récolte précoce), mais dépendent aussi du cultivar et de l'aire géographique [23]. En effet, les huiles d'olive provenant d'un cultivar situé en altitude, sont plus riches en phénols que celles des plaines [24]. La présence de feuilles lors du broyage des olives peut également augmenter la concentration des composés phénoliques dans les huiles d'olive [25]. En outre, les phénols ont un goût amer, ce qui contribue à l'amertume de l'huile; Cependant, bien que des teneurs élevées en polyphénols aient été trouvées dans les huiles d'olive de Tagzirt, organoleptiquement elles n'ont pas montré d'amertume spécifique ou du piquant qui nuisaient à la qualité.

7. Teneur en α -tocophérol

Les tocophérols sont collectivement connus sous le nom de vitamine **E**, et représentent une classe importante d'antioxydants qui se produisent naturellement dans les huiles végétales et ont la fonction de maintenir la qualité de l'huile en terminant les radicaux libres [26], [27].

Dans l'huile d'olive, plus de 90 % des tocophérols totaux sont représentés par l' α -tocophérol, qui présente une forte variation en fonction des conditions climatiques et agronomiques, telles que la zone d'origine, le cultivar et la maturité des olives [28]. La figure (18) montre les valeurs de la teneur en α -tocophérol des échantillons analysés.



Echantillons d'huiles d'olive

Figure 18: Teneur en α -tocophérol dans les échantillons analysés

Les teneurs en α -tocophérol des échantillons étudiés se situent entre 108,45 (E₁₁) et 251,17 ppm (E₁₀). Ces données montrent que les olives de Tagzirt contiennent un taux d' α -tocophérols dans la même gamme que les résultats d'autres huiles d'olive monovariétales provenant de différentes zones oléicoles traditionnelles dans le monde, allant de 109 à 250 ppm d'huile d'olive [29-30-31].

8. Proportion en acide oléique

Le profil d'acide gras (PAG) de l'huile est une mesure des proportions d'acides gras individuels dans l'huile, et est donc un facteur important dans la qualité de l'huile. Le rapport des différents acides gras dans l'huile influence la stabilité de l'huile, ainsi que la détermination de sa valeur nutritive. Certains acides gras sont considérés comme meilleurs que d'autres; Dans le cas de l'huile d'olive, l'acide oléique est plus souhaitable que les autres du point de vue nutritionnel. Les huiles qui ont des teneurs élevées en acide oléique (acide gras monoinsaturé) sont considérées comme ayant de la valeur nutritive la plus élevée (en fait, l'acide oléique prends son nom de l'olive, «olea»).

Nous avons déterminé le pourcentage d'acide oléique pour chaque échantillon par chromatographie en phase gazeuse. Les données de l'étude sont présentées dans le tableau (7):

Tableau 7: Proportions en acide oléique des différents échantillons d'huiles d'olive étudiés

Echantillons	Pourcentage d'Acide Oléique (C18:1)
E ₁	68,11
E ₂	70,28
E ₃	69,27
E ₄	69,65
E ₅	69,53
E ₆	73,19
E ₇	74,10
E ₈	72,28
E ₉	78,21
E ₁₀	75,65
E ₁₁	80,53
E ₁₂	71,19
E ₁₃	80,91
E ₁₄	79,33
E ₁₅	74,98
normes COI	55,0–83,0

Les résultats des quinze échantillons analysés montrent que les proportions d'acide oléique dans les huiles d'olive étudiées sont conformes aux limites établies par le Conseil oléicole international (COI, 2003). En effet, le pourcentage d'acide oléique (C18:1) varie entre 68,11 % pour l'échantillon E₁ et 80,91 % pour l'échantillon E₁₃. Des études ont montré que le profil des acides gras de l'huile d'olive est lié au cultivar et ont également montré que la maturité des fruits affecte le PAG [32], [33]. Le taux d'acide oléique augmente pendant la maturation suite à la biosynthèse du triacylglycérol actif [34].

Les pourcentages d'acide oléique des huiles d'olive étudiées sont très supérieurs aux valeurs rapportées par Issaoui et al. [35] pour les huiles d'olive tunisiennes (54,6 à 66,8 %). Cependant, ils sont un peu plus élevés que les valeurs trouvées par Abu-Reidah et al. [16] pour les huiles palestiniennes, qui vont de 67,24 à 72,27 %.

IV. Conclusion

En résumé, dans le présent travail, quinze échantillons d'huiles d'olive monovariétales de la variété Picholine Marocaine, produites dans la commune rurale de Tagzirt, province de Béni Mellal, au centre du Maroc, ont été physiquement et chimiquement analysés. Neuf analyses physico-chimiques ont été obtenues pour chaque échantillon; (Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction, densité, coefficients des extinctions spécifiques K_{232} , K_{270} et ΔK , teneur en chlorophylles, teneur en composés phénoliques, teneur en α -tocophérol et proportion d'acide oléique); Ces analyses ont permis de classer ces huiles d'olive selon les normes du Conseil oléicole international (COI) et d'évaluer ainsi leurs propriétés nutritionnelles et organoleptiques. 73,33 % des échantillons étudiés ont été classés dans la catégorie « huile d'olive vierge », 13,3 % dans la catégorie « huile d'olive extra-vierge » et 13,3 % dans la catégorie « huile d'olive vierge ordinaire ». A la lumière de ces résultats, nous pouvons déduire que l'huile d'olive étudiée révèle un grand potentiel en ce qui concerne la valeur nutritionnelle. En effet, tous les paramètres de qualité de la majorité des échantillons étudiés (acides gras libres, absorption UV, indice de peroxyde) prouvent que ces huiles d'olive respectent les normes du COI pour les huiles d'olive vierges et même, pour certains, celles des huiles d'olive-extra vierges. Les paramètres de pureté évalués (teneur en chlorophylles, teneur en composés phénoliques, teneur en α -tocophérol et pourcentage en acide oléique) indiquent également une bonne qualité globale de ces huiles d'olive.

Les résultats de cette étude confirment également que la qualité de l'huile d'olive est influencée par de nombreux facteurs, qui peuvent être regroupés dans ceux qui agissent lors de la formation de l'huile dans les olives, lors de la collecte des fruits et pendant le traitement et le stockage du produit final. Les facteurs génétiques (variétaux), climatiques et environnementaux peuvent affecter tous les éléments susmentionnés. Par conséquent, afin d'améliorer encore ces huiles régionales et de leur donner une valeur ajoutée, il est nécessaire de sensibiliser les agriculteurs pour améliorer les pratiques et les techniques de culture et les propriétaires des huileries traditionnelles en ce qui concerne le stockage des olives, la transformation et le stockage des huiles.

D'un autre coté, cette étude nous a clairement permis de remarquer et de constater que le degré de maturité des olives au moment de la cueillette est un paramètre qui s'impose en influant la qualité et la quantité de l'huile d'olive, c'est un facteur déterminant et omniprésent. En effet, comme nous le verrons par la suite, des recherches récentes ont montré que la qualité de l'huile d'olive dépend fondamentalement de l'interaction cultivar-environnement et plus particulièrement du degré de maturité des olives. Ce qui nous a poussé et motivé à étudier l'évolution de la qualité des huiles d'olive à différents stades de maturité des olives afin d'essayer de cerner ce facteur et d'appréhender son influence. Etude qui fera l'objet du chapitre suivant.

V. Références

- [1] Tanjour, Z. (2014). An evaluation of physicochemical parameters of some wild olive oil varieties in Syrian Coastal Territory. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 2, 146-153.
- [2] Foscolou, A., Cristselis, E. et Panagiotakos, D. (2018). Olive oil consumption and human health: A narrative review. *J. Maturitas*, 118, 60-66.
- [3] Conseil Oléicole International. (2013). *Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive*. COI/T.15/NC n° 3/Rév. 7.
- [4] Conseil Oléicole International. (1986 à 1999). *Normes Internationales de commercialisation des huiles et des olives de table*.
- [5] Ben Temime S., Taamalli W., Baccouri B., Abaza L., Daoud D. et Zarrouk M. (2000). Changes in olive oil quality of chetoui variety according to origin of plantation. *Journal of Food Lipids*, 13, 88-99.
- [6] Ollé M. (2002). *Analyse des corps gras*. DGCCRF, Laboratoire interregional de Montpellier France, Techniques de l'ingénieur. 3325.
- [7] Wolff. (1968). *Manuel d'analyse des corps gras*. Ed. Paris: Azoulay, 370.
- [8] Vernon L., Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M. et Lamuela-Raventós. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [9] International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). (1992). Regulation N° 2432. *In Standard methods for the analysis of oils, fat and derivatives*. Oxford: Pergamon Press.
- [10] El Antari, A., Hilal, A., Boulouha B. et A. El Moudni. (2000). Study on influence of variety, environment factors and culture techniques on fruits characteristics and chemical composition of extra virgin olive oil from Morocco. *Olivae*, 80, 29-36.
- [11] Boulfane, S., Maata, N., Anouar, A. et Hilali, S. (2015). Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 87(1), 8022-8029.
- [12] Benabid, H., Naamoune, H., Noçairi, H. et Rutledge, D. (2008). Application of chemometric tools to compare Algerian olive oils produced in different locations. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6(2), 43-51.
- [13] Tanouti, K., Elamrani, A., Serghini Caid, H., Khalid, A., Bahetta, Y., Benali, A., Harkous, M. et Khiar, M. (2010). Caractérisation d'huiles d'olive produites dans des coopératives pilotes (Lakrarmaet Kenine) au niveau du Maroc oriental. *Les technologies de Laboratoire*, 5(18), 18-26.
- [14] *United States Standards for Grades of Olive Oil and Olive-Pomace Oil*. (2010). USDA, USA.
- [15] Ranalli, A. (1989). Aspects and problems relating to the storage and conservation of olive oil. *Olivae*, 272, 11-18.
- [16] Abu-Reidah, I., Yasin, M., Urbani, S., Servili, M. et Montedoro, G. (2013). Study and characterization of Palestinian monovarietal Nabali virgin olive oils from northern West Bank of Palestine. *Journal Food Research International*, 54(2), 1959-1964.

- [17] Del Giovine, L. et Fabietti, F. (2005). Copper chlorophyll in olive oils: Identification and determination by LIF capillary electrophoresis. *Food Control*, 16, (3), 267-272.
- [18] Ryan, D., Robards, K. et Lavee, S. (1998). Assessment of quality in olive oil. *Olivae*, 72, 23-41.
- [19] Kiritsakis, A. et Markakis, P. (1988). Olive Oil: A Review. *Advances in Food Research*, 31, 453-482.
- [20] Salvador, M., Aranda F. et Fregapane, G. (2001). Influence of fruit ripening on Cornicabra virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. *Food Chem*, 73(1), 45-53.
- [21] Psomiadou E. et Tsimidou, M. (2001). Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(7), 640-647.
- [22] Meftah, H., Latrache, H., Hamadi, F., Hanine, H., Zahir H. et El louali, M. (2014). Comparaison des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olives issues de différentes zones de la région Tadla Azilal (Maroc). *J. Mater. Environ. Sci.*, 5(2), 641-646.
- [23] Garcia, A., Brenes, M., Garcia, P., Romero, C. et Garrido, A. (2003). Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*, 216(6), 520-525.
- [24] Ocakoglu, D. (2008). *Classification of Turkish virgin olive oils based on their phenolic profiles*. Thesis, Master of Science in food engineering and science – Izmir institute of technology – Turkish.
- [25] Boudhioua, N., Ben Slimen, I., Bahloul, N. et Kechaou, N. (2008). Etude du séchage par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne. *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'Alger*, 111-116.
- [26] Pocklington, W. D. et Dieffenbacher, A. (1988). Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography. *Pure Appl Chem*, 60(6), 877-892.
- [27] Yoshida, H., Hirakawa, Y., Murakami, C., Mizushina Y. et Yamada, T. (2003). Variation in the content of tocopherols and distribution of fatty acids within soya bean seeds (*Glycine max L.*). *J Food Comp Anal*, 16(4), 429-440.
- [28] Angerosa, F., Servili, M., Salvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S. et Montedoro, G. F. (2004). Volatile compounds of virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *Journal of Chromatography A*, 1054(1), 17-31.
- [29] Ballus, C. A., Dillenburg-Meinhardt, A., de Souza Campos, F. A., de Oliveira da Silva, L. F., de Oliveira A. F. et Teixeira-Godoy, H. (2014). A quantitative study on the phenolics compound, tocopherol and fatty acid contents of monovarietal virgin olive oils produced in the southeast region of Brazil. *Food Research International*, 62, 74-83.
- [30] Gimeno, E., Castellote, R. M., Lamuela-Raventós, M. C., De la Torre M. C. et López-Sabater, M. C. (2002). The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78(2), 207-211.
- [31] Perona, J. S., Cabello-Moruno, R. et Ruiz-Gutiérrez, V. (2006). The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(7), 429-445.

- [32] Kiritsakis. (1998). *Olive Oil from the Tree to the Table*. 2nd ed. Food and Nutrition Press Inc, Trumbull, CT.
- [33] Wiessbein, S., Wiesman, Z., Ephrath, J. et Zilberbush, M. (2008). Vegetative et reproductive response of olive varieties to moderate saline water irrigation. *Hort Sci*, 43, 320-327.
- [34] Gutierrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A. et 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(1), 121-127.
- [35] Issaoui, M., Flamini, G., Brahmi, F., Dabbou, S., Ben Hassine, K., Taamali, A., Chehab, H., Ellouz, M., Zarrouk M. et Hammamia, M. (2010). Effect of the growing area conditions on differentiation between Chemlali and Chétoui olive oils. *Food Chemistry*, 119, 220-225.

Chapitre 2 : Effet du degré de maturité des olives de la variété Picholine Marocaine sur la qualité de l'huile d'olive vierge

I. Introduction

Extraite par des moyens mécaniques, l'huile d'olive garde son patrimoine naturel en vitamines, acides essentiels et d'autres constituants naturels importants pour l'alimentation humaine. En effet, elle doit ses caractéristiques et sa valeur à sa richesse en acide oléique et en composés mineurs [1].

La qualité de l'huile d'olive est déterminée par ses caractéristiques chimiques et organoleptiques. La nature et les taux en composés mineurs naturels de l'huile dépendent d'un ensemble de facteurs intrinsèques et extrinsèques.

La qualité de l'huile varie en fonction du stade de maturation au moment de la cueillette des olives. En effet, la maturité est un critère variétal dont l'évolution est influencée par un ensemble de facteurs. Le degré de maturité affecte la teneur en composés volatils qui confèrent à l'huile ses caractéristiques sensorielles particulières, sa teneur en composés mineurs, sa composition acide, essentiellement les acides palmitique, oléique et linoléique. C'est ainsi que les fruits récoltés précocement donnent une huile de très bonne qualité et très fruitée, ayant un faible degré d'acidité et une couleur vert-franc. Par contre, l'huile obtenue à partir d'olives récoltées à une date plus tardive a une acidité légèrement plus élevée, présente une couleur jaune-paille, n'est pas fruitée mais plutôt douce et parfois elle a un goût sec ou même de moisi. Cependant, la récolte trop précoce produira des huiles, occasionnellement, organoleptiquement inacceptables en raison de concentrations excessives de polyphénols [2].

L'aspect qualité est essentiel pour permettre à l'huile d'olive de rivaliser autres huiles végétales et de s'imposer sur le marché mondial des lipides végétaux.

Les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive dérivent de l'action concomitante des facteurs agronomiques et technologiques employés au cours des différentes opérations que subissent les olives, de l'arbre jusqu'à l'obtention de l'huile [3], [4].

Par ailleurs, des recherches récentes [3-5-6-7-8-9] ont montré que la qualité de l'huile dépend fondamentalement de l'interaction cultivar-environnement et plus particulièrement du degré de maturité des olives. Des changements physiologiques, liés directement à l'âge du fruit, se produisent lorsqu'il mûrit et modifient la qualité de l'huile [10], [11]. Généralement, à mesure que le fruit mûrit, l'huile devient moins stable en raison d'une augmentation des acides gras polyinsaturés et d'une diminution de la teneur totale en polyphénols [12], [13]. Ces changements sont d'une grande importance commerciale car ils influent considérablement sur les caractéristiques sensorielles de l'huile, ainsi que sur sa durée de conservation.

Dans ce chapitre de la thèse et dans le but de déterminer l'impact du processus de maturation des olives sur la qualité de l'huile d'olive, nous avons suivi l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive de la variété principale cultivée au Maroc, à savoir la Picholine Marocaine à différents stades de maturité des olives.

II. Matériels et méthodes

1. Echantillonnage

Le présent travail a été réalisé en utilisant des huiles d'olive vierges monovariétales du principal cultivar marocain, soit la Picholine Marocaine. Neuf échantillons d'huile d'olive (E₁ à E₉) ont été collectés à différentes périodes de récolte pendant la saison de récolte 2015/16 à la commune de Tagzirt, située à une distance de 20 Km à l'Est de la ville de Béni Mellal, (32°20'22" N; 6°21'39" W; Altitude : 530 m), dans le centre du Maroc. La première date de récolte a été fixée pour la mi-octobre, et les dates de récolte suivantes ont eu environ deux semaines d'intervalle. La dernière récolte a été effectuée à la mi-février 2016. Après la cueillette, les échantillons de fruits d'olivier ont immédiatement été transportés à l'huilerie dans des caisses trouées pour permettre l'aération et ainsi minimiser les changements de la composition. L'huile a été extraite dans les 24 heures. La trituration des olives a eu lieu au sein du « Moulin Albaraka » à Tagzirt comme suit: les olives ont été sélectionnées à la main nettoyées de feuilles et d'autres résidus, lavées et ensuite broyées par le biais d'un moulin à huile traditionnel, la

pâte ainsi obtenue a été mélangée à 25 °C pendant 30 min pour homogénéisation et pressée à 450 bar, donnant de l'huile mélangée à l'eau de végétation. Tous les échantillons d'huiles ont été séparés par décantation et ont été conservés à 4 °C dans l'obscurité en utilisant des bouteilles en verre ambré, sans espace de tête pour chasser l'air, afin d'éviter les phénomènes d'oxydation avant l'analyse.

2. Détermination de l'indice de maturité des olives (IM)

Le durcissement du noyau est la première étape dans la formation biologique de l'huile dans l'olive. À partir de ce moment-là, l'huile se forme et son volume augmente au fur et à mesure du développement végétatif du fruit, jusqu'à parvenir à un maximum caractéristique de chaque variété ; les caractéristiques sensorielles authentiques apparaissant avant le début du processus de maturation. Le fait d'effectuer des prélèvements périodiques, avant l'époque traditionnelle de maturation, fournit des indications utiles pour obtenir la plus grande quantité possible d'une huile présentant les meilleures caractéristiques. Ces prélèvements permettent en effet de calculer le moment optimal pour commencer la récolte sur une base analytique et de connaître ainsi l'évolution des fruits, du contenu en huile, de la capacité d'extraction, des propriétés nutritionnelles et organoleptiques et d'un certain nombre de caractéristiques analytiques d'intérêt.

Le processus de maturation des fruits peut être apprécié visuellement sur les variétés d'olivier au fur et à mesure de leur changement de couleur. Le péricarpe (fig.1, p.25) passe normalement du vert foncé au violacé puis au noir. La couleur et la texture du mésocarpe (fig.1, p.25) changent également durant ces étapes, tout comme la couleur et les caractéristiques sensorielles de l'huile (fig. 19).



Figure 19 : Influence physico-chimique de la maturation sur l'olive et sur l'huile d'olive

La couleur des fruits sert d'indicateur commun du niveau de maturation, exprimé en indice de maturité (IM). Pour notre étude, cet indice a été déterminé selon la méthode développée par la Station Agronomique à Jaén en Espagne [14] en fonction de l'évaluation des couleurs de la peau d'olive et de la pulpe. L'indice de maturité a été déterminé sur 100 olives sélectionnées au hasard dans chaque échantillon pour obtenir une valeur numérique pour l'apparence des olives. Ces olives sont réparties en 8 classes, comme suit (fig. 20):

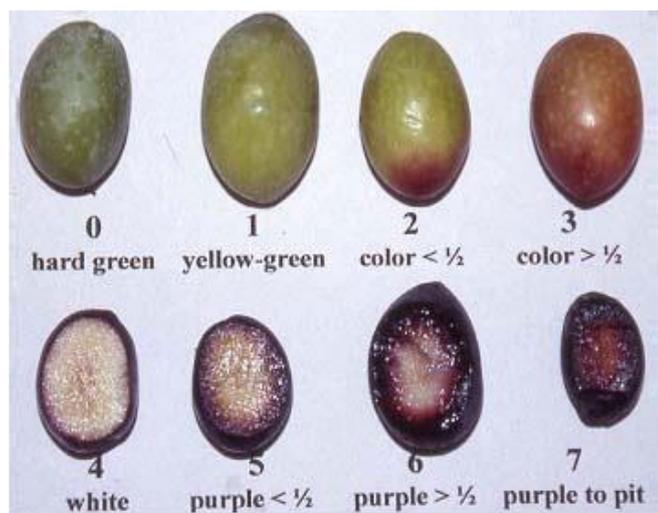


Figure 20 : Les huit classes de maturation des olives [14]

Classe 0: peau vert intense

Classe 1: peau vert jaunâtre

Classe 2: peau verte avec des taches rougeâtres sur moins de la moitié du fruit : début de la véraison

Classe 3: peau rougeâtre ou violette sur plus de la moitié du fruit : fin de la véraison

Classe 4 : peau noire et pulpe blanche

Classe 5 : peau noire et pulpe violette sans atteindre le centre de la pulpe

Classe 6 : peau noire et pulpe violette sans atteindre le noyau

Classe 7 : peau noire et pulpe violette sur toute la pulpe jusqu'au noyau

L'indice de maturité des olives est calculé selon la formule suivante :

$$I.M. = \frac{(0 \times n_0) + (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + \dots + (7 \times n_7)}{100}$$

Où n_0, n_1, \dots, n_7 sont respectivement les nombres de fruits de la classe 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7.

Ainsi, Les valeurs d'IM varient de 0 (100% de peau verte intense) à 7 (100% de chair violette et peau noire).

3. Analyses physico-chimiques

Dans cette étude, plusieurs analyses physico-chimiques ont été obtenues pour chaque échantillon : Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction, densité, coefficients d'extinctions spécifiques K_{232} , K_{270} et ΔK , teneur en chlorophylles, teneur en composés phénoliques et teneur en α -tocophérol ; ces analyses ont permis de classer ces huiles d'olive selon les normes du conseil oléicole international (COI) et d'évaluer ainsi leurs propriétés nutritionnelles et organoleptiques.

Les protocoles opératoires de ces analyses sont décrits en détails au premier chapitre de la partie expérimentale de ce manuscrit.

4. Détermination de la teneur en pigments carotènes

La fraction carotène a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre Prkin Elmer lambda 35, par mesure d'absorbance à 470 nm d'un échantillon d'huile de 7,5 g dissous dans 25 ml de cyclohexane et introduit au moyen d'une cellule en verre de longueur de trajet de 1 cm. Le cyclohexane a été utilisé comme référence. Les résultats ont été exprimés en mg de lutéine, pigment principal des caroténoïdes, par kg d'huile. Le maximum à 470 nm a été choisi comme zone sans interférence de la phéophytin après avoir obtenu le coefficient d'extinction correspondant. Les valeurs sont calculées à partir de données de bibliographie pour la lutéine dans l'éthanol [15].

5. Analyses des acides gras

La connaissance de la composition en acides gras de l'huile d'olive est une analyse importante dans la détermination de sa qualité. La méthode de choix est la chromatographie en phase gazeuse (C.P.G), après transformation des acides gras en esters méthyliques [16].

L'analyse des esters méthyliques des acides gras est effectuée par chromatographie en phase gazeuse, les conditions d'analyses sont décrites au premier chapitre de la partie expérimentale de ce manuscrit (Paragraphe II.9.) (page 90) .

6. Analyse de la stabilité à l'oxydation (Essai Rancimat)

La stabilité à l'oxydation a été évaluée par la méthode de Rancimat [17]. Elle a été exprimée en temps d'induction d'oxydation (h), mesuré avec l'appareil Rancimat 743 (Metrohm, Bâle, Suisse), en utilisant un échantillon d'huile de 3,5 g chauffé à 100 °C et un débit d'air de 10 L/h. Le flux d'air a été barboté à travers l'huile et recueilli à l'eau froide, augmentant la conductivité de l'eau. Le temps pris pour atteindre un niveau de conductivité fixe représente le temps d'induction d'oxydation.

7. Test de gélification

L'essai de gélification est réalisé dans le but de suivre l'évolution de la figeabilité des huiles (solidification à basses températures) en fonction du stade de maturité des olives.

La méthode préconisée consiste à soumettre les échantillons d'huile à des températures de plus en plus basses et à déterminer le degré de leur solidification. Pour cela, on remplit de chaque échantillon d'huile, les 2/3 d'un tube à hémolyse. Les tubes sont soumis à des températures qui varient entre 18 et 0 °C avec une cadence de réduction de 2°C/5min. Le contrôle du comportement des huiles et la mesure de la fraction solidifiée sont effectués toutes les 2 heures.

8. Teneur en huile des olives

Le protocole utilisé est celui établi par le conseil oléicole international (COI, 1997). Ainsi, une quantité de 70 g d'olives entières broyées, provenant des 100 fruits ayant servi à la détermination de l'indice de maturité, sont mises à sécher à l'étuve réglée à 105 °C pendant au moins 42 heures. Après avoir pesé la matière sèche obtenue, les échantillons sont passés dans l'appareil Soxhlet où ils subissent une extraction à l'hexane (300 ml d'hexane par échantillon). Six heures, en général, sont suffisantes pour extraire la totalité de l'huile contenue dans chaque échantillon. Ensuite, on évapore l'hexane à l'aide d'un rotavapor. Notons que cette huile ne sert pas à déterminer la qualité de l'huile d'olive car elle a été traitée à l'hexane.

Les dernières traces du solvant sont éliminées par un séjour de l'huile pendant une nuit dans une étuve réglée à 105 °C. Ainsi l'huile récupérée est pesée afin de déterminer la teneur en huile, exprimée en pourcentage, par rapport à la matière sèche et la matière fraîche. Pour chaque échantillon, trois répétitions ont été effectuées afin de déterminer la teneur moyenne en huile à chaque date de prélèvement.

III. Résultats et discussions

La récolte joue un rôle majeur dans la chaîne de production d'huile d'olive vierge. Elle n'est pas seulement l'étape la plus chère [18], mais elle a aussi un impact significatif sur les produits de l'année entière. En choisissant le moment de la récolte, le producteur détermine la quantité et la qualité des fruits de l'année, ainsi que la récolte de la saison prochaine. Il est donc pertinent que les critères

d'une décision correcte, concernant la date de récolte, tiennent compte de l'efficacité de la production et de la qualité de l'huile produite [19].

Nous avons étudié les corrélations entre la date de récolte, l'indice de maturité, le rendement en huile et la qualité de l'huile d'olive vierge extraite de la "Picholine Marocaine", la principale variété d'olive cultivée au Maroc.

Les analyses effectuées sur certains paramètres qui déterminent l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de l'huile au cours de la maturation des olives, du début de la véraison jusqu'à la récolte, ont donné les résultats détaillés ci-après.

1. Evaluation des analyses des huiles

1.1. Indice de maturité des olives

Dans la présente étude, la progression temporelle de la saison de récolte s'est accompagnée d'une augmentation linéaire et significative de l'IM (fig. 21).

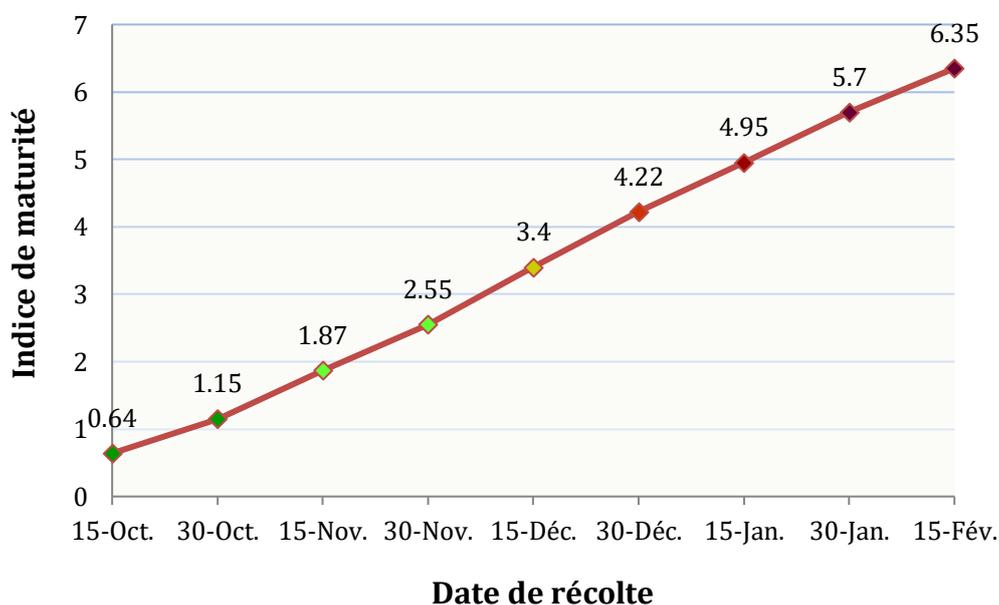


Figure 21: Influence de la date de récolte sur l'indice de maturité des olives « saison 2015/16 »

Au cours du processus de maturation, les anthocyanes s'accumulent dans l'olive tandis que la teneur en huile augmente. Au fur et à mesure que la maturation avance, l'activité photosynthétique diminue et les concentrations de chlorophylles et de caroténoïdes diminuent progressivement [20]. À la fin du

processus de maturation, le fruit devient violet ou pourpre en raison de l'accumulation d'anthocyanes [21]. La couleur des fruits sert d'indicateur commun du niveau de maturation, exprimé en indice de maturité (IM).

1.2. Evolution de la teneur en matières grasses

La figure (22) montre la variation de la teneur en matières grasses exprimée en matière sèche d'olives à différents stades de maturité. La teneur en matières grasses a augmenté pendant la maturation, avec une valeur de 13,41 %. Il convient de noter que la teneur en huile des olives reste pratiquement stable à environ 29 % pendant la période de récolte (du 15 octobre au 15 novembre, correspondent respectivement aux indices de maturité 0,64 et 1,87). Ensuite, elle augmente considérablement atteignant un pourcentage d'environ 42,5% à la mi-janvier (IM= 4,95), puis stagne à nouveau jusqu'à la fin de la saison de récolte. Cela indique la poursuite de la voie de biosynthèse formant des triglycérides qui finit 30 semaines après la floraison [22], [23].

L'augmentation observée de la teneur en huile peut s'expliquer par la progression de la lipogénèse, alors que la stagnation notée annonce la fin de l'activité. En effet, à la fin de la période d'étude, l'activité semblait s'arrêter.

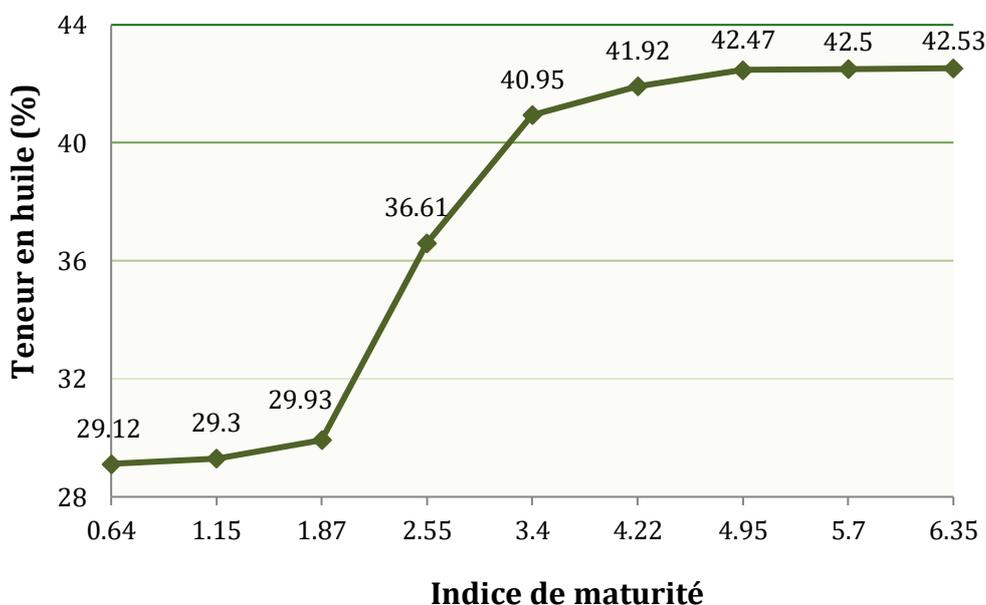


Figure 22: Evolution de la fraction d'huile, exprimée en pourcentage de poids sec, extraite à différents stades de maturité

1.3. Evolutions de l'indice de réfraction (IR) et de la densité (D)

La densité et l'indice de réfraction sont des paramètres physiques permettant d'identifier et de juger de la pureté de l'huile d'olive.

Les résultats de l'évolution de la densité et de l'indice de réfraction, des échantillons analysés, au cours de la maturation des olives sont illustrés sur la figure (23). Toutes les valeurs de densité semblent identiques et correspondent à la norme du codex alimentarius pour les huiles d'olive vierges et raffinées (0,910 à 0,916) g/cm³ [24]. La densité des huiles est généralement liée au degré d'insaturation et à l'état d'oxydation. Les indices de réfraction sont très similaires et sont également conformes à la norme alimentaire internationale pour les huiles d'olives (1.4677 à 1.4705) [24]. Nous pouvons donc conclure que ces deux paramètres (IR, D) ne sont pas influencés par le degré de maturité des olives.

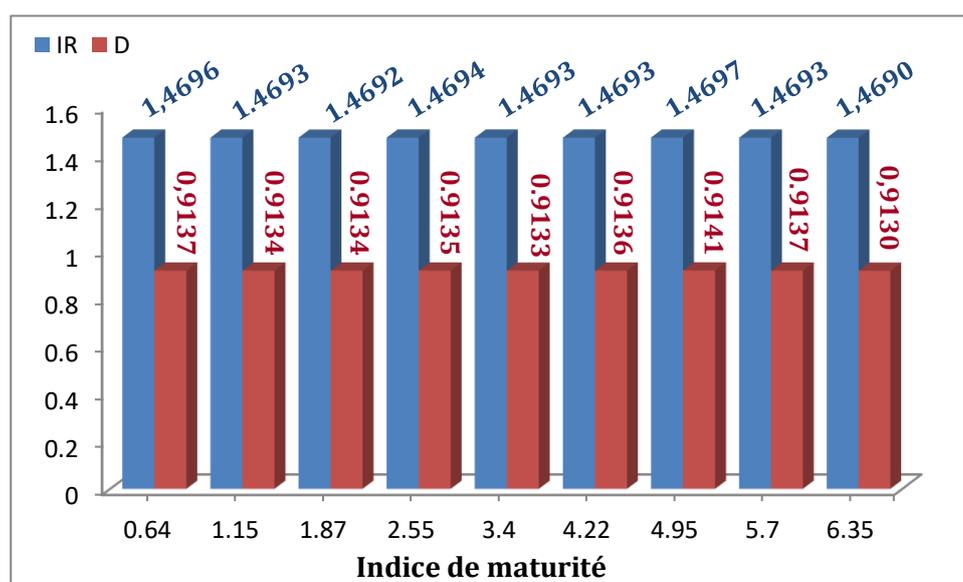


Figure 23: Indice de réfraction (IR) et densité (D) des huiles en fonction de l'indice de maturité des olives (IM)

1.4. Evolution de l'acidité

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libérés par l'hydrolyse des chaînes de triacylglycérols. Cette libération évolue progressivement avec l'accumulation des lipides et l'intégration de leurs acides gras constitutifs au cours de la maturation des olives.

Les résultats des analyses effectuées sur les huiles d'olive de la variété étudiée (PM) prélevées à différents stades de maturité montrent que les valeurs d'acidité ont augmenté de 0,8 à 1,98 à mesure que la saison des récoltes a progressé. Les niveaux des acides gras libres étaient en corrélation avec l'augmentation de l'IM (fig. 24). Ces résultats sont en accord avec ceux de Kiritsakis et al. [25].

L'augmentation de l'acidité alors que le fruit reste sur l'arbre est causée par l'activation des enzymes lipolytiques présentes dans le fruit [26].

Ben Salah et al. [27] ont noté que les acides gras libres des huiles d'olive récoltées à la mi-mars ont augmenté considérablement après l'action de la lipase pendant la surmature (maturation très avancée).

Nous avons constaté que les teneurs en acides gras libres étaient bien comprises dans la norme du COI pour l'huile d'olive vierge.

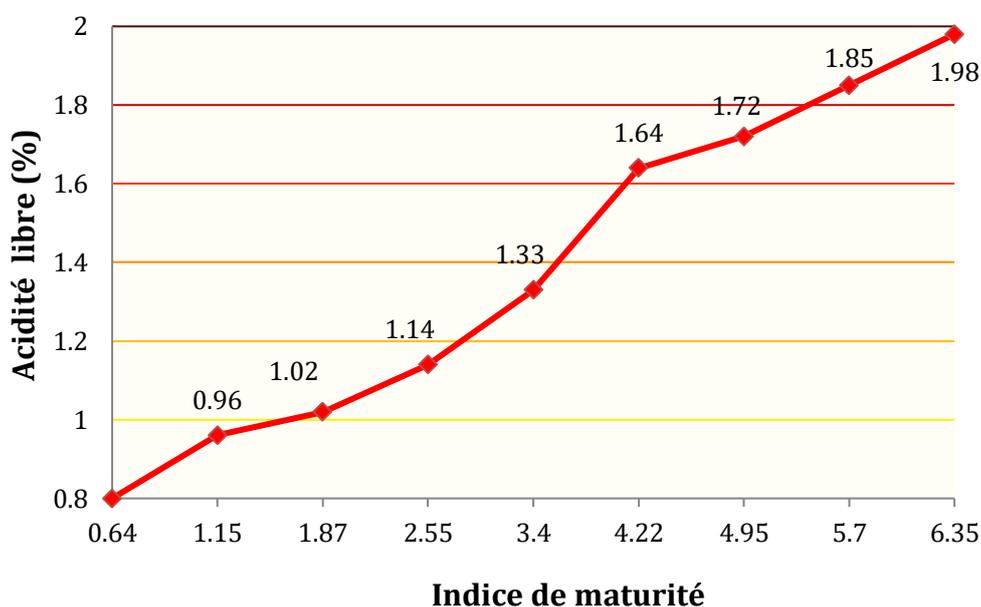


Figure 24: Evolution de l'acidité libre (exprimée en pourcentage d'acide oléique) en fonction d'IM des olives

1.5. Evolution de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde varie de 14,07 meq.O₂/Kg pour l'échantillon E₁ (IM=0,64) (qui présente la valeur maximale) à 6,14 pour l'échantillon E₉ (IM=6,35) (qui

présente la valeur la plus faible), la valeur moyenne et l'écart-type sont respectivement de l'ordre de 11,14 et 2,38 meq.O₂/Kg.

L'évolution de l'indice de peroxyde présente une diminution marquée pendant la maturation (fig. 25). Ce comportement s'explique par une diminution de l'activité de l'enzyme lipoxygénase. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Uceda et al. [28]. Les valeurs de peroxyde obtenues sont inférieures à 20 méquiv/kg pour lesquelles les huiles perdent la catégorie "vierge" (règlement CEE / 2568/91).

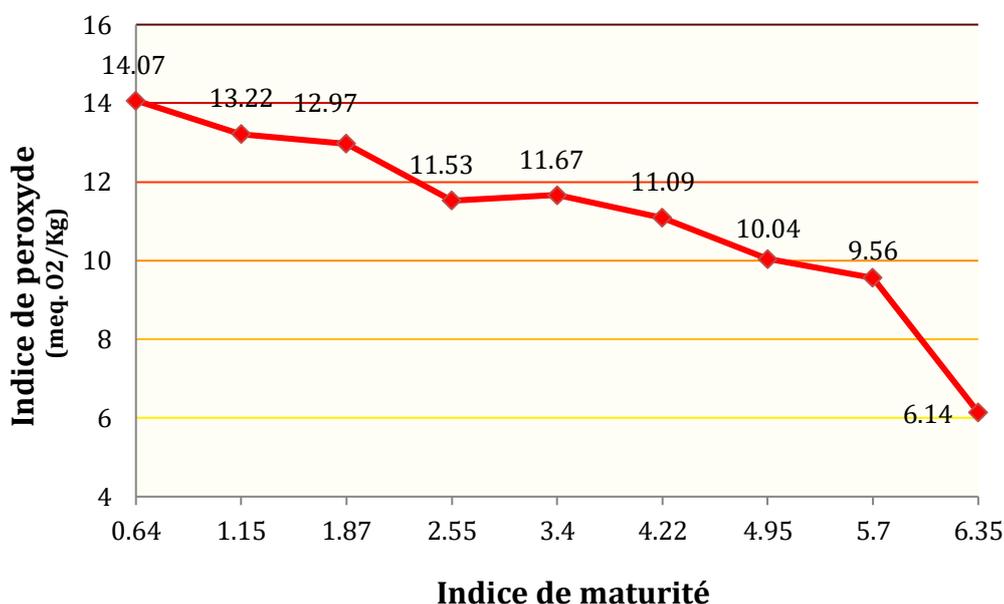


Figure 25: Evolution de l'indice de peroxyde au cours des différents stades de maturité des olives

1.6. Evolution des coefficients d'extinction K_{232} , K_{270} et ΔK

Les valeurs de K_{270} ont tendance à diminuer pendant la maturation. K_{232} s'est comporté de manière similaire à l'indice de peroxyde: les valeurs ont diminué progressivement pendant la maturation (fig. 26). En aucun cas, ces coefficients ne dépassent 2,50 et 0,25, les limites respectives pour les huiles d'olive vierges (règlement CEE / 2568/91).

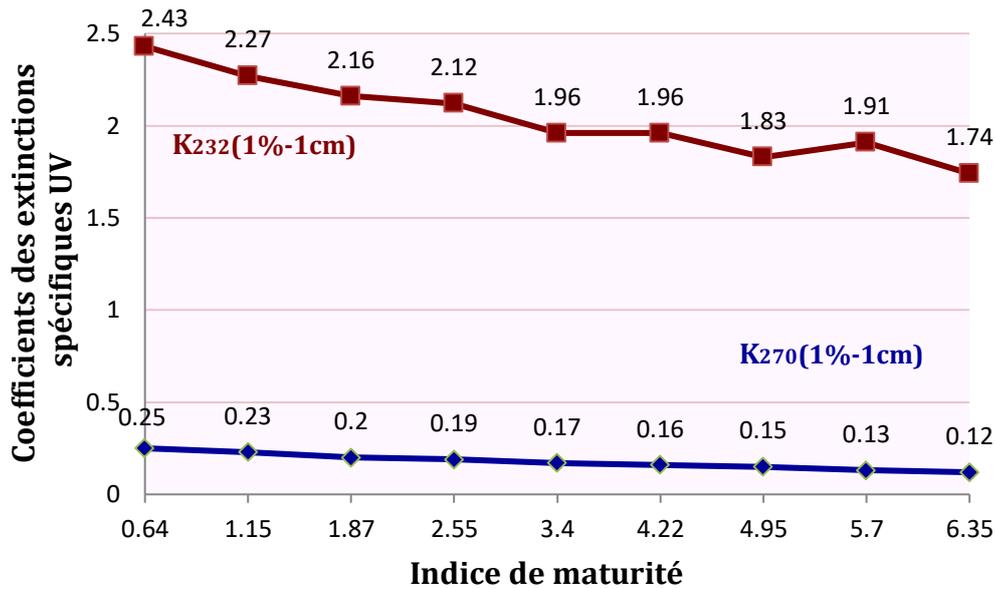


Figure 26: Evolution des coefficients K_{232} et K_{270} en fonction de l'IM des olives

1.7. Evolution de la stabilité de l'huile

La stabilité de l'huile a diminué pendant la maturation (fig. 27). La diminution était de (19,3%). Cela s'explique par la perte d'antioxydants naturels, (phénols et tocophérols), comme indiqué plus loin dans le présent chapitre. Ces résultats sont en accord avec ceux de Gutiérrez et al. [29].

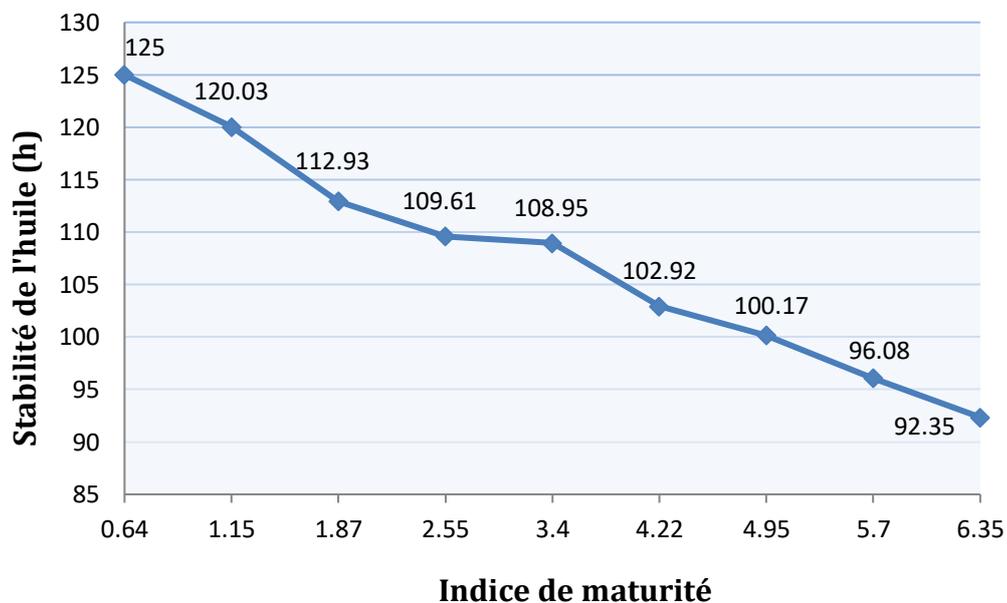


Figure 27: Evolution de la stabilité des échantillons d'huile d'olive étudiés en fonction de l'IM des olives

1.8. Evolution de la teneur en pigments

Les composés mineurs de la partie insaponifiable de l'huile d'olive sont constitués de plusieurs éléments, présentant une grande importance du point de vue de la qualité de l'huile, notamment, les substances colorantes et odorantes [30].

1.8.1. Chlorophylles

L'huile d'olive contient d'assez grandes quantités de chlorophylles qui sont responsables de la prédominance de la coloration verte. Les chlorophylles sont liées aux phénomènes oxydatifs par leurs actions catalytiques, de prooxydants en présence de lumière et d'antioxydants dans le noir. Ils sont transformés, dégradés ou complètement détruits [31]. En effet, le suivi de l'évolution de la teneur en chlorophylles dans l'huile au cours de la maturation des olives montre une diminution progressive de ces pigments. Nous avons constaté que les huiles obtenues à partir d'olives récoltées tôt contiennent des quantités appréciables de chlorophylles (fig. 28). Cependant, cette teneur diminue considérablement pendant la maturation. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études [7-8-32]. L'absence de chlorophylles affecterait la qualité de l'huile perçue par les consommateurs qui associent généralement la coloration verte à la bonne qualité de l'huile d'olive.

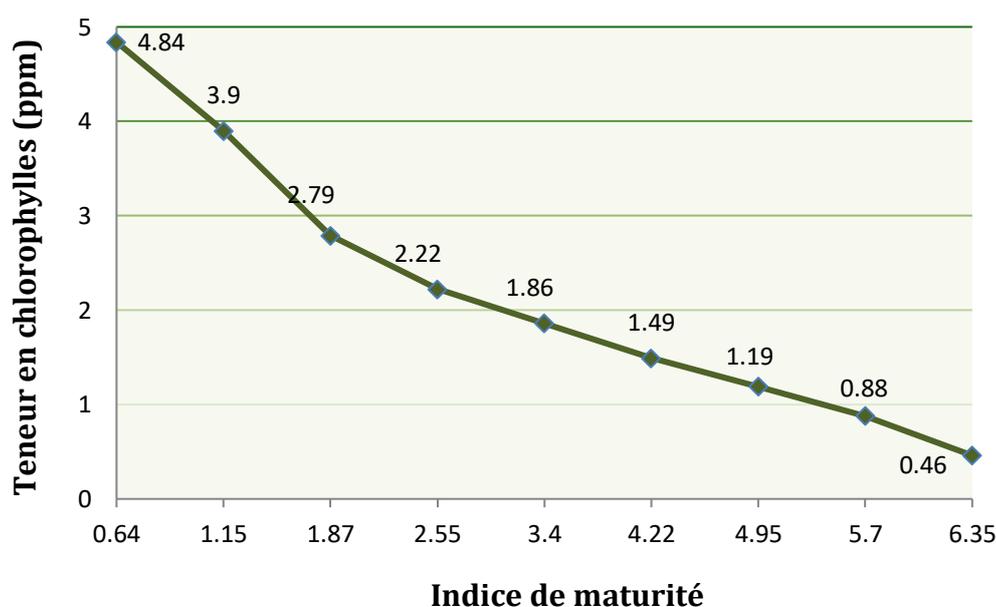


Figure 28: Evolution de la teneur en chlorophylles (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine Marocaine à différents stades de maturité

1.8.2. Carotènes

A l'instar des chlorophylles, les pigments caroténoïdes sont également impliqués dans des mécanismes d'auto-oxydation et de photo-oxydation. En effet, les carotènes présents dans l'huile d'olive vierge sont bien connus comme désactivateurs d'oxygène et sont donc des inhibiteurs très efficaces de la photo-oxydation induite par les pigments chlorophylles [33]. La figure (29) montre que la teneur en carotène diminue considérablement pendant le processus de maturation. Cependant, elle ne s'annule pas, contrairement à la teneur en chlorophylles.

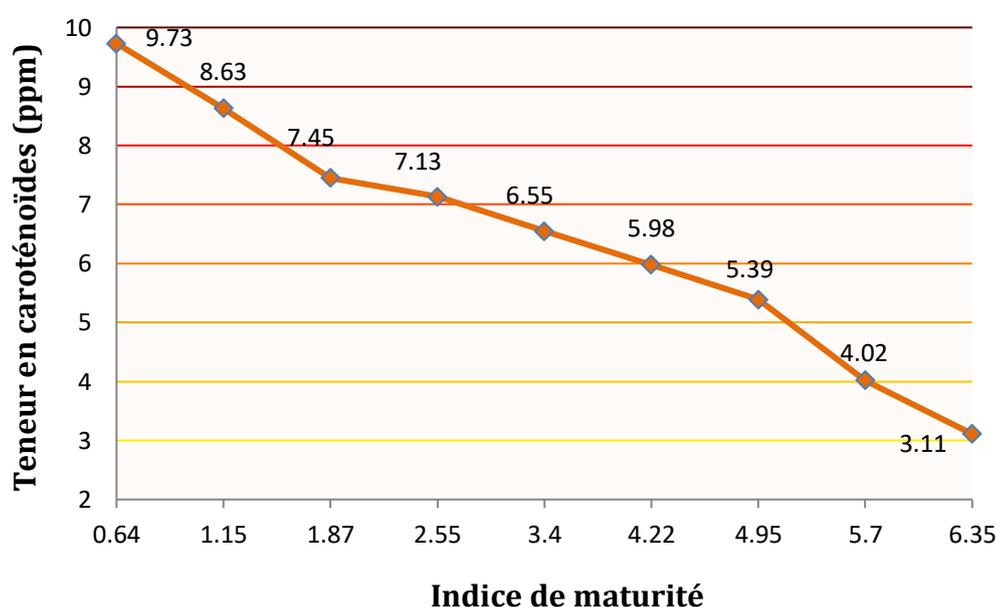


Figure 29: Evolution de la teneur en caroténoïdes (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine Marocaine à différents stades de maturité

1.9. Evolution de la teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols ont un effet antioxydant; Ils sont capables de bloquer l'auto-oxydation des acides gras insaturés et par conséquent l'inhibition du phénomène de rancissement oxydatif de l'huile d'olive [34].

La figure (30) montre que la teneur en phénols a diminué pendant la maturation, ce résultat est en accord avec les résultats obtenus par Vazquez et al. [35], cette diminution était de 43 %, semblable à la perte de stabilité. Ces résultats démontrent qu'un faible indice de maturité est approprié pour la stabilité à l'oxydation (haute stabilité) de l'huile et donc pour sa durée de conservation plus longue. Cette diminution peut être expliquée par la dégradation des principaux

composés phénoliques, en particulier de l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol, qui se produit pendant la maturation des fruits. La diminution de la teneur en oleuropéine est liée à la formation d'oligomères phénoliques et celle de la teneur en hydroxytyrosol résulte de différents métabolismes phénoliques en fonction de la culture, du climat et des conditions agricoles [36].

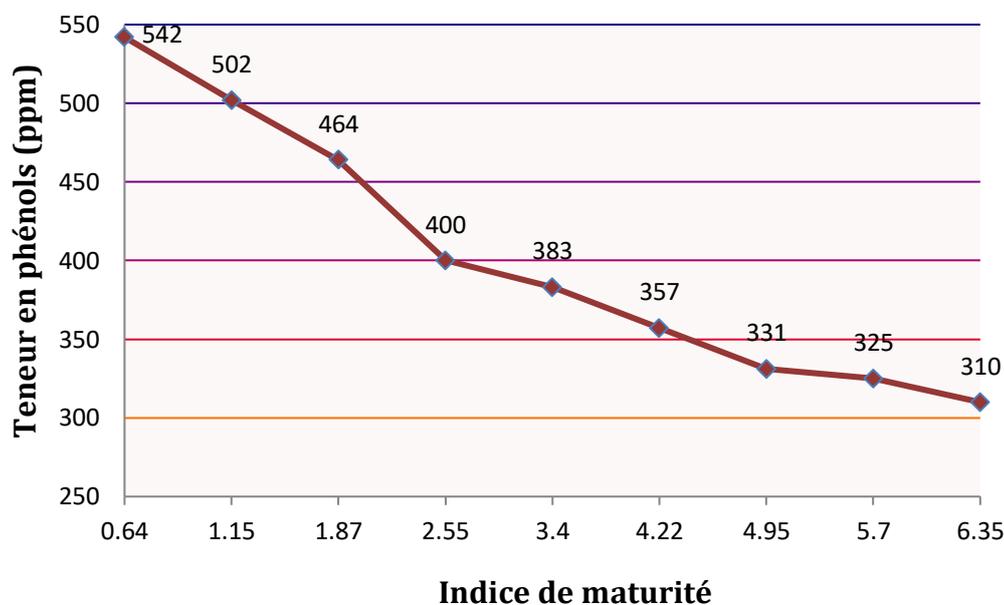


Figure 30 : Evolution de la teneur en phénols (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine Marocaine à différents stades de maturité

1.10. Evolution de la teneur en α -tocopherol

L' α -tocopherol (vitamine E) est le principal tocophérol dans l'huile d'olive vierge. La figure (31) montre qu'il y a eu une diminution de 43 % de la teneur en α -tocopherol au cours de la maturation, coïncidant avec les résultats obtenus par Agramont et al. [37], pour les variétés italiennes.

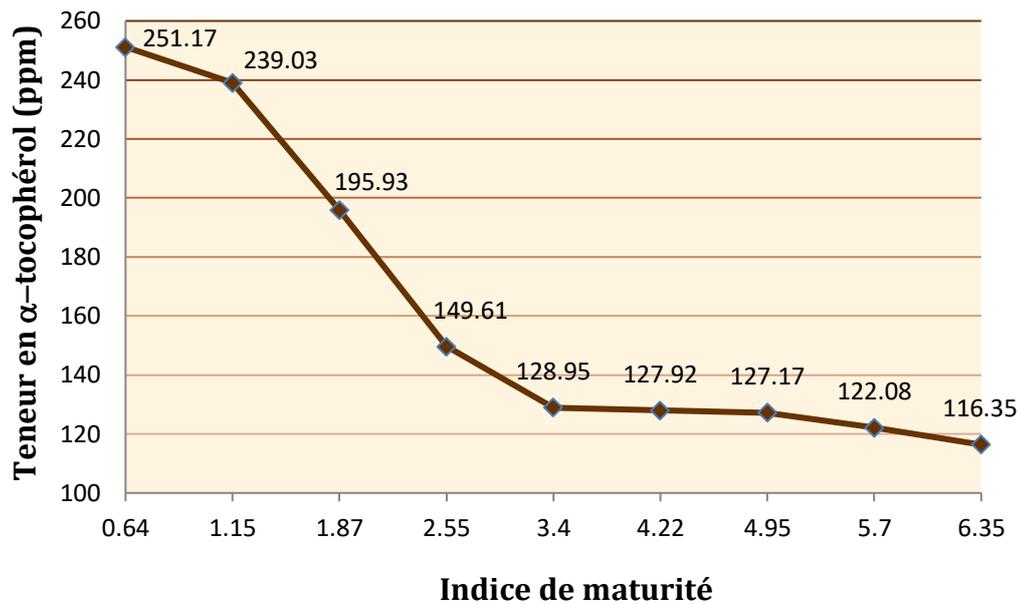


Figure 31: Evolution de la teneur en α -tocopherol (ppm) dans l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine marocaine à différents stades de maturité

1.11. Evolution de la composition en acides gras

Les changements de composition en acides gras de l'huile d'olive dépendent principalement des variétés, mais aussi du climat, de la l'altitude et du degré de maturation. Le tableau (8) regroupe les proportions en pourcentages des acides palmitique (16:0), palmitoléique (16:1), stéarique (18:0), oléique (18:1), linoléique (18:2) et linoléique (18:3) au cours de la maturité des olives. Ces résultats sont illustrés sur la figure (32).

Tableau 8 : Composition des acides gras (en pourcentage) de l'huile d'olive vierge de la variété Picholine marocaine aux différentes étapes de la maturité de l'olive

Acides (%) IM	C16:0 Palmitique	C16:1 palmitoléique	C18:0 stéarique	C18:1 oléique	C18:2 linoléique	C18:3 linoléinique
0,64	12,97	0,94	3,22	79,83	2,33	1,13
1,15	12,65	0,91	3,21	79,74	2,54	1,01
1,87	12,10	0,92	3,18	79,69	2,73	0,96
2,55	11,95	0,91	3,14	79,62	2,89	0,93
3,4	11,86	0,90	3,13	79,57	3,06	0,90
4,22	11,77	0,88	3,11	79,42	3,17	0,89
4,95	11,03	0,83	3,09	79,32	3,63	0,66
5,7	10,45	0,82	3,02	79,24	4,34	0,66
6,35	10,12	0,81	2,99	79,22	4,78	0,72

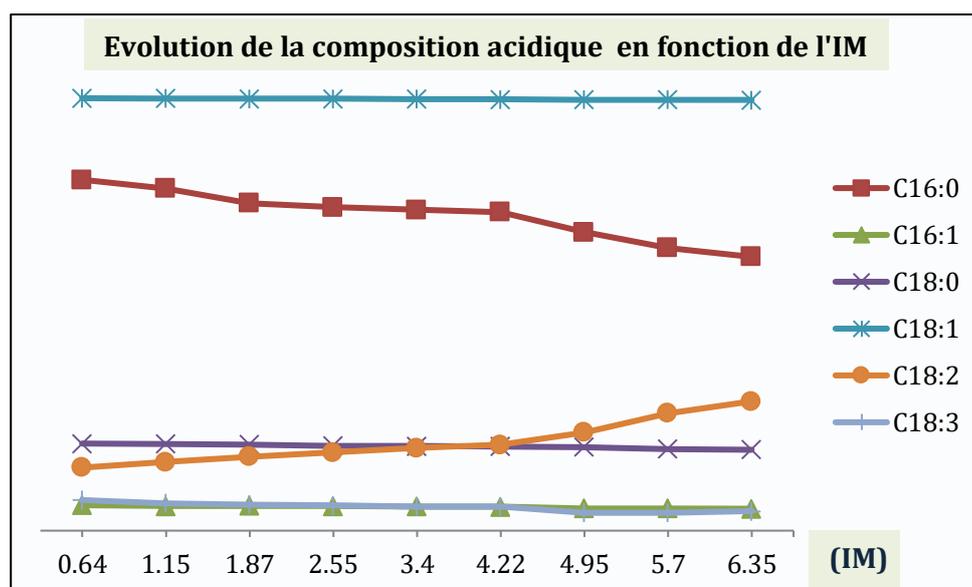


Figure 32: Evolution de la composition acide de l'huile d'olive extraite de la variété d'olive Picholine marocaine à différents stades de maturité

On constate qu'à l'exception des acides : palmitique (16:0), linoléique (18:2) et linoléinique (18:3), la teneur en acides gras n'a presque pas varié pendant la maturation. La teneur en acide palmitique a diminué au cours de la maturation, éventuellement à la suite d'un effet de dilution. Sa quantité absolue est constante, mais le taux d'acide oléique augmente par la biosynthèse active des triglycérides. Ainsi, le pourcentage d'acide palmitique, ainsi que celui d'acide linoléinique ont baissé. L'augmentation de la teneur en acide linoléique est due au fait que, outre

la biosynthèse continue des triglycérides, avec la formation d'acide oléique, l'enzyme oléate désaturase est active, transformant l'acide oléique en linoléique. Le résultat net est que le premier reste constant alors que le linoléique augmente.

Ce travail montre également que le rapport entre les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés tend à diminuer lors de la maturation des olives. Ces résultats coïncident avec ceux obtenus par Uceda et al. [38].

1.12. Etude de la gélification

La figeabilité de l'huile d'olive à basses températures est liée à la proportion des acides gras saturés, essentiellement celle de l'acide palmitique. L'étude de la rhéologie des huiles obtenues à partir des échantillons de la variété étudiée, prise à différents stades de maturité, a été réalisée à des températures allant de 18 à 0 °C. On a constaté qu'au début de la maturité des olives, la figeabilité commence à partir de 12 °C. L'huile se solidifie pratiquement à 100% entre 8 et 5 °C. Cependant, les huiles obtenues à partir d'olives récoltées tardivement ne commencent à se figer qu'à 8 °C et la solidification complète n'est atteinte qu'entre 3 et 0 °C. Ces résultats confirment la diminution de l'acide palmitique.

2. Bilan des analyses analytiques

La qualité de l'huile d'olive vierge dépend de divers facteurs, dont la variété et le degré de maturité des fruits. Le premier facteur détermine génétiquement la composition de l'olive et de son huile, il marque également -dans une certaine mesure- sa stabilité. Cependant, la qualité de l'huile d'olive change au fur et à mesure que l'olive mûrit, il est donc évident que le degré de maturité est un facteur important.

Le suivi de l'évolution des caractéristiques des échantillons d'huile de la variété étudiée (PM), nous permet de conclure que la maturité des olives est un facteur déterminant de la qualité de l'huile. La teneur en composés mineurs (polyphénols, chlorophylles et carotènes) diminue pendant la maturation, ce qui porte préjudice à la qualité de l'huile. Ces résultats confirment ceux obtenus par Ben Salah et al. [27] et Grati-Kammoun et al. [7], [8].

Quant-aux taux des acides palmitique, oléique et linoléique, nos résultats sont en parfaite concordance avec ceux trouvés par d'autres chercheurs [39], [40].

L'élévation du taux de l'acide linoléique constaté au cours de la maturation risque de déclasser l'huile, surtout lorsque celui-ci dépasse les seuils de la norme internationale de commercialisation de l'huile d'olive (COI, 1997), [41].

IV. Conclusion

L'optimisation de la qualité de l'huile passe nécessairement par une détermination judicieuse de la période de cueillette que les facteurs mis en jeu rendent difficile. Le but de cette étude était donc d'étudier l'impact du processus de maturation des olives sur la qualité de l'huile, afin d'établir un temps de récolte optimal pour les olives de Picholine Marocaine, principale variété d'olive cultivée au Maroc. Pour atteindre cet objectif, nous avons suivi l'évolution des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de l'huile pendant la maturation des fruits. Pour ce faire, neuf échantillons (E₁-E₉) ont été produits à partir d'olives à des stades croissants de maturité puis analysés. Les indices de qualité (acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction, densité et extinction spécifique dans les UV) et la composition en composés majeurs (acides gras) et composés mineurs (pigments, tocophérols, composés phénoliques) ainsi que la stabilité à l'oxydation, la teneur en matière grasse et une étude rhéologique ont été effectués et évalués.

Les résultats obtenus montrent que le stade de maturité des olives influe sur la composition chimique de l'huile. En effet, de nombreux paramètres analytiques, à savoir, la valeur du peroxyde, l'absorbance UV à 232 et 270 nm, les pigments de chlorophylle, les caroténoïdes et les teneurs en acide oléique ont diminué pendant la maturation, tandis que les teneurs : en huile et en acide linoléique ont augmenté. L'acidité libre augmente au fur et à mesure que la maturation des olives progresse. La tendance de la stabilité à l'oxydation et des phénols totaux a montré une augmentation au début, suivie d'une réduction à des stades de maturité plus avancés.

Sur la base de l'évolution des paramètres analytiques étudiés, la période de cueillette optimale des fruits d'olive de Picholine Marocaine pour en extraire une huile de bonne qualité, semble être à un indice de maturité supérieur à 2,55 et inférieur à 4,95, ce qui correspond à une période de récolte entre le premier décembre et la mi-janvier.

V. Références

- [1] Jacotot, B. (1994). L'huile d'olive aliment médicament. *Olivae*, 54, 40-41.
- [2] Dıraman, H. et Dibekli glu, H. (2009). Characterization of Turkish virgin olive oils produced from early harvest olives. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86, 663-674.
- [3] Khlif, M. et Rekik H. (1996). La qualité de l'huile d'olive en Tunisie, un atout, des contraintes et des ambitions. *Ezzaitouna*, 2(1 et 2), 79-92.
- [4] Di Giovacchino, L. (1996). L'influence des systèmes d'extraction sur la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 63, 52-63.
- [5] Cimato, A. (1990). La qualité de l'huile d'olive vierge et les facteurs agronomiques. *Olivae*, 31, 20-31.
- [6] Garcia, J. M., Seller, S. et Perez-Camino, M. C. (1996). Influence of fruit ripening on olive oil quality. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 264-267.
- [7] Grati Kammoun, N., Ayadi, M., Khlif M. et Hamdi, M. T. (1997, nov). *Evolution des caractéristiques de l'huile d'olive en fonction de la variété et au cours du temps*. Communication présentée au IV Journées Nationales sur les Acquis Récents de la Recherche Agronomique et Vétérinaire, Hammamet, Tunisie. *Ed. I.R.E.S.A.*, 254-258.
- [8] Grati Kammoun, N., Khlif M. et Hamdi, M. T. (1999). Evolution of oil characteristics with maturity of olives in Sfax: Chemlali variety. *Acta Horticulturae*, 474, 701-704.
- [9] Ryan, D., Robards, K. et Lavee S. (1998). Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72, 23-41.
- [10] Montedoro, G. et Petruccioli M. F. (1978). Flavor of foods and beverages. Chemistry and technology. Charalampous G. and Inglett G. Editors. *Academic Press New York*, 247-281.
- [11] Marzouk B. et Cherif, A. (1981). Formation des lipides dans l'olive : I-Formation des lipides neutres. *Oléagineux*, 36, 77-81.
- [12] Ayton, J., Mailer, R.J., Haigh, A., Tronson, D. et Conlan, D. (2007). Quality and oxidative stability of Australian olive oil according to harvest date and irrigation. *J. Food Lipids*, 14, 138-156.
- [13] Morello, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J. et Romero, M. P. (2004). Changes in commercial virgin olive oil during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chem.*, 85, 357-364.
- [14] Uceda, M. et Hermoso, M. (1998). La calidad del aceite de oliva, in *El Cultivo del Olivo*, ed. by Barranco, D., Fernandez-Escobar, R. et Rallo L. *Ediciones Mundi-Prensa, Madrid*, 547-572.
- [15] Minguez-Mosquera, M. I., Rejano-Navarro, L., Gandul-Rojas, B., Sanchez-Gomez, A. H. et Garrido-Fernandez, J. (1991). Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 68, 332-336.
- [16] Mariani, C. et Fedeli, E. (1993). La chromatographie en phase gazeuse pour l'analyse de l'huile d'olive. *Olivae*, 45, 34-39.
- [17] Gutiérrez, F. (1989). Determinación de la estabilidad oxidativa de aceites de oliva virgenes: Comparación entre el Método del Oxígeno Activo (A.O.M.) Y el Método Rancimat. *Grasas Aceites*, 40, 1-5.

- [18] Rallo, L. (2009). Iberian olive growing in a time of change. *Chronica Hort.*, 49, 15-17.
- [19] López-Villalta, L. C. (1996). Production techniques. In: IOOC (Ed.), *World Olive Encyclopedia. Plaza & Janés Editorial*, Barcelona, 145-90.
- [20] Salvador, M. D., Aranda, F. et Fregapane, G. (2001). Influence of fruit ripening on Cor-nicabra virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. *Food Chem.*, 73, 45-53.
- [21] Roca, M. et Minguez-Mosquera, M. I. (2001). Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78(2), 133-138.
- [22] Cimato, A. (1988). Variazioni di parametri durante la maturazione delle olive: Influence delle tecniche colturali. Nuovi Orentamenti dei Consumi e delle Produzioni alimentari. *Consiglio Nazionale delle Ricerche*, 10-14.
- [23] Sanchez, J. (1994). Lipid photosynthesis in olive fruit. *Prog. Lipid Res.*, 33, 97-104.
- [24] Codex alimentarius. (2015). *Norme pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive*, CODEX STAN 33-1981, Adoptée en 1981. Révision: 1989, 2003, 2015. Amendement: 2009, 2013.
- [25] Kiritsakis, A. K. et Tshipeli, A. (1992). Relationship of the acidity of olive oil in the maturation. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 59, 513-515.
- [26] Martinez Suarez, J. M. (1973). Recientes estudios de la Almazara Experimental del Instituto de la Grasa. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 50, 325-330.
- [27] Ben Salah, A., Marzouk B. et Cherif, A. (1986). Evolution des lipides au cours de la surmaturation des olives. *Olivae*, 14, 14-17.
- [28] Uceda, M., Frías, M. L. et Ruano, M. T. (1992). *Diferenciación de variedades de aceituna por la composición ácida de su aceite*. In: Abstracts of the First International Symposium on Olive Growing, Córdoba, Spain, 35-38.
- [29] Gutiérrez, R., Janer, C., Janer, M. L., Gutiérrez, F. et Vazquez, A. (1977). Relación entre polifenoles y la calidad y estabilidad del aceite de oliva virgen. *Grasas Aceites*, 28, 101-106.
- [30] Roncero, V. et Janer, D. V., (1975). Polyphénols naturels gestabildal del oliva. *Grasas y Aceites*, 26(1), 14-18.
- [31] Ranelli, B. (1981). Conservabilita a degli rapport al grado d'insaturazione del contenuer in chlorofilo. *Nota IV*, 6.
- [32] Rahmani, M. et Csallany, A. S. (1991). Chlorophyll and β -carotene pigments in Moroccan virgin olive oil mesured by high performance liquid chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 672-674.
- [33] Perrin, J. L. (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Rev. Corps gras*, 1/2, 25-32.
- [34] Chimi, H., Rahmani, M., Collard, J. et Collard P. (1990). Rôle des composés phénoliques. *Rev. Corps Gras*, 11/12, 363-673.
- [35] Vazquez, A., Maestro, R. et Graciani, E. (1971). Cambios en los polifenoles de la aceituna durante la maduración. *Grasas Aceites*, 22, 366-370.
- [36] Yorulmaz, A., Erinc, H. et Tekin, A. (2013). *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 90, 647-658.

- [37] Agramont, A., López, M. C., Boatella, J. et De la Torre, M. C. (1986). Evolution de la teneur en tocopheroles et en tocotrienols pendant le musirage des olives. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 63, 443-447.
- [38] Uceda, M., Frias, M. L. et Ruano, M. T. (1990). *Diferenciación de variedades de aceituna por la composición acidica de su aceite*. Book of Abstracts, International Symposium on Olive Growing, Córdoba, Spain, 35-38.
- [39] Caselli, S., Modi. G., Nizzi Grifi, F. et Fiorino, P. (1993). Variabilité de la composition en acides gras, en stérols et en alcools de l'huile d'olive de cultivars de la toscane. *Olivae*, 47, 46-51.
- [40] Arbib, A. et Lakhoua, H. (1979). Evolution de la composition lipidique de l'olive de deux variétés tunisiennes au cours de la croissance et la maturation du fruit. *Annales de l'I.N.R.A. Tunisie*, 52(5), 5-40.
- [41] C.O.I. (1997). *Normes Internationales commerciales de l'huile d'olive et de l'huile des grignons d'olive*.

Chapitre 3 : Classification et contrôle de qualité d'huiles d'olive extraites de la variété Picholine Marocaine à la commune de Tagzirt, province de Béni Mellal, par utilisation de la spectroscopie FT-IR couplée aux méthodes chimiométriques

I. Introduction

L'huile d'olive connaît actuellement un véritable engouement au Maroc et dans le monde. Ce n'est donc pas un hasard si la consommation d'huile d'olive ne cesse d'augmenter, ses qualités gustatives ainsi que ses vertus médicales et nutritionnelles étant vantées et diffusées au grand public [1, 2, 3].

Le Conseil oléicole international (COI) [4] définit quatre catégories de qualité pour l'huile d'olive : extra vierge, vierge, vierge courante et lampante. Cette qualité est influencée par plusieurs facteurs tels que la variété, le mode de récolte, le processus d'extraction et de stockage [5, 6].

Afin de contrôler la qualité de l'huile d'olive, plusieurs techniques d'analyse ont été mises au point pour la classification, la détection et la quantification de la falsification et l'authentification, telles que la spectrométrie de masse [7], la résonance magnétique nucléaire (RMN) [8], la spectroscopie infrarouge [9], la spectroscopie raman [10], la fluorescence [11], la chromatographie en phase gazeuse [12], la chromatographie liquide à haute performance [13] et l'analyse calorimétrique différentielle [14]. Généralement, ces méthodes sont longues, coûteuses, destructrices de l'échantillon, et exigent une grande connaissance technique pour interpréter les données.

Au cours des dernières années, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a été utilisée pour l'étude des huiles et des graisses. La FT-IR est un outil analytique rapide et non destructif et dans la plupart des cas, elle nécessite peu ou pas de préparation d'échantillon. Elle est également un excellent outil pour l'analyse quantitative, étant donné que les intensités des bandes spectrales sont proportionnelles à la concentration. Plusieurs applications ont été réalisées sur l'huile d'olive en utilisant cette approche

analytique couplée avec des méthodes chimiométriques: pour détecter l'adultération [15, 16, 17, 18], pour évaluer la fraîcheur et l'oxydation [19, 20, 21, 22] et aussi pour étudier les contraintes thermiques [23].

Le travail présenté dans ce dernier chapitre consiste en la contribution au contrôle de la qualité de l'huile d'olive à savoir pouvoir discriminer entre les différentes catégories de qualité d'huiles d'olives étudiées, et ce, par le biais d'une étude chimiométrique en couplant des outils chimiométriques, en occurrence l'analyse en composantes principales (ACP) et la régression au sens des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA) à la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (FT-MIR).

II. Matériels et méthodes

1. Préparation des échantillons

Après une étude sur la qualité de l'huile d'olive vierge produite à la commune de Tagzirt (1^{er} chapitre de la partie expérimentale de ce manuscrit), un ensemble de 44 échantillons d'huile d'olive (extraite de la variété Picholine Marocaine) est collecté au cours de la campagne 2015/2016, dans la même commune. Ce travail présente les résultats de deux types d'analyse: l'analyse physico-chimique des VOOs et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) couplée à un traitement de données avec des méthodes chimiométriques, telle que la PCA et la PLS-DA.

2. Méthodes Analytiques

2.1. Analyses physico-chimiques

Dans cette étude, neuf analyses physico-chimiques ont été obtenues pour chaque échantillon, (Acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction, densité, coefficients d'extinction spécifiques K_{232} , K_{270} et ΔK , teneur en chlorophylle, teneur en composés phénoliques, teneur en α -tocophérol et composition en acides gras), ces analyses ont permis de classer ces huiles d'olive selon les normes du Conseil oléicole international (COI) et d'évaluer ainsi leurs propriétés nutritionnelles et organoleptiques. Les protocoles opératoires de ces

analyses sont décrits en détails au premier chapitre de cette partie expérimentale de ce manuscrit.

2.2. Instrumentation et analyse en moyen infrarouge (MIR)

Un spectrophotomètre Bruker « Tensor 27 » instrument équipé d'un modèle « ATR » à réflexion unique « Golden Gate » chauffé, d'un détecteur TGS, d'une Source Global (IR) et d'un séparateur KBr Germanium, a été utilisé pour enregistrer les spectres MIR d'huile d'olive vierge. Les échantillons ont été scannés 98 fois dans la zone spectrale de 4000 cm^{-1} à 600 cm^{-1} à une résolution de 4 cm^{-1} . La référence a été mesurée avant chaque analyse d'échantillon. Les échantillons d'huile sont déposés sur la surface centrale du diamant à l'aide d'un compte-gouttes. Les mesures sont effectuées à température ambiante (25°C).

Une à deux gouttes d'huile d'olive est (sont) déposée(s) sur la surface centrale du diamant à l'aide d'un compte-gouttes. Les mesures sont effectuées à température ambiante. Le nettoyage de la cellule après chaque mesure est effectué avec de l'éthanol. Chaque spectre est le résultat d'absorption due à la composition de l'échantillon. Le spectre de l'échantillon étudié est obtenu par soustraction du « spectre du bruit de fond » appelé Background. Par conséquent, un spectre de référence «Background» est réalisé avant chaque mesure de spectre d'échantillon de façon à tenir compte des petites variations atmosphériques qui pourraient survenir au cours de l'analyse.

Le Tensor 27 est piloté par un logiciel d'acquisition et de traitement de données "Win First Software version 1.1".

2.3. Méthodes chimiométriques appliquées

Toutes les méthodes d'exploitation statistiques sont détaillées dans le second chapitre de la partie bibliographie. C'est pourquoi, dans le présent chapitre, les principes de ces techniques ne seront cités que brièvement à chaque fois qu'elles seront utilisées.

2.3.1. Analyse en composantes principales

L'ACP est une méthode multidimensionnelle d'analyse des données qui consiste à transformer des données originales corrélées entre elles en nouvelles

variables réduites décorréélées les unes des autres, nommées "composantes principales".

Il s'agit d'une approche à la fois statistique, parce qu'elle permet la recherche de composantes indépendantes afin d'expliquer au mieux la variabilité des données et permet la représentation des données dans un espace géométrique, en fonction des directions d'inertie maximale [24].

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

L'ACP consiste à la décomposition de la matrice des données originales pour obtenir des scores qui sont des matrices des coordonnées factorielles et loadings qui sont des contributions factorielles [25]. La visualisation des scores et des loadings constitue la base d'interprétation des résultats obtenus par analyse en composantes principales.

2.3.2. Analyse discriminante PLS-DA

La méthode de régression des moindres carrés partiels est très répandue [26, 27]. La méthode PLS-DA a été appliquée dans le mode standard: Y-matrice a été construite à partir des variables de regroupement composées des zéros et des uns. La matrice consistait autant de colonnes qu'il y a de classes et une observation à la valeur un pour la classe qu'elle appartient et zéro pour le reste. Les valeurs négatives prédites ont été attribuées à zéro, les plus grandes valeurs positives ont été affectées à la classe donnée.

a. Régression des moindres carrés partiels (PLS)

La PLS [20] tente de maximiser la covariance entre deux blocs de données X et Y. Une nouvelle matrice de poids (reflétant la structure de covariance entre les variables explicatives X et les variables de réponse Y) est calculée. Cette matrice

fournit des interprétations des facteurs et des informations pour chaque variable latente indépendamment.

Dans cette étude, les spectres MIR recueillis seront utilisés comme matrice X, et la concentration des polyphénols des différents échantillons, déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, sera utilisée comme vecteur de Y.

b. Paramètres statistiques

L'évaluation de la qualité des modèles obtenus a été discutée en comparant différents paramètres obtenus comme la limite de détection (LOD), le coefficient de détermination, l'erreur quadratique moyenne de calibration ou de prédiction (RMSEC et RMSEP), le biais et l'erreur relative de prédiction en pourcentage (ER%).

Dans ce chapitre, le calcul de l'écart de prédiction résiduelle RPD (Residual Prediction Deviation) est également proposé.

Ici, les critères de classification des valeurs de l'écart de prédiction résiduelle RPD [21] sont adoptés comme suit: une valeur de RPD inférieure à 1,5 indique que l'étalonnage est non utilisable. Une valeur RPD entre 1,5 et 2,0 indique la possibilité de différencier entre les grandes et les petites valeurs. Une valeur de RPD entre 2,0 et 2,5 rend possible les prédictions quantitatives approximatives. Pour une valeur RPD entre 2,5 et 3,0 et au-delà de 3,0, la prédiction est classée, respectivement, comme bonne et excellente. Généralement, un bon modèle doit avoir des valeurs élevées de R² et RPD, et de faibles valeurs de RMSEC, RMSECV, RMSEP, biais, LOD et ER (%).

c. Logiciel

Tous les spectres acquis ont été élaborés par le logiciel Unscrambler (version 10.1, CAMO, Norvège) pour l'application de l'ACP et la PLS.

III. Résultats et discussion

1. Evaluation des analyses des huiles

1.1. Indice d'acidité

Les valeurs de l'indice d'acidité des échantillons étudiés sont comprises entre 0,42 et 3,12 % avec une moyenne 1,53 et un écart-type de 0,72.

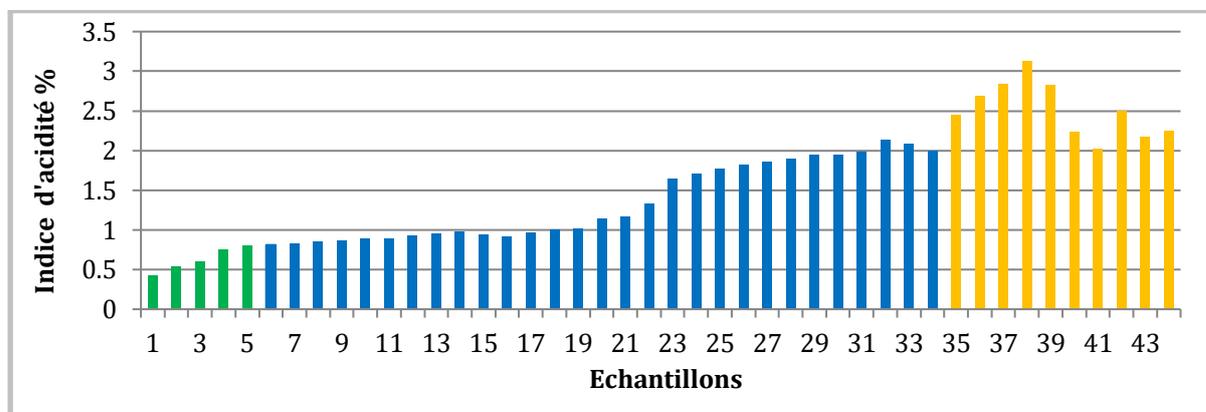


Figure 33 : Indice d'acidité pour les différents échantillons

On remarque que l'acidité des échantillons marqués en jaune (fig. 33) est élevée mais elle reste inférieure à 3,3 %, limite établie par le COI (2013) pour les huiles consommables. Cela peut être dû à la récolte tardive des olives et leur stockage pendant une longue durée avant extraction, la dégradation sera d'autant plus accentuée que le stockage est long (plus de 48 heures) et effectué dans de mauvaises conditions. Ceci provoque des échauffements des olives et déclenchement du processus de fermentation en augmentant le taux d'acidité.

D'après la norme du Conseil Oléicole International nos échantillons sont classés en trois catégories selon la qualité (fig. 33) :

- Groupe des échantillons extra vierge dont l'acidité est inférieure à 0,8 % (couleur verte)
- Groupe des échantillons vierge dont l'acidité est inférieure à 2 % (couleur bleue)
- Groupe des échantillons vierges courants dont l'acidité est inférieure à 3,3 % (couleur orange)

1.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde varie de 5,48 pour l'échantillon 39 (qui présente la valeur la plus faible) à 17,9 meq.O₂/Kg pour l'échantillon 5 (qui présente la

valeur maximale), la valeur moyenne et l'écart-type sont respectivement de l'ordre de 11,04 et 2,9 meq.O₂/Kg.

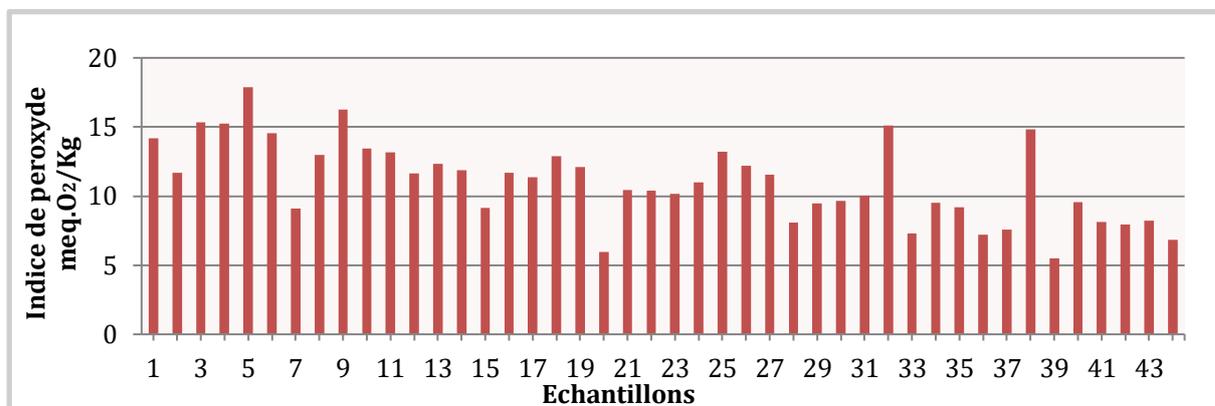


Figure 34 : Indice de peroxyde pour les différents échantillons

L'oxydation de l'huile d'olive commence après que les olives soient cueillies de l'arbre, et continue pendant le stockage des fruits et leur traitement. Les premiers produits formés par l'attaque de l'oxygène, activée sur les doubles liaisons des chaînes d'acides gras, sont des composés peroxydés instables, et des hydroperoxydes dont la structure va dépendre de la nature des acides gras attaqués (acides mono-, di-, tri- ou polyinsaturés).

La détermination de l'indice de peroxyde et la méthode la plus appropriée pour la mesure de ces composés peroxydés.

L'analyse des résultats de la figure (34) montre que tous les échantillons sans exception ont un indice de peroxyde inférieur à 20 meq.O₂/Kg, cela peut être dû à la fraîcheur des olives et de l'huile et au bon stockage et traitement des fruits.

Selon la norme commerciale applicable aux huiles d'olives on peut dire que la majorité des échantillons étudiés est propre à la consommation.

1.3. Coefficients d'extinction K₂₃₂, K₂₇₀ et ΔK

Les réactions d'isomérisation aboutissent à la formation de diènes et de triènes conjugués qui absorbent la lumière dans le domaine UV entre 225 nm et 280 nm. En effet, les diènes conjugués et les produits primaires d'oxydation des acides gras, tels que l'hydroperoxyde linoléique qui absorbe la lumière au voisinage de 232 nm. Les triènes conjugués (dans le cas de la présence d'acides gras à trois doubles liaisons) et les produits secondaires d'oxydation, absorbent

la lumière vers 270 nm. La détermination des absorbances au voisinage de 232 et 270 nm permet de détecter et d'évaluer les quantités des produits d'oxydation : plus l'extinction à 232 est forte, plus l'huile est peroxydée. De même plus l'extinction à 270 nm est forte, plus elle est riche en produits d'oxydation secondaires et traduit une faible aptitude à la conservation. La figure (35) donne les valeurs des coefficients d'extinction molaire à 232 et 270 nm (K_{232} et K_{270}), ainsi que ΔK de tous les échantillons étudiés.

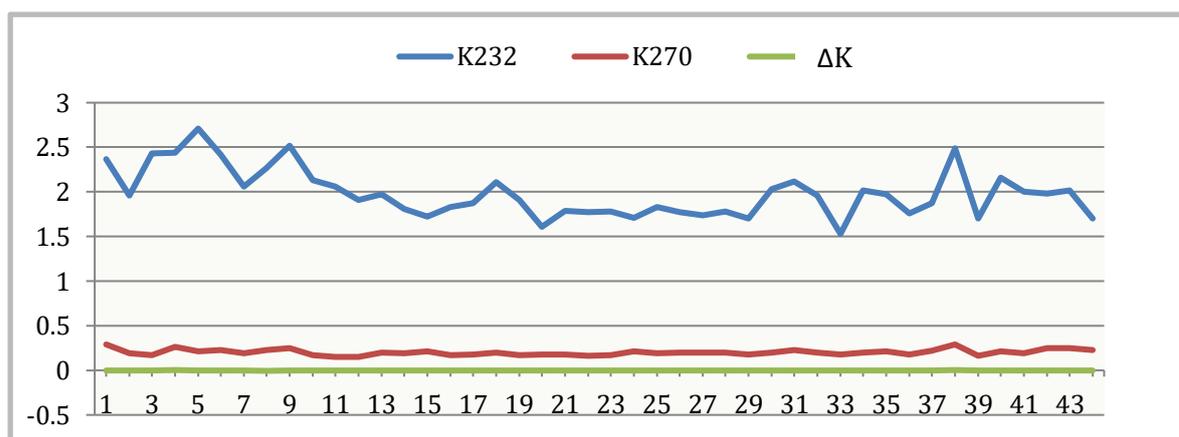


Figure 35 : Coefficients K_{232} , K_{270} et ΔK pour les différents échantillons

Nous remarquons d'après la figure (35) que les valeurs de K_{232} varient de 1,53 à 2,71 avec une moyenne de 1,98 et un écart-type de 0,27.

Les valeurs de K_{270} varient de 0,15 à 0,29 avec une moyenne de 0,2 et un écart-type de 0,03.

Les valeurs de ΔK varient de -0,006 à 0,003 avec une moyenne de -0,0019 et un écart type de 0,0016.

On remarque que les valeurs des extinctions spécifiques ultraviolet K_{232} et K_{270} obtenues pour les échantillons étudiés sont très variables et ne rentrent pas toutes dans les limites fixées par le Conseil Oléicole International pour les huiles d'olive vierges (COI, 2011), respectivement inférieures ou égales à 2,60 et 0,25. Cette variation peut avoir plusieurs origines telles que le degré de maturité des olives, le temps d'exposition des olives et des huiles extraites à l'air et/ou à la lumière, ainsi que des éventuelles différenciations de la température de réchauffement de la pâte au cours du broyage. Il est à noter que les extinctions spécifiques à 232 nm et à 270 nm de l'huile d'olive reflètent son état d'oxydation.

Plus l'extinction à 232 nm est forte, plus l'huile est peroxydée. De même, plus l'extinction à 270 nm est élevée, plus l'huile est riche en produits d'oxydation secondaire, ce qui reflète sa faible conservation pendant le stockage. Quant à la variation de l'extinction spécifique, elle varie d'un échantillon à l'autre mais sa valeur est comparable à celle établie par le COI ($\Delta K < 0.01$), (COI, 2011).

1.4. Polyphénols totaux

Les résultats obtenus montrent que les huiles d'olive vierge qui ont fait l'objet d'étude ont une teneur en polyphénols totaux qui varie de 262 à 542 mg/kg (fig. 36). Ces échantillons présentent une moyenne de 386,66 mg/kg.

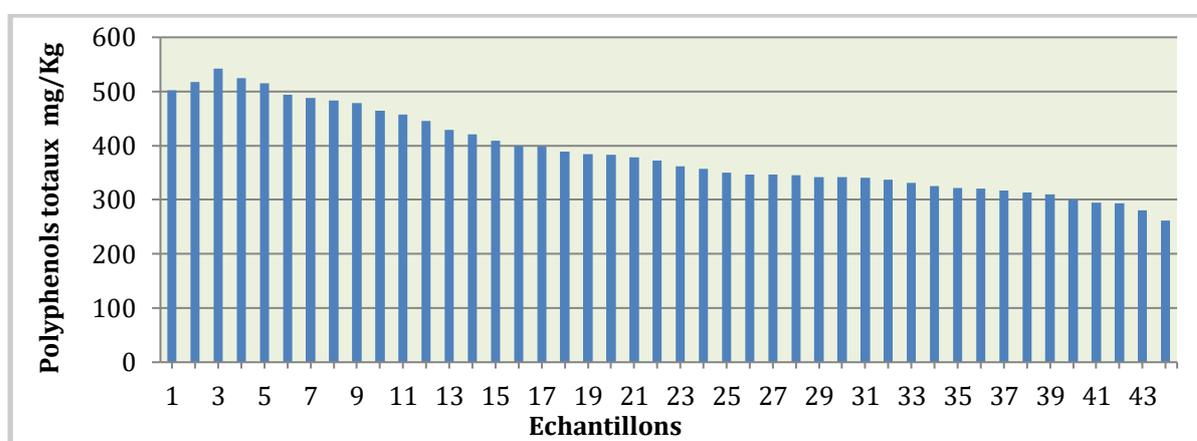


Figure 36 : Teneur en polyphénols totaux de tous des échantillons

Les graisses et les huiles alimentaires ont tendance à subir une détérioration oxydative entraînant le développement d'un goût et d'une odeur désagréable. La prévention de cette oxydation dépend de la présence d'inhibiteurs naturels essentiellement les composés phénoliques.

D'après la figure (36) on remarque que la plupart des échantillons ont des teneurs importantes en composés phénoliques par rapport aux résultats d'autres huiles d'olive monovariétales provenant de différentes zones oléicoles traditionnelles dans le monde, inférieurs à 350 ppm [1].

1.5. Bilan des analyses analytiques

Nous avons étudié les caractéristiques de 44 échantillons d'huile d'olive de la variété Picholine Marocaine. Les résultats obtenus nous permettent de conclure que les huiles étudiées ont une valeur d'indice d'acidité, qui est en moyenne de

1,53 %, une valeur d'indice de peroxyde qui est en moyenne de 11,04 meq.O₂/Kg , une teneur en polyphénols totaux qui est en moyenne de 386,66 mg/kg, un indice K₂₃₂ qui est en moyenne de 1,98, un indice K₂₇₀ et ΔK qui sont respectivement en moyenne de 0,2 et -0,0019.

En se basant sur ces résultats, et d'après la norme du conseil oléicole international COI (2013), tous les échantillons sont classés en trois catégories selon leur qualité qui sont : vierge extra, vierge, vierge courante et vierge lampante (Tableau 9).

Tableau 9 : Catégories de qualité des différents échantillons

Echantillons	Catégorie
01, 02, 03, 04, 05	Vierge Extra
06, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34	Vierge
34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44	Vierge Courante

2. Evaluation chimométrique

2.1. Acquisition des Spectres Moyen Infrarouge

D'une manière générale, les spectres IR contiennent des informations qui présentent un intérêt analytique. Cependant, l'extraction de ces informations reste problématique due à la superposition des informations spectrales et nécessite presque toujours un traitement mathématique assez complexe. De plus, l'information peut ne pas être localisée à un endroit donné du spectre mais distribuée sur plusieurs fenêtres spectrales. Pour cette raison, il est nécessaire de traiter les spectres par des méthodes d'analyse statistique multivariée, appelées aussi méthodes chimométriques.

En fait, les données spectrales brutes, telles qu'elles sont acquises par un spectromètre, doivent souvent être soumises à un processus de présélection afin d'éliminer les mauvais spectres (test de qualité spectrale). Ensuite, ils doivent

subir une étape de prétraitement qui inclut une correction des phénomènes physiques qui contribuent à l'information spectrale.

La figure (37) illustre les spectres FTIR moyens des huiles étudiées. Les régions spectrales peuvent être divisées de la manière suivante : Dans la région spectrale 3000-2800 cm^{-1} , trois bandes sont observables, dont deux sont plus au moins intenses à 2920 cm^{-1} et 2852 cm^{-1} . Cette partie est caractéristique des vibrations d'élongation symétrique et asymétrique du groupement CH_2 et CH_3 . Cependant, les vibrations de déformation de ces deux groupes sont observées à 1463 et 1377 cm^{-1} . Les vibrations d'élongation du groupement $\text{C}=\text{O}$ des lipides est visible vers 1743 cm^{-1} . Les bandes caractéristiques du sucre sont observables dans la zone spectrale 1200-900 cm^{-1} [28].

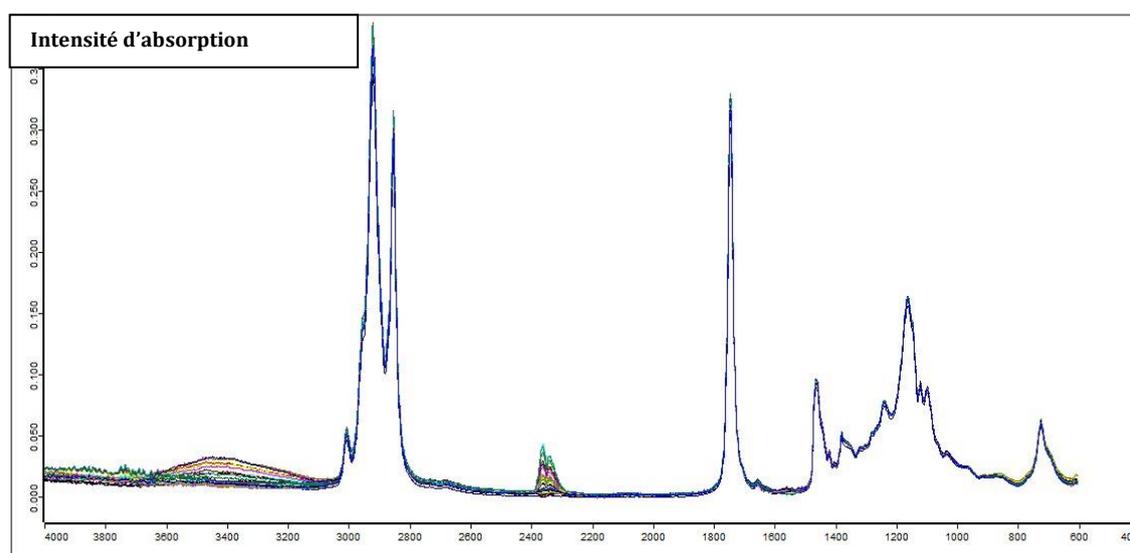


Figure 37 : Spectres moyens infrarouge des échantillons d'huile d'olive vierge dans la gamme spectrale 4000-600 cm^{-1}

Nous remarquons, ainsi, que la différence entre les spectres est clairement petite et dans des régions limitées du spectre. Donc, l'utilisation des pics uniques ou des plages de longueur d'onde étroites pour obtenir des informations utiles pour distinguer les huiles semblait très difficile. Pour cette raison, les spectres doivent subir une étape de prétraitement qui inclut une correction des phénomènes physiques qui contribuent à l'information spectrale, après sélection des zones spectrales importantes si nécessaire.

Toute la gamme spectrale 4000-600 cm^{-1} a été utilisée comme un point de départ pour l'enquête. Selon la littérature [29], la zone comprise entre 2400 et 2300 cm^{-1} est à éliminer avant l'élaboration chimométrique car le rapport signal/bruit de cette région était assez faible et la variation de signal est indépendante de la composition de l'échantillon. La région entre 4000 et 3100 cm^{-1} est également supprimée en raison de la bande de soustraction d'eau qui a beaucoup de bruit instrumental et apporte des informations inutiles.

2.2. Analyse exploratoire des données

2.2.1. Application de l'ACP sur les caractéristiques physico-chimiques

Après analyse des 44 échantillons d'huile d'olive, les résultats (caractéristiques) obtenus sont regroupés dans une matrice mathématique, cette dernière est traitée par l'analyse en composantes principales à l'aide du logiciel « The Unscrambler ». Nous avons obtenu le graphique suivant :

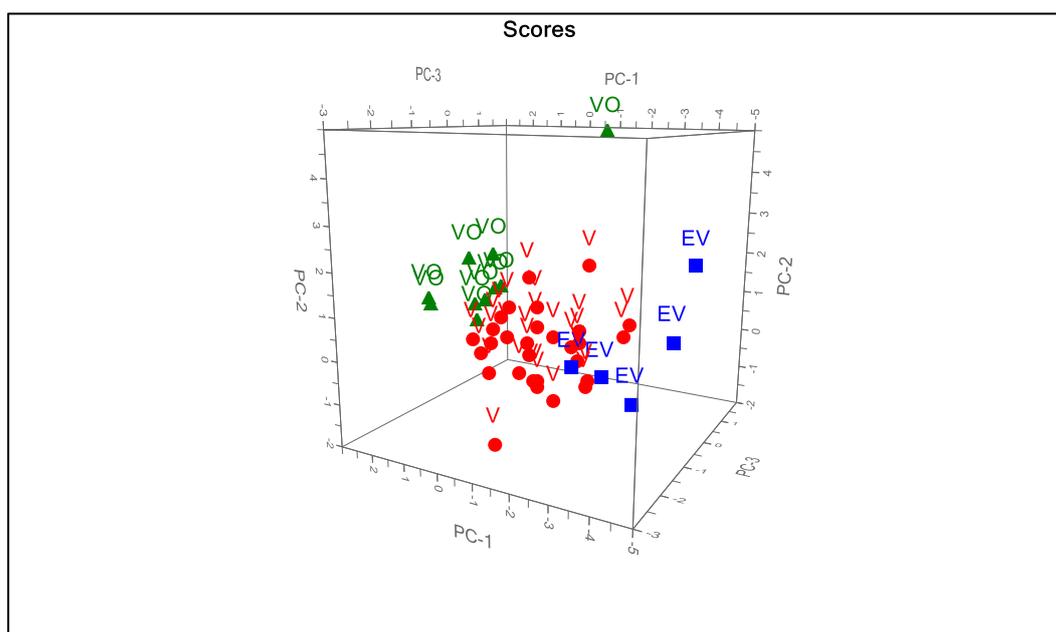


Figure 38: Plot des scores en 3D (PC1 vs PC2 - PC3) d'analyses ACP des caractéristiques physicochimiques des huiles

Le graphe des scores montre la répartition des échantillons selon les composantes PC1, PC2 et PC3, avec un taux d'information allant jusqu'à 97 %.

Les échantillons sont répartis en 3 groupes selon la qualité :

- * Groupe de qualité vierge extra ;
- * Groupe de qualité vierge ;
- * Groupe de qualité vierge courante ;

Pour montrer la relation entre nos échantillons et les paramètres caractéristiques des huiles nous avons eu recours au résultat du Biplot suivant :

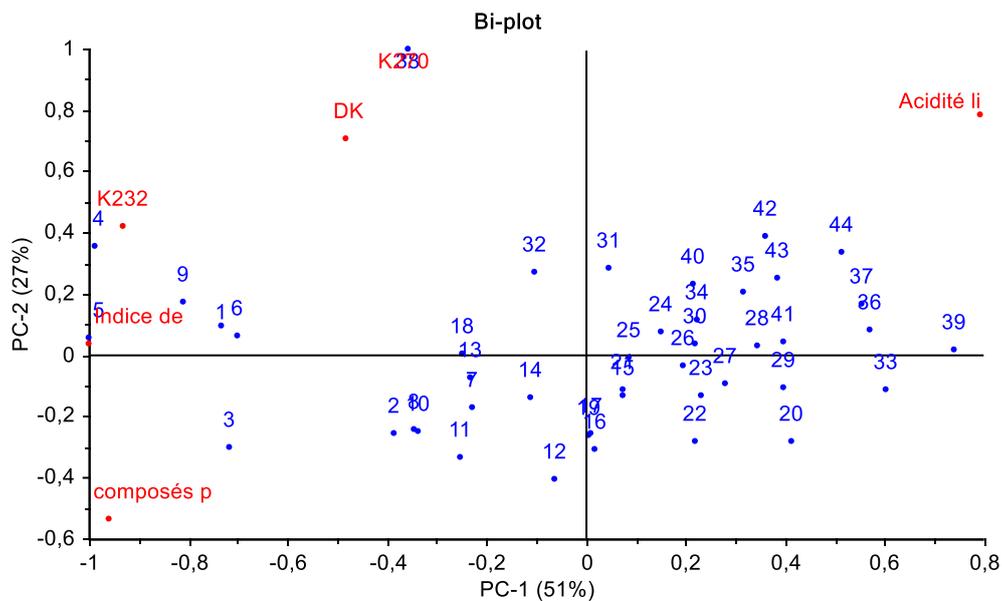


Figure 39 : Graphique de biplot

Le Biplot représente la projection de loading (paramètres) sur le graphe des scores (échantillons). Nous observons que les échantillons vierges extra et vierges ont des teneurs élevées en polyphénols contrairement à la troisième zone (vierge ordinaire) qui a un taux de polyphénols faible et des valeurs élevées des coefficients d'extinction molaire, d'acidité et d'indice de peroxyde. On remarque aussi que les facteurs les plus influents sont la teneur en polyphénols, l'acidité et l'indice de peroxyde.

2.2.2. Application de l'ACP sur les spectres Infrarouge

Après analyse par spectroscopie infrarouge des 44 échantillons d'huile d'olive, les résultats (spectres) obtenus sont regroupés dans une matrice mathématique, cette dernière est traitée par l'analyse des composantes principales à l'aide du logiciel « The Unscrambler», nous avons obtenu les résultats suivants (fig. 40):

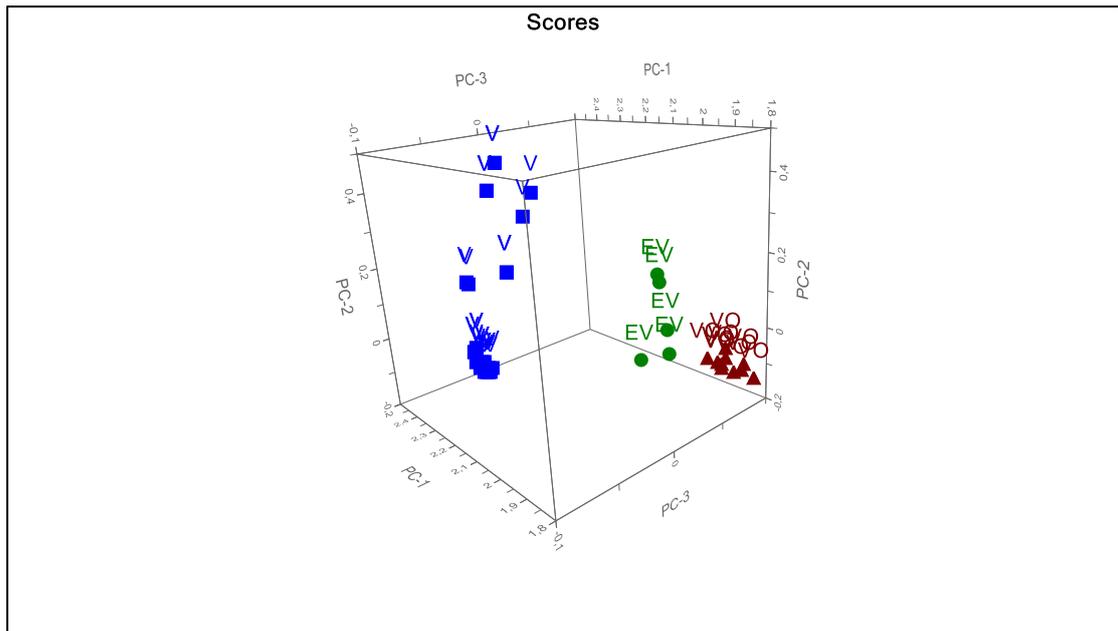


Figure 40 : Plot des scores en trois dimensions

Comme il est clairement visible dans la figure 40, le modèle ACP avec trois composantes principales explique déjà 97% de la variance totale des données brutes. On distingue trois grands groupes d'échantillons en accord avec les trois classes de qualité d'huile dans le tableau (9) (page 139): groupe vierge extra (EV), groupe vierge (V) et groupe vierge ordinaire (VO).

Pour pouvoir déterminer le nombre de composantes principales, qui donne le maximum d'information, nous avons établi une courbe de la variance résiduelle (fig. 41).

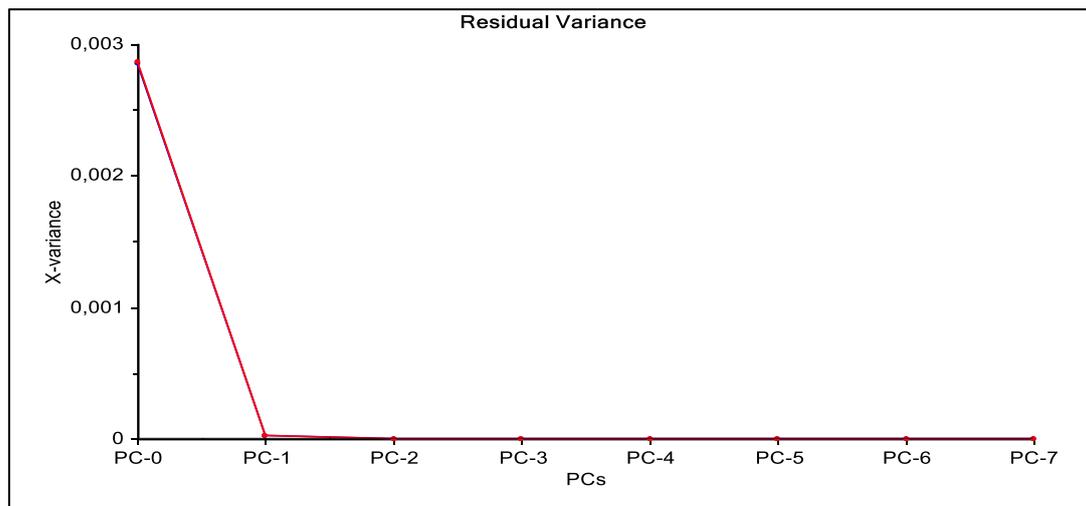


Figure 41 : Courbe de variance résiduelle du modèle ACP

La courbe de la variance résiduelle montre que le maximum de l'information est donné à la composante principale PC2 puisque l'erreur sur la prédiction devient minimale et constante.

Un tel résultat est important à exploiter en chimométrie puisqu'on peut se contenter de la PC2, sans passer aux composantes suivantes, pour avoir des résultats de discrimination fiables. C'est-à-dire qu'on peut prédire des résultats d'analyses au stade de la PC2 avec une erreur acceptable, en général inférieure à 2 %.

Ainsi, à l'aide d'un appareil d'analyse de routine tel que le spectrophotomètre infrarouge couplée à la chimométrie on peut prédire l'identité d'échantillons en économisant en analyses et surtout en temps.

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

2.3.1. Elaboration du modèle PLS-DA

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

Aujourd'hui, la méthode PLS-DA est la plus citée dans la littérature pour la caractérisation des aliments, ainsi que l'étude de leur qualité [30, 31].

Le modèle PLS2-DA a été construit en considérant les spectres FTIR comme variables X, alors que les variables Y ont été associées avec les trois classes de qualités différentes (une variable Y différente pour chaque classe de qualité, avec 1 ou 0 selon l'appartenance ou non au groupe de données prises en compte). La figure (42) présente le plot des scores du facteur 1 en fonction des facteurs 2 et 3 du modèle PLS-DA des échantillons d'huile.

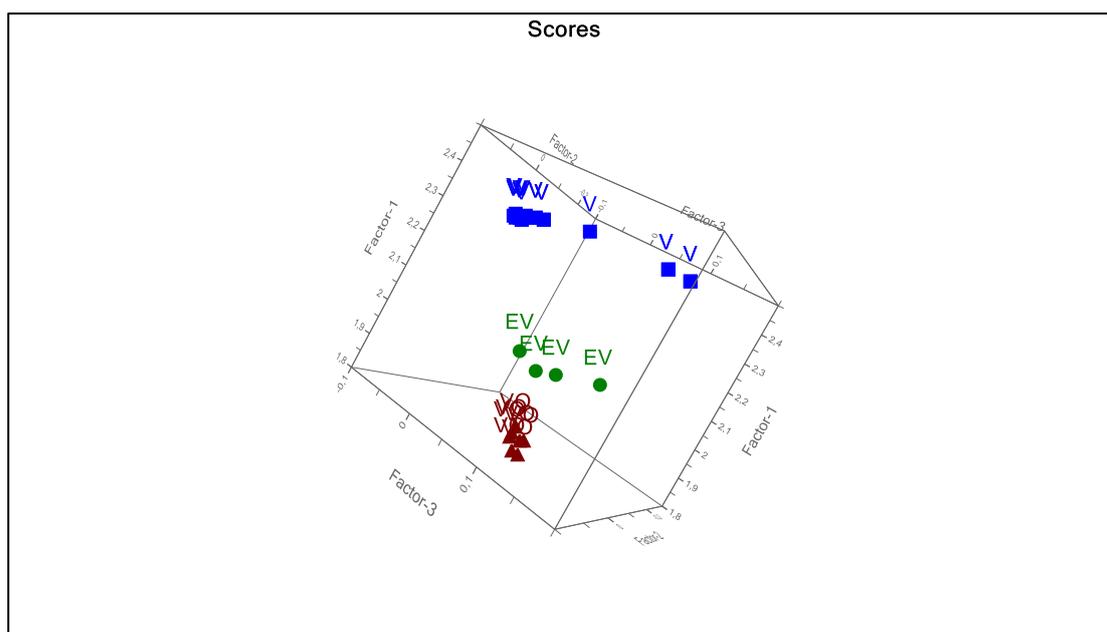


Figure 42 : PLS-DA plot des scores (en 3D) des échantillons d'huile d'olive de différentes catégories

Le modèle obtenu était capable de discriminer entre les trois classes de qualité (EV, V, VO), comme il peut être vu dans le graphique des scores ci-dessus.

Ce modèle a fourni une erreur de calibration (RMSEC) et une erreur de validation croisée (RMSEC_v) les plus faibles et des coefficients de détermination qui sont proches de 1 : R^2_c est le coefficient de détermination liée à la calibration et R^2_{cv} est le coefficient de détermination lié au modèle prédit par validation croisée. Les résultats sont résumés dans le tableau (10).

Tableau 10 : Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA

Classes	Paramètres statistiques			
	R^2_c	R^2_{cv}	RMSEC	RMSEC _v
EV	0,995	0,780	0,023	0,167
V	0,999	0,991	0,013	0,080
VO	0,999	0,975	0,013	0,087

D'après le tableau ci-dessus, les valeurs de R^2_c des trois groupes sont supérieures à 0,99 et celles de **RMSEC** sont inférieures à 0,023. Ainsi que le R^2_{cv} varie de 0,780 à 0,991 et **RMSEC_v** varie de 0,080 à 0,167.

Une valeur faible de R^2_{cv} pour l'ensemble d'apprentissage peut servir comme un indicateur d'une faible capacité prédictive d'un modèle, mais la haute valeur de R^2_{cv} n'implique pas automatiquement une grande capacité de prédiction du modèle. Un facteur de détermination R^2 élevé est une condition nécessaire pour qu'un modèle ait un haut pouvoir prédictif, mais ce n'est pas suffisant [32, 33]. La seule façon d'estimer la véritable puissance prédictive d'un modèle est de le tester sur une collection des échantillons d'un ensemble de tests externes (validation externe) [34].

2.3.2. Validation externe : Classification des nouveaux échantillons

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

- Validation externe : Prédictions d'appartenance de nouveaux échantillons

Les résultats de calibration et de projection sont insuffisants pour juger la qualité de prédiction du modèle préétabli. La validation externe est la technique la plus robuste pour s'assurer du pouvoir prédictif des modèles. Les résultats d'application de la validation externe sur les données MIR, de **13** nouveaux échantillons d'huile d'olive sont donnés dans les tableaux (11) et (12).

Tableau 11 : Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA

Paramètres	Classes		
	EV	V	VO
R^2_p	0,70	0,97	0,98
RMSEP	0,25	0,15	0,07

Le pouvoir prédictif du modèle préétabli est vérifié par la validation externe. Les résultats fournis sont satisfaisants : L'erreur de prédiction (**RMSEP**) est faible (de 0,07 à 0,25) et le coefficient de détermination de prédiction (R^2_p) est proche de 1 (de 0,7 à 0,98).

Tableau 12 : Classification de nouveaux échantillons d'huile (validation externe)

Echantillons	Classe 1: EV		Classe 2: V		Classe 3: VO	
	Predi.	Ref.	Predi.	Ref.	Predi.	Ref.
01 (EV)	0,927	1,000	0,002	0,000	0,076	0,000
06 (V)	0,027	0,000	0,954	1,000	-0,025	0,000
07 (V)	0,415	0,000	0,736	1,000	-0,123	0,000
08 (V)	0,474	0,000	0,694	1,000	-0,137	0,000
09 (V)	0,438	0,000	0,749	1,000	-0,165	0,000
10 (V)	0,071	0,000	0,945	1,000	-0,010	0,000
11 (V)	0,123	0,000	0,924	1,000	-0,040	0,000
12 (V)	0,082	0,000	0,938	1,000	-0,012	0,000
13 (V)	0,063	0,000	0,959	1,000	-0,017	0,000
14 (V)	0,438	0,000	0,745	1,000	0,165	0,000
35 (VO)	-0,045	0,000	0,028	0,000	1,016	1,000
36 (VO)	-0,127	0,000	0,064	0,000	1,061	1,000
37 (VO)	-0,121	0,000	0,064	0,000	1,055	-1,000

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

Le tableau (12) montre que l'échantillon de validation (01) était des extras vierges, les échantillons (06, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13 et 14) étaient vierges et les échantillons de validation (35, 36 et 37) étaient vierges ordinaires. Cela signifie qu'une classification correcte de 100 % a été atteinte, c.à.d. que tous les spectres de l'huile d'olive de l'ensemble de validation ont été correctement adaptés aux trois classes correspondantes. Les valeurs prédites par le modèle PLS2-DA ont toujours été très proches de 1. Ces résultats confirment que la capacité prédictive du modèle PLS2-DA développé était très bonne. Par conséquent, on conclut que la spectroscopie FTIR associée à l'application de la PLS2-DA peut être utilisée comme une nouvelle méthode pour discriminer la qualité des huiles d'olive vierges.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, la technique de spectroscopie FT-MIR a été appliquée pour la prédiction de la qualité des échantillons d'huile d'olive. Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par la détermination physico-chimique classique. Par conséquent, la spectroscopie FT-IR couplée à des méthodes chimiométriques telles que la PLS-DA est un outil de classification alternative fiable, pas cher, rapide, ne nécessitant pas l'utilisation d'analyses chimiques traditionnelles et capable de prédire la qualité des échantillons d'huile d'olive vierge.

V. Références

- [1] Harwood, J. et Aparicio, R. (2000). *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*. Gaithersburg, Maryland, Aspen Publishers, 355-372.
- [2] Tanouti, K., Serghini-Caid, H., Marianne, S., Jean-Paul, W., Bouseta, A. et Elamrani, A. (2012). Volatile Compounds, Profiles of Virgin Olive Oils Produced In the Eastern Morocco: Oxidative Stability and Sensory Defects. *Journal of Food Research*, 194-206.
- [3] Owen, R. W., Giacosa, A., Hull, W. E., Haubner, R., Wurtele, G., Spiegelhalder, B. et Bartsch, H. (2000). Olive oil consumption and health: The possible role of antioxidants. *Lancet Oncology*, 1, 107-112.
- [4] International Olive Oil Council. (2013, May). *Trade standard applying to olive oil and olive pomace oil*. RES. COI/T.15/NC no. 3/Revision 7.
- [5] Pinatel, C., Petit, C., Ollivier, D. et Artaud J. (2004). *Oléagineux, corps gras, lipids*, 11, 217.
- [6] Tsimidou, M. Z., Georgiou, A., Koidis, A. et Boskou, D. (2005). Loss of stability of "veiled" (cloudy) virgin olive oils in storage. *J. Food Chemistry*, 93(3), 377-383.
- [7] Vaclavik, L., Cajka, T., Hrbek, V. et Hajslova, J. (2009). Ambient mass spectrometry employing direct analysis in real time (DART) ion source for olive oil quality and authenticity assessment. *Analytica Chimica Acta*, 645, 56-63.
- [8] Jafari, M., Kadivar, M. et Keramat, J. (2009). Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 103-110.
- [9] Gurdeniz, G. et Ozen, B. (2009). Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chemistry*, 116, 519-525.
- [10] Heise, H. M., Damm, U., Lampen, P., Davies, A. N. et McIntyre, P. S. (2005). Spectral variable selection for partial least squares calibration applied to authentication and quantification of extra virgin olive oils using Fourier transform Raman spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 59, 1286-1294.
- [11] Poulli, K. I., Mousdis, G. A. et Georgiou, C. A. (2007). Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Food Chemistry*, 105, 369-375.
- [12] Jafari, M., Kadivar, M. et Keramat, J. (2009). Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 103-110.
- [13] Flores, G., Ruiz Del Castillo, M. L., Herraiz, M. et Blanch, G. P. (2006). Study of the adulteration of olive oil with hazelnut oil by on-line coupled high performance liquid chromatographic and gas chromatographic analysis of filbertone. *Food Chemistry*, 97, 742-749.
- [14] Chiavaro, E., Vittadini, E., Rodriguez-Estrada, M. T., Cerretani, L., Capelli, L. et Bendini, A. (2009). Differential scanning calorimetry detection of high oleic sunflower oil as an adulterant in extra-virgin olive oil. *Journal of Food Lipids*, 16, 227-244.
- [15] De la Mata, P., Dominguez-Vidal, A., Bosque-Sendra, J. M., Ruiz-Medina, A., Cuadros-Rodríguez, L. et Ayora-Cañada, M. J. (2012). Olive oil assessment in

- edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics. *Food Control*, 23, 449-455.
- [16] Lerma-García, M. J., Simó-Alfonso, E. F., Bendini, A. et Cerretani, L. (2011). Rapid evaluation of oxidized fatty acid concentration in virgin olive oil using Fourier transforms infrared spectroscopy and multiple linear regression. *Food Chemistry*, 124, 679-684.
- [17] Maggio, R. M., Cerretani, L., Chiavaro, E., Kaufman, T. S. et Bendini, A. (2010). A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils. *Food Control*, 21, 890-895.
- [18] Ozen, B. F. et Mauer, L. J. (2002). Detection of hazelnut oil using FT-IR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3898-3901.
- [19] Sinelli, N., Cosio, M. S., Gigliotti, C. et Casiraghi, E. (2007). Preliminary study on application of mid infrared spectroscopy for the evaluation of the virgin olive oil "freshness". *Analytica Chimica Acta*, 598, 128-134.
- [20] Guillén, M. D. et Cabo, N. (2002). Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*, 77, 503-510.
- [21] Muik, B., Lendl, B., Molina-Diaz, A., Valcarcel, M. et Ayora-Canada, M. J. (2007). Two dimensional correlation spectroscopy and multivariate curve resolution for the study of lipid oxidation in edible oils monitored by FTIR and FT-Raman. *Analytica Chimica Acta*, 593, 54-67.
- [22] Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A. et Tegou, E. (2006). Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Analytica Chimica Acta*, 573, 459-465.
- [23] Maggio, R. M., Valli, E., Bendini, A., Gómez-Caravaca, A. M., Gallina-Toschi, T. et Cerretani, L. (2011). A spectroscopic and chemometric study of virgin olive oils subjected to thermal stress. *Food Chemistry*, 127, 216-221.
- [24] Joliffe, T. (1986). *Principal Component Analysis*. New York, NY: Springer.
- [25] Lebart, L., Morineau, A. et Pirlo, M. (1997). *L'analyse en composantes principales*. in : Statistiques exploratoires multidimensionnelles, Ed. Dunod, Bordas, Paris, 32.
- [26] Geladi, P. et Kowalski, B. (1986). Partial least-squares regression: a tutorial. *Anal. Chim. Acta*, 185, 1-17.
- [27] Vandeginste, M., Massart, L., Buydens, C., Jong, J. et Lewi, J. (1998). Partial least squares regression. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 35, 329-342.
- [28] Inon, F. A., Garrigues, J. M., Garrigues, S., Molina, A. et de la Guardia, M. (2003). Selection of calibration set samples in determination of olive oil acidity by partial least squares-attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 489, 59-75.
- [29] Terouzi, W., De Luca, M., Bolli, A., Oussama, A., Patumi, M., Ioele, G. et Ragno, G. (2011). A discriminant method for classification of Moroccan olive varieties by using direct FT-IR analysis of the mesocarp section. *Vibrational Spectroscopy*, 56(2), 123-128.
- [30] Arvanitoyannis, I. S., Katsota, M. N., Psarra, E. P., Soufleros, E. H. et Kallithrakay, S. (1999). Application of quality control methods for assessing wine authenticity:

- Use of multivariate analysis (chemometrics). *Trends in Food Science and Technology*, 10, 321-336.
- [31] Ragno, G., De Luca, M. et Ioele, G. (2007). An application of cluster analysis and multivariate classification methods to spring water monitoring data. *Microchemical Journal*, 87, 119-127.
- [32] Paradkar, M., Sivakesava, S. et Irudayaraj. J. (2003). Discrimination and classification of adulterants in maple syrup with the use of infrared spectroscopic techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 714-721.
- [33] Golbraikh, A. et Tropsha, A. (2002). Beware of q². *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20, 269-276.
- [34] Novellino, E., Fattorusso, C. et Greco, G. (1995). Use of comparative molecular field analysis and cluster analysis in series design. *Pharm. Acta. Helv.*, 70, 149-154.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans le présent travail (chapitre 1), quinze échantillons d'huiles d'olive monovariétales (Picholine Marocaine), produites dans la commune rurale de Tagzirt, province de Béni Mellal au Maroc, ont été physiquement et chimiquement analysées. Neuf analyses physico-chimiques ont été effectuées pour chaque échantillon ; (acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction, densité, coefficients des extinctions spécifiques K_{232} , K_{270} et ΔK , teneur en chlorophylles, teneur en composés phénoliques, teneur en α -tocophérol et proportion d'acide oléique) ; Ces analyses ont permis de classer ces huiles d'olive selon les normes du Conseil oléicole international (COI) et d'évaluer ainsi leurs propriétés nutritionnelles et organoleptiques. 73,33 % des échantillons étudiés ont été classés dans la catégorie «huile d'olive vierge», 13,3% dans la catégorie «huile d'olive extra-vierge» et 13,3% dans la catégorie «huile d'olive vierge ordinaire». Sur la base de ces résultats, on peut déduire que l'huile d'olive étudiée révèle un grand potentiel en ce qui concerne la valeur nutritionnelle. En effet, tous les paramètres de qualité de la majorité des échantillons étudiés (acides gras libres, absorption UV, indice de peroxyde) prouvent que ces huiles d'olive respectent les normes du COI pour les huiles d'olive vierges et même, pour certains, celles des huiles d'olive extra vierges. Les paramètres de pureté évalués (teneur en chlorophylles, teneur en composés phénoliques, teneur en α -tocophérol et pourcentage en acide oléique) indiquent également une bonne qualité globale de ces huiles d'olive.

Les résultats de cette étude confirment également que la qualité de l'huile d'olive est influencée par de nombreux facteurs, qui peuvent être regroupés dans ceux qui agissent lors de la formation de l'huile dans les olives, lors de la collecte des fruits et pendant le traitement et le stockage du produit final. Les facteurs génétiques (variétaux), climatiques et environnementaux peuvent affecter tous les éléments susmentionnés. Par conséquent, afin d'améliorer encore ces huiles régionales et de leur donner une valeur ajoutée, il est nécessaire de sensibiliser les agriculteurs pour améliorer les pratiques et les techniques de culture et les

propriétaires des huileries traditionnelles en ce qui concerne le stockage des olives, la transformation et le stockage des huiles.

Par ailleurs, l'optimisation de la qualité de l'huile d'olive implique nécessairement une détermination judicieuse de la période de récolte optimale des olives, qui dépend de divers facteurs. Nous avons donc étudié (chapitre 2) l'influence de la maturation des olives sur la qualité de l'huile dans le but d'établir un temps de récolte optimal pour les olives de Picholine Marocaine, principale variété d'olive cultivée au Maroc. Pour atteindre cet objectif, nous avons suivi l'évolution des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de l'huile pendant la maturation des fruits. Pour ce faire, neuf échantillons ont été produits à partir d'olives à des stades croissants de maturité puis analysés. Les indices de qualité (acidité libre, indice de peroxyde, indice de réfraction, densité et extinctions spécifiques UV), la composition en composés majeurs (acides gras) et composés mineurs (pigments chlorophylles, tocophérols, composés phénoliques) ainsi que la stabilité à l'oxydation ont été évalués.

Les résultats obtenus montrent que l'étape de maturité des olives affecte la composition chimique de l'huile. En effet, de nombreux paramètres analytiques, à savoir la valeur du peroxyde, l'absorbance UV à 232 et 270 nm, les pigments chlorophylles, les caroténoïdes et les teneurs en acide oléique ont diminué pendant la maturation, tandis que l'acidité libre, la teneur en huile et le taux de l'acide linoléique ont augmenté. La tendance de la stabilité à l'oxydation des phénols totaux a montré une augmentation au début, suivie d'une réduction à des stades de maturité plus avancés. Sur la base de l'évolution des paramètres analytiques étudiés, le meilleur stade de maturité des fruits de Picholine Marocaine pour en obtenir une huile de qualité semble être à un indice de maturité supérieur à 2,55 et inférieur à 4,95, ce qui correspond à une période de récolte entre le premier décembre et la mi-janvier.

Finalement et afin de contribuer au contrôle de la qualité de l'huile d'olive, la technique de spectroscopie FT-MIR a été appliquée pour la prédiction de la qualité des échantillons d'huile d'olive (chapitre 3). Les résultats obtenus sont

similaires à ceux obtenus par la détermination physico-chimique classique. Par conséquent, la spectroscopie FT-MIR couplée à des méthodes chimiométriques telles que la PLS-DA est un outil de classification alternative fiable, pas cher, rapide, ne nécessitant pas l'utilisation d'analyses chimiques traditionnelles et capable de prédire la qualité des échantillons d'huile d'olive.

A l'issue des résultats de ce travail, les actions identifiées et suggérées comme perspectives se résument dans les points suivants :

- Une étude de la composition chimique en acides gras et en composés phénoliques de l'huile d'olive vierge selon le stade de la maturité des olives de différentes provenances variétales et géographiques ;
- Application d'autres méthodes chimiométriques pouvant détecter d'éventuelles différences en composition chimique en termes de composés phénoliques antioxydants pour l'huile d'olive vierge de différentes provenances variétales et géographiques ;
- Valorisation des huiles végétales en tant que produits de terroir, grâce à leur effet antioxydant, voire antitumoral.