



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



N° d'ordre : 89/2016

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

THÈSE

Présentée par

Aziz HIRRI

Pour l'obtention du grade de

Docteur

Spécialité : Chimie

Option : Agroalimentaire-Chimiométrie

APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE FT-IR COUPLÉE AUX OUTILS CHIMIOMETRIQUES POUR LE CONTRÔLE QUALITÉ DES HUILES D'OLIVES VIERGES MAROCAINES : CAS DE BENI MELLAL

Soutenue le 09 Janvier 2016 devant la commission d'examen :

Taoufiq RAIS	Professeur à la FS – UH2 – Casablanca	Président
Fouad FETHI	Professeur à la FS – UMP – Oujda	Rapporteur
Abderrafia HAFID	Professeur à la FST– USMS – Béni Mellal	Rapporteur
Mohamed BERKANI	Professeur à la FST– USMS – Béni Mellal	Rapporteur
Abdelaziz BOUKLOUZE	Professeur à la FMP– UM5 – Rabat	Examineur
Mohamed MBARKI	Professeur à la FST– USMS – Béni Mellal	Examineur
Abdelkhalek OUSSAMA	Professeur à la FST– USMS – Béni Mellal	Directeur de thèse

Fiche présentative de la thèse

- ❖ **Nom et prénom de l'auteur : HIRRI Aziz**
- ❖ **Intitulé de la thèse :** Application de la spectroscopie FT-IR couplée aux outils chimométriques pour le contrôle qualité des huiles d'olives vierges marocaines : cas de Béni Mellal.
- ❖ **Directeur de la thèse :** OUSSAMA Abdelkhalek, Professeur de l'Enseignement Supérieur. .
- ❖ **Formation doctorale :** Ressources naturelles, santé et Environnement.
- ❖ **Directeur du CED :** Pr. Abderrazzak El Harti
- ❖ **Responsable de Formation:** Pr. Abdelmajid Zyad
- ❖ **Lieu de réalisation des travaux :**
 - Institution : Université Sultan Moulay Slimane - Faculté des Sciences et Technique Beni Mellal
 - Laboratoire : Laboratoire de Spectro-Chimométrie Appliquée et Environnement (LSCAE)
- ❖ **Période de réalisation des travaux :** 2011-2015
- ❖ **Mots clés :** FT-MIR, méthodes chimométriques, contrôle de qualité, huile d'olive vierge, adultération.

❖ Publications :

1. **Hirri A**, Bassbasi M, Kzaiber F and Oussama A. Prediction of oil content in olive fruit using Fourier transformed infrared spectroscopy FT-IR coupled with partial least squares regression. *International Food Research Journal*, 21 (2014) 723-727.
2. **Hirri A**, Bassbasi M, Platikanov S, Tauler R and Oussama A .FTIR spectroscopy and PLS-DA classification and prediction of four commercial grade virgin olive oils from Morocco. *Food Analytical Methods* (2015), DOI 10.1007/s12161-015-0255-y.
3. **Hirri A**, Bassbasi M, Souhassou S, Kzaiber F, Oussama A. Prediction of polyphenol fraction in virgin olive oil using Mid-infrared Attenuated Total Reflectance ATR-MIR coupled with partial least squares regression. *International Journal of Food Properties*, DOI: 10.1080/10942912.2015.1059854.
4. **Hirri A**, Gammouh M, Gorfti A, Kzaiber F, Bassbasi M, Souhassou S, Balouki A and Oussama A. The uses of Fourier transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy for detection and estimation of extra virgin olive oil adulteration with old olive oil. *Sky Journal of food sciences*, 4 (2015) 30 – 41.
5. **Hirri A**, De luca M, Ioele G, Balouki A, El Bassbasi M, Kzaiber F, Oussama and Ragno G. Chemometric classification of citrus juices of moroccan cultivars by infrared spectroscopy. *Czech Journal of Food Sciences*, 33 (2015) 137–142.
6. **Hirri A**, Bassbasi M and Oussama A. Classification and quality control of lubricating oils by infrared spectroscopy and chemometric. *International Journal of Advanced Technology and Engineering Research*, 3 (2013) 59-62.
7. Bassbasi M, **Hirri A**, and Oussama A. Caractérisation physico chimique du lait cru dans la région de Tadla-Kelaa au Maroc : Application de l'analyse exploratoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2 (2013) 512-517.
8. **Hirri A**, Boulli A, Oussama A. Classification of Five Olive Varieties Introduced in Morocco Using Mid Infrared Spectroscopy Coupled with Chemometric Analysis. *International Journal of Chemical, Material and Environmental Research* 2015, 2 (4): 1-7.

9. Bassbasi, M, De Luca, M, Souhassou, S, **Hirri A**, Berkani, M, Kzaiber, F, Ioele, G, Ragno, G, and Oussama, A. Determination of Milk Adulteration by Sucrose Using FT-MIR Spectroscopy and Chemometrics Methods. Agricultural Science Research Journal 4(11); pp. 175- 180, November 2014.

❖ **Communications :**

➤ **Communications Orales :**

1. **Hirri A**, Bassbasi M and Oussama A. Development and application of a method of analysis data for the quality control of lubricating oils SAE 30 of gear and machines in OCP. La 2^{ème} rencontre internationale sur la chimiométrie (RICH2), Marrakech, le 08 et 09 Octobre 2012.
2. **Hirri A**, Bassbasi M, Kzaiber F and Oussama A. Prediction of oil content in olive fruit using Fourier transformed infrared spectroscopy FT-IR coupled with partial least squares regression. 1^{ère} rencontre internationale de chimie moléculaire, chimiométrie et applications (RICMCA), Beni Mellal, le 29 et 30 Mai 2014.
3. **Hirri A**, Bassbasi M, Platikanov S, Tauler R and Oussama A. Classification of virgin olive oil samples quality by infrared spectroscopy and chemometric methods. 2^{ème} édition des journées doctoriales (JDoc'15), Beni Mellal, le 26 au 28 Mars 2015.

➤ **Communications par affiche :**

1. **Hirri A**, De luca M, Ioele G, Balouki A, El Bassbasi M, Kzaiber F, Oussama and Ragno G. Chemometric classification of citrus juices of moroccan cultivars by infrared spectroscopy. 1^{ère} rencontre internationale de chimie moléculaire, chimiométrie et applications (RICMCA), Beni Mellal, le 29 et 30 Mai 2014.
2. **Hirri A**, Bassbasi M and Oussama A. Classification and quality control of lubricating oils by infrared spectroscopy and chemometric. 1^{ère} rencontre internationale de chimie moléculaire, chimiométrie et applications (RICMCA), Beni Mellal, le 29 et 30 Mai 2014.
3. **Hirri A**, Bouli.M, and Oussama.A Five Moroccan cultivars have been discriminated by using Near Infrared (NIR) spectroscopy coupled with chemometric Analysis of

- olives leaves. 1^{ère} rencontre internationale de chimie moléculaire, chimiométrie et applications (RICMCA), Beni Mellal, le 29 et 30 Mai 2014.
4. **Hirri A**, Bassbasi M, Platikanov S, Tauler R and Oussama A. Quality evaluation of virgin olive oils by using mid-infrared spectroscopy coupled with chemometric methods. 1^{ère} édition des journées doctoriales (JDoc'14), Beni Mellal, le 10 au 11 Juin 2014.
 5. **Hirri A**, M. Bassbasi, S. Souhassou, F. Kzaiber, and A. Oussama. Prediction of polyphenol fraction in virgin olive oil using fourier transformed infrared spectroscopy FTIR coupled with partial least squares regression. 1^{ère} édition des journées doctoriales (JDoc'14), Beni Mellal, le 10 au 11 Juin 2014.
 6. **Hirri A**, Bassbasi M, Kzaiber F, Souhassou S and Oussama A. Développement et application d'une method d'analyse de données rapide et non polluante base sur la spectroscopie MIR et la chimiométrie pour la détermination de la teneur en huile dans les fruits d'oliviers avant la récolte. 1^{ère} édition des journées de l'environnement. Beni Mellal le 5 Juin 2014.

Résumé

La qualité d'huile d'olive a souvent été déterminée en employant des méthodes de dosages classiques, généralement très spécifiques dans l'industrie (indice d'acide, indice de peroxyde, polyphénols...). Ces méthodes de dosage classiques sont en général longues, nécessitent parfois l'utilisation de réactifs onéreux et polluants, et ne sont utilisables que par des opérateurs qualifiés.

Il est nécessaire de faire appel à de nouvelles méthodes d'analyse développées pour évaluer la qualité des huiles d'olives vierges. Ces méthodes devront être rapides, précises et leurs limites de quantification devront être suffisamment faibles pour répondre aux différentes normes.

L'étude quantitative faite sur les fruits d'oliviers montre que la spectroscopie FT-MIR couplée à la PLS, est une méthode adéquate, moins coûteuse, non polluante et rapide pour la quantification précoce de la teneur en huile, et de grande importance pour évaluer la période de récolte. Globalement, la performance du modèle PLS préétabli était très reproductible et robuste.

Egalement, l'application des modèles de discrimination, obtenus à partir des données spectrales FT-MIR et l'analyse discriminante au sens des moindres carrés partiels (PLS-DA) ont permis de classer les échantillons des huiles d'olives vierges en quatre catégories de qualité. Les meilleurs modèles discriminants entre les échantillons des huiles, en fonction de leur qualité, ont été choisis en se basant sur le taux de classification de chaque modèle estimé. Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par l'analyse physico-chimique classique. Par conséquent, la technique infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) constitue une méthode rapide et directe pour déterminer la qualité des huiles, ainsi que pour prédire leur qualité.

Dans le même objectif, une nouvelle procédure a été appliquée, en utilisant la FT-MIR couplée à la méthode de regression des moindres carrés partiels (PLS) pour la prédiction de la teneur en polyphénols totaux dans les huiles d'olives vierges. Les résultats de la prédiction ont donné de bonnes estimations du taux de polyphénols, avec des erreurs relatives et une limite de détection, qui sont satisfaisantes.

En fin la FT-MIR en combinaison avec la chimiométrie peut être utilisée pour détecter et quantifier l'adultération de l'huile d'olive extra vierge avec une huile d'olive de mauvaise qualité. Le niveau d'adultérant a été déterminé avec succès à l'aide des modèles étalonnages PLS et PCR.

Mots Clés : Spectroscopie infrarouge, authentification, teneur en huile, fruit d'olivier, huile d'olive vierge, catégories de qualité, polyphénols totaux, adultération, méthodes chimiométriques (PLS, PCR, PLS-DA).

Abstract

The quality of olive oil has often been determined using methods of standard assays, generally very specific in the industry (Acid value, peroxide value, polyphenols ...). In general, the main disadvantage of all these methods are that they are time consuming, expensive, generally destructive of the sample material, and require a high degree of technical knowledge when interpreting the data.

It is necessary to use new analytical methods to evaluate the quality of olive oil. These methods must be fast, accurate and their limits of quantification must be low enough to meet different standards.

The quantitative study on the olive fruit shows that the FT-MIR spectroscopy coupled with the PLS is an adequate method, less expensive, clean and fast for early quantification of the oil content, and of high importance to evaluate harvest period. Overall, the performance of pre PLS model was very reproducible and robust.

Thus, the application of discrimination model obtained from spectral data and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were used to classify the samples of virgin olive oils in four quality categories. The best discriminant models between samples oils, according to their quality, were selected based on the higher classification of each estimated model. The results are similar to those obtained by traditional physicochemical determination. Therefore, the technical infrared Fourier transform (FTIR) is a quick and direct method for determining the quality of oil, as well as predict their quality class.

In the same objective, a new procedure was applied, using the FT-MIR coupled with the regression method partial least squares (PLS) to predict the total polyphenol content in virgin olive oils. The results of the prediction gave good Estimates of polyphenol content, with relative errors and a limit of detection, which are satisfactory.

In the end the FT-MIR in combination with chemometrics can be used to detect and quantify adulteration of extra virgin olive oil with olive oil of lower quality. The level of adulterant was successfully determined using PCR and PLS calibrations models.

Keywords : infrared spectroscopy, authentication, oil content, olive fruit, virgin olive oil, quality categories, total polyphenols, adulteration, chemometric methods (PLS, PCR, PLS-DA).

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
R ²	: Coefficient de détermination
R ² _p	: Coefficient de détermination de prédiction
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 I.I. 1: Nomenclature des principaux acides gras.....	28
Tableau I.I. 2: Caractéristiques et limites prévues par la norme commerciale internationale applicable aux huiles d'olive et grignons d'olive.....	38
Tableau II.I. 1: Paramètres statistiques obtenus par PLS modélisations lors de la calibration.....	85
Tableau II.I. 2: Paramètres statistiques obtenus par modélisation PLS de la teneur en huile lors de la validation externe.....	87
Tableau II.I. 3: Paramètres statistiques obtenu par modélisations PLS des données MIR dans la gamme spectrale de 3033-2400, 2300-600 cm^{-1} avec un prétraitement de normalisation. ..	88
Tableau II.I. 4: Comparaison des valeurs de références vs prédites des modèles de tests de validation externe.	90
Tableau II.II. 1: Catégorie de qualité des différents échantillons.....	105
Tableau II.II. 2: Paramètres statistiques obtenus par application de la PLS-DA.....	110
Tableau II.II. 3: Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA.....	112
Tableau II.II. 4: Classification de nouveaux échantillons d'huile (validation externe).....	113
Tableau II.III. 1: Paramètres statistiques obtenu par modélisations PLS lors de la calibration.....	124
Tableau II.III.2: Paramètres statistiques obtenus par modélisations PLS des polyphénols totaux, lors de la validation externe.....	126
Tableau II.III. 3: Comparaison des valeurs de références vs prédites du modèle de test de validation externe.	128
Tableau II.IV. 1: Analyses physico-chimiques	135
Tableau II.IV. 2: Calibration multivariée pour déterminer la teneur en EVOO adultérés avec de l'huile LVOO à des fréquences de 3100 à 600 cm^{-1}	138
Tableau II.IV. 3: Paramètres statistiques obtenus par validation externe sur PLS et PCR ...	139
Tableau II.IV. 4: Estimation d'adultération d'EVOO par validation externe.	140

Liste des Figures

Figure I.I. 1 triglycéride.....	26
Figure I.I. 2 : Représentation des acides gras	27
Figure I.I. 3: Structure des doubles liaisons cis et trans.	28
Figure I.I. 4: Composition physique de l'olive.....	32
Figure I.I. 5: Composition chimique du fruit d'olivier (Ghanam, et al.2012).	33
Figure I.II. 1: Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique.....	46
Figure I.II. 2 : Modes de vibrations moléculaires.....	49
Figure I.II. 3: Schéma de fonctionnement d'un spectromètre infrarouge « classique ».....	54
Figure I.II. 4: Schéma d'un spectromètre avec interféromètre de Michelson	56
Figure I.II. 5: Principe de la réflexion totale atténuée (ATR) sur diamant.....	57
Figure I.II. 6: Graphique d'un Dendrogramme.	65
Figure I.II. 7 : Les différentes étapes d'une application analytique.	69
Figure II.I. 1: Spectre moyen infra rouge du fruit d'olivier dans la gamme spectrale 4000-600 cm ⁻¹	83
Figure II.I. 2: valeurs de référence vs prédites du rendement d'huile dans l'étape de calibration (bleu) et dans l'étape de validation croisée (rouge) ; quand PLS est appliquée sur les données spectrales normalisées dans la zone 3033-2400 cm ⁻¹ , 2300-600 cm ⁻¹	86
Figure II.I. 3: Valeur de référence vs prédites de la teneur en huile dans le fruit d'olivier à l'étape de validation externe (Val 1).	89
Figure II.I. 4: Valeur de référence vs prédites de la teneur en huile dans le fruit d'olivier à l'étape de validation externe (Val 2).	89
Figure II.I. 5: Valeur de référence vs prédites de la teneur en huile dans le fruit d'olivier à l'étape de validation externe (Val 2).	89
Figure II.II. 1: Indice d'acidité pour les différents échantillons.	101
Figure II.II. 2: Indice de peroxyde pour les différents échantillons.	102
Figure II.II. 3: Coefficients K232, K270 et ΔK pour les différents échantillons.....	103
Figure II.II. 4: Teneur en polyphénols totaux de tous des échantillons.....	104
Figure II.II. 5: Spectres moyens infrarouge des échantillons d'huile d'olive vierge dans la gamme spectrale 4000-600 cm ⁻¹	106
Figure II.II. 6: Plot des scores (PC1 vs PC2) d'analyses ACP des caractéristiques physicochimiques des huiles.	107
Figure II.II. 7: Graphique de biplot	108
Figure II.II. 8: Plot des scores en deux dimensions.....	108
Figure II.II. 9: Courbe de variance résiduelle du modèle ACP.	109
Figure II.II. 10: PLS-DA plot des scores des échantillons d'huile d'olive de différentes catégories.....	110
Figure II.II. 11: Plot des scores LV1 vs LV2 de projection des échantillons.....	111
Figure II.III. 1: Spectre moyen infrarouge d'huile d'olive vierge dans la gamme spectrale 4000-600 cm ⁻¹	122

Figure II.III. 2: ACP effectuée sur les spectres d'absorption de tous les échantillons d'huile d'olive. PC-1 = composante principale 1, PC-2 = composante principale 2.....	123
Figure II.III. 3: Valeur de référence vs prédites des polyphénols totaux dans l'étape de calibration (bleu) et dans l'étape de validation croisée (rouge).....	125
Figure II.III. 4: Valeur de référence vs prédites des polyphénols totaux dans l'étape de validation externe.	127
Figure II.IV. 1: Spectres FTIR des deux échantillons d'huile d'olive vierge (lampante et extra vierge) dans la gamme spectrale de 4000 à 600 cm ⁻¹	136
Figure II.IV. 2: Graphique des scores (VL1 vs VL2) de l'analyse des données spectrales FTIR par la PLS2-DA.	137
Figure II.IV. 3: Les modèles de calibration de la PLS (A) et la PCR (B) de la relation entre valeur de référence vs prédites d'EVOO adultérés avec LVOO sur les données spectrales dérivée dans la zone 3100-600cm ⁻¹	139

SOMMAIRE

RESUME	6
ABSTRACT	8
LISTE DES ABREVIATIONS	10
LISTE DES FIGURES	12
INTRODUCTION GENERALE	18
PARTIE I: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	23
Chapitre 1 : Généralités sur l'olive et huile d'olive.....	24
I. Introduction	24
II. Généralités sur les huiles	25
1. Définitions et présentation	25
2. Classification des huiles et des graisses	25
3. Composition générale des huiles végétales	26
3.1- Acides gras.....	26
3.1.1- Nomenclature des acides gras.....	26
3.1.2- Classification des acides gras	29
3.2- Constituants mineurs	30
III. Olive et huile d'olive	31
1. Oléiculture au Maroc	31
2. Fruit d'olivier : l'olive.....	32
2.1- Définition et caractéristiques.....	32
2.2- Variétés	33
3. Huile d'olive	35
3.1- Définition	35
3.2- Techniques de transformation de l'olive à l'huile	36
3.2.1- Récolte des olives	36
3.2.2- Lavage, broyage et malaxage.....	36
3.2.3- Séparation Solide-liquide.....	36
3.2.4- Séparation huile-eau	37
3.2.5- Stockage.....	37
3.3- Critères de qualité des huiles d'olives	37
3.4- Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive	38
IV. Bilan.....	40
V. Références	41
Chapitre 2 : La spectroscopie infrarouge et la chimiométrie.....	44
I. Introduction	44
II. Spectroscopie infrarouge	45
1. Historique	45
2. Domaine infrarouge et interaction	46
3. Principe de la spectroscopie Infrarouge	46
4. Vibration des molécules.....	47
4.1- Modèle diatomique	49
4.2- Modèle poly-atomique	50

5.	Spectroscopie Moyen Infrarouge	50
5.1-	Interprétation d'un spectre moyen infrarouge	51
5.2-	Avantages et inconvénients de l'analyse MIR	52
6.	Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR).....	53
6.1-	Spectromètre dispersif.....	53
6.2-	Spectromètre non dispersif.....	54
6.2.1-	Description d'un spectromètre FT-IR.....	54
6.2.2-	Fonctionnement du spectromètre FT-IR.....	55
6.3-	Avantages des instruments à TF par rapport aux spectromètres dispersifs.	56
6.4-	Réflexion totale atténuée (ATR)	57
7.	Analyse des données infrarouge.....	58
III.	Chimiométrie	59
1.	Prétraitements mathématiques appliqués aux spectres	59
1.1-	Données centrées.....	60
1.2-	Données centrées normées (ou centrées réduites)	60
1.3-	Centrage par colonne.....	60
1.4-	Centrage par ligne	60
1.5-	Dérivée	61
1.6-	Correction Multiplicative de diffusion (MSC)	61
1.7-	Déviation Normale Standardisée « Standard Normal Variate : SNV »	61
2.	Méthodes chimiométriques appliquées	62
2.1-	Méthodes exploratoires (non supervisées).....	62
2.1.1-	Analyse en Composantes Principales : ACP.....	63
2.1.2-	Classification hiérarchique (HCA) : Analyse de regroupement.....	64
2.2-	Méthodes prédictives (supervisées)	65
2.2.1-	Régression en composantes principales (PCR).....	65
2.2.2-	Régression des moindres carrés partiels (Partial Least Squares : PLS)	66
2.2.3-	Partial least square discriminante (PLS-DA).....	67
3.	Développement d'une méthode d'analyse	68
4.	Paramètres d'évaluation de la qualité des modèles	69
4.1.	Modèle de calibration	69
4.2.	Validation croisée totale	70
4.3.	Validation externe	71
5.	Logiciels de traitement des données spectrales.....	72
6.	Spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques et leurs applications. .	72
IV.	Conclusion	74
V.	Références	75

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE.....79

Chapitre 1 : Détermination de la teneur en huile dans les olives par spectroscopie moyen infrarouge couplée avec la PLS..... 80

I.	Introduction	80
II.	Matériels et méthodes.....	81
1.	Echantillonnage.....	81
2.	Analyses des échantillons par moyen infrarouge (MIR).....	81
3.	Extraction d'huile par méthode de référence	82
4.	Méthodes chimiométriques appliquées	82
4.1-	Regression des moindres carrés partiels (PLS)	82

4.2- Paramètres statistiques	83
4.3- Logiciels.....	83
III. Résultats et discussions.....	83
1. Acquisition des spectres MIR	83
2. Elaboration du modèle de calibration	84
3. Validation externe : détermination de la teneur en huile pour des nouveaux échantillons. ..	87
IV. Conclusion	90
V. Références	92

Chapitre 2 : Classification et contrôle de qualité d'huile d'olive vierge de la Picholine Marocaine par utilisation de la spectroscopie infrarouge et les méthodes chimiométriques. 94

I. Introduction :	94
II. Matériels et méthodes.....	95
1. Echantillonnage.....	95
2. Méthodes analytiques.....	95
2.1. Analyses physico-chimiques des huiles.	95
2.1.1- Détermination de l'indice d'acidité.	95
2.1.2-Détermination de l'indice de peroxyde (Ip).....	96
2.1.3- Analyse spectrophotométrique dans l'Ultraviolet.....	97
2.1.4- Dosage des polyphénols totaux.....	99
2.2-Instrumentation moyen infrarouge.	99
2.3- Méthodes chimiométriques appliqués.	100
2.3.1- Analyse en composantes principales	100
2.3.2- Analyse discriminante PLS-DA.....	101
III. Résultats et discussions.....	101
1. Evaluation des analyses des huiles.....	101
1.1-Indice d'acidité.....	101
1.2-Indice de peroxyde	102
1.3-Coefficients d'extinction K_{232} , K_{270} et ΔK	103
1.4-Polyphénols totaux.....	104
1.5-Bilan des analyses analytiques	104
2. Acquisition des Spectres Moyen Infrarouge.	105
3. Evaluation chimiométrique	107
3.1- Analyse exploratoire des données	107
3.1.1- Application de l'ACP sur les caractéristiques physico-chimiques.....	107
3.1.2- Application de l'ACP sur les spectres Infrarouge.....	108
3.2-Régression des moindres carrés partiels Discriminants (PLS-DA).....	109
3.2.1- Elaboration du modèle PLS-DA.	109
3.2.2- Validation externe : Classification des nouveaux échantillons.....	111
IV. Conclusion	114
V. Références	115

Chapitre 3 : Analyse de données basée sur la spectroscopie FTIR couplée à la PLS pour la prédiction de la fraction phénolique dans les huiles d'olives vierges..... 118

I. Introduction	118
II. Méthodes et matériels.....	119
1. Echantillonnage.....	119
2. Analyses en moyen infra rouge (MIR).....	119

3.	Analyses par méthode de référence.....	120
4.	Méthodes chimiométriques appliquées	120
a.	Analyse en composantes principales (ACP)	120
b.	Régression des moindres carrés partiels (PLS).....	121
c.	Paramètres statistiques	121
d.	Logiciel.....	122
III.	Résultats et discussions	122
1.	Acquisition des spectres MIR	122
2.	Application de l'analyse en composantes principales (ACP).....	123
3.	Analyse quantitative des polyphénols totaux	124
3.1-	Elaboration des modèles de calibration.....	124
3.2-	Validation externe	126
IV.	Conclusion	129
V.	Références	130

Chapitre 4 : Détection et estimation d'adultération d'huile d'olive extra vierge avec une huile d'olive de mauvaise qualité..... 132

I.	Introduction	132
II.	Méthodes et matériels.....	133
1.	Préparation des échantillons.....	133
2.	Analyses physico-chimiques	134
3.	Spectroscopie Infrarouge	134
4.	Méthodes chimiométriques appliquées	134
III.	Résultats et discussion	135
1.	Evaluation physico-chimique.....	135
2.	Acquisition des spectres MIR	135
3.	Classification.....	137
4.	Quantification	137
4.1-	Etape de calibration.....	138
4.2-	Etape de validation externe	139
IV.	Conclusion	141
V.	Références.....	142

CONCLUSION GÉNÉRALE 144

Introduction Générale

L'huile d'olive vierge est le jus d'olive qui est récolté à maturité optimale et correctement traitée. C'est une huile de haute valeur qui est pratiquement la seule huile végétale qui peut être consommée directement en l'état, appréciée pour sa saveur et ses caractéristiques nutraceutiques (de santé) [1]. L'huile d'olive vierge est obtenue directement des olives par des procédés mécaniques dans des conditions thermiques qui ne provoquent aucune altération de sa qualité. Les seuls traitements autorisés sont le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. Cette façon d'extraction protège l'huile de toutes les dégradations et préserve ses composants mineurs qui contribuent significativement à sa qualité et à sa bonne conservation. Tout mélange avec des huiles d'autres natures est exclu. Les paramètres de qualité et d'authenticité de l'huile d'olive sont influençables par plusieurs facteurs, à savoir : la variété, l'environnement, les techniques culturales et la technologie d'extraction. Toutefois, l'influence du facteur variétal reste la plus importante sur la qualité et la composition chimique des huiles d'olive produites sous des conditions adéquates de production et de trituration.

Les problèmes d'authenticité dans la filière agroalimentaire ne sont pas récents et remontent même aux civilisations grecque et romaine [2]. L'authenticité d'un produit peut être définie par sa conformité à sa définition.

Lorsqu'on prend le cas des produits agroalimentaires, plusieurs problématiques d'authenticité se posent : la conformité concernant l'espèce ou la variété du produit, ainsi que le contenu présumé. Il est à noter également, la conformité des produits par rapport à leurs origines naturelles ou artificielles, à leurs modes de production (sauvage ou élevé). Enfin, la conformité à l'origine géographique, ainsi que le millésime de production [3]. La raison majeure de la fraude alimentaire est économique. Il s'agit d'engendrer des gains élevés avec des produits de moins qualité.

Pour protéger les consommateurs vis-à-vis des problèmes de fraudes et d'authenticité, la réglementation en industrie agroalimentaire évolue en continuité [4]. En général, les textes réglementaires viennent pour garantir aux consommateurs la sincérité de l'information en termes de la dénomination, caractéristiques intrinsèques et l'origine des produits. Les autorités chargées de droits des consommateurs utilisent en général, des méthodes de contrôle qui sont adaptés aux produits et aux paramètres à contrôler, pour prévoir et détecter toute sorte de fraudes.

Comme dans toutes les industries agroalimentaires, une grande partie du contrôle de la qualité d'huile d'olive vierge repose sur des analyses biochimiques et physiques. La qualité d'huile d'olive a souvent été déterminée en employant des méthodes de dosages classiques, généralement très spécifiques dans l'industrie (indice d'acide, indice de peroxyde, polyphénols...). Ces méthodes de dosage classiques sont en général longues, nécessitent parfois l'utilisation de réactifs onéreux et polluants, et ne sont utilisables que par des opérateurs qualifiés [5].

L'agroalimentaire est un champ d'applications où la vision par ordinateur est en plein essor. En effet, être en mesure d'analyser précisément, de manière presque instantanée, et surtout de façon non destructrice la qualité d'un aliment transformé ou non, est un atout considérable. Non seulement les coûts sont réduits (il n'y a aucune perte ni transformation du produit), mais cela permet de faire une analyse en continu. Cette précision combinée à la rapidité de traitement permet d'atteindre les standards de production toujours plus hauts et ainsi une qualité toujours meilleure des aliments [6].

La spectroscopie infrarouge (IR-TF) est une méthode directe, fiable et rapide qui permet d'obtenir des informations spécifiques sur différents paramètres simultanément, principalement dans la région spectrale 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} (région MIR) puisque les bandes d'absorption y sont associées aux vibrations des groupes fonctionnels des molécules [7].

Ainsi, on voit que la spectroscopie MIR est probablement, par le nombre et la diversité de ses applications analytiques, la méthode instrumentale la mieux adaptée à l'analyse et à la caractérisation des produits agroalimentaires. Sur le plan fondamental, une raison de son efficacité est la nature de l'information spectrale qu'elle permet d'acquérir. Les spectres MIR sont très riches en informations sur la composition des denrées agroalimentaires et sur la conformation des molécules biologiques, même très complexes [5].

Les méthodes spectroscopiques sont largement utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative de composés de produits agroalimentaires [5,8]. En général, quand les signaux sont bien définis et non superposés, on peut à partir de l'intensité du signal calculer une concentration. Cependant, lors de l'analyse de matrices complexes, les signaux ne sont pas toujours bien séparés. Il n'est donc pas évident d'identifier et de quantifier les différents composants. Afin de rester dans l'objectif premier de l'analyse spectrale, qui est d'obtenir un

résultat d'analyse rapide sur différents paramètres, il est alors nécessaire d'utiliser des méthodes de traitement mathématiques et statistiques de données.

La chimiométrie est l'application des outils mathématiques, en particulier statistiques, pour optimiser les procédures d'obtention et de traitement de données de la chimie analytique, afin d'en extraire le maximum d'informations pertinentes. Cette science fait l'objet de nombreuses revues générales [9-10]. Elle a trois objectifs principaux [5]. Le premier est la description des données sous forme synthétique, c'est le cas des statistiques élémentaires ou des méthodes descriptives comme l'analyse en composantes principales (ACP). Le second objectif est la prédiction soit de valeurs continues comme avec la régression PLS, soit de classe comme avec une analyse discriminante. Enfin, son dernier objectif, est la planification des expériences pour en tirer le meilleur parti.

L'application de la spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques ne concerne pas que la matière première, mais elle a pris une place considérable dans les systèmes de productions pour caractériser le produit fini ou pour analyse en ligne de sa production. Bassbasi et al [11] ont exploité la spectroscopie moyenne infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques pour déterminer quantitativement la matière sèche dégraissée (ESD) du lait, en arrivant à des résultats comparables aux valeurs obtenus par les méthodes analytiques. Plusieurs études ont montré que le couplage de la spectroscopie proche infrarouge (SPIR) ou la spectroscopie moyenne infrarouge (SMIR) avec la chimiométrie est très exploité dans l'industrie agro-alimentaire. Cette combinaison est utile pour l'évaluation quantitative de l'altération des huiles d'olive vierges avec d'autres huiles végétales [12,13] ou le contrôle de qualité des huiles lubrifiantes [14].

L'ensemble des travaux présentés dans ce mémoire permettra de développer d'autres applications de la spectroscopie moyenne infrarouge couplée à la chimiométrie dans le secteur oléicole. La diversité des objectifs analytiques à atteindre et des structures de données complexes ont ainsi permis de développer, de modifier et d'appliquer de nombreuses méthodes chimiométriques. Dans le même sens, l'essentiel de notre travail consiste à étudier certains aspects du contrôle qualité des huiles d'olive vierges par application de la spectroscopie moyenne infrarouge (SMIR) combinée aux méthodes chimiométriques, dans le but d'élaborer des méthodes alternatives aux méthodes classiques qui sont coûteuses et demandent de grands niveaux de technicité.

Ainsi ce travail vise quatre objectifs majeurs. Le premier consiste à développer une nouvelle méthode d'analyse de données pour déterminer la teneur en huile dans les fruits d'oliviers avant la récolte. Le second, est de développer de nouvelles applications de la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (SMIR-TF) pour une qualification simple et rapide d'huile d'olive vierge dans la région de Beni Mellal. Le troisième consiste à développer de nouvelles méthodes, basées sur la SMIR et la chimiométrie, pour étudier quantitativement les polyphénols totaux d'huile d'olive vierge et le quatrième consiste à détecter et estimer l'adultération d'huile d'olive extra vierge avec une huile d'olive de qualité inférieure.

Ce 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 le fruit d'olivier et l'huile d'olive. Dans le second chapitre, nous rappelons d'une manière générale les principes de la spectroscopie infrarouge, la chimiométrie et leurs applications.

La seconde partie est divisée en quatre chapitres et traite les résultats d'application de la méthode de combinaison de la spectroscopie MIR avec les méthodes chimiométriques pour le contrôle de qualité d'huile d'olive vierge. Le premier chapitre détaille la nouvelle méthode basée sur la spectroscopie moyen infrarouge et la PLS1 pour déterminer le rendement précoce d'huile dans les fruits d'oliviers. Le second chapitre met en évidence l'utilité de combiner la SMIR et les méthodes chimiométriques pour la classification de quatre catégories de qualité d'huile d'olive vierge de la picholine marocaine. Le troisième chapitre traitera une autre application de la spectroscopie MIR avec la PLS1 pour déterminer quantitativement les polyphénols totaux d'huile d'olive. La détection et l'estimation d'adultération d'huile d'olive de la catégorie extra vierge avec une huile de catégorie vierge lampante, par SMIR et méthodes chimiométriques (PLS et PCR) sera présentée dans le quatrième chapitre.

Références

- [1] Boscou D. 1996 Olive Oil Composition. In Olive Oil: Chemistry and Technology. AOACS Press, USA, 52-83, 85-127.
- [2] Lees M. Food Authenticity : Issues and méthodologies, Eurofins Scientific Laboratoires, Nantes, (1999) 311.
- [3] Cuny M. Authenticité des produits agroalimentaires par spectroscopie RMN ¹H et outils chimiométriques : Application aux jus de fruit, yaourts et vinaigres. *These de doctorat*, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), 2008.
- [4] Décret n°2-12-389 du 11 Joumada II 1434 (22 avril 2013) fixant les conditions et les modalités d'étiquetage des produits alimentaires, *Bulletin officiel* n°6152 (2013).
- [5] Bertrand D and Dufour E. *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, (TEC&DOC, Paris, (2006) 566-570.
- [6] Girod D. Détermination de la maturité des avocats « hass » par imagerie hyperspectrale, Thèse de doctorat, l'école de technologie supérieure, Montréal. 2008, 172 pages.
- [7] Karoui R., Dufour E., Pillonel L., Schaller E., Picque D., Cattenoz T., & Bosset J. O. The potential of combined infrared and fluorescence spectroscopies as a method of determination of the geographic origin of Emmental cheeses. *International Dairy Journal*. 2005B, 15, p: 287-298.
- [8] Wilson R. H. Spectroscopic techniques for food analysis, pp. 246 (VCH, New York, 1994).
- [9] Brereton R. G. Chemometrics applications of mathematics and statistics to laboratory systems, pp. 307 (Ellis Horwood, Chichester, 1990).
- [10] Sharaf M. A., Illman, D. L. & Kowalski, B. R. Chemometrics, pp. 352 (Wiley, New York, 1986).
- [11] Bassbasi M., Platikanov S., Tauler R and Oussama A. FTIR-ATR Determination of Solid Non Fat (SNF) in raw milk using PLS and SVM chemometric methods. *Food Chemistry*, 146 (2014) 250-254.
- [12] Gurdeniz G and Ozen B. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chemistry*, 116 (2009) 519-525.
- [13] Oussama A., Elabadi A., Stefan P., Kzaiber F., Tauler R. Detection of Olive Oil Adulteration Using FT-IR Spectroscopy and PLS with Variable Importance of Projection (VIP) Scores *J Am Oil Chem Soc* (2012) 89:1807–1812.
- [14] Hirri A., Bassbasi M and Oussama A. Classification and quality control of lubricating oils by infrared spectroscopy and chemometric. *International Journal of Advanced Technology and Engineering Research*, 3 (2013) 59-62.

Partie I : Etude Bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur l'olive et huile d'olive

I. Introduction

Les huiles végétales ont toujours constitué une part importante de l'alimentation humaine [1]. Elles offrent un large choix tant au niveau du goût, de l'utilisation, du prix, que de la qualité. Quelle que soit l'huile, la teneur lipidique reste identique. La différence entre les diverses huiles réside dans la qualité des acides gras qui les composent. Selon leur nature, elles sont plus ou moins riches en certains acides gras polyinsaturés qui sont dits "essentiels" car notre organisme ne peut pas les synthétiser. Elles constituent également la meilleure source de vitamine E connue pour ses propriétés antioxydantes [2-3].

Une huile végétale renferme en général plus de 99 % de lipides. Ni glucides, ni protides, très peu ou pas de cholestérol. Elles possèdent donc toute la même valeur énergétique. Là où elles diffèrent, c'est dans leur composition en acides gras et quelques vitamines et antioxydants liposolubles.

L'huile d'olive est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable. Elle est le principal produit de l'olivier. Le conseil oléicole international a défini l'huile d'olive comme l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier à l'exclusion des huiles obtenues par extraction par des solvants ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autres natures [4].

L'huile d'olive est riche en micronutriments bénéfiques pour la santé et c'est grâce à ces micronutriments que cette huile est connue par son rôle préventif des maladies cardiovasculaires et du cancer. Elle est tout à la fois un médicament, un cosmétique et un aliment.

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

II. Généralités sur les huiles

1. Définitions et présentation

Les lipides sont les nutriments constitutifs des corps gras : huiles, graisses animales ou végétales. Ils sont formés pour la plupart de squelettes de carbone qui sont les acides gras [5].

Les lipides constituent un groupe de nutriments hétérogènes. Ils diffèrent entre eux par :

- La longueur du squelette: chaîne courte, moyenne ou longue;
- La structure de leurs acides gras: on distingue les acides gras saturés (AGS) pour lesquels toutes les liaisons entre les pièces du squelette sont fortes, et les acides gras insaturés (AGI) où il existe une ou plusieurs liaisons faibles se rompant facilement.

On trouve les acides gras dans l'alimentation sous forme libre ou sous forme complexe liés entre eux ou à d'autres nutriments (glucides, protéides...). Les principales sources de lipides sont:

- Les huiles végétales (arachide, olive, tournesol, maïs...) qui contiennent des AGS et des AGI à chaîne moyenne ou longue, en proportion variable selon l'origine;
- Les graisses végétales (palme, palmiste, coco) qui contiennent surtout des AGS à chaîne courte ou moyenne;
- Les graisses animales qui sont soit apparentes ou visibles (beurre, saindoux, suif), soit cachées ou invisibles (car faisant partie intégrante de la viande). Ces graisses animales contiennent surtout des AGS sous forme complexe.

Il existe d'autres types de lipides dont les plus connus : le cholestérol présent dans les graisses d'origine animale et que le foie est capable de synthétiser, les lécithines présentes en particulier dans le jaune d'œuf très utilisées dans l'industrie alimentaire.

2. Classification des huiles et des graisses

Uzzan, (1992) subdivise les huiles et les graisses alimentaires en plusieurs classes [6]:

- Huiles végétales fluides : huile d'arachide, de colza, de germe de maïs, de tournesol, de soja, et d'olive.
- Huiles végétales concrètes (graisses) : coprah (provenant de la noix de coco), huile de palme.
- Huiles et graisses d'origine animale : (animaux terrestres) : saindoux (graisse de porc), suif (graisse de bœuf ou de mouton), huile de cheval et graisse d'oie.
- Huiles et graisses d'animaux marins : mammifères marins (baleine), et de poissons (sardine, hareng, etc...).
- Corps gras élaborés : beurre et margarine.

3. Composition générale des huiles végétales

Les matières grasses végétales sont essentiellement constituées d'acides gras représentés par les triglycérides. A ces acides gras s'ajoutent d'autres constituants non glycéridiques encore appelés constituants mineurs et quelques substances antinutritives.

3.1- Acides gras

Les triglycérides représentent au moins 95% du poids des huiles ou graisses brutes et 98 % du poids des huiles ou graisses raffinées. Ces triglycérides résultent de la combinaison d'une molécule de trialcool (glycérol) avec trois molécules d'acides gras. Chaque molécule d'acides gras (R-COOH) possède une fonction acide (-COOH) qui peut réagir par estérification avec l'un des trois fonctions alcool (-OH) du glycérol pour former un triester (triglycéride) [7].

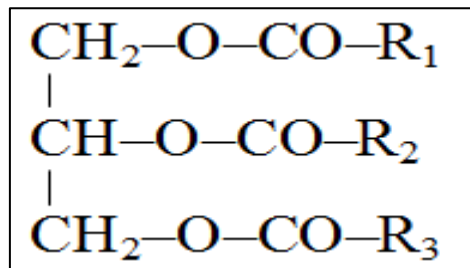


Figure I.I. 1 : Structure d'un triglycéride

Les radicaux R₁, R₂ et R₃ sont des chaînes carbonées linéaires.

3.1.1- 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 [8].

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 w6 (figure I.I.2).

Le tableau I.I.1 indique l'appellation courante (vulgaire), l'appellation en systématique chimique et l'abréviation de quelques acides gras alimentaires. 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- linoléique (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* (isomérisie géométrique) ou encore occuper une autre position sur la chaîne carbonée (isomérisie de position) (figure I.I.3).

La structure d'un acide gras *trans* est analogue à celle d'un acide gras saturé. Il en résulte que le point de fusion des acides gras *trans* est analogue à celui des acides gras saturés. L'isomérisie *trans* peut être considérée comme étant un intermédiaire entre un acide gras insaturé *cis* original et un acide gras complètement saturé.

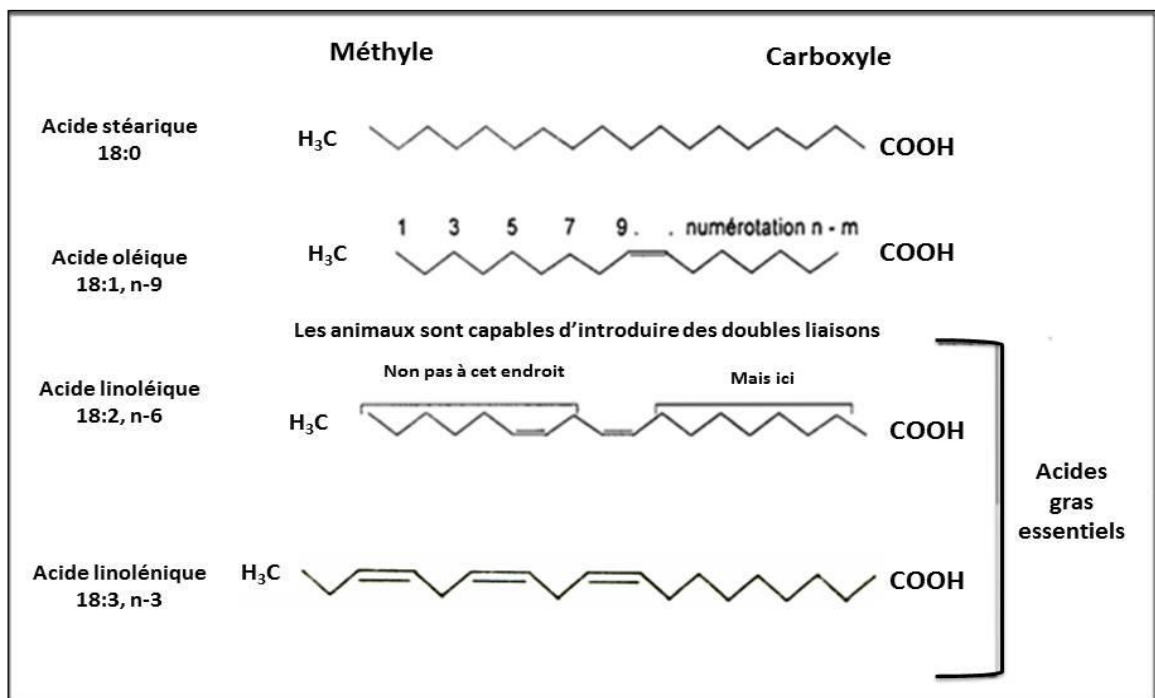


Figure I.I. 2 : Représentation des acides gras

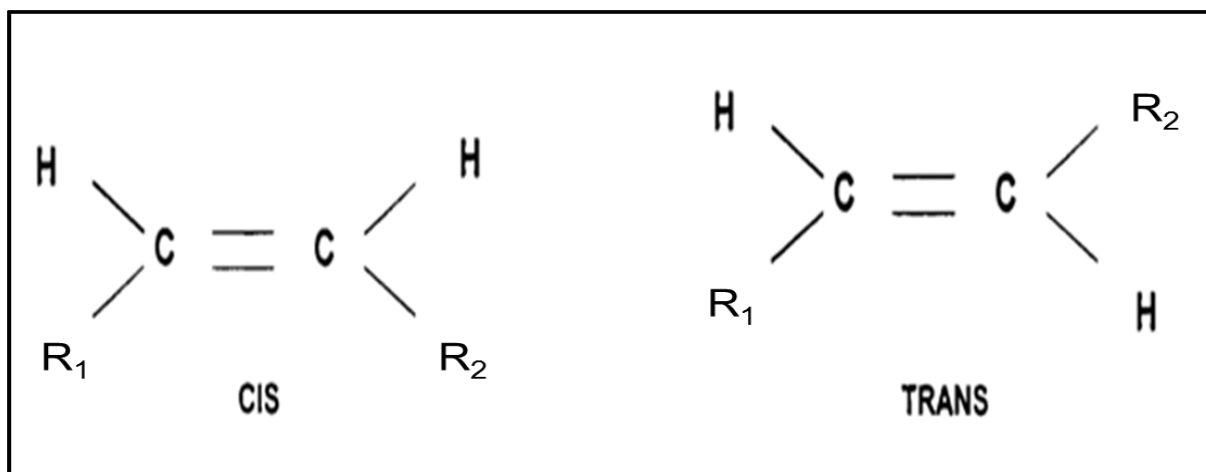


Figure I.I. 3: Structure des doubles liaisons cis et trans.

Tableau I.I. 1: 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	Caproïque	Décanoïque	10 : 0
12	0	Laurique	Dodécanoïque	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-7)
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	Docosanoïque	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.

3.1.2- 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 [8]:

➤ 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 8 atomes de carbone;
- Les acides à chaîne moyenne comportant 8 à 12 atomes de carbone;
- Les acides gras à chaîne longue comportant 14 à 18 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 :

1. Acides gras saturés (AGS).

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 (cophrah, palmiste).

2. Acides gras mono-insaturés (AGMI).

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.

3. Acides gras poly-insaturés (AGPI).

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 fabriquer. 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 ω 6, l'alimentation actuelle apparaît déficitaire en acide α -linoléique.

3.2- Constituants mineurs.

Outre les triglycérides, les lipides alimentaires contiennent une gamme de constituants qui sont importants pour le maintien de la santé. Ces constituants non glycéridiques des lipides, encore appelés constituants mineurs, ne sont mineurs que du point de vue de leurs concentrations par rapport aux triglycérides.

Ils sont de nature diverse et comprennent les phospholipides, les lipides complexes, et les constituants non glycéridiques tels que la vitamine E (α -tocophérol), les phytostérols (matières grasses végétales) ou le cholestérol (matière grasse d'origine animale), les caroténoïdes (β -carotène ou provitamine A), les phénols, ...etc.

4. Caractéristiques de quelques huiles.

Parmi les caractéristiques dépendant des acides gras contenus dans les lipides, nous citons [9-10]:

- 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.

III. Olive et huile d'olive

1. Oléiculture au Maroc

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 [11]. Avec une production nationale de 120 000 tonnes d'huile d'olive [12].

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 [12]. 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 [13].

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 [13].

2. Fruit d'olivier : l'olive

2.1- Définition et caractéristiques

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 [14] (figure I.I. 4).

La composition chimique moyenne de l'olive est la suivante (figure I.I.5) : l'eau, 50 % ; huiles 22 % ; polyphénols 1,5 % ; protéines 1,5 % ; sucres 18 % ; cellulose 5,5 % ; minéraux (cendres) 1,5 %. D'autres constituants importants sont les pectines, les acides organiques, les pigments et les glycosides de phénols [15].

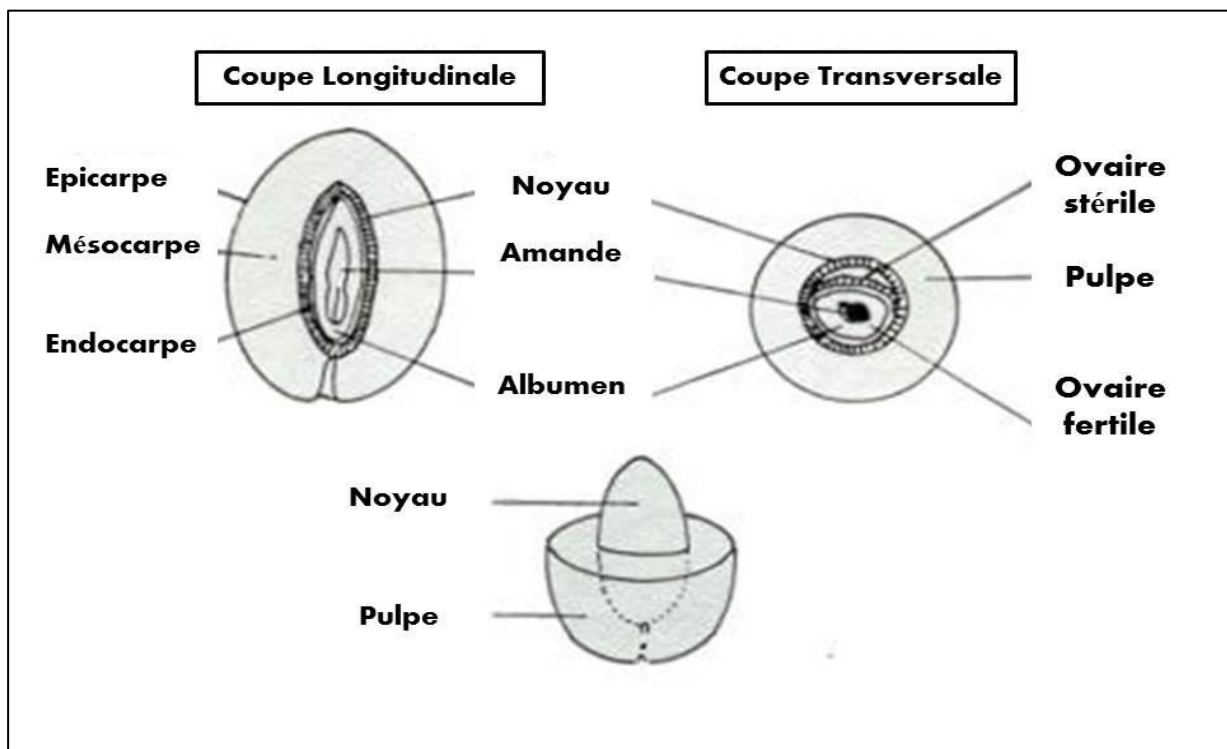


Figure I.I. 4: Composition physique de l'olive

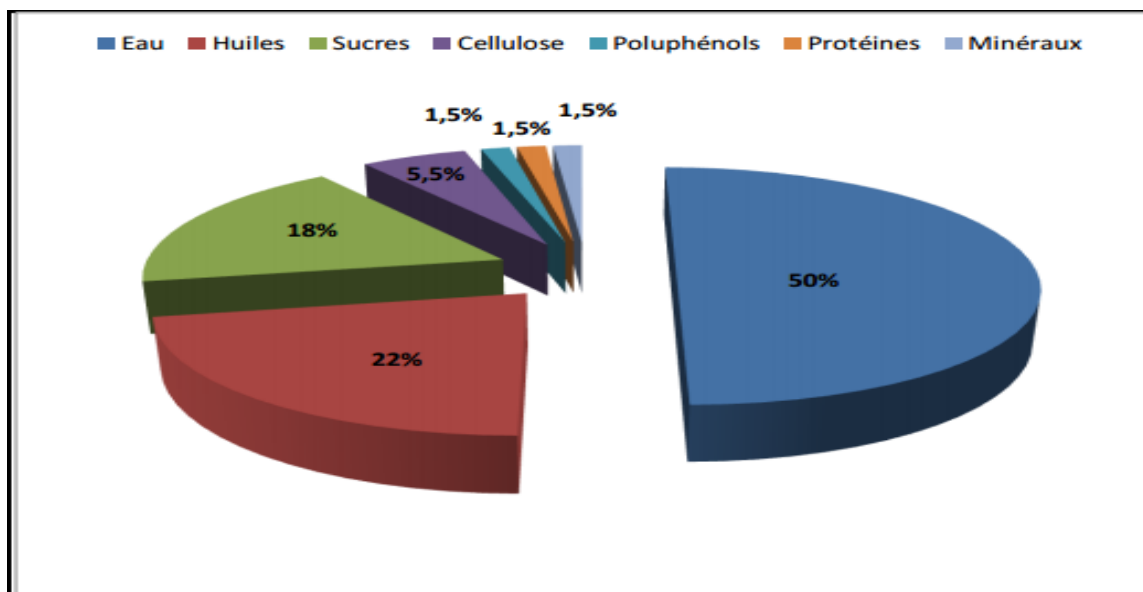


Figure I.I. 5: Composition chimique du fruit d'olivier (Ghanam, et al.2012).

2.2- Variétés

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 qui sont actuellement en cours de diffusion [16].

a. 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.

b. 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.

c. 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.

3. Huile d'olive

3.1- 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 [17] :

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 3,3g/100g 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 3,3g/100g 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.

3.2- 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.

3.2.1- Récolte des olives

La période de récolte des olives va de septembre à février en fonction de l'utilisation des olives (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 [18].

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.

3.2.2- Lavage, broyage et malaxage

Au plus tôt après la cueillette, les olives destinées à la fabrication de l'huile sont triées pour éliminer les brindilles et les feuilles, puis lavées à l'eau froide. Ensuite, les olives sont broyées immédiatement, pour éviter toute oxydation, avec les noyaux, qui contiennent un antioxydant, comme conservateur naturel. Le broyage peut être effectué avec des meules en pierre ou avec un broyeur métallique. Le broyage ne suffit pas à briser la totalité des vacuoles contenant l'huile. Pour libérer le maximum d'huile, un malaxage est appliqué à la pâte jusqu'à l'obtention d'une pâte onctueuse pour faciliter l'extraction [19-20].

Le broyage et le malaxage permettent d'obtenir une pâte qui contient de la matière solide (débris des noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires,...) et du fluide (huile et l'eau de végétation, c'est-à-dire l'eau contenue dans les cellules de l'olive) [21].

3.2.3- Séparation Solide-liquide

On peut exprimer l'huile soit par décantation soit par pression [22]. La décantation se fait dans un décanteur, cylindre métallique tournant à grande vitesse (4000 tours/minute), dans lequel les différents composants de la pâte se séparent en fonction de leur densité. L'huile, plus légère que l'eau et les matières solides, se recueille séparément des autres éléments au centre du cylindre. Le pressage est le procédé le plus ancien. La pâte est répartie sur des disques en fibre naturelle ou synthétique tressés appelés scourtins, qui servent à la fois

d'armature et de filtre lors de la pression. Une centaine de ces disques sont empilés pour être pressés. La partie liquide, constituée d'eau de végétation (margines), et d'huile, s'écoule, alors que la partie solide (noyaux et pulpe) reste entre les scourtins : c'est ce que l'on appelle le grignon. C'est durant ce processus que l'oleuropéine au goût amer est éliminée dans les eaux de végétation.

3.2.4- Séparation huile-eau

Le liquide obtenu à l'extraction est composé d'huile et d'eau. Il est entraîné dans un décanteur centrifuge qui va séparer l'huile, les déchets solides résiduels et la margine. Jadis, la décantation se faisait par un procédé naturel : l'huile, plus légère que l'eau, remontait à la surface des margines et était recueillie.

3.2.5- Stockage

L'huile d'olive est immédiatement stockée dans des cuves en inox afin d'éviter l'oxydation. L'huile peut alors être filtrée pour la rendre limpide et brillante ou bien être mise en bouteille en l'état. Une fois embouteillée, l'huile d'olive doit être conservée à l'abri de la chaleur et de la lumière [23].

3.3- Critères de qualité des huiles d'olives

Le Conseil Oléicole International (COI) et le règlement de la Commission Européenne (CE) [24] 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, le coefficient de l'extinction spécifique K232 et K270, 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 [25-26-27].

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 I.I.2).

Tableau I.I. 2: 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

3.4- 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 [28-29-30].
- ✚ 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 [31]. 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 [32].
- ✚ 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 [33]. En revanche, l'huile obtenue par pression a les mêmes teneurs en ces composés, car elle ne nécessite pas l'ajout de l'eau [34]. 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 [31], 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 [35]. Des changements de température de conservation favorisent la dégradation de l'huile d'olive.

3.5- Effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé

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) [36] 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 cardiovasculaires [37-38].

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 [39].

IV. Bilan

En résumé, nous avons présenté la composition générale 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.

Aussi, nous avons cité 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.

V. Références

- [1] Alais C et Linden G. (1997). Abrégé de biochimie alimentaire. Ed. Masson. pp: 13-69.
- [2] Frenot M et Vierling E. (2001). Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant. Science des aliments. 2^{ème} Ed. Doin. pp: 79-102.
- [3] Prior E. (2003). Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. In Lipides et corps gras alimentaires. Ed. Tec et doc. Lavoisier. pp: 157-187.
- [4] Fares Y (2002). Incidence de facteurs agronomiques sur la qualité de l'huile d'olive, mémoire pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome, Usek, Liban. p: 9-26.
- [5] Ndéye Anta Kandji (2001). Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal. Thèse de doctorat, spécialité pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, page 4.
- [6] Uzzan A. (1992) «Olive et huile d'olive». In «Manuel des corps gras» Karleskind, A. Tome 1, Ed: Lavoisier, Paris, 221-228.
- [7] Leïla Abaza, Mongi Msallem, Douja Daoud et Moktar Zarrouk (2002).Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. Journal of Oilseeds and fats, Crops and Lipids.174–179.
- [8] Rapport d'une consultation mixte d'experts. 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 21-30 Septembre 1977.p 5-7.
- [9] Chekroun N (2014). Détermination de la capacité antioxydante des huiles végétales : Huile Afia. Rapport master. Chimie Physique et Analytique.Université aboubaker belkayd algérie.
- [10] Charles A et Den G. (1997) .Abrégé de Biochimie alimentaire. 4^{ème} Edition : Masson, Paris, 225-232.
- [11] Indicateurs macroéconomiques et agricoles (2009). direction de la production végétale, département lié au ministère de l'agriculture, Rabat, Maroc. P : 1-21.
- [12] Chiffres du marché mondial des huiles d'olives. Conseil oléicole international, novembre 2014.
- [13] AFD: Etude de faisabilité du Programme d'Appui au Plan Maroc Vert financé par l'AFD (2011), Rapport Final, p: 16.
- [14] Boskou D. Characteristics of the olive tree and olive Fruit. Laboratory of Food Chemistry and Technology School of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki University Campus, Thessaloniki, 54124, Hellas, Greece. Copyright © 2006 by AOCS Press, P: 13-18.
- [15] Ghanam J et Benlamlih.M (2012). polyphénols d'huile d'olive trésors santé.p 20-22.
- [16] 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.
- [17] Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. Conseil oléicole international, COI/T.15/NC n° 3/Rév. 7, Madrid, Espagne, Mai 2013.
- [18] 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
- [19] Chimi H. Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité, bulletin mensuel d'information et de liaison PNTTA. Ministère d'agriculture, du développement rural et des pêche maritimes.

- [20] Chimi H. Qualité des huiles d'olives au Maroc. Enquête nationale et analyses au laboratoire, N 79 Avril 2001.
- [21] Amirante P., Clodoveo M. L., Dugo G., Leone A. and Tamborrino A. (2006) Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality. *Food Chemistry*. 98 (4) pp 797-805.
- [22] Les principes de l'extraction de l'huile. Association française interprofessionnelle de l'olive. Huile d'olive et olives de MIDI de la France.
- [23] Guide du producteur de l'huile d'olive. Préparé dans le cadre du projet de développement du petit entrepreneuriat agro-industriel dans les zones périurbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc Cas de Kalaât Bni Rotten à Chefchaouen et de Jabryne à Ouazzane.
- [24] Commission du Codex Alimentarius, Norme Révisée pour les huiles d'olives, CL 1993/15-FO. 1993.
- [25] 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), p: 340-346.
- [26] Psomiadou E., Konstantinos X., Blekas K.G., Tsimidou M.Z. et Boskou, D. Proposed parameters for monitoring quality of virgin olive oil (koroneiki cv). *European Journal of lipid Science and technology*. 2003, 105(8), p: 403-409.
- [27] Ranalli A., Ferrante M.L., De Mattia G et Costantini N. Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, 47(2), p: 417-424.
- [28] Médawar S (2001). L'olivier, situation au Liban, technique de culture et étude de faisabilité. Publication : Institut libanais de développement économique et social, 23 pages.
- [29] 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.
- [30] Venkateswarlu 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.
- [31] 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*, N4 : 31-35.
- [32] 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.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] 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*. P-139.
- [36] Pelletier X., Belbraouet S et Mirabel D. (1995). A diet moderately enriched in phyosterols lowers plasma cholesterol concentrations in normocholesterolemic humans. *Ann Nutr Metab*, 39: 291-295.

- [37] 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.
- [38] Jialal I et Devaraj S. (1996). Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chem*, 42: 498-506.
- [39] Simons L.A., Von Konigsmark M and Balasubramaniam S. (1996). Whate dose of vitamin E is required to reduce susceptibility of LDL to oxidation? *Aust NZ J Med*, 26: 496-503.

Chapitre 2 : La spectroscopie infrarouge et la chimiométrie

I. Introduction

La spectroscopie infrarouge (IR) est une classe de spectroscopie qui peut être employée pour l'identification de composés ou pour déterminer la composition d'un échantillon. En général, les méthodes spectroscopiques sont basées sur des aspects physiques pour caractériser la matière.

La spectroscopie vibrationnelle s'intéresse à l'étude de l'interaction des ondes électromagnétiques excitatrices et des molécules constituant la matière dans le domaine d'ultraviolet, du visible et d'infrarouge [1]. Le développement des instruments de mesure a fait évoluer l'exploitation des spectres infrarouge. L'usage de la spectroscopie infrarouge et son évolution sont fortement liés au développement instrumental [2]. Ce développement a permis de mieux détecter ce rayonnement et d'obtenir une réponse d'une manière de plus en plus rapide.

La spectroscopie infrarouge renseigne sur les groupements fonctionnels, mais elle peut être avantageusement combinée aux méthodes chimiométriques pour extraire de l'information cachée dans les spectres infrarouge.

La naissance de la chimiométrie a eu lieu, vers les années soixante-dix du siècle dernier. Les objectifs de cette discipline sont multiples : La description et l'exploration des données, la classification, la modélisation et l'optimisation des conditions expérimentales.

La nomination « chimiométrie » est d'origine anglaise « chemometrics », jeune discipline reliant au départ, analyse de données dans la chimie analytique. Actuellement, il recouvre l'application des méthodes statistiques et de l'informatique à l'ensemble des données, soit de la chimie, de la physique, des sciences de la vie et de l'économie.

II. Spectroscopie infrarouge

1. Historique

En revenant sur les 300 dernières années, nous remarquons que le rayonnement infrarouge lui-même est resté inconnu jusqu'à 1800, quand l'expérience de Herschel avec thermomètre et prisme a été signalée. Sir W. Herschel a fait une importante découverte de la lumière infrarouge, le 11 Février 1800. Il a étudié la diffraction du spectre de la lumière du soleil avec un prisme. Herschel a construit un monochromateur brut qui a utilisé un thermomètre comme un détecteur, afin qu'il puisse étudier la diffraction de la lumière du soleil. Il a constaté que la température la plus élevée était en dessous du rouge, ce que nous appelons maintenant l'infrarouge. La mise au point d'instruments de détection du rayonnement infrarouge par H. Rubens, professeur à l'université de Berlin, est très considérablement appréciée pour la caractérisation de ce rayonnement. Le développement relatif à la lumière était parallèle avec des études qui s'intéressent par l'interaction de la matière avec des ondes électromagnétiques : c'est le début de la spectroscopie [3].

Ces études s'articulent autour de l'émission et de l'absorption atomique et en 1885, la caractérisation du spectre de l'atome d'hydrogène par Balmer qui a observé quatre raies lumineuses. En 1913, le physicien Niels Bohr a été le premier à postuler une théorie décrivant les spectres de raies observées dans la lumière émises d'une lampe à décharge de l'hydrogène. Il est basé sur ces observations pour suggérer que les atomes perdent ou gagnent de l'énergie sous la forme de « quanta ». Les théories relatives à la lumière ont connu une très forte évolution dans les années 1900, avec le concept du corps noir, élaboré par Planck. Il a supposé qu'un oscillateur de fréquence naturelle ν ne pouvait donner ou recevoir de l'énergie que par paquet d'amplitude E . L'hypothèse de quantification de l'énergie est confortée par l'étude de l'effet photoélectrique (l'énergie cinétique d'électrons émis) à partir d'une surface métallique soumise à une lumière visible ou ultra-violette, est proportionnelle à la fréquence de la lumière et non à son intensité. Albert Einstein a expliqué ce phénomène en 1905, en postulant que l'énergie d'un faisceau lumineux est liée à sa fréquence selon l'équation (1) :

$$\text{Equation (1) : } E = h.\nu$$

Avec : h est la constante de Planck et ν est la fréquence de la lumière.

2. Domaine infrarouge et interaction

L'infrarouge est un domaine de la spectroscopie qui a pris de plus en plus d'importance depuis les années 1970.

Le domaine infrarouge est sous divisé en trois régions selon la fréquence [4] (Figure I.II. 1) : Le proche infrarouge (PIR) (0,8 à 2,5 μm soit 12500-4000 cm^{-1}), le moyen infrarouge (MIR) (2,5 à 25 μm soit 4000-400 cm^{-1}) et le lointain infrarouge (25 à 1000 μm soit 400-10 cm^{-1}).

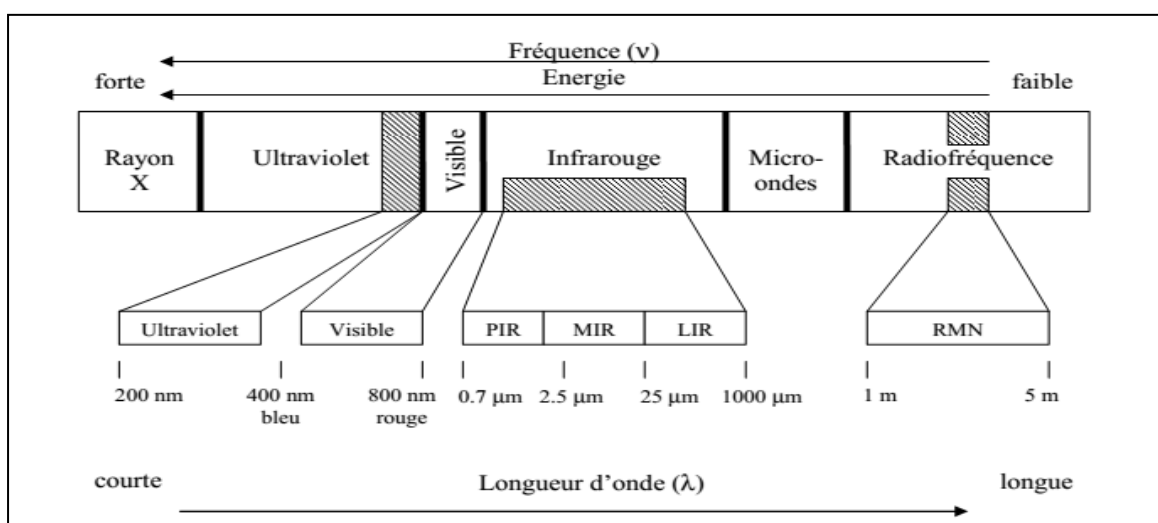


Figure I.II. 2: Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique.

3. Principe de la spectroscopie Infrarouge

Le principe de la spectroscopie infrarouge a été détaillé notamment par Bertrand et par Rouessac [5,6]. Le rayonnement infrarouge est une radiation de nature électromagnétique, correspondant à la partie du spectre comprise entre 12 800 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 réfléchiée 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 ($4\text{-}40\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) 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.

4. Vibration des molécules

D'après Banwell, la spectroscopie vibrationnelle étudie la réponse de la matière lorsqu'elle est irradiée par des ondes électromagnétiques [7] 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 [8]. 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 interagité avec la matière. Le MIR comporte la majorité des bandes d'absorptions. Les fréquences de vibration [9] 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 I II 2 représente les modes de vibrations moléculaires.

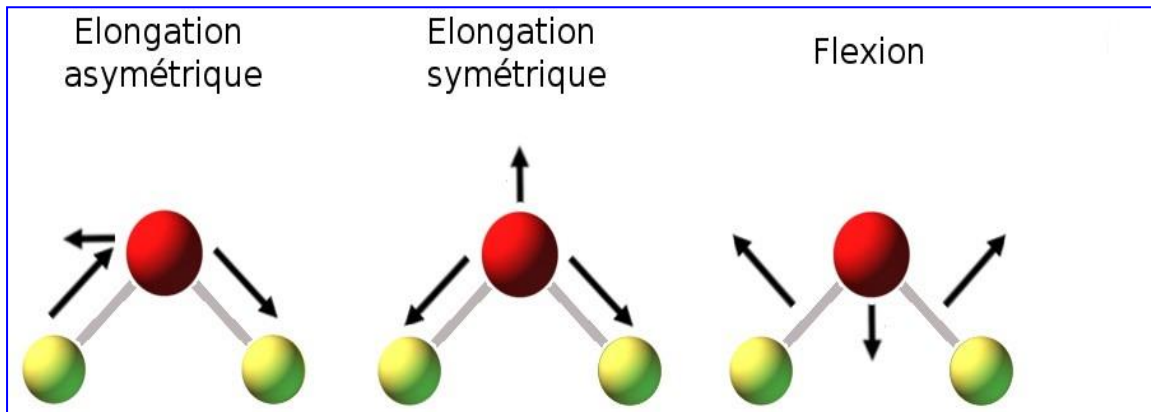


Figure I.II. 3 : Modes de vibrations moléculaires.

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 [10]. Pour simplifier la présentation de la théorie vibrationnelle, on va voir en premier temps, le modèle le plus simple qui considère une molécule diatomique en vibration et ensuite d'étudier le modèle poly atomique.

4.1- Modèle diatomique

Le modèle diatomique se modélise par deux masses m_A et m_B constituant la liaison moléculaire. Dans ce cas, une élongation de la molécule est le seul mode de vibration possible. L'énergie de transition entre les niveaux de vibration peut prendre la valeur E donnée par l'équation (3) :

$$\text{Equation (3) : } E = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \left(N + \frac{1}{2}\right)$$

Avec : N est le nombre quantique de vibration ($N= 0, 1, 2, \dots$), k la constante de force de la liaison (en $N.m^{-1}$) et μ est la masse réduite exprimée en Kg, est donnée par l'équation (4) :

$$\text{Equation (4) : } \mu = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B}$$

Avec : m_A et m_B sont les masses des deux atomes de la liaison.

Il est admis que, les liaisons sont parfaitement élastiques dans ce modèle. Alors que, si l'amplitude des vibrations devient importante, ces liaisons peuvent se briser [10]. Par conséquent, la forme d'énergie E est donc sera plus compliquée que celle donnée par l'équation (3).

4.2- Modèle poly-atomique

Dans le modèle poly-atomique, plusieurs modes de vibrations sont permis : L'élongation des liaisons, déformation des angles et la déformation hors plan.

Une molécule contenant N atomes a $3N-6$ degrés de liberté de vibration et $3N-5$ pour les molécules linéaires. Généralement, les liaisons moléculaires n'absorbent pas l'énergie lumineuse infrarouge, même si la fréquence de la lumière incidente correspond à la fréquence propre de la liaison. Seulement, les liaisons qui présentent un moment électrique dipolaire non nul sont actives dans l'infrarouge.

5. Spectroscopie Moyen Infrarouge

En spectroscopie infrarouge, on s'intéresse aux différentes vibrations des liaisons. La spectroscopie MIR est caractérisée par une résolution fine des pics qui lui confère plusieurs avantages. Tout d'abord, la finesse des raies permet d'identifier facilement le type de liaison rencontré et même de quantifier un composé en fonction de l'intensité des signaux. Un autre avantage important des spectres MIR c'est qu'ils apportent des informations sur l'état physicochimique de différents composants comme la cristallinité, l'oxydation, ou encore la phase, qui peuvent être utiles pour étudier les changements causés par le traitement ou le stockage [11].

Le développement des applications MIR en agroalimentaire est récent, suite à l'apparition d'appareils basés sur la transformée de Fourier et de nouveaux dispositifs de présentation des échantillons plus pratiques [12]. Plusieurs problèmes d'authentification ont été étudiés par ce type de méthode ; par exemple la quantification des adultérants de l'huile d'olive [13], ou encore la discrimination des différents types de fruits dans les purées [14] ou les confitures [15], et enfin la discrimination des différentes variétés de café [16,17]. Au niveau du contrôle qualité de la production, une étude polonaise [18] s'est intéressée à l'évolution de la teneur en phospholipides lors de la production d'huile de colza.

5.1- Interprétation d'un spectre moyen infrarouge

Généralement, le spectre MIR est constitué de bandes d'absorption qui proviennent des modes de vibration des groupements fonctionnels fondamentaux. L'interprétation des spectres est faite d'une façon empirique, autrement dit, elle consiste le plus souvent, à comparer les résultats obtenus avec ceux cités dans la bibliographie. Cette dernière est fondée essentiellement sur l'analyse des molécules isolées par spectroscopie MIR. La position des bandes est en fonction de la nature de liaison (vibrateur) et son environnement.

Les liaisons entre atomes plus lourds vibrent à plus basse fréquence, alors que les liaisons entre atomes légers vibrent à plus haute fréquence. Selon la loi de Hook (Equation (5)), la fréquence ν et la masse réduite μ sont inversement proportionnelle.

$$\text{Equation (5) : } \nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \text{avec } \mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}$$

k : constante de la force de liaison,

m₁ et **m₂** : masses des atomes liés.

L'intensité de la bande d'absorption est variable en fonction de la concentration, de la nature et de la polarité de la liaison. La fréquence de vibration est influencée par nombreux facteurs externes ou internes à la molécule : Taille et électronégativité des atomes environnants, liaisons hydrogène, effet stérique et conformation. Ces facteurs sont considérés comme un avantage, parce qu'ils permettent une forte sélectivité et par conséquent, facilitent l'analyse et l'identification spectrale [19].

D'une manière indépendante de leurs environnements, des groupements fonctionnels absorbent habituellement, la lumière infrarouge dans la même région. Ainsi, les vibrations d'élongation caractéristiques de la liaison C-H apparaissent presque toujours entre 3200 et 2800 cm⁻¹, les vibrations d'élongation du carbonyle (C=O) entre 1800 et 1600 cm⁻¹, alors que les bandes des cycles aromatiques apparaissent au-dessous de 1000 cm⁻¹.

En général, le spectre moyen infrarouge est divisé en quatre régions [20]:

- ✓ 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.

5.2-Avantages et inconvénients de l'analyse MIR

La spectroscopie Moyen-infrarouge (MIR) a une longue histoire dans l'analyse chimique, mais elle a trouvée relativement peu d'applications en agro-alimentaire. L'application progressive de la spectroscopie MIR aux aliments n'a atteint le niveau des applications de la spectroscopie Proche-Infrarouge (PIR) que récemment. Il y a encore relativement peu de références bibliographiques; pour la plupart limitées à la comparaison avec des méthodes établies telles que les spectrométries RMN, de Masse, et Proche Infrarouge.

La région MIR (4000-400 cm^{-1}) a été dans le passé de peu d'intérêt pratique pour l'analyse agro-alimentaire, dû principalement à des problèmes d'échantillonnage et à des limitations instrumentales liées aux spectromètres conventionnels utilisant des réseaux de diffraction. Il n'est pas possible d'acquérir des spectres infrarouges d'aliments intacts en utilisant des pastilles, par exemple, parce que la plupart des aliments ne demandent pas une telle préparation et contiennent généralement de grandes quantités d'eau qui absorbe fortement en MIR. La faible transmission, et la nature souvent fortement dispersive des échantillons, font que très peu d'énergie peut

être détectée. Ce problème n'est pas amélioré par le peu d'énergie atteignant l'échantillon avec les spectromètres dispersifs. En outre, l'utilisation des monochromateurs induit un temps d'acquisition trop long, pour des spectres à résolution raisonnable. Le développement de la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) a renouvelé l'intérêt pour la spectroscopie MIR dans l'analyse des aliments. Les spectromètres FT-IR fournissent, à l'aide des interféromètres, une plus grande énergie à l'échantillon. Ils peuvent acquérir les spectres beaucoup plus rapidement et ont la possibilité de les accumuler de sorte que, dans un temps raisonnablement court, des spectres peuvent être produits à partir des échantillons transmettant faiblement, et ce avec des rapports signal/bruit acceptables.

Même dans le cas des échantillons ne transmettant pas du tout le rayonnement infrarouge, il y a maintenant un certain nombre de méthodes de présentation de l'échantillon qui peuvent être employées.

Le MIR a des avantages significatifs pour l'attribution spectrale, la résolution, et la facilité de la quantification. Ainsi, il n'est souvent pas nécessaire de travailler avec les grands ensembles d'étalonnage habituellement requis pour l'analyse PIR, bien que ceux-ci puissent être nécessaires dans les mélanges très complexes.

Un autre avantage important est que les spectres MIR peuvent fournir des informations sur les états physiques et chimiques de différents composants (par exemple, la cristallinité, l'oxydation, la phase), qui peuvent être utiles pour étudier les changements causés par le traitement ou le stockage [21].

6. Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)

6.1- Spectromètre dispersif

Les premiers spectromètres infrarouges sont de type dispersif. Ces appareils sont conçus selon le schéma de principe représenté sur la figure I.II.3 :

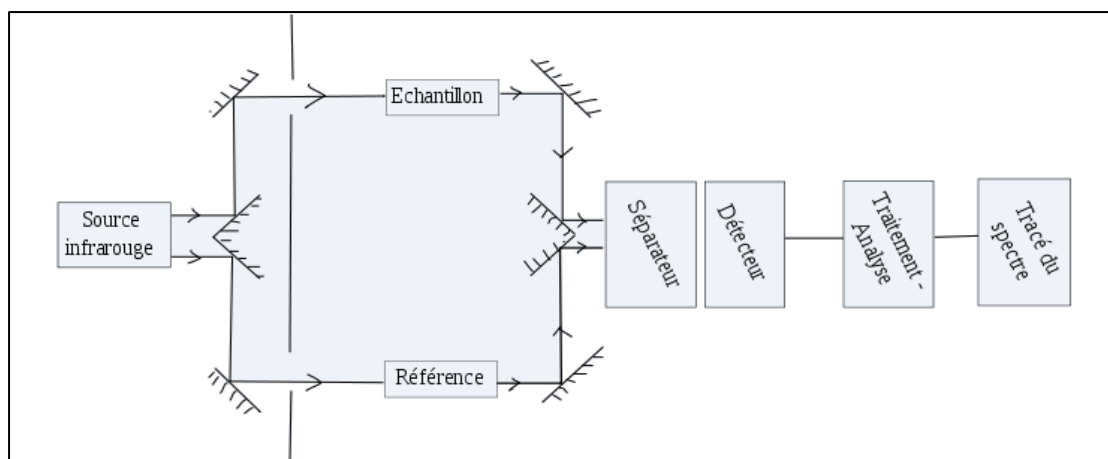


Figure I.II. 4: Schéma de fonctionnement d'un spectromètre infrarouge « classique ».

Dans un spectromètre infrarouge « classique » (il existe des montages spéciaux dépendants des activités poursuivies), un rayon de lumière infrarouge est produit et séparé en deux faisceaux. L'un passe au travers de l'échantillon, l'autre au travers d'une référence qui est parfois le composé dans lequel l'échantillon a été dissous. Les faisceaux sont ensuite réfléchis jusqu'à un détecteur, après être passés par un séparateur qui alterne rapidement les faisceaux entrant dans le détecteur. Les deux signaux sont comparés et le spectre ainsi obtenu sera tracé [22].

L'utilisation d'une référence permet :

- d'éviter les fluctuations de sortie de source qui peuvent affecter les données. Ces fluctuations ont des origines diverses, comme le vieillissement.
- d'éviter la prise en compte des effets de solvant (la référence est habituellement le solvant pur correspondant à celui dans lequel l'échantillon est dissous).

6.2- Spectromètre non dispersifs

Les spectromètres FT-IR ont été développés pour apporter une réponse aux limitations des spectromètres dispersifs. La difficulté principale à résoudre était celle de la lenteur de l'acquisition. Il était indispensable d'imaginer un dispositif mesurant toutes les fréquences simultanément. Ce dispositif est l'interféromètre.

6.2.1- Description d'un spectromètre FT-IR

Un spectrophotomètre comporte quatre parties essentielles [23,24] :

- Une source lumineuse : pour notre cas, le Globar 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).

6.2.2- 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 [25,26] 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.

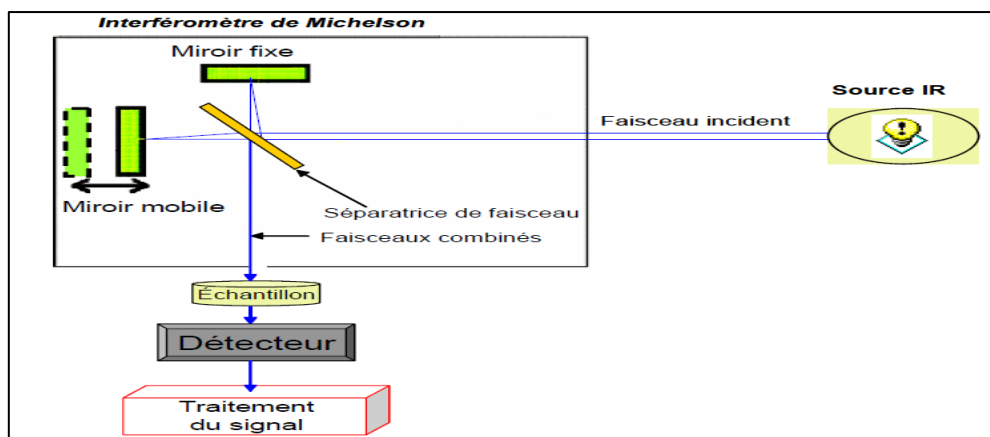


Figure I.II. 5: Schéma d'un spectromètre avec interféromètre de Michelson

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.

6.3- Avantages des instruments à TF par rapport aux spectromètres dispersifs.

Les spectromètres à transformée de Fourier sont caractérisés par [27,28] :

- ✓ Rapidité: du fait d'une mesure simultanée de toutes les fréquences, la mesure dure quelques secondes. Un spectre de 800-8000 cm^{-1} de résolution de 2 cm^{-1} , mesuré en 30 minutes sur un spectromètre dispersif, sera collecté en 1 seconde au même rapport signal/bruit ;
- ✓ Reproductibilité et fiabilité ;
- ✓ Haute résolution spectrale ;
- ✓ Simplicité mécanique : la seule partie mobile de l'instrument est le miroir mobile ;
- ✓ Calibration interne : ces spectromètres sont auto-calibrés et ne nécessitent jamais de calibration par l'utilisateur. Un laser He-Ne permet de repérer avec précision la position du miroir mobile ;
- ✓ Sensibilité : la sensibilité est très largement améliorée par rapport aux systèmes dispersifs. La possibilité de réaliser plusieurs acquisitions permet d'améliorer considérablement le rapport signal/bruit. La très bonne sensibilité permet d'envisager des applications en contrôle qualité (identification de contaminants par exemple). Il est en outre possible d'effectuer des analyses quantitatives de grande précision avec ce type de spectromètre.

6.4- Réflexion totale atténuée (ATR)

La technique d'ATR est connue sous différents noms. Les plus fréquents sont ATR (Attenuated Total Reflectance), FMIR (Frustrated Multiple Internal Reflexion) et MIR (Multiple Internal Reflectance). La technique d'ATR a été introduite par Harrick en 1967 [29]. Lorsque la lumière pénètre d'un milieu M1 vers un Milieu M2, celle-ci est diffractée selon la loi des sinus. Si M1 est plus réfringent que M2, alors il existe un angle θ_c dit angle critique, au-delà duquel la lumière n'est plus réfractée, mais subit une réflexion totale. Le principe de l'ATR est détaillé sur la figure I II 5.

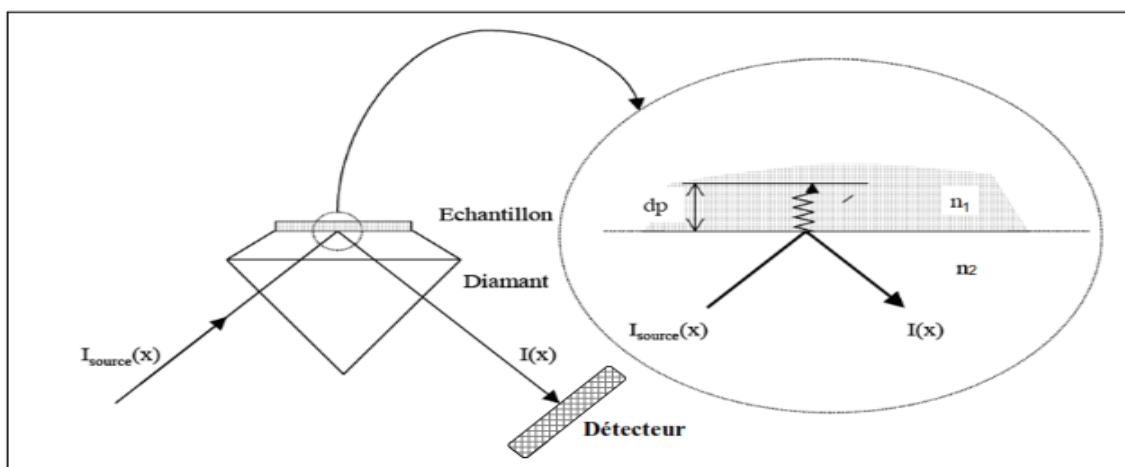


Figure I.II. 6: Principe de la réflexion totale atténuée (ATR) sur diamant.

L'échantillon est mis sur un cristal transparent en infrarouge, mais avec un indice de réfraction élevé (ZnSe, Diamant, Germanium) appelé élément à réflexion interne. $I_{source}(x)$ est l'intensité globale diffusée par la source en fonction du retard. Alors que, $I(x)$ est l'intensité après réflexion sur l'échantillon.

Le cristal est caractérisé par sa haute résistance et par l'indice de réfraction qui est généralement élevé ($n_2=2,43$ pour le diamant par exemple), ainsi que dans la majorité des cas il est supérieur par rapport à celui de l'échantillon (n_1). En première approche, d'après la loi de Descartes, la lumière IR initiale traverse le cristal (diamant dans l'exemple) et subit une réflexion totale à l'interface cristal-échantillon puis est orientée vers le détecteur [30]. En réalité, l'existence d'une onde progressive appelée évanescente peut perturber ce phénomène. En effet, la lumière pénètre de quelques micromètres dans l'échantillon qui est en contact direct avec le cristal. Par conséquent, une partie de l'énergie lumineuse est retenue et la réflexion totale est dite atténuée [31].

La profondeur de pénétration (dp) des ondes évanescente dans l'échantillon est en fonction de la longueur d'onde λ , de l'angle α d'incidence du faisceau par rapport à la normale à l'intérieur du cristal et des indices de réfraction du cristal et de l'échantillon nommés respectivement n_2 et n_1 . La profondeur de pénétration est donnée par la formule de Harrick, par l'équation (6) :

$$\text{Equation (6) : } dp = \left(\frac{\lambda}{2\pi n_2 \sqrt{\sin^2 \alpha - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \right)$$

La profondeur de pénétration est la même pour des échantillons ayant le même indice de réfraction, ce qui permet de comparer aisément des matériaux de même nature.

7. Analyse des données infrarouge

Les spectres IR sont riches en informations utiles qui expliquent les caractéristiques chimiques, physiques et biochimiques des échantillons analysés, néanmoins ces informations peuvent être parfois difficilement à extraire. L'utilisation des méthodes mathématiques, informatiques et d'analyse statistique multivariée constitue une autre méthode, permettant l'extraction et l'exploitation de l'information cachée dans les spectres infrarouge.

Les méthodes spectroscopiques sont très employées pour l'analyse qualitative et quantitative des constituants de produits agroalimentaires [32]. En général, quand les spectres sont bien clairs et non superposés, on peut calculer une concentration à partir de l'intensité du signal. Par contre, lors de l'analyse de matrices complexes, les signaux ne sont pas toujours bien définis. Par conséquent, il n'est pas facile d'identifier et de quantifier les différents constituants.

Pour rester dans l'objectif de l'analyse spectrale, qui est d'avoir des résultats d'analyse d'une manière rapide sur différents composants, il est alors nécessaire d'utiliser les méthodes chimiométriques pour extraire de l'information pertinente.

III. 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 [33]. Cette discipline a trois objectifs principaux [34] :

- Le premier est la planification et l'organisation des expériences [35] 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 [36].
- Enfin, son dernier objectif est la prédiction, soit de valeurs continues comme avec les méthodes de régression comme la PLS [37], soit de classer avec une analyse discriminante comme la PLS-DA [38].

1. Prétraitements mathématiques appliqués aux spectres

Les étapes de prétraitement interviennent avant l'établissement du modèle prédictif. Les prétraitements ont deux objectifs principaux : l'amélioration du signal, et la condensation des données pour extraire de l'information pertinente. Les prétraitements visant à améliorer le signal sont évidemment en relation avec le mode ultérieur d'exploitation des données spectrales et incluent :

- La réduction du bruit dans les spectres ;
- L'élimination de l'effet des déformations de la ligne de base ;
- L'affinage de la position des bandes d'absorption ;
- L'élimination des variations d'intensité globale sans intérêt.

D'une manière générale, la qualité de l'échantillon [39] et les variations du chemin optique affectent considérablement les spectres infrarouges. Donc des prétraitements mathématiques sont appliqués aux spectres, pour éliminer ou diminuer ces interférences.

1.1-Données centrés

Ce prétraitement consiste à soustraire à chaque valeur de la matrice la valeur moyenne de sa variable [40].

$$XC(n, m) = \begin{pmatrix} X_{11} - \bar{X}_1 & X_{12} - \bar{X}_2 & \dots & X_{1m} - \bar{X}_m \\ X_{21} - \bar{X}_1 & X_{22} - \bar{X}_2 & & X_{2m} - \bar{X}_m \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ X_{n1} - \bar{X}_1 & X_{n2} - \bar{X}_2 & \dots & X_{nm} - \bar{X}_m \end{pmatrix}$$

Avec : n est le nombre d'échantillons et m est le nombre de variables.

Avec ce type de traitement, on élimine les différences entre variables attribuées à la magnitude de l'échelle.

1.2- Données centrées normées (ou centrées réduites)

Ce prétraitement consiste à soustraire à chaque valeur de la matrice la valeur moyenne de sa variable et on divise le résultat par l'écart-type de la variable [40].

- La moyenne de toutes les variables d'une matrice centrée normée est 0.
- L'écart-type de toutes les variables est 1.

Avec ce type de traitement, on élimine les différences entre variables attribuées à la magnitude et amplitude de l'échelle.

1.3- Centrage par colonne

Le centrage par colonne est un prétraitement, qui est presque toujours appliqué sur des données spectrales. Généralement, dans une matrice, chaque longueur d'onde est représentée par une colonne. Le centrage par colonne est une opération qui consiste à soustraire la valeur moyenne pour chaque colonne, pour chaque longueur d'onde [39].

1.4- Centrage par ligne

Dans une matrice et par convention, chaque ligne est représentée par un échantillon. Ce prétraitement consiste à soustraire les moyennes des lignes de la matrice X de données originales pour réduire les fluctuations de ligne de base dans les spectres. Chaque spectre est traité séparément. Cette méthode est habituellement appliquée quand il y a des difficultés dans la reproductivité des conditions d'acquisition [41].

1.5- Dérivée

La dérivée a été historiquement le premier prétraitement utilisé. Elle permet de réduire la dérive de la ligne de base, de séparer plus clairement les bandes d'absorption et de mettre en évidence certaines parties de l'information spectrale.

Il existe différentes méthodes pour calculer la dérivée :

- La dérivée par intervalle (gap derivative) calcule la dérivée sur un intervalle de points fixés par l'utilisateur.
- La dérivée basée sur la technique de convolution de Savitsky et Golay [42]. Deux étapes sont nécessaires pour calculer la dérivée en un point i : tout d'abord, un polynôme de degré k est ajusté sur au moins $k+1$ points du spectre autour du point i . Ensuite, la dérivée du polynôme en ce point est calculée.

1.6- Correction Multiplicative de diffusion (MSC)

La correction de diffusion MSC améliore la linéarité de la relation existant entre l'absorbance et la concentration. Pour effectuer la correction MSC, il est nécessaire d'avoir un spectre de référence [39]. Le spectre moyen des spectres du lot d'étalonnage est utilisé par défaut.

Un modèle linéaire est mis en place entre le spectre et le spectre moyen selon les équations suivantes :

$$\text{Equation (7) : } X_i = a + b\bar{X}_i + e_i$$

Avec: \mathbf{a} et \mathbf{b} sont les coefficients du modèle et $\mathbf{e_i}$ c'est l'erreur à la longueur d'onde \mathbf{i} . La valeur corrigée est ensuite calculée par l'équation (8) :

$$\text{Equation (8) : } X_{MSC,i} = (X_i - a) / b$$

1.7- Déviation Normale Standardisée « Standard Normal Variate : SNV »

Le principal avantage de la méthode SNV est qu'elle s'applique à chaque spectre pris séparément sans référence à l'ensemble des échantillons d'étalonnage.

Les données spectrales sont centrées et réduites selon l'équation suivante :

$$\text{Equation (9) : } X_{SNV,i} = X_i - \bar{X} / \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{(w-1)}}$$

Avec : X_i est la valeur du $\log(1/R)$ à la longueur d'onde i , W est le nombre de longueurs d'onde,

\bar{X} est la valeur moyenne du $\log(1/R)$ et $X_{SNV,i}$ est la valeur corrigée à la longueur d'onde i .

De nombreuses études ont montré que l'utilisation des normalisations MSC et SNV permettait d'améliorer les résultats de l'analyse quantitative [43].

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, 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 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.

2.1- Méthodes exploratoires (non supervisées).

Avant de commencer une étude quantitative, il faut observer les données spectrales pour apprécier la structure des données et détecter la présence d'un spectre aberrant. Quand le nombre de données devient important, un examen direct est difficile.

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

2.1.1- 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) [43].

L'ACP projette le nuage de points dans un espace de représentation de faibles dimensions [44]. 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 [45]. 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 [46].

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 (10) :

$$\text{Equation (10) : } \mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{P}^T + \mathbf{E}$$

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.

2.1.2- Classification hiérarchique (HCA) : Analyse de regroupement

L'analyse en clusters (la classification hiérarchique ascendante) consiste à regrouper les individus en groupes selon un critère de similitude :

$$\text{Equation (11): } S_{ij} = 100 \times (1 - d_{ij} / d_{max})$$

Ou, d_{ij} désigne la distance entre deux points et d_{max} la distance maximale constatée séparant deux points [47].

C'est une méthode qui divise un ensemble d'objets en classes de façon à ce que les objets similaires appartiennent à une même classe [48]. Il s'agit donc d'un outil utilisé pour la reconnaissance de forme qui détecte les similitudes entre les objets en fonction de la distance qui les sépare. La distance choisie est usuellement de type euclidien. Comme dans le cas de l'ACP, il est possible d'effectuer l'analyse sur un jeu de données transformées (prétraitées) préalablement [49].

Puisque ces méthodes hiérarchiques associent les groupes à des degrés décroissants de ressemblance, donc il est normal de représenter les résultats de la classification sous forme d'une structure arborescente que l'on appelle Dendrogramme (Figure I.II. 6).

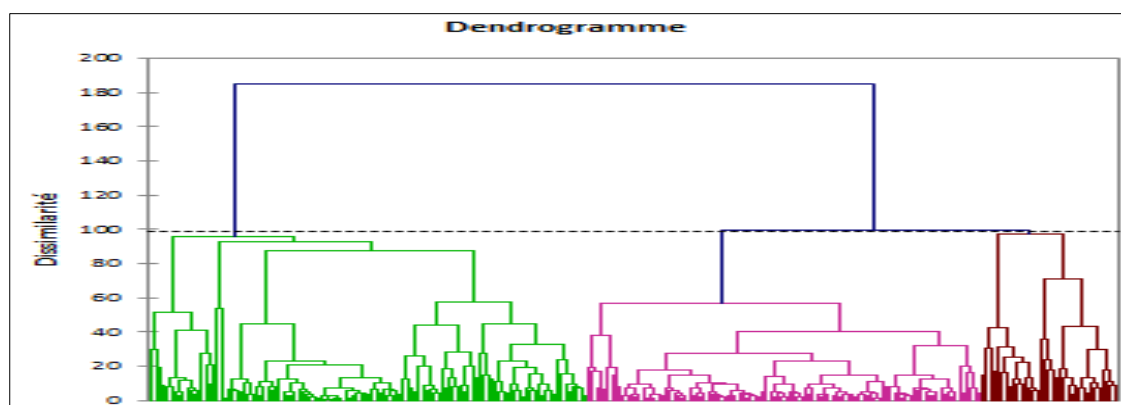


Figure I.II. 7: Graphique d'un Dendrogramme.

2.2- Méthodes prédictives (supervisées)

Les méthodes de régression ont pour objectif de construire un modèle d'étalonnage qui permet de prédire au mieux des valeurs d'une ou plusieurs variables quantitatives y représentant les concentrations en analytes à partir de spectres mesurés sur de nouveaux échantillons X, à l'aide des techniques statistiques multidimensionnelles comme la régression en composantes principales PCR et la régression au sens des moindres carrés partiels, PLS (Partial Least Squares régression).

2.2.1- Régression en composantes principales (PCR)

La régression en composantes principales (PCR) est constituée de deux étapes [43]. Tout d'abord les données spectrales sont traitées par ACP. Ensuite, une régression MLR est appliquée aux données issues de l'ACP, avec les coordonnées factorielles comme variables prédictives.

Comme les données spectrales sont centrées, la constante de régression est nulle. L'équation de prédiction s'écrit de façon matricielle par :

$$\text{Equation (12) : } Y_{\text{étalonnage}} = T_{\text{étalonnage}} \cdot b$$

Avec T les nouvelles coordonnées de dimensions (m, a) , a est le nombre de composantes principales sélectionnées et b le vecteur des coefficients.

Ensuite les coefficients sont utilisés sur les données du lot de validation. La matrice spectrale $X_{\text{validation}}$ est projetée dans l'espace à a dimensions de l'ACP puis les concentrations sont calculées :

$$\text{Equation (13) : } T_{\text{validation}} = X_{\text{validation}} \cdot P_{\text{étalonnage}}$$

$$\text{Equation (14) : } Y_{\text{validation}} = T_{\text{validation}} \cdot b$$

Les avantages de la méthode PCR sont nombreux :

- L'analyse en composantes principales supprime les colinéarités spectrales.
- Elle ne demande pas de sélection de longueurs d'onde a priori.

L'inconvénient majeur c'est qu'il n'y a pas de garantie que les composantes principales soient corrélées aux concentrations à prédire.

2.2.2- Régression des moindres carrés partiels (Partial Least Squares : PLS)

C'est le domaine des études socio-économiques qui connaît les premiers développements de la méthode des moindres carrés partiels (PLS). L'algorithme NIPALS proposé par H.Wold [50] est à l'origine du développement de la régression PLS. Son utilisation remonte aux années 80 avec les travaux de S.Wold et al [51-52]. La méthode PLS est depuis largement utilisée, principalement dans le domaine des industries chimiques, pétrolières et agroalimentaires [53].

La régression PLS est une procédure qui permet de modéliser la relation entre m variables « explicatives » X_1, \dots, X_m , prises sur n échantillons, dans la matrice $X(n, m)$ et j variables « endogènes », Y_1, \dots, Y_j , dans la matrice $Y(n, j)$. Cette approche, présente l'avantage, par rapport à la régression linéaire multiple classique, d'accepter plus de variables explicatives que d'échantillons. De plus, lorsqu'il y a beaucoup de variables on risque d'obtenir un modèle sur-ajusté, c'est-à-dire modélisant une partie du bruit. Correctement utilisée, la régression PLS permet d'éviter ce phénomène, car

étant une régression séquentielle, on peut arrêter le processus de régression avant de modéliser l'erreur. De plus, elle permet de s'affranchir des problèmes de multicollinéarité qui gênent la régression linéaire multiple.

La régression PLS classique est un cas particulier de la méthode NIPALS (Non-linear Iterative Partial Least-Squares). A chaque étape, l'information expliquée par la variable latente trouvée est soustraite à la matrice \mathbf{X} jusqu'à ce que la variance liée à l'information soit totalement expliquée et qu'il ne reste plus que le bruit [54,55]. La différence majeure entre la régression PLS et la régression PCR (Régression sur Composantes Principales) est que les composantes PLS sont optimisées pour être les plus prédictives de \mathbf{Y} , contrairement aux composantes principales. Le modèle est le suivant :

$$\text{Equation (15): } \mathbf{Y}_{(n,j)} = \mathbf{X}_{(n,m)} \cdot \mathbf{B}_{(m,j)} + \mathbf{E}_{(n,j)}$$

où $\mathbf{E}(n, j)$ est la matrice des écarts.

Dans notre étude, la matrice $\mathbf{X}(n, m)$ représente les spectres des échantillons et la matrice $\mathbf{Y}(n, j)$ représente les concentrations à prédire.

2.2.3- 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 [56]. 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 $\mathbf{0}$, à l'exception de l'élément en position k , qui prend la valeur de $\mathbf{1}$. Les composantes discriminantes de la PLS-DA [57] 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 [58].

Les grandes étapes de la mise au point d'une application analytique (qualitative) sont résumées dans la figure I.II.7 :

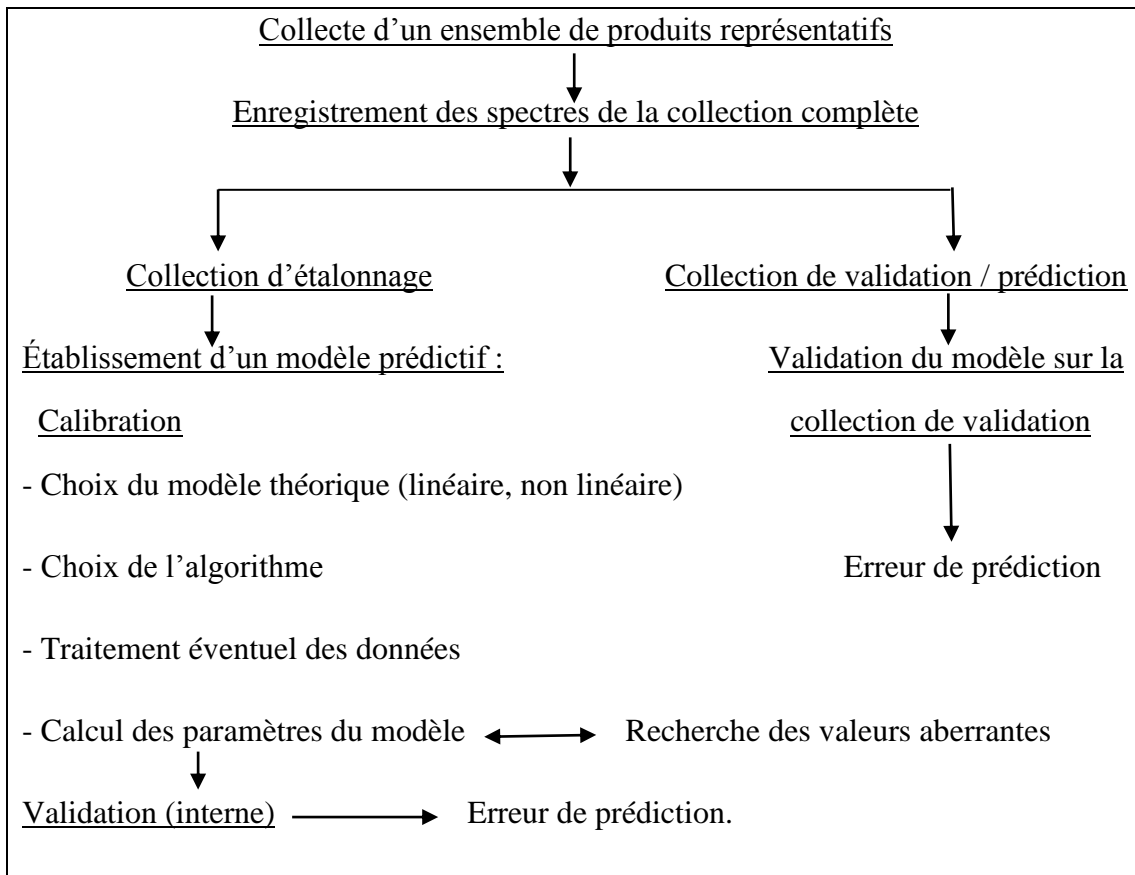


Figure I.II. 8 : Les différentes étapes d'une application analytique.

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 (16) et le coefficient de corrélation R est donné par l'équation (17) [59].

$$\text{Equation (16) : } RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\hat{y}_j - y_j)^2}{n}}$$

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,

$$\text{Equation (17) : } R = \frac{\text{cov}(y', y)}{\sigma_{y'} \cdot \sigma_y}$$

Avec :

$\text{cov}(y', y)$ 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 [60]. 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 (18) :

$$\text{Equation (18) : } RMSECv = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - y_i)^2}{n}}$$

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 (19) :

$$\text{Equation (19) : } R^2_{cv} = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

4.3. Validation externe

L'étape de validation externe permet de tester le modèle d'étalonnage [61,62] 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 prédiction (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 (20), (21), (22) et (23) respectivement.

$$\text{Equation (20) : } R^2_p = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

$$\text{Equation (21): } RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m (y_j - y'_j)^2}{n}}$$

$$\text{Equation (22): } RE \% = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i)^2}} \times 100$$

$$\text{Equation (23): } LOD = 3 * RMSEP$$

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 les deux versions du logiciel the Unscrambler 10.1 et 10.2 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 chimiométriques 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 [63]. Ainsi qu'elle a été appliquée dans plusieurs domaines : l'adultération du café torréfié [64], l'adultération d'huile d'Avocat [65] et la discrimination des Saucisses de jambon chinois [66].

Dans le domaine du lait et de ses dérivés, des études quantitatives et autres qualitatives ont été réalisées par Oulahal.N et al [67], Elbassbasi. M et al [68, 69].

Un autre travail, publié par Moros et De la Guardia [70] présente l'estimation des paramètres nutritionnels, tels que, la teneur en hydrates et la valeur énergétique dans les jus de fruits. Les analyses ont été réalisées par réflexion totale atténuée et spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FT-IR) en utilisant la PLS comme approche d'étalonnage.

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 [71] ou bien selon les variétés [72]. 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. [73] 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 [74].

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 moteurs SAE30 à la réception selon la conformité [75].

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.

IV. Conclusion

Les techniques IR-TF et la chimiométrie, sont largement utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative des composés de produits agroalimentaires.

Les spectres IR-TF obtenus sont complexes. Si dans certains cas les différences ou les ressemblances sont visibles à l'œil nu, dans d'autres l'inspection visuelle est impossible en raison de la complexité des profils spectraux, de la subtilité des différences recherchées et du nombre important de spectres impliqués. Le traitement de cette masse de données nécessite le recours à des méthodes statistiques pour discriminer ou classer les spectres. De plus, la variabilité intrinsèque des échantillons peut parfois cacher l'information recherchée.

Afin de rester dans l'objectif premier de l'analyse spectrale, qui est d'obtenir un résultat d'analyse rapide sur différents paramètres, il est alors nécessaire d'utiliser des méthodes d'extraction d'information rapides telles les méthodes chimiométriques. Ces méthodes permettent, aussi, d'éliminer le bruit et de tirer les informations cachées.

V. Références

- [1] Bertrand D et Dufour D. La spectroscopie et ses applications analytiques. Ed. Technique & Documentation, Paris, (2000) 31-74.
- [2] Rogalski A. Infrared detectors: an overview. *Infrared Physics and Technology*, (2002) 187-210.
- [3] Rogalski A. History of infrared detectors. *Opto-electronics review*, 20 (2012) 279–308.
- [4] Lachenal G. Introduction à la spectroscopie infrarouge. In D. Bertrand et E. Dufour, *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, (2Ed), Tec & Doc, Paris : Lavoisier, (2006) 31-75.
- [5] Bertrand D & Dufour E. *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, TEC&DOC, Paris.(2006), p : 31-74, 156-157, 261- 266, 284, 566.
- [6] Rouessac F & Rouessac A. *Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes*, Dunod. (1998), 4^{ème} Ed., p: 147-171.
- [7] Banwell C. *Fundamentals of molecular spectroscopy*. Mc Graw Hill, Londres, (1983) 338-345.
- [8] Workman J. NIR spectroscopy calibration basics, in *Handbook of near infrared analysis*. Eds by D.A. Burns and E.W. Ciurczak, Marcel Dekker, New York, (1992) 247-280.
- [9] Essendoubi M. Identification et typage par micro spectroscopie IRTF des levures du genre *Candida* d'origine clinique. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne (2007).
- [10] Dalibart M et Servant S. Spectroscopie dans l'infrarouge. *Techniques de l'ingénieur*, 2845 (2000) 1-26.
- [11] Wilson R. H. *Spectroscopic techniques for food analysis*, pp. 246 (VCH, New York, 1994).
- [12] Downey G. in *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques* (ed. Bertrand, D.), 479-504 (TEC & DOC, Paris, 2006).
- [13] Lai Y. W., Kemsley E. K & Wilson R. H. Quantitative analysis of potential adulterants of extra virgin olive oil using infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 53, 95-98 (1995).
- [14] Defernez M., Kemsley E. K. & Wilson R. H. Use of infrared spectroscopy and chemometrics for the authentication of fruit purées. *J. Agric. Food Chem.* 43, 109-113 (1995).
- [15] Defernez M. & Wilson R. H. Mid-infrared spectroscopy and chemometrics for determining the type of fruit used in jam. *J Science of. Food and Agriculture* 67, 461-467 (1995).
- [16] Briandet R., Kemsley E. K. & Wilson R. H. Discrimination of arabica and robusta in instant coffee by Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. *J. Agric. Food Chem.* 44, 170-174 (1996).
- [17] Kemsley E. K., Ruault S & Wilson R. H. Discrimination between coffea arabica and canephora variant robusta beans using infrared spectroscopy. *Food Chem.* 54, 321-326 (1995).
- [18] Szydłowska-Czeraniak A. MIR spectroscopy and partial least-squares regression for determination of phospholipids in rapeseed oils at various stages of technological process. *Food Chem.* 105, 1179-1187 (2007).
- [19] Keirsse J. *Spectroscopie infrarouge déportée: Mise au point d'un biocapteur pour l'imagerie métabolique et la sécurité microbiologique*, Université de Rennes 1, Mention : Chimie, (2003), N° Ordre : 2866, p138.

- [20] Smith B. Infrared spectral interpretation: A systematic approach, CRC Press, Washington, DC, (1999) 1-29.
- [21] Wilson R. H., Goodfellow B. J. Mid Infrared Spectroscopy, Spectroscopic techniques for food Analysis, ed R. H. Wilson. VCH Publishers. (1994), p: 59-85/p: 13-57/p: 246.
- [22] Wilson, R. H. Spectroscopic techniques for food analysis, Ed, New York: VCH, (1994) 246.
- [23] Bellon-Maurel V. Application de la spectroscopie proche infrarouge au contrôle en ligne de la qualité des fruits. Thèse Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse (1992).
- [24] Helm D, Labischinski H, Schallehn G, Naumann D 1991. Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy. J. Gen. Microbiol. 137, p 69-79.
- [25] Kloos G. Design of a Michelson interferometer for the measurement of electrostrictive strains. Optics & Laser Technology, 28 (1996) 481–484.
- [26] Zhang J., Xu J.Q., Gao Y.CH And Sh Ch. Si. Modified Michelson interferometer for probing refractive index of birefringent crystal CSBN50. Optics and Lasers in Engineering, 47 (2009) 1212-1215.
- [27] Griffiths Peter R., de Haseth James A. Fourier Transform infrared Spectrometry Chemical Analysis, John Wiley & Sons, (1986), vol 83, p 656 .
- [28] Séverine Dumas (2009). Dosage du polymorphisme : spectrométrie IRTF et chimiométrie Application aux formes polymorphes du CL20 (Hexaazahexanitrosowurtzitane / HNIW). Thèse de doctorat. Université Claude Bernard – Lyon – UCBL. Page 106.
- [29] Harrick N.J. Internal Reflection Spectroscopy. Ed, John Wiley & Sons New York (1967).
- [30] Mc Clure W. Near infrared spectroscopy : Spectroscopic techniques for Food Analysis, Ed. R.H. Wilson, VCH Publisher (1994) 13-57.
- [31] Snieder M and Hansen W. Crystal effect on penetration depth in Attenuated total reflectance Fourier transformed study on human skin. Microchim Acta, 14 (1997) 677-678.
- [32] Bertrand D et Dufour E. La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, TEC&DOC, Paris, (2006) 479-566.
- [33] Massart D., Vandeginste B and Buydens L. Handbook of chemometrics and Qualimetrics: Part A. Elsevier science Ed; Amsterdam, 20 (1997).
- [34] Bertrand D. 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, (2006) 4-28.
- [35] Goupy J. La méthode des plans d'expériences. Ed, Dunod, Paris, (1999).
- [36] Joliffe T. Principal component analysis. Springer-Verlag, New York, (1986) 271.
- [37] Tenenhaus M. L'approche PLS. Revue de Statistique Appliquée, 47(1999) 2-55.
- [38] Bardos M. Analyse Discriminante. Ed, Dunod, Paris, (2001) 223.
- [39] Dhanoa M., Lister S et Sanderson R. The link between Multiplicative Scatter Correction (MSC) and Standard Normal Variate (SNV) Transformations of NIR spectra. J. Near Infrared Spectrosc, 2 (1994) 43-47.
- [40] Roggo Y., Chalus P., Mauer L., Ima-Martinez C., Edmond A., Jent N (2007). A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 44, p 683–700

- [41] Igne B., Roger J.M., Roussel J.M., Bellon-Maurel S., Hurburgh C.R. Improving the transfer of near infrared prediction models by orthogonal methods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 99 (2009) 57-65.
- [42] Savitzky A. and Golay M.J.E. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Anal. Chem*, 36 (1964) 1627-1639.
- [43] Yves roggo. Détermination de la qualité de la bettrave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimiométrie. Thèse de doctorat. Université des sciences et technologies de Lille (2003).
- [44] Danzart M. Statistique descriptive. Inb: SSHA and ISHA, Analyse sensorielle. Manuel méthodologique, Tec&Doc, Paris, (1990) p 209.
- [45] Eriksson L, Johansson E, Kettaneh N and Wold S. Multi- and Megavariate Data Analysis. Part I- Basic principles and applications. Umetrics AB, Umea, Sweden (2001) 1-527.
- [46] Bertrand D. 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, (2006) 4-28.
- [47] Miller J.N., Miller J.C. *Multivariate analysis. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*/ed. Par J.N. Miller, J.C. Miller. 4ed. Harlow: Prentice Hall. 2000, p: 214-238.
- [48] Massart D.L., Vandeginste B.G.M., Buydens L.M.C and Semeyers V.J. *Cluster Analysis, Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B*/ed. 1st Ed. Amsterdam: Elsevier, (1997) 57-86.
- [49] Mapihan K. Caractérisation et classification des phases stationnaires utilisées pour l'analyse CPL de produits pharmaceutiques. Thèse de doctorat, Spécialité chimie analytique, Université Paris VI, France.(2004), p 274.
- [50] Wold H. *Multivariate Analysis*. New York, Academic press, 1966, pp 391-420
- [51] Wold S. Personal memories of the early PLS development. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (2001) 58, p 83–84.
- [52] Sjoström M., Wold S., Lindberg W., Person J., Martens H. A multivariate calibration problem in analytical chemistry solved by partial least-squares models in latent variables. *Anal chim Acta*, (1983), vol 150, p 61-70.
- [53] Martens H., Jensen S.A. (1983, Amsterdam). *Progress in Cereal Chemistry and technology*, Proceeding, 7th World cereal and bread Congress, vol 5a Holas J et Kratochvil J., Eds (Elsevier Amsterdam, 1983)
- [54] Tenenhaus M. L'approche PLS. *Revue de Statistique Appliquée* 47, 2-55 (1999).
- [55] Tenenhaus M. *La régression PLS*, pp. 254 (Editions Technip, Paris, 1998).
- [56] Pizarro C., Rodríguez-Tecedor S., Pérez-del-Notario N., Esteban-Díez I and González-Sáiz J.M. Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. *Food Chemistry*, 138 (2013) 915–922
- [57] Fraley C., Raftery AE. Model-Based Clustering, Discriminant Analysis and Density Estimation. *Journal of the American Statistical Association*, 97 (2002) 611–612.
- [58] Terouzi W. Caractérisation Et Classification Des Olives Et Huiles D'olive Marocaines Par Spectroscopie Moyen Infrarouge Et Chimiométrie. Thèse de doctorat. Université Sultan Moulay Slimane (2013).
- [59] Martens H and Naes T. *Multivariate calibration*, Wiley & Sons, Chichester, (1989) 419. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 46 (1990) 1541.

- [60] Davies A.M.C. Cross validation, do we love it too much? *Spectroscopy Europe*, 18 (1998) 2.
- [61] Golbraikh A and Tropsha A. Beware of q^2 . *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20 (2002) 269–276.
- [62] Tropsha A and Golbraikh A. Predictive QSAR modeling workflow, model applicability domains and virtual screening. *Current Pharmaceutical Design*, 13 (2007) 3494-3504.
- [63] Cuny M. 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 (2008).
- [64] Reis N and al. Quantitative evaluation of multiple adulterants in roasted coffee by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and chemometrics. *Talanta*, 115 (2013) 563–568.
- [65] Quiñones-Islas N and al. Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. *Food Research International*, 51 (2013) 148–154.
- [66] Xu L and al. Rapid discrimination of pork in Halal and non-Halal Chinese ham sausages by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and chemometrics. *Meat Science*, 92 (2012) 506–510.
- [67] Oulahal N., Adt I., Mariani C., Carnet-pantiez A., Notz E., Degraeve P. Examination of wooden shelves used in the ripening of a raw milk smear cheese by FTIR spectroscopy. *Food control*. (2009), 20, p: 658-663.
- [68] EL bassbasi M., Kzaiber F., Ragno G. and Oussama, A. Classification of raw milk by Infrared Spectroscopy (FTIR) and chemometric. *Journal of scientific speculations and research*. (2010), 1, p: 28-33.
- [69] Bassbasi M., Hirri A and Oussama A. Caractérisation physico-chimique du lait cru dans la région de Tadla-Kelaa au Maroc: Application de l'analyse exploratoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. (2013), 2, p: 512-517.
- [70] Moros J., Iñón F., Garrigues S and De la Guardia M. Determination of the energetic value of fruit and milk-based beverages through partial-least-squares attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 538 (2005) 181-193.
- [71] De Luca M., Terrouzi W., Giuseppina I., Kzaiber F., Oussama A., Filomena O., Tauler R et Gaetano R. Derivative FT-IR spectroscopy for cluster analysis and classification of Moroccan olive oils. *Food Chemistry*, 124 (2011) 1113–1118.
- [72] Terrouzi W., De Luca M., Bolli A., Oussama A., Patumi M., Ioele G., 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.
- [73] Belton P.S., Wilson R.H., Sadeghi H., Orabchi J., Peers, K.E. A rapid method of the estimation of isolated trans double bonds in oils and fats using Fourier transform infrared spectroscopy combined with attenuated total reflectance. *Lebensm. Wiss. U, Technol.* (1988), 21, p: 153-157.
- [74] Elabadi F., Oussama A., Olivier D. Analysis of Argan Oil Adulteration Using Infrared Spectroscopy. *Spectroscopy Letters*, 45 (2012) 458–463.
- [75] Hirri A., Bassbasi M et Oussama A. Classification And Quality Control Of Lubricating Oils By Infrared Spectroscopy And Chemometric. *International Journal of Advanced Technology & Engineering Research* (2013), 359-62

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre 1 : Détermination de la teneur en huile dans les olives par spectroscopie moyen infrarouge couplée avec la PLS.

I. Introduction.

Le fruit d'olivier (*Olea europaea*) est considéré comme l'une des cultures les plus cultivées dans les pays du bassin méditerranéen [1]. Les produits de l'olivier, comme l'huile d'olive, les olives de table et pâtes d'olive constituent la base du régime méditerranéen en raison de leurs avantages pour la santé humaine, en plus d'autres applications telles que dans le domaine des cosmétiques. L'olive présente une variabilité génétique élevée avec plus de 2600 cultivars décrits [2]. Quelques-uns de ces cultivars sont trouvés sur de grandes zones de culture mais la plupart ont une distribution très locale [3]. Aujourd'hui, l'un des principaux problèmes de l'industrie agro-alimentaire est de définir des outils objectifs afin de déterminer le rendement de l'huile d'olive dans les fruits avant la récolte. La plupart des analyses utilisées pour la caractérisation des cultivars sont fastidieuses, coûteuses et impliquent une quantité considérable de travail manuel. Très souvent, le traitement chimique de l'échantillon complexe et l'utilisation d'instruments complexes sont nécessaires [4]. Récemment, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est devenue une technique d'analyse très acceptée, en raison de sa simplicité avec des avantages en termes de coût par échantillon. Elle est réalisée avec une grande vitesse et nécessite peu ou pas de préparation de l'échantillon. La spectroscopie FT-IR a été largement utilisée comme un outil d'analyse dans de nombreux laboratoires et des secteurs industriels tels que l'agroalimentaire [5-6], la pétrochimie [7-8], le textile [9] et la pharmacie [10]. Les données FT-IR ont été souvent combinées avec des techniques chimiométriques pour développer des méthodes de classification et de caractérisation. Cette approche a été trouvée pour être très utile dans de nombreuses applications, en raison de la capacité de ces procédés dans la réalisation de la résolution spectrale des signaux de FTIR. Jusqu'à présent, beaucoup d'études ont été publiées sur l'utilisation du proche et moyen FT-IR pour l'authentification, l'identification ou la classification de nombreux aliments, notamment les huiles d'olive [11-12] et les olives de table [13]. Par l'analyse statistique multivariée des données spectrales. FT-MIR a été appliquée à

des feuilles d'olivier pour discriminer entre cinq cultivars tunisiens [5], et de prédire leur composition nutritive [14].

Le but de cette étude est de développer, par spectroscopie FT-MIR associée au traitement chimiométrique, une méthode d'essai direct et rapide afin de quantifier la teneur en huile avant la récolte des fruits d'olive. Cette approche peut être considérée comme une méthode rapide, propre et abordable qui permet aux producteurs d'améliorer la récolte des fruits.

II. Matériels et méthodes

1. Echantillonnage

Les échantillons des fruits d'oliviers ont été collectés à partir d'un seul arbre d'olivier dans la région de Beni Mellal, au centre du Maroc, cultivé dans les mêmes conditions agronomiques et climatiques. Cette étude a été effectuée sur une période de 4 mois pour couvrir les périodes où le rendement d'huile passe de plus faible au plus élevé. Une série de 80 échantillons d'olives ont été utilisées. Avant extraction d'huile, les différents échantillons sont analysés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) dans le moyen infrarouge (MIR : de 4000 à 600 cm^{-1}). D'une manière aléatoire, les 80 échantillons sont divisés en deux groupes. Un ensemble de 50 échantillons servira pour construire le modèle de calibrage, tandis que le deuxième groupe de 30 échantillons (3 fois 10) a été utilisé pour la validation externe. En trois différentes étapes, on procède à une validation du modèle de calibration.

2. Analyses des échantillons par moyen infrarouge (MIR)

Un spectrophotomètre Bruker « Vector 22 » instrument équipé d'un détecteur DTGS, une source Global (IR) et un séparateur KBr Germanium, a été utilisé pour enregistrer les spectres MIR du fruit d'olivier. Les échantillons ont été scannés 98 fois dans la zone spectrale de 4000 cm^{-1} à 600 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} . La référence a été mesurée avant chaque analyse d'échantillon. Les échantillons d'olive sont déposés directement sur la surface centrale du diamant. Les mesures sont effectuées à température ambiante.

Le logiciel utilisé dans cette étude permet l'acquisition automatique des spectres sans aucune forme de manipulation de l'ordinateur qui peut nuire à la qualité des résultats. La transformée de Fourier est calculée automatiquement par le logiciel avant

l'acquisition des spectres. Le spectre de l'air a été pris comme référence avant chaque acquisition de spectres des échantillons. Entre spectres, la plaque ATR est nettoyée avec une solution d'éthanol, ce qui permet de sécher l'ATR. La propreté a été vérifiée par prélèvement d'un spectre de référence en le comparant avec le spectre de référence précédent.

3. Extraction d'huile par méthode de référence

L'huile d'olive est contenue dans de minuscules poches des cellules d'olives, appelées Vacuoles. Afin de récupérer cette huile, la paroi de la poche doit être brisée. Cette opération est appelée broyage. Dans la plupart des cas, les olives sont complètement écrasées, c'est à dire avec leur noyau. Cela nous donne une pâte ayant une consistance plus ou moins liquide, selon les variétés d'olives et la période de cueillette. Comme le broyage n'est pas suffisant pour briser toutes les vacuoles afin de libérer la quantité maximale d'huile, un malaxage est appliqué à la pâte. Ce dernier conduit à une pâte avec des matières solides (débris de noyaux, de l'épiderme, des parois des cellules, ...) et liquides (huile et eau de végétation, c'est à dire l'eau dans les cellules de l'olive). Après cela, vient la phase de séparation, qui consiste d'abord à séparer la partie solide (appelée grignon) de la partie liquide (appelée margine) et enfin à séparer l'huile de l'eau de végétation (la centrifugation). Dans cette étude la teneur en huile est obtenue en utilisant 250 grammes du fruit d'olivier.

4. Méthodes chimométriques appliquées

4.1- Regression des moindres carrés partiels (PLS)

La PLS [15] tente à 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.

Etant donné que les données spectrales FT-MIR (la matrice des **X**) contient des informations quantitatives qui sont pertinentes, un modèle de calibration adéquat peut être utilisé pour extraire cette information et de prévoir le pourcentage de variables de réponse **Y** (teneur en huile).

Dans cette étude, les spectres MIR recueillis seront utilisés comme matrice **X**, et les teneurs en huile des différents échantillons, estimés par la méthode d'extraction, seront utilisées comme vecteur de **Y**. Le choix du nombre optimal de variables latentes se fait en utilisant la méthode de Validation Croisée Totale.

4.2- Paramètres statistiques

L'évaluation de la qualité des modèles obtenus a été discutée en comparant différents paramètres obtenus comme la limite de détection (LOD) [16], le coefficient de détermination, l'erreur quadratique moyenne de calibration ou de prédiction (RMSEC et RMSEP). Dans ce travail, le calcul des erreurs de prédiction relatives en pourcentage (ER%) des concentrations est également proposé.

4.3- Logiciels

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

III. Résultats et discussions

1. Acquisition des spectres MIR

Les spectres obtenus, sont caractérisés par de nombreuses bandes caractéristiques de l'interaction du rayonnement infrarouge avec les différents composants du fruit d'olivier. La figure II.I.1 représente un spectre MIR d'un échantillon d'olive dans la gamme spectrale de 4000 cm^{-1} à 600 cm^{-1} .

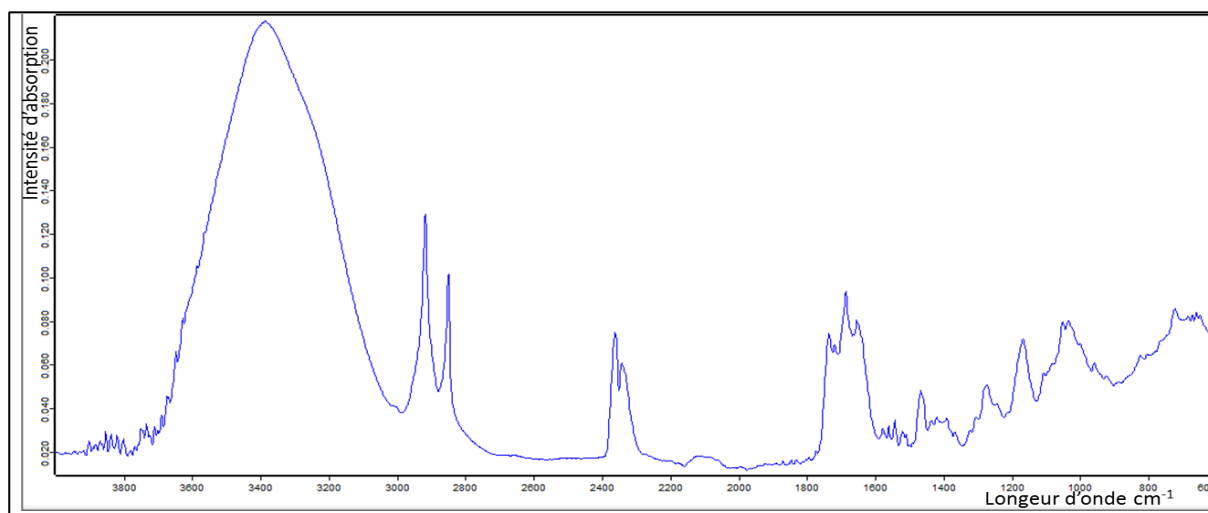


Figure II.I. 1: Spectre moyen infra rouge du fruit d'olivier dans la gamme spectrale $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$.

Nous avons utilisé toute la gamme spectrale 4000-600 cm^{-1} en tant que point de départ de l'enquête. D'après la littérature [17], la région entre 2400 et 2300 cm^{-1} a été éliminée avant l'élaboration chimométrique car le rapport signal/bruit est faible et la variation de signal donnée est indépendante de la composition de l'échantillon. La région entre 4000 et 3033 cm^{-1} est également supprimée en raison de l'eau qui est le bruit instrumental et apporte des informations inutiles [18].

Sur les spectres, les vibrations caractéristiques des liaisons C-H des groupements méthyle ($-\text{CH}_3$) et méthylène ($-\text{CH}_2$) de la matière grasse, sont des vibrations d'élongation asymétriques (à 2960 cm^{-1}) et symétriques (à 2860 cm^{-1}). La bande spectrale à environ 1750 cm^{-1} est dominée par la vibration d'élongation de la liaison C=O de la fonction ester présente dans la fraction grasse (triglycérides). Les bandes de 1480 à 1450 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations de flexion de la $-\text{CH}_2$ $-\text{CH}_3$ et des groupes aliphatiques [19].

Généralement, il y a une vibration d'élongation du groupe OH à 3400 cm^{-1} . Il s'agit d'une bande caractéristique de l'eau. La zone spectrale 3000-2800 cm^{-1} comporte des bandes caractéristiques des lipides. Tandis que la partie 1200- 900 cm^{-1} comporte des bandes attribuables au sucre. Alors que la bande du gaz CO_2 est observable à 2350 cm^{-1} .

Les examens visuels des variations spectrales ne permettent pas d'appréhender clairement la différence entre la structure chimique et la concentration de l'espèce chimique dans les olives. Des traitements chimométriques sont, souvent, appliqués afin d'extraire des informations de l'ensemble des données spectrales.

2. Elaboration du modèle de calibration

Huit modèles différents sont construits avec les échantillons du lot d'étalonnage, constitué de 50 échantillons. Ces derniers sont analysés par la spectroscopie MIR et par la méthode de référence. Le tableau II.I.1 présente les résultats obtenus lorsque les données sont traitées et analysées par la méthode PLS.

Tableau II.I. 1: Paramètres statistiques obtenus par modélisations PLS lors de la calibration.

		PLS avec validation croisée totale				
		Teneur en huile (8 à 21%)				
Prétraitements	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nbr de LVs	R ² _c	RMSEC	R ² _{cv}	RMSEC _v
Spectres brutes	4000-600 ^a	7	0,9986	0,5460	0,9971	0,7473
	3033-2400 ; 2300-600 ^a	7	0,9985	0,5482	0,9978	0,6997
Normalisation	4000-600 ^a	7	0,9982	0,3904	0,9977	0,5200
	3033-2400 ; 2300-600 ^a	7	0,9992	0,3892	0,9986	0,5175
Centralisation	4000-600 ^a	7	0,9757	0,3752	0,9575	0,5069
	3033-2400 ; 2300-600 ^a	7	0,9611	0,4754	0,9082	0,7450
données centrés normés	4000-600 ^a	7	0,9686	0,4270	0,9507	0,5377
	3033-2400 ; 2300-600 ^a	7	0,9774	0,3623	0,9409	0,5667

LVs est le nombre de variables latentes; R²_c et R²_{cv} sont les coefficients de détermination de calibration et de validation croisée respectivement; RMSEC et RMSEC_v sont l'erreur de calibration et de validation croisée respectivement;

^a : zone spectrale exploitée.

Dans le tableau ci-dessus, on constate que les erreurs de calibration et de validation croisée varient significativement. Les RMSEC varient de 0,3623% à 0,5482% alors que les RMSEC_v varient de 0,5069% à 0,7473%.

Ainsi, les R²_c et R²_{cv} sont significativement variables en fonction des prétraitements et la zone spectrale exploitée. Par application de la PLS, les R²_c sont compris entre 0,9611 et 0,9992 et les R²_{cv} varient de 0,9082 à 0,9986.

Le nombre optimal de variables latentes (LVs) a été choisi selon la méthode de validation croisée totale en se basant sur l'erreur minimum de RMSEC_v. Il n'est pas possible de savoir à priori lequel des prétraitements et la zone spectrale donneront les meilleurs résultats. Par conséquent, la solution est de tester de manière systématique les différents prétraitements et de sélectionner celui donnant l'erreur standard la plus faible. En générale, Les zones 3033-2400 cm⁻¹ et 2300-600 cm⁻¹ ont donné une valeur de RMSEC inférieure à celle donnée par la zone 4000-600 cm⁻¹.

Les meilleurs résultats de coefficient de détermination de calibration R^2_c (0,9992), de **RMSEC** (0,3892), de R^2_{cv} (0,9986) et de **RMSECV** (0,5175) ont été obtenus avec un prétraitement de normalisation dans les régions de 3033-2400 cm^{-1} et 2300-600 cm^{-1} .

Les coefficients de détermination (les R^2_c et les R^2_{cv}) sont proches de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs prédites de la teneur en huile dans le fruit d'olivier.

La figure II.I.2 représente les valeurs prédites par le modèle PLS en fonction des valeurs de référence.

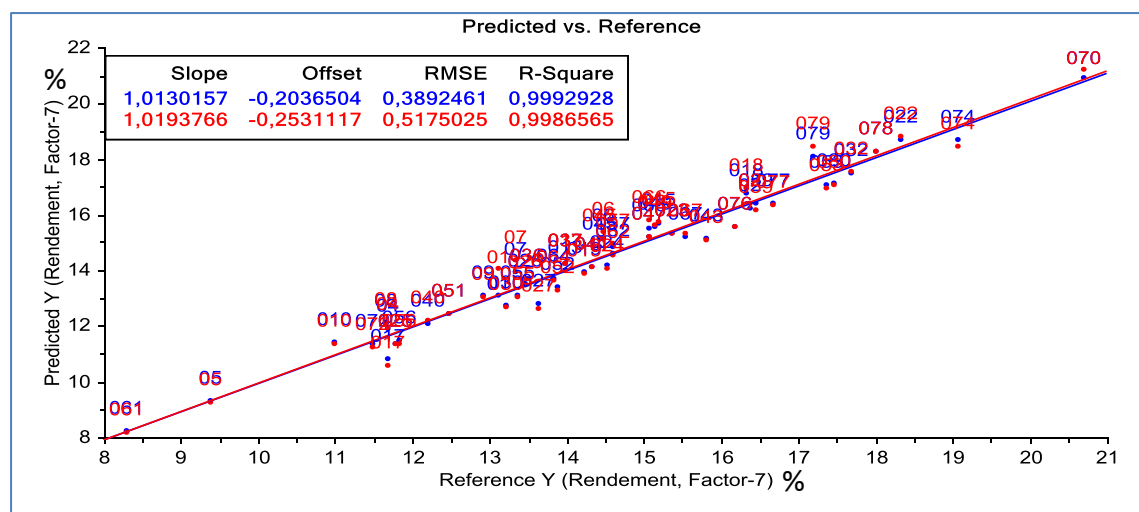


Figure II.I. 2: valeurs de référence vs prédites du rendement d'huile dans l'étape de calibration (bleu) et dans l'étape de validation croisée (rouge) ; quand PLS est appliquée sur les données spectrales normalisées dans la zone 3033-2400 cm^{-1} , 2300-600 cm^{-1} .

La linéarité du modèle PLS est bien vérifiée (Figure II.I.2). Tous les échantillons sont localisés le long de la ligne calibration et validation croisée totale.

Une faible valeur de R^2_c dans l'étape de calibration servira comme indicateur d'une faible capacité prédictive d'un modèle, alors qu'une valeur proche de 1 de R^2_c n'implique pas automatiquement une forte capacité prédictive du modèle. Un coefficient de détermination (R^2_c et R^2_p) proche de 1, est une condition nécessaire mais pas suffisante [20-21].

Il n'est pas possible de savoir a priori lequel des modèles donnera des résultats de prédiction robustes. La solution est de tester de manière systématique les différents

modèles sur un lot d'échantillons externe (validation externe) et de sélectionner celui donnant l'erreur de prédiction la plus faible.

3. Validation externe : détermination de la teneur en huile pour des nouveaux échantillons.

Les modèles de calibration obtenus ont été appliqués sur trois groupes des échantillons de validation externe. Chaque groupe est composé de 10 échantillons. Les résultats de la validation externe sont résumés dans le tableau II.I.2.

Tableau II.I. 2: Paramètres statistiques obtenus par modélisation PLS de la teneur en huile, lors de la validation externe.

Validation externe de la teneur en huile par PLS						
Modèles	Prétraitement	Range spectrale (cm ⁻¹)	R ² _p	RMSEP (%)	RE%	LOD (%)
Val 1	Normalisation	4000-600 ^a	0,968	0,488	3,440	1,460
		3033-2400, 2300-600 ^a	0,997	0,053	0,373	0,159
Val 2	Normalisation	4000-600 ^a	0,992	0,269	1,790	0,807
		3033-2400, 2300-600 ^a	0,999	0,014	0,093	0,042
Val 3	Normalisation	4000-600 ^a	0,983	0,293	1,943	0,882
		3033-2400, 2300-600 ^a	0,999	0,020	0,132	0,060
Moyen de trois validations	Normalisation	4000-600 ^a	0,98±0,0169	0,281± 0,016	2,391± 0,911	1,049± 0,357
		3033-2400, 2300-600 ^a	0,998±0,001	0,017± 0,004	0,199± 0,151	0,087± 0,063

RMSEP est l'erreur liée à la prédiction (validation externe); **R²_p** est le coefficient de détermination de prédiction (validation externe); **RE%** est l'erreur relative de prédiction en % ; **LOD** est la limite de détection en % ;

^a : zone spectrale exploitée;

Les modèles PLS ont été établis sur trois différents ensembles externes de données. Sur le tableau ci-dessus, les **R²_p**, **ER%**, **LOD** et **RMSEP** sont variables en fonction de la zone spectrale utilisée.

Dans les trois tests de validations, les erreurs de prédiction (**RMSEP**) varient de 0,014 à 0,488 % et les erreurs relatives de prédiction (**ER%**) varient de 0,093 à 3,440.

Ainsi, les coefficients de détermination (R^2_p) sont compris entre 0,968 et 0,999, alors que les limites de détection (**LOD**) sont comprises entre 0,042 et 1,460 %.

Le meilleur modèle PLS (avec **ER** en %, **LOD** les plus faibles), a été établi avec les données spectrales MIR dans la zone de 3033-2400, 2300-600 cm^{-1} (tableau II.I.3) avec un prétraitement de normalisation.

Tableau II.I. 3: Paramètres statistiques obtenu par modélisations PLS des données MIR dans la gamme spectrale de 3033-2400, 2300-600 cm^{-1} avec un prétraitement de normalisation.

Validation externe de la teneur en huile par PLS					
Modèles	LVs	R^2_p	RMSEP	RE%	LOD
Val 1	7	0,998	0,053	0,373	0,159
Val 2	7	0,999	0,014	0,093	0,042
Val 3	7	0,999	0,02	0,132	0,060
Moyen de trois validations	7	0,998±0,001	0,017± 0,004	0,199± 0,151	0,087± 0,063

Dans le tableau ci-dessus, la première validation externe (Val 1) a donné un coefficient de détermination (R^2_p) de l'ordre de 0,998, une erreur de prédiction (**RMSEP**) de l'ordre de 0,053 %, une erreur relative de prédiction (**RE%**) égale à 0,373 % et la limite de détection (**LOD**) est égale à 0,159 %. La seconde validation (Val 2) a donné un R^2_p de l'ordre de 0,999, un **RMSEP** égal à 0,014 %, une **RE%** de l'ordre de 0,093 % et une **LOD** est égale à 0,042 %. La troisième validation (Val 3) a donné un R^2_p de 0,999, **RMSEP** de l'ordre de 0,02 %, une **RE%** égale à 0,132 % et la **LOD** est égale à 0,060 %.

La moyenne de ces trois validations en terme de R^2_p est égale à 0,998±0,001, en terme de **RMSEP** est égale à 0,017± 0,004, le **RE%** est égale à 0,199± 0,151, et la **LOD** est égale à 0,087± 0,063 %.

Les coefficients de détermination de prédiction sont proches de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs prédites par SMIR. Ainsi que, la linéarité du modèle PLS préétabli est bien vérifiée. Les figures II.I.3,

II.I.4 et II.I.5 représentent les valeurs prédites par le modèle PLS en fonction des valeurs de référence dans l'étape de validation externe.

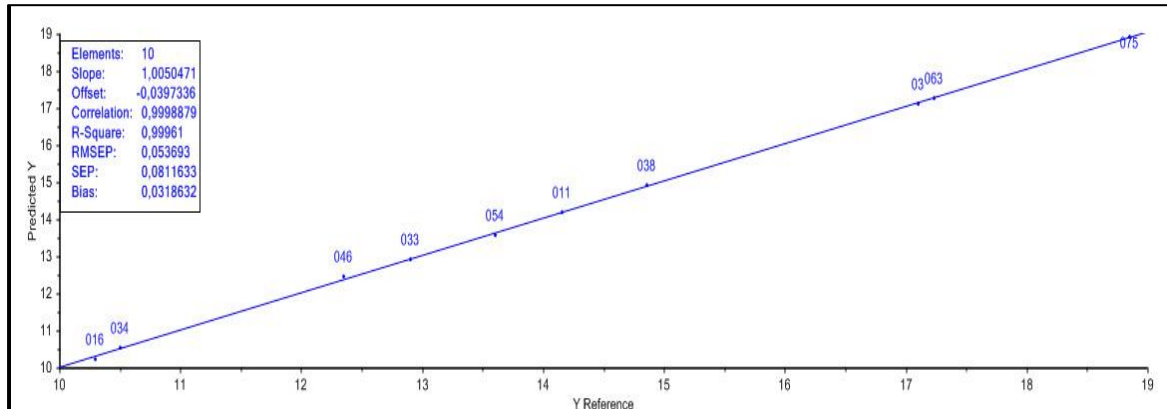


Figure II.I. 3: Valeur de référence vs prédites de la teneur en huile dans le fruit d'olivier à l'étape de validation externe (Val 1).

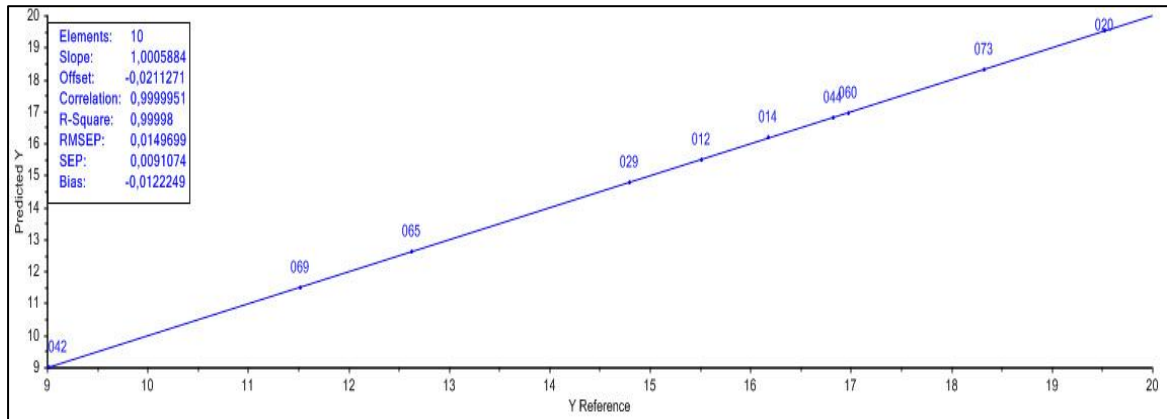


Figure II.I. 4: Valeur de référence vs prédites de la teneur en huile dans le fruit d'olivier à l'étape de validation externe (Val 2).

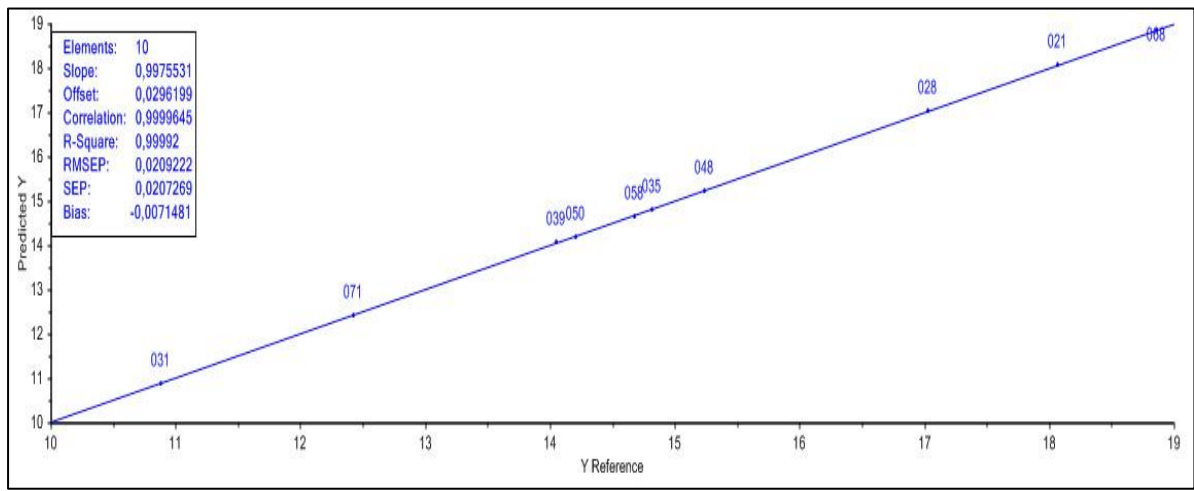


Figure II.I. 5: Valeur de référence vs prédites de la teneur en huile dans le fruit d'olivier à l'étape de validation externe (Val 3).

Dans les trois figures ci-dessus, la linéarité du modèle PLS est bien vérifiée, tous les échantillons sont localisés le long de la ligne de calibration. Les valeurs prédites et les valeurs de référence sont présentées dans le tableau II.I.4.

Tableau II.I. 4: Comparaison des valeurs de références vs prédites des modèles de tests de validation externe.

val 1				val 2				val 3			
Echantillons	Predi.	Ref.	Ecart	Echantillons	Predi.	Ref.	Ecart	Echantillons	Predi.	Ref.	Ecart
3	17,12	17,1	0,02	21	18,06	18,07	-0,01	12	15,5	15,51	-0,01
11	14,19	14,16	0,03	28	17,03	17,07	-0,04	14	16,18	16,34	-0,16
16	10,24	10,3	-0,06	31	10,88	10,9	-0,02	20	19,52	19,53	-0,01
33	12,94	12,9	0,04	35	14,81	14,82	-0,01	29	14,8	14,89	-0,09
34	10,52	10,5	0,02	39	14,09	14,05	0,04	42	9	9,02	-0,02
38	14,93	14,86	0,07	48	15,23	15,24	-0,01	44	16,81	16,82	-0,01
46	12,46	12,35	0,11	50	14,18	14,2	-0,02	60	16,96	16,98	-0,02
54	13,62	13,6	0,02	58	14,65	14,68	-0,03	65	12,6	12,63	-0,03
63	17,27	17,24	0,03	68	18,83	18,86	-0,03	69	11,51	11,52	-0,01
75	18,91	18,85	0,06	71	12,41	12,43	-0,02	73	18,3	18,32	-0,02

Dans le tableau II.I.4, l'écart entre valeur prédite et valeur de référence pour le modèle PLS varie de -0,06 à 0,11 pour la première validation externe (val 1), varie de -0,04 à 0,04 pour la seconde (val 2) et varie de -0,09 à -0,01 pour la troisième (val 3).

Les écarts obtenus des trois validations externes (qui sont séparés dans le temps) prouve la reproductibilité du modèle de calibration préétabli.

IV. Conclusion

Dans ce travail, la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) a été utilisée pour modéliser et prédire la teneur en huile dans les fruits d'olivier avant la récolte, en se basant sur les données spectrales (spectres FT-MIR) du fruit d'olivier.

Les résultats de la prédiction obtenus en utilisant la technique de régression PLS ont donné de bonnes estimations de la teneur en huile, avec de très faibles erreurs ($0,017 \pm 0,004$), des erreurs relatives de $0,199 \pm 0,151$ %, des coefficients de détermination de $0,998 \pm 0,001$ et la limite de détection est de $0,087 \pm 0,063$ % sur les gammes spectrales $3033-2400 \text{ cm}^{-1}$ et $2300-600 \text{ cm}^{-1}$.

Cette étude montre que la spectroscopie FT-MIR couplée à la PLS, est une méthode adéquate pour la quantification de la teneur en huile dans les fruits d'olivier avant la récolte sans aucune manipulation destructrice de l'échantillon, moins coûteuse et non polluante. Globalement, la performance du modèle PLS préétabli était très reproductible et robuste.

Après avoir proposé une méthode efficace pour quantifier la teneur en huile dans les fruits d'olivier, nous allons, dans le chapitre suivant, classifier les quatre grades de qualité d'huile d'olive vierge par utilisation de la spectroscopie MIR couplée à la PLS-DA.

V. Références

- [1] Amane M., Lumaret R., Hany V., Ouazzani N., Debain C., Vivier G. and Deguilloux M.F. (1999). Chloroplast-DNA variation in cultivated and wild olive (*Olea europaea* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 99: 133-139.
- [2] Tous J., Romero A and Barronco D.(1990). Olive cultivars in Catalonia (Spain). *Acta Hort*, 286, 129-132
- [3] Besnard G., Breton C., Baradat P., Khadari B and Bervillé A. (2001). Cultivar identification in the olive (*Olea europaea* L.) based on RAPDS. *J Amer Hort Science*; 126 : 668-75.
- [4] Bassbasi M., Platikanov S., Tauler R and Oussama A. (2014). Determination of Solid Non Fat (SNF) in raw milk using PLS and SVM chemometric methods. *Food Chemistry* 146: 250-254.
- [5] Aouidi F., Dupuy N., Artaud J., Roussos S., Msallem M., Perraud-Gaime I and Hamdi M. (2012). Discrimination of five Tunisian cultivars by Mid InfraRed spectroscopy combined with chemometric analyses of olive. *Food Chemistry* 131 (1): 360-366.
- [6] De Luca M., Terouzi W., Ioele G., Kzaiber F., Oussama A., Oliverio F., Tauler T and Ragno G. (2011). Derivative FTIR spectroscopy for cluster analysis and classification of Moroccan olive oils. *Food Chemistry* 124: 1113–1118.
- [7] Bassbasi M., Oussama A., Hafid A., Platikanov S and Tauler R. (2013). Study of motor oil adulteration by infrared spectroscopy and chemometrics methods. *Fuel* 104: 798-804.
- [8] Roman M.B and Ravilya Z.S. (2008). Gasoline classification by source and type based on near infrared (NIR) spectroscopy data. *Fuel* 8: 1096–1101.
- [9] Langeron Y., Doussot M., Hewson D.J and Duchêne J. (2007). Classifying NIR spectra of textile products with kernel methods. *Engineering Applications of Artificial Intelligence* 20 (3): 415–427.
- [10] Wu Y.W., Sun S.Q., Zhou Q and Leung H.W. (2008). Fourier transforms Mid Infrared (MIR) and Near Infrared (NIR) spectroscopy for rapid quality assessment of Chinese medicine preparation Honghua Oil. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 46 (3): 498–504.
- [11] Sinelli N, Cerretani L., Di Egidio V., Bendini A and Casiraghi E. (2010). Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. *Food Research International* 43 (1): 369-375.
- [12] Sinelli N., Casale M., Di Egidio V., Oliveri P., Bassi D.,Tura D and Casiraghi E. (2010). Varietal discrimination of extra virgin olive oils by near and mid infrared spectroscopy. *Food Research International* 43 (8): 2126-2131.
- [13] Casale M., Zunin P., M. Elisabetta Cosulich, Pistarino E., Perego P and Lanter S. (2010). Characterization of table olive cultivar by NIR spectroscopy. *Food Chemistry* 122: 1261-1265.
- [14] Fernandez-Cabanás V.M., Garrido-Varo A., Delgado-Pertinhez M and Gómez-Cabrera A. (2008). Nutritive evaluation of olive tree leaves by near-infrared spectroscopy: effect of soil contamination and correction with spectral pretreatments. *Appl Spectrosc* 62 (1): 51-58.
- [15] Geladi P and Kowalski B. (1986). Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185: 1–17.
- [16] Faber N.M, Duewer D.L and Chesler S.N (1998). Characterizing the uncertainty in near infrared spectroscopic prediction of mixed-oxygenate concentrations in gasoline: sample-

- specific prediction intervals. *Anal. Chem*, 70: 2972-2982.
- [17] Terouzi W., De Luca M., Bolli A., Oussama A., Patumi M., Ioele G and 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.
- [18] Dupuy N., Galtier O., Ollivier D., Vanloot P and Artaud J. (2010). Comparison between NIR, MIR, concatenated NIR and MIR analysis and hierarchical PLS model. Application to virgin olive oil analysis. *Analytica Chimica Acta* 666 : 23–31.
- [19] Shiroma C and Rodriguez-Saona L. (2009). Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips. *Journal of Food Composition and Analysis* 22 : 596–605.
- [20] Golbraikh A and Tropsha A. (2002). Beware of q^2 . *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20: 269 –276.
- [21] Kubinyi H, Hamprecht A and Mietzner F. (1998). Three-dimensional quantitative similarity–activity relationships (3D QSAR) from SEAL similarity matrices. *J. Med. Chem*, 41: 2553–2564.

Chapitre 2 : Classification et contrôle de qualité d'huile d'olive vierge de la Picholine Marocaine par utilisation de la spectroscopie infrarouge et les méthodes chimiométriques.

I. Introduction

L'huile d'olive vierge (VOO) est le jus obtenu à partir de fruits frais d'oliviers, en utilisant uniquement des procédés mécaniques et physiques (broyage, malaxage, pressage et de centrifugation). L'huile d'olive vierge est largement connu par son délicieux goût et arôme et constitue la base du régime méditerranéen [1, 2].

L'huile d'olive vierge est un produit avec une grande valeur nutritive et des avantages sanitaires importants [3]. Le Conseil oléicole international (COI) [4] définit quatre catégories de qualité pour VOO (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].

Plusieurs techniques d'analyse ont été mises au point pour la détection et la quantification de la falsification et l'authentification d'huile d'olive, 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. FTIR 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

fraicheur et l'oxydation [19, 20, 21, 22] et aussi pour étudier les contraintes thermiques [23].

C'est dans ce cadre, une partie importante du présent travail a porté essentiellement sur l'étude de la qualité d'huile d'olive vierge de la variété Picholine Marocaine. Dans la première partie, nous avons réalisé une étude qui porte sur l'analyse de 70 échantillons d'huile d'olives par analyses physicochimiques, dans la deuxième partie de ce travail nous avons étudié l'utilisation potentielle de la méthode PLS2-DA couplée à la technique de spectroscopie FT-MIR, comme un outil analytique alternative non-destructive et rapide pour le contrôle de la qualité de l'huile d'olive vierge.

II. Matériels et méthodes

1. Echantillonnage.

Après une étude sur la qualité de l'huile d'olive vierge dans la région de Beni Mellal (centre du Maroc), un ensemble de 70 échantillons d'huile (extraite par la méthode de presse mécanique) est collecté entre octobre 2013 et février 2014. Ce travail présente les résultats de deux types d'analyse : l'analyse physico-chimique des VOO 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 des huiles.

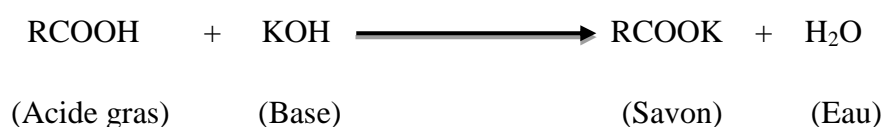
2.1.1- Détermination de l'indice d'acidité.

C'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 [24]. 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 C.O.I. [25] 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 (0,1N) 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'indice d'acidité est déterminé selon la formule suivante:

$$\text{Acidité (\%)} = \frac{V \times N \times 282,5}{1000 \times m} \times 100$$

Avec :

m : Masse de la prise d'essai en grammes ;

N : Normalité de la solution d'hydroxyde de potassium ;

V : Volume de titrage en ml ;

282,5 : Masse molaire de l'acide oléique en g/mol.

2.1.2-Détermination de l'Indice de peroxyde (Ip)

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, c'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 hydrocétone (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 déterminée selon la méthode C.O.I [25] : 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 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. Un essai à blanc sans le corps gras est effectué parallèlement au premier essai.

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

$$IP \text{ (méq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}) = \frac{(V - V_0) \times N \times 1000}{m}$$

Avec,

m : Prise d'essai en grammes ;

N : Normalité de Na₂S₂O₃ ;

V : Nombre de ml de Na₂S₂O₃ versés au titrage ;

V₀ : Nombre de ml de Na₂S₂O₃ utilisés pour le blanc.

2.1.3- Analyse spectrophotométrique dans l'Ultraviolet

La spectrophotométrie UV est utilisée pour déceler les composés oxydés anormaux dans une huile d'olive vierge. Cette huile accuse un pic d'absorption à 203-208 nanomètre 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 ≤ 20 méq O₂/Kg d'huile ne signifient pas toujours l'absence du phénomène d'oxydation. Le recours à la détermination des coefficients d'extinction spécifique (K₂₃₂, K₂₇₀) d'absorbance dans l'ultraviolet, renseigne sur la présence ou l'absence de produits d'oxydation secondaire dans l'huile [26, 27].

Les coefficients d'extinction spécifique K₂₃₂ et K₂₇₀ 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 C.O.I [25] : 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.

$$A(\lambda) = \epsilon \cdot l \cdot C$$

Avec,

A (λ) : L'absorbance à la longueur d'onde λ ;

C: La concentration, en grammes par 100 ml, de l'échantillon ;

l: L'épaisseur de la cuve ;

ϵ : Le coefficient d'extinction molaire.

Cette analyse prévoit aussi la détermination de la variation de l'extinction spécifique ΔK selon l'équation suivante : $\Delta K = K_m - (K_{m-4} + K_{m+4}) / 2$ où K_m est l'extinction spécifique à la longueur d'onde d'absorbance maximale m, aux environs de 270 nm.

2.1.4- Dosage des polyphénols totaux

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 [28] a été utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols totaux. 1 ml d'huile et mélangé avec 9 ml d'un mélange d'eau/méthanol (25/75). Le mélange est placé au vortex pendant 1 min pour extraction des polyphénols dans le milieu méthanolique, puis 1 ml de dichlorométhane est ajouté pour permettre à la partie huileuse de passer dans la phase inférieure et faciliter ainsi le recueil de 9 ml de surnageant méthanolique. 1 ml de réactif de Folin dilué 10 fois dans l'eau est ajouté et le mélange est laissé 2 min à température ambiante (25°C) avant d'ajouter 1 ml 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:

$$y = 1,665x \text{ (R}^2 = 0,9913\text{)}.$$

2.2-Instrumentation moyen infrarouge.

Un spectrophotomètre Bruker « Vector 22 » instrument équipé d'un détecteur DTGS, une Source Globar (IR) et 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 d'analyse.

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 que cités 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 décorréelées les unes des autres, nommées "composantes principales".

Il s'agit d'une approche à la fois statistique, parce qu'elle permet la recherche de composantes indépendantes afin d'expliquer au mieux la variabilité des données et permet la représentation des données dans un espace géométrique, en fonction des directions d'inertie maximale [29].

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 [30]. 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 [31, 32]. 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.

III. Résultats et discussions.

1. Evaluation des analyses des huiles

1.1-Indice d'acidité

Les valeurs de l'indice d'acidité des échantillons étudiés sont comprises entre 0,54 et 4,46 % avec une moyenne 2,17 et un écart-type de 1,05.

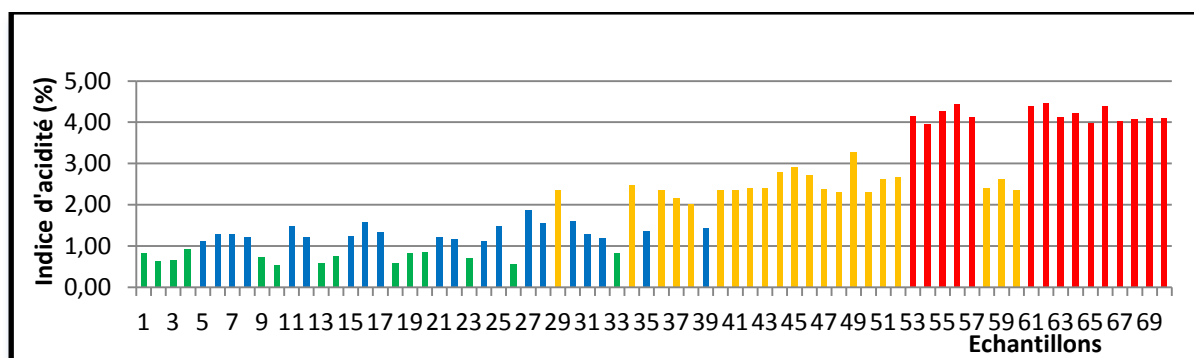


Figure II.II. 1: Indice d'acidité pour les différents échantillons.

On remarque que l'acidité des échantillons marqués en rouge (figure II.II.1) est élevée et dépasse les limites établies par le COI (2013), qui ne dépasse pas 3,3%. 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 quatre catégories selon la qualité (figure II.II. 1) :

- Groupe des échantillons extra vierge dont l'acidité est inférieure à 0,8% (couleur vert)

- Groupe des échantillons vierge dont l'acidité est inférieure à 2% (couleur bleu)
- Groupe des échantillons vierges courants dont l'acidité est inférieure à 3,3% (couleur orange)
- Groupe des échantillons vierges lampants dont l'acidité est supérieure à 3,3% (couleur rouge)

1.2-Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde varie de 1,78 pour l'échantillon 32 (qui présente la valeur la plus faible) à 24,82 meq.O₂/Kg pour l'échantillon 70 (qui présente la valeur maximale), la valeur moyenne et l'écart-type sont respectivement de l'ordre de 11,23 et 6,05 meq.O₂/Kg.

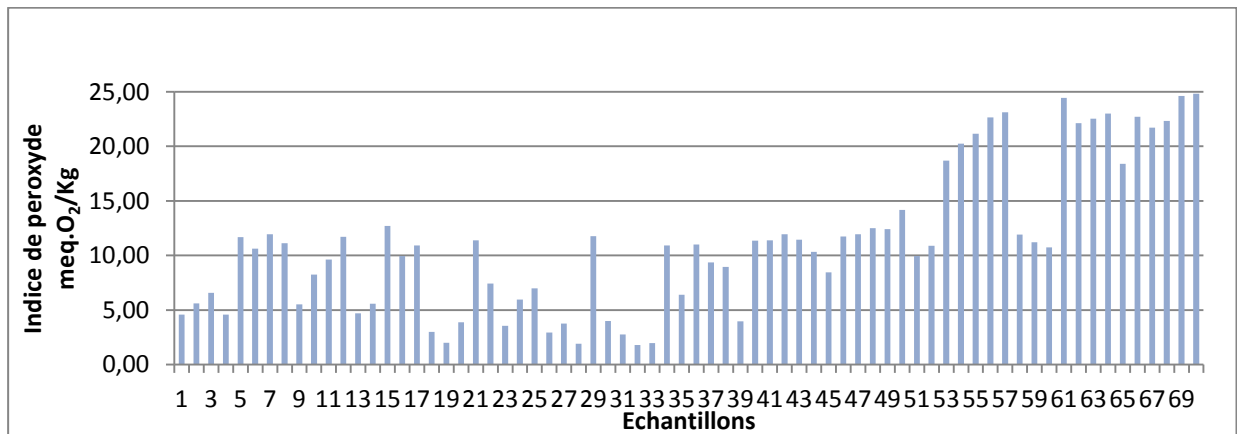


Figure II.II. 2: Indice de peroxyde pour les différents échantillons.

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 figures II.II.2 montre que les échantillons 54, 55, 56, 57, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 69 et 70 ont un indice de peroxyde supérieur à 20 meq.O₂/Kg, cela peut être dû au mauvais stockage et traitement des fruits, et aussi à la sur- maturation.

Selon la norme commerciale applicable aux huiles d'olives on peut dire que la majorité des échantillons étudiés est propre à la consommation sauf les échantillons dont l'indice de peroxyde est supérieur à 20 meq.O₂/Kg.

1.3-Coefficients d'extinction K_{232} , K_{270} 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 elle 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 II.II.3 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.

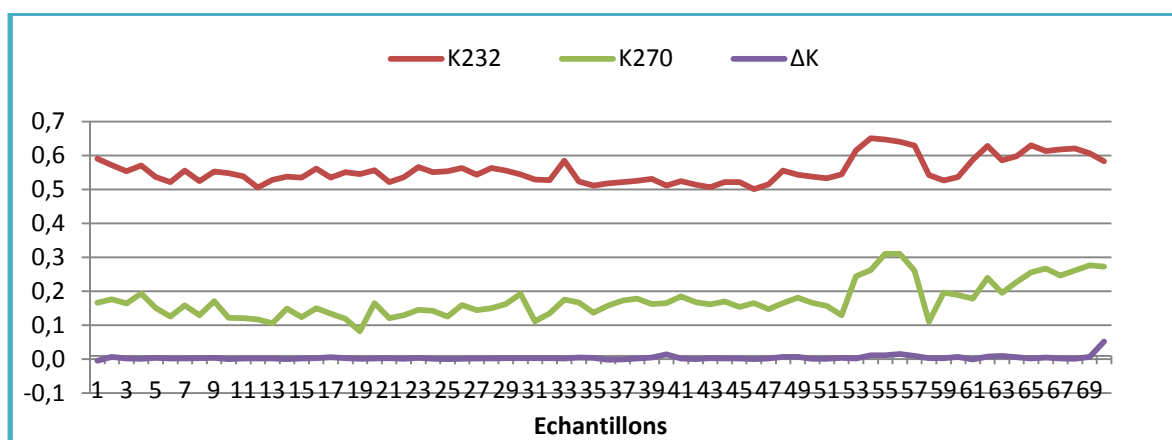


Figure II.II. 3: Coefficients K_{232} , K_{270} et ΔK pour les différents échantillons.

Nous remarquons d'après la figure II.II.3 que les valeurs de K_{232} varient de 0,50 à 0,65 avec une moyenne de 0,55 et un écart-type de 0,038.

Les valeurs de K_{270} varient de 0,08 à 0,31 avec une moyenne de 0,17 et un écart-type de 0,05.

Les valeurs de ΔK varient de -0,004 à 0,05 avec une moyenne de 0,004 et un écart type de 0,006.

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 1,18 à 9,34 g/l (figure II.II.4). Ces échantillons présentent une moyenne de 5,75 g/l.

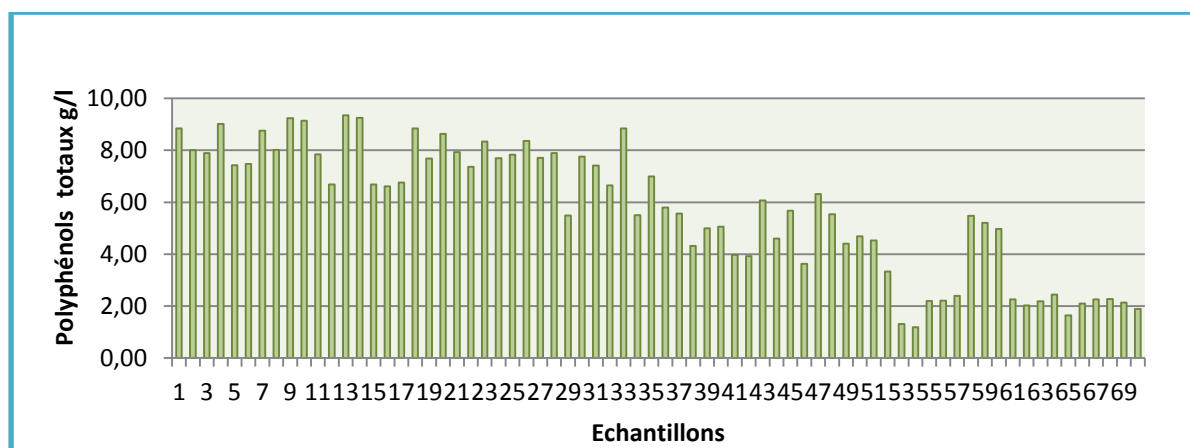


Figure II.II. 4: Teneur en polyphénols totaux de tous des échantillons.

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 essentiellement de la présence d'inhibiteurs naturels qui sont les composés phénoliques.

D'après la figure II.II.4 on remarque que la plupart des échantillons ont des teneurs importantes en composés phénoliques, sauf les échantillons 54, 55, 56, 57, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 69 et 70 dont l'indice de peroxyde est supérieur à 20 meq O₂/Kg, ils ont des teneurs faibles en polyphénols totaux.

1.5-Bilan des analyses analytiques

Nous avons étudié les caractéristiques de 70 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 2,17 %, une valeur d'indice de peroxyde qui est en moyenne de 11,23 meq.O₂/Kg , une teneur en polyphénols totaux qui est en moyenne de 5,75 g/l, un indice K₂₃₂ qui est en moyenne de 0,55, un indice K₂₇₀ et ΔK qui sont respectivement en moyenne de 0,17 et 0,004.

En se basant sur ces résultats, et d'après la norme du conseil oléicole international COI (2013), tous les échantillons sont classés en quatre catégories selon leur qualité qui sont : vierge extra, vierge, vierge courante et vierge lampante (tableau II.II.1).

Tableau II.II. 1: Catégorie de qualité des différents échantillons.

Echantillons	Catégorie
01, 02, 03, 04, 09, 10, 13, 14, 18, 19, 20, 23, 26 et 33	Vierge Extra
05, 06, 07, 08, 11, 12, 15, 16, 17, 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 32, 35 et 39	Vierge
29, 34, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 58, 59 et 60	Vierge Courante
53, 54, 55, 56, 57, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 et 70	Vierge Lampante

2. 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 chimiométriques.

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 II.II.5 illustre les spectres FTIR moyens des huiles étudiées. Les régions spectrales peuvent être divisées de la manière suivante : Dans la région spectrale $3000-2800\text{ cm}^{-1}$, 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 $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ [33].

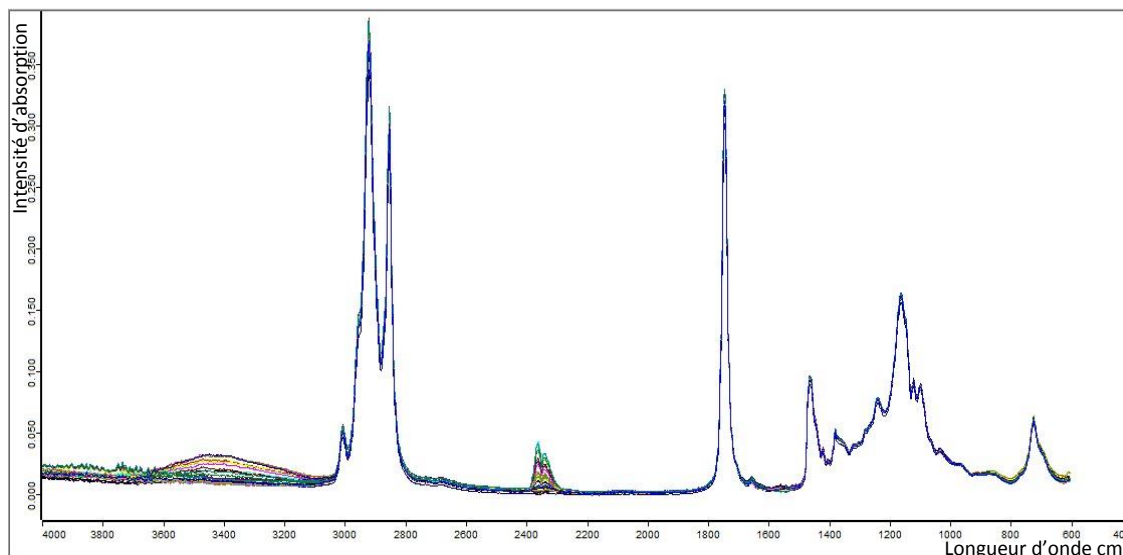


Figure II.II. 5: Spectres moyens infrarouge des échantillons d'huile d'olive vierge dans la gamme spectrale $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$

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 $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ a été utilisée comme un point de départ pour l'enquête. Selon la littérature [34], la zone comprise entre 2400 et 2300 cm^{-1} est à éliminer avant l'élaboration chimiométrique 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.

3. Evaluation chimiométrique

3.1- Analyse exploratoire des données

3.1.1- Application de l'ACP sur les caractéristiques physico-chimiques

Après analyse des 70 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 :

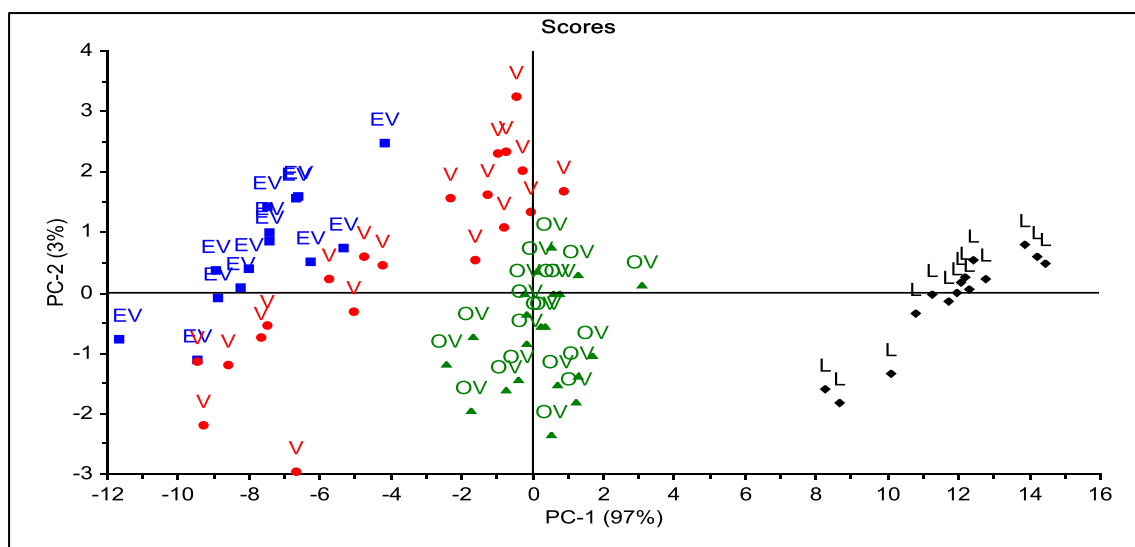


Figure II.II. 6: Plot des scores (PC1 vs PC2) d'analyses ACP des caractéristiques physicochimiques des huiles.

Le graphe des scores, montre la répartition des échantillons selon les composantes PC1 et PC2, avec un taux d'information allant jusqu'à 99 %.

Les échantillons sont répartis en 4 groupes selon la qualité :

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

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

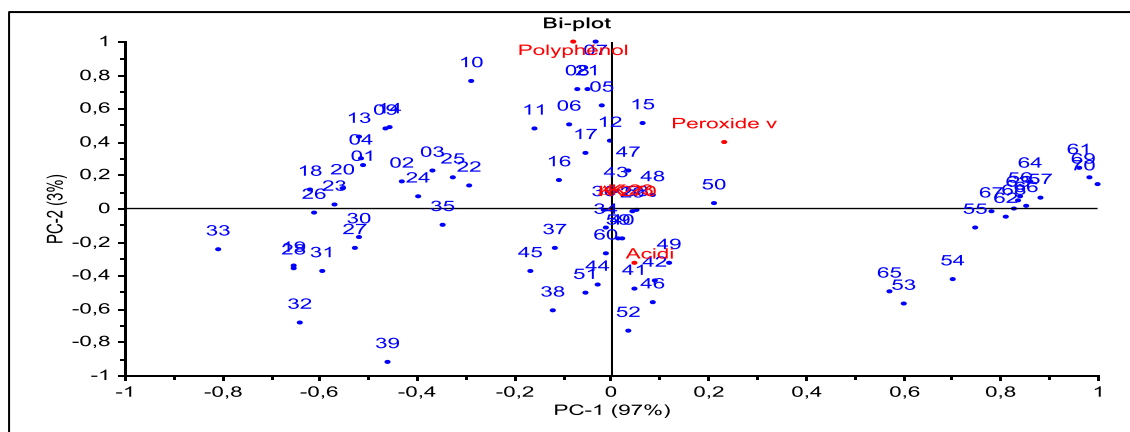


Figure II.II. 7: Graphique de biplot

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 aux deux autres zones (vierge ordinaire et lampante) qui ont 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.

3.1.2- Application de l’ACP sur les spectres Infrarouge

Après analyse par spectroscopie infrarouge des 70 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 (Figure II.II.8):

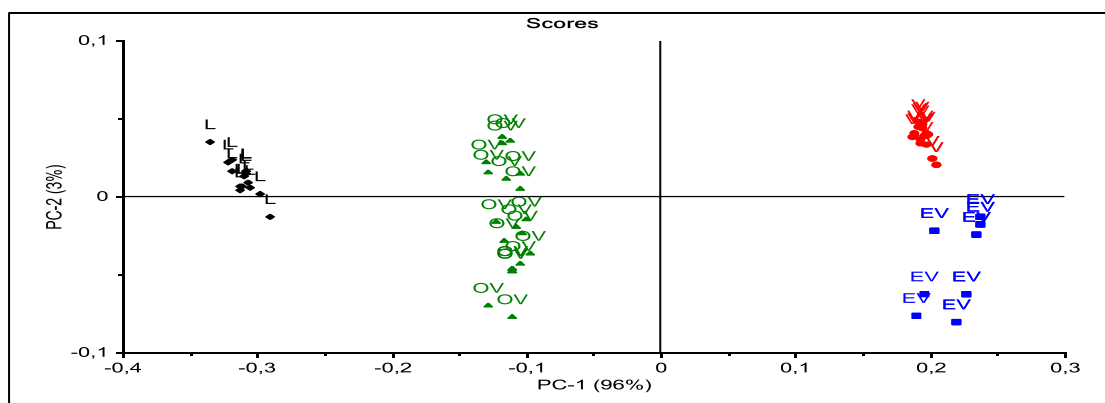


Figure II.II. 8: Plot des scores en deux dimensions.

Comme il est clairement visible dans la figure II.II.8, le modèle ACP avec deux composantes principales explique déjà 99% de la variance totale des données brutes.

On distingue quatre grands groupes d'échantillons en accord avec les quatre classes de qualité d'huile dans le tableau II.II.1: groupe vierge extra (EV), groupe vierge (V), groupe vierge courante (OV) et le groupe vierge lampante (LV).

Pour pouvoir déterminer le nombre de composantes principales, qui donne le maximum d'information, nous avons établi une courbe de la variance résiduelle (figure II.II.9).

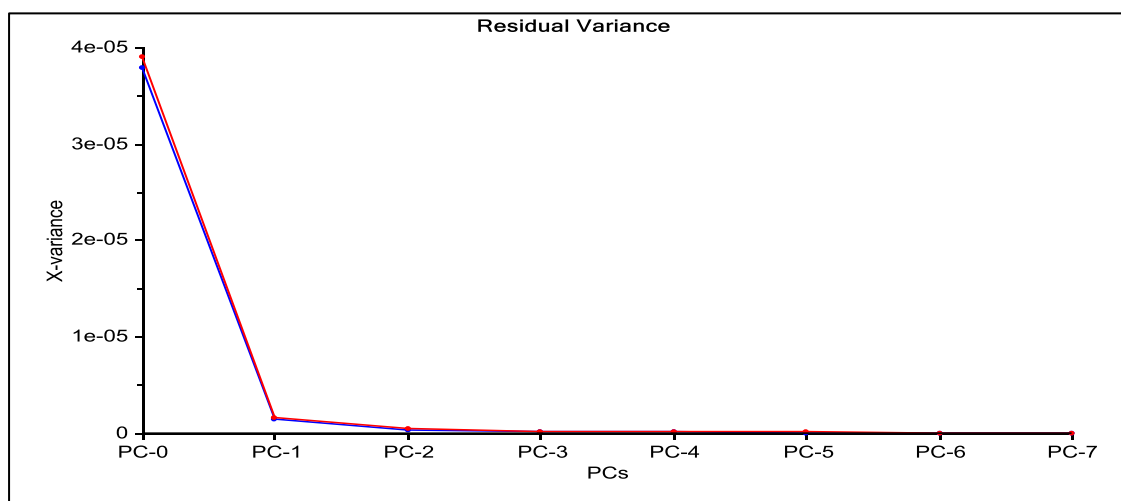


Figure II.II. 9: Courbe de variance résiduelle du modèle ACP.

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 chimiométrie 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 chimiométrie on peut prédire l'identité d'échantillons en économisant en analyses et surtout en temps.

3.2-Régression des moindres carrés partiels Discriminants (PLS-DA)

3.2.1- 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 [35, 36].

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 quatre 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 II.II.10 présente le plot des scores du facteur 1 en fonction du facteur 2 du modèle PLS-DA des échantillons d'huile.

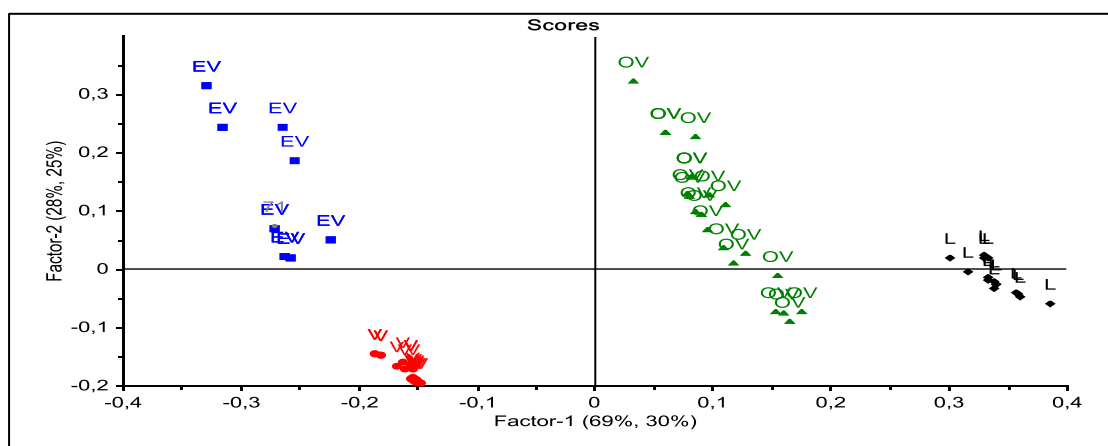


Figure II.II. 10: PLS-DA plot des scores des échantillons d'huile d'olive de différentes catégories.

Le modèle obtenu était capable de discriminer entre les quatre classes de qualité (EV, V, OV et LV), 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 II.II.2.

Tableau II.II. 2: Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA

Classes	Paramètres statistiques			
	R^2_c	R^2_{cv}	RMEC	RMEC _v
EV	0,96	0,88	0,08	0,124
V	0,97	0,92	0,06	0,1
OV	0,96	0,89	0,08	0,16
LV	0,98	0,95	0,04	0,11

D'après le tableau ci-dessus, les valeurs de R^2_c des quatre groupes sont supérieures à 0,96 et celles de **RMSEC** sont inférieures à 0,08. Ainsi que le R^2_{cv} varie de 0,88 à 0,95 et **RMSECv** varie de 0,1 à 0,16.

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 [37, 38]. 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) [39].

3.2.2- 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.

A- Projection de nouveaux échantillons sur le modèle PLS-DA

La tendance du comportement des échantillons du groupe de validation externe est testée par la projection des données spectrales de ces échantillons sur le modèle PLS-DA préétabli. La figure II.II.11 illustre les résultats de cette démarche.

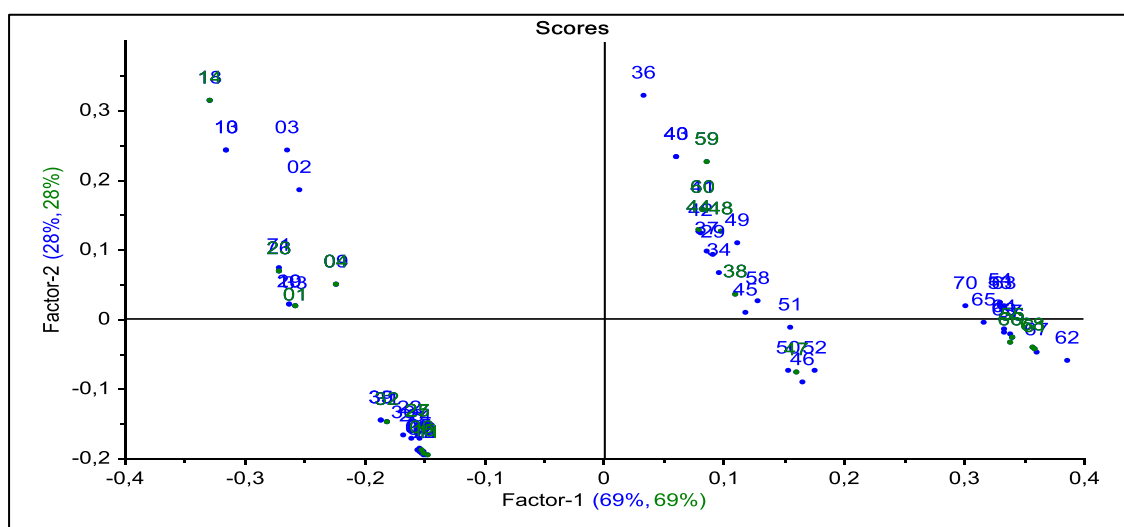


Figure II.II. 11: Plot des scores LV1 vs LV2 de projection des échantillons.

Le résultat du plote des scores (figure II.II.11), montre que les échantillons externes sont bien projetés dans leurs groupes d'origine (échantillons en vert). Ceci peut être une indication sur la forte capacité prédictive du modèle de calibration, qui sera vérifiée par la suite, par la prédiction d'appartenance des échantillons, par la validation externe.

B- 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 **20** nouveaux échantillons d'huile d'olive sont donnés dans les tableaux II.II.3 et II.II.4.

Tableau II.II. 3: Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA.

Paramètres	Classes			
	EV	V	OV	LV
R^2_p	0,92	0,933	0,976	0,988
RMSEP	0,112	0,118	0,07	0,043

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 0,043 à 0,118) et le coefficient de détermination de prédiction (R^2_p) est proche de 1 (de 0,92 à 0,988).

Tableau II.II. 4: Classification de nouveaux échantillons d'huile (validation externe).

Echantillons	Classe 1: EV		Classe 2: V		Classe 3: OV		Classe 4 : LV	
	Predi.	Ref.	Predi.	Ref.	Predi.	Ref.	Predi.	Ref.
01 (EV)	0,986	1,000	0,005	0,000	0,025	0,000	-0,017	0,000
04 (EV)	0,656	1,000	0,314	0,000	0,100	0,000	-0,070	0,000
06 (V)	0,133	0,000	0,842	1,000	0,065	0,000	-0,041	0,000
11 (V)	0,145	0,000	0,806	1,000	0,092	0,000	-0,044	0,000
14 (EV)	1,152	1,000	-0,161	0,000	-0,005	0,000	0,014	0,000
15 (V)	0,115	0,000	0,845	1,000	0,075	0,000	-0,035	0,000
23 (EV)	0,985	1,000	0,031	0,000	-0,039	0,000	0,022	0,000
25 (V)	0,098	0,000	0,906	1,000	-0,053	0,000	0,048	0,000
27 (V)	0,075	0,000	0,952	1,000	-0,115	0,000	0,087	0,000
32 (V)	-0,015	0,000	1,054	1,000	-0,106	0,000	0,067	0,000
38 (OV)	-0,092	0,000	0,040	0,000	1,133	1,000	-0,081	0,000
44 (OV)	0,071	0,000	-0,083	0,000	1,014	1,000	-0,002	0,000
47 (OV)	-0,156	0,000	0,151	0,000	1,018	1,000	-0,014	0,000
48 (OV)	0,051	0,000	-0,078	0,000	1,040	1,000	-0,013	0,000
55 (LV)	0,003	0,000	-0,011	0,000	0,030	0,000	0,977	1,000
59(OV)	0,196	0,000	-0,229	0,000	1,043	1,000	-0,010	0,000
60 (OV)	0,079	0,000	-0,050	0,000	0,916	1,000	0,054	0,000
61 (LV)	0,033	0,000	0,001	0,000	-0,088	0,000	1,053	1,000
66 (LV)	-0,042	0,000	-0,017	0,000	0,121	0,000	0,938	1,000
68 (LV)	0,002	0,000	0,013	0,000	-0,063	0,000	1,047	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 II.II.4 montre que les échantillons de validation 01, 04, 14 et 23 étaient des extras vierges, les échantillons 06, 11, 15, 25, 27 et 32 étaient vierges, les échantillons 38, 44, 47, 48, 59 et 60 étaient vierges courantes et les échantillons de validation 55, 61, 66 et 68 ont été vierges lampantes. 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 quatre 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-IR 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.

Après avoir développée une méthode efficace pour classifier les quatre grades de qualité d'huile d'olive vierge, nous allons, dans le chapitre suivant, proposer une méthode efficace pour la détermination de la teneur en polyphénols totaux.

V. Références

- [1] Harwood J., Aparicio R (2000). Handbook of Olive Oil : Analysis and Properties. Gaithersburg, Maryland, Aspen Publishers, p355-372.
- [2] Tanouti K., Serghini-Caid H., Marianne S., Jean-Paul W., Bouseta A & Ahmed Elamrani (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., Spiegelhalter B., & Bartsch H. (2000). Olive oil consumption and health: The possible role of antioxidants. *Lancet Oncology*, 1, 107–112.
- [4] International Olive Oil Council. Trade standard applying to olive oil and olive pomace oil. RES. COI/T.15/NC no. 3/Revision 7(May 2013).
- [5] Pinatel C., Petit C., Ollivier D., Artaud J. Oléagineux, corps gras, lipides. 11(2004) 217.
- [6] Tsimidou M. Z., Georgiou A., Koidis A., Boskou D (2005). Loss of stability of “veiled” (cloudy) virgin olive oils in storage. *J.Food Chemistry*. Vol.93- Issue 3, p: 377 - 383.
- [7] Vaclavik L., Cajka T., Hrbek V & Hajslova J. (2009). Ambient mass spectrometry employing direct analysis in real time (DART) ion source for olive oil quality and authenticity assessment.*AnalyticaChimicaActa*, 645, 56–63.
- [8] Jafari M., Kadivar M & Keramat J. (2009). Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods. *Journal of the American OilChemists’ Society*, 86, 103–110.
- [9] Gurdeniz G & 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 & 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 & Georgiou C. A. (2007). Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Food Chemistry*, 105, 369–375.
- [12] Jafari M., Kadivar M & 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 & 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 & Bendini, A. (2009). Differential scanning calorimetry detection of high oleic sunflower oil as an adulterant in extra-virgin olive oil.*Journal of FoodLipids*, 16, 227–244.
- [15] De la Mata P., Dominguez-Vidal A., Bosque-Sendra J. M., Ruiz-Medina A., Cuadros-Rodríguez L & 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 & 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 & 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 & 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 & 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 & 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 & 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., & Tegou E. (2006). Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Analytica Chimica Acta*, 573e574, 459-465
- [23] Maggio R. M., Valli E., Bendini A., Gómez-Caravaca A. M., Gallina-Toschi T., & Cerretani L. (2011). A spectroscopic and chemometric study of virgin olive oils subjected to thermal stress. *Food Chemistry*, 127, 216-221.
- [24] COI/T.15/NC n° 3/Rév. 7. Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive, 2013.
- [25] C.O.I., 1986 à 1999. Normes internationales de commercialisation des huiles et des olives de table.
- [26] Ben Temime S., Taamalli W., Baccouri B., Abaza L., Daoud D., Zarrouk M. (2000). Changes in olive oil quality of chetoui variety according to origin of plantation. *Journal of Food Lipids*. 13, p : 88–99.
- [27] Ollé M. Analyse des corps gras DGCCRF, Laboratoire interregional de Montpellier France, Techniques de l'ingenieur. (2002), p 3325.
- [28] Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M and Lamuela-Raventós. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteureagent. *Methods in Enzymology* 299, p152–178.
- [29] Joliffe T. *Principal Component Analysis*. New York, NY: Springer; (1986).
- [30] Lebart L., Morineau A et Pirlo M (1997). L'analyse en composantes principales in : *Statistiques exploratoires multidimensionnelles*, Ed. Dunod, Bordas, Paris, 32.
- [31] Geladi P and Kowalski B (1986). Partial least-squares regression: a tutorial, *Anal. Chim. Acta*, 185, p1-17.
- [32] Vandeginste M., Massart L., Buydens C., Jong J and Lewi J (1998). Partial least squares regression, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics : Part B*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 35 p 329-342.
- [33] Inon F. A., Garrigues J. M., Garrigues S., Molina A & 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, p : 59–75.

- [34] Terouzi W., De Luca M., Bolli A., Oussama A., Patumi M., Ioele G and 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.
- [35] Arvanitoyannis I. S., Katsota M. N., Psarra E. P., Soufleros E. H & Kallithrakay, S (1999). Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics). *Trends in Food Science and Technology*. 10, p: 321–336.
- [36] Ragno G., De Luca M & Ioele, G (2007). An application of cluster analysis and multivariate classification methods to spring water monitoring data. *Microchemical Journal*. 87, p : 119–127.
- [37] Paradkar M., Sivakesava S and 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 p 714-721.
- [38] Golbraikh A and Tropsha A (2002). Beware of q^2 . *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20 p 269-276.
- [39] Novellino E., Fattorusso C and Greco G (1995). Use of comparative molecular field analysis and cluster analysis in series design. *Pharm. ActaHelv*, 70 p 149-154.

Chapitre 3 : Prédiction de la fraction phénolique dans les huiles d'olives vierges par spectroscopie FT-IR couplée à la PLS

I. Introduction

Les composés phénoliques, généralement appelés polyphénols, sont des constituants importants dans l'alimentation humaine [1]. Leurs propriétés antioxydantes et leur rôle positif dans la prévention des maladies chroniques sont bien connus [1, 2]. Ils sont des antioxydants naturels et des facteurs importants à prendre en considération afin d'évaluer la qualité d'une huile d'olive extra-vierge, étant donné qu'ils sont responsables de sa stabilité auto-oxydante, et les caractéristiques organoleptiques [3]. Le contenu phénolique d'une huile d'olive vierge est influencé par le cultivar, l'emplacement, le degré de maturité, les conditions de stockage des olives ainsi que le type de procédure d'extraction d'huile utilisé et les conditions de stockage des huiles [4].

Habituellement, la détermination de la teneur en polyphénols totaux est effectuée par spectrophotométrie [5], chromatographie liquide à haute performance [6 - 7], chromatographie en phase gazeuse [8], et chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) [9]. La plupart de ces analyses sont coûteuses, et impliquent un effort considérable de travail manuel. Très souvent, le traitement chimique complexe de l'échantillon, et l'utilisation d'instruments sophistiqués sont nécessaires [10]. Récemment, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est devenue une technique analytique bien acceptée, grâce à sa simplicité avec des avantages en termes de coût par échantillon. L'analyse est réalisée avec une grande vitesse et nécessite peu ou pas de préparation de l'échantillon. Jusqu'à présent, beaucoup d'études ont été publiées sur l'utilisation du proche et moyen FT-IR pour l'authentification, l'identification ou la classification de nombreux produits agro-alimentaires, notamment des huiles d'olives [11 - 12] et les olives de table [13] par l'analyse statistique multivariée des données spectrales. FT-MIR a été appliquée pour analyser l'huile d'olive extra vierge adultérée avec l'huile de palme [14] et la détermination des paramètres de qualité de VOO [15].

Le but de cette étude était de développer, par spectroscopie FT-MIR associée au traitement chimométrique, une méthode d'essai direct et rapide qui permet de quantifier la teneur en polyphénols totaux d'huile d'olive vierge. Cette approche peut être considérée comme méthode rapide, propre et abordable.

II. Méthodes et matériels

1. Echantillonnage

Les échantillons doivent être suffisants en nombre. Celui-ci dépend de la méthode utilisée. Ainsi, une règle empirique conseille d'avoir une dizaine d'échantillons dans la base de données pour certaines méthodes. Par contre, pour d'autres, le nombre d'échantillons doit être beaucoup plus important. Mais d'une manière générale, La plage de variation de la valeur de référence doit être suffisamment large pour couvrir l'ensemble des valeurs [16].

Dans ce travail, 100 échantillons d'huiles d'olives vierges ont été quantitativement étudiés. Tous les échantillons ont été prélevés de la région de Beni Mellal (centre du Maroc) entre décembre 2013 et janvier 2014. La gamme de concentration des polyphénols totaux étudiés ont varié entre 1,04 et 10,33 g/L. Les échantillons sont analysés juste après extraction par spectroscopie moyen infrarouge et par méthode de référence de dosage des polyphénols. Ensuite, ces échantillons ont été divisés au hasard, en deux groupes : un groupe de 70 échantillons pour développer le modèle d'étalonnage et l'autre de 30 échantillons pour la validation externe du modèle préétabli.

2. Analyses en moyen infra rouge (MIR)

Un spectrophotomètre Bruker « Vector 22 » instrument équipé d'un détecteur DTGS, une Source Globar(IR) et 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).

3. Analyses par méthode de référence

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 de molybdène. Ces derniers présentent une coloration bleutée mesurée à 760 nm.

La méthode de Folin-Ciocalteu [17] a été utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols totaux. 1 ml d'huile est mélangé avec 9 ml d'un mélange d'eau/méthanol (25/75). Le mélange est placé au vortex pendant 1 min pour l'extraction des polyphénols dans le milieu méthanolique, puis 1 ml de dichlorométhane est ajouté pour permettre à la partie huileuse de passer dans la phase inférieure et faciliter ainsi le recueil de 9 ml de surnageant méthanolique. 1 ml de réactif de Folin dilué 10 fois dans l'eau est ajouté et le mélange est laissé 2 min à température ambiante avant d'ajouter 1 ml de carbonate de sodium (75g/L). Le mélange est chauffé 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 :

$$y = 1,632x + 0,013 \text{ avec : } (R^2 = 0,996).$$

4. Méthodes chimiométriques appliquées

a. Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP est une méthode d'analyse "factorielle" classique utilisée pour la réduction du nombre de dimensions. Elle consiste en un calcul de combinaisons linéaires des variables de départ et elle est particulièrement adaptée à l'étude exploratoire des données spectrales, même si elle peut être appliquée à tout type de données. Elle permet de remplacer les variables d'origine (absorbances ou autres), fortement redondantes, par des variables synthétiques (facteurs ou variables latentes) appelées composantes principales [18]. Ces composantes contiennent la quasi-totalité de l'information, elles ont l'avantage d'être orthogonales entre elles (d'où la résolution des problèmes liés à la colinéarité) et sont classées par ordre décroissant de variance (d'où la réduction de dimensionnalité, une variance « faible » étant associée au bruit dans les données, et pouvant donc être éliminée sans perdre l'information).

Dans ce travail l'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée pour détecter la présence de valeurs aberrantes dans les données spectrales avant de développer un modèle de prédiction en utilisant la régression PLS. Les données condensées résultants de l'ACP peuvent servir de variables de base à d'autres traitements statistiques tels que l'analyse discriminante ou la régression [19].

b. Régression des moindres carrés partiels (PLS)

La PLS [20] tente de maximiser la covariance entre deux blocs de données \mathbf{X} et \mathbf{Y} . Une nouvelle matrice de poids (reflétant la structure de covariance entre les variables explicatives \mathbf{X} et les variables de réponse \mathbf{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 \mathbf{X} , et la concentration des polyphénols des différents échantillons, déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, sera utilisée comme vecteur de \mathbf{Y} .

c. 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

R^2 et RPD, et de faibles valeurs de RMSEC, RMSECV, RMSEP, biais, LOD et ER(%).

d. Logiciel

Tous les spectres acquis ont été élaborés par le logiciel Unscrambler (version 10.2, CAMO, Norvège) pour l'application de l'ACP et la PLS.

III. Résultats et discussions

1. Acquisition des spectres MIR

Les spectres obtenus, sont caractérisés par de nombreux pics caractéristiques de l'interaction du rayonnement infrarouge avec les différents composants d'huile d'olive vierge. La figure II.III.1 représente le spectre moyen d'absorption des échantillons d'huile dans la gamme spectrale $4000-600\text{ cm}^{-1}$.

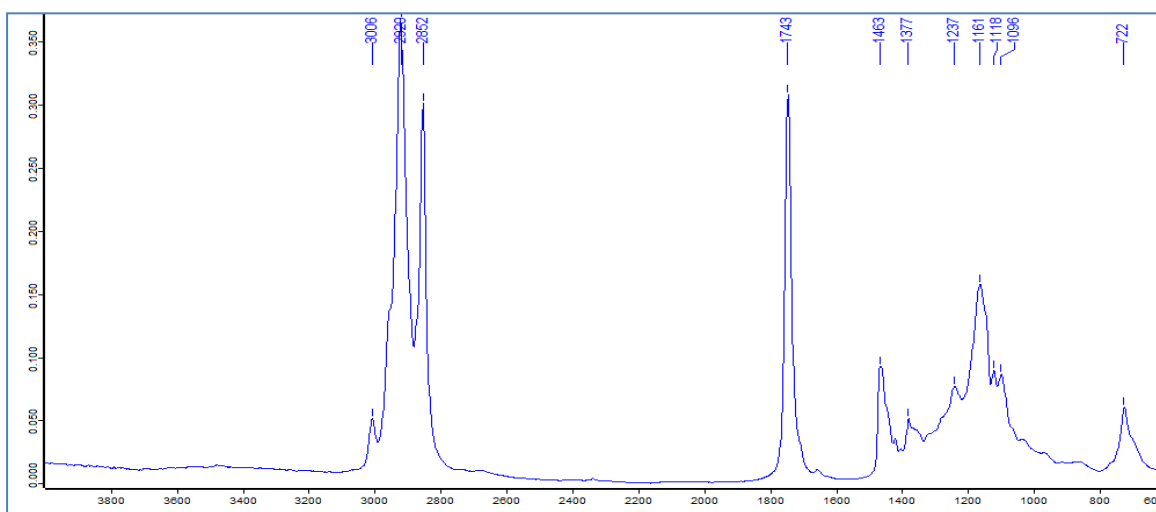


Figure II.III. 1: Spectre moyen infrarouge d'huile d'olive vierge dans la gamme spectrale $4000-600\text{ cm}^{-1}$.

Les spectres FT-IR obtenus pour 100 échantillons d'huile d'olive vierge sont simulés par inspection visuelle.

La figure II.III.1 illustre le spectre FTIR moyen des huiles étudiées. Les régions spectrales peuvent être divisées de la manière suivante : Dans la région spectrale $3000-2800\text{ cm}^{-1}$, trois bandes sont observables, dont deux sont plus au moins intenses : 2920 cm^{-1} et 2852 cm^{-1} . Cette partie caractérise les 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 C=O des lipides est visible vers 1743 cm^{-1} . Les bandes caractéristiques du sucre sont observables dans la zone spectrale $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ [22].

Les bandes d'absorption des composés les plus importants des phénols ont été localisées dans la région de 722 cm^{-1} ($-(\text{CH}_2)_n\text{-HC}=\text{CH}$ -flexion hors du plan) [23].

2. Application de l'analyse en composantes principales (ACP)

Des études précédentes indiquent que l'ACP constitue un outil utile pour l'identification des échantillons aberrants à partir des spectres d'absorption et peut être utilisé pour améliorer la qualité du modèle de prédiction [24].

Un modèle ACP a été effectué sur les spectres d'absorption de tous les échantillons d'huile d'olive ($n = 100$), ce qui a permis de détecter deux valeurs aberrantes dans les données spectrales (voir la figure II.III.2, numéro 02 et 63). Les spectres d'absorbance de ces échantillons aberrants ont été inclus dans le modèle d'étalonnage préliminaire, cependant ils sont exclus pour élaborer un modèle d'étalonnage final.

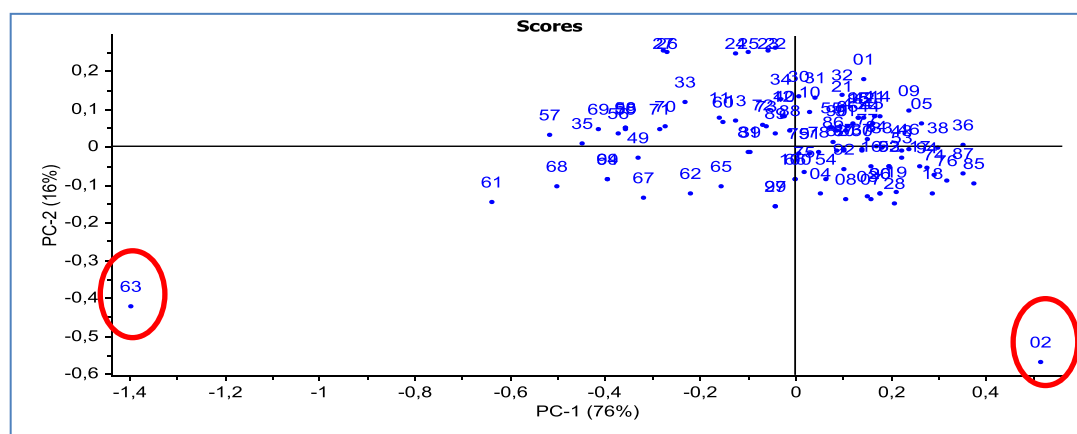


Figure II.III. 2: ACP effectuée sur les spectres d'absorption de tous les échantillons d'huile d'olive. PC-1 = composante principale 1, PC-2 = composante principale 2.

L'ensemble de données comporte 100 échantillons d'huile d'olive, y compris les deux valeurs aberrantes spectrales identifiées en utilisant ACP (Figure II.III.2). Après l'élimination des valeurs aberrantes spectrales, les 98 échantillons restants ont été répartis au hasard en deux groupes. Un ensemble d'échantillons ($n = 68$) a été utilisé pour la construction de modèle MIR-PLS d'étalonnage et le second ensemble ($n = 30$) a été utilisé pour la validation du modèle d'étalonnage, appelé ensemble de validation externe.

3. Analyse quantitative des polyphénols totaux

3.1- Elaboration des modèles de calibration

Le modèle de PLS est construit en tenant compte des spectres d'huile d'olive vierge (VOO) à la région de fréquences de 3050-600 cm^{-1} en tant que variables \mathbf{X} , alors que les \mathbf{Y} variables sont associées à la teneur en polyphénols totaux. Les modèles de PLSR sont évalués en utilisant le coefficient de détermination (R^2) de calibration et de validation croisée, l'erreur de calibration (RMSEC) et de validation croisée (RMSECV). Le Tableau II.III.1 présente les résultats obtenus lorsque les données sont traitées et analysées par la PLS avant et après élimination des échantillons aberrants.

Il n'est pas possible de savoir à priori lequel des prétraitements donneront les meilleurs résultats. La solution est de tester de manière systématique les différents prétraitements et de sélectionner celui donnant l'erreur standard la plus faible.

Tableau II.III. 1: Paramètres statistiques obtenus par PLS modélisations lors de la calibration.

			PLS avant élimination des échantillons aberrants				PLS après élimination des échantillons aberrants			
			Polyphénols totaux (1,04 et 10,33 g/L)							
Prétraitement	Nombre d'onde (cm^{-1})	Nbr de LVs	R^2_c	R^2_{cv}	RMSEC	RMSECV	R^2_c	R^2_{cv}	RMSEC	RMSECV
Non traité	3050-600 ^a	6	0,9435	0,9287	1,4592	1,6390	0,9954	0,9811	0,4090	0,8369
Normalisation	3050-600 ^a	6	0,9594	0,9240	1,3100	1,6245	0,9987	0,9957	0,2169	0,3969
Dérivation (S.Golay 1 st)	3050-600 ^a	6	0,9926	0,9874	0,3526	0,6828	0,9959	0,9929	0,1307	0,1750
SNV	3050-600 ^a	6	0,9527	0,9153	1,3355	1,7862	0,9956	0,9824	0,3590	0,8076
MSC	3050-600 ^a	6	0,9891	0,9470	0,6361	1,4033	0,9933	0,9904	0,5012	0,6007
dérivation + normalisation	3050-600 ^a	6	0,9809	0,9419	0,8464	1,4796	0,9984	0,9665	0,2373	0,3600

LVs est le nombre de Variables Latentes; R^2_c et R^2_{cv} sont les coefficients de détermination de calibration et de validation croisée respectivement; RMSEC et RMSECV sont l'erreur de calibration et de validation croisée respectivement;

^a : zone spectrale exploitée.

Dans le tableau II.III.1, les modèles préétablis ont donné des RMSEC et des RMSECV qui varient respectivement de 0,3526 à 1,4592 g/ L et de 0,6828 à 1,7862 g/ L dans le cas de modélisation avant élimination des échantillons aberrants et ils varient de 0,1307 à 0,5012 g/ L et de 0,1750 à 0,8369 dans le cas de modélisation après élimination des échantillons aberrants. Les R^2_c et R^2_{cv} sont significativement variables avec les prétraitements. Par application de la PLS, les R^2_c sont compris entre 0,9435 et 0,9926 avant l'élimination des échantillons 02 et 63, alors qu'après élimination des deux échantillons, les R^2_c sont compris entre 0,9933 et 0,9987. Les R^2_{cv} varient de 0,9153 à 0,9874 dans le premier cas et de 0,9665 à 0,9957 dans le second cas.

Le nombre optimal de variables latentes (LVs) a été choisi selon la méthode de validation croisée totale en se basant sur l'erreur minimum de RMSECV. En générale, La zone 3050-600 cm^{-1} après élimination des échantillons aberrants a donné une valeur de RMSEC inférieure à celle donnée par la même zone avant éliminations des aberrants.

Les meilleurs résultats de coefficient de détermination de calibration R^2_c (0,995), de RMSEC (0,1307), de R^2_{cv} (0,992) et de RMSECV (0,1750) ont été obtenus avec un prétraitement du premier dérivatif de Savitsky Golay.

Les coefficients de détermination, R^2_c et R^2_{cv} , sont proches de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs prédites des polyphénols totaux. La figure II.III.3 représente les valeurs prédites par le modèle PLS en fonction des valeurs de référence.

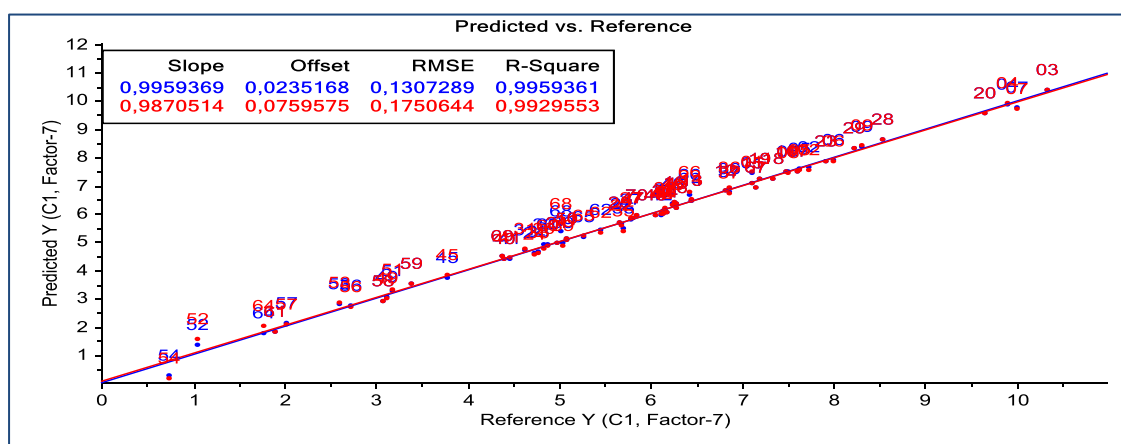


Figure II.III. 3: Valeur de référence vs prédites des polyphénols totaux dans l'étape de calibration (bleu) et dans l'étape de validation croisée (rouge).

La linéarité du modèle PLS est bien vérifiée. Tous les échantillons sont (calibration et validation croisée totale) localisés le long de la ligne de calibration.

Il n'est pas possible de savoir a priori lequel des modèles qui donnera les meilleurs résultats de prédiction et robustesse. La solution est de tester de manière systématique les différents modèles sur un lot des échantillons externe (validation externe) et de sélectionner celui donnant l'erreur de prédiction la plus faible.

3.2- Validation externe

Les modèles de calibration obtenus, ont été appliqués à l'ensemble de données de validation externe, composée de 30 échantillons. Les résultats sont présentés dans le tableau II.III. 2.

Tableau II.III.2: Paramètres statistiques obtenus par modélisations PLS des polyphénols totaux, lors de la validation externe.

		Validation externe avec PLS						
		Polyphénols totaux (1,04 et 10,33 g/L)						
Prétraitement	zone spectrale (cm ⁻¹)	Nbr de LVs	R ² _p	RMSEP	ER%	Biais	LOD %	RPD
Non traité	3050-600	6	0,9106	0,6198	0,66	-0,012	1,859	1,46
Normalisation	3050-600	6	0,5682	1,3628	2,5	-0,026	4,08	0,41
Dérivation (S.Golay 1 st)	3050-600	6	0,9987	0,0719	0,13	-0,026	0,21	13,88
SNV	3050-600	6	0,4611	1,6258	2,4	0,6482	4,86	0,28
MSC	3050-600	6	0,8829	0,7097	2,2	0,3014	2,1	1,24
Dérivation + normalisation	3050-600	6	0,5669	1,4576	0,55	0,3005	4,35	0,39

RMSEP est l'erreur liée à la prédiction (validation externe) ; R²_p est le coefficient de détermination de prédiction (validation externe); RE% est l'erreur relative de prédiction en % ; LOD est la limite de détection en % ; RPD est l'écart de prédiction résiduelle.

D'une manière générale, les R²_p, les ER%, les RMSEP, le biais, la limite de détection LOD et les RPD sont considérablement variables selon les prétraitements appliqués.

La modélisation des spectres MIR par la méthode PLS a donné des valeurs d'erreurs de prédiction (RMSEP) qui varient de 0,0719 à 1,6258 g/ L, des erreurs

relatives de prédiction (ER %) varient de 0,13 à 2,5, des RPD varient de 0,28 à 13,88 et des coefficients de prédiction (R^2_p) compris entre 0,9382 et 0,998.

Le meilleur modèle PLS (avec ER en %, LOD les plus faibles) a été établi avec les données spectrales MIR dans la zone de 3050 à 600 cm^{-1} avec la première dérivée de Savitsky Golay comme prétraitement. Une ER% qui est de 0,13, un RMSEP qui est de 0,0719 et un R^2_p qui est de 0,9987 sont les caractéristiques du modèle PLS.

Dans le modèle choisi, le coefficient de détermination est proche de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs. La figure II.III.4 représente les valeurs prédites par le modèle PLS en fonction des valeurs de référence dans l'étape de validation externe.

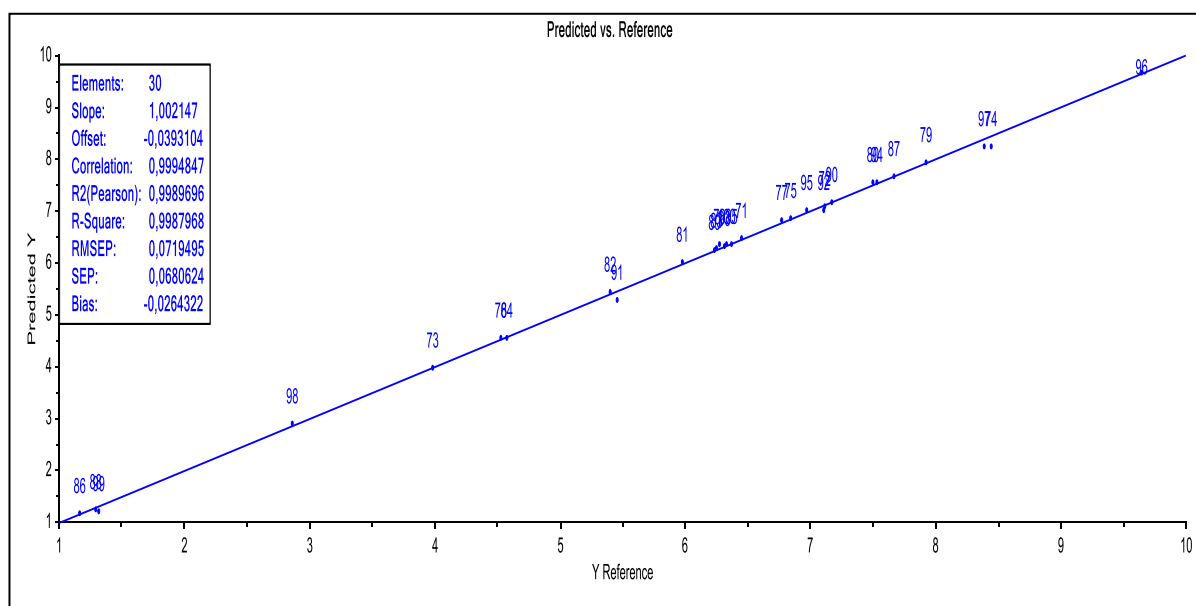


Figure II.III. 4: Valeur de référence vs prédites des polyphénols totaux dans l'étape de validation externe.

Dans la figure ci-dessus, la linéarité du modèle PLS est bien vérifiée, tous les échantillons (validation externe) sont localisés le long de la ligne de calibration. Les valeurs prédites et les valeurs de référence sont présentées dans le tableau II.III.3.

Tableau II.III. 3: Comparaison des valeurs de références vs prédites du modèle de test de validation externe.

Echantillons	Y-Predit	Y-Référence	Ecart
71	6,4474	6,4560	0,0086
72	7,0879	7,1200	0,0321
73	3,9566	3,9850	0,0284
74	8,2307	8,4500	0,2193
75	6,8376	6,8460	0,0084
76	4,5312	4,5300	-0,0012
77	6,8230	6,7700	-0,0530
78	6,3490	6,2800	-0,0690
79	7,9074	7,9300	0,0226
80	7,5223	7,5000	-0,0223
81	6,0080	5,9800	-0,0280
82	5,4139	5,4000	-0,0139
83	6,2790	6,2500	-0,0290
84	4,5533	4,5800	0,0267
85	6,3593	6,3760	0,0167
86	1,1440	1,1700	0,0260
87	7,6532	7,6700	0,0168
88	1,2334	1,2950	0,0616
89	6,2466	6,2400	-0,0066
90	7,1615	7,1700	0,0085
91	5,2579	5,4580	0,2001
92	7,0076	7,1100	0,1024
93	6,3081	6,3200	0,0119
94	7,5277	7,5300	0,0023
95	6,9973	6,9700	-0,0273
96	9,6707	9,6500	-0,0207
97	8,2466	8,3890	0,1424
98	2,8696	2,8670	-0,0026
99	1,1902	1,3200	0,1298
100	6,3279	6,3300	0,0021

Dans le tableau II.III.3, l'écart entre valeur prédite et valeur de référence pour le modèle PLS varie de -0,0290 à 0,2193 pour la validation externe.

Comme il est clairement indiqué dans le tableau II.III.3, la méthode FTIR-PLS est efficace pour déterminer la teneur en polyphénols totaux dans l'huile d'olive vierge. Les résultats indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre la méthode de référence et celle proposée.

IV. Conclusion

Le modèle PLS d'étalonnage développé dans la gamme de concentration 1,04 et 10,33 g / L a donné moins de 2% pour l'erreur relative dans l'étape de validation externe. Par conséquent, nous pouvons conclure que les spectres FT-IR de l'huile d'olive pourraient être correctement modélisés par PLSR en utilisant la première dérivée des spectres d'absorption comme prétraitement en utilisant la méthode de Savitzky-Golay. Cette étude a également montré que la région spectrale 3050-600 cm^{-1} a été particulièrement utile pour des bonnes prédictions de la teneur en polyphénols totaux.

La spectroscopie FT-IR couplée à la PLS est signalée comme une méthode adéquate pour la détermination de la teneur en polyphénols totaux de l'huile d'olive, sans aucun prétraitement et manipulation destructrice de l'échantillon.

Par conséquent, la méthode spectroscopique proposée fournit une solution de rechange pratique en termes de temps, de personnel et d'économie de solvant pour les analyses de routine d'un grand nombre d'échantillons d'huile d'olive vierge. Cette approche peut être considérée comme méthode rapide, propre et abordable.

Après avoir proposé une méthode efficace pour prédire la teneur en polyphénols totaux dans les huiles d'olives vierges, nous allons, dans le chapitre suivant, détecter et estimer l'adultération d'huile d'olive extra vierge avec une huile d'olive de mauvaise qualité.

V. Références

- [1] Boskou D (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends Food Sci. Technol.* 17 505–512.
- [2] Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorvo A., Gomez-Caravaca A. M., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A and Lerker G (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. 12 p 1679–1719.
- [3] Cecilia C., Palchetti I., Mascini M and Parenti A (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*. 71 553-562.
- [4] Nergiz C., Unal K (1991). Effect of method of extraction on the total polyphenol, 1, 2-diphenol content and stability of virgin olive oil. *J. Sci. Food Agric.* 56 p 79-82.
- [5] Carrasco-Pancorbo A., Cerretani L., Bendini A., Segura-Carretero A., Gallina-Toschi T and Fernandez-Gutiérrez A (2005). Analytical determination of polyphenols in olive oils. *J Sep Sci* p 837-858.
- [6] Montedoro G.F., Servili M., Baldioli M and Miniati E (1992). Simple and hydrolysable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semi quantitative evaluation by HPLC. *J. Agric. Food Chem* 40 p 1571-1576.
- [7] Mannino O S., Cosio M.S., Bertulocci M (1993). High performance liquid chromatography of phenolic compounds in virgin olive oils using amperometric detection. *Ital. J. Food Sci.* 2 p 150-157.
- [8] Barták P., Frnková Pand Cáp L (2000). Determination of phenols using simultaneous steam distillation-extraction. *J Chromatogr A* p 281-287.
- [9] Tasioula-Margari M and Okogeri O (2001). Isolation and Characterization of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds by HPLC/UV and GC-MS. *Journal of Food Scienc.* 66 p 530-534.
- [10] Hirri A., Bassbasi M and Oussama A (2013). Classification And Quality Control Of Lubricating Oils By Infrared Spectroscopy And Chemometric. *International Journal of Advanced Technology & Engineering Research.* 3 p 59-62.
- [11] Sinelli N., Cerretani L., Di Egidio V., Bendini A and Casiraghi E (2010) . Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. *Food Research International.* 43 p 369-375.
- [12] Terouzi W., De Luca M., Bolli A., Oussama A., Patumi M., Ioele G and 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 p 123-128.
- [13] Casale M., Zunin P., Elisabetta Cosulich M., Pistarino E., Perego P and Lanter S (2010). Characterization of table olive cultivar by NIR spectroscopy. *Food Chemistry.* 122 p 1261-1265.
- [14] Rohman A., Che Man Y.B. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil (2010). *Food Research International* 43 p 886–892.
- [15] Rubén M., Maggio Teodoro S., Kaufman Michele Del Carlo., Lorenzo Cerretani, Alessandra Bendini., Angelo Cichelli and Dario Compagnone (2009). Monitoring of fatty acid

- composition in virgin olive oil by Fourier transformed infrared spectroscopy coupled with partial least squares. *Food Chemistry* 114 p 1549–1554.
- [16] Roggo Y (2003). Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimiométrie. Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille.
- [17] Vernon L., Singleton., Rudolf Orthofer., Rosa M., Lamuela-Raventós (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteureagent. *Methods in Enzymology*, 299, p 152–178.
- [18] Terouzi W (2013). Caractérisation Et Classification Des Olives et huiles D'olive Marocaines Par Spectroscopie Moyen Infrarouge Et Chimiométrie. Spécialité : Ressources Naturelles et Environnement. Thèse de Doctorat. Université Sultan Moulay Slimane.
- [19] Forouzangohar M., Kookana R.S., Forrester S.T., Smernik R.J., Chittleborough, D.J (2008). Mid-infrared spectroscopy and chemometrics to predict diuron sorption coefficients in soils. *Environ Sci Technol*, 42 p 3283-3288.
- [20] Geladi P and Kowalski B (1986). Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185 p 1–17.
- [21] Mouazen A.M., Baerdemaeker J.D and Ramon H (2006). Effect of wavelength range on the measurement accuracy of some selected soil constituents using visual-near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 14, p189-199.
- [22] Inon F. A., Garrigues J. M., Garrigues S., Molina A & 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, p: 59–75.
- [23] Cozzolino D., Murray I., Chree A., Scaife J. R (2005). Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. *LWT-Food Science and Technology*, 38, p 821–828.
- [24] Pirie A., Singh B., Islam K (2005). Ultra-violet, visible, near-infrared, and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopic techniques to predict several soil properties. *Aust J Soil Res*. 43, p 713-721.

Chapitre 4 : Détection et estimation d'adultération d'huile d'olive extra vierge avec une huile d'olive de mauvaise qualité

I. Introduction

L'huile d'olive extra vierge (EVOO), qui est une composante de base du régime méditerranéen, possède des caractéristiques nutritionnelles et sensorielles uniques. L'importance d'EVOO est principalement attribuable à sa teneur élevée en acide oléique et à sa richesse en composés phénoliques. Ces derniers agissent comme des antioxydants naturels [1]. D'autre part, EVOO est coûteuse en raison des tâches difficiles et longues impliquées dans la culture des oliviers, la récolte des fruits, et l'extraction de l'huile. Pour ces raisons, la falsification implique le remplacement des ingrédients à coût élevé par des produits de substitution moins chers. L'huile d'olive est fréquemment soumise à la falsification avec d'autres huiles comestibles de faible valeur commerciale [2]. Même si la falsification est faite pour des raisons économiques, l'action peut affecter la qualité des aliments, où l'huile d'olive fait partie [3]. Par conséquent, le développement des techniques d'analyse rapides et non coûteuses capables de détecter ces falsifications dans l'huile d'olive est actuellement très demandé.

Plusieurs techniques d'analyse ont été mises au point pour la détection et la quantification de la falsification et l'authentification de l'huile d'olive, telles que la spectrométrie de masse en utilisant un nouveau type de source d'ions, analyse directe en temps réel [4], la résonance magnétique nucléaire (RMN) [5], la spectroscopie Raman [6], la fluorescence [7], la chromatographie en phase gazeuse [5], la chromatographie liquide haute performance [2] et l'analyse calorimétrique différentielle [8]. Certaines de ces méthodes demandent plus de temps, coûteuses, généralement destructrice de l'échantillon, et exigent un degré élevé de connaissances techniques pour interpréter les données. Par conséquent, les méthodes analytiques rapides et précises doivent être développées afin de détecter et de quantifier les adultérants d'huile.

La spectroscopie FTIR est un outil d'analyse rapide et non destructif pour l'étude des huiles et graisses alimentaires. La FTIR est également un excellent outil pour l'analyse quantitative, étant donné que les intensités des bandes spectrales sont proportionnelles à la concentration. Pour cette raison, elle a été utilisée pour distinguer les huiles de différentes origines botaniques en utilisant des techniques de classification non supervisées [9, 10]. Elle a également été utilisée pour distinguer les huiles d'olive de différentes origines géographiques [11, 12, 13] et différentes variétés génétiques [14]. Les applications de la FTIR adressées à détecter la falsification d'huile d'olive [15, 16, 17] et à évaluer la fraîcheur et l'oxydation d'huile d'olive [18 - 19] ont été également décrites.

Cependant, aucune information n'est disponible concernant l'utilisation de la spectroscopie FTIR combinée avec la chimiométrie pour l'analyse de l'adultération d'huile d'olive extra vierge (EVOO) avec des huiles d'olive de qualité inférieure. Par conséquent, dans cette étude, nous avons développé une méthode d'analyse quantitative basée sur la spectroscopie FTIR combinée avec la PLS et la PCR pour détecter et quantifier la falsification d'EVOO avec des huiles d'olive de qualité inférieure. Cette approche représente un moyen facile et pratique pour le suivi de la qualité de l'huile d'olive.

II. Méthodes et matériels

1. Préparation des échantillons

L'huile d'olive extra vierge (EVOO) collectée lors de la campagne oléicole 2014/2015 et l'huile d'olive de qualité inférieure (LVOO) collectée au cours de la campagne oléicole 2013/2014, ont été utilisées pour l'analyse quantitative en utilisant la PLS et la PCR. Un ensemble de 45 échantillons contenant EVOO (bonne qualité) et LVOO (mauvaise qualité) a été mélangé dans des proportions pondérées avec précision de 1 à 50% en poids. Pour la validation, un groupe de 10 échantillons indépendants a été utilisé. Dans l'analyse discriminante, d'une part, EVOO et LVOO ont été mélangés pour obtenir une série d'ensembles standards formés de 10 échantillons purs et 45 échantillons falsifiés contenant de 1 à 50% de LVOO. Les échantillons contenant LVOO ont été assignés comme falsifiés, tandis qu'une série d'EVOO pure a été marquée avec EVOO et classée à l'aide des spectres FTIR.

2. Analyses physico-chimiques

Dans cette étude, cinq analyses physico-chimiques des échantillons EVOO et LVOO ont été réalisées suivant les méthodes analytiques décrites par le règlement COI / T.15 / NC n ° 3 / Rev. 7 du Conseil oléicole international [20]. L'acidité libre est donnée en pourcentage d'acide oléique, l'indice de peroxyde a été exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kg d'huile (meq O₂ / kg), les coefficients d'extinction spécifiques, K270 et K232, ont été mesurés à partir de l'absorption dans une solution de cyclohexane respectivement à 232 et 270 nm et la méthode de Folin-Ciocalteu [21] a été utilisée pour déterminer la teneur en composés phénoliques totaux.

3. Spectroscopie Infrarouge

Le spectromètre IR à Transformée de Fourier utilisée pour cette étude est le Bruker (Vector 22) permettant l'acquisition de spectres dans le moyen infrarouge en fonction de la combinaison source/séparatrice/détecteur utilisée.

Le Vector 22 est piloté par un logiciel d'acquisition et de traitement de données "OPUS version 5.0".

4. Méthodes chimiométriques appliquées

Les méthodes chimiométriques appliquées pour la quantification de l'adultération sont la PLS et la PCR, tandis que la PLS-DA est utilisée pour l'analyse discriminante. Les régions spectrales où on observe les variations ont été choisies pour développer les étalonnages de la PLS et la PCR ainsi que pour l'analyse discriminante. L'évaluation de la qualité des modèles obtenus a été discutée en comparant différents paramètres obtenus comme le coefficient de détermination et l'erreur quadratique moyenne de calibration ou de prédiction (RMSEC et RMSEP).

Tous les spectres acquis ont été élaborés par le logiciel Unscrambler (version 10.2, CAMO, Norvège) pour l'application de la PLS, PCR et la PLS-DA.

III. Résultats et discussion

1. Evaluation physico-chimiques

Le tableau II.IV.1 représente les paramètres physico-chimiques des deux échantillons d'huile d'olive vierge suivant la compagnie de production.

Tableau II.IV. 1: Analyses physico-chimique

Echantillons	Acidité (%)	Indice de peroxyde	K ₂₃₂	K ₂₇₀	ΔK	Polyphenols
2014/2015	0,6291	4,5604	0,5135	0,1542	0,0024	8,8870
2013/2014	3,2802	12,6138	0,5635	0,1714	0,0069	4,1020

En se basant sur ces résultats et les critères de qualité du conseil oléicole international COI / T.15 / NC n ° 3 / Rev. 7, nous pouvons conclure que l'échantillon prélevé de la compagnie oléicole 2014/2015 était extra vierge, et l'échantillon prélevé de la compagnie oléicole 2013/2014 était une huile vierge lampante.

Chimiquement, les graisses et les huiles sont des glycérols estérifiés avec des acides gras. Certaines graisses et huiles peuvent avoir une composition tout à fait similaire, par conséquent, il est souvent difficile de détecter l'altération des graisses et des huiles physiquement [3]. Toutefois, en raison de sa capacité en tant que technique des empreintes digitales, la spectroscopie MIR permet de différencier les huiles authentiques et celles falsifiées avec d'autres huiles en observant les changements de spectre dus à l'altération [22].

2. Acquisition des spectres MIR

La figure II.IV.1 illustre les spectres FTIR moyens des huiles étudiées (de calibrage). Les régions spectrales peuvent être divisées de la manière suivante : Dans la région spectrale 3000-2800 cm⁻¹, quatre bandes sont observables, dont deux sont plus au moins intenses à 2924 cm⁻¹ et 2848 cm⁻¹. Ces bandes sont caractéristiques des vibrations d'élongations symétriques et asymétriques du groupement CH₂ et CH₃. Cependant les vibrations de déformation de ces deux groupes sont observées à 1440 cm⁻¹. Pour les vibrations d'élongation du groupement C=O, deux types de vibrations distincts sont observables. L'élongation du groupe C=O des lipides est visible vers 1745 cm⁻¹. Une deuxième à 1642 cm⁻¹ est attribuable à l'élongation du groupe C=O

des acides. Tandis que les bandes caractéristiques du sucre sont observables dans la zone spectrale $1200-900\text{ cm}^{-1}$. La bande à 2351 cm^{-1} , correspond au gaz CO_2 d'atmosphère [23].

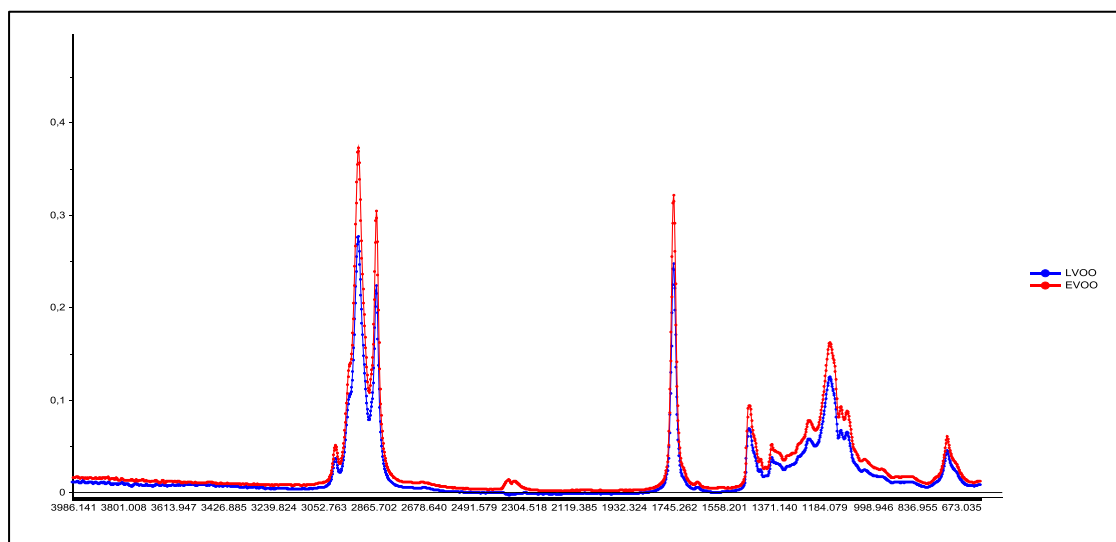


Figure II.IV. 1: Spectres FTIR des deux échantillons d'huile d'olive vierge (lampante et extra vierge) dans la gamme spectrale de $4000\text{ à }600\text{ cm}^{-1}$.

Nous remarquons, ainsi, que la différence entre les spectres est clairement petite et dans des régions limitées du spectre. Donc, l'utilisation de 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 $4000-600\text{ cm}^{-1}$ a été utilisée comme point de départ pour l'enquête. Selon la littérature [24], la zone comprise entre $2400\text{ et }2300\text{ cm}^{-1}$ a été éliminée avant l'élaboration chimiométrique, car le rapport signal / bruit de cette région était assez faible et la variation de signal donnée est indépendante de la composition de l'échantillon. La région entre $4000\text{ et }3100\text{ cm}^{-1}$ est également supprimée en raison de la bande de soustraction d'eau qui présente beaucoup de bruits instrumentaux et apporte des informations inutiles [25].

3. Classification

L'analyse discriminante (DA) a été utilisée pour faire la classification entre les échantillons EVOO purs et ceux falsifiés avec LVOO. DA peut être exploitée pour déterminer la classe d'EVOO pure à celle falsifiée avec LVOO en utilisant la régression des moindres carrés partielle discriminante PLS-DA. Après l'obtention du modèle de classification, la classe d'échantillons inconnus à celle des classes déterminées peut être prédite.

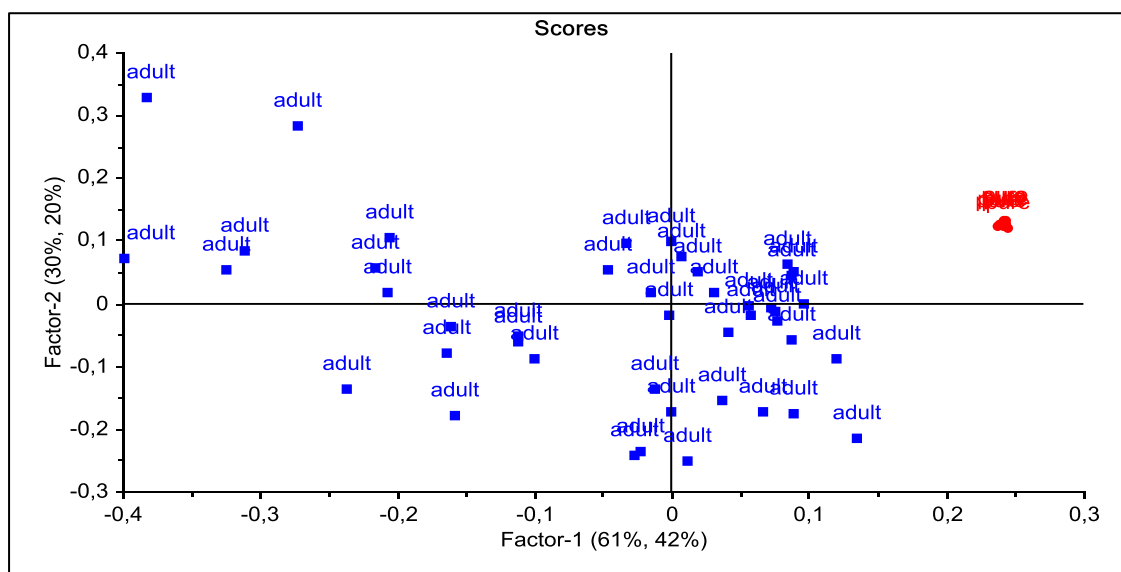


Figure II.IV. 2: Graphique des scores (VL1 vs VL2) de l'analyse des données spectrales FTIR par la PLS2-DA.

Tout d'abord, les 10 échantillons EVOO pure et ceux adultérés par LVOO ont été classés en deux groupes à l'aide de la PLS-DA. Le graphique du score dans la figure II.IV.2 montre clairement la séparation entre les deux groupes. Dans cette étude, le modèle PLS-DA a classé 100% d'échantillons avec précision, ce qui signifie qu'il n'y a pas d'échantillons mal classés, qui pourrait se produire parfois en raison des similitudes étroites dans la composition chimique entre les groupes [26].

4. Quantification

La quantification des contenus d'EVOO dans les échantillons d'EVOO adultérés a été réalisée en utilisant le principe de la régression des moindres carrés partielle (PLS) et la régression sur les composantes principales (PCR). Pour la PLS et la PCR, les échantillons d'EVOO adultérés avec LVOO ont été divisés en deux ensembles

d'étalonnage et de validation externe. Le jeu de calibrage est composé de 35 échantillons, alors que l'ensemble de validation est composé de 10 échantillons.

4.1- Etape de calibration

Dans les modèles d'étalonnage PLS et PCR, l'évaluation de la linéarité de la méthode a été réalisée pour montrer la relation proportionnelle entre les réponses (absorbances) par rapport à la concentration. Les résultats obtenus à partir des étalonnages PLS et PCR en termes de R^2 , RMSEC et RMSECV, soit pour les spectres normaux ou prétraités, sont présentés dans le Tableau II.IV.2.

Tableau II.IV. 2: Calibration multivariée pour déterminer la teneur en EVOO adultérés avec de l'huile LVOO à des fréquences de 3100 à 600 cm^{-1} .

Calibration multivariée	Prétraitement	Equations		R^2		RMSEC	RMSECV
		Calibration	Validation	Calibration	Validation		
PLS	Non traités	$Y=0,999x + 0,015$	$Y=0,966x + 0,655$	0,999	0,981	0,304	1,499
	Centrés et normés	$Y=0,999x + 0,01$	$Y=0,987x + 0,207$	0,996	0,987	0,289	0,897
	Première dérivée	$Y=0,999x + 0,003$	$Y=0,991x + 0,17$	0,9999	0,9998	0,177	0,395
PCR	Non traités	$Y=0,990x + 0,250$	$Y=0,975x + 0,552$	0,990	0,975	1,236	2,004
	Centrés et normés	$Y=0,993x + 0,165$	$Y=0,951x + 0,997$	0,993	0,975	1,007	2,144
	Première dérivée	$Y=0,999x + 0,009$	$Y=0,987x + 0,206$	0,999	0,997	0,244	0,706

Les calibrations PLS et PCR, par utilisation de la première dérivée comme prétraitement, révèlent la valeur la plus élevée de R^2 et la plus basse des RMSECV par rapport à d'autres traitements de spectres (tableau II.IV.2). La relation entre la valeur réelle du contenu d'EVOO et la valeur prédite par FTIR a montré une bonne corrélation avec un R^2 de l'ordre de 0,999 (voir figure II.IV.3).

Les coefficients de détermination, R^2_c et les R^2_{cv} , sont proches de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs prédites d'adultération. La figure II.IV.3 représente les valeurs prédites par les deux modèles (PLS et PCR) en fonction des valeurs de référence.

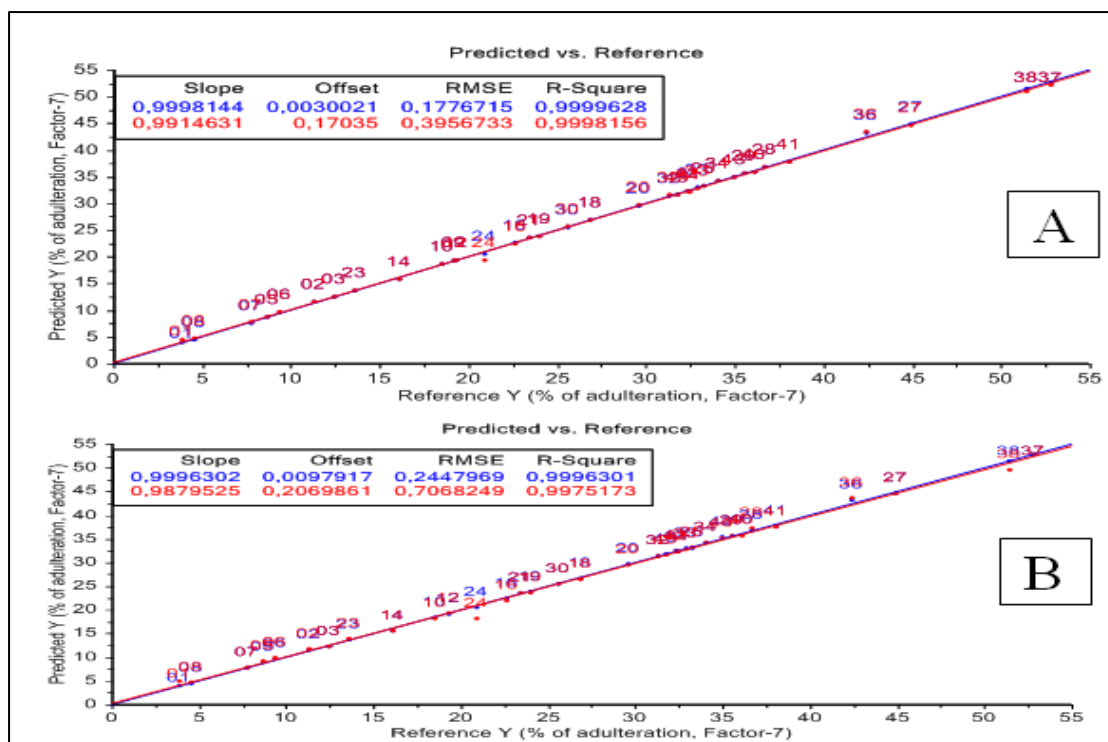


Figure II.IV. 3: Les modèles de calibration de la PLS (A) et la PCR (B) de la relation entre valeur de référence vs prédites d'EVOO adultérés avec LVOO sur les données spectrales dérivée dans la zone 3100-600cm⁻¹

4.2- Etape de validation externe

La validité du modèle final résultant, sur l'ensemble des 35 échantillons d'étalonnage, a été testée en utilisant un ensemble de validation (n = 10) des échantillons d'huile d'olive adultérés inconnus (voir tableau II.IV.4). L'équation de prédiction obtenue à partir du modèle d'étalonnage final (n = 35; figure II.IV.3) a été appliquée sur l'ensemble de validation afin de calculer les paramètres statistiques relatifs à l'estimation de la concentration de la teneur en EVOO adultérées dans des échantillons d'huile d'olive inconnus. Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux II.IV.3 et II.IV. 4.

Tableau II.IV. 3: Paramètres statistiques obtenus par validation externe sur PLS et PCR:

	LVs	Rp ²	RMSEP	Bias
PLS	7	0,9992	0,2401	-0,0475
PCR	7	0,997	0,4865	-0,2474

Le tableau II.IV.3 illustre les performances de la validation multivariée (PLSR et PCR), avec le traitement spectrale de la première dérivée (Savitzky-Golay), en termes de coefficient de détermination R^2 , de Biais, et d'erreur de prédiction (RMSEP). En général, la PLS offre les meilleurs résultats que la PCR pour l'analyse quantitative de LVOO dans EVOO. La valeur élevée de R^2 et la faible valeur d'erreurs, dans les étapes d'étalonnage et de prédiction, indiquent que les données spectrales FTIR associées à la PLS peuvent être des outils efficaces en termes de précision pour mesurer les niveaux d'adultération d'une huile d'olive extra vierge (EVOO) avec une huile d'olive de mauvaise qualité (LVOO).

Comme il est clairement indiqué dans le tableau II.IV.4, les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les valeurs réelles et celles prédites par la méthode proposée (PLS et PCR). Donc le modèle réalisé (PLS et PCR) pour le traitement des données FT-IR semble être approprié.

Tableau II.IV. 4: Estimation d'adultération d'EVOO par validation externe.

Echantillons	PLS		PCR	
	Y-Prédit (%)	Y-Référence (%)	Y-Prédit (%)	Y-Référence (%)
4	13,33	12,93	13,24	12,93
11	18,87	18,89	18,54	18,89
13	20,68	20,82	20,52	20,82
15	15,56	15,64	15,3	15,64
17	24,15	24,18	23,93	24,18
22	16,32	16,48	15,86	16,48
26	36,24	36,46	36,05	36,46
35	29,43	29,45	28,92	29,45
39	38,74	38,45	39,19	38,45
44	34,81	35,29	34,58	35,29

IV. Conclusion

La spectroscopie FTIR combinée avec les étalonnages multivariés et l'analyse discriminante peut être utilisée pour contrôler l'adultération d'huile d'olive extra vierge avec une huile d'olive de mauvaise qualité. Les étalonnages PLS et PCR à des fréquences de 3100-600 cm^{-1} peuvent être utilisés avec succès pour quantifier le niveau d'adultération d'EVOO.

On peut conclure que la FT-MIR en combinaison avec la chimiométrie peut être utilisée pour détecter et quantifier l'adultération de l'huile d'olive extra vierge avec une huile d'olive vierge lampante. Le niveau d'adultérant a été déterminé avec succès à l'aide des modèles étalonnages PLS et PCR.

V. Références

- [1] Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gómez-Caravaca A. M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12, p 1679–1719.
- [2] Flores G., Ruiz Del Castillo M. L., Herraiz M., 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, p 742–749.
- [3] Christy A., Kasemsumran S., Du Y. P., Ozaki Y (2004). The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Analytical Sciences*, 20, p 935–940.
- [4] Vaclavik L., Cajka T., Hrbek V., 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, p 56–63.
- [5] Jafari M., Kadivar M., Keramat J (2009). Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, p 103–110.
- [6] Heise H. M., Damm U., Lampen P., Davies A. N., 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, p 1286–1294
- [7] Poulli K. I., Mousdis G. A., Georgiou C. A. Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment. *Food Chemistry* (2007), 105, 369–375.
- [8] Chiavaro E., Vittadini E., Rodriguez-Estrada M. T., Cerretani L., Capelli L., 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, p 227–244.
- [9] Rusak D. A., Brown L. M., Martin S. D. Classification of vegetable oils by principal component analysis of FTIR spectra. *Journal of Chemical Education* (2003), 80, 541–543.
- [10] Lai Y. W., Kemsley E. K., Wilson R. H (1999). Potential of Fourier transform infrared spectroscopy for the authentication of vegetable oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, p 1154–1159.
- [11] Bendini A., Cerretani L., Di Virgilio F., Belloni P., Bonoli-Carbognin M., Lercker G (2007). Preliminary evaluation of the application of the FTIR spectroscopy to control the geographic origin and quality of virgin olive oils. *Journal of Food Quality*, 30, p 424–437.
- [12] Galtier O., Dupuy N., Le Dréau Y., Ollivier D., Pinatel C., Kister J (2007). Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR data. *Analytica Chimica Acta*, 595, p 136–144.
- [13] Tapp H. S., Defernez M., Kemsley E. K (2003). FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, p 6110–6115.
- [14] Gurdeniz G., Tokatli F., Ozen B (2007). Differentiation of mixtures of monovarietal olive oils by mid-infrared spectroscopy and chemometrics. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, p 1194–1202.

- [15] Oussama A., Elabadi F., Platikanov S., Kzaiber F., Tauler R (2012). Detection of Olive Oil Adulteration Using FT-IR Spectroscopy and PLS with Variable Importance of Projection (VIP) Scores *J Am Oil Chem Soc*, 89, p 1807–1812.
- [16] Vlachos N., Skopelitis Y., Psaroudaki M., Konstantinidou V., Chatzilazarou A., Tegou E (2006). Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Analytica Chimica Acta*, p 573–574, p 459–465.
- [17] Baeten V., FernándezPierna J. A., Dardenne P., Meurens M., García-González D. L., Aparicio-Ruiz R (2005). Detection of the presence of hazelnut oil in olive oil by FT-Raman and FT-MIR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, p 6201–6206.
- [18] Sinelli N., Cosio M. S., Gigliotti C., Casiraghi E (2007). Preliminary study on application of mid infrared spectroscopy for the evaluation of the virgin olive oil freshness. *AnalyticaChimicaActa*, 598, p 128–134.
- [19] Muik B., Lendl B., Molina-Diaz A., Valcarcel M., Ayora-Canada M. J (2007). Twodimensionalcorrelation spectroscopy and multivariate curve resolution for the study of lipid oxidation in edible oils monitored by FTIR and FT-Raman. *AnalyticaChimicaActa*, 593, p 54–67.
- [20] International Olive Oil Council. Trade standard applying to olive oil and olive pomace oil. RES. COI/T.15/NC no. 3/Revision 7(May 2013).
- [21] Vernon L., Singleton., Rudolf O., Rosa M., Lamuela R (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteureagent. *Methods in Enzymology*, 299, p 152–178.
- [22] Yap K. Y., Chan S. Y., Lim C. S (2007). Infrared-based protocol for the identification and categorisation of ginseng and its products. *Food Research International*, 40, p 643–652.
- [23] Inon F. A., Garrigues J. M., Garrigues S., Molina A., 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. *AnalyticaChimicaActa*, 489, p 59–75.
- [24] Terouzi W., De Luca M., Bolli A., Oussama A., Patumi M., Ioele G., Ragno G. A (2011). Discriminant method for classification of Moroccan olive varieties by using direct FT-IR analysis of the mesocarp section. *Vibrational Spectroscopy*, 56 (2), p 123–128.
- [25] Dupuy N., Galtier O., Ollivier D., Vanloot P., Artaud J (2010). Comparison between NIR, MIR, concatenated NIR and MIR analysis and hierarchical PLS model. Application to virgin olive oil analysis. *AnalyticaChimicaActa*, 666 (1-2), p 23–31.
- [26] Manaf M. A., Che Man Y. B., Hamid N. S., Ismail A., Syahariza Z. A (2007). Analysis of adulteration of virgin coconut oil by palm kernel olein using Fourier transforms infrared spectroscopy. *Journal Food Lipids*, 14, p 111–121.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'huile d'olive fait partie de la culture méditerranéenne, tant d'un point de vue historique que d'un point de vue alimentaire. Ses propriétés organoleptiques sont en effet reconnues par les grands chefs cuisiniers mais si elle se retrouve dans les cuisines depuis la civilisation grecque, c'est bien pour ses propriétés nutritionnelles. Le principal atout nutritionnel de l'huile d'olive réside cependant dans sa richesse en composés phénoliques ayant des propriétés antioxydantes. S'ils sont capables de prévenir l'oxydation de l'huile d'olive et de prolonger sa conservation, les scientifiques ont surtout cherché à déterminer leur impact sur la santé humaine et notamment sur les maladies dégénératives. L'huile d'olive contient toujours une certaine quantité de composés phénoliques, mais cette quantité peut être très variable d'une huile à une autre.

La combinaison de deux techniques originales, la spectroscopie infrarouge et la chimiométrie, pourraient être utilisées comme alternatives aux méthodes classiques existantes de dosage d'huile d'olive vierge. La validation de ces méthodes s'est faite par la validation externe en se basant sur des données spectrales réelles issues des échantillons inconnus.

Cette thèse avait des objectifs multiples : le premier était de développer et d'explorer le potentiel des méthodes spectrales comme la spectroscopie moyen infrarouge comme méthode rapide et moins coûteuse pour lier le rendement d'huile dans les fruits d'oliviers aux données spectrales (grâce à l'analyse statistique et chimiométrique). Le deuxième objectif était l'évaluation de la qualité des huiles d'olive vierges.

Lors du premier travail (chapitre 1 partie 2), la méthode FT-MIR couplée à la PLS est appliquée pour la détermination précoce de la teneur en huile dans les fruits d'olivier. L'application analytique développée nous a permis d'établir un modèle prédictif, capable de déterminer le rendement d'huile dans les fruits d'olivier. Les résultats de la prédiction obtenue en utilisant la technique de régression PLS ont donné de bonnes estimations de la teneur en huile, avec de très faibles erreurs et des coefficients de détermination qui sont proches de 1 sur la gamme spectrale entre 3033 - 2400 et 2300 - 600 cm^{-1} .

Le deuxième travail (chapitre 2 partie 2) démontre le potentiel de la spectroscopie FTIR, couplée à l'analyse chimiométrique, pour classer les quatre catégories de qualité des huiles d'olives vierges. Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par l'analyse physico-chimique classique. Par conséquent, la spectroscopie FT-IR couplée à la PLS-DA est un outil de classification alternative fiable, pas chère, rapide, ne nécessitant pas l'utilisation d'analyses chimiques traditionnelles et capable de prédire la qualité des échantillons d'huile d'olive vierge.

De même, l'application développée par les données spectroscopiques FT-MIR et par les méthodes chimiométriques (PLS), est mise en place pour élaborer un modèle reliant la concentration des polyphénols totaux aux spectres des huiles (chapitre 3 partie 2). Le modèle PLS d'étalonnage développé dans la gamme de concentration 1,04 et 10,33 g / L, a donné moins de 2% pour l'erreur relative dans l'étape de validation externe. Par conséquent, nous pouvons conclure que les spectres FT-IR de l'huile d'olive pourraient être correctement modélisés par PLSR en utilisant la première dérivée des spectres d'absorption comme prétraitement en utilisant la méthode de Savitzky-Golay. Cette étude a également montré que la région spectrale 3050-600 cm^{-1} est particulièrement utile pour de bonnes prédictions de la teneur en polyphénols totaux.

Enfin, nous avons montré (chapitre 4 partie 2) qu'il est possible d'adapter la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier à la détection et la prédiction de l'adultération de l'huile d'olive extra vierge avec une huile vierge lampante. Les modèles reliant ces critères chimiques aux spectres ont été optimisés d'un point de vue chimiométrique. L'influence des méthodes de prétraitement, des méthodes de régression et du domaine spectral sur l'erreur de prédiction a été étudiée.

L'application de la PLS-DA a permis de discriminer les huiles d'olive falsifiées et les huiles pures (EVOO). La régression PLS ou PCR, reliant les spectres MIR aux concentrations de l'huile adultérée, a permis d'obtenir une relation satisfaisante entre les concentrations prédites et les concentrations observées.

Nous avons prouvé que les techniques spectroscopiques couplées aux outils chimiométriques permettent de développer des méthodes rapides, non destructives et moins coûteuses. Le développement d'une analyse fiable et moins coûteuse est plus

demandée, pour répondre, d'une part, aux besoins de l'industrie oléicole, et d'autre part, aux exigences des consommateurs. Ainsi, cette technique peut être facilement adaptée à l'analyse de routine dans l'industrie oléicole.

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

- Développement des modèles chimiométriques pour l'analyse des caractéristiques organoleptiques des huiles ;
- Valorisation des sous-produits des huiles (grignons et margines) ;
- Application sur d'autres produits alimentaires.