

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma



Faculté : Mathématiques et de L'informatique et des Sciences de la matière
Département : Sciences de la matière
Laboratoire de domiciliation : Laboratoire d'Analyses Industrielles et Génie des Matériaux

THÈSE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT EN 3^{ème} CYCLE

Domaine : Sciences de la matière Filière : Chimie physique
Spécialité : chimie physique et modélisation

Présentée par

BEKKAR Khaoula

Intitulée

APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE IRTF A
L'ETUDE DES HUILES ALIMENTAIRES

Soutenu le :

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mr. KADRI Mekki

Professeur

Univ. 8 Mai 1945 Guelma

Président

Mr. OUMEDDOUR Rabah

Professeur

Univ. 8 Mai 1945 Guelma

Encadreur

Mr. GOUASMIA Abdelkrim

Professeur

Univ. Elarbi Tebessi Tebessa

Examineur

M^{me} BENDJEDDOU Amel

Professeur

Univ. M.C. Mesaadia Souk Ahras

Examineur

M^{me} NIGRI Soraya

Professeur

Univ. 8 Mai 1945 Guelma

Invitée

Année Universitaire : 2018/2019



Dédicace

*A mes parents qui j'aime
beaucoup, et qui sont mes plus
chers.*

A mes chers frères

A mes sœurs bien aimées

*A toute ma famille sans
exception.*

A mes chères amies

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au laboratoire de LAIGM de l'université 08 Mai 1945 de Guelma.

Mes remerciements s'adressent tout d'abord à 'Dieu', le tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie et m'a accordé la volonté et la patience nécessaire à la réalisation de cette thèse.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon directeur de thèse Monsieur Rabah OUMEDDOUR professeur à l'université de 8 mai 1945, Guelma, pour m'avoir guidée durant mon travail avec une disponibilité permanente, et m'avoir fait bénéficier de ses connaissances en plusieurs domaine de chimie.

Saurai-je trouver les mots pour manifester toute ma gratitude à M^{elle} Soraya NIGRI, professeur à l'université de 8 mai 1945, Guelma, pour son attention, ses précieux conseils, ses recommandations et l'intérêt constant qu'elle a porté à ces recherches. Ainsi, ses qualités humaines et la confiance qu'elle m'a accordée ; ont constitué un appui important dans la réalisation de ce travail.

Je remercie sincèrement Monsieur Mekki KADRI, professeur à l'université de 8 mai 1945, Guelma, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Je suis très sensible à l'honneur que m'accorde Monsieur Abdelkrim GOUASMIA Professeur à l'université de Larbi Tebessi, Tebessa, en acceptant de participer à ce jury. Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à remercier, également, Madame Amel BENDJEDDOU, professeur à l'université Mohamed Chérif Mesaadia, Souk Ahras, d'avoir bien voulu accepter de participer au jury de ma thèse.

Je remercie aussi tous les membres du (LAIGM) sur tout Monsieur le directeur le professeur M.E.H BENHAMZA et Madame Houda BOUKHEDNA, pour leur contribution à ce travail. Je n'oublie pas de remercier le Dr. Radia SELAIMIA pour avoir aidé à mener à bien cette thèse.

Je tiens à remercier spécialement Monsieur le professeur Mohamed ABDAOUI, directeur de laboratoire de chimie appliquée (LCA) de l'université 8 mai 1945, Guelma qui m'a beaucoup soutenu pendant la période de mes recherches, que son âme repose en paix « La miséricorde de dieu ». J'adresse mes plus vifs remerciements à Madame Assia BOULTIF l'ingénieure de LCA pour la collaboration et pour les moyens de travail qu'ils sont mis à ma disposition.

Un grand merci à mes parents pour m'avoir permis de réaliser mes longues études et pour tous leurs sacrifices consentis. Sans vous, je n'aurais jamais pu aller jusqu'au bout.

Un merci à vous, mes chères sœurs et mes chers frères, pour vos encouragements et vos soutiens, souvent discrets, mais toujours efficaces.

Un merci du cœur à tous mes amis qui m'ont supporté dans les bons comme dans les pires moments tout au long de cette thèse, je vous remercie.

Khaoula

Résumé

Dans une première partie de ce travail, la présence d'huile alimentaire "huile de tournesol, huile de colza, huile de maïs et huile de soja" dans l'huile d'olive a été détectée par spectroscopie IRTF couplée avec des méthodes chimiométriques. Elle fournit une méthode rapide et efficace pour détecter l'adultération de l'huile d'olive avec huile alimentaire. Par conséquent, les données spectrales ont subi une analyse des moindres carrés partiels PLS et l'analyse en composantes principales ACP. Le PLS est capable de corrélérer le changement de transmittance spectrale et la concentration d'huile alimentaire tout en concourant à d'autres spectres qui peuvent perturber les spectres analysés. La performance du modèle a été évaluée par le coefficient de détermination R^2 et l'erreur quadratique moyenne de validation croisée RMSECV. Les données analytiques ont été disposées dans une matrice contenant 17 variables à 12 concentrations d'échantillonnage.

Dans la deuxième partie de ce travail nous avons présenté une étude la stabilité oxydative des différents échantillons d'huile d'olive vierge récoltés dans le nord-est de l'Algérie en fonction de leurs changements structuraux dans les constituants, suivis par les changements de leurs spectres IRTF et de leurs paramètres physico-chimiques. Les analyses sont effectuées régulièrement tous les 30 jours pendant une année à travers K_{232} , K_{270} , teneur en caroténoïdes et chlorophylles, acidité libre et indice de peroxyde, spectres IRTF pour les échantillons d'huile d'olive vierge et pour les échantillons d'huile d'olive avec une petite quantité d'acide citrique dans l'eau 1/1000 comme antioxydant. Il est connu que la qualité de l'huile d'olive est considérée en ce qui concerne les valeurs sans aucun additif. Même si le Conseil oléicole international interdit l'inclusion d'additifs dans l'huile d'olive; la présence d'une solution diluée (jusqu'à 1 ‰ en volume) d'acide citrique, améliore la stabilité de l'huile d'olive contre les effets destructeurs des peroxydes. La spectroscopie IRTF combinée à l'étalonnage multi-varié a été utilisée pour l'évaluation de l'auto-oxydation de l'huile d'olive vierge. Le modèle PLS corrèle les valeurs estimées réelles et IRTF du temps de stockage avec un coefficient de détermination élevé.

Mots clé : Huile d'olive ; Huiles alimentaires ; Adultération ; Auto-oxydation ; Spectroscopie IRTF ; Méthodes chimiométriques.

Abstract

In the first part of this work, the presence of edible oil "sunflower oil, rapeseed oil, corn oil and soybean oil" in olive oil was detected by FTIR spectroscopy coupled with chemometric methods. It is a quick and effective method for detecting the adulteration of olive oil with edible oil. Therefore, the spectral data were analyzed by PLS partial least squares analysis and PCA principal component analysis. PLS is able to correlate the spectral transmittance change and its dietary oil concentration at the same time contributing to other spectra that can disrupt the analyzed spectra. The performance of the model was evaluated by the coefficient of determination R^2 and the mean squared error of cross validation RMSECV. The analytical data was arranged in a matrix containing 17 variables at 12 sampling concentrations.

In the second part of this work we presented a study on oxidative stabilities of the different samples of virgin olive oil which are harvested in northeastern Algeria. This study has conducted according to the samples' structural changes in constituents, followed by changes in their FTIR spectra and their physicochemical parameters. Analyzes are performed regularly every 30 days for one year through K_{232} , K_{270} , carotenoid and chlorophyll content, free acidity and peroxide index, FTIR spectra for virgin olive oil samples and olive oil samples with a small amount of citric acid in 1/1000 water as an antioxidant. It is known that the quality of olive oil is considered with regard to values without any additives. Although the International Olive Council prohibits the inclusion of additives in olive oil; the presence of a dilute solution (up to 1 ‰ by volume) of citric acid improves the stability of olive oil against the destructive effects of peroxides. FTIR spectroscopy combined with multi-varied calibration was used for the evaluation of auto-oxidation of virgin olive oil. The PLS model correlates the estimated real and FTIR values of the storage time with a high coefficient of determination.

Keywords: Olive oil; Edible oils; Adulteration; Auto-oxidation; FTIR spectroscopy; Chemometric methods.

ملخص

في الجزء الأول من هذا العمل، تم الكشف عن وجود زيت الطعام "زيت عباد الشمس، زيت بذور اللفت، زيت الذرة وزيت فول الصويا" في عينات زيت الزيتون بواسطة التحليل الطيفي IRTF إلى جانب طرق كيميومترية. تعد هذه الأخيرة طريقة سريعة وفعالة للكشف عن غش زيت الزيتون بزيت الطعام. لذلك تم استعمال البيانات الطيفية و تحليلها بواسطة PLS و المركبات الأساسية ACP. يستطيع نموذج PLS أن يربط بين تغير النفاذية الطيفية و تركيبة زيت الطعام كما يقوم في نفس الوقت بحوسبة الأطياف الأخرى التي تعكس أطياف التحليل. تم تقييم أداء النموذج من خلال معامل التحديد R^2 و RMSECV. تم ترتيب البيانات التحليلية في مصفوفة تحتوي على 17 متغير و تركيز 12 عينة.

في الجزء الثاني من هذا العمل قدمنا دراسة عن الاستقرار التأكسدي من خلال مراقبة عينات مختلفة من زيت الزيتون البكر التي تم جمعها من مناطق مختلفة من شمال شرق الجزائر، تكون هذه المراقبة من خلال متابعة تغييرات أطياف IRTF وتغيرات المعايير الفيزيائية الكيميائية الخاصة بالعينات. تحليل العينات تمت بطريقة منظمة - كل 30 يوما مدة سنة - من خلال استعمال معايير عديدة هي K_{232} ، K_{270} ، كاروتينويد والكلوروفيل، الحموضة الحرة ورقم البيروكسيد، أطياف IRTF لعينات زيت الزيتون البكر وعينات زيت الزيتون الممزوجة مع كمية صغيرة من حمض الستريك في 1/1000 من الماء كمضاد للأكسدة. مع العلم أن جودة زيت الزيتون تعرف بخصائص ذاتية دون أي إضافات، تناسبا مع توصيات المجلس الدولي لزيت زيتون الذي يمنع إدخال مواد مضافة في زيت الزيتون؛ و على الرغم من ذلك فإن إضافة محلول مخفف (تصل إلى 1% من حيث الحجم) من حمض الستريك يحسن استقرار زيت الزيتون من الآثار المدمرة للبيروكسيد.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون ; زيوت الطعام; الغش ; الأكسدة التلقائية ; التحليل الطيفي IRTF ; طرق كيميومترية.

Table des matières

Dédicace	
Remerciements	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Sommaire	i
Liste des abréviations	iii
Liste des figures	v
Liste des tableaux	vii
Introduction générale	1
PARTIE I	
<i>Etude bibliographique</i>	
I. Généralités sur les huiles alimentaires	3
I.1 Les lipides alimentaires	3
I.2 Définition d'une huile alimentaire	3
I.3 Composition chimique des huiles alimentaires	3
I.4 Caractéristiques de quelques huiles alimentaires	5
II. Les huiles alimentaires	5
II.1 Huile de tournesol	5
II.2 Huile de maïs	6
II.3 Huile de colza	7
II.4 Huile de soja	8
II.5 Huile d'olive	9
III. Adultération d'huile d'olive	22
IV. Oxydation des huiles (oxydation des lipides)	23
IV.1 Définition de l'oxydation	23
IV.2 L'oxydation des lipides	24
V. La chimiométrie	35
V.1 Introduction.....	35
V.2 Méthodes chimiométriques.....	35
V.3 Méthodes multivariées.....	35

VI Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	42
--	----

PARTIE II

Etude expérimentale

I. Etude de l'adultération d'une huile d'olive	54
I.1 Introduction	54
I.2 Matériels et méthodes.....	55
I.3 Résultats et discussion.....	59
I.4 Conclusion.....	71
II. Etude de la stabilité oxydative d'huile d'olive	72
II.1 Introduction.....	72
II.2 Matériels et méthodes	73
II.3 Résultats et discussion	81
II.4 Conclusion	96
Référence	97
Conclusion générale.....	102

Annexes

Liste des abréviations

ACP : Analyse en composantes principales

AC : Acide citrique

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

AG : Acide gras

AGMI : Acides Gras Monoinsaturés

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés

AGS : Acides gras saturés

B: Bouchegouf

BM: Bouati Mahmoud

COI : Conseil Oléicole International

CP : Composante principale

CV: Validation croisée

F : Variable de Fischer

HC : Huile de colza

HM : Huile de maïs

HN: Hammam N'baïl

HO: Huile d'olive

HOSO : Huile de tournesol riche en acide oléique

HPHOSO : Huile de tournesol riche en acide palmitique et en acide oléique

HS : Huile de soja

HSHOSO : Huile de tournesol riche en acide stéroïde et en acide oléique

HT : Huile de tournesol

ICA : Analyse en Composantes Indépendantes

IP : L'indice de peroxyde

IR : Infrarouge

IRTF : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

K : Coefficients d'extinctions spécifiques

LAIGM : Laboratoire d'analyses industrielles et génie des matériaux

LDL-C : Cholestérol des lipoprotéines de basse densité

MDA: Malondialdéhyde

MIR : Moyen infrarouge

MOSO : Huile de tournesol mi-acide oléique

NIPALS: Moindres carrés partiels itératifs non linéaires « Nonlinear Iterative Partial Least Squares »

PA : Principe Actif

PARAFAC : Analyse factorielle parallèle « Parallel factor analysis »

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

PET: Téréphtalate de polyéthylène

PLS : Régression aux moindres carrés partiels

PLS-DA: Analyse discriminante des moindres carrés partiels

PP : Polypropylène)

PS : Polystyrène

PVC : Chlorure de polyvinyle

R² : Coefficients de détermination

Regular SO : Huile de tournesol régulière

RMN : Résonance magnétique nucléaire

RMSECV : Erreur quadratique moyenne de validation croisée

SA: Souk Ahras

SIMCA: Modélisation indépendante souple d'analogies de classes « Soft independent modelling of class analogies »

T: Tebessa

TAG : Triacylglycérol

TG : Triglycérides

UV : Ultra-violet

Liste des figures

Figure I.1 : Formation de triacylglycérides. En rouge : l'atome d'oxygène; en bleu: l'atome hydrogène; en noir: l'acide gras; en orange: la double liaison.....	4
Figure I.2: Schéma de fabrication de l'huile d'olive.....	10
Figure I.3 : Schéma résumant l'autoxydation dans les aliments.....	27
Figure I.4: Schéma des principales réactions mises en jeu lors de l'oxydation des lipides....	31
Figure II.1: spectre (a) sans et (b) avec correction de la ligne de base.....	57
Figure II.2: spectre (a) sans et (b) avec normalisation.....	58
Figure II.3 : spectres IR-TF des échantillons étudiés.....	60
Figure II.4 : Diagramme de sélection de modèle PLS d'huile d'olive adultéré avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja.....	65
Figure II.5 : Diagramme des réponses PLS d'huile d'olive adultéré avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja.....	66
Figure II.6 : Diagramme des coefficients normalisent PLS de l'huile d'olive adultéré avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja.....	68
Figure II.7 Diagramme de corrélation de pourcentage réel par rapport au pourcentage prédit de (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja dans l'huile d'olive.....	69
Figure II.8 : Le score ACP obtenu à partir de la matrice de corrélation pour l'huile d'olive adultéré avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja...	70
Figure II.9 : Carte oléicole des zones d'échantillonnage.....	74
Figure II.10 : Evolution de K_{232} , K_{270} dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage, (1) Huile d'olive avec l'acide citrique, (2) Huile d'olive sans aucun additif.....	84

Figure II.11: Evolution du caroténoïde et de la chlorophylle dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage, (1) huile d'olive avec l'acide citrique, (2) huile d'olive sans aucun additif.....86

Figure II.12: Variation in free acidity (%) during storage time of olive oil produced in (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'bail, (e) Bouchegouf.....88

Figure II.13: Variation in peroxide value (meq O₂ /kg) during storage time of olive oil produced in (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'bail, (e) Bouchegouf.....90

Figure II.14 : Spectre d'huile d'olive témoin : (a) région Tebessa, (b) région Souk Ahras, (c) région Bouati Mahmoud, (d) région Hammam N'Bail, (e) Bouchegouf.....91

Figure II.15: Diagramme de sélection de modèle PLS (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'bail, (e) Bouchegouf.....93

Figure II.16 Diagramme de corrélation de temps de stockage réel par rapport au temps de stockage prédit de l'huile d'olive produite (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'bail, (e) Bouchegouf.....95

Liste des tableaux

Tableau I.1: Pourcentage des acides gras dans quelques huiles végétales	4
Tableau I.2: Caractéristiques physiques de quelques huiles alimentaires.....	5
Tableau I.3: Composition en acides gras de l'huile de tournesol (%).....	6
Tableau I.4 : Composition en acides gras de l'huile de maïs (%).....	7
Tableau I.5: composition en acide gras de l'huile de soja (%).....	8
Tableau I.6: Critères de qualité des huiles d'olive vierge (Source COI).....	15
Tableau I.7: Caractéristiques complémentaires des huiles d'olive.....	15
Tableau I.8: Composition en acide gras d'une huile d'olive (%).....	18
Tableau II.1 : Régions du spectre IRTF d'huile alimentaire.....	61
Tableau II.2 : Modèles linéaires pour le calcul du pourcentage de l'huile alimentaire dans l'huile d'olive.....	62
Tableau II.3 : Paramètres statistiques obtenus par validation croisée complète sur PLS de tous les échantillons.....	64
Tableau II.4 : Classification des échantillons étudiés.....	71
Tableau II.5: Paramètres de qualité des huiles d'olives collectées.....	81
Tableau II.6: Evolution de K_{232} , K_{270} dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage.....	83
Tableau II.7: Evolution du caroténoïde et de la chlorophylle dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage.....	85
Tableau II.8: Paramètres statistiques élaborés par validation croisée complète sur PLS de tous les échantillons.....	92



Introduction générale

Introduction générale

L'huile d'olive est le produit méditerranéen par excellence. On la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours. Elle est la principale source de matières grasses du régime crétois ou du régime méditerranéen qui sont bien connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Si l'huile d'olive est un produit intéressant d'un point de vue nutritionnel c'est tout d'abord pour sa composition en acides gras. En effet elle est largement insaturée et contient une petite partie d'acides gras. Outre cette composition particulière en acides gras, l'huile d'olive est surtout intéressante pour ses composés minoritaires tels que les polyphénols. L'intérêt nutritionnel de ces composés phénoliques réside dans leur forte capacité antioxydante qui pourrait prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies dégénératives ainsi que les maladies cardiovasculaires. Optimiser leur contenu dans l'huile d'olive présente donc un réel intérêt de santé publique.

L'huile d'olive est une huile de table directement issue d'un fruit sans recourir à des étapes de raffinage. L'absence d'étape de raffinage permet à l'huile d'olive de conserver tous ses antioxydants car ils ne vont pas être éliminés lors de ce procédé. En effet, selon les normes officielles, l'huile d'olive ne peut être obtenue qu'à partir du fruit de l'olivier et uniquement par utilisation de procédés physiques. L'olive étant un fruit riche en antioxydants, les principaux antioxydants de l'huile d'olive sont des dérivés de l'oleuropéine et du ligstroside font que partie de la classe des composés phénoliques. Ces composés ainsi que le tocophérol vont permettre une bonne conservation de l'huile d'olive dans le temps et vont prévenir son oxydation.

C'est dans ce cadre que ce travail met l'accent sur deux objectifs

Le premier objectif de ce travail a été la détection de l'adultération de l'huile d'olive avec des huiles alimentaires, moins chères, par la spectroscopie IRTF couplée avec des méthodes chimiométriques. Ainsi, les données spectrales issues de cette méthode rapide et efficace ont subi une analyse par les moindres carrés partiels PLS et les composantes principales ACP.

Le second objectif de ce travail a été réservé aux stabilités oxydatives des différents échantillons d'huile d'olive vierge récoltés dans le nord-est de l'Algérie en fonction de leurs changements structuraux dans les constituants, suivis par les changements de leurs spectres IRTF et de leurs paramètres physico-chimiques « K_{232} , K_{270} , teneur en caroténoïdes et

chlorophylles, acidité libre et indice de peroxyde ». Enfin nous avons étudié l'effet de l'ajout de l'acide citrique sur la stabilité de l'huile d'olive.

Pour atteindre ces objectifs, la thèse est structurée en deux parties :

La première partie est consacrée à une étude bibliographique sur les notions liées à cette étude à savoir, les huiles alimentaires utilisées dans cette étude et leurs propriétés, l'adultération d'huile d'olive, l'oxydation des huiles. Ainsi que les méthodes chimiométriques, que nous avons appliquées, combinée à spectroscopie infrarouge (ACP et PLS).

La deuxième partie, représentée par deux chapitres, est consacrée principalement aux résultats et discussions.

Le premier chapitre englobe les méthodes et matériels utilisés pour détecter l'adultération de l'huile d'olive avec des huiles alimentaires "huile de tournesol, l'huile de colza, l'huile de maïs et l'huile de soja", ainsi que la discussion des résultats obtenus. Le deuxième chapitre est consacré à l'étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive moyennant des analyses physico-chimiques et des analyses spectrales.

Nous clôturons enfin notre manuscrit par une conclusion générale et une annexe qui comportera l'article publié sur la deuxième partie des résultats et les communications nationales et internationales.

Partie I

Etude bibliographique



I. Généralités sur les huiles alimentaires

I.1 Les lipides alimentaires

Les lipides alimentaires comprennent les huiles et les graisses d'origine végétale ou animale. Ils se trouvent principalement dans les graisses (huiles, graisses, beurre) et dans les aliments riches en matières grasses tels que les noix et graines oléagineuses, de nombreux fromages et produits de charcuterie. Les huiles et les graisses alimentaires sont préparées à partir de graines ou de fruits oléagineux, germes ou pépins de production végétale divers et de tissus adipeux d'animaux terrestres ou marins. On différencie généralement les huiles des graisses par leur point de fusion. Les huiles sont des corps gras liquides à la température de 15° C alors que les graisses sont plus ou moins solides à cette température [1].

I.2 Définition d'une huile alimentaire

Les huiles alimentaires sont constituées à 100 % de lipides (environ 99 % de triglycérides, le reste étant composé principalement de lécithines et de vitamine E), elles ne contiennent pas d'eau et sont très caloriques. Les huiles sont un mélange de triglycérides différents dont la composition moyenne est connue. Leur teneur élevée en acides gras mono-insaturés ou polyinsaturés est bénéfique pour la santé. Chaque huile alimentaire a une composition en acides gras différente. Les huiles alimentaires sont très utilisées en cuisine pour assaisonner les salades, comme huiles de cuisson ou pour les fritures. Pour chaque huile, il existe une température critique (ou point de fumage) au-dessus de laquelle il ne faut pas chauffer l'huile. Quand l'huile atteint la température critique, ses composants se dégradent, forment des composés toxiques et l'huile fume. C'est pour cela que certaines huiles comme l'huile de noix dont la température critique est faible sont déconseillées pour la cuisson [2].

I.3 Composition chimique des huiles alimentaires

Les huiles alimentaires sont principalement des esters d'acides gras et de glycérol, et sont des composés à solubilité nulle ou faible dans l'eau mais par contre élevée dans les solvants organiques (méthanol, chloroforme, cyclohexane, éther diéthylique, acétone,...).

Les huiles alimentaires comestibles contiennent rarement des acides gras à chaînes ramifiées, ou avec un nombre impair de carbones, ou des acides gras insaturés dont le nombre de carbone est moins de seize ou plus de vingt atomes de carbone. Leur composition en triacylglycérols suit généralement un modèle dans lequel les acides gras en position-2 de la molécule de glycérol sont insaturés avec de l'acide linoléique, étant plus favorisé que l'acide

oléique et linoléique. Des acides gras saturés sont trouvés en position-2, uniquement quand il y a une concentration globale très élevée en acides gras saturés dans la graisse [3]. Le Tableau I.1 montre la composition en acides gras de quelques huiles alimentaires.

Les principaux triacylglycérides de l'huile d'olive sont POO (18,4 %), SOO (5,1 %), POL (5,9 %), OOO (43,5 %), OOL (6,8 %) (P: acide palmitique; O: acide oléique; S: acide stéarique; L: acide linoléique) [4].

Tableau I.1: Pourcentage des acides gras dans quelques huiles végétales [5]

Acides Gras	HO	HC	HNC	HM	HCT	HT
Acide myristique (C14 :0)	≤ 0.05	0.1- 0.2	16.5-20.8	0-0.3	0.6	1.00
Acide palmitique (C16 :0)	7.5- 20.0	3.0- 5.0	8.2- 10.2	9.1- 16.8	21.0- 26.8	5.5- 7.7
Acide Palmitoléique (C16 :1)	0.3- 3.5	0.2- 0.6	-	0- 0.3	0- 1.3	0- 0.3
Acide Heptadécanoïque (C17 :0)	≤ 0.3	-	-	-	-	-
Acide Heptadécénoïque (C17 :1)	≤ 0.3	-	-	-	-	-
Acide stéarique (C18 :0)	0.5- 5.0	1.0- 2.0	2.3- 3.4	1.4- 3.0	2.0- 3.3	2.8- 6.5
Acide oléique (C18 :1)	55.0-83.0	52.0-67.0	4.3- 8.1	20.0-38.0	14.0- 22.0	14.0-38.0
Acide linoléique (C18 :2)	3.5-21.0	16.0-24.8	0.7- 2.0	39.5-65.0	46.5-58.0	48.2-74.2
Acide linoléinique (C18 :3)	≤ 0.9	6.5- 14.0	0-tr	0.6-1.4	0-0.4	0-0.1
Acide arachidique (C20 :0)	≤ 0.6	0.2- 0.8	0.1	0.3-0.7	0.2-0.5	0.2-0.4
Acide éicosénoïque (C20 :1)	≤ 0.4	0.9- 2.4	0-tr	0.2-0.4	0- 0.1	0- 0.2
Acide béhénique (C22 :0)	≤ 0.2	0.1- 0.5	-	0- 0.5	0- 0.6	0.7- 1.3
Acide lignocérique (C24 :0)	≤ 0.2	0- 0.2	-	0- 0.3	-	0- 0.4

HO : huile d'olive, HC : huile de colza, HNC : huile noix de coco, HCT : huile de coton, HT : huile tournesol, HM : huile de maïs

Dans la nature, les acides gras sont généralement sous forme de triesters entre les acides gras et du glycérol selon la figure I.1 ;

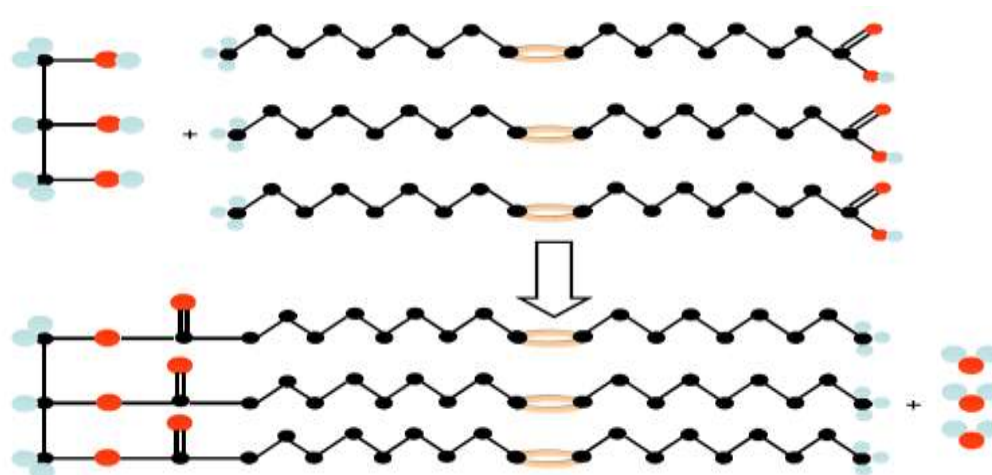


Figure I.1 : Formation de triacylglycérides. En rouge : l'atome d'oxygène; en bleu: l'atome hydrogène; en noir: l'acide gras; en orange: la double liaison.

I.4 Caractéristiques de quelques huiles alimentaires

Parmi les caractéristiques dépendant des acides gras contenus dans les lipides, nous citons:

- Les huiles riches en acides gras saturés et en acide oléique telle que l'huile d'olive avec respectivement 14% et 81%,
- Les huiles riches en acides gras polyinsaturés telle 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 [6].

Tableau I.2: Caractéristiques physiques de quelques huiles alimentaires [6]

Huile	Point de fusion (°C)	Densité (Kg/L)	Viscosité (Pa/s)
Huile de tournesol	-15	0.94	66
Huile de maïs	-18 à -10	0.90	65-72
Huile de soja	-15	0.91	57-76
Huile de colza	< 2	0.91	98

II. Les huiles alimentaires

II.1 Huile de tournesol

II.1.1 Définition

L'huile de tournesol est une huile végétale obtenue à partir des graines de tournesol, par processus d'expression ou extraction par solvant. Les graines de tournesol produisent une huile polyinsaturée hautement souhaitable pour la consommation humaine. Sa teneur élevée en acide linoléique précieux a progressivement accru vos importances au cours des dernières décennies. L'huile de tournesol existe sous deux formes: qualité brute ou qualité raffinée [7]. L'huile de tournesol raffinée a été largement acceptée en raison de sa teneur élevée en acides gras polyinsaturés, de sa saveur douce, de sa bonne stabilité au stockage et de sa faible viscosité. La qualité et la stabilité sont les principaux facteurs de la production, de l'acceptation et de la commercialisation des produits à base d'huile végétale. Ces propriétés dépendent principalement de la qualité des graines, du traitement des graines avant l'extraction, de la méthode d'extraction et des conditions de traitement. Elles sont influencées par la présence de certains composants mineurs, tels que les acides gras libres et les tocophérols, les phospholipides [8].

II.1.2 Compositions et propriétés

L'huile de tournesol a une composition intéressante en acides gras (tableau I.3) sur sa forme régulière avec une teneur élevée en acide linoléique (oméga 6) - Cet acide gras est essentiel car le corps humain ne peut le synthétiser- (huile de tournesol régulière - **HT Régulière**-), mais aussi avec les quatre autres variantes de composition en acides gras: huile de tournesol riche en acide oléique (**HTAO**), huile de tournesol mi-acide oléique (**HTMO**), huile de tournesol riche en acide stéroïde et en acide oléique (**HTASAO**) et huile de tournesol riche en acide palmitique et en acide oléique (**HTAPAO**). L'huile de tournesol contient également une importante fraction insaponifiable composée principalement de tocophérols (vitamine E), de phytostérols, de polyphénols et de caroténoïdes [9].

Tableau I.3: Composition en acides gras de l'huile de tournesol (%) [9]

Acide gras	HT Régulière	HTAO	HTMO	HTASAO	HTAPAO
C16 :0	5.0 – 7.6	2.6 – 5.0	4.0 – 5.5	6	29
C18 :0	2.3 – 4.0	2.0 – 4.0	3.0 – 5.0	21	1.7
C20 :0	0.1 – 0.5	0.2 – 0.5	0.2 – 0.4	0.2	/
C22 :0	0.3 – 1.5	0.5 – 1.6	0.6 – 1.1	0.4	/
C24 :-0	ND – 0.5	ND – 0.5	0.3 – 0.4	ND	/
C18 :1	14.0 – 39.4	75.0 – 90.7	43.1 – 71.8	69	53 – 57
C18 :2	48.3 – 74.0	2.1 – 17.0	18.7 – 45.3	4	2.1 – 4.3

Données de : Fernández-Moya *et al.*, 2006; Ghazani and Marangoni, 2013; Gunstone, 2011; Marmesat *et al.*, 2008; O'Brien, 2009; ND= Non détectable ; HT = huile de tournesol ; HTAO = huile de tournesol riche en acide oléique ; HTMO = Huile de tournesol mi- acide oléique ; HTASAO = Huile de tournesol riche en acide stéroïde et en acide oléique ; HTAPAO = Huile de tournesol riche en acide palmitique et en acide oléique.

II.2 Huile de maïs

II.2.1 Définition

L'huile de maïs est essentiellement extraite du germe de maïs. Elle peut être extraite de manière mécanique (pressage d'huile) ou chimique (extraction au solvant avec de l'hexane). Ceci est suivi par le raffinage de l'huile par dégommeage ou traitement alcalin. L'huile de maïs joue un rôle important dans notre alimentation quotidienne et est recommandée comme huile de cuisson saine par l'Organisation mondiale de la Santé. Elle est une source d'énergie concentrée (calories), est hautement digestible et fournit au corps des acides gras essentiels et de la vitamine E. C'est aussi une source riche d'acides gras polyinsaturés (l'acide linoléique $\omega 6$ et l'acide α -linoléique $\omega 3$) qui aident à réguler le taux de cholestérol dans le sang et à réduire l'hypertension artérielle [10].

II.2.2 Compositions

Les acides gras sont classés ici en gros en acides gras saturés et insaturés, et l'huile de maïs contient un mélange des deux types, comme l'illustre le tableau I.4 ;

Tableau I.4 : Composition en acides gras de l'huile de maïs (%) [10]

Composition en acides gras	% en huile de maïs
Acide palmitique (C16 :0)	11
Acide stéarique (C18 :0)	2
Acide oléique (C18 :1)	28
Acide linoléique (C18 :2)	58
Acide linoléique (C18 :3)	1

II.3 Huile de colza

II.3.1 Définition

La graine de colza contient de l'huile de haute qualité, qui est l'une des huiles alimentaires les plus courantes et les moins chères pour l'alimentation humaine [11]. L'huile de colza est l'une des huiles alimentaires présentant la plus faible concentration en acides gras saturés. Elle est naturellement riche en acide α -linoléique et en acide linoléique, ce qui en fait le ratio le plus proche de l'optimum pour répondre aux besoins nécessaires en acides gras essentiels dans le corps. De nombreuses études ont montré que l'huile de colza peut réduire le cholestérol total sérique et / ou le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL-C) lorsqu'elle est administrée à la place d'acides gras saturés [6-8], ce qui signifie que l'huile de colza possède des avantages significatifs pour la santé dans la réduction du risque d'athérosclérose [12]. Elle s'est avérée induire de nombreuses réponses physiologiques dans les cytokines inflammatoires, le métabolisme des glucides, le tissu adipeux et les adipokines, qui rendent cette huile bénéfique pour la santé [13].

II.3.2 Compositions

Outre les triacylglycérols, l'huile de colza contient également différents niveaux de tocophérols (8– 115.9 mg / 100 g), de phytostérols (459– 5 000 mg / 100 g), de polyphénols (0– 148.7 mg/ 100 g) et d'autres micronutriments, il a été reconnu que ces micronutriments jouent un rôle positif dans divers avantages pour la santé [13,14].

II.4 Huile de soja

II.4.1 Définition

L'huile de soja est fluide et d'un couleur jaune plus ou moins foncé suivant la nature des graines et les procédés d'extraction. Fraîche, elle a une saveur assez prononcée d'haricot qui s'atténue peu à peu. Elle est riche en acides gras polyinsaturés et notamment en acide gras essentiel α -linoléique. Elle est recommandée pour les assaisonnements [15].

Sa richesse en lécithine la rend précieuse pour la reconstitution des cellules nerveuses et cérébrales, sa bonne digestibilité en fait une bonne remplaçante de l'huile d'olive pour ceux qui ne peuvent la tolérer [16].

II.4.2 Composition

La principale différence de l'huile de soja par rapport aux autres huiles végétales, c'est qu'elle se situe au niveau de la forme d'insaturation et de la présence d'acide linoléique (C18 :3) en quantité appréciable. Cet acide gras étant très sensible à l'oxydation, il conviendrait d'éviter au maximum le contact de l'huile avec l'oxygène de l'air.

L'huile brute de soja est définie en termes d'humidité, impuretés, teneur en phosphatides, en acides gras libres et aussi en termes de couleur, caractéristiques d'oxydation et traces métalliques [17].

Tableau I.5: Composition en acide gras de l'huile de soja (%) [17]

Acides gras	Pourcentage %
Acide palmitique (C16: 0)	11.5
Acide stéarique (C18: 0)	4.0
Acide oléique (C18: 1)	25.0
Acide linoléique (C18: 2)	51.5
Acide linoléique (C 18: 3)	7.5
Acide arachidique (C20: 0)	0.5

II.5 Huile d'olive

II.5.1 Méthodes de fabrication de l'huile d'olive

Selon le Conseil Oléicole International (COI), l'huile d'olive est une huile obtenue à partir du fruit de l'olivier, à l'exclusion des huiles obtenues par extraction avec des solvants, par des procédures de ré-estérification, ou par n'importe quel mélange avec d'autres types d'huiles alimentaires. A la différence des autres huiles végétales ou d'autres produits, l'huile d'olive ne requiert aucune étape de raffinage ni aucune transformation chimique. Grâce à cette simplicité procédurale, l'huile d'olive a pu être fabriquée depuis l'antiquité. La technique a subi de nombreuses évolutions au cours du temps qui peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les évolutions relatives au broyage des olives et les évolutions relatives à la séparation des différentes phases. Entre ces deux grandes étapes, la pâte d'olive est malaxée afin d'être homogénéisée et de permettre la coalescence des gouttelettes d'huile.

Lors de leur arrivée chez un moulinier, les olives sont pesées puis passent généralement dans un système de laveuse-effeuilleuse qui va les nettoyer et permettre d'en retirer les impuretés (terre, cailloux, feuilles...) avant le broyage. Le broyage (ou trituration) des olives a pour but de détruire les cellules des olives afin que celles-ci puissent ensuite libérer leur contenu. A ce stade du procédé les olives sont réduites en une pâte plus ou moins homogène qui devra être malaxée. Outre le rôle d'homogénéisation de la pâte, le bac de malaxage permet la coalescence des gouttes d'huile : les microgouttelettes d'huile qui viennent d'être libérées de leurs lipovacuoles cellulaires vont se regrouper afin de former des gouttes de plus grande taille qui seront plus faciles à extraire de la pâte. La pâte malaxée va ensuite être pressée ou centrifugée horizontalement afin de séparer les phases solides et liquides. La phase solide contient les restes des noyaux ainsi que la peau et la pulpe des olives dépourvue de son huile. Cette phase solide s'appelle « grignons » et constitue l'un des deux principaux coproduits de la fabrication de l'huile d'olive. La phase liquide est un mélange d'eau et d'huile qu'il faut séparer. Cela se fait soit par simple décantation gravitationnelle, soit par centrifugation. Dans les deux cas la phase aqueuse aussi appelée « margines » est séparée de l'huile et constitue le second coproduit de la fabrication de l'huile d'olive. La phase grasse est l'huile d'olive pure ; comme aucun traitement ni aucune réaction chimique supplémentaire n'est nécessaire, l'huile d'olive est comestible en l'état [18], les étapes de fabrication d'huile d'olive se résume dans la figure I.2.



Figure I.2: Schéma de fabrication de l'huile d'olive [19]

II.5.2 Définition

L'huile d'olive fait partie de la culture méditerranéenne. Si l'huile est constituée pour l'essentiel, d'acides gras liés au glycérol (> 95 %), c'est-à-dire de triglycérides, elle contient, par ailleurs, un grand nombre d'autres composants, présents en faibles quantités. Ces composants dits «mineurs» n'en sont pas moins très importants : certains ont des effets bénéfiques sur la santé humaine, d'autres renforcent la stabilité de l'huile, d'autres encore sont responsables de son parfum délicat et unique. Le principal nutritionnel de l'huile d'olive réside cependant dans sa richesse en composés phénoliques ayant des propriétés antioxydantes [20].

II.5.3 Dénominations commerciales des huiles d'olive

Les dénominations et les définitions des huiles d'olive font l'objet d'une réglementation très stricte pour tous les échanges commerciaux. Elles ont été arrêtées par le COI, et reprises par la Communauté Européenne, selon une méthodologie comportant des analyses physico-chimiques, qui visent à évaluer la qualité du produit, et une analyse sensorielle (évaluation organoleptique par un jury d'experts).

Selon la norme du COI (norme COI/T.15/NC n° 3/ Rév.7 mai 2013) [21] et la réglementation européenne (règlement CE n°1989/2003 modifiant les règlements n°2568/91 et n°136/66) [22], on distingue plusieurs catégories d'huiles d'olive.

II.5.3.1 Huile d'olive vierge

Cette huile est obtenue à partir du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

L'huile d'olive vierge, propre à la consommation, fait l'objet du classement et des dénominations suivantes :

- A. **Huile d'olive extra vierge**: Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 0.8 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.
- B. **Huile d'olive vierge** : Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.
- C. **Huile d'olive vierge courante** : Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 3.3 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.
- D. **Huile d'olive vierge lampante** : Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est supérieure à 3.3 grammes pour 100 grammes et/ou dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie. L'huile d'olive vierge lampante est impropre à la consommation en l'état et est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques [19].

II.5.3.2 Huile d'olive raffinée

C'est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olives vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modification de la structure glycéridique initiale. L'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 grammes pour 100 grammes et ses autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie [19].

II.5.3.3 Huile d'olive

L'huile d'olive est constituée par le couplage d'huile d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état, dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes, et ses autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie [19].

II.5.3.4 Huile de grignons d'olive

L'huile de grignons d'olive est l'huile obtenue par traitement aux solvants, ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. Rappelons que les grignons (ou tourteaux) sont les résidus secs de l'extraction par pressurage des olives. Cette huile est commercialisée selon les dénominations et les définitions suivantes:

- A. **Huile de grignons d'olive brute** : C'est l'huile de grignons d'olive destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine ou destinée à des usages techniques.
- B. **Huile de grignons d'olive raffinée** : C'est l'huile obtenue à partir de l'huile de grignons d'olive brute par des techniques de raffinage n'entraînant pas de modification de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 0.3 grammes pour 100 grammes, et ses autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie.
- C. **Huile de grignons d'olive** : Cette huile est celle constituée par le couplage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre, exprimée en acide oléique, est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes, et ses autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie. Ce coupage ne peut, en aucun cas, être dénommé "huile d'olive" [19].

II.5.3.5 La dénomination "à froid"

Cette dénomination n'a pas de fondement juridique. Toutes les huiles commercialisées sous le terme "vierge extra" ou "vierge" sont extraites de l'olive à froid, c'est-à-dire à une température inférieure à 27° C, soit par pression ("pression à froid"), soit par centrifugation ("extraite à froid"). Dans les deux cas, l'huile d'olive est un pur jus de fruit, seul le mode d'extraction est différent [19].

II.5.4 Caractéristiques qualitatives des huiles d'olive (critères de qualité)

II.5.4.1 Caractères organoleptiques et analyses sensorielles

L'huile d'olive est un liquide de couleur jaune à vert, transparent, limpide, d'odeur et de saveur spécifiques, pratiquement insoluble dans l'alcool, miscible à l'éther diéthylique et à l'éther de pétrole [23].

L'analyse sensorielle pour l'huile d'olive est une particularité dans le domaine des corps gras alimentaires, cela de manière à assurer aux consommateurs un produit de qualité, en particulier sur le plan sensoriel.

Un jury d'experts (sélectionnés, entraînés et placés dans des conditions spécifiques) évalue les caractéristiques organoleptiques d'une huile d'olive, c'est-à-dire en percevoir les sensations agréables (ou descripteurs positifs) ou désagréables (ou défauts).

Les descripteurs positifs sont le fruité (fruité vert, mûr ou noir), l'amer et le piquant ; ces principaux défauts sont des goûts aigres, vineux, vinaigrés, acides, âpres, métalliques, ou même franchement inadmissibles comme des odeurs de moisi ou de rance.

A expliquer la méthodologie du COI (méthode de calcul basée sur l'utilisation de la médiane), chaque dégustateur remplit une fiche en attribuant une note pour chaque critère. L'évaluation de la médiane de l'intensité des qualités et des défauts est le résultat final qui constitue l'évaluation objective des caractéristiques organoleptiques de l'huile.

Au même titre que l'indice de peroxyde ou l'acidité libre, l'analyse sensorielle est utilisée pour le classement des huiles d'olive vierges. On considère alors que l'huile d'olive est classée dans la catégorie :

- vierge extra : lorsque la médiane des défauts est égale à 0 et que la médiane du fruité est supérieure à 0,
- vierge : lorsque la médiane des défauts est supérieure à 0 et inférieure ou égale à 3.5 et que la médiane du fruité est supérieure à 0,
- vierge courante : lorsque la médiane des défauts est supérieure à 3.5 et inférieure ou égale à 6 ou lorsque la médiane des défauts est inférieure ou égale à 3.5 et que la médiane du fruité est égale à 0,
- vierge lampante : lorsque la médiane des défauts est supérieure à 6 [24].

II.5.4.2 Caractères physico-chimiques

A. L'absorbance en spectrophotométrie ultraviolette

Significative de l'auto-oxydation de l'huile, cette méthode repose sur la détermination des coefficients d'extinctions spécifiques K dans l'ultraviolet à 232 nm et 270 nm des produits de décomposition de l'huile. Plus la valeur K_{270} est élevée, plus l'huile d'olive est riche en produits secondaires d'oxydation; mais elle ne doit pas dépasser 0.22 pour les huiles d'olive vierges. A 232 nm, K doit être inférieur à 2.50 [24, 25]. L'absorbance dans l'ultraviolet rend compte de l'oxydation de l'huile, ceci pouvant tenir à une matière première de qualité inférieure (olive piquée par exemple), un processus de fabrication défectueux, un stockage inadapté ou prolongé, ou traduire une adultération de l'huile par ajout d'huile raffinée.

B. L'indice d'acidité

Sa mesure rend compte de l'altération hydrolytique, et concerne principalement la matière première, l'olive.

Lorsque le stade de maturation du fruit est atteint, les triglycérides subissent une hydrolyse naturelle qui s'accroît avec le temps. Ce phénomène peut être amplifié par de mauvaises conditions de croissance (parasitisme du fruit), de récolte ou de stockage des olives. Ces phénomènes entraînent des lyses cellulaires dans la pulpe des olives et par conséquent provoquent la mise en contact de l'huile, initialement contenue dans les vacuoles, avec les systèmes enzymatiques et l'eau du cytoplasme. Cela conduit alors à la présence anormalement élevée d'acides gras libres, et donnant à terme des arômes désagréables à l'huile (pas "acide", mais une autre sensation organoleptique comme le moisi). Cet acide est exprimé en gramme d'acide oléique libre pour 100 grammes d'huile [26].

C. L'indice de peroxyde

Cet indice renseigne sur l'état d'oxydation de l'huile d'olive. L'auto-oxydation résulte de la réaction des lipides et de l'oxygène atmosphérique, aboutissant à terme à une altération du goût et de l'odeur de l'huile. Cette réaction est très lente, et les premières molécules de dégradation apparaissant sont des peroxydes. Ces molécules instables vont se décomposer par la suite en une série de produits, notamment des mélanges d'aldéhydes volatils. L'indice de peroxyde (IP) est exprimé en milliéquivalent (mEq) d'oxygène actif par kilogramme d'huile, et il permet de mesurer, à un moment donné, la quantité de ces peroxydes présents dans l'huile. Selon la norme du COI, l'IP doit être inférieure à 20 mEqO₂/kg pour les huiles d'olive

vierges. Au-delà, cela traduit un état avancé d'oxydation de l'huile [27], Selon le COI, le tableau I.6 indique plusieurs critères de qualité des huiles d'olive.

Tableau I.6: Critères de qualité des huiles d'olive (Source COI)

Critères de qualité	Huile d'olive extra vierge	Huile d'olive vierge	Huile d'olive courante	Huile d'olive lampante
médiane du défaut	Me = 0	0 < Me ≤ 3.5	3.5 < Me ≤ 6.0	Me > 6.0
médiane du fruité	Me > 0	Me > 0		
Acidité libre en % d'acide oléique	≤ 0.8	≤ 2.0	≤ 3.3	> 3.3
Indice de peroxyde en mEqO ₂ /kg	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité
Absorbance dans l'ultraviolet				
-K ₂₇₀	≤ 0.22	≤ 0.25	≤ 0.30	
-K ₂₃₂	≤ 2.50	≤ 2.60		

Ces trois analyses (acidité libre, valeur peroxyde et examen à spectrophotométrie à 270 nm et à 232 nm) sont rapides et nécessitent peu de matériel onéreux. Il est donc possible de connaître rapidement l'état général de la qualité de l'huile d'olive à analyser. Les normes de qualité en industries agroalimentaires étant de plus en plus rigoureuses, d'autres critères doivent cependant être pris en considération (Tableau I.7).

Tableau I.7: Caractéristiques complémentaires des huiles d'olive [28]

	IR (20°C)	IS (mg KOH/g)	II (Wijs)	IIS (g/kg)
HOV	1.4677- 1.4705	184-196	75-94	<15
HOR	1.4677- 1.4705	184-196	75-94	<15
HGOR	1,4680- 1,4707	182-193	75-92	<25

HOV: Huile d'olive vierge ; HOR: Huile d'olive raffinée ; HGOR: Huile de grignon d'olive raffinée ; IR: Indice de réfraction ; IS: indice de saponification ; II: Indice d'iode ; IIS: Insaponifiable

II.5.4.3 Autres critères de qualité d'huile d'olive

Sa densité relative (20°C/eau à 20°C) est comprise entre 0.910 et 0.916. Elle se trouble à 10°C et se solidifie à 0°C en formant une masse granuleuse. Son point de fumée est de 210°C, c'est-à-dire la température à laquelle l'huile commence à émettre des fumées de façon continue. Cela signifie que l'huile d'olive peut être employée comme huile de cuisson, en bain de friture. Pour la plupart des huiles de graines, on déconseille généralement de dépasser une température de 160°C.

D'autres critères analytiques sont retenus par le COI pour évaluer la qualité des huiles d'olive vierges, comme la recherche de contaminants (fer, cuivre), la teneur en eau et en matières volatiles [19].

II.5.5 Le stockage de l'huile d'olive

Des changements importants de la composition phénoliques des huiles d'olives vierges au cours du stockage ont été observés par plusieurs auteurs. Brenes et al. (2001) [29] ont observé une réduction de 15 % à 20 % du taux des polyphénols totaux dans des huiles conservées pendant une année à 30°C dans des bouteilles en verre fumé. Cette diminution en polyphénols est due à deux mécanismes concomitants qui se produisent durant la conservation: l'hydrolyse et l'auto-oxydation [30]. Selon Morello et al. (2004) [31], des diminutions considérables sont notées au niveau des dérivés secoïrdoïdes tel que le 3,4-DHPEA-AC après une période de stockage, par contre, les lignanes sont les composés phénoliques les plus stables. Brenes et al. (2001) [29] ont aussi signalé que la concentration en lignanes, le 1-acétoxy-pinorésinol et le pinorésinol reste constante durant le stockage de l'huile. Par ailleurs, Cortesi et Rovellini (2004) [30] ont noté une diminution des formes naturelles des diphénols parallèlement à une augmentation des formes oxydées au cours du stockage de l'huile d'olive pendant 16 mois à l'obscurité.

Les conditions de stockage inadéquats, température et lumière influencent le processus de dégradation des biophénols en des phénols simples. En effet, plusieurs auteurs ont signalé une élévation des taux de tyrosol et d'hydroxytyrosol dans les premiers mois de stockage de l'huile [32]. Ce phénomène est dû à l'hydrolyse des secoïrdoïdes aglycones [30, 33]. Butinar et al. (2006) [34] ont relevé une élévation des taux de tyrosol et d'hydroxytyrosol dans les premiers mois de stockage qui était suivi d'une diminution graduelle des taux de l'hydroxytyrosol qui est probablement dû à son activité antioxydante.

Les basses températures de stockage (5°C) retardaient la disparition des composés phénoliques par rapport à des températures ambiantes de 12°C [35]. De même l'obscurité réduit considérablement le taux de perte des composés phénoliques de l'huile d'olive [36].

II.5.6 Compositions d'huile d'olive

II.5.6.1 Composition chimique de l'huile d'olive

Les huiles d'olive vierges jouent un rôle important dans l'industrie agroalimentaire et sont importantes en nutrition humaine pour plusieurs raisons. En premier lieu, les lipides sont la principale source d'énergie pour le corps humain en comparaison de leur masse. De plus l'intérêt pour les huiles d'olive a été accru depuis la découverte avec leur richesse en vitamines liposolubles et en polyphénols qui sont des antioxydants. Elles sont également une source importante d'acides gras poly-insaturés essentiels car non synthétisables par le corps

humain. Si les acides gras sont les constituants majeurs de l'huile d'olive, ce sont les constituants mineurs qui permettent l'authentification d'une huile, tant sur le plan de la provenance géographique que sur sa qualité physico-chimique [18].

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

- Les substances saponifiables (triglycérides, acides gras,) (de 96 à 98% de l'huile)
- Les substances insaponifiables (de 2 à 4% de l'huile) [37].

A. La fraction saponifiable

• Les acides gras

La prédominance de l'acide oléique constitue la principale originalité de l'huile d'olive et lui confère les caractéristiques d'un corps gras mono-insaturé. Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, dans ce cas les acides gras sont dits « saturés ». Elle peut également contenir une double liaison (Acides Gras Mono-insaturés (AGMI) ou plusieurs doubles liaisons (Acides Gras Polyinsaturés AGPI). Pour les acides gras insaturés, ils sont souvent référenciés selon la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle terminal. Il existe 2 grandes familles d'AGPI : la série en n-6 (ou oméga 6) et la série n-3 (ou oméga 3). Dans l'huile d'olive on trouve de l'acide linoléique (oméga 6) et de l'acide alpha-linolénique (oméga 3). Ces acides gras sont dits « essentiels » car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et doivent donc être apportés par l'alimentation. Dans la nature, les acides gras sont généralement sous forme de triesters entre des acides gras et du glycérol selon la formule : Glycérol + 3 acides gras \rightarrow triacylglycérol + 3H₂O. Les acides gras présents dans l'huile d'olive se trouvent sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre. Ce sont des monoacides linéaires à nombre pairs (majoritaires) et impairs d'atomes de carbone dont le nombre varie de 14 à 24. Leur chaîne aliphatique est soit saturée soit mono ou polyinsaturée. Ils se composent en moyenne de 72% d'acides gras mono insaturés, de 14% d'acides gras polyinsaturés et de 14% d'acides gras saturés (norme européenne).

Dans le cas de l'huile d'olive les triacylglycérides représentent entre 98% et 99% de la masse totale. Quelques rares acides gras libres peuvent être trouvés et témoignent d'une oxydation du triester. La composition en acide gras est très variable et dépend de la variété d'olives, la

région de production et de l'année de la récolte. Des normes telles que celle du Codex Alimentarius régulent cependant cette variabilité en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras (Tableau I.8) [38].

Tableau I.8: Composition en acide gras d'une huile d'olive (%) [39]

Acides gras	Olivier et al (2003)	Codex alimentarius
Acide myristique (C14 :0)	Tr	< 0.1
Acide palmitique (C16 :0)	7.5-15.6	7.5-20
Acide palmitoléique (C16 :1n-7)	0.3-1.9	0.3-3.5
Acide margarique (C17 :0)	< 0.3	< 0.5
Acide margaroléique (C17 :1n-8)	< 0.5	< 0.6
Acide stéarique (C18 :0)	1.4-3.4	0.5-5
Acide oléique (C18 :1n-9)	60.9-82.1	55-83
Acide vaccinique (C18 :1n-7)	0.7-3.6	-
Acide linoléique (C18 :2n-6)	4.5-16.1	3,4-21
Acide α -linoléique (C18 :3n-3)	0.4-1.2	< 1.5
Acide arachidonique (C20 :0)	0.3-0.5	< 0.8
Acide gadoléique (C20 :1n-9)	0.2-0.5	-
Acide béhénique (C22 :0)	< 0.2	< 0.2
Acide lignocérique (C24 :0)	< 0.1	< 1

➤ **Acides gras saturés**

Il représente entre 12 à 18% (selon les productions) de la teneur en lipides de l'huile d'olive.

On peut trouver ;

Acide palmitique → $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-COOH}$

Acide stéarique → $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-COOH}$

➤ **Acides gras polyinsaturés**

Ils représentent entre 7 à 13% (selon les productions) de la teneur en lipides de l'huile d'olive. On distingue deux familles selon la position de la première double liaison sur la chaîne carbonée:

- **Famille en ω6**

L'acide linoléique en est le précurseur (tous les AG de cette famille peuvent en dériver).

C'est un AGPI composé de 18 atomes de carbone et qui compte deux doubles liaisons, dont la première en position 6 d'où le nom de cette famille:

Acide linoléique C18:2 ω 6



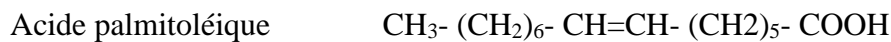
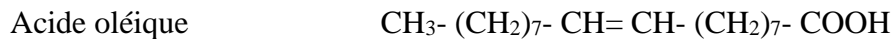
- **Famille en ω3**

L'acide α-linolénique en est le précurseur. C'est un AGPI composé de 18 atomes de carbone et qui compte trois double liaisons dont la première en position 3 d'où le nom de cette famille:

Acide α-linolénique C18:3ω3



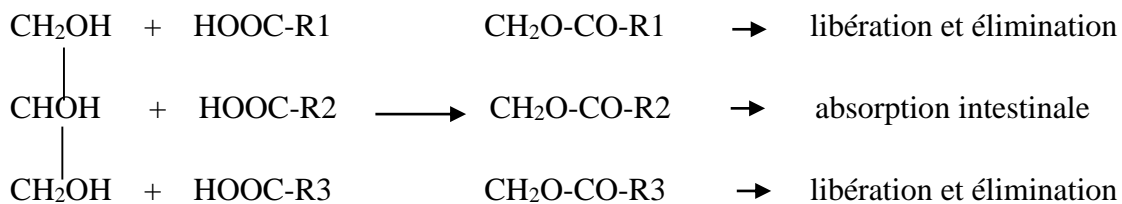
➤ **Acides gras mono-insaturés**



Les triglycérides (TG)

Les TG sont des triesters résultant de la combinaison de 3 molécules d'AG par leur fonction Carboxyle avec les fonctions alcooliques du glycérol.

Structure



Glycérol Acide gras Triglycéride

Les TG sont pour la plupart hétérogènes car ils sont estérifiés par des acides gras différents qui caractérisent le type spécifique de graisse alimentaire [40].

B. La fraction insaponifiable (Composants mineurs)

L'insaponifiable correspond à l'ensemble des constituants d'un corps gras qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants des graisses. Si l'huile d'olive possède des propriétés médicales, c'est en partie dû à sa teneur en acide oléique, mais c'est aussi grâce à sa fraction insaponifiable : cette fraction contient des constituants dits «mineurs» par leur faible proportion dans la composition chimique de l'huile d'olive, mais qui lui apportent une valeur biologique d'une grande richesse. L'insaponifiable représente de 2 à 4% de l'huile d'olive. Elle est constituée:

- les hydrocarbures,
- les stérols,
- les alcools terpéniques,
- les tocophérols,
- les composés phénoliques,
- les phospholipides et
- les pigments (chlorophylle, caroténoïdes) [41].

• Hydrocarbures

Le principal hydrocarbure de l'huile d'olive est le squalène. Celui-ci apparaît dans la voie de la biosynthèse du cholestérol. L'huile d'olive vierge extra contient du squalène à raison d'environ 400 - 450 mg/100 g; tandis que l'huile d'olive raffinée en contient 25 % de moins [25]. Le squalène présente un effet protecteur à des faibles températures et à l'obscurité [3]. Outre le squalène, l'huile d'olive contient aussi d'autres hydrocarbures : le β -carotène (une provitamine A), mais en très faibles quantités (0.03 – 0.36 mg/100 g) [20].

• Stérols

Les stérols sont des lipides importants sur le plan nutritionnel qui doivent être systématiquement déterminés dans les aliments. Les 4-desméthylstérols, le β -sitostérol sont les stérols prédominants dans les huiles d'olive. Les stérols mineurs comprennent le Δ^5 -avénastérol, le stigmastérol, le sitostanol et le cholestérol. Le stérol prédominant était le β sitostérol et la teneur totale en stérols dépendait du type d'huile et variait de 2.479 à 687 mg / kg. Le stigmastérol et la quantité d'érythrodiol plus d'uvaol peuvent être utilisés afin de faire la distinction entre l'huile d'olive et l'huile de graine. L'analyse de la composition de la fraction de stérols de l'huile d'olive peut être utilisée pour évaluer le degré de pureté de l'huile

et l'absence d'autres huiles végétales. Cette détermination permet également de caractériser le type d'huile d'olive [42].

- **Les alcools terpéniques**

Les alcools sont l'une des principales séries de composés insaponifiables. Les alcools aliphatiques peuvent avoir un nombre pair ou impair d'atomes de carbone. Les alcools aliphatiques linéaires dans l'huile d'olive sont l'hexacosanol (majeur), le docosanol (environ 35%), le tétracosanol et l'octacosanol. Le tricosanol, le pentacosanol et l'heptacosanol, alcools aliphatiques avec un nombre impair d'atomes de carbone, peuvent être retrouvés à l'état de traces [43].

- **Les tocophérols**

Ce sont des vitamines liposolubles. Les tocophérols sont des composés importants de l'huile d'olive en raison de leur contribution à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles de l'huile d'olive. Ce sont de puissants agents antioxydants capables de lutter contre l'attaque des radicaux libres.

On distingue 4 types de tocophérols :

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

Les β – tocophérols,

Les γ - tocophérols et

Les δ - tocophérols [41].

- **Les composés phénoliques**

La classe des phénols regroupe toute une gamme de substances diverses, dont des composés phénoliques simples comme l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide coumarique, l'acide caféique, le tyrosol et l'hydroxytyrosol. En moyenne, ces phénols simples sont présents à la concentration de 4.2 mg/100 g dans l'huile d'olive vierge extra et de 0.47 mg/100 g dans l'huile raffinée. Par ailleurs, l'huile d'olive contient des sécoiridoïdes comme l'oleuropéine et le ligstroside (respectivement 2.8mg/100g dans l'huile vierge extra et 0.93 mg/100g dans l'huile raffinée), ou des molécules plus complexes comme des lignanes (4.15 mg/100g dans

l'huile vierge extra et 0.73 mg/100g dans l'huile raffinée) et des flavonoïdes comme l'apigénine ou la lutéoline [19]. La teneur de l'huile en composés phénoliques est fonction de la variété des olives et de leur maturité au moment de la récolte [20].

- **Les phospholipides**

Constituants essentiels des cellules vivantes, ils sont présents en très petite quantité: 5 à 15mg pour 100g. L'huile d'olive en contient moins que les huiles de graines. Il s'agit de la phosphatidylcholine et phosphatidyléthanolamine [41].

- **Les pigments**

* **La chlorophylle:** sa présence est visible car c'est elle qui donne la couleur verte de l'huile. Sa quantité peut varier en fonction de nombreux facteurs. Ce pigment vert naturel stimule dans l'organisme la croissance cellulaire, l'hématopoïèse et accélère les processus de cicatrisation. Sa teneur est de l'ordre de 0.1 à 1mg pour 100g. A noter que la chlorophylle oxyde l'huile en présence de lumière alors qu'à l'obscurité elle possède une activité antioxydante. C'est une des raisons pour lesquelles il est conseillé de conserver l'huile d'olive à l'abri de la lumière [41].

* **Les caroténoïdes:** ce sont également des pigments naturels mais à structure d'hydrocarbure. Parmi eux, on trouve le β -carotène (provitamine A) à des concentrations variables (0.3 à 3.7mg pour 1kg). Il fournit par clivage de la vitamine A. L'huile d'olive est d'ailleurs la seule huile végétale à en posséder. Au-delà de l'intérêt vitaminique (rôle dans la vision), le β -carotène joue un rôle d'antioxydant. Les caroténoïdes se décomposent également au cours du stockage de l'huile, en particulier si celle-ci est exposée à la lumière. Dans ces conditions, l'huile d'olive peut de venir totalement incolore après 4 ou 5 ans [41].

III. Adulteration d'huile d'olive

L'adulteration des produits alimentaires, impliquant le remplacement des ingrédients coûteux par des substituts moins chers, est un type de fraude économique qui peut constituer une menace majeure pour la santé des consommateurs et constitue un problème sérieux dans les industries alimentaires [44]. Avec la connaissance croissante de la sécurité et de la qualité des aliments, les consommateurs exigent toujours la garantie de la qualité et du contenu des aliments. En conséquence, les laboratoires de réglementation et de contrôle de la qualité s'efforcent de développer une technique analytique rapide, économique et fiable pour

déterminer l'authenticité des aliments et distinguer toute fraude dans le produit. L'une de ces adultérations économiques est le mélange d'huile d'olive avec des autres huiles alimentaires moins chères [45].

En raison de sa qualité sensorielle et de ses bienfaits nutritionnels, l'huile d'olive est souvent frelatée avec des autres huiles alimentaires moins chères. L'adultération d'huile d'olive est un problème sérieux pour les organismes de normalisation, les fournisseurs d'huile et pourrait également menacer la santé des consommateurs. En fait, les mélanges d'huiles alimentaires ne peuvent être préparés que pour des produits appropriés, mais si le mélange obtenu s'écarte des proportions de mélange indiquées sur l'étiquette, ou si le mélange est vendu comme authentique, cela signifie que l'huile est adultérée [46]. Les huiles alimentaires largement utilisées dans l'adultération de l'huile d'olive vierge peuvent être de l'huile d'olive de qualité inférieure (huile d'olive raffinée ou de grignons) ou d'autres huiles alimentaires telles que l'huile de maïs, l'huile d'arachide, l'huile de tournesol, l'huile de colza et l'huile de soja [47]. Récemment, les quatre stratégies suivantes ont été proposées pour développer un détecteur d'adultération pour l'huile d'olive: (a) détection de marqueurs génétiques à base ADN d'adultérant [48]; (b) détection du métabolite marqueur adultérant [49]; (c) identification rapide basée sur la spectroscopie ou le capteur, y compris la résonance magnétique nucléaire (RMN) [50], spectroscopie infrarouge [47, 51], la spectroscopie Raman [52]; et la détection basée sur la métabolomique, y compris le triacylglycérol (TAG), les acides gras [53] et les profils de pytostérol [54]. Avec les propriétés chimiques explicites et l'avantage de l'analyse multivariée, les méthodes d'identification d'authentification basées sur la métabolomique étaient les plus prometteuses [55]. Dans cette étude, la spectroscopie infrarouge a été utilisée pour détecter l'adultération d'huile d'olive.

IV. Oxydation des huiles (oxydation des lipides)

IV.1 Définition de l'oxydation

L'oxydation des acides gras insaturés (les doubles liaisons s'ouvrent et fixent des atomes d'oxygène) a lieu en présence d'air, à température élevée ou sous l'action des ultra-violets.

L'oxydation a des conséquences sur les qualités alimentaires [56]:

- **Qualités nutritionnelles**

La perte en acides gras libres et insaturés, pose problème car certains ne peuvent être synthétisés par l'homme. Les plus importants sont les plus insaturés donc les plus fragiles. Il y a également des pertes en vitamines et en protéines.

- **Qualités hygiéniques**

Pas de problème bactériologique, mais en terme de qualité chimique, il y a formation de composés plus ou moins toxiques. En effet, les hydroperoxydes formés dégradent les membranes cellulaires et les époxydes n'étant pas métabolisables, s'accumulent et entraînent différentes hypertrophies d'organes.

- **Qualités organoleptiques**

Apparition de saveurs rances dues aux acides et aux cétones, ainsi qu'aux aldéhydes. Afin de prévenir cette dégradation, quelques facteurs sont à considérer :

- Degrés d'insaturation : plus il y a de doubles liaisons, plus la vitesse de dégradation des acides gras est grande.
- Catalyseur.
- L'oxygène O_2 : Les industriels sont donc forcés de trouver des moyens de prévention contre ces dégradations. Les procédés de fabrication peuvent donc être précédés d'une ou plusieurs étapes de prétraitement des matières premières.

IV.2 L'oxydation des lipides

IV.2.1 L'oxydation enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés des fruits oléagineux peut être d'origine enzymatique. L'enzyme principalement impliquée est la lipoxygénase. La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique, et aboutit à la formation d'hydroperoxydes. Elle agit spécifiquement sur les

acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases [57].

L'oxydation enzymatique peut avoir lieu à basse température. Les lipoxygénases et les peroxydases peuvent être activées par des ruptures au niveau des membranes cellulaires, causées par des endommagements physiques au niveau des graines, mettant l'enzyme et le substrat en contact. Plus la durée du stockage avant la transformation industrielle est longue, plus la détérioration enzymatique sera prononcée. Les lipoxygénases sont inactivées à des températures supérieures à 60°C, température à partir de laquelle l'oxydation non enzymatique est favorisée [58].

IV.2.2 L'auto-oxydation

Dans le stockage des aliments riches en lipides, les phénomènes oxydatifs mettent en jeu des réactions complexes, qui associent une dégradation oxydative (auto-oxydation) et une dégradation thermique des acides gras libres ou estérifiés. L'auto-oxydation des acides oléique (C18 :1 n-9) et linoléique (C18 :2 n-6) produit la plupart des substances rances dans les noisettes [59], tandis que dans les cacahuètes, c'est l'acide linoléique (C18 :2 n-6) qui est le plus touché [60].

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (Figure I.3). Une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène labile de l'acide gras insaturé (initiation), la plupart du temps adjacent à la double liaison. Puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs espèces radicalaires dérivées de l'acide gras (propagation) qui se combinent pour former des composés non radicalaires (terminaison) [61].

IV.2.2.1 Mécanisme réactionnel de l'auto-oxydation (d'après Bolland et Gee, 1946) [62]

A. Initiation

En présence d'un initiateur (1), les lipides insaturés (**RH**) perdent un atome d'hydrogène pour former sur l'acide gras touché, un radical libre centré sur le carbone (**R°**) (radical lipoyle).



B. Propagation

Le radical lipoylé, très réactif, fixe une molécule d'oxygène, pour former un radical hydroperoxyde instable, centré sur l'oxygène (2). Celui-ci arrache à son tour un hydrogène labile d'un deuxième acide gras, formant un hydroperoxyde non radicalaire plus stable (3), mais générant une nouvelle espèce radicalaire sur le deuxième acide gras.



Topallar et al. (1997) [63] ont montré que la sensibilité des acides gras insaturés à l'oxydation dépend de la capacité de l'hydrogène allylique à réagir avec un radical hydroperoxyde. L'acide linoléique (C18 :2 n-6), après action de l'oxygène, donne essentiellement 2 hydroperoxydes isomères. Les hydroperoxydiènes conjugués, qui résultent du départ d'un hydrogène allylique (13-OOH et 9-OOH) sont très majoritaires par rapport aux autres (12-OOH et 10-OOH). L'acide linoléique (C18 :3 n-3) forme lui aussi 4 hydroperoxydes 9-OOH, 12-OOH, 13-OOH, 16-OOH, les formes 16-OOH et 9-OOH étant majoritaires [62].

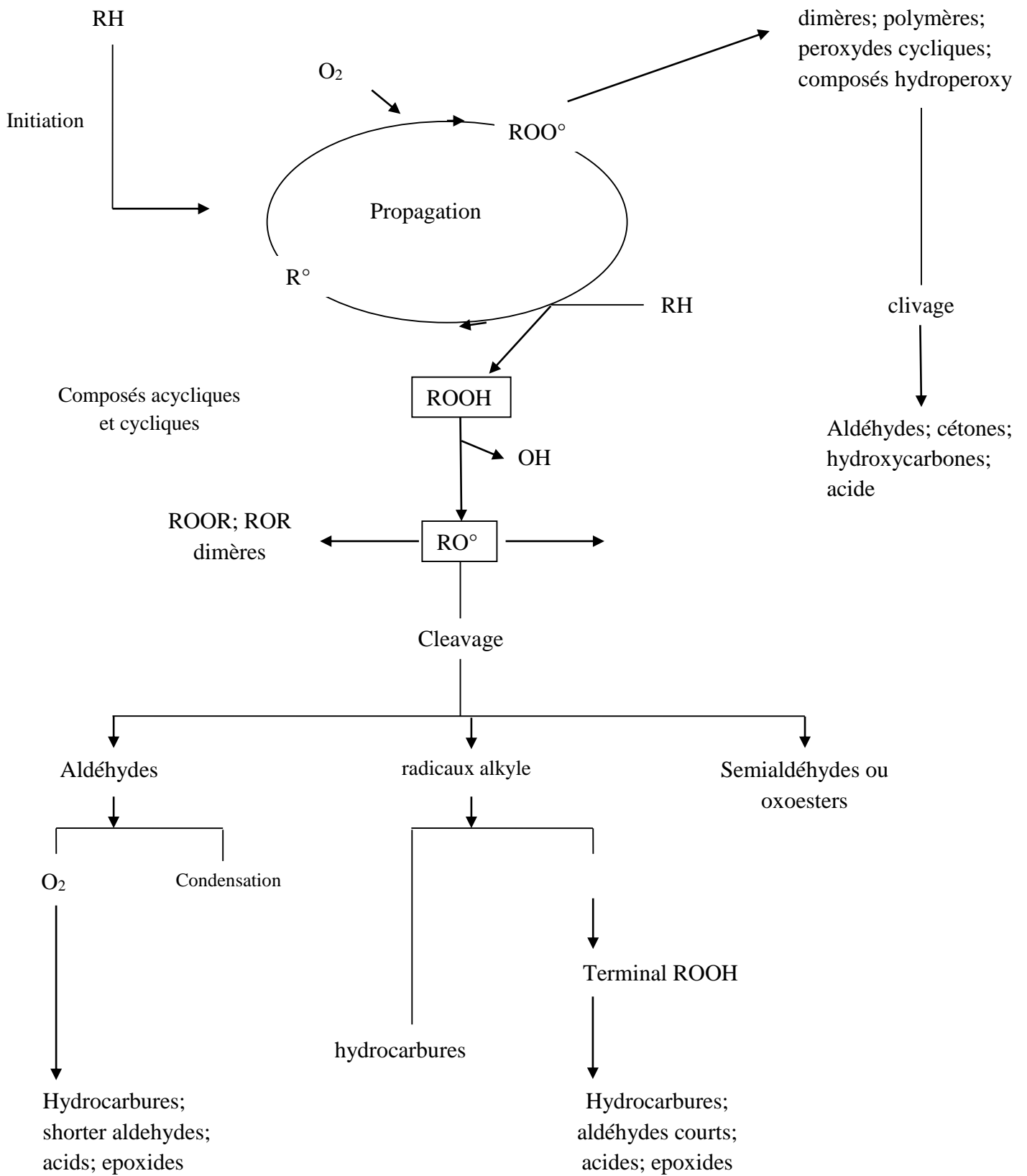


Figure I.3 : Schéma résumant l’auto-oxydation dans les aliments (d’après Nawar, 1996) [61]

C. Terminaison

Pendant cette phase, les espèces radicalaires réagissent entre elles pour donner des espèces non radicalaires, mettant ainsi fin aux cycles réactionnels.



IV.2.2.2 Produits formés au cours de l'auto-oxydation des lipides

L'oxydation des lipides conduit à la formation de produits primaires: hydroperoxydes, radicaux libres, diènes conjugués, très instables et rapidement décomposés en produits secondaires: aldéhydes, alcools, cétones [56].

A. Produits primaires

Des radicaux libres sont formés au cours des phases d'initiation et de propagation de la réaction d'oxydation des lipides. Ces espèces très instables et très réactives sont des composés susceptibles d'induire des altérations des protéines. Les diènes conjugués, se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical lipoyle des acides gras polyinsaturés. Les hydroperoxydes sont des produits intermédiaires de l'oxydation des lipides sans odeur spécifique, ils se décomposent rapidement à la chaleur. Ce sont les précurseurs des composés volatils [64].

Les vitesses d'oxydation des acides gras sont approximativement 1:10:100:200 pour les acides stéarique (C18:0), oléique (C18:1n-9), linoléique (C18 :2n-6) et linoléinique (C18 :3n-3) respectivement

B. Produits secondaires

- Réarrangements intermoléculaires

Une fois les radicaux formés, il se produit de nombreux réarrangements: formation de radicaux endoperoxydes, via des endoperoxydes bicycliques et la formation de malondialdéhyde (MDA), bien que d'autres voies soient aussi proposées par Dhale et al. (1962) [65] ou Pryor et al. (1976) [66] pour la formation du MDA

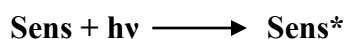
- **Scissions des hydroperoxydes**

La voie majoritaire de scission des hydroperoxydes donne lieu à des radicaux hydroxyles (OH°) et des oxyradicaux (RO°). Ces derniers engendrent divers produits d'oxydation ainsi que de nouveaux radicaux très réactifs pouvant entretenir la réaction ou réagir avec d'autres espèces chimiques (comme les amines, par exemple). Le remaniement des hydroperoxydes peut évoluer vers des fonctions époxydes, cétones, hydroxyles, furanes plus stables, avec des possibilités de cumul sur une même chaîne.

Les hydroperoxydes ne sont pas une espèce chimique très stable à température ambiante, et cela est d'autant plus vrai que la température augmente. Chan et al. (1976) [67] ont montré que les hydroperoxydes se décomposent spontanément au-dessus de 150°C . Lors de cette décomposition, la teneur en radicaux augmente rapidement et conduit à des réactions de terminaison. A des températures plus faibles ($60\text{-}120^\circ\text{C}$), la décomposition des hydroperoxydes peut avoir lieu, via la formation d'esters avec d'autres acides gras. Asakawa et al. (1980) [68] ont montré que les sels de fer catalysent la scission des hydroperoxydes de l'acide linoléique ($\text{C}_{18} : 2n-6$) et linoléinique ($\text{C}_{18} : 3 n-3$), pour former du MDA.

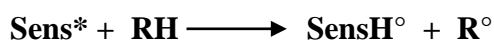
IV.2.3 Photo-oxydation

En présence de lumière, l'oxydation photochimique peut se produire. Seule l'initiation de la réaction conduisant à la formation d'hydroperoxydes, change. Les réactions de propagation et de terminaison sont identiques à celles de l'auto-oxydation. Certains composés mineurs de l'huile (chlorophylles) peuvent être excités électroniquement après absorption de la lumière (dans de domaine du visible et / ou de l'Ultra-Violet); ils jouent alors le rôle de photosensibilisateurs qui après excitation passent de l'état fondamental (Sens) à l'état excité triplet Sens^* [69].

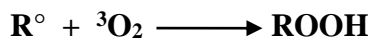


Les photosensibilisateurs oxydent les acides gras par deux types de mécanismes (I et II), selon leur nature.

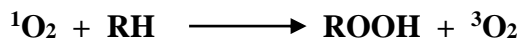
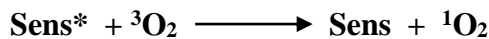
Ceux décrivant le premier mécanisme (type I), par exemple la riboflavine (vitamine B2), agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, ils arrachent un atome d'hydrogène ou un électron d'un acide gras (RH) pour former des radicaux libres



Le radical alkyle (R°) ainsi formé est ensuite capable de réagir avec l'oxygène triplet (3O_2) pour générer des hydroperoxydes



Dans le mécanisme de type II, les photosensibilisateurs excités ($Sens^*$) comme les chlorophylles et leurs produits de dégradation (phéophytines et phéophorbines), reviennent à leur état fondamental en activant l'oxygène atmosphérique qui passe alors de son état fondamental dit « triplet » (3O_2) à un état excité très réactif (1O_2), état dans lequel l'oxygène a suffisamment d'énergie pour se fixer directement sur les acides gras insaturés pour engendrer des hydroperoxydes des acides gras.



L'oxygène singulier formé par voie photochimique jouant le rôle d'initiateur, est plus réactif que l'oxygène triplet, ce qui rend la réaction de photo-oxydation plus rapide que l'auto-oxydation [70].

Les photo-sensibilisateurs accélèrent l'oxydation de l'huile [71]. Il a été démontré que des quantités importantes de chlorophylles compromettent la résistance à l'oxydation des huiles d'olive exposées à la lumière [72]. Les phéophytines ont une plus grande activité photosensible que les chlorophylles mais plus faible que celles des phéophorbines [73]. Par ailleurs, bien que les chlorophylles soient de puissants pro-oxydants en présence de lumière en agissant comme photosensibilisateurs de 1O_2 , ils réagissent comme des antioxydants à l'obscurité en donnant un hydrogène aux radicaux libres [74]. En revanche, le β -carotène est un fort inhibiteur naturel de la photo-oxydation : il agit comme protecteur en désactivant l'oxygène singulier produit par les chlorophylles, et filtrerait les longueurs d'onde actives des radiations lumineuses, protégeant ainsi l'huile contre l'activation de l'oxygène par la lumière. Cependant au-delà de $40^\circ C$ son activité est réduite car il se dégrade [72].

IV.2.4 Oxydation thermique

L'oxydation thermique des huiles alimentaires présente des mécanismes similaires à ceux de l'auto-oxydation mais plus intenses. Une série de réactions telles que l'hydrolyse, l'oxydation, la polymérisation, l'isomérisation et la cyclisation (à $180^\circ C$ ou plus) [75] peuvent se produire. La Figure I.4 présente un schéma simplifié des principales réactions mises en jeu lors de l'oxydation des lipides, à savoir l'auto-oxydation et la photo-oxydation.

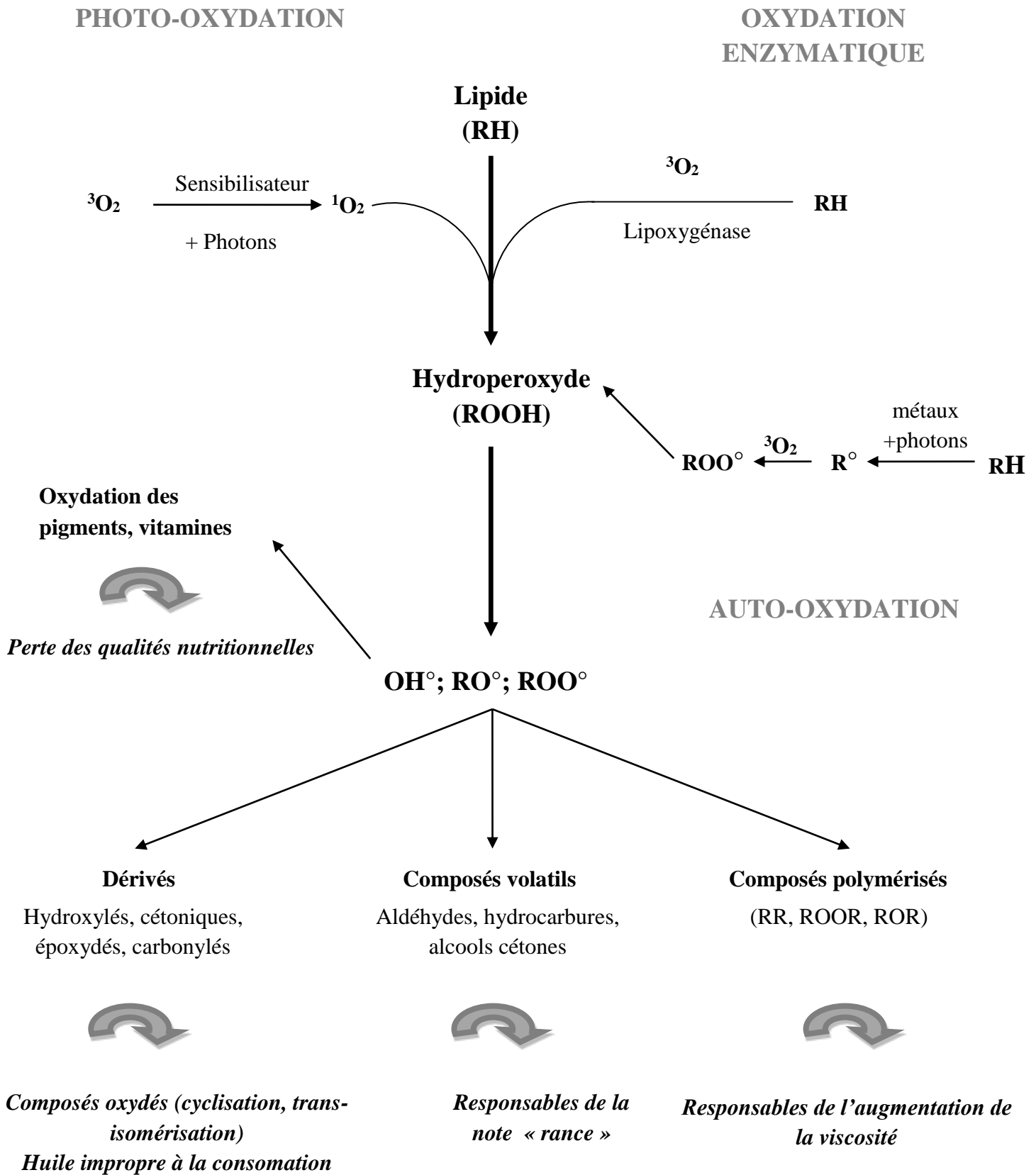


Figure I.4: Schéma des principales réactions mises en jeu lors de l'oxydation des lipides

IV.2.5. Les principaux facteurs influençant l'oxydation lipidique

IV.2.5.1 L'oxygène

La quantité d'oxygène dissoute dans l'huile, qui ne peut être retirée, conditionne l'intensité de l'oxydation puisque la vitesse de la réaction d'oxydation est directement liée à la pression partielle de l'oxygène [76]. Ainsi la perméabilité en oxygène de l'emballage et le volume libre d'air au-dessus de la surface de l'huile conditionnent de fait la bonne conservation de l'huile au cours de son stockage [76-78].

L'emballage le plus efficace pour la conservation de l'huile se révèle être le verre, l'acier inox ou l'aluminium car ils constituent une barrière à l'oxygène bien que le verre ne protège pas l'huile des radiations lumineuses lorsqu'il est incolore. Quant aux emballages plastiques [78], ils ne protègent l'huile que durant quelques mois (3-6 mois) du fait de leur perméabilité en oxygène qui varie selon le classement suivant: PVC (chlorure de polyvinyle) > PET (téréphtalate de polyéthylène) > PP (polypropylène) > PS (polystyrène).

Certains de ces plastiques ont pourtant l'avantage d'être opaques mais le rôle de l'oxygène est un facteur clé plus important que la lumière dans le rancissement des huiles. Pristouri et al. (2010) [78] proposent alors l'utilisation du PET enrobé de résine contenant des pièges à oxygène comme alternative au verre traditionnel. D'après les travaux de Mendez et al. (2007) [77], l'emballage Tétra-brik serait un bon compromis entre les récipients en carton plastifiés et ceux en étain qui sont les contenants les moins utilisés mais qui semblent les plus efficaces pour la conservation de l'huile durant au moins six mois.

Pour réduire le risque d'oxydation durant le stockage, l'espace de tête de l'emballage peut être aussi rempli par un gaz inerte. Di Giovacchino et al. (2002) [79] ont étudié l'influence du taux de remplissage d'une bouteille d'huile d'olive remplie à 60, 90 ou 98% avec de l'air ou de l'azote, stockée sous différentes conditions de température et ont montré que la présence d'azote ralentissait le processus d'oxydation et augmentait sa résistance à l'oxydation sans modifier ses qualités organoleptiques. Pour éviter ce problème d'espace de tête, Pristouri et al., (2010) [77] conseillent de transvaser l'huile dans un récipient adéquat ne laissant pratiquement aucun volume d'air au-dessus de la surface de l'huile. D'autres auteurs comme Garcia et al. (2001) [80] soulignent l'importance d'introduire de l'azote à la production en ligne de l'huile d'olive.

IV.2.5.2 La chaleur

La chaleur est connue comme le facteur influençant le plus la réaction d'auto-oxydation. Gómez-Alonso et al. (2004) [81] ont montré que la constante de vitesse de cette réaction augmentait exponentiellement en fonction de la température lorsqu'une huile dépourvue de pro- et d'antioxydants est placée à l'obscurité. L'effet de la chaleur est complexe car elle augmente la vitesse d'oxydation de l'huile tout en diminuant la solubilité de l'oxygène dans l'huile et en favorisant la décomposition des hydroperoxydes en divers produits secondaires. Mais la dépendance vis-à-vis de la chaleur est difficile à prévoir car un grand nombre de paramètres entrent en jeu [82].

IV.2.5.3 La lumière

L'exposition à la lumière initie l'auto-oxydation [76] et entraîne une photo-oxydation de l'huile [83]. Les huiles exposées à la lumière, même sous un faible rayonnement UV, sont moins stables que celles conservées à l'obscurité. Caponio et al. (2005) [70], Luna et al. (2006) [84] et Kiritsakis et al. (1985) [85] montrent qu'il existe une différence de comportement entre la chlorophylle a et les phéophytines (a et b) après huit heures d'illumination de l'huile d'olive : les peroxydes se forment en plus grande quantité en présence de phéophytines. De plus, l'huile enrichie en chlorophylles devient incolore, preuve de la dégradation de ceux-ci, alors que celle contenant les phéophytines conserve sa couleur.

IV.2.5.4 La composition chimique de l'huile

La stabilité oxydative d'une huile est due, non seulement à sa grande proportion en acides gras mono insaturés par rapport aux polyinsaturés, mais aussi à la présence de composés mineurs qui ont une activité anti oxydante importante [81].

L'oxydation lipidique augmente avec le degré d'insaturation des acides gras [86] et la présence d'acides gras libres aurait un effet pro-oxydant de part la présence du groupement carboxylique [87].

La présence de métaux de transition comme le fer et le cuivre peut promouvoir l'auto-oxydation en catalysant la décomposition des hydroperoxydes [88]. La stabilité oxydative d'une huile est directement liée à sa composition en phénols [89] qui jouent un rôle protecteurs en bloquant la phase de propagation de l'auto-oxydation des acides gras insaturés [90] en piégeant les radicaux libres et en chélatant les métaux [91]. Parmi eux, l'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxy-phenylethanol) s'est révélé être l'antioxydant le plus efficace

[92]. Le tyrosol et ses dérivés ont par contre une faible activité anti oxydante, voire nulle, du fait de l'absence de groupement donneur d'électrons [93]. Les ortho-diphénols tels que l'acide caféique sont oxydés en quinones par les ions ferriques et deviennent inefficaces vis-à-vis de l'inhibition des radicaux libres [94], Chimi et al. (1990) [95] ont établi le classement suivant quant au pouvoir antioxydant des huiles d'olive : hydroxytyrosol > acide caféique > tyrosol.

D'autres composés mineurs jouent aussi un rôle protecteur non négligeable dans la stabilité des huiles d'olive. La teneur initiale en α -tocophérol de l'huile influence beaucoup sa résistance à l'oxydation et est étroitement corrélée avec la quantité de diènes conjugués durant le stockage [90]. Sa concentration diminue si l'oxygène est régulièrement renouvelé [96] et décroît plus vite lorsque l'huile est stockée à la lumière [70]. L' α -tocophérol possède un effet inhibiteur de l'auto- et de la photo-oxydation. A l'obscurité, il joue le rôle de donneur d'électrons en interrompant la réaction en chaîne du processus radicalaire alors qu'il devient accepteur d'électrons en présence de lumière en désactivant l'oxygène singulet [97]. Mais l'ajout de ce constituant dans des échantillons d'huile exposés à la lumière n'a que très peu d'impact selon Kiritsakis et al. (1985) [85] ou n'est efficace qu'à très faibles quantités ajoutées selon Blekas et al. (1995) [98]. En effet, à partir d'un certain seuil, il devient pro-oxydant [90, 98]. Par ailleurs, l' α -tocophérol montre un effet synergique avec un des principaux caroténoïdes, le β -carotène [72] qui lutte aussi contre l'oxydation de l'huile en étant lui-même protégé par l' α -tocophérol [99].

Cependant, l'effet du β -carotène diminue progressivement car les caroténoïdes sont dégradés par la lumière et la température. En présence de chlorophylles, qui sont des photosensibilisateurs transformant, sous l'effet de la lumière, l'oxygène atmosphérique en oxygène singulet très réactif, les carotènes et tocophérols sont détruits plus rapidement car ils désactivent l'oxygène singulet.

De manière générale, les effets de ces différents composés mineurs sur la stabilité d'une huile sont nettement moins significatifs à l'obscurité qu'à la lumière [100]. Caponio et al. (2005) [70] suggèrent qu'à la lumière, l'huile est protégée principalement par les tocophérols et les caroténoïdes alors que les substances phénoliques ont alors un rôle secondaire. À l'obscurité, ce sont les phénols qui se révèlent être les composés les plus impliqués pour protéger l'huile de son auto-oxydation.

En résumé, l'oxydation lipidique conduit d'abord à la formation des peroxydes et des hydroperoxydes, produits instables qui vont évoluer en des produits secondaires d'oxydation comme des hydrocarbures, des alcools, des aldéhydes et des cétones qui peuvent également

être oxydés en acides carboxyliques [75]. L'huile oxydée aura un intérêt nutritif moindre qu'une huile bien conservée [101]. Ainsi, pour maintenir la composition lipidique et la teneur en composés phénoliques et volatils responsables des propriétés organoleptiques et nutritionnelles, très appréciées dans l'huile d'olive, il est indispensable de contrôler tous les facteurs qui provoquent cette oxydation lipidique, favorisée par la lumière (photo-oxydation), la chaleur (oxydation thermique), la concentration en oxygène (auto-oxydation), l'humidité, la présence de métaux à l'état de traces ainsi que les lipoxydases [102].

V. La chimométrie

V.1 Introduction

En spectroscopie, la chimométrie est très utilisée pour obtenir des résultats quantitatifs et qualitatifs sur des systèmes complexes. En effet, cette discipline permet d'extraire, à partir des variables réelles, l'information en condensant les données sous forme de variables latentes. Le modèle différenciera donc les données utiles et les variables aléatoires comme le bruit de fond. La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse secondaire ce qui la différencie des outils d'analyses conventionnels. Les spectres acquis font l'objet d'un traitement et d'une analyse poussée afin de permettre l'obtention d'une information pertinente et exploitable. La chimométrie est la méthode d'extraction de l'information pour l'interprétation des données spectrales [103].

V.2 Méthodes chimométriques

Il existe une grande gamme de méthodes multivariées, dont une liste non-exhaustive des plus populaires inclue les suivantes: PCA, Factor Analysis, ICA, PCR, PLS, PLS-DA, SIMCA, PARAFAC, Tucker, MANOVA, Réseaux de neurones, «Kohonen networks», «Fuzzy methods», «Warping», Algorithmes génétiques, «Support vector machines», «Multivariate curve resolution» et Ondelettes [104].

V.3 Méthodes multivariées

V.3.1 Méthodes prédictives

L'objectif principal d'une méthode prédictive est d'estimer au mieux à partir de données, les valeurs d'une ou plusieurs variables pour de nouveaux échantillons. Dans les applications

analytiques le cas le plus fréquemment rencontré correspond à la prédiction d'une variable quantitative, comme la concentration d'un composant présent dans le produit étudié.

Avant d'appliquer une méthode chimométrique, il est nécessaire de créer une collection homogène de spectres. Il est important de numériser les spectres afin de changer un signal continu en une suite de nombres (valeur de la mesure spectrale à une longueur d'onde donnée par exemple).

L'acquisition de plusieurs dizaines de spectres est nécessaire à l'établissement d'un modèle. Ils sont regroupés dans un tableau et traités par la méthode chimométrique la plus adaptée [103].

V.3.1.1 La régression linéaire

L'analyse par spectroscopie nécessite un étalonnage permettant d'établir la liaison entre une variable à prédire Y et les spectres des individus considérés, représentés par les mesures spectrales aux différentes longueurs d'onde.

La régression linéaire est une technique qui permet d'établir des équations de prédiction (ou modèles) permettant de relier la variable Y (teneur en Principe Actif (PA) par exemple) et des variables x_1, x_2, \dots, x_p (absorbance à une longueur d'onde donnée). Les méthodes de régression sont basées sur le principe des moindres carrés et s'appuient sur les statistiques [103].

A. La régression linéaire simple

Pour le modèle par régression linéaire simple, l'ensemble des variables indépendantes est réduit à une seule variable. L'absorbance à une seule longueur d'onde est retenue comme variable X . Une représentation graphique de Y en fonction de X est réalisée. Si les points apparaissent alignés, la régression linéaire par la méthode des moindres carrés permet de rechercher la fonction affine qui passe au plus près des points.

L'objectif est de définir la relation affiné suivante : $y = a x_i + b$. Pour cela on doit estimer les valeurs de a et b et évaluer la validité de cette relation. Ensuite, le coefficient de corrélation r permet d'évaluer la force de la linéarité entre X et « y », et par conséquent, la validité du modèle. La validité du modèle peut aussi être évaluée à l'aide du coefficient de détermination R^2 [103].

B. La régression linéaire multiple

En pratique l'utilisateur dispose des valeurs spectrales pour différentes longueurs d'ondes et souhaite prédire une variable Y en tenant compte de toute l'information disponible.

L'objectif est de prédire une variable Y à partir des variables x_1, x_2, \dots, x_p qui sont des variables spectrales prises à différentes longueurs d'ondes. Le modèle est donné par l'équation : $y_i = a_0 + a_1x_{i1} + a_2x_{i2} + \dots + a_px_{ip} + e_i$

La généralisation de la régression linéaire simple pour p variables explicatives. e_i correspondant à l'erreur du modèle exprime ou résume l'information manquante dans l'explication linéaire des valeurs de y_i à partir des x_{i1}, \dots, x_{ip} . La qualité d'ajustement au modèle de la régression linéaire multiple peut être mesurée à l'aide du coefficient de détermination R^2 [103].

V.3.1.2 La régression aux moindres carrés partiels (PLS ; Partial Least Square regression)

La régression PLS, ou régression au sens des moindres carrées partielles ou régression par projection sur des structures latentes (PLS) [105] est l'outil standard pour faire des étalonnages prédictions en chimiométrie. Cette méthode à son origine vers 1975 avec H. Wold [106] a été étudiée et développée par plusieurs autres auteurs, comme S. Wold [107, 108], Martens et Naes [105] ou Tenenhaus [109].

En alternative à la méthode de régression linéaire multiple, la méthode de régression PLS est la méthode la plus connue et la plus utilisée dans le domaine de la chimie et la spectrométrie, où souvent, les données répondent à ce type de propriétés [110,103].

C'est une méthode de modélisation linéaire, qui consiste en une régression de la variable à prédire y sur des variables t_1, t_2, \dots, t_A qui sont des variables latentes (combinaisons linéaires de x_1, x_2, \dots, x_m) où m représente le nombre de colonnes de la matrice X des variables prédictives. Les variables latentes en PLS sont construites pour maximiser la covariance entre X et y . Elles sont déterminées en tenant compte non seulement des variables prédictives mais aussi de la variable à prédire [111].

On peut calculer n vecteurs t , mais seuls les A premiers seront utilisés pour la régression, les autres seront éliminés. De cette façon, la variabilité sans intérêt est écartée et seule l'information utile est retenue dans le modèle.

$$y = XB \quad (1)$$

Ou :

B: Coefficients de régression du modèle PLS

Les coefficients de régression sont utilisés pour prédire la valeur y_p d'un nouvel échantillon, pour lequel on a mesuré les variables x : (x = vecteur ligne)

$$y_p = xB \quad (2)$$

Un modèle de régression PLS est basé sur la relation entre y et un jeu de variables latentes orthogonales.

La procédure PLS basée sur l'algorithme de NIPALS (Nonlinear Iterative Partial Least Squares) est itérative et a donc l'avantage de permettre d'arrêter la construction du modèle lorsque le nombre de variables latentes est optimal, et donc d'éliminer du « bruit » du modèle de régression, soit par une procédure de validation croisée, soit par l'utilisation d'échantillons d'étalonnage et de validation [112].

L'élaboration du modèle d'étalonnage pour la prédiction des constituants correctement choisis se fait selon les étapes suivantes :

- Sélection d'échantillons d'étalonnage et de validation;
- Détermination des valeurs de référence associées à chacun de ces échantillons (données y) par la méthode de référence;
- Enregistrement des spectres du jeu d'étalonnage (données X) ;
- Calcul du modèle mathématique de prédiction ($y = f(x)$);
- Validation du modèle de prédiction.

La validation croisée « leave-one-out » consiste à déterminer le nombre optimal de variables latentes à utiliser dans le modèle en se basant sur le seul jeu d'échantillons d'étalonnage, sans recourir à un jeu d'échantillons de validation séparé. La validation croisée est réalisée en enlevant successivement chaque échantillon du jeu d'étalonnage. Dans un premier temps, l'échantillon n°1 est écarté du jeu de taille n , et l'étalonnage est réalisé sur les $n-1$ échantillons restants et le modèle établi est testé sur l'échantillon 1 en comparant sa valeur prédite à sa valeur observée. Ensuite, l'échantillon 1 est réintégré et c'est au tour de l'échantillon 2 d'être écarté. De ce fait, la procédure se poursuit en écartant tour à tour chacun

des échantillons de rôle de l'étalonnage, pour servir à tester le modèle. Une fois tous les échantillons testés, la procédure est répétée avec une variable latente de plus, et ainsi de suite jusqu'à ce que le nombre maximal de variables latentes soit atteint. La dimensionnalité optimale correspond au nombre de variables latentes donnant un minimum d'écarts entre les valeurs prédites et valeurs mesurées pour les échantillons écartés. Le critère statistique caractérisant la qualité du modèle est l'erreur quadratique de validation croisée, RMSECV (Root Mean Square Error of Cross Validation) dont la formule est :

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{iCV})^2}{n}} \quad (3)$$

On peut aussi travailler avec $RMSECV\% = \frac{RMSECV}{\bar{Y}} \times 100$ (4)

Pour avoir une idée de l'erreur relative moyenne, et regarder le coefficient de détermination calculé par validation croisée (CV) qui représente en fait le pourcentage de variance expliqué par le modèle.

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{iCV} - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (5)$$

Avec : y_i = la concentration observée ; \bar{y} = la concentration moyenne observée ;

\hat{y}_{iCV} = la concentration prédite par Validation Croisée pour l'échantillon retiré ;

n = le nombre d'échantillons testés = le nombre d'échantillons dans le jeu d'étalonnage

[2]

V.3.2 Analyse en composantes principales (ACP)

Pearson (1901) [113], pour la première fois, a expliqué la technique de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) [114] et développée ensuite par Hatteling en 1933 [110]. L'ACP est une méthode de statistique exploratoire permettant de décrire un grand jeu de données de type individus/variables (ou échantillons/grandeurs mesurées). Lorsque les individus sont décrits par un nombre important de variables, aucune représentation

graphique simple ne permet de visualiser le nuage de points formé par les données. L'ACP propose une représentation dans un espace de dimension réduite, permettant ainsi de mettre en évidence d'éventuelles structures au sein des données. Pour cela, il faut rechercher les sous-espaces dans lesquels la projection du nuage déforme le moins possible le nuage initial. La qualité de représentation d'une variable sur un axe factoriel est exprimée par le coefficient de corrélation 95 linéaire entre la variable initiale et la nouvelle variable (composante principale). Un des points les plus délicats de l'ACP est d'apprécier la perte d'information engendrée par la réduction de la dimension [56].

L'idée à la base de l'analyse en composantes principales est de rendre compte de la variance observée dans les données initiales en se limitant à un nombre réduit de composantes, définies comme étant des transformations mathématiques pures et simples des variables initiales. L'algorithme utilisé pour la détermination de ces composantes obéit à deux contraintes importantes.

- La première composante extraite doit maximiser la proportion de variance expliquée dans les variables initiales,
- La deuxième composante, indépendante de la première, doit expliquer à son tour la plus grande proportion de variance possible parmi la variance laissée inexpliquée par la composante CP1.

Le nombre maximum de composantes principales qu'il est possible d'extraire d'une matrice de corrélation est égal au nombre de variables dans la matrice. Toutefois, le pourcentage de variance expliquée par chaque composante décroît systématiquement à mesure que l'on progresse dans le processus d'extraction et peut devenir tout à fait négligeable une fois que les composantes les plus importantes auront été extraites. Prendre trop peu de composantes revient à négliger une part importante de l'information. Inversement, en prendre un trop grand nombre revient à considérer le bruit comme une information.

V.3.2.1 Sur un jeu de données

La méthode la plus naturelle pour interpréter les composantes principales est de les relier aux variables initiales, en utilisant les corrélations précédemment déterminées. Généralement, pour un couple de composantes principales CP1 et CP2, on interprète les corrélations à partir du cercle de corrélation où chaque variable est représentée par un point dont la coordonnée sur un axe factoriel est une mesure de la corrélation entre cette variable et le facteur. Dans l'espace de dimension p la distance des points-variables à l'origine est égale à 1. Donc par

projection sur un plan factoriel, les points-variables s'inscrivent dans un cercle de rayon 1 (le cercle des corrélations) et sont d'autant plus proches du bord du cercle que le point-variable est bien représenté par le plan factoriel, c'est-à-dire que la variable est bien corrélée avec les deux facteurs constituant ce plan. L'angle entre 2 variables, mesuré est égal au coefficient de corrélation linéaire entre les 2 variables [56].

- Si les points sont très proches (angle proche de 0), les variables X_1 et X_2 sont très fortement corrélés positivement
- Si l'angle est égal à 90° , alors il n'y a pas de corrélation linéaire entre X_1 et X_2
- Si les points sont opposés, si l'angle vaut 180° , alors X_1 et X_2 sont très fortement corrélés négativement.

Seules les variables situées au bord du cercle peuvent être interprétées.

Une fois les composantes principales déterminées, les individus dans les plans factoriels formés sont représentés en croisant deux à deux les axes factoriels retenus. Chaque représentation est interprétée en essayant de repérer des groupes d'individus et en donnant à ces groupes une signification en fonction de leur place dans les plans factoriels. Dans notre étude, pour leur donner le même poids, chaque variable (c'est-à-dire chaque grandeur chimique) est divisée par la déviation standard avant les étapes itératives de l'ACP.

V.3.2.2 Sur des données spectrales

Comme précédemment, une fois les composantes principales déterminées, les individus dans le plan factoriel formé sont représentés en croisant deux à deux les axes factoriels retenus. Chaque représentation est interprétée en essayant de repérer les groupes d'individus et en donnant à ces groupes une signification en fonction de la place dans les plans factoriels.

On pourra ensuite revenir aux données spectrales ayant un sens physique pour les spectroscopies en s'intéressant au loading des composantes principales, qu'il est aisé de convertir en graphe équivalent à un spectre reconstitué dans lequel l'axe X représente les variables ou longueurs d'onde et l'axe Y la pondération (ou intensité) de chaque longueur d'onde pour le facteur considéré [56].

VI. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Les spectres infrarouges (IR) contiennent des informations importantes sur les composants individuels des mélanges complexes. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) peut améliorer considérablement les capacités d'analyse quantitative de la spectroscopie IR. Il joue un rôle important dans l'analyse des huiles alimentaires en fournissant des techniques plus simples et plus rapides pour déterminer les paramètres de qualité d'huile courants et l'identification de la structure moléculaire provient du contenu d'informations élevé des spectres IR et pour attribuer des bandes d'absorption spécifiques aux groupes fonctionnels. La technique IRTF présente plusieurs avantages par rapport à la technique IR dispersive: amélioration du rapport signal sur bruit, résolution et précision plus élevées de la mesure de longueur d'onde, ainsi que des avantages en termes de stockage et de manipulation des données. Pour ces raisons, l'application de la spectroscopie IRTF est devenue une préoccupation majeure dans l'étude des graisses et des huiles alimentaires.

Cette technique est également capable de caractériser les huiles alimentaires à l'aide de techniques statistiques multivariées telles que la régression aux moindres carrés partiels (PLS) et l'analyse en composantes principales (ACP), permettant ainsi de mettre en évidence les différences entre les spectres et de classer les échantillons.

Le degré d'insaturation des huiles alimentaires et des graisses alimentaires peut être déterminé par spectroscopie IRTF, à partir du rapport absorption des bandes de vibration d'étirement oléfiniques et aliphatiques -C-H ou de l'absorption d'une bande unique, telle que la bande d'étirement -C = C 1658 cm^{-1} ou la bande oléfinique à 3007 cm^{-1} , bien que, dans ces cas, seule la cis-insaturation soit prise en compte. Le degré d'insaturation est étroitement lié à l'indice d'iode et peut être déterminé au moyen d'étalonnages entre les deux paramètres, y compris les insaturations cis et trans.

Un autre paramètre important pour les huiles alimentaires, tel que le nombre de saponification, peut être déterminé à partir de spectres infrarouges au moyen d'étalonnages appliquant la régression aux moindres carrés partiels PLS à plusieurs régions spectrales. Les paramètres liés à la concentration des produits d'oxydation primaires ou secondaires des huiles et des graisses alimentaires, tels que l'indice de peroxyde, peuvent également être obtenus à partir de données spectroscopiques IRTF associées à des étalonnages PLS en bon accord avec les méthodes chimiques. Cette technique s'est avérée utile pour surveiller le processus d'oxydation de l'huile [115, 116, 117, 118, 119]

Références

- [1] Uzzan A., Propriétés et emploi des huiles et graisses : Manuel d'alimentation humaine, Tome 2, Edition : ESF, Paris, 226-230, 1984.
- [2] Benabid H., caractérisation de l'huile d'olive algérienne : Apports des méthodes chimométriques, thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine, 2009.
- [3] Kiritsakis A.K., Christie W.W., Analysis of Edible Oils, In: Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, Springer, Boston, MA, 129-158, 2000.
- [4] Fedeli E., Lipids of olives, In Progress Chemistry of Fats and Other Lipids, Edited by Hilman R.T., Academic Press: Oxford, 15, 57-74, 1977.
- [5] Harwood J., Aparicio R., Handbook of olive oil: Analysis and properties, An Aspen publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 1-513, 2000.
- [6] Charles A., Den G., Abrégé de Biochimie alimentaire. 4eme Edition: Masson, Paris, 225-232, 1997.
- [7] Luyangi F., Kaale E., Manyanga V., Mugoyela V., Development of a Qualitative near Infrared Screening Method for Quality Consistency Assessment of Virgin Sunflower Oil, Spectral Analysis Reviews, 5(3), 25-36, 2017.
- [8] Pal U. S., Patra R. K., Sahoo N. R., Bakhara C. K., Panda M. K., Effect of refining on quality and composition of sunflower oil, Journal of food science and technology, 52(7), 4613-4618, 2015.
- [9] Gotor A. A., Rhazi L., Effects of refining process on sunflower oil minor components: a review, OCL, 23(2), D207, 2016.
- [10] He F., Guo Q., Gu F., Ha Y., Gong W., Wang F., Investigating the amount of TFAs, CLAs and $\omega 6/\omega 3$ of various brands of corn oil heated at different time-temperature treatments, Journal of food science and technology, 54(7), 1776-1784, 2017.
- [11] Xu J., Ma C., Han L., Gao H., Zhou Q., Yang M., Huang F., Optimized rapeseed oils rich in endogenous micronutrients ameliorate risk factors of atherosclerosis in high fat diet fed rats, Lipids in health and disease, 13(1), 166, 2014.

- [12] Xu J., Zhou X., Deng Q., Huang Q., Yang J. E., Huang, F., Rapeseed oil fortified with micronutrients reduces atherosclerosis risk factors in rats fed a high-fat diet, *Lipids in health and disease*, 10(1), 96, 2011.
- [13] Xu J., Liu X., Gao H., Chen C., Deng Q., Huang Q., Huang F., Optimized rapeseed oils rich in endogenous micronutrients protect high fat diet fed rats from hepatic lipid accumulation and oxidative stress, *Nutrients*, 7(10), 8491-8502, 2015.
- [14] Deng Q., Yu X., Xu J., Wang L., Huang F., Huang Q., Ma, F., Effects of endogenous and exogenous micronutrients in rapeseed oils on the antioxidant status and lipid profile in high-fat fed rats, *Lipids in health and disease*, 13(1), 198, 2014.
- [15] Platon J.F., Raffinage de l'huile de soja, american Soybean Association U.S.A, 1988.
- [16] Cossut J., Defrenne B., Desmedt C., Ferroul S., Garnet S., Roelstraete L., Vanuxeem M., Vidal D., Les corps gras : Entre tradition et modernité, DESS QUALIMAPA (Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires), Institut Agro-Alimentaire de Lille, Université des Sciences et Technologies de Lille, Institut d'Administration des Entreprises de Lille, 21-64, 2002.
- [17] Vieillard B., Jean L., Platonisme et interprétation de Platon à l'époque moderne, 89, 1988.
- [18] Sébastien Veillet, Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation, Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 2010.
- [19] C.O.I., L'Olivier, l'huile, l'olive - Madrid / Espagne, 1998.
- [20] Bouhadjra Kahina, Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, Thèse de doctorat. Université Mouloud Maameri de Tizi Ouzou, 2011.
- [21] norme COI/T.15/NC n° 3/ Rév.7 mai 2013.
- [22] règlement CE n°1989/2003 modifiant les règlements n°2568/91 et n°136/66.
- [23] Paris R.R., Moysse H., Précis de matière médicale : Pharmacognosie spéciale des dicotylédones gamopétales, Tome III, Edition Masson, 510, 1971.
- [24] Mordret F., Conférence Chevreul : Evolution des critères de qualité des huiles d'olive vierge, *Perspectives, Oléagineux, corps gras, lipides*, 6 (1), 69-76, 1999.

- [25] Leroy Isabelle, l'huile d'olive dans tous ses états, thèse de doctorat, Université de Lille 2, 2011.
- [26] Jacotot B., L'huile d'olive : de la gastronomie à la santé, Editions Artulen, 224, 1993.
- [27] Rayan D., Robards K., Lavee S., Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72, 23-33, 1998.
- [28] Codex Alimentarius: Norme Codex pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive, CODEX STAN 33-1981.
- [29] Brenes M., Garcia A., Garcia P., Garrido A., Acid hydrolysis of secoiridoid aglycons during storage of virgin olive oil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5609-5614, 2001.
- [30] Cortesi N., Rovellini P., Fedeli E., Cultivars : technologie et qualité des huiles d'olive, *Olivae*, 81, 26-35, 2000.
- [31] Morello J., Motilva M., Tovar M., Romero M., Changes in commercial virgin olive oil (cv. Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction, *Food Chemistry*, 85, 357-364, 2004.
- [32] Gómez-Alonso S., Mancebo-Campos V., Salvador M. D., Fregapane G., Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature, *Food Chemistry*, 100, 36 - 42, 2007.
- [33] Ben Tekaya I., Hassouna M., Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 12 (5-6), 447- 453, 2005.
- [34] Butinar B., Bucar-Miklavcic M., Lipnik-Štangelj M., Antioxidants in virgin olive oils produced from two olive cultivars of Slovene Istria, In *Annales: Series Historia Naturalis*, 16 (2), 201-208, 2006.
- [35] Maestro R., Garcia J.M., Castellano J.M., Changes in polyphenol content of olives stored in modified atmospheres, *Hortscience*, 28, 1, 1993.
- [36] Okogeri O., Tasioula-Margari M., Changes occurring in phenolic compounds and α -tocopherol of virgin olive oil during storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1077-1080, 2002.

- [37] Angerosa F., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposto S., Montedoro G.F., Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality, *Journal of Chromatography A*, 1054 (1-2), 17-31, 2004.
- [38] Daoudi F.D., Cherif A., Etude comparative des acides gras de quelques huiles d'olives tunisienne – Influence du procédé technologique d'extraction sur la qualité des huiles obtenues, *Revue Française des Corps gras*, 5, 236-245, 1981.
- [39] Veillet S., Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation, Thèse de doctorat, Université d'Avignon, 2010.
- [40] Benrachou N., Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien, Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, 2013.
- [41] Henry Stéphanie, L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique, Thèse de doctorat, Université Henri Poincare - Nancy 1, 2003.
- [42] Martinez-Vidal J.L., Garrido-Frenich A., Escobar-Garcia M.A., Romero-Gonzales R., LC-MS determination of sterols in olive oil, *Chromatographia* 65(11), 695-699, 2007.
- [43] Azadmard-Damirchi S., Olive Oil: Phytosterols, Tracing of Adulteration with Haz Oil and Chemical Interesterification, these de doctorat, Université des sciences Agricola's – Suède, 2007.
- [44] Ozen B. F., Mauer L. J., Detection of Hazelnut Oil Adulteration Using FT-IR Spectroscopy, *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 3898 -3901, 2002.
- [45] Javidnia K., Parish M., Karimi S., Hemmateenejad B., Discrimination of edible oils and fats by combination of multivariate pattern recognition and FT-IR spectroscopy: a comparative study between different modeling methods, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 104, 175-181, 2013.
- [46] Ulberth F., Buchgraber M., Authenticity of fats and oils, *European Journal of Lipid Science Technology*, 102, 687-694, 2000.
- [47] Gurdeniz G., Ozen B., Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data, *Food chemistry*, 116(2), 519-525, 2009.

- [48] Wu Y., Zhang H., Han J., Wang W., Ju X., Chen, Y., PCR-CE-SSCP applied to detect cheap oil blended in olive oil, *European Food Research and Technology*, 233(2), 313-324, 2011.
- [49] Dionisi F., Prodolliet J., Tagliaferri E., Assessment of olive oil adulteration by reversed-phase high-performance liquid chromatography/amperometric detection of tocopherols and tocotrienols, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(12), 1505-1511, 1995.
- [50] Jafari M., Kadivar M., Keramat J., Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(2), 103-110, 2009.
- [51] Rohman A., Man, Y. B. C., The chemometrics approach applied to FTIR spectral data for the analysis of rice bran oil in extra virgin olive oil, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 110(1), 129-134, 2012.
- [52] Dong W., Zhang Y., Zhang B., Wang X., Quantitative analysis of adulteration of extra virgin olive oil using Raman spectroscopy improved by Bayesian framework least squares support vector machines, *Analytical Methods*, 4(9), 2772-2777, 2012.
- [53] Piravi-Vanak Z., Ghavami M., Ezzatpanah H., Arab J., Safafar H., Ghasemi, J. B., Evaluation of authenticity of Iranian olive oil by fatty acid and triacylglycerol profiles, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(9), 827-833, 2009.
- [54] Jabeur H., Zribi, A., Makni J., Rebai A., Abdelhedi R., Bouaziz M., Detection of Chemlali extra-virgin olive oil adulteration mixed with soybean oil, corn oil, and sunflower oil by using GC and HPLC, *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(21), 4893-4904, 2014.
- [55] Zhang L., Yuan Z., Li P., Wang X., Mao J., Zhang Q., Hu, C., Targeted multivariate adulteration detection based on fatty acid profiles and Monte Carlo one-class partial least squares. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 169, 94-99, 2017.
- [56] Plard Jérôme, Apport de la chimiométrie et des plans d'expériences pour l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive au cours de différents processus de vieillissement, Thèse de doctorat, Université Aix Marseille, 2014.

- [57] Angelo A.J., Vercellotti J., Jacks T., Legendre M., Lipid oxidation in foods, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 36(3), 175-224, 1996.
- [58] Keme T., Messerli M., Shejbal J., Vitali F., The storage of hazelnuts at room temperature under nitrogen (I), *Rev. Choc. Confect. Bakery*, 8(1), 24-28, 1983.
- [59] Kinderlerer J. L., Johnson S., Rancidity in hazelnuts due to volatile aliphatic aldehydes, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(1), 89-93, 1992.
- [60] Maté J. I., Krochta J. M., Comparison of oxygen and water vapor permeabilities of whey protein isolate and β -lactoglobulin edible films, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(10), 3001-3004, 1996.
- [61] Nawar W.W., Lipids. In Fennema O.R. (Ed.), *Food Chemistry*, Marcel Dekker, New York, 225-319, 1996.
- [62] Bolland J. L., Gee, G., Kinetic studies in the chemistry of rubber and related materials: III. Thermochemistry and mechanisms of olefin oxidation, *Transactions of the Faraday Society*, 42, 244-252, 1946.
- [63] Topallar, H., Bayrak, Y., & Işcan, M. (1997). A kinetic study on the autoxidation of sunflowerseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(10), 1323-1327.
- [64] Kanazawa T, Nakamura S, Momoi M, Yamaji T, Takematsu H, Yano H, Sabe H, Yamamoto A, Kawasaki T, Kozutsumi Y., Inhibition of cytokinesis by a lipid metabolite: psychosine, *The Journal of cell biology*, 149(4), 943-50, 2000.
- [65] Dahle L. K., Hill E. G., Holman R. T., The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 98(2), 253-261, 1962.
- [66] Pryor W.A., Stanley J.P., Blair E., Autoxidation of polyunsaturated fatty acids: II. A suggested mechanism for the formation of TBA-reactive materials from prostaglandin-like endoperoxides, *Lipids*, 11(5), 370-379, 1976.
- [67] Chan L., O'Malley BW., Mechanism of action of the sex steroid hormones, *New England Journal of Medicine*, 294(25), 1372-1381, 1976.
- [68] Asakawa T., Matsushita S., A colorimetric microdetermination of peroxide values utilizing aluminum chloride as the catalyst, *Lipids*, 15(11), 965-967, 1980.

- [69] Choe E., Min D.B., Mechanisms and factors for edible oil oxidation, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5(4), 169-186, 2006.
- [70] Caponio F., Bilancia M.T., Pasqualone A., Sikorska E., Gomes T., Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage, *European Food Research and Technology*, 221(1-2), 92-98, 2005.
- [71] Gutiérrez-Rosales F., Garrido-Fernández J., Gallardo-Guerrero L., Gandul-Rojas B., Minguez-Mosquera M. I., Action of chlorophylls on the stability of virgin olive oil, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69(9), 866-871, 1992.
- [72] Rahmani M., Saad L., Photooxidation of olive oils: effect of chemical composition, *Revue Francaise des Corps Gras*, 36 (9-10), 355-360, 1989.
- [73] Rahmani S., Csallan, A., Role of Minor Constituents in the photooxidation of virgin Olive Oil, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75, 837-843, 1998.
- [74] Francisca G., Isabel M., Action of chlorophylls on the stability of Virgin olive oil, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69, 866-871, 1992.
- [75] Gertz C., Klostermann S., Kochhar S.P., Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102 (8-9), 543-551, 2000.
- [76] Gutiérrez-Rosales F., Gómez-Herrera C., Gutierrez-González-Quijano R., Estudios de la cinética de evolución de los índices de calidad del aceite de oliva virgen durante su conservación en envases comerciales, *Grasas y Acietes*, 39, 245-253, 1988.
- [77] Mendez A.I., Falqué E., Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil, *Food Control*, 18, 521-529, 2007.
- [78] Pristouri G., Badeka A., Kontominas M.G., Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission: temperature and storage time on quality characteristics of extra virgin olive oil, *Food Control*, 21 (4), 412-418, 2010.
- [79] Di Giovacchino L., Mucciarella M.R., Costantini N., Ferrante M.L., Surricchio G., Sestili S., Virgin olive oil storage and stability, *Acta Horticulturae*, 586 (2), 567-569, 2002.
- [80] Garcia A., Brenes F., Martinez F., HPLC evaluation of phenols in virgin olive oil during extraction at laboratory and industrial scale, *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 78, 625-629, 2001.

- [81] Gómez-Alonso S., Mancebo-Campos V., Salvador M.D., Fregapane G., Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf life testing (25-75°C), *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 369-375, 2004.
- [82] Velasco J., Dobarganes C., Oxidative stability of virgin olive oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 661-676, 2002.
- [83] Jadhav S.J., Nimbalkar S.S., Kulkarni A.D., Madhavi D.L., Lipid oxidation in biological and food systems, *Food Antioxidants*, Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K., Marcel Dekker Eds. P.5. New York, USA, 1996.
- [84] Luna G., Morales M.T., Aparicio R., Changes Induced by UV Radiation during Virgin Olive Oil Storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (13), 4790-4794, 2006.
- [85] Kiritsakis A., Dugan L.R., Studies in photooxidation of olive oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62 (5), 892-896, 1985.
- [86] Holman R.T., Elmer O.C., The rates of oxidation of unsaturated fatty acids and esters, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 24, 127, 1947.
- [87] Frega N., Mozzon M., Lercker G., Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 325-329, 1999.
- [88] Bendini A., Cerretani L., Vecchi S., Carrasco-Pancorbo A., Lercker G., Protective Effects of Extra Virgin Olive Oil Phenolics on Oxidative Stability in the Presence or Absence of Copper Ions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (13), 4880-4887, 2006.
- [89] Guillén M.D., Cabo N., Fourier Transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils, *Journal of Food Chemistry*, 77, 503-510, 2002.
- [90] Deiana M., Rosa A., Cao, C.F., Pirisi F.M., Bandino G., Dessi M.A., Novel Approach to Study Oxidative Stability of Extra Virgin Olive Oils: Importance of a Tocopherol Concentration, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (15), 4342-4346, 2002.
- [91] Chimi H., Cillard J., Cillard P., Rahmani M., Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68 (5), 307-312, 1991.

- [92] Baldioli M., Servili M., Perretti G., Montedoro G.F., Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73 (11), 1589-1593, 1996.
- [93] Carrasco-Pancorbo A., Cerretani L., Bendini A., Segura-Carretero A., Gallina-Toschi T., Fernández-Gutiérrez A., Analytical Determination of Polyphenols in Olive Oils, *Journal of Separation Science*, 28 (9-10), 837-858, 2005.
- [94] Keceli T., Gordon M.H., Ferric ions reduce the antioxidant activity of the phenolic fraction of virgin olive oil, *Journal of Food Science*, 67 (3), 943-947, 2002.
- [95] Chimi H., Rahmani M., Cillard J., Cillard P., Autoxidation of olive oil: the role of phenols. *Revue Francaise des Corps Gras*, 37 (11-12), 363-367, 1990.
- [96] Psomiadou E., Tsimidou M., Boskou D., α -tocopherol content of Greek virgin olive oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (5), 1770-1775, 2000.
- [97] Morelló J.R., Motilva M.J., Tovar M.J., Romero M.P., Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction, *Food Chemistry*, 85 (3), 357-364, 2004.
- [98] Blekas G., Tsimidou M., Boskou D., Contribution of α -tocopherol to olive oil stability, *Food Chemistry*, 52 (3), 289-94, 1995.
- [99] Psomiadou E., Tsimidou M., Simultaneous HPLC Determination of Tocopherols, Carotenoids, and Chlorophylls for Monitoring Their Effect on virgin Olive Oil Oxidation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5132-5138, 1998.
- [100] Ben Tekaya I., Hassouna M., Chlorophylls, β -carotene, α -tocopherol, tyrosol and their interactions effects on oxidative stability of Tunisian olive oil, *OCL-Oleagineux-Corps Gras-Lipides*, 14 (1), 60-67, 2007.
- [101] Frankel E.N., Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(12), 1908-1917, 1984.
- [102] Kanner J., Osenal I., Assessment of Lipid Oxidation in Foods, *Pure and Applied Chemistry*, 64 (12), 1959-1964, 1992.
- [103] Fatela Laura, Utilisation de la spectroscopie proche infrarouge comme outil pat pour la quantification de substances en solution, Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, 2012.

- [104] Dos Santos R., Développement de nouvelles méthodes chimiométriques d'analyse : Application à la caractérisation spectroscopique de la qualité des aliments, Thèse de doctorat, Agro Paris Tech, INRA – Paris, 2009.
- [105] Martens H., Naes T., *Multivariate Calibration*, John Wiley & Sons, 1989.
- [106] Wold S., Ruhe A., Wold H., Dunn III W. J., The collinearity problem in linear regression, The partial least squares (PLS) approach to generalized inverses, *SIAM Journal on Scientific and Statistical Computing*, 5(3), 735-743, 1984.
- [107] Wold S. Sjöstrom M., Eriksson L., PLS-regression: a basic tool for chemometrics, *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 58 (2), 109-130, 2001(a).
- [108] Wold S., Trygg J., Berglund A., Antti H., Some recent developments in PLS modelling, *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 58(2), 131-150, 2001(b).
- [109] Tenenhaus M., *La regression PLS: théorie et pratique*, Editions Technip, Paris, 1998.
- [110] Taleb Imane, *Apport de la spectroscopie vibrationnelle- infrarouge et Raman- Appliquée au sérum pour le diagnostic du carcinome hépatocellulaire chez les patients atteints de cirrhose*, Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, 2013.
- [111] Bertrand D., Dufour D., *La spectroscopie et ses applications analytiques*, Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 31-74, 2000.
- [112] Vigneau E., Qannari E.M., Devaux M.F., *Méthodes prédictives*, In : *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, Bertrand D., Dufour E., Editions Tec et Doc, Lavoisier. Paris, 295-332, 2000.
- [113] Pearson K., *Principal components analysis*, *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 6(2), 559, 1901.
- [114] Noor Yazdan Hamidreza, *Etude du comportement agronomique de populations de tournesol sauvage et sauvage X domestique en préliminaire à un programme de néodomestication du tournesol*, Thèse de doctorat, 2009.
- [115] Van de Voort F. R., Sedman J., Emo G., Ismail A. A., Rapid and direct iodine value and saponification number determination of fats and oils by attenuated total reflectance/Fourier transform infrared spectroscopy, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(11), 1118-1123, 1992.

- [116] Ismail A.A., Van de Voort F.R., Emo G., Sedman J., Rapid quantitative determination of free fatty acids in fats and oils by Fourier transform infrared spectroscopy, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(4), 335-341, 1993.
- [117] Van de Voort F. R., Ismail A. A., Sedman J., Dubois J., Nicodemo T., The determination of peroxide value by fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 71: 921-926, 1994.
- [118] Van de Voort F. R., Ismail A. A., Sedman J. A., Rapid, automated method for the determination of cis and trans content of fats and oils by fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 72:873-880, 1995.
- [119] Maggio R. M., Kaufman T. S., Carlo M., Cerretani L., Bendini A., Cichelli A., Compagnone D., Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by Fourier transformed infrared spectroscopy coupled with partial least squares, *Food Chemistry*, 114, 1549–1554, 2008.



Partie II

Etude expérimentale

I. Etude de l'adultération d'une huile d'olive

I.1 Introduction

La qualité de l'huile d'olive est définie du point de vue commercial, nutritionnel et sensoriel [1]. En raison de sa saveur, de son arôme et de ses propriétés santé; l'huile d'olive est certainement considérée comme un produit premium [2,3]. C'est pourquoi il est fréquemment adultéré par des huiles alimentaires moins chères [4]. En plus de l'huile de noisette (sa composition est similaire à l'huile d'olive) qui est fréquemment utilisée, les huiles : de maïs, de tournesol, de sésame, de vigne [5], de soja et de colza, sont également utilisées [6].

L'adultération est un problème important dans les industries alimentaires parce que les ingrédients à coût élevé sont remplacés par des ingrédients à faible coût [7, 8]. Étant donné que les consommateurs sont conscients de la sécurité et de la qualité alimentaire, ils exigent toujours la garantie de la qualité et du contenu des aliments [7, 9]. La détection de l'adultération est un défi pour les chercheurs en particulier lorsque l'adultérant a une composition chimique similaire à celle de l'huile d'origine [10].

En plus de la chimie alimentaire et industrie, la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier IRTF est utilisée pour l'étude des huiles et des graisses alimentaires [11] afin de détecter l'adultération des huiles alimentaires [12]. Il a été démontré que les méthodes IRTF sont de puissants outils analytiques rapides et non destructifs. Dans la plupart des cas, ils nécessitent peu ou pas de préparation d'échantillons. Les intensités des bandes spectrales étant proportionnelles à la concentration, IRTF est également un excellent outil pour l'analyse quantitative.

Afin de traiter, interpréter et prédire les données chimiques, des techniques chimiométriques peuvent être utilisées [13]. Les techniques chimiométriques sont très importantes pour étudier les graisses et huiles alimentaires [14], en particulier pour l'étude d'authentification [15]. L'étalonnage multi-varié est utilisé pour élaborer la relation entre la concentration de l'analyte (s) et la réponse du dosage instrumental comme les spectres IRTF [16].

Plusieurs publications ont rapporté l'application de techniques chimiométriques appliquées aux données spectrales IRTF pour l'analyse quantitative de certaines huiles alimentaires. La présence d'huile de noisette [17], d'huile tournesol et d'huile de maïs [18] d'huile de tournesol, d'huile maïs, d'huile de soja et d'huile de noisette [19], d'huile de tournesol, d'huile de soja, d'huile de sésame et d'huile de maïs [20] et d'huile de palme [21] analysé en utilisant la spectroscopie IRTF combinée avec des techniques chimiométriques.

Dans cette étude, la présence d'huile alimentaire "huile de tournesol, huile de colza, huile de maïs et huile de soja" dans l'huile d'olive a été détectée par spectroscopie IRTF couplée avec des méthodes chimiométriques. Elle fournit une méthode rapide et efficace pour détecter l'adultération de l'huile d'olive avec l'huile alimentaire. Par conséquent, les données spectrales ont subies une analyse des moindres carrés partiels PLS et l'analyse en composantes principales ACP. Le PLS est capable de corrélérer le changement de transmittance spectrale à la concentration d'huile alimentaire tout en concourant à d'autres spectres qui peuvent perturber les spectres analysés. La performance du modèle a été évaluée par le coefficient de détermination R^2 et l'erreur quadratique moyenne de validation croisée RMSECV. Les données analytiques ont été disposées dans une matrice contenant 17 variables à 12 concentrations d'échantillonnage.

I.2 Matériels et méthodes

I.2.1 Echantillonnage

Huile d'olive, huile de tournesol, huile de colza, huile de maïs et huile de soja sont utilisées dans cette étude, ces huiles alimentaires sont achetées au marché local. On a préparé 12 échantillons à base de chaque huile alimentaire, Un mélange de 5% à 50% (v / v) pour chaque huile alimentaire dans l'huile d'olive a été préparé et analysé par IRTF. Cette partie est réalisée au niveau du Laboratoire d'Analyses Industrielles et Génie des Matériaux (LAIGM) de l'université de 8 Mai 1945 Guelma.

Huile d'olive (HO) ; Huile de tournesol (HT) ; Huile de colza (HC) ; Huile de maïs (HM) ; Huile de soja (HS)

I.2.2 Spectroscopie infrarouge à transformé de fourrier (IRTF)

I.2.2.1 Appareillage

Le spectromètre infrarouge comporte trois parties essentielles:

- Une source de rayonnement
- Un dispositif permettant de séparer les longueurs d'onde
- Un système de présentation de l'échantillon

Le spectromètre IRTF utilisé pour cette étude est le Spectrum one de Perkin Elmer piloté par un micro-ordinateur menu d'un logiciel d'acquisition des données Spectrum permettant l'enregistrement des spectres dans le moyen infrarouge en fonction de la combinaison source/séparatrice/détecteur utilisée.

I.2.2.2 Mode d'acquisition

Le mode d'acquisition employé dans cette étude IRTF est en transmittance en utilisant comme porte échantillon deux pastilles en KBr.

A. Paramètres optique

- Source : Globar
- Séparatrice: KBr
- Détecteur: DTGS

B. Paramètres d'acquisition

- Spectre résultant: transmittance
- Résolution: 4 cm^{-1}
- Accumulation pour l'échantillon: 20 scans
- Limite supérieure d'acquisition: 4000 cm^{-1}
- Limite inférieure d'acquisition: 400 cm^{-1}

II.2.2.3 Prétraitements des données spectrales

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

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

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

A. Amélioration du signal

Les spectres sont affectés par les propriétés physiques de l'échantillon (taille et distribution des particules) et par des variations du chemin optique [22].

Les prétraitements permettant d'améliorer le signal sont ainsi indispensables pour une meilleure analyse des données, en éliminant l'effet du bruit ou d'une déformation dans le spectre. Ces traitements comprennent :

B. Correction linéaire de ligne de base

Ce traitement transforme une ligne de base pentue en une ligne de base horizontale. La technique est de choisir deux variables, toutes deux prenant la valeur 0 pour définir la nouvelle ligne de base.

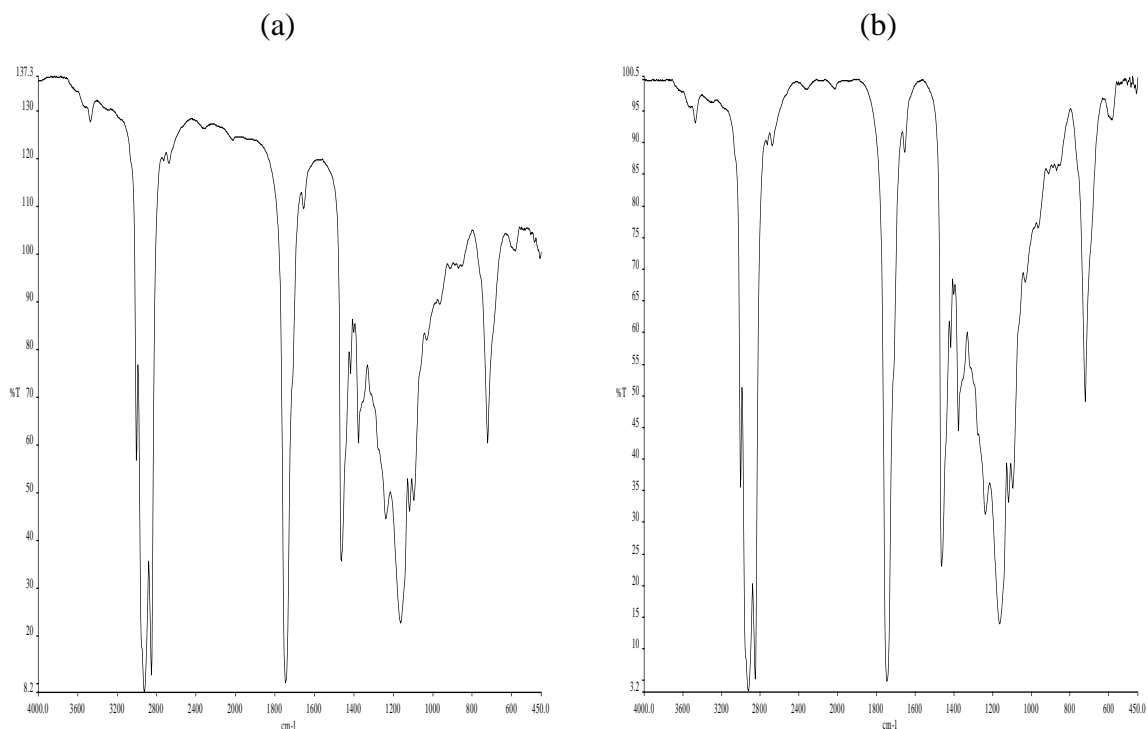


Figure II.1: spectre (a) sans et (b) avec correction de la ligne de base

C. Normalisation

Dans beaucoup de situations, les spectres présentent des variations incontrôlées d'intensité globale dépendant principalement de la longueur du trajet optique à travers la cuve de mesure ou à l'intérieur de l'échantillon. Quand ce trajet est très court, il est difficile d'avoir des conditions d'acquisition parfaitement reproductibles [23].

La normalisation réduit très fortement les variations d'intensité générale des spectres. Il consiste à diviser la valeur de chaque variable d'un spectre par un nombre représentatif de l'intensité générale de ce spectre.

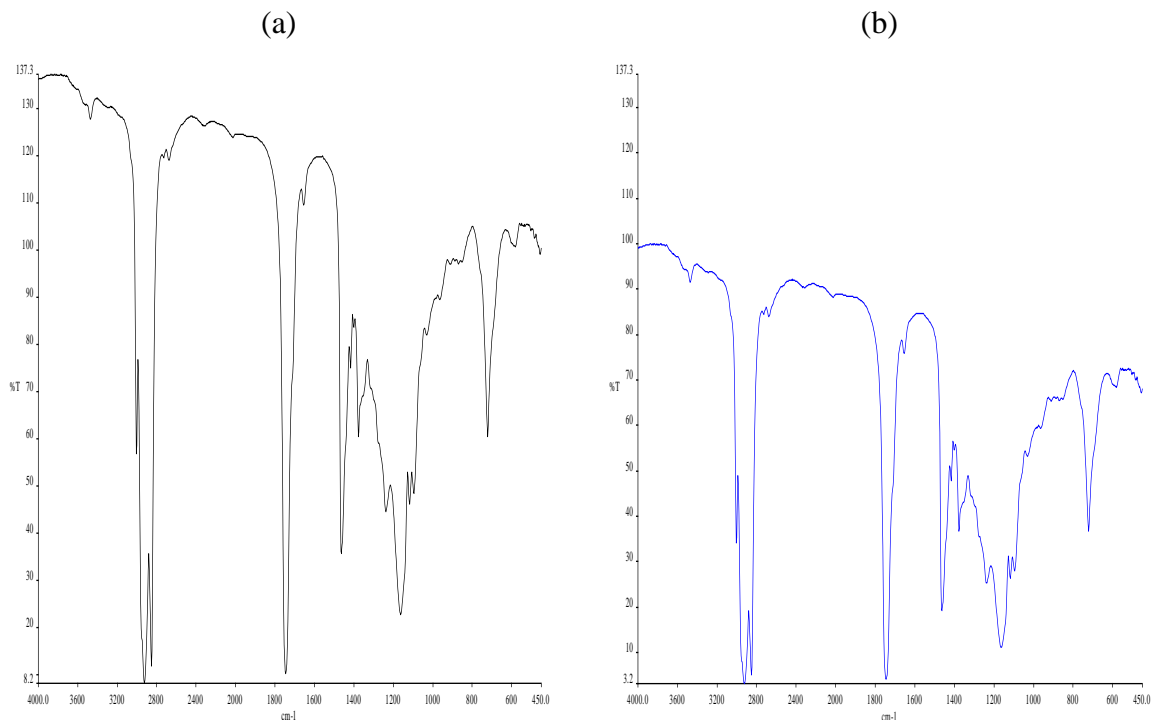


Figure II.2: spectre (a) sans et (b) avec normalisation

II.2.2.4 Mode opératoire

Une goutte de l'échantillon est déposée et bien étalée sur la surface centrale de la pastille en KBr à l'aide d'un tube capillaire et l'installe dans le porte-échantillon ; ensuite on expose l'échantillon à travers un faisceau lumineux. On effectue 20 scans pour avoir une meilleure acquisition du spectre, et on enregistre le spectre. Le nettoyage des pastilles après chaque mesure est effectué avec chloroforme.

Après collections des données, les spectres IRTF obtenus ont été traités.

I.2.3 Méthodes statistiques et chimiométriques

L'analyse chimiométrique, y compris la quantification en utilisant les régressions linéaires multiples, la régression PLS et l'analyse en composantes principales ACP, a été exécutée en utilisant le logiciel MINITAB 16.

I.2.3.1 Choix des variables

Pour établir des modèles qui permettent de calculer le pourcentage de l'huile alimentaire dans l'huile d'olive, nous avons choisi :

- Variable dépendante : pourcentage de l'huile alimentaire dans l'huile d'olive.
- Variables indépendantes : Les transmittances à des longueurs d'ondes bien précises.

On s'est basé sur le choix des variables indépendantes à des longueurs d'ondes qui montrent des différences entre les spectres des différents échantillons. Le fichier ainsi établi devient le champ d'application des plusieurs régressions simple et multiple et à moindre carrés partiels PLS.

Les méthodes statistiques utilisées dans cette étude sont :

- Les régressions linéaires multiples.
- Les régressions à moindres carrés partiels PLS.
- L'analyse en composantes principales ACP.

I.2.3.2 Théorie de la régression des moindres carrés partiels PLS

Cette analyse supervisée était basée sur la relation entre l'intensité du signal et la modification de l'échantillon.

L'interférence et le chevauchement de l'information spectrale peuvent être surmontés en utilisant une analyse multi-composante puissante telle que PLS. Cette méthode permet une approche statistique sophistiquée utilisant la totalité de la région spectrale plutôt que des bandes

I.2.3.3 Analyse en composantes principales ACP

Afin de permettre de trouver une relation entre les variables, identifier l'observation et détecter la structure dans les données; ACP [24] est une technique non supervisée qui est utilisée. La dimensionnalité de la matrice de données originale est réduite par ACP; en construisant des composantes principales (PCs) qui sont des combinaisons linéaires des variables originales. Une grande partie de la variabilité des données originale est capturée par les premières PCs. Les données ont été mises à l'échelle automatiquement et ont suivi le critère de Kaiser; seuls ces PCs avec des valeurs propres supérieures à l'unité ont été retenus [25].

I.3 Résultats et discussion

I.3.1 Analyses spectrales

L'importance de la spectroscopie IR dans l'identification des structures moléculaires provient des informations de contenu et de la possibilité d'assigner certaines bandes de transmittances liées à ses groupements fonctionnels. Dans les graisses et les huiles, la plupart des pics et des épaules du spectre sont attribuables aux groupements fonctionnels spécifiques.

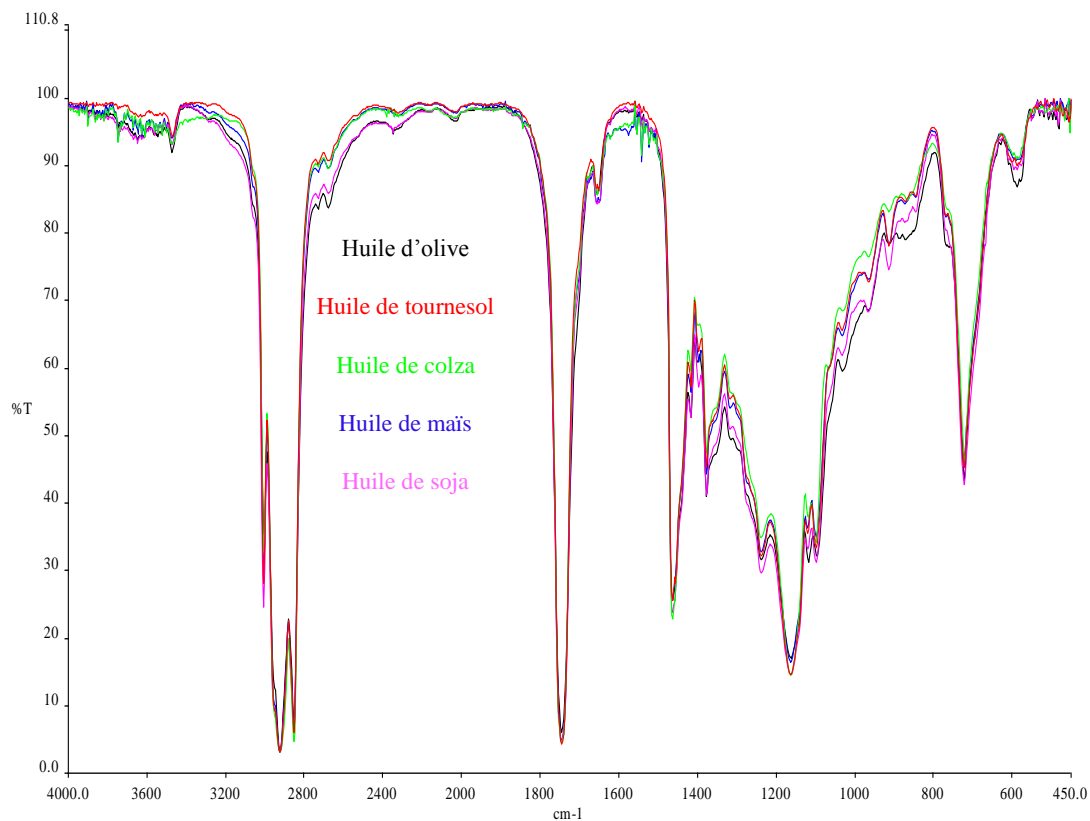


Figure II.3 : spectres IR-TF des échantillons étudiés

La figure II.3 présente les spectres IR-TF d'huile d'olive, d'huile de tournesol, d'huile de colza, d'huile de maïs et d'huile de soja à 4000-450 cm^{-1} . Ces spectres sont similaires en raison de la similitude de la composition chimique de l'huile d'olive et d'autres huiles alimentaires. La présence de petite quantité d'huile alimentaire dans l'huile d'olive est mise en évidence par de petites variations dans les valeurs de l'intensité maximale des bandes spécifiques dans les spectres.

L'évaluation analytique des spectres d'huile d'olive, d'huile de tournesol, d'huile de colza, d'huile de maïs et d'huile de soja est donnée dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Régions du spectre IRTF d'huile alimentaire [26]

Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution de groupe fonctionnel
3008	élongation de H-C=C insaturé
2924 et 2852	Vibration d'élongation asymétrique et symétrique de groupe méthylène (-CH ₂)
1743	Ester carbonyle groupe fonctionnel de triglycérides
1465	Vibration de déformation des groupes aliphatique CH ₂ et CH ₃
1417	Vibration des liaisons CH d'oléfines cis- disubstituées
1402	Vibration de déformation de groupe =C-H
1377	Vibration de déformation de groupe CH ₂
1236 et 1160	Déformation de groupe C-O
1117 et 1098	Vibration d'élongation de groupe ester C-O
1030	Elongation de groupe C-O
962	Vibration de déformation de groupe fonctionnel CH trans-oléfines isolées
850	Vibration de =CH ₂
721	vibrations de déformation du groupe CH ₂ .

I.3.2 Contribution des méthodes chimiométriques

L'analyse des variations des spectres IRTF n'est pas facile car ces changements sont très faibles. En outre, il y a tellement de pics sans résolution. Pour une meilleure visualisation des tendances, la compression de l'information spectrale est nécessaire. L'adultération de l'huile d'olive a été étudiée par des modèles linéaires. Le PLS a été utilisé, car c'est un outil capable d'adresser la décomposition des spectres à la variable dépendante (pourcentage d'huiles alimentaire dans l'huile d'olive).

I.3.2.1 Modèles linéaires pour le calcul du pourcentage d'huile alimentaire dans l'huile d'olive

Tableau II.2 : Modèles linéaires pour le calcul du pourcentage de l'huile alimentaire dans l'huile d'olive

Echantillon	Y%	R ² %	P
HT	$-7.86 T^{3008} + 26.7 T^{2854} - 33.1 T^{1745} + 0.963 T^{1541} + 7.42 T^{1455}$	99.70	0.00
HC	$-60.1 T^{1716} - 11.2 T^{1656} + 20.8 T^{1541} - 46.0 T^{1464} + 88.8 T^{1377}$	99.42	0.00
HM	$-8.77 T^{3007} - 14.2 T^{2957} + 43.6 T^{1746} - 1.28 T^{1622} + 11.2 T^{1118}$	99.49	0.00
HS	$-12.1 T^{3007} + 2.54 T^{2677} - 1.64 T^{1553} + 11.6 T^{1239}$	99.39	0.00

Le tableau II.2 donne les modèles linéaires obtenus par les régressions linéaires multiples pour calculer le pourcentage d'huile alimentaire dans l'huile d'olive. Selon ces résultats on remarque que ; pour l'huile d'olive adultérée avec l'huile de tournesol, le bon modèle obtenu est basé sur 5 variables avec des transmittances à 3008 cm⁻¹ correspondant à l'élongation en double liaison C-H cis; 2854 cm⁻¹ correspondant à la vibration d'élongation asymétrique et symétrique de groupe méthylène (-CH₂); 1745 cm⁻¹ correspondant au élongation de groupe C=O (ester) groupe carbonyle des triglycérides ; avec un coefficient de détermination R² = 99.70. Selon le modèle adapté, on remarque que les coefficients des variables: T²⁸⁵⁴, T¹⁵⁴¹, T¹⁴⁵⁵ sont positifs c.-à-d. l'augmentation du pourcentage d'huile de tournesol dans l'huile d'olive entraîne une augmentation de la transmittance à ces longueurs d'onde alors que les coefficients des variables T³⁰⁰⁸, T¹⁷⁴⁵ sont négatifs ce qui montre que l'intensité de ces bandes diminue en fonction du pourcentage d'huile de tournesol. D'un point de vue statistique, le modèle obtenu est très significatif à travers l'analyse des variances et des qualités statistiques. La valeur de P = 0.00 inférieure à α = 0.05 pour un niveau de confiance de 95%, ceci qui prouve que la liaison globale entre le pourcentage d'huile de tournesol dans l'huile d'olive et les données spectrales est très significative.

Le bon modèle obtenu pour l'huile d'olive adultérée avec l'huile de colza est basé sur 5 variables avec des transmittances à; 1716 cm⁻¹ attribuable à l'élongation du groupe C=O des acides. 1656 cm⁻¹ indiquent la présence du groupement C = C, 1464 cm⁻¹ vibration de déformation des groupes aliphatique CH₂ et CH₃, 1377 cm⁻¹ vibration de déformation de groupe CH₂ ; avec un coefficient de détermination R² = 99.42. Les coefficients des variables: T¹⁵⁴¹, T¹³⁷⁷ sont positifs. Par conséquent, l'augmentation du pourcentage d'huile de colza entraîne une augmentation de la transmittance à ces longueurs d'onde alors que les coefficients des variables T¹⁷¹⁶, T¹⁶⁵⁶ et T¹⁴⁶⁴ sont négatifs; ils indiquent, que l'intensité de ces

bandes diminue en fonction du pourcentage d'huile de colza. D'un point de vue statistique, le modèle obtenu est très significatif à travers l'analyse des variances et des qualités statistiques. La valeur de $P = 0.00$ inférieure à $\alpha = 0.05$ pour un niveau de confiance de 95% qui prouve que la liaison globale entre le pourcentage d'huile de colza dans l'huile d'olive et les données spectrales est très significative.

Pour l'huile d'olive adultérée avec de l'huile de maïs, le bon modèle obtenu est basé sur 5 variables avec des transmittances à 3007 cm^{-1} correspondant à l'élongation de double liaison C-H cis. 2957 cm^{-1} correspondant à vibration d'élongation asymétrique et symétrique de groupe méthylène ($-\text{CH}_2$). 1746 cm^{-1} correspondant à l'élongation de groupe C=O (ester) groupe carbonyle des triglycérides, 1118 cm^{-1} vibration d'élongation de groupe C-O ester ; avec un coefficient de détermination $R^2 = 99.49$. Selon le modèle adapté, on remarque que les coefficients des variables: T^{1541} , T^{1118} sont positifs donc l'augmentation du pourcentage d'huile de maïs entraîne une augmentation de la transmittance à ces longueurs d'onde et les coefficients des variables T^{3007} , T^{2957} et T^{1622} sont négatifs ce qui montre que l'intensité de ces bandes diminue en fonction du pourcentage d'huile de maïs. D'un point de vue statistique, le modèle obtenu est très significatif par l'analyse des variances et des qualités statistiques. La valeur de $P = 0.00$ inférieure à $\alpha = 0.05$ pour un niveau de confiance de 95%, ce qui prouve que la liaison globale entre le pourcentage d'huile de maïs dans l'huile d'olive et les données spectrales est très significative.

Le bon modèle obtenu pour l'huile d'olive adultérée avec de l'huile de soja est basé sur 4 variables avec des transmittances à 3007 cm^{-1} correspondant à l'élongation de double liaison C-H cis. 2677 cm^{-1} est attribué au groupe carbonyle (résonance de Fermi). 1239 cm^{-1} correspondant à déformation de groupe C-O ; avec un coefficient de détermination $R^2 = 99.39$. Selon le modèle adapté, on remarque que les coefficients des variables: T^{2677} , T^{1239} sont positifs. Ainsi, de l'augmentation du pourcentage d'huile de soja entraîne une augmentation de la transmittance à ces longueurs d'onde. Alors que les coefficients des variables T^{3007} , T^{1553} sont négatifs indiquant que l'intensité de ces bandes diminue en fonction du pourcentage d'huile de soja. D'un point de vue statistique, le modèle obtenu est très significatif par l'analyse des variances et des qualités statistiques. La valeur de $P = 0.00$ inférieure à $\alpha = 0.05$ pour un niveau de confiance de 95%, ce qui prouve que la liaison globale entre le pourcentage d'huile de soja dans l'huile d'olive et les données spectrales est très significative.

I.3.2.2 Modèles PLS pour le calcul du pourcentage d’huile alimentaire

La régression PLS a été appliquée sur les spectres IR-TF de 4000-450 cm⁻¹ pour construire un modèle d’étalonnage entre le pourcentage de l’huile de tournesol et la transmittance à une longueur d’onde bien précise. Pour établir des modèles PLS nous avons gardé les mêmes variables de départ utilisées pour les régressions multiples.

Le PLS a la capacité d'utiliser des informations de spectres d'échantillons à partir de fréquences à large spectre. De plus, il est capable de corrélérer le changement de transmittance spectrale et sa concentration d'huile alimentaire tout en concordant avec d'autres spectres qui peuvent perturber les spectres analysés. Dans le modèle d’étalonnage PLS, l’évaluation de la linéarité de la méthode a été transportée afin de montrer une relation proportionnelle entre les réponses (transmittances) et les concentrations d’huile alimentaire dans l'huile d'olive.

La qualité des modèles PLS est testée à travers les valeurs des coefficients de détermination R², l'erreur quadratique moyenne de validation croisée RMSECV, la variable de Fischer F et P-value. Pour la validation, nous avons choisi la validation croisée (tableau II.3).

Tableau II.3 : Paramètres statistiques obtenus par validation croisée complète sur PLS de tous les échantillons

Echantillon	R ² Calculé	R ² prédit	RMSECV	F	P
HT	99.99	99.83	1.09	7517.71	0.00
HC	99.79	96.53	3.69	406.43	0.00
HM	99.63	96.40	4.61	154.85	0.00
HS	99.87	98.77	2.84	193.77	0.00

Le nombre optimal de facteurs PLS a été déterminé en utilisant une validation croisée. Deux variables latentes ont été utilisées pour construire le modèle. La performance du modèle a été évaluée par le coefficient de détermination R². La valeur de P est 0.000 inférieure à α= 0.05 (niveau de confiance 95%) ce qui montre que le modèle est très significatif de point de vue statistique.

L'excellent modèle est obtenu pour l'huile d'olive adultérée avec de l'huile de tournesol; la valeur R² obtenue est de 99,99% (en étalonnage) et de 99,78% (en prédiction). PLS donne un meilleur modèle d’étalonnage et de prédiction pour l'huile d'olive adultéré avec de l'huile de colza et de l'huile de soja que l'huile d'olive adultéré avec l’huile de maïs. La valeur élevée de RMECV (4,61) a été obtenue pour l'huile d'olive adultéré avec de l'huile de maïs.

Le diagramme de sélection des modèles PLS est une représentation graphique des coefficients de déterminations en fonction des composantes sélectionnées, le résultat trouvé est donné par la figure II.4a, II.4b II.4c, II.4d.

La ligne verticale indique que le modèle optimal est celui à (9 composantes pour l'huile d'olive adultéré par huile de tournesol, 6 composantes pour l'huile d'olive adultéré par huile de colza et 7 composantes pour l'huile d'olive adultéré par huile de maïs et par l'huile de soja) sélectionnées par validation croisée.

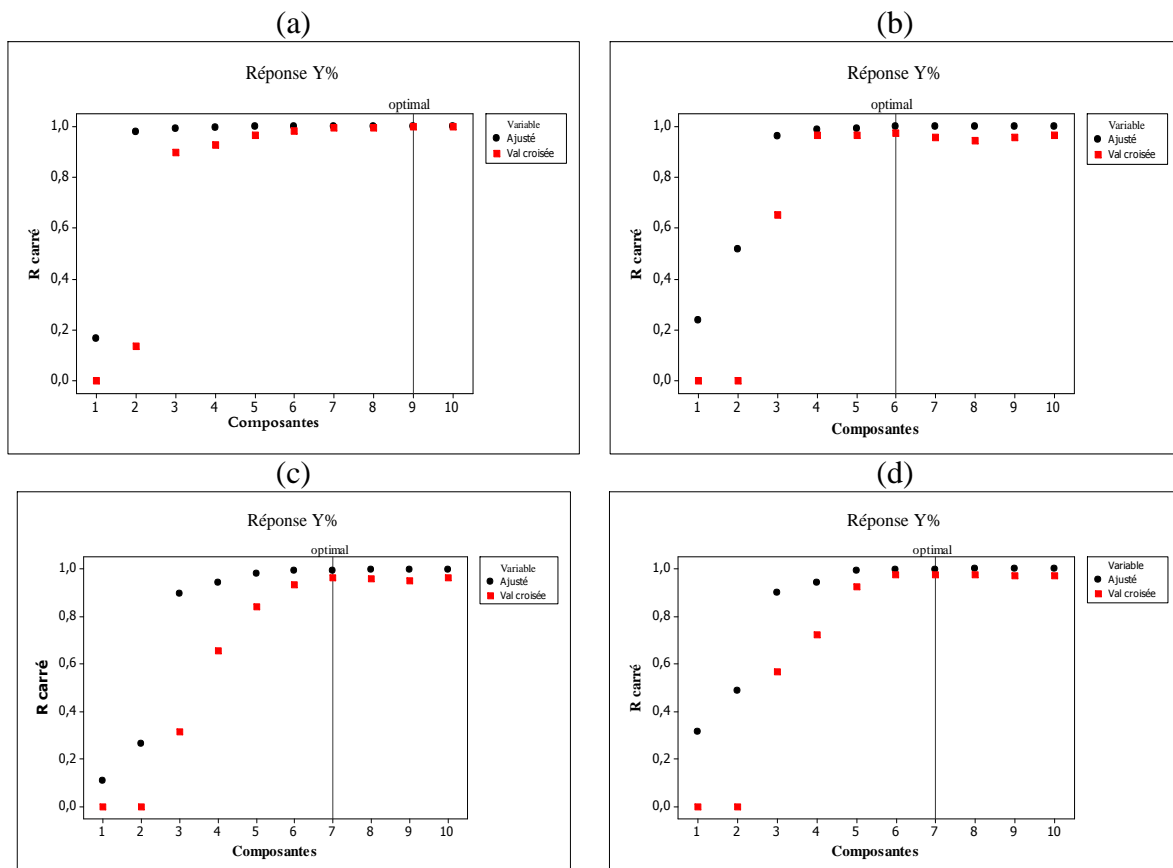


Figure II.4 : Diagramme de sélection de modèle PLS d'huile d'olive adultérée avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja

Pour mieux discuter les résultats trouvés, nous avons calculé le pourcentage de l'huile alimentaire par les modèles PLS et tracer les diagrammes des réponses PLS qui représentent les courbes de pourcentage calculées par le modèle PLS et celle réelle (figure II.5a, II.5b, II.5c, II.5d).

Le diagramme des réponses indique que les modèles sont parfaitement adaptés aux données spectrales. Il existe de légères différences entre les réponses ajustées (en noire) et les réponses

ajustées par la validation croisée (en rouge), qui n'affectent en rien la validité de la méthode pour tous les modèles.

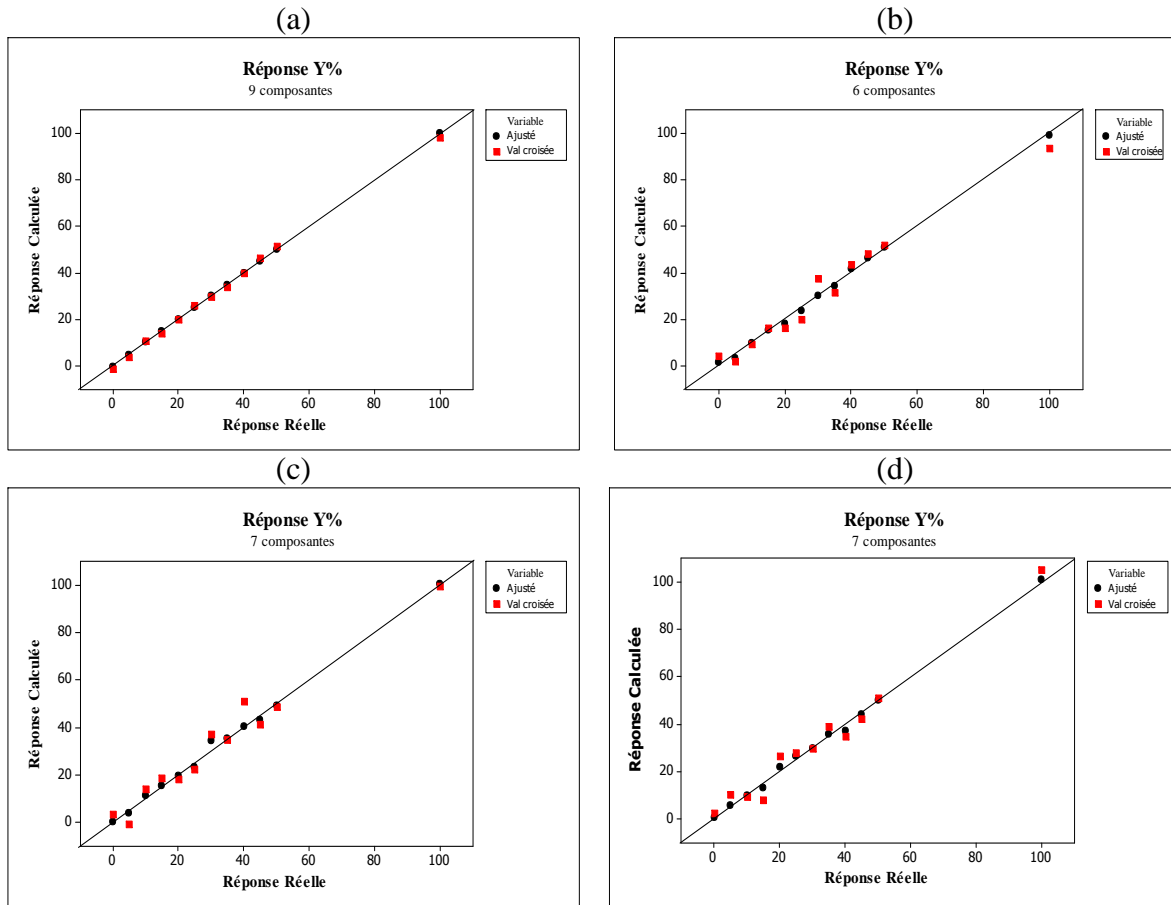


Figure II.5 : Diagramme des réponses PLS d'huile d'olive adultérée avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja

Nous avons représenté aussi le diagramme des coefficients normalisés PLS sur la figure (II.6a, II.6b, II.6c, II.6d).

D'après le diagramme (a), les transmittances aux nombres d'ondes 3008 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} , 1397 cm^{-1} , 1377 cm^{-1} , 1238 cm^{-1} et 1119 cm^{-1} possèdent des coefficients normalisés les +plus élevés et le plus fort impact sur l'adultération de l'huile d'olive avec l'huile de tournesol. Les transmittances ; 2854 cm^{-1} , 1655 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} , 1417 cm^{-1} , 1377 cm^{-1} , 1238 cm^{-1} et 1119 cm^{-1} sont liées positivement au pourcentage de l'huile de tournesol, contrairement aux variables 3008 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} , 1397 cm^{-1} et 1160 cm^{-1} qui y sont liées négativement.

Les transmittances aux nombres d'ondes 3006 cm^{-1} , 2851 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} et 1118 cm^{-1} possèdent des coefficients normalisés les plus élevés et le plus fort impact sur l'adultération de l'huile d'olive avec l'huile de colza. Les transmittances ; 1745 cm^{-1} , 1716 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 1377 cm^{-1} , 1239 cm^{-1} , 1118 cm^{-1} et 1097 cm^{-1} sont liées positivement au pourcentage de

l'huile de colza, contrairement aux variables 3472 cm^{-1} , 3006 cm^{-1} , 2956 cm^{-1} , 2851 cm^{-1} , 1656 cm^{-1} , 1622 cm^{-1} , 1464 cm^{-1} et 1402 cm^{-1} qui y sont liées négativement voir le diagramme (b).

Selon le diagramme (c), on remarque que les transmittances aux nombres d'ondes 3007 cm^{-1} , 1656 cm^{-1} , 1463 cm^{-1} , 1417 cm^{-1} et 1118 cm^{-1} possèdent des coefficients normalisés les plus élevés et le plus fort impact sur l'adultération de l'huile d'olive avec l'huile de maïs. Les transmittances ; 3471 cm^{-1} , 2730 cm^{-1} , 2675 cm^{-1} , 1746 cm^{-1} , 1463 cm^{-1} , 1417 cm^{-1} , 1377 cm^{-1} et 1118 cm^{-1} sont liées positivement au pourcentage de l'huile de maïs, contrairement aux variables 3007 cm^{-1} , 2957 cm^{-1} , 1656 cm^{-1} , 1400 cm^{-1} et 1095 cm^{-1} qui y sont liées négativement.

Pour l'huile d'olive adultérée avec l'huile de soja, les transmittances aux nombres d'ondes 3007 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} , 1464 cm^{-1} , 1378 cm^{-1} et 1163 cm^{-1} possèdent des coefficients normalisés les plus élevés et le plus fort impact sur l'adultération de l'huile d'olive avec l'huile de soja. Les transmittances 2854 cm^{-1} , 2677 cm^{-1} , 1464 cm^{-1} , 1378 cm^{-1} , 1239 cm^{-1} et 1118 cm^{-1} sont liées positivement à pourcentage de l'huile de maïs, contrairement aux variables 3007 cm^{-1} , 2957 cm^{-1} , 1746 cm^{-1} , 1400 cm^{-1} , 1163 cm^{-1} et 1095 cm^{-1} qui y sont liées négativement.

L'analyse chimiométrique montre que les principales régions de longueurs d'onde choisies pour construire le modèle PLS d'huile d'olive adultérée avec l'huile de tournesol correspondent à: d'abord, élongation double liaison C-H cis à 3008 cm^{-1} . Deuxièmement, vibration de déformation de groupe $=\text{C-H}$ à 1402 cm^{-1} et vibration de déformation de groupe CH_2 à 1377 cm^{-1} . Pour l'huile d'olive adultérée avec l'huile de colza le modèle correspondait à: Premièrement, élongation double liaison C-H cis à 3006 cm^{-1} . Deuxièmement, il correspond à une vibration d'élongation asymétrique et symétrique de groupe méthylène ($-\text{CH}_2$) à 2851 cm^{-1} . Troisièmement, il correspond à élongation du groupe C=O (esters) groupe carbonyle des triglycérides à 1745 cm^{-1} . Enfin, il correspond à une vibration d'élongation de groupe C-O ester à 1118 cm^{-1} . Le modèle de l'huile d'olive adultérée avec huile maïs correspond à: d'abord, élongation double liaison C-H cis à 3007 cm^{-1} . Deuxièmement, à 1656 cm^{-1} indique la présence du groupement C = C. Troisièmement, la vibration de déformation des groupes aliphatique CH_2 et CH_3 à 1463 cm^{-1} . Quatrièmement, des vibrations des liaisons CH d'oléfines cis di-substituées à 1417 cm^{-1} . Enfin, la vibration d'élongation de groupe C-O ester à 1118 cm^{-1} . Pour le modèle d'huile d'olive adultérée avec l'huile de soja, on obtient: une élongation double liaison C-H cis à 3006 cm^{-1} ; Une vibration

d'élongation asymétrique et symétrique de groupe méthylène ($-CH_2$) à 2854 cm^{-1} et à 1163 cm^{-1} déformation de groupe C-O.

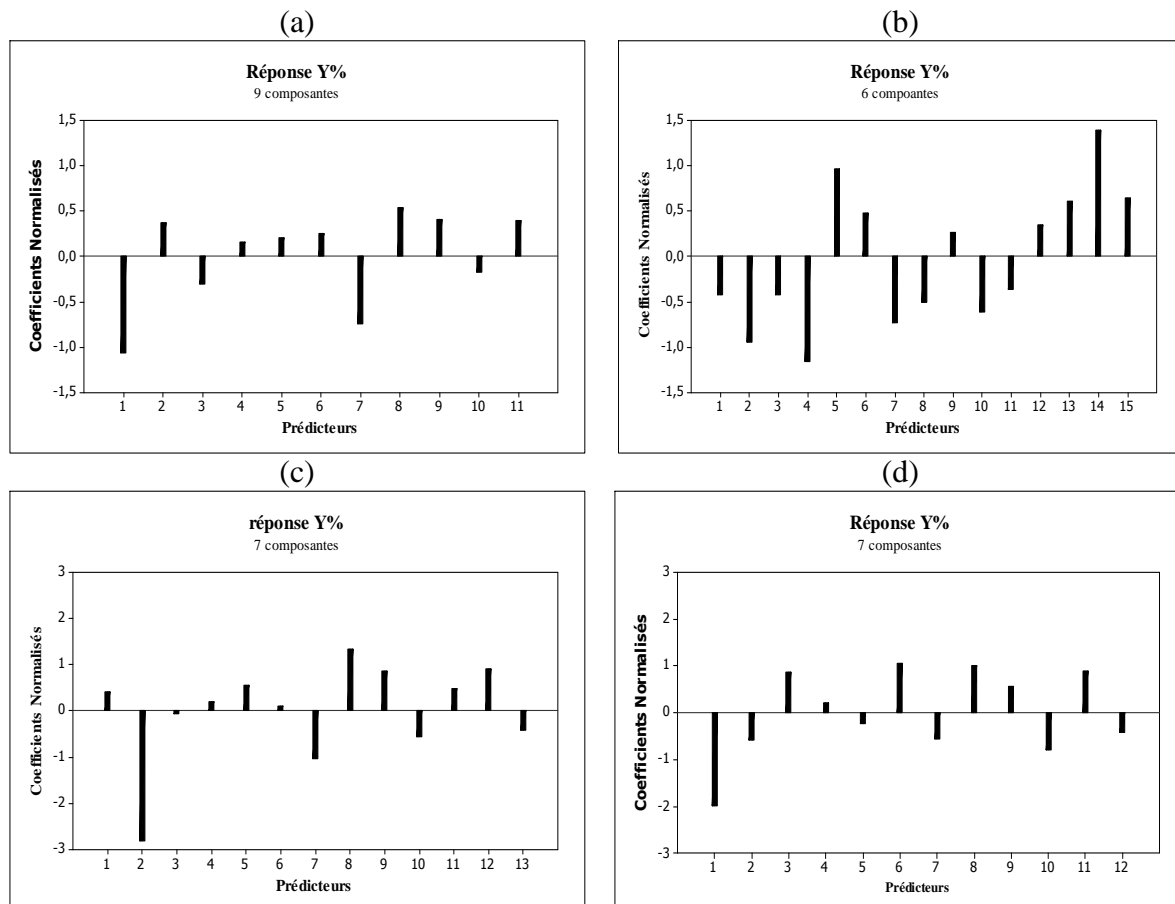


Figure II.6 : Diagramme des coefficients normalisés PLS de l'huile d'olive adultérée avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja

Le nuage de points pour la relation entre le pourcentage réel et prédit d'huile alimentaire dans l'huile d'olive pour tous les échantillons présentés dans la figure II.7 a, b, c et d. Cette figure indique une relation étroite entre deux variables évaluées en utilisant PLS-IRTF. La relation entre le pourcentage réel et prédit d'huile alimentaire dans l'huile d'olive montre une bonne corrélation avec R^2 de 1, 0.998, 0.996 et 0.999 pour tous les échantillons respectivement.

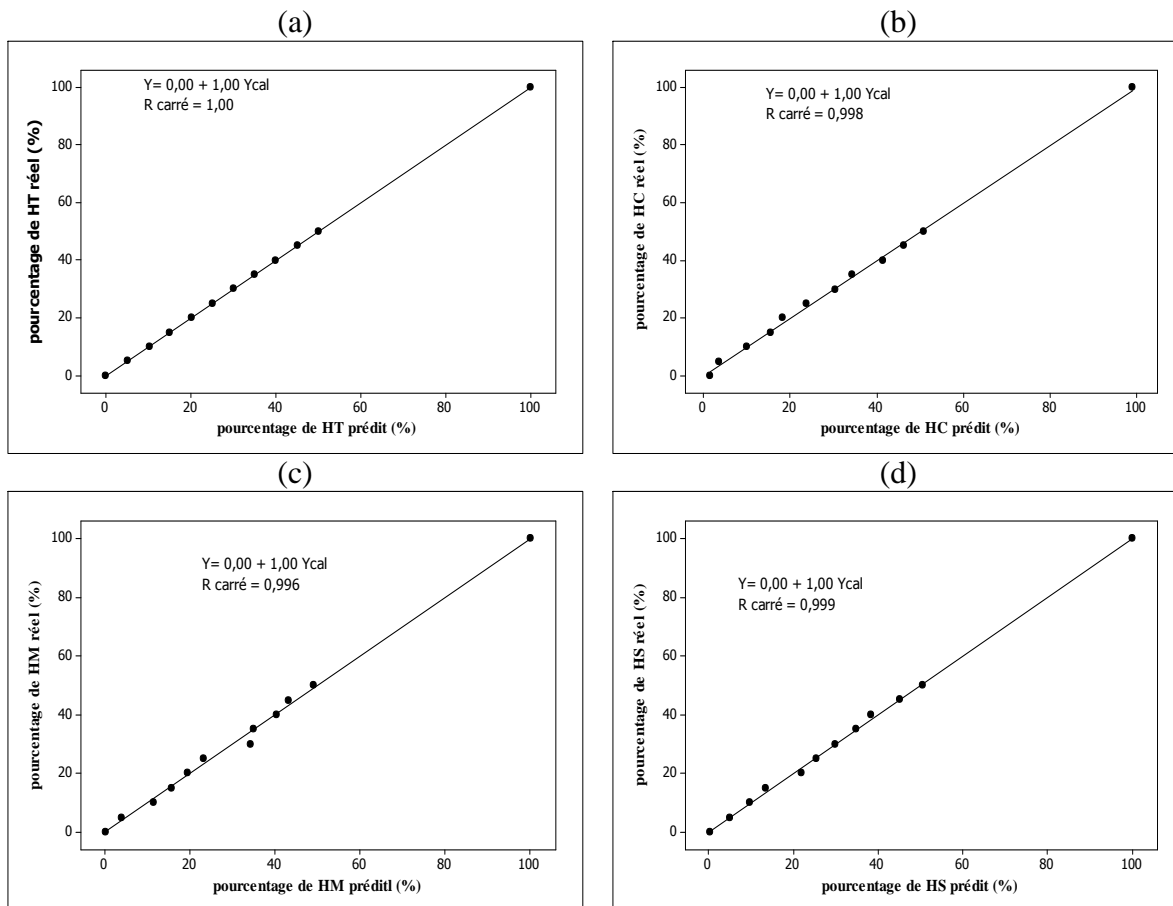


Figure II.7 Diagramme de corrélation de pourcentage réel par rapport au pourcentage prédit de (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja dans l’huile d’olive

1.2.2.3 Etude de l’adultération de l’huile d’olive par analyse en composantes principales ACP

Pour faire une classification des échantillons étudiés, nous avons utilisé la méthode ACP en se basant sur les spectres IRTF des échantillons étudiés. Le but de cette analyse est d’obtenir un petit nombre de combinaisons linéaires prenant en compte la plus grande variabilité des données. Dans cette étude, les données analytiques ont été disposées dans une matrice contenant 17 variables à 12 concentrations d’échantillons. Les données IRTF constituent les variables initiales qui sont traitées par ACP.

La contribution d’huile d’olive adultérée avec de l’huile de tournesol sur deux premiers composants principaux est de 84,7% (PC1: 69,7%; PC2: 15%). L’huile d’olive adultérée avec l’huile de colza sur deux premiers composants principaux montre 97,1% (PC1: 86,1%; CP2: 11%). Dans deux premiers composants principaux, la contribution pour l’huile d’olive adultérée avec l’huile de maïs est de 94,2% (PC1: 83,1%, PC2: 11,1%). Pour l’huile d’olive

adultérée avec l'huile de soja la contribution sur les deux premiers composants principaux montre 87,6% (PC1: 76,8%, PC2: 10,8%).

La projection des échantillons dans le plan factoriel formé par la première et la deuxième composante principale sont donnés par figure II.8 a, b, c, d

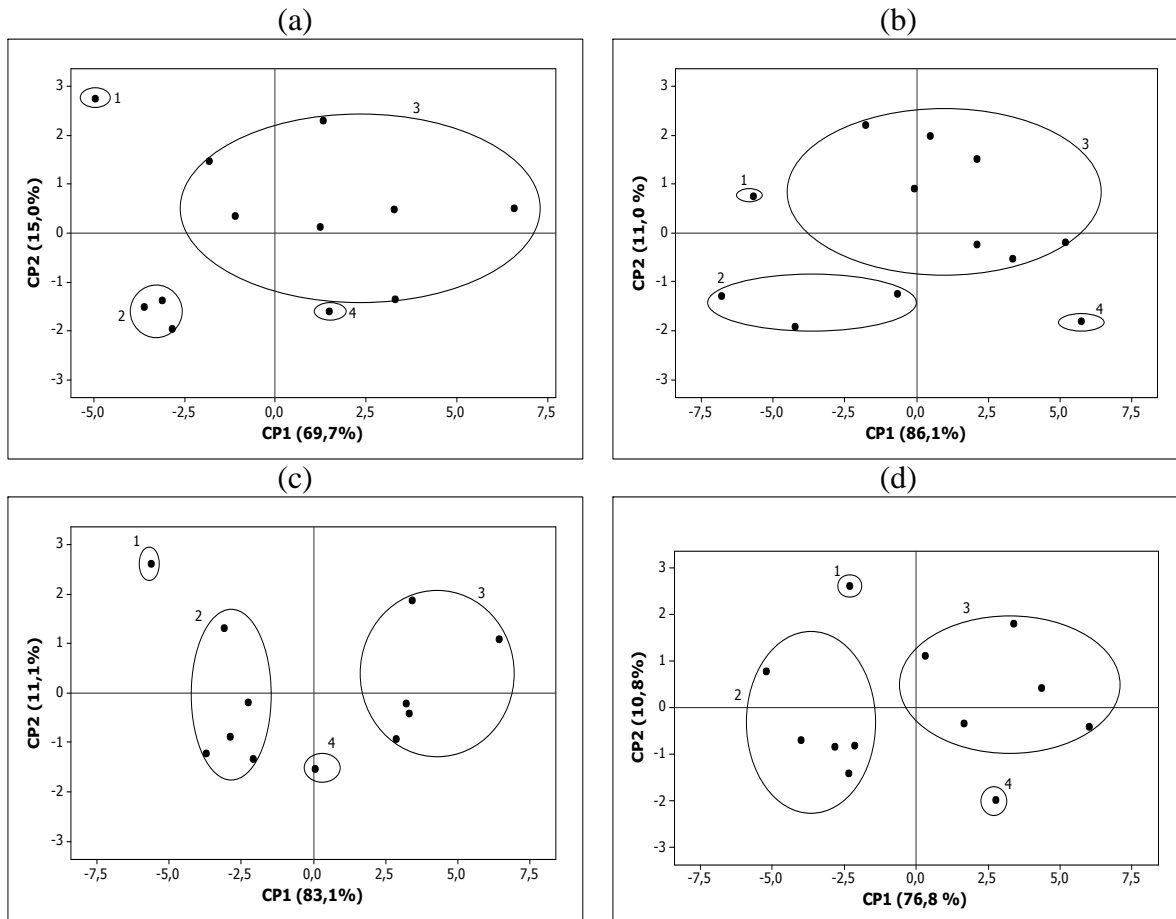


Figure II.8 : Le score ACP obtenu à partir de la matrice de corrélation pour l'huile d'olive adultéré avec (a) huile de tournesol, (b) huile de colza, (c) huile de maïs, (d) huile de soja

D'après cette figure, on remarque une nette séparation entre les différents échantillons qu'on peut classer en quatre groupes (1, 2, 3, 4) selon le tableau II.4.

Tableau II.4 : Classification des échantillons étudiés

Groupe Echantillon	1	2				3				4
		HT	HC	HM	HS	HT	HC	HM	HS	
0% huile alimentaire		5%		5%		20%		30%		100% huile alimentaire
		10%		10%		25%		35%		
		15%		15%		30%		40%		
				20%		35%		45%		
				25%		40%		50%		
						45%				
						50%				

Toutes les classes résultantes sont parfaitement séparées. Le premier groupe contenait l'huile d'olive pure sans ajout des huiles alimentaires. Il est prédominant dans CP2 positif.

La pureté de l'huile d'olive diminue on remarque la présence des huiles alimentaires ce qui signifie une adultération. Les deuxième et troisième groupes sont nettement visibles. Le quatrième groupe est représenté l'échantillon des huiles comestibles pures.

I.4 Conclusion

La spectroscopie IRTF combinée aux méthodes chimiométriques peut être utilisée pour détecter l'adultération de l'huile d'olive avec différentes huiles alimentaires. Après une étude statistique détaillée, le modèle linéaire de régression à basé de 5 variables avec des transmittances de: 3008 cm^{-1} , $2950\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$, $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ et $1400\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$; peut être utilisé comme des bandes caractéristiques pour obtenir l'adultération de l'huile d'olive.

Le modèle PLS peut être utilisé avec succès pour quantifier l'adultération de l'huile d'olive avec de l'huile de tournesol aux fréquences de 3008 cm^{-1} , 1402 cm^{-1} et 1377 cm^{-1} . Pour l'huile d'olive adultéré avec huile de colza correspond à 3006 cm^{-1} , 2851 cm^{-1} et 1145 cm^{-1} et à 1118 cm^{-1} . Le modèle d'huile d'olive adultérée avec de l'huile de maïs correspond aux fréquences de 3007 cm^{-1} , 1656 cm^{-1} , 1463 cm^{-1} et de 1118 cm^{-1} . Les fréquences de 3006 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} , et de 1163 cm^{-1} correspondent à un modèle PLS d'huile d'olive adultérée avec de l'huile de soja. Les résultats obtenus par ACP sont similaires et permettent de faire une classification de l'huile étudiée en 3 classes principales qui sont différentes: huile alimentaires pure, huile d'olive adultérée et enfin huile d'olive pure.

II. Etude de la stabilité oxydative d'huile d'olive

II.1 Introduction

L'huile d'olive est principalement composée de glycérides (98-99%) et de composants mineurs tels que les stérols, les phénols ... etc. Certains composants mineurs sont responsables de la saveur et de l'arôme d'huile d'olive tels que les composés volatils (aldéhydes, alcools, cétones et esters) qui sont influencés par les conditions d'extraction et la densité de plantation des oliviers [27]. Le corps humain ne produit pas d'acides gras mais les prend plutôt dans les aliments qu'il reçoit [28].

La composition de l'huile d'olive algérienne a été étudiée déjà par Louadj et Giuffrè, les résultats montrent que l'acide oléique était présent à sa plus forte concentration; les valeurs se situent entre 61% et 67% [29]. La stabilité et la durée de conservation d'huile d'olive vierge sont déterminées par les composés volatils et phénoliques [30].

Les lipides qui contiennent des acides gras insaturés sont sujets à l'oxydation. La préservation de la qualité des produits alimentaires est déterminée par leur protection contre le rancissement d'oxydation par l'utilisation d'antioxydants définis comme une série de composés bioactifs [31]. L'oxydation des huiles conduit à différentes réactions: la formation des radicaux alkyle et des radicaux alkyle-proxyle en plus de la formation et la décomposition d'hydroperoxydes [32]. La durée de conservation des produits alimentaires peut être réduite par l'oxydation des lipides ainsi que par les réactions défavorables dans les huiles alimentaires. L'addition d'antioxydants est efficace pour retarder l'oxydation des lipides et des aliments contenant des lipides [33].

L'acide citrique (CA), un acide organique important avec une large gamme d'applications, a été cristallisé à partir de jus de citron par Scheele en 1784 CA [34], un antioxydant puissant parmi les acides hydroxycinnamic, est répandu dans le règne végétal. L'utilisation de CA peut fournir des avantages doubles en inhibant l'oxydation des lipides, car il est un piègeur de radicaux libres; il peut également augmenter les valeurs nutritionnelles du produit final [35].

Le but de cette étude est d'accéder aux stabilités oxydatives des différents échantillons d'huile d'olive vierge récoltés dans le nord-est de l'Algérie en fonction de leurs changements structural dans les constituants, suivis par les changements de leurs spectres IRTF et de leurs paramètres physico-chimiques. Les analyses sont effectuées régulièrement tous les 30 jours pendant un an à travers K_{232} , K_{270} , teneur en caroténoïdes et chlorophylles, acidité libre et indice de peroxyde, spectres IRTF pour les échantillons d'huile d'olive vierge et pour les

échantillons d'huile d'olive avec une petite quantité d'acide citrique dans l'eau (1‰ en volume) comme antioxydant. Il est connu que la qualité de l'huile d'olive est considérée en ce qui concerne les valeurs sans aucun additif. Même si le Conseil oléicole international interdit l'inclusion d'additifs dans l'huile d'olive; la présence d'une solution diluée (jusqu'à 1 ‰ en volume) d'acide citrique, améliore la stabilité de l'huile d'olive contre les effets destructeurs des peroxydes. La spectroscopie IRTF combinée à l'étalonnage multivarié a été utilisée pour l'évaluation de l'auto-oxydation de l'huile d'olive vierge. Le modèle PLS met en corrélation les valeurs réelles et estimées par l'IRTF du temps de stockage avec un coefficient de détermination élevé

II.2 Matériels et méthodes

II.2.1 Echantillonnage

Cinq échantillons d'huile d'olive sont collectés à partir d'unités d'extraction localisées dans plusieurs régions oléicoles des différentes régions du Nord-est algérien (Tebessa, Souk Ahras, Bouati Mahmoud, Hamam N'bail, Bouchegouf) récoltées à l'automne 2013/2014. Ces huiles sont classées selon leur provenance. Leur procédé d'extraction est un système continu sans chauffage. Pour chaque huile d'olive, deux préparations sont faites; le premier avec additif « acide citrique » et la deuxième sans additif. Les deux préparations ont été préparées comme suit:

Echantillons 1a, 1b, 1c, 1d et 1e: les préparations sont faites pour tester l'effet de l'acide citrique. La préparation est composée de 1 ml de solution aqueuse d'acide citrique qui est ajoutée à 99% de chaque huile d'olive.

Echantillons 2a, 2b, 2c, 2d et 2e: avec 100% de chaque huile d'olive; pour déterminer le comportement de l'huile d'olive sans aucun additif. Toutes les analyses ont été effectuées tous les 30 jours pendant une année.

Chaque échantillon est prélevé à partir d'un échantillon global par homogénéisation et réduction de la masse appropriée qui est représentative du lot et destinée à l'analyse au **Laboratoire d'Analyses Industrielle et Génie des Matériaux (LAIGM)** à l'université de 8 mai 1945- Guelma. Les échantillons d'huile d'olive sont mis dans des flacons en verre foncé propres et secs d'une taille minimale de 250 ml muni de bouchon, et placé à l'abri de la lumière selon la norme AFNOR T60-280 (1987) [36]. Une étiquette est collée sur chaque flacon indiquant l'aire oléicole, le numéro de l'échantillon et le système d'extraction (méthode moderne pour tous les échantillons).

a : Tebessa ; b : Souk Ahras ; c : Bouati Mahmoud ; d : Hamam N'bail ; e : Bouchegouf

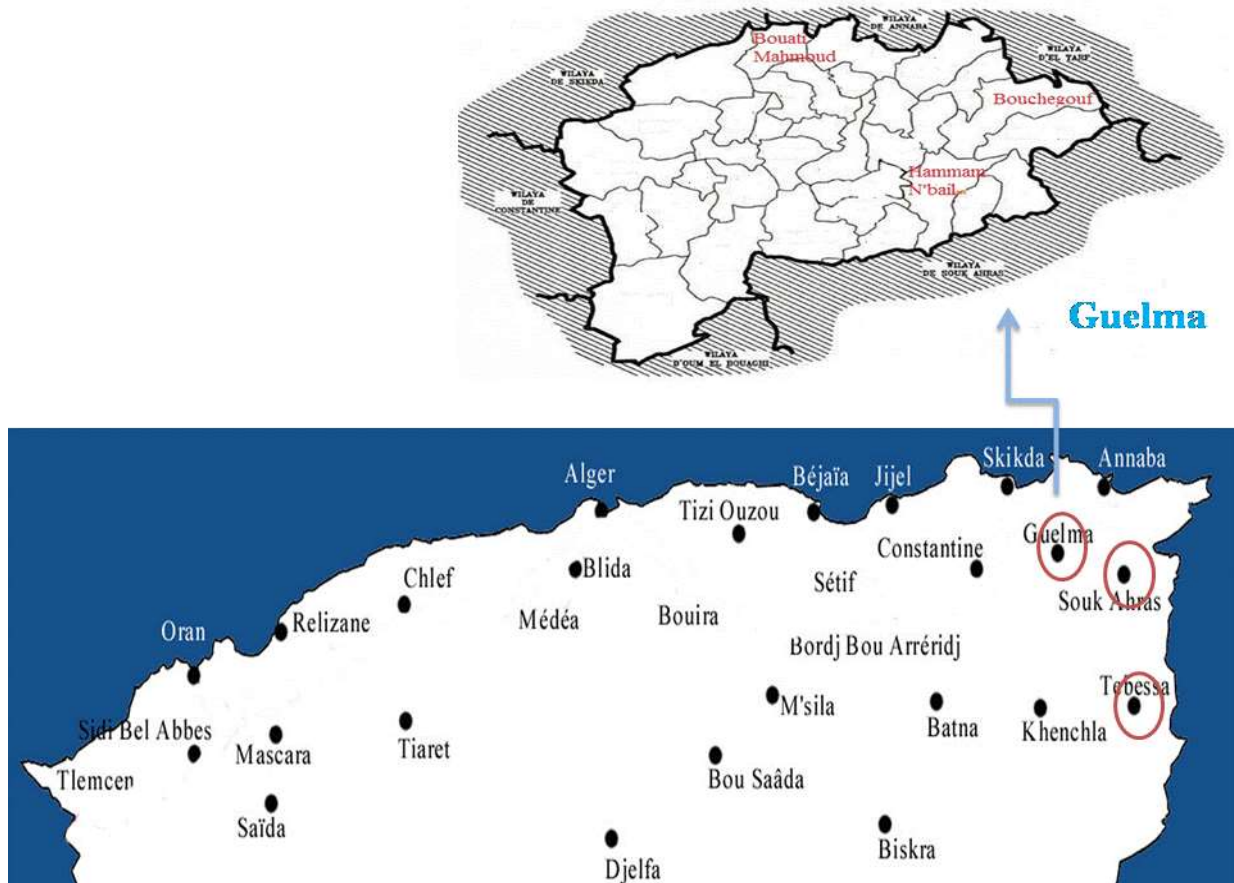


Figure II.9 : Carte oléicole des zones d'échantillonnage

II.2.2 La spectroscopie UV- Visible

II. 2.2.1 Appareillage

Le spectromètre UV utilisé pour cette étude est le Spectrophotomètre UV-1800 de Shimadzu équipé de deux cellules de 1cm d'épaisseur. La mesure de l'absorption ou la transmission à une ou plusieurs longueurs d'onde (jusqu'à huit). L'utilisation du logiciel UV-1800 probe fourni permet de contrôler l'UV-1800 avec un micro-ordinateur. Le logiciel UV probe un produit tout-en-un qui comprend les quatre fonctions suivantes : Mode spectre, photométrie (quantification), le mode cinétique (temps) et un générateur de rapports.

II.2.2.2 Analyse spectrophotométrique dans l'ultra-violet

En 1931 Gillam et al, [37] ont démontré que les graisses naturelles développaient un pic d'absorption proche de 230-235 nm durant le stockage, dans le domaine de l'ultraviolet, la phase d'oxydation de l'huile est exprimée par les coefficients d'absorptions (Extinction spécifique) (K_{232} et K_{270}); le premier stade d'oxydation de l'huile, donne des hydroperoxydes

qui sont détectés par leur absorption dans UV aux environ de 232 nm. Ensuite ses peroxydes se transforment en produits divers tels: des cétones insaturés et des dicétones qui s'absorbent dans l'UV vers 270 nm.

Les coefficients d'absorptions K_{232} et K_{270} dans l'ultraviolet évaluent le degré et le stade d'oxydation. Les coefficients d'absorptions d'un acide gras saturé sont nuls [38].

A. Détermination de l'absorbance et de l'extinction spécifique (K_{232} et K_{270})

Tous les corps gras naturels contiennent de l'acide linoléique en quantité plus ou moins importante. L'oxydation d'un corps gras conduit à la formation d'hydroperoxydes linoléique qui absorbent la lumière ultraviolette au voisinage de 266 nm. Si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires d'oxydation.

Les diènes et les triènes conjugués sont à doser dans l'huile d'olive selon la norme du Conseil Oléicole International (2003) [39]. Cet examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse.

La détermination de l'absorbance à 232 nm et au voisinage de 270 nm permet la détection des produits d'oxydation des acides gras insaturés, lorsqu'ils ont une structure diénique conjuguée (Exp : hydroperoxyde linoléique C18 : 2), et des produits secondaires d'oxydation ayant une structure triénique (dans le cas de la présence d'acides gras à trois doubles liaisons).

L'extinction à 270 nm d'un corps gras brut peut être considérée comme une image de son état d'oxydation, plus l'huile est peroxydée et plus l'extinction à 270 nm est forte, plus elle est riche en produits secondaires d'oxydation.

1. Matériels

- Fiole jaugée de 10 ml.
- Balance électronique.
- Spectrophotomètre de marque UV-1800 SHIMADZU équipé de deux cellules de 1cm d'épaisseur.
- Deux cuves en quartz.

2. Produits

- Hexane pur

3. Mode opératoire

Une prise de 0,1 g de l'huile d'olive et dissoute dans 10 ml d'hexane. La lecture des absorbances est effectuée dans une cuve en quartz par rapport à celle du solvant, sur un

spectrophotomètre équipé d'une fibre optique de 1cm d'épaisseur selon la norme conseil oléicole international 2011 [40].

4. Expression des résultats

Les valeurs sont exprimées comme extinction spécifique K exprimé comme suit :

$$K = \text{Abs}_{\lambda} / C \times d \dots\dots (1)$$

Où:

Abs_λ : Absorbance à la longueur d'onde λ.

C : Concentration de la solution en g/100 ml.

d : épaisseur de la cuve (1cm).

b. Détermination de la teneur en chlorophylles et en caroténoïde

Les chlorophylles et les caroténoïdes sont déterminés par leurs absorbance à 670 et 472 nm, respectivement à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. La norme utilisée est Minguez-Mosquera, 1991 [41].

1. Matériels

- Fiole jaugée de 10 ml.
- Balance électronique.
- Spectrophotomètre de marque UV-1800 SHIMADZU équipé de deux cellules de 1cm d'épaisseur.
- Deux cuves en quartz.

2. Produits

- Hexane pur

3. Mode opératoire

3 g d'huile sont précisément mesurés puis dissout dans l'hexane à un volume final de 10 ml.

Le maximum d'absorption à 670 nm est relié à la fraction des chlorophylles et à 475 nm la fraction caroténoïdiques. La valeur du coefficient d'extinction spécifique appliqué est $\delta=613$ pour la phéophytine comme composé majeur dans la fraction chlorophyllique est $\delta=2000$ pour la lutéine comme composé majeur de la fraction caroténoïdique.

4. Expression des résultats

La teneur en pigment est calculée comme suit :

$$c_1 = (\text{Abs}_{470} \times 10^6) / (E_0 \times 100 \times d) \dots\dots(2)$$

Où:

c_1 représente la teneur en pigments caroténoïdes exprimée en mg / kg de lutein a (ppm)

d représente l'épaisseur de la cuve (1 cm)

$E_0 = 2000$ pour le caroténoïde

$$c_2 = (\text{Abs}_{670} \times 10^6) / (E_0 \times 100 \times d) \dots\dots(3)$$

Où:

c_2 représente la teneur en pigments de chlorophylle exprimée en mg / kg de phéophytine (ppm)

$E_0 = 613$ pour la chlorophylle

d représente l'épaisseur de la cuve (1 cm)

II.2.3 Analyse physico-chimique

II.2.3.1 Acidité libre

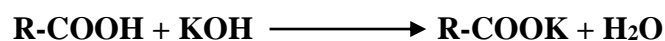
A. Définition

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres contenus dans un corps gras, par convention, elle s'exprime en pourcentage d'acide oléique pour les huiles d'olive et représente un paramètre important dans l'évaluation de sa qualité [42].

L'acidité est mesurée selon la norme [43].

L'indice d'acide est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme de corps gras [44]. Cet indice permet de mesurer la quantité d'acide gras libre résultant des réactions d'hydrolyse et d'oxydation des triglycérides [45]. Les huiles destinées à la consommation doivent contenir moins de 1% d'acides libres [46].

La méthode consiste à doser les acides gras libres par une solution titrée d'hydroxyde de potassium.



b. Matériels et produits

1. Matériels

- Balance
- Ballon
- 2 Burettes de 50 ml
- Eprouvette graduée
- Agitateur magnétique et barreau

2. Produits

- Ethanol
- Hexane
- Solution d'hydroxyde de potassium alcoolique (KOH 0.1mol/l)
- Solution d'acide chlorhydrique (HCl 0.097 mol/l)
- Phénolphtaléine (indicateur coloré)

c. Mode opératoire

Dans un ballon, peser une masse d'huile d'olive, ajouter 15 ml d'hexane et 2 gouttes de phénolphtaléine

Etape 01 : l'excès de KOH

Doser la solution d'échantillon par l'hydroxyde de potassium en agitant constamment jusqu'au virage de l'indicateur à couleur rose après le changement de couleur en ajoute un excès de KOH jusqu'au un volume V_1 .

Etape 02 : Dosage en retour (neutralisation avec HCl)

En suite cette solution est dosée par l'acide chlorhydrique avec agitation jusqu'a décoloration.

Calculs:

Pour calculer l'indice d'acide on a calculé :

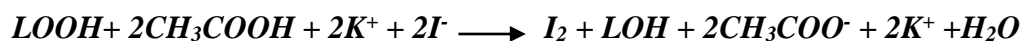
- Le volume de KOH : $V_{KOH} = V_1 - V_2$ (V_1 : volume de KOH à l'excès, V_2 : volume de HCl à retour)
- La masse de KOH : $m_{KOH} = V_{KOH} \times C_{KOH} \times M_{KOH}$ ($C_{KOH} = 0.1 \text{ mol/l}$, $M_{KOH} = 56 \text{ g/mol}$)

$$IA = \frac{m_{KOH}}{m_{huile}} \times 10 \dots\dots\dots(4)$$

II.2.3.2 Indice de peroxyde**A. Définition**

Les hydroperoxydes (LOOH) sont les produits primaires de l'oxydation lipidique [47]. L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans 1 kilogramme de produit et oxydant l'iodure de potassium KOH avec libération d'iode et titration de celui-ci par le thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation des huiles [48]. Il est déterminé selon la norme française NF EN ISO 3960. Il permet d'apprécier le degré d'oxydation d'une huile. Cet indice permet de suivre l'état de conservation d'une huile ou état d'avancement de l'oxydation [49]. Lorsqu'une huile n'est pas soumise à de bonnes conditions de conservation ou à un bon traitement, sa qualité peut se détériorer de diverses manières, mais le plus souvent par hydrolyse ou par oxydation. Elle devient ainsi impropre à la consommation [45].

La réaction suivante a lieu entre les hydroperoxydes et les ions iodure I^- [47] :



L'iodure libéré est titré par le thiosulfate de sodium, selon la réaction suivante :



La quantité formée de di-iodure est proportionnelle à celle des hydroperoxydes initialement présents [50].

B. Matériels et produits**1. Matériels**

- Balance
- Bécher
- Eprouvette graduée
- Agitateur magnétique et barreau

2. Produits

- Chloroforme
- Acide acétique
- Eau distillé
- Amidon (indicateur coloré)

- Solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)
- Solution d'iodure de potassium saturé (KI)

c. Mode opératoire

On introduit une masse connue et voisine de 2 g d'huile d'olive dans un bécher on ajoute successivement 10 ml de chloroforme, 15 ml d'acide acétique et 1 ml d'iodure de potassium saturé en agitant, le bécher est abandonné à l'obscurité pendant 5 minutes. Pour arrêter la réaction on ajoute 75 ml d'eau en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré. Si une couleur violacée apparaît après agitation énergétique, il y a présence de peroxyde. On fait le titrage immédiatement avec thiosulfate de sodium N/200 jusqu'à disparition de la couleur violette.

On effectue un essai à blanc dans les mêmes conditions opératoires.



Calculs:

$$IP = (V_2 - V_1) / m_{\text{huile}} \quad \dots (5)$$

V_1 : volume, en ml, de thiosulfate de l'essai à blanc

V_2 : volume, en ml, de thiosulfate

II.2.5 Méthodes statistiques et chimiométriques

L'analyse chimiométrique, incluant la quantification utilisant la régression aux moindres carrés partiels PLS, a été réalisée à l'aide du logiciel MINITAB 16. Le nombre optimal de facteurs PLS a été déterminé en utilisant la validation croisée en traçant le nombre de facteurs par rapport à l'erreur quadratique moyenne de la validation croisée (RMSECV) et en déterminant les facteurs minimaux.

II.2.5.1 Choix des variables

Pour établir des modèles qui permettent de calculer le temps de stockage de l'huile d'olive, nous avons choisi :

- Variable dépendante : temps de stockage de l'huile d'olive.
- Variables indépendantes : Les transmittances à des longueurs d'ondes bien précises.

On s'est basé sur le choix des variables indépendantes à des longueurs d'ondes qui montrent des différences entre les spectres des différents échantillons. Le fichier ainsi établi devient le champ d'application de la régressions aux moindres carrés partiels PLS.

II.2.5.2 Théorie de la régression aux moindres carrés partiels PLS

Cette partie est mentionnée dans le chapitre II de la partie expérimentale (Etude d'adultération d'huile d'olive)

II.3 Résultats et discussion

Pour déterminer l'effet du temps de stockage dans l'obscurité à température ambiante sur la qualité de l'huile d'olive, les résultats de chaque paramètre ont été comparés aux valeurs obtenues pour les échantillons analysés immédiatement après l'extraction (témoins: t = 0 mois).

La qualité de l'huile d'olive sélectionnée a été évaluée par les indices spectroscopiques K_{232} , K_{270} ; valeurs d'acidité libre et de peroxyde et également par des données spectroscopiques de IRTF.

Tableau II.5 illustre les paramètres de qualité obtenus pour 5 huiles d'olive collectées.

Tableau II.5: Paramètres de qualité des huiles d'olives collectées

Paramètres de qualité	Tebessa	Souk Ahras	Bouati Mahmoud	Hammam N'baïl	Bouhegouf	EVOO (EEC,2003)
K_{232}	0.475 ± 0.014	0.647 ± 0.019	0.272 ± 0.008	1.863 ± 0.060	0.446 ± 0.013	≤ 2.50
K_{270}	0.104 ± 0.003	0.182 ± 0.005	0.153 ± 0.004	0.107 ± 0.003	0.109 ± 0.003	≤ 0.22
Acidité libre	0.08 ± 0.004	0.160 ± 0.008	0.220 ± 0.006	0.330 ± 0.009	0.280 ± 0.008	≤ 0.8
Indice de peroxyde	7.127 ± 0.056	7.652 ± 0.082	7.448 ± 0.072	7.313 ± 0.025	7.825 ± 0.091	≤ 20

Les valeurs de K_{232} , K_{270} , d'acidité libre et de l'indice peroxyde sont représentées dans le tableau II.5, ces valeurs sont inférieures aux normes fixées par [51]. Cela reflète la qualité

supérieure de l'huile obtenue à partir d'olives fraîches et saines récoltées au point de maturation optimal, suivie d'une extraction immédiate sans stockage des olives.

II.3.1 Changements dans les paramètres K_{232} , K_{270}

L'absorption ultraviolette est un indicateur plus délicat de l'oxydation et est liée à la présence des systèmes conjugués de diène et de triène (absorbance ultraviolette à 232 et 270 nm, respectivement).

K_{232} est un indicateur de la formation d'hydroperoxyde et de diènes conjugués. K_{270} est un bon indicateur de la phase secondaire de l'oxydation, car il est lié à la présence de produits finis tels que les triènes ou les composés carbonyles insaturés qui représentent l'arôme caractéristique d'une huile oxydée, a montré la même tendance.

Les valeurs maximales autorisées de K_{232} et K_{270} pour les huiles d'olive extra vierges sont respectivement de 2.50 et 0.20.

Les valeurs initiales d'indice K_{232} sont comprises entre 0.272 et 1.863. Alors que les valeurs initiales du K_{270} sont entre 0.104 et 0.182. Ces valeurs sont dans les limites permises par la législation. Dans le tableau II.6, après 6 mois de stockage, on peut voir que l'oxydation primaire et secondaire augmente dans tous les échantillons. Pour l'huile d'olive avec l'acide citrique, le K_{232} a dépassé la limite après 6 mois alors qu'il dépassait la limite avant 6 mois pour l'huile d'olive sans aucun additif. En outre, les K_{270} étaient dans la limite avant 12 mois de stockage pour l'huile d'olive avec de l'acide citrique alors qu'il est dans les limites dans une période inférieure à 6 mois de stockage pour l'huile d'olive sans aucun additif.

L'efficacité observée agissant sur l'huile d'olive peut être due à la libération progressive de composés à activité antioxydant de l'acide citrique dans l'huile d'olive.

Tableau II.6: Evolution de K_{232} , K_{270} dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage

Echantillons	Tempe de stockage (mois)	(a) Tebessa	(b) Souk Ahras	(c) Bouati Mahmoud	(d) Hammam N'bail	(e) Bouchegouf
K_{232}						
	0	0.475 ± 0.014**	0.647 ± 0.019	0.272 ± 0.008	1.863 ± 0.060	0.446 ± 0.013
1*	6	1.791 ± 0.054	2.012 ± 0.060	1.480 ± 0.044	2.311 ± 0.069	2.008 ± 0.060
	12	3.366 ± 0.100	3.385 ± 0.101	3.398 ± 0.102	3.282 ± 0.098	3.398 ± 0.102
2*	6	1.925 ± 0.057	2.345 ± 0.070	1.488 ± 0.044	2.331 ± 0.069	2.312 ± 0.069
	12	3.452 ± 0.103	3.486 ± 0.104	3.481 ± 0.104	3.486 ± 0.104	3.484 ± 0.104
K_{270}						
	0	0.104 ± 0.003	0.182 ± 0.005	0.153 ± 0.004	0.107 ± 0.003	0.109 ± 0.003
1	6	0.256 ± 0.008	0.226 ± 0.006	0.281 ± 0.008	0.275 ± 0.008	0.257 ± 0.007
	12	0.300 ± 0.009	0.446 ± 0.013	0.510 ± 0.015	0.576 ± 0.017	0.585 ± 0.015
2	6	0.270 ± 0.008	0.280 ± 0.008	0.282 ± 0.008	0.275 ± 0.008	0.275 ± 0.008
	12	0.330 ± 0.009	0.613 ± 0.018	0.867 ± 0.026	0.646 ± 0.019	0.699 ± 0.21

*1: Huile d'olive avec acide citrique; 2: Huile d'olive sans aucun additif

** Moyenne ± SD (n=3); dans chaque colonne et pour chaque partie

La figure II.11 montre les résultats enregistrés dans le tableau II.6

Selon la figure II.11, on remarque que la valeur de K_{232} de l'échantillon de Hammam N'bail est élevée par rapport à d'autres échantillons étudié au point zéro (0 mois de stockage). Après 6 mois de stockage, les valeurs de K_{232} sont augmentées d'un pourcentage significatif de tous les échantillons. Après 6 mois de stockage, on remarque que l'augmentation de la valeur de K_{270} pour tous les échantillons dans les deux préparations est la même. Après 12 mois de stockage, l'augmentation de la valeur de K_{270} de l'échantillon Bouati Mahmoud est très élevée par rapport aux autres échantillons pour l'huile d'olive sans aucun additif.

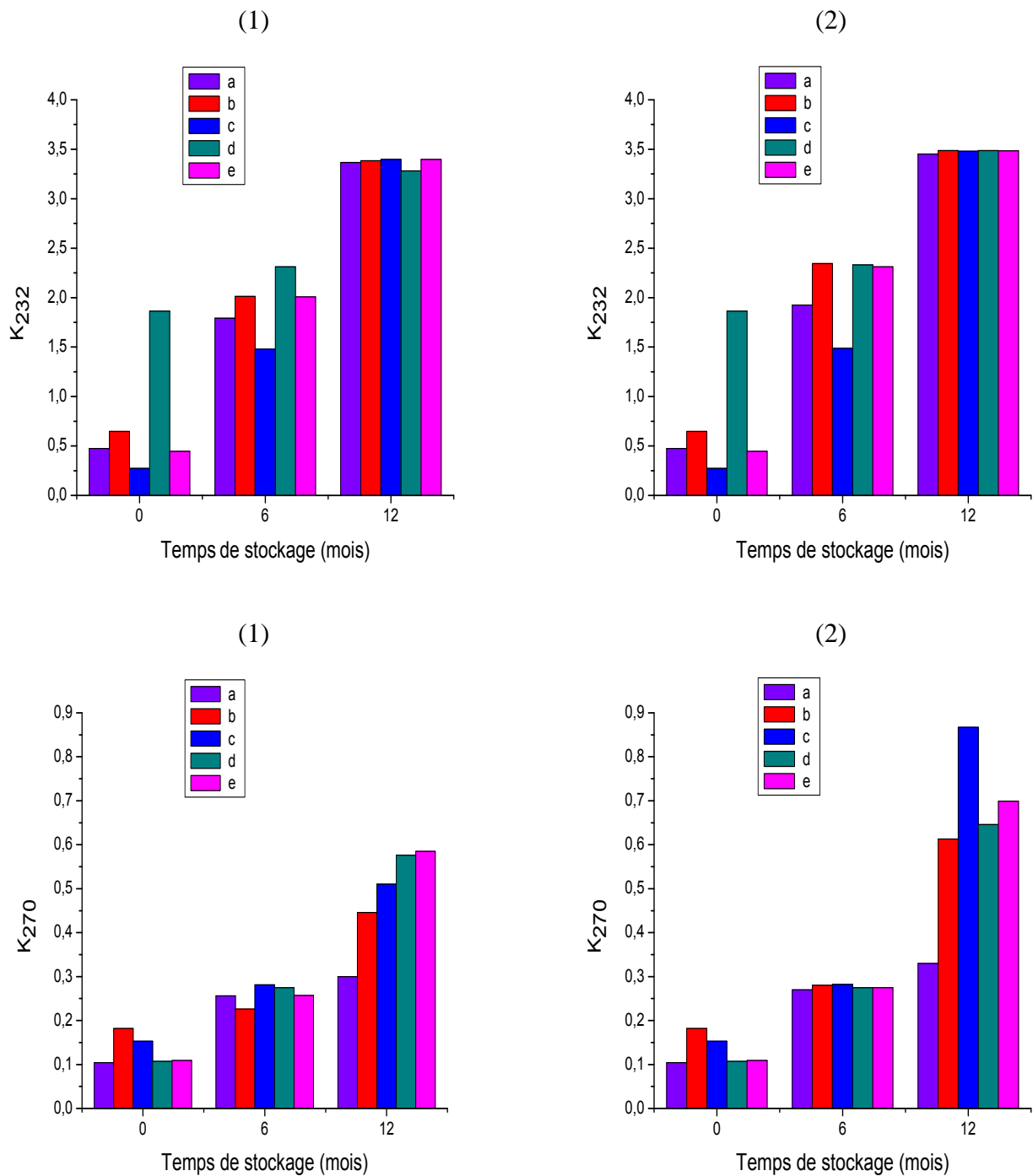


Figure II.10 : Evolution de K_{232} , K_{270} dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage, (1) Huile d'olive avec l'acide citrique, (2) Huile d'olive sans aucun additif

II.3.2 Variation des caroténoïdes et des chlorophylles

Les caroténoïdes et les chlorophylles jouent un rôle important dans la stabilité d'oxydation de l'huile d'olive en raison de leur nature antioxydant dans l'activité sombre et pro-oxydante de

la lumière. Ils sont principalement responsables de la couleur de l'huile d'olive qui varie du jaune-vert ou verdâtre [52].

Les caroténoïdes sont présents dans les huiles d'olive et sont responsables de sa coloration jaune. Les chlorophylles sont également présentes dans les huiles d'olive et sont responsables de leur coloration verdâtre.

Les changements dans les concentrations de caroténoïdes et de chlorophylles dans les échantillons d'huile d'olive pendant le temps de stockage (12 mois) dans l'obscurité à température ambiante sont indiqués dans le tableau II.7.

Tableau II.7: Evolution du caroténoïde et de la chlorophylle dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage

Echantillons	Temps de stockage (mois)	(a) Tebessa	(b) Souk Ahras	(c) Bouati Mahmoud	(d) Hammam N'baïl	(e) Bouchegouf
Caroténoïde						
	0	0.165 ± 0.005**	0.150 ± 0.004	0.150 ± 0.004	0.250 ± 0.007	0.165 ± 0.005
1*	6	0.125 ± 0.003	0.125 ± 0.003	0.105 ± 0.003	0.200 ± 0.006	0.100 ± 0.003
	12	0.055 ± 0.001	0.010 ± 0.000	0.060 ± 0.002	0.060 ± 0.002	0.020 ± 0.000
2*	6	0.135 ± 0.004	0.130 ± 0.004	0.105 ± 0.003	0.150 ± 0.004	0.100 ± 0.003
	12	0.065 ± 0.002	0.015 ± 0.000	0.050 ± 0.001	0.045 ± 0.001	0.050 ± 0.001
Chlorophylle						
	0	0.277 ± 0.008	0.326 ± 0.009	0.620 ± 0.018	0.636 ± 0.020	0.554 ± 0.016
1	6	0.228 ± 0.006	0.103 ± 0.003	0.461 ± 0.013	0.571 ± 0.020	0.278 ± 0.008
	12	0.049 ± 0.001	0.081 ± 0.002	0.163 ± 0.005	0.160 ± 0.005	0.016 ± 0.000
2	6	0.261 ± 0.007	0.161 ± 0.005	0.457 ± 0.014	0.571 ± 0.017	0.251 ± 0.007
	12	0.016 ± 0.000	0.049 ± 0.001	0.114 ± 0.003	0.196 ± 0.006	0.016 ± 0.000

*1: Huile d'olive avec acide citrique; 2: Huile d'olive sans aucun additif

** Moyenne ± SD (n=3); dans chaque colonne et pour chaque partie

Les valeurs des concentrations de caroténoïdes et de chlorophylles se situent entre 0.250 mg / kg et 0.010 mg / kg pour les caroténoïdes et entre 0.636 mg / kg et 0.016 mg / kg pour les chlorophylles pendant les 12 mois de stockage. Le taux de caroténoïdes et de chlorophylle a

diminué dans tous les échantillons stockés. La présence d'acide citrique au milieu n'affecte pas le changement de la concentration de caroténoïde et de chlorophylle.

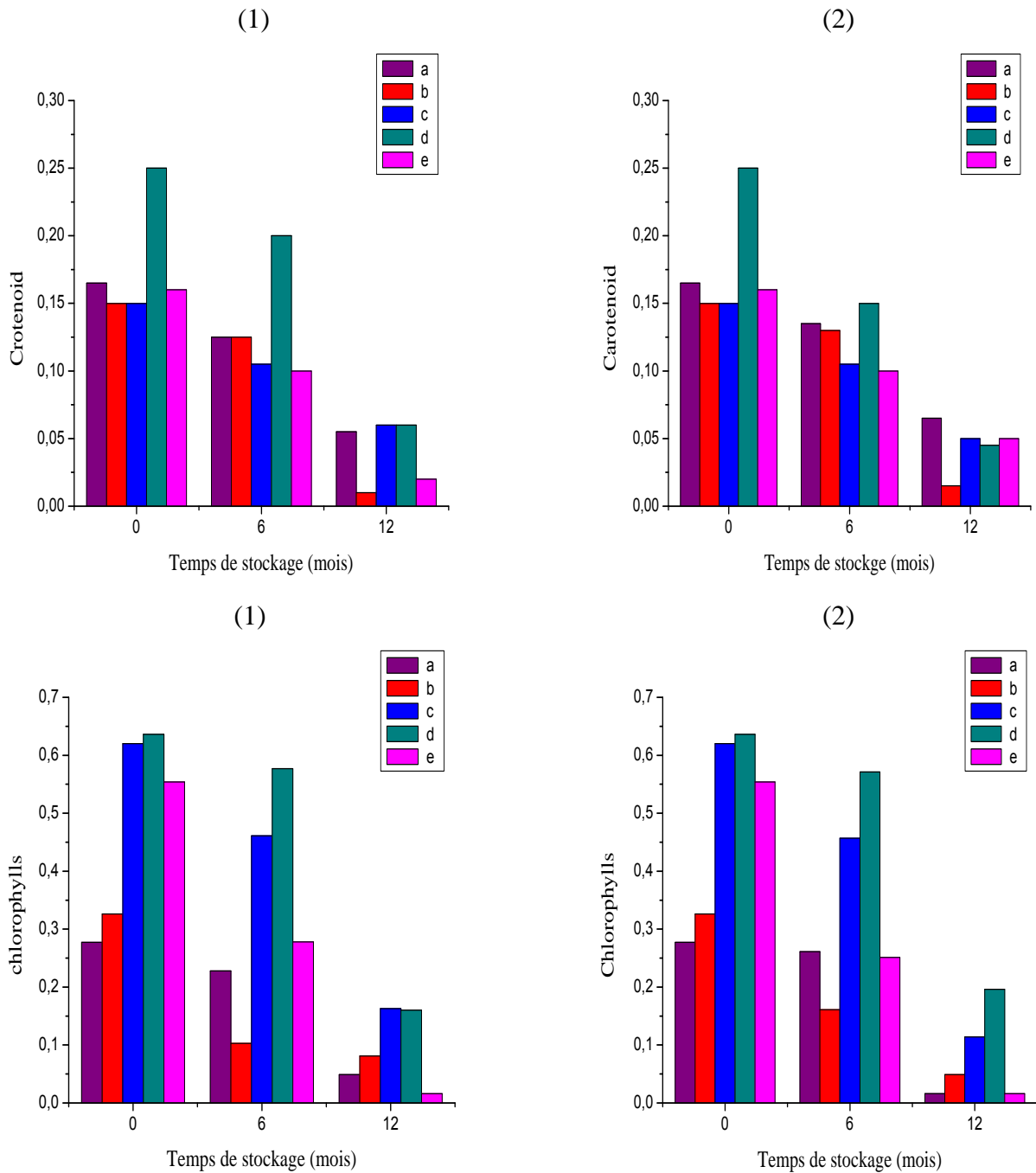


Figure II.11: Evolution des caroténoïdes et des chlorophylles dans les échantillons étudiés pendant le temps de stockage, (1) huile d'olive avec l'acide citrique, (2) huile d'olive sans aucun additif

Selon la figure II.12 la quantité des Caroténoïdes et des Chlorophylles dans tous les échantillons diminuent pendant le temps de stockage, ce qui prouve leur dégradation. La dégradation de ces pigments joue un rôle très important sur la stabilité d'huile d'olive.

II.3.3 Acidité libre

L'huile d'olive vierge contient environ 98% de lipides neutres, principalement des triglycérides (96-97%) suivis par une petite quantité de diglycérides (1-2%) et une quantité variable d'acidité libre qui sert de marqueur de la qualité de l'huile [53].

La quantité d'acidité libre mesurée en acidité (% d'acide oléique) est très importante pour déterminer la qualité de l'huile d'olive. Cette valeur permet une classification pour les huiles d'olive. Toutes les huiles d'olive étaient extra vierges au début de cette expérience. Normalement, la valeur d'acidité libre est restée relativement stable pendant le stockage dans l'obscurité à température ambiante. Dans ce travail, aucune différence significative n'a été observée entre les cinq échantillons initialement utilisés, mais une grande évolution a été observée après un an. Les huiles d'olives récoltées à Tébéssa, Souk Ahras sont restées extra vierges mais les huiles d'olive récoltées à Bouati Mahmoud, Hammam N'bail et Bouchegouf sont devenues vierges. La figure II.12 illustre cette évolution.

Ces résultats montrent qu'il n'y a pas d'effet significatif de l'acide citrique sur l'acidité libre de l'huile d'olive pendant le temps de stockage (12 mois).

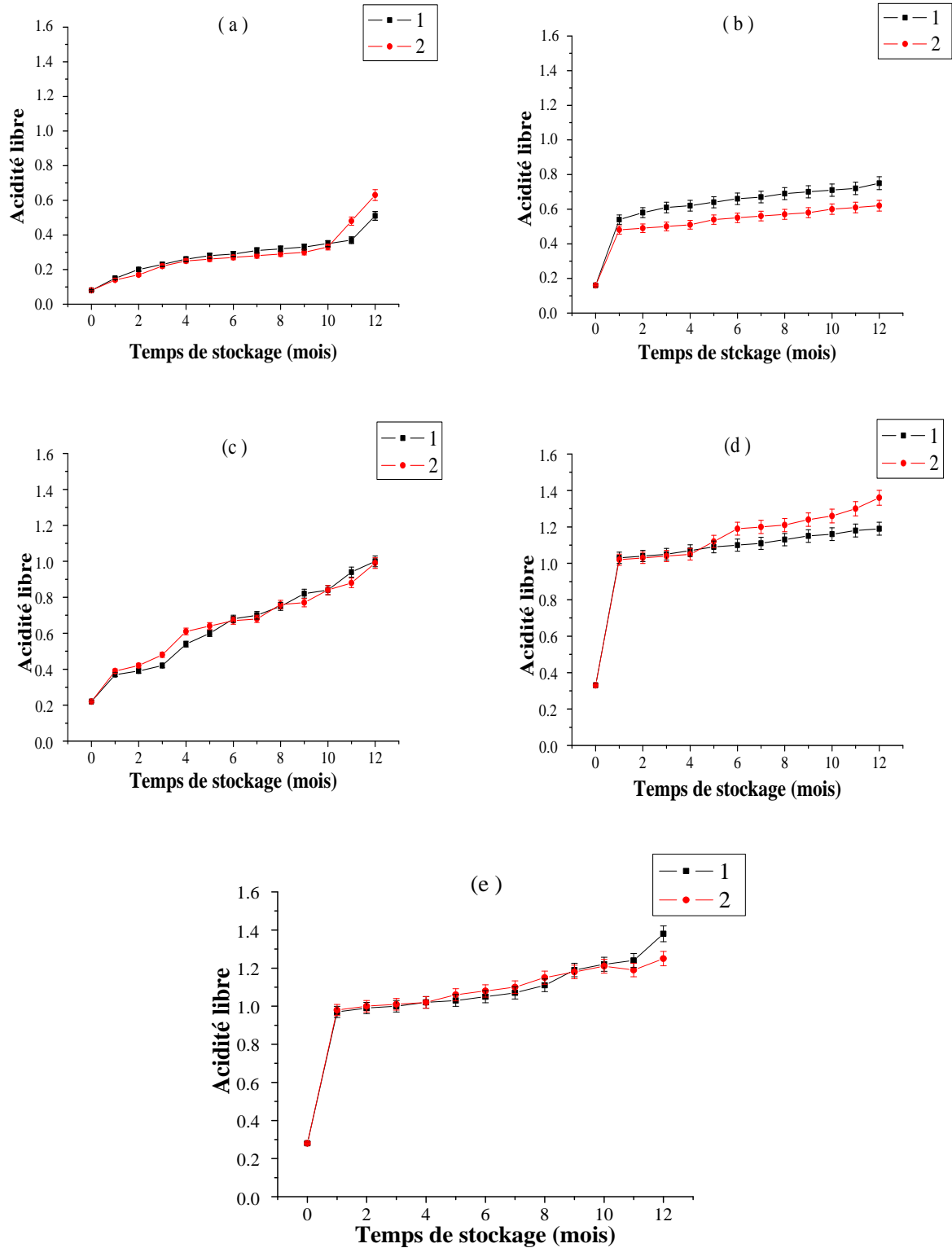


Figure II.12: Variation de l'acidité libre (%) pendant le temps de stockage de l'huile d'olive produite à (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'baïl, (e) Boucheouf

—■— huile d'olive avec l'acide citrique; —●— huile d'olive sans aucun additif

II.3.4 Valeur de peroxyde

Les hydroperoxydes ont été mesurés pour déterminer le taux initial d'oxydation car ils sont généralement acceptés comme les premiers produits formés par oxydation [54].

La formation d'hydroperoxyde dans huile d'olive peut servir d'indicateur pour : les processus oxydatifs et la qualité de l'huile d'olive.

Ainsi, une formation rapide d'hydroperoxyde démontre l'initiation des réactions oxydatives qui précèdent la rancidité.

La valeur de peroxyde, étant un indicateur brut de la quantité de produit d'oxydation primaire, est une mesure de la teneur en oxygène actif. Il est exprimé en meq O₂ / kg d'huile.

L'effet des conditions de stockage sur la formation des produits d'oxydation primaire, exprimé en PV, en fonction du temps de stockage est illustré à la figure II.14.

Les changements de la valeur de peroxyde pendant la période de stockage, jusqu'à douze mois, peuvent être dus au voisinage de la double liaison qui est attachée par l'oxygène et à la variation dans la proportion de liaisons insaturées de triglycérides qui sont plus sujettes à l'auto oxydation.

Les valeurs de peroxyde finales de tous les échantillons étaient supérieures à leurs valeurs initiales après chaque mois de stockage dans l'obscurité à température ambiante. La quantité de PV a montré des augmentations significatives dans l'huile d'olive stockée dans l'obscurité à température ambiante. Il est clair que l'huile d'olive avec l'acide citrique a donné le PV le plus bas. Pour le premier mois, le taux de croissance de la PV est approximativement le même pour les échantillons d'huile d'olive sans additif. Après deux mois de stockage, les effets de l'addition de l'acide citrique sont très remarquables; le pourcentage d'augmentation de la PV est de 4.71% pour l'huile d'olive avec l'acide citrique et de 76.13% pour l'huile d'olive sans aucun additif. L'évolution pendant 12 mois de stockage, les valeurs de peroxyde montre des valeurs significativement plus élevées dans tous les échantillons d'huile d'olive sans aucun additif.

Selon les variations des paramètres de qualité des huiles d'olive étudiées dans cette étude pendant une année de stockage, on remarque que les échantillons d'huile d'olive sans aucun additif sont oxydés avant les échantillons d'huile d'olive avec l'acide citrique. Ensuite, l'ajout d'une petite quantité 1/1000 d'acide citrique contribue à ralentir le phénomène de vieillissement par freinage peroxydique dans le milieu.

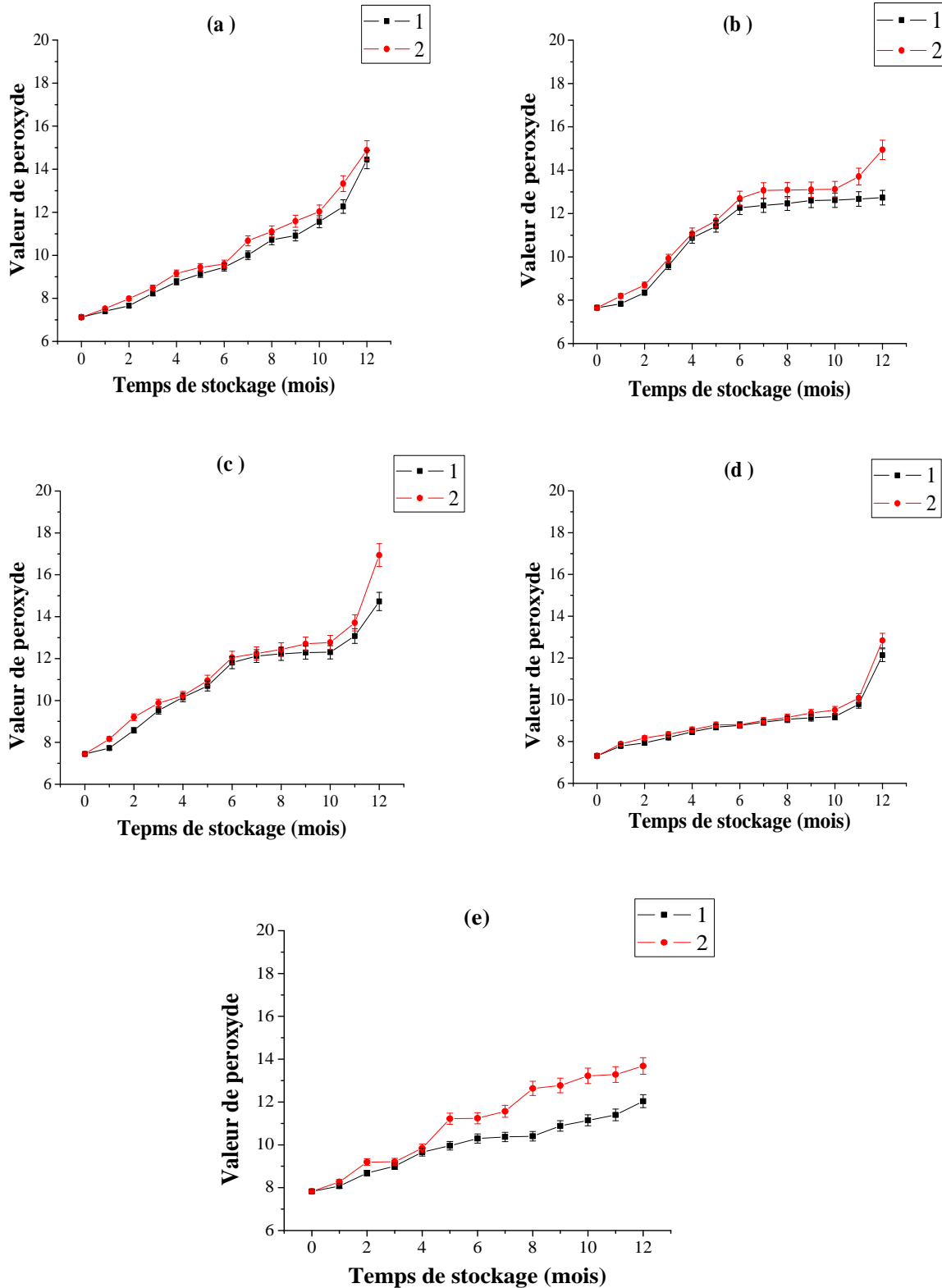


Figure II.13 : Variation de l'indice de peroxyde (meq O₂/ kg) pendant le temps de stockage de l'huile d'olive produite à (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N°bail, (e) Bouchegouf

—■— Huile d'olive avec l'acide citrique; —●— Huile d'olive sans aucun additif

II.3.5 Analyse des spectres

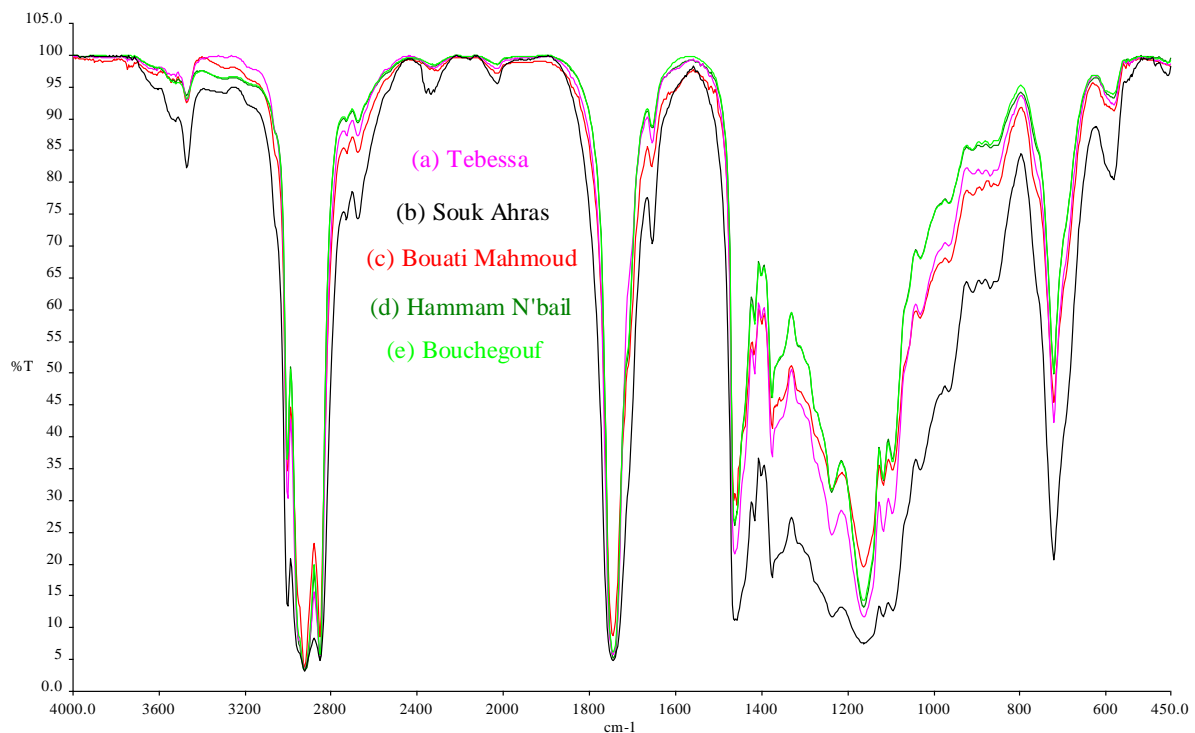


Figure II.14 : Spectre d'huile d'olive témoin : (a) région Tebessa, (b) région Souk Ahras, (c) région Bouati Mahmoud, (d) région Hammam N'Bail, (e) Bouchegouf

II.3.6 Analyse chimométrique

Modèle des moindres carrés partiels (PLS)

L'analyse des variations des spectres IRTF n'est pas très facile car ces changements sont très faibles. PLS est l'une des méthodes les plus utiles pour l'étude de l'oxydation de l'huile d'olive. La régression PLS a été appliquée sur les spectres IRTF de 4000-450 cm^{-1} pour construire un modèle d'étalonnage entre le temps de stockage de l'huile d'olive et la transmittance à une longueur d'onde bien précise.

Dans les modèles d'étalonnage PLS, l'évaluation de la linéarité de la méthode a été effectuée afin de montrer une relation proportionnelle entre les réponses et le temps de stockage de l'huile d'olive. Les régions de fréquence de 3474-2679 cm^{-1} et 1746-1032 cm^{-1} ont été prélevées pour la quantification du temps de stockage de l'huile d'olive.

Le nombre approprié de facteurs PLS est déterminé par application du critère de Haaland et Thomas [55] sur la base de la somme des carrés résiduels prédits minimales stables PRESS. La performance du modèle a été évaluée par le coefficient de détermination R^2 et l'erreur quadratique moyenne de validation croisée RMSECV.

Afin de valider le modèle développé, la validation croisée à l'aide de la technique Leave a out a été utilisée.

Les résultats obtenus à partir de l'étalonnage PLS en termes de R^2 et de RMSECV pour l'oxydation de l'huile d'olive sont représentés dans le tableau II.8.

Tableau II.8: Paramètres statistiques élaborés par validation croisée complète sur PLS de tous les échantillons

Echantillon	Facteurs PLS	R^2 Calculé	R^2 Prédit	RMSECV	F	P
a	5	0.989	0.944	1.094	205.50	0.000
b	8	0.989	0.937	1.372	116.360	0.000
c	3	0.985	0.969	0.804	289.760	0.000
d	4	0.973	0.936	1.240	107.20	0.000
e	8	0.988	0.878	1.558	75.87	0.000

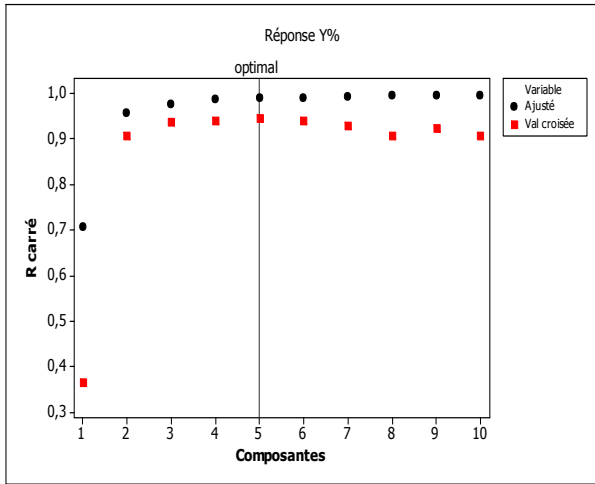
a: Tebessa, b: souk Ahras, c: Bouati Mahmoud, d: Hammam N'baïl, e: Bouchegouf

La qualité des modèles PLS est testée à travers les valeurs des coefficients de détermination R^2 la variable de Fischer F et P-value, D'après le tableau II.8 du modèle PLS proposé, la valeur de P est 0.00 inférieure à $\alpha = 0.05$ (niveau de confiance 95%) ce qui montre que le modèle est très significatif de point de vue statistique pour tous les échantillons.

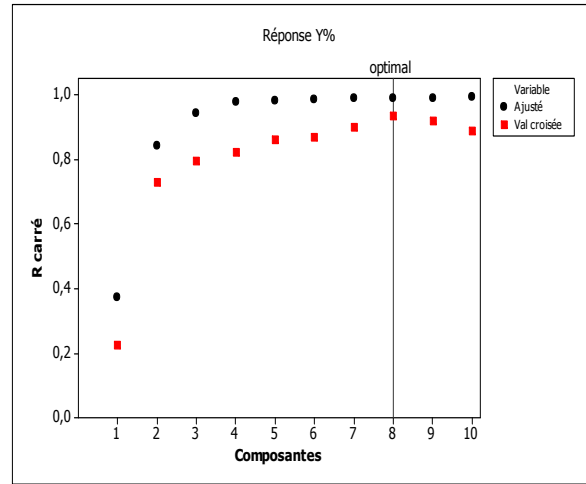
Le diagramme de sélection de modèle PLS est une représentation graphique du coefficient de détermination en fonction des composantes sélectionnées, le résultat trouvé est donné par la figure II.15.

(a)

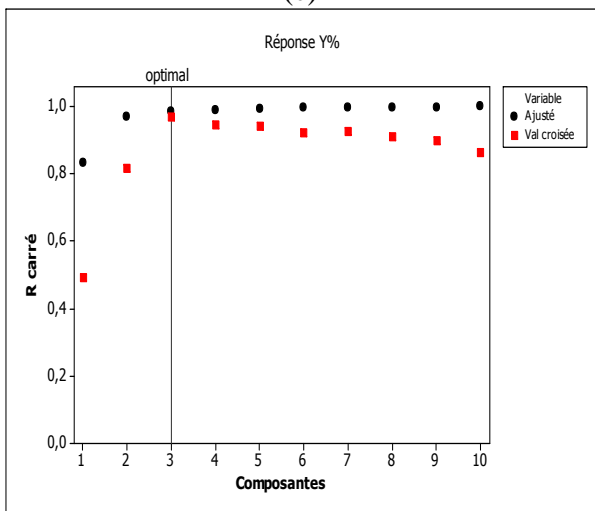
(b)



(c)



(d)



(e)

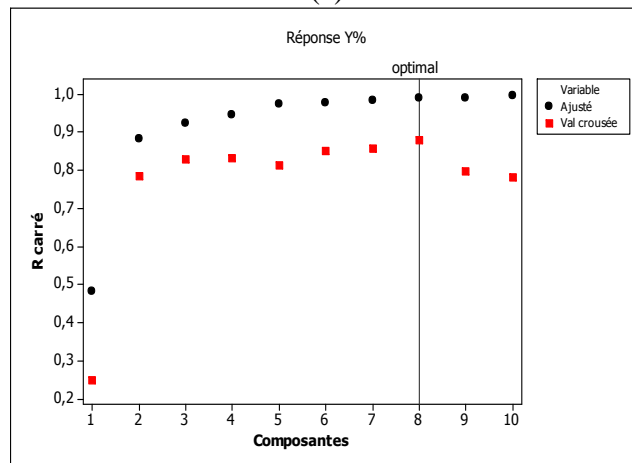
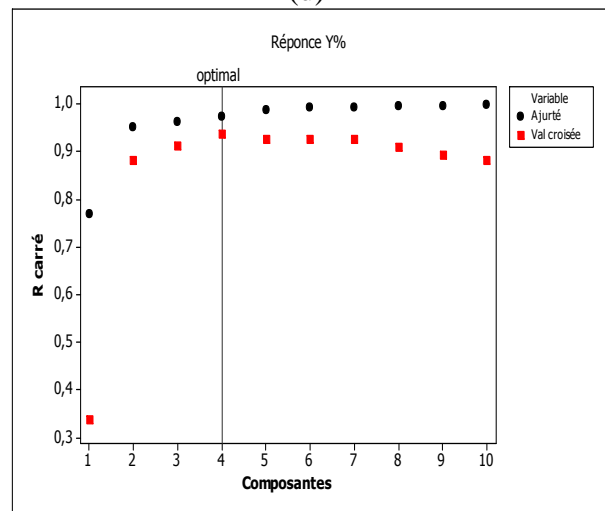


Figure II.15: Diagramme de sélection de modèle PLS (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'baïl, (e) Bouchegouf

La ligne verticale indique que le modèle optimal est celui à (5 composantes pour l'échantillon de Tebessa, 8 pour l'échantillon de Souk Ahras et de Bouchegouf, 3 composantes pour l'échantillon de Bouati Mahmoud et 4 pour l'échantillon de Hammam N'bail) sélectionnées par validation croisée.

En utilisant PLS, l'excellent modèle est celui obtenu pour l'échantillon de Bouati Mahmoud; la valeur de R^2 obtenue est de 0.985 (en étalonnage) et de 0.969 (en prédiction) avec la plus faible RMECV (0.804). Trois facteurs latents ont été sélectionnés pour la construction de modèles PLS. PLS offre un meilleur modèle d'étalonnage pour l'échantillon de Tebessa que l'échantillon de Souk Ahras. Inversement, il donne un meilleur modèle de prédiction pour l'échantillon de Souk Ahras. La valeur élevée de RMECV (1.558) a été obtenue pour l'échantillon de Bouchegouf.

L'analyse chimiométrique démontre que les principales régions de longueurs d'onde choisies pour construire le modèle PLS des échantillons de Tebessa et l'échantillon de Bouati Mahmoud correspondent à: d'abord la valeur de peroxyde et ensuite l'acidité et la vibration d'étirement symétrique du groupe CH_2 aliphatique à 2925 cm^{-1} . Pour le modèle d'échantillon de Souk Ahras correspond à la valeur de peroxyde, l'acidité et $-\text{C} = \text{O}$ (ester) à 3474 cm^{-1} . Le modèle de l'échantillon de Hammam N'bail correspond à: les premières valeurs de peroxyde, la seconde à 1656 cm^{-1} indiquent la présence du groupement $\text{C} = \text{C}$. Troisièmement, la vibration de flexion des groupes aliphatiques CH_2 et CH_3 . Enfin $=\text{C}-\text{H}$ (cis) à 1402 cm^{-1} .

La figure II.16 présente le nuage de points pour la relation entre le temps de stockage réel et le temps de stockage prédit pour tous les échantillons. Il indique une relation étroite entre deux variables évaluées en utilisant IRTF-PLS. La relation entre le temps de stockage réel et le temps de stockage prédit montre une bonne corrélation avec R^2 de 0.999, 0.989, 0.980, 0.984 et 0.983 pour tous les échantillons, respectivement.

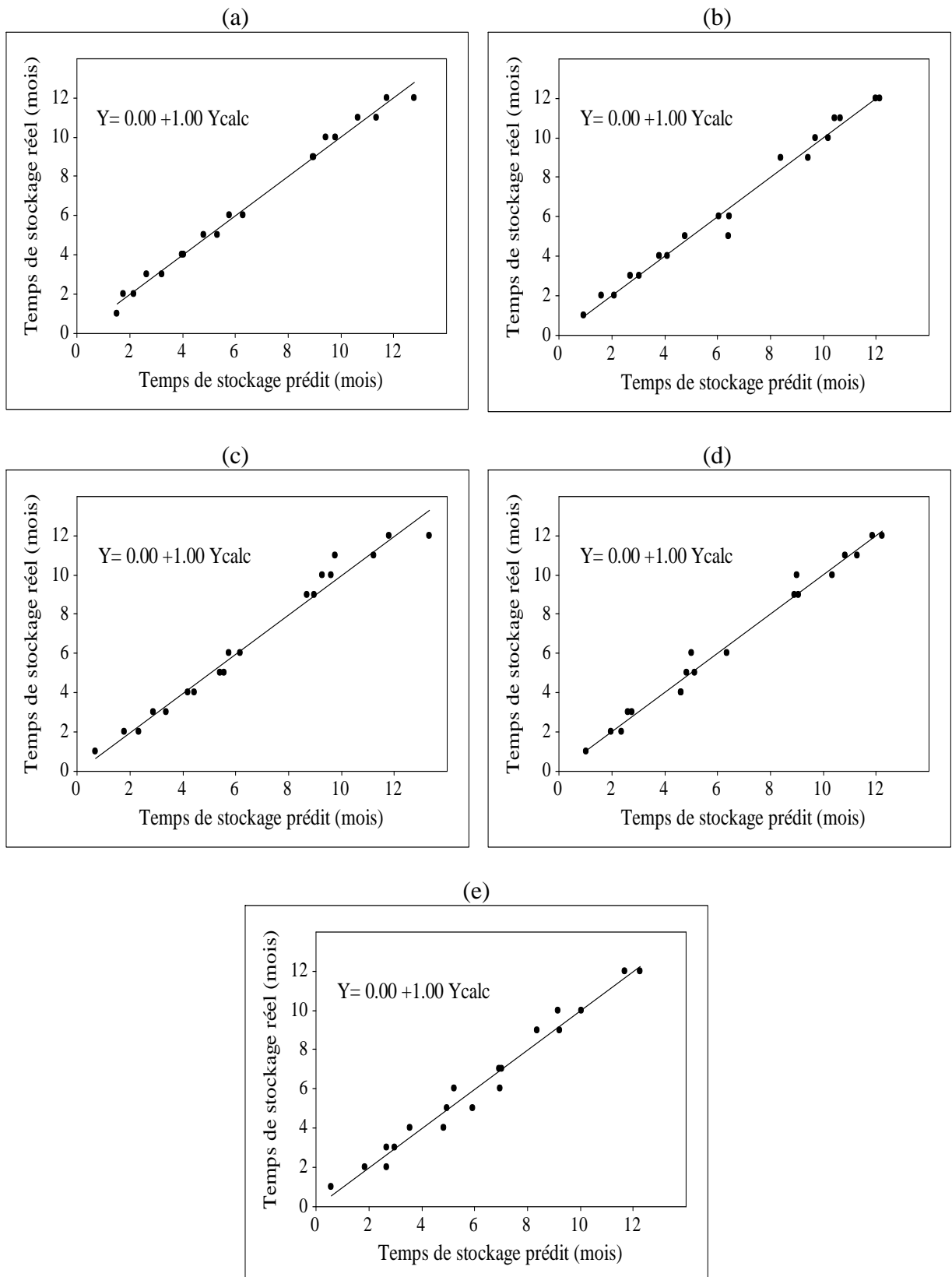


Figure II.16 : Diagramme de corrélation de temps de stockage réel par rapport au temps de stockage prédit de l'huile d'olive produite (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'baïl, (e) Bouchegouf

II.4 Conclusion

Pour déterminer l'effet du temps de stockage de l'huile d'olive, dans l'obscurité à température ambiante, les résultats ont été comparés aux valeurs obtenues pour les échantillons analysés immédiatement après l'extraction. Les résultats ont été pris chaque mois jusqu'à douze mois.

La qualité de l'huile d'olive sélectionnée a été évaluée par les indices spectrophotométriques K_{232} , K_{270} ; valeurs d'acidité libre et de peroxyde et également par des données spectroscopiques de IRTF.

Les valeurs initiales du coefficient K_{232} étaient comprises entre 0.272 et 1.863. Alors que les valeurs initiales du K_{270} étaient comprises entre 0.104 et 0.182. Nous observés des changements significatifs dans les concentrations de caroténoïdes à 470 nm et chlorophylles à 670 nm.

L'ajout de l'acide citrique indique; après un mois que l'effet n'est pas significatif; mais après deux mois de stockage, les effets de l'addition sont très marqués; la moyenne du pourcentage d'augmentation de la PV est respectivement de 4.71% et de 76.13% pour toutes les huiles d'olive avec acide citrique et les huile sans acide citrique. L'évolution pendant 12 mois du stockage des valeurs de peroxyde montre des valeurs significativement plus élevées dans tous les échantillons d'huile d'olive sans aucun additif.

IRTF-PLS est un outil pour déterminer certains paramètres analytiques dans les huiles d'olive. Les régions de fréquence de $3474-2679\text{ cm}^{-1}$ et $1746-1032\text{ cm}^{-1}$ ont été prélevées pour la quantification du temps de stockage de l'huile d'olive. La relation entre le temps de stockage réel et le temps de stockage prédit montre une bonne corrélation: avec R^2 qui varie de 0.993-0.999.

Il est connu que la qualité de l'huile d'olive est mesurée pour des échantillons sans aucun additif; mais l'ajout d'une petite quantité 1/1000 d'acide citrique contribue à ralentir le phénomène de vieillissement par freinage peroxydique dans le milieu et à améliorer la stabilité des huiles d'olive contre l'auto-oxydation.

Références

- [1] Duran R.M., Relationship between composition and ripening of the olive and the quality of the oil, *Acta Horti*, 286, 441-451, 1990.
- [2] Harwood J., Aparicio R., *Handbook of olive oil: Analysis and properties*, An Aspen publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 1-513, 2000.
- [3] Stefanoudaki E., Koutsaftakis A., Harwood J.L., Influence of malaxation conditions on characteristic qualities of olive oil, *Food Chemistry*, 127(4), 1481-1486, 2011.
- [4] Ok S., Detection of olive oil adulteration by low-field NMR relaxometry and UV-Vis spectroscopy upon mixing olive oil with various edible oils, *Grasas y Aceites*, 68(1), 173, 2017.
- [5] Vietina M., Agrimonti C., Nelson M., Detection of plant oil DNA using high resolution melting (HRM) post PCR analysis: A tool for disclosure of olive oil adulteration, *Food Chemistry*, 141(4), 3820-3826, 2013.
- [6] Rohman A., Che Man Y.B., Quantification and Classification of Corn and Sunflower Oils as Adulterants in Olive Oil Using Chemometrics and FTIR Spectra, *Scientific World Journal*, 2012(1), 1-6, 2012.
- [7] Javidnia K., Parish M., Karimi S., Hemmateenejad B., Discrimination of edible oils and fats by combination of multivariate pattern recognition and FT-IR spectroscopy: a comparative study between different modeling methods, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 104, 175-181, 2013.
- [8] Da Silveira R., Vágula J.M., Figueiredo I.L., Claus T., Galuch M.B., Junior O.O.S., Visentainer J.V., Rapid methodology via mass spectrometry to quantify addition of soybean oil in extra virgin olive oil: A comparison with traditional methods adopted by food industry to identify fraud, *Food Research International*, 102, 43-50, 2017.
- [9] Galatier O., Dupuy N., Le Dréau Y., Ollivier D., Pinatel C., Kister J., Artaud J., Geographic origins and composition of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra, *Analytica chimica acta*, 595(1), 136-144, 2007.
- [10] Rohman A., Che Man Y.B., The use of Fourier transforms mid infrared (FT-MIR) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin coconut oil, *Food Chemistry*, 129 (2), 583-588, 2011.

- [11] Gómez-Caravaca A. M., Maggio R. M., Verardo V., Cichelli A., Cerretani L., Fourier transform infrared spectroscopy-Partial Least Squares (FTIR-PLS) coupled procedure application for the evaluation of fly attack on olive oil quality, *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 153-159, 2013.
- [12] Rashvand M., Omid M., Mobli H., Firouz M.S., Adulteration detection in olive oil using dielectric technique and data mining, *Sensing and Bio-Sensing Research Res.* 11(1), 33-36, 2013.
- [13] Georgouli K., Del Rincon J.M., Koidis A., Continuous statistical modelling for rapid detection of adulteration of extra virgin olive oil using mid infrared and Raman spectroscopic data, *Food Chemistry*, 217, 735-742, 2017.
- [14] Zhang L., Yuan Z., Li P., Wang X., Mao J., Zhang Q., Hu C., Targeted multivariate adulteration detection based on fatty acid profiles and Monte Carlo one-class partial least squares, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 169, 94-99, 2017.
- [15] Arvanitoyannis I.S., Vlachos A., Implementation of physicochemical and sensory analysis in conjunction with multivariate analysis towards assessing olive oil authentication/adulteration, *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(5), 441-498, 2007.
- [16] Brereton, R.G., Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry Electronic Supplementary Information available, See <http://www.rsc.org/suppdata/an/b0/b003805i>, *Analyst*, 125(11), 2125-2154, 2000.
- [17] Groselj N, Vracco M., Pierna J.A.F., Baeten V., Novic M., The use of FT-MIR spectroscopy and counter-propagation artificial neural networks for tracing the adulteration of olive oil, *Acta Chimica Slovenica* 55(4), 935-941, 2008.
- [18] Özdemir D., Öztürk B., Near infrared spectroscopic determination of olive oil adulteration with sunflower and corn oil, *Journal of Food and Drug Analysis* 15(1), 40-47, 2007.
- [19] Lerma-García M. J., Ramis-Ramos G., Herrero-Martínez J. M., Simó-Alfonso E. F., Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy, *Food Chemistry*, 118(1), 78-83, 2010.

- [20] Vlachos N., Skopelitis Y., Psaroudaki M., Konstantinidou V., Chatzilazarou A., Tegou E., Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils, *Analytica chimica acta*, 573, 459-465, 2006.
- [21] Rohman A., Man Y.C., Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil, *Food research international*, 43(3), 886-892, 2010.
- [22] Roggo Y., Détermination de la qualité de la bettrave sucrière par spectroscopie infrarouge et chimiométrie. Thèse de doctorat, université des Sciences et Technologies de Lille, France, 2003.
- [23] Bertrand D., Dufour D., La spectroscopie et ses applications analytiques, Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 31-74, 2000.
- [24] Beebe K. R., Pell R. J., Seasholtz M. B., Chemometrics, A practical guide, New York (USA): Wiley Interscience, 1998.
- [25] Llorent-Martínez E. J., Ortega-Barrales P., Fernández-de Córdova M. L., Domínguez-Vidal A.R. M. A., Ruiz-Medina A., Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain, *Food Chemistry*, 127(3), 1257-1262, 2011.
- [26] Rohman A., Man Y.C., Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil, *Food research international*, 43(3), 886-892, 2010.
- [27] Giuffrè AM., Evolution of Fatty Alcohols in Olive Oils produced in Calabria (Southern Italy) during Fruit Ripening, *Journal of oleo science*, 63 (5), 485-496, 2014.
- [28] Dubok C., Geum-Sook L, Yu Lan P., On-You C., Ki-An C., Choon-Bae P., Young-Cheol C., Young-Il S., Myung-Koo L., Hoon C., Show L., Characterization, stability, and antioxidant activity of Salicornia herbacea seed oil. *Korean J Chem Eng* 31(12), 2221-2228, 2014.
- [29] Louadj L., Giuffrè AM., Analytical characteristics of olive oil produced with three different processes in Algeria. *Riv Ital Sostanze Grasse* 80(3), 186-195, 2010.
- [30] Luz Pizarro M., Mercedes B., Ana S., Maria B., Rafael B., Comparison of different extraction methods to determine phenolic compounds in virgin olive oil. *Food Anal Method* 6(1), 123-132, 2013.

- [31] Shadi S., Hamed M., Chin PT., Hasanah MG., Sara B., Alireza S., Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chem*, 172(1), 7-17, 2015.
- [32] Ignacio O., Laura C., Julian Z., Beatriz V., Vicente F., Ana E., Application of a new sampling device for determination of volatile compounds released during heating olive and sunflower oil: sensory evaluation of those identified compounds. *Eur Food Res Technol* 236(6), 1031-1040, 2013.
- [33] Javad T., Mohammad HHK., Mahmood A., Reza EK., Ali S., Introducing pistacia khinjuk (kolkhoung) fruit hull oil as a vegetable oil with special chemical composition and unique oxidative stability. *Chem Nat Compd* 49(5), 803-810, 2013.
- [34] Scheele, C. W. (1784). Observations on Lemon Juice and on the Method of Crystallizing it, *Kong. Vetenskaps Acad. Nya Handlingar*, 5, 105-109.
- [35] Muge K., Emine B., Selma A., Ülkü M., Investigation of extractive citric acid fermentation using response-surface methodology, *Process Biochem* 37(7), 759-767, 2002.
- [36] Norme AFNOR T60-280, 1987.
- [37] Gillam AE., Heilbron IM., Hilditch TP., Morton RA., Spectrographic data of natural fats and their fatty acids in relation to vitamin A. *Biochemical Journal*, 25(1), 30, 1931.
- [38] Alaoui Ismaili S., Valorisation de deux plantes marocaines *Melia azedarach* et *Silybum marianum*, Thèse de doctorat, Université Mohammed V- Rabat, 2016.
- [39] Conseil Oléicole International (2003)
- [40] conseil oléicole international, 2011.
- [41] Isabel Minguez-Mosquera M., Rejano-Navarro L., Gandul-Rojas B., SanchezGomez AH., & Garrido-Fernandez J., Color-pigment correlation in virgin olive oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68(5), 332-336, 1991.
- [42] Bouhadjra Kahina, Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, Thèse de doctorat. Université Mouloud Maameri de Tizi Ouzou, 2011.
- [43] norme AFNOR (1984).

- [44] Njussa M., Etude des propriétés physico-chimiques des huiles végétales camerounaises. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du D.I.P.E.S.II, 50, 1999.
- [45] Ndeye AK., Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées aux SENEGAL. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en pharmacie, 2001.
- [46] Mambap SR., Etude chimique et valorisation des graines de soja. Mémoire de fin d'études. ENS université de Yaoundé. Page 8 maturation, International Journal of Food Science and Technology 34, 265–274, 1989.
- [47] Dridi W., Influence de la formulation sur l'oxydation des huiles végétales en émulsion eau-dans-huile, Thèse de doctorat, Université de Bordeaux et Université de Carthage, 2016.
- [48] Benrachou N., Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien, Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, 2013.
- [49] Djom H., Suivi de la palmisterie du processus de fabrication de l'huile de palme et contrôle de qualité des produits finis. Mémoire de fin d'étude. ENSIAAAC .Université de Ngaoundéré, 52, 1993.
- [50] Shahidi, F., Wanasundara, U., Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils, Food lipids: Chemistry, nutrition and biotechnology, 387-403, 2002.
- [51] EU Regulation 1989/2003.
- [52] Criado MN., Romero MP., Casanovas M., Motilva MJ., Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. Food Chemistry, 110(4), 873-880, 2008.
- [53] Olias JM., Garcia JM., Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits, In S. Mitra. ed. Wallingford, U.K.: CAB International, 229- 243, 1997.
- [54] Hamilton RJ., Rossell JB., Analysis of oils and fats, Elsevier Applied Science Publishers (Sole distributor in the USA and Canada Elsevier Science Pub, Co) 1- 90, 1986.
- [55] Haaland DM., Thomas EV., Partial least square methods for spectral analyses, Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information, Analytical Chemistry 60(11), 1993-1202, 1988.



conclusion générale

Conclusion générale

Cette thèse comporte deux objectifs:

La combinaison de la spectroscopie IRTF à des méthodes chimiométriques peut être utilisée pour détecter l'adultération de l'huile d'olive avec différentes huiles alimentaires. Le modèle linéaire de régression est basé sur 5 variables avec des transmittances de: 3008 cm^{-1} , $2950\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$, $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ et $1400\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$; peut être utilisé comme des bandes caractéristiques pour obtenir l'adultération de l'huile d'olive après une étude statistique détaillée.

Le modèle PLS peut être utilisé avec succès pour quantifier l'adultération de l'huile d'olive avec de l'huile de tournesol aux fréquences de 3008 cm^{-1} , 1402 cm^{-1} et 1377 cm^{-1} . Pour ce qui est de l'huile d'olive adultérée avec de l'huile de colza la correspondance est de 3006 cm^{-1} , 2851 cm^{-1} , 145 cm^{-1} et à 1118 cm^{-1} . Le modèle d'huile d'olive adultérée avec de l'huile de maïs à une correspondance dont les fréquences sont de l'ordre de : 3007 cm^{-1} , 1656 cm^{-1} , 1463 cm^{-1} et de 1118 cm^{-1} . Les fréquences de 3006 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} , et de 1163 cm^{-1} correspondent à un modèle PLS d'huile d'olive adultérée avec de l'huile de soja. Les résultats obtenus par ACP sont similaires et permettent d'effectuer une classification de l'huile étudiée en 3 classes principales totalement différentes qui sont définies comme suit: huile alimentaires pure, huile d'olive adultéré et enfin huile d'olive pure.

Afin de déterminer l'effet du temps de stockage de l'huile d'olive, dans l'obscurité à température ambiante, les résultats ont été comparés aux valeurs obtenues pour les échantillons analysés immédiatement après l'extraction. Ces derniers ont pris une variante s'étalant de un à douze mois.

La qualité de l'huile d'olive sélectionnée a subi une évaluation par les indices spectrophotométriques K_{232} , K_{270} ; valeurs d'acidité libre et de peroxyde et également par des données spectroscopiques de l'IRTF.

Les valeurs initiales du coefficient K_{232} oscillaient entre 0,272 et 1,863. Alors que les valeurs initiales du K_{270} étaient comprises entre 0,104 et 0,182. Donc, nous constatons des changements significatifs dans les concentrations de caroténoïdes à 470 nm et chlorophylles à 670 nm.

L'huile d'olive mélangée avec l'acide citrique indique révèle qu'après un mois, l'effet n'est pas significatif; cependant après deux mois de stockage, les effets de l'addition sont très marqués; la moyenne du pourcentage d'augmentation de la PV est respectivement de 4,71% et de 76,13% pour toutes les huiles d'olive avec ou sans additif. En outre l'évolution pendant 12 mois du stockage des valeurs de peroxyde montre des valeurs significativement plus élevées dans tous les échantillons d'huile d'olive sans aucun additif.

IRTF-PLS est un outil pour déterminer pour certains paramètres analytiques dans les huiles d'olive. Les régions de fréquence de $3474-2679\text{ cm}^{-1}$ et $1746-1032\text{ cm}^{-1}$ ont été prélevées pour la quantification du temps de stockage de l'huile d'olive. La relation entre le temps de stockage réel et le temps de stockage prédit montre une bonne corrélation avec R^2 de 0,999, 0,989, 0,980, 0,984 et 0,983 pour tous les échantillons, respectivement.

La qualité d'huile d'olive est mesurée pour des échantillons sans aucun additif; mais l'introduction d'une petite quantité 1/1000 d'acide citrique contribue à ralentir le phénomène de vieillissement par freinage peroxydique dans le milieu et à améliorer la stabilité des huiles d'olive contre l'auto-oxydation.



Annexes

Communications nationales et internationales

- K. Bekkar, R. Oumeddour, S. Nigri, Application de la spectroscopie IR-FT a l'étude de l'adultération de l'huile d'olive, Conférence Franco-maghrébine sur les nanomatériaux - Sousse – Tunisie le 02 et 05 Mai 2013.
- K. Bekkar, R. Oumeddour, S. Nigri, L'influence des paramètres endogènes sur la stabilité de l'huile d'olive, 1^{er} séminaire national sur la chimie verte et l'environnement industriel – Université Mohamed Chérif Messaadia, Souk-Ahras le 06 et 07 Mai .2014,
- K. Bekkar, R. Oumeddour, S. Nigri, Etude de l'adultération d'huile d'olive par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier IR-FT et des méthodes chimiométriques, 5^{ème} Séminaire national sur les matériaux – procédés et environnement – Université M'Hamed BOUGARA - Boumerdès, le 11 et 12 Mai 2014.
- K. Bekkar, R. Oumeddour, S. Nigri, L'effet d'ajout de l'acide citrique sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive, La 1^{er} Journée Nationale Simulation et Nanomatériaux, Université 8 Mai 1945 Guelma, le 17 Décembre 2014.
- K. Bekkar, R. Oumeddour, S. Nigri, Study of adulteration of olive oil by Fourier transform infrared spectroscopy and chemometric methods, The 4th International Conference on Pure and Applied Sciences, Gelisim University, Istanbul, Turkey, 23-25 November 2017.
- K. Bekkar, R. Oumeddour, S. Nigri, Contrôle de qualité d'huile d'olive par des analyses physico-chimiques et spectroscopie IR-TF (effet de l'acide citrique), La journée nationale " Etude des Matériaux": Elaboration et Modélisation (MEM'2018), Université 8 Mai 1945 Guelma, le 13 Décembre 2018.

Improved stability to auto-oxidation of the olive oil by addition of citric acid

Khaoula Bekkar, Rabah Oumeddour*, Soraya Nigri, Radia Selaimia

Industrial Analysis Laboratory and Materials Engineering, University 8 May 1945, Guelma 24000, Algeria

ABSTRACT

The effect of addition of citric acid on the oxidation stability of olive oil produced in North-East of Algeria was assessed using UV-Visible spectrophotometry ($K_{232\text{ nm}}$, $K_{270\text{ nm}}$, carotenoids (470 nm), chlorophylls (670 nm)), free acidity, peroxide value, Fourier Transform Infrared spectroscopy (FTIR) and chemometric methods. Five olive oils (Chemlal variety) were collected from five geographical areas. Two preparations were made for each geographical area: the first one by adding a small amount of citric acid aqueous solution 1/1000 in volume and the second preparation without any additive. All analyses were carried out every 30 days during one year. A higher oxidative stability of olive oil samples was reached when using 1/1000 of citric acid in comparison with samples without any additive through the values of quality analytical indices. FTIR has been used to evaluate auto-oxidation of olive oils. The frequency regions of 3474-2679 cm^{-1} and 1746-1032 cm^{-1} were picked up for olive oil storage time quantification. A close relationship between actual and predicted storage time shows a good correlation with R^2 of 0.999, 0.989, 0.980, 0.984 and 0.983 for all samples. Thus, citric acid can enhance oxidative stability and improve the shelf life of olive oil.

Keywords: Auto-oxidation; Chemometric methods; Citric acid; Olive oil; Peroxide value

INTRODUCTION

The nutritional qualities of virgin olive oil (VOO) are attributed to its differential composition with respect to other vegetable oils, which may be divided into two fractions: major and minor components (Ballus et al., 2015). Olive oil is mainly composed of glycerides (98-99 %) (Giuffrè, 2014a), and minor components such as sterols (Giuffrè and Louadj, 2013), waxes (Giuffrè, 2014b), sesquiterpene hydrocarbons, phenols and squalene. Some minor components are responsible of the flavor and aroma of the oil such as volatile compounds (aldehydes, alcohols, ketones and esters) which are influenced by the extraction conditions and the planting density of the olive trees (Giuffrè, 2014c). The human body does not produce fatty acids but rather takes them from the food it receives (Choi et al., 2014). The composition of some Algerian olive oil has previously been studied by Louadj and Giuffrè (2010) and the findings show that the oleic acid was present in its highest concentration; the values ranged between 61% and 67%. Compared to other vegetable oils as peanut oil (Giuffrè et al., 2016) and tomato seed oil

(Giuffrè and Capocasale, 2016), olive oil has low levels of saturated (~16%) and high levels of monounsaturated (~70%) fatty acid.

Aroma is the result of the volatile compounds, whereas the phenolic compounds are associated with a set of elements. One: taste, two: anti-oxidant properties, three: anti-inflammatory and anti-microbial activities (Nigri et al., 2012; Gouvinhas et al., 2015). VOO's stability and shelf-life is determined by the both volatile and phenolic compounds (Luz Pizarro et al., 2013). Several illnesses such as cancer (Babbs, 1990), atherosclerosis (Covas, 2007), and cellular damage associated with aging are thought to be caused by the free radicals (Ashok and Ali, 1999); whereas the consumption of dietary antioxidants seems to play an important role in protecting the human body against these degenerative events (Silva et al., 2010). Because of their bioavailability importance and sensory contribution, the hydroxytyrosol and tyrosol have been the central concern of extensive studies (Mulinacci et al., 2013). The food samples' concentration of antioxidants can also be used as origin and freshness indicators. Many

*Corresponding author:

Rabah Oumeddour, Industrial Analysis Laboratory and Materials Engineering, University 8 May 1945, B.P. 401, Guelma 24000, Algeria.
E-mail: oumeddour.rabah@univ-guelma.dz

Received: 04 April 2018; Accepted: 01 July 2018

methods have been developed for the estimation of the antioxidant properties of natural products which can be classified into two main categories: those based on the evaluation of the radical scavenging activity (RSA) and those based on the evaluation of reducing natural samples activity (Christodouleas *et al.*, 2015; Özcan and AL Juhaimi, 2015). Lipids that contain unsaturated fatty acids are prone to oxidation. The preservation of food quality is determined by their protection against oxidation rancidity by the use of antioxidants (Samaram *et al.*, 2015). The postharvest and the storage effects promote a gradual lipid oxidation with a decrease in the shelf-life stability due to the continuous organic chemical processes set up by the initial peroxidations (Aparicio and Harwood, 2013). Oils oxidation is the result of different reactions conducting to the formation of the alkyl and the alkylperoxyl radicals in addition to the decomposition of hydroperoxide (Ontañón *et al.*, 2013). The shelf- life of food products can be reduced by lipid oxidation as well as by the unfavorable reactions in edible oils. The antioxidants addition is effective in delaying the oxidation of lipids and lipid containing foods. A large number of investigations are devoted to study the oxidation stability and the anti-oxidative properties of different olive oil species (Tavakoli *et al.*, 2013). A decline in phenolic compounds and green pigmentation occurs with the ripening, which results in a decrease in olive oil stability as the fruit ripens. Many catalytic systems can oxidize lipids. Among these are light, temperature, enzymes, metals, metallo-proteins, and microorganisms. Most of these reactions involve some type of free radical or oxygen species. The oxidation may be produced either in the dark (auto-oxidation) or in the presence of light (photo-oxidation), which differ in their oxidation pathway due to the action of external variables (Selaimia *et al.*, 2017; Mishra *et al.*, 2017; Aparicio and Harwood, 2013; Li *et al.*, 2014).

VOOs are graded according to the sensory assessment and the three chemical parameters (free acidity, peroxide value and UV absorbance) (Velasco *et al.*, 2014; Ciemniowska-Żytikiewicz *et al.*, 2014; Consleg, 2015; IOC, 2015). The variations in the composition and quality of the olive as well as the corresponding olive oil along the ripening process have been studied by several researchers (Kesen *et al.*, 2014). Free acidity generally increases due to the activity of lipolytic enzymes while the other basic quality parameters like peroxide value (PV) and ultraviolet spectrophotometric indices (K_{232} , K_{270}) either decrease, increase or remain constant for various cultivars in the literature (Kesen *et al.*, 2014). With the formation of hydro-peroxides, conjugated dienes are simultaneously produced as a result of double bond displacements in polyunsaturated fatty acids. This leads to an absorption increase of 232 nm in oxidized fats and oils. These factors stimulate lipid per-oxidation (LPO) reactions. LPO refers to the oxidative degradation of lipids

and the formation of lipid free radicals (Janakat *et al.*, 2015). The European Commission Regulation, No 2568/1991 and subsequent amendments No 1830/2015, impose a maximum acidity of 0.8 g oleic acid/100 g oil and a maximum peroxide value of 20 meq O_2 /kg oil, for extra virgin olive oil (Consleg, 2015).

Oils fortification with antioxidants has been adopted as an approach to address this issue (Alavi and Golmakani, 2017). Citric acid (CA), an important organic acid with a wide range of applications, was crystallized from lemon juice by Scheele (Scheele, 1784). It is a natural component of many citrus fruits. CA, a potent antioxidant among the hydroxycinnamic acids, is widespread in the plant kingdom. The use of CA may provide dual benefits through inhibiting lipid oxidation since it is a free radical scavenger; it may also increase the nutritional values of the final product (Kiliç *et al.*, 2002).

FTIR spectroscopy is an excellent tool for the quantitative analysis since the intensities of spectral bands are proportional to concentration. In addition to other methods, FTIR is used to distinguish olive oils according to their different geographical regions (Janin *et al.*, 2014). As it is described by several authors, the FTIR is also used to evaluate fatty acid composition (Inarejos-Carcía *et al.*, 2013), oxidized fatty acids (Lerma-García *et al.*, 2011), peroxide value (Bendini *et al.*, 2007), acidity and sensory characteristics, phenolic and volatile compounds (Lerma-García *et al.*, 2011).

FTIR-PLS is a tool to determine some analytical parameters (water content, phenolic content and antioxidant activity) in olive oils (Cerretani *et al.*, 2010). This technique plays a very important role in the study of edible fats and oils, especially for the authentication study (Nigri and Oumeddour, 2013). The elaboration of the relationship between the concentration of analysts and the response of instrumental assay like FTIR spectra combined with fluorescence spectroscopy and using multivariate analysis permit to fight adulteration of olive oil (Nigri and Oumeddour, 2016).

The aim of the present study is to access the oxidative stabilities of different samples, of virgin olive oil of the same variety, harvested in the North-East of Algeria based on their structural changes in the constituents as monitored by changes in their FTIR spectra and physical chemical parameters. The analyses are regularly carried out every 30 days during one year through K_{232} , K_{270} , carotenoid and chlorophyll contents, free acidity and peroxide value, FTIR spectra for virgin olive oil samples and for those containing a small amount of citric acid in water 1/1000 as an antioxidant. It is known that the quality of olive oil is considered regarding values without any additive. Even

if the International Olive Council forbids the inclusion of additives in olive oil; the presence of a diluted solution (up to 1 % in volume) of citric acid, improves the stability of olive oil against the destructive effects of peroxides. FTIR spectroscopy combined with multivariate calibration was used for the auto-oxidation evaluation of virgin olive oil. PLS model correlates the actual and FTIR estimated values of storage time with a high coefficient of determination.

MATERIALS AND METHODS

Samples collection

Five olive oils, of Chemlal variety, were obtained from units of extraction located in five olive growing areas of different North-East Algerian locations (Tebessa, Souk Ahras, Bouati Mahmoud, Hamam N'baïl, Bouchougouf) harvested in the fall of 2013/2014. These oils are classified according to their source and the process of extraction is a continuous system without heating. For each olive oil, two preparations are made; the first one with acid citric additive and the second one without any additive. The two preparations were prepared as follows:

Samples 1a, 1b, 1c, 1d and 1e: the preparations are made for testing the effect of the citric acid. The preparation is composed of 1 ml of aqueous solution of citric acid (10% in volume) which is added to 99% of each olive oil.

Samples 2a, 2b, 2c, 2d and 2e: with 100% of each olive oil; to determine the olive oil compartment without any additive.

UV-Visible method

All values were obtained by the use of Shimadzu spectrophotometer UV-1800 working with a software program—UV probe version 2.4

Determination of K_{232} and K_{270}

The UV spectrophotometric indexes (K_{232} and K_{270}) were determined according to the European Communities official methods. To calculate the K_{232} and K_{270} values, the oil samples were diluted in hexane (1:100 v/v), placed into a 1 cm quartz bowl, and analyzed at the wavelengths of 232 and 270 nm, against a blank of hexane. Hexane (UV-Vis Spectroscopy) was purchased from Sigma Aldrich Germany. Three replicates were prepared and analyzed for each sample.

Determination of carotenoid, chlorophyll and pigments

Carotenoid and chlorophyll contents of the samples were determined using a spectrophotometric method (Minguez-Mosquera et al. 1991). The samples absorbance was recorded at 470 nm. and 670 nm. Then, calculations were performed using the formulas below: the amount of

carotenoid was determined at 470 nm using the specific coefficient of lutein by equation (1)

$$C_1 = (\text{Abs}_{470} \times 10^6) / (E_0 \times 100 \times d) \quad (1)$$

Where:

- c_1 represents the contents of carotenoid pigments expressed in mg/kg of lutein
- d represents the thickness of the spectrophotometer cell (1 cm)
- $E_0 = 2000$ for lutein as the major component of the carotenoid fraction

Three grams of olive oil were exactly weighed and dissolved in hexane up to a final volume of 10 ml. The amount of chlorophyll was evaluated from the absorption value of the olive oil solution at 670 nm and specific coefficient for pheophytin using equation (2)

$$C_2 = (\text{Abs}_{670} \times 10^6) / (E_0 \times 100 \times d) \quad (2)$$

Where:

- c_2 represents the amount of chlorophyll expressed in mg/kg of pheophytin
- $E = 613$ for pheophytin as the major component of the chlorophyll fraction
- d represents the thickness of the spectrophotometer cell (1 cm)

Chemical analyses

The determination of free acidity (given as % of oleic acid) and peroxide value (PV) (meqO_2/kg of oil) were carried out following the analytical methods described by the International Olive Council (IOC., 2015).

The determinations were made in triplicate following the analytical methods described in the EC Regulation (Consleg, 2015)

FTIR spectra acquisition

A Perkin-Elmer Spectrum, one FTIR spectrophotometer equipped with a deuterated triglycerine sulphate (DTGS) detector, was used to collect FTIR spectra. This method is mechanized by a data acquisition spectrum software which permits the saving of the spectra in the infrared mean of the used combination function source/separatist/detector. The data interval is provided by the instrument for a resolution of 4 cm^{-1} at 20 scans.

A small quantity ($2 \mu\text{L}$) of the sample was deposited by using Pasteur pipette creating a thin film between two well-polished KBr disks. Duplicate spectra were collected for each sample. All spectra were recorded from 4000 to 450 cm^{-1} and processed with the computer software program Spectrum for Windows (Perkin-Elmer).

Chemometric analysis

The chemometric analysis, including quantification using partial least square regression PLS, was carried out using the MINITAB 16 2010 software. The optimum number of PLS factors was determined using cross validation by plotting the number of factors against the root mean square error of cross validation (RMSECV) and determining the minimum factors.

RESULTS AND DISCUSSION

To determine the effect of storage time in the dark at room temperature on the olive oil quality, the results of each parameter were compared to the values obtained for the samples analyzed immediately after an extraction (controls: t=0 month).

The quality of the selected olive oil was evaluated by spectroscopic indices K_{232} , K_{270} ; free acidity and peroxide values and also by spectroscopic data of FTIR.

Changes in K_{232} , K_{270} parameters

Ultraviolet absorption, a more delicate indicator of oxidation, is related to the presence of conjugate diene and triene systems (ultraviolet absorbance at 232 and 270 nm. respectively).

K_{232} is a measure of the primary oxidations products, the formation of hydroperoxide and conjugated dienes. K_{270} is associated to the secondary phase of oxidation because it is related to the final products presence such as trienes or unsaturated carbonyl compounds; which is characteristic of an oxidized oil.

The maximum permitted values of K_{232} and K_{270} for extra virgin olive oils are 2.50 and 0.20 respectively (Consleg, 2015; IOC, 2015).

The initial values of the K_{232} coefficient are between 0.272 and 1.863. Whereas the initial values of the K_{270} are between 0.104 and 0.182. These values are within the limits permitted by the legislation. In Table 1 after 6 months of storage it can be seen that primary and secondary oxidations increase in all the samples. For the olive oil with citric acid the K_{232} exceeded the limit after 6 months whereas it exceeded the limit before 6 months for olive oil without any additive. Also, the K_{270} were within the limit before 12 months of storage for the olive oil with citric acid whereas it is within limit in a period less than 6 months of storage for the olive oil without any additive.

The observed efficiency acted upon the olive oil can be due to the progressive release of antioxidant activity compounds from citric acid into the olive oil.

Variation of carotenoids and chlorophylls

The presence of carotenoids and chlorophylls in olive oil is essential in the oxidative stability because of two main properties: the antioxidant nature in the dark and prooxidant activity in the light. They are for the most part responsible for the color of virgin olive oil from the yellow-green to greenish gold (Criado et al., 2008).

Changes in the amounts of carotenoids and chlorophylls in the extra virgin olive oil samples during storage for 12 months in the dark at room temperature are shown in Table 2.

During 12 months of storage; the values of the carotenoids and chlorophylls concentrations ranged from 0.250 mg/kg to 0.010 mg/kg for carotenoids and between 0.636 mg/kg to 0.016 mg/kg for chlorophylls. Carotenoids and chlorophylls levels of extra olive oil declined during storage.

Carotenoids are present in olive oils and are responsible for its yellow coloration. Chlorophylls are present too in

Table 1: Evolution of the K_{232} , K_{270} in the studied samples during storage time

Samples	Storage time (month)	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
		Tebessa	Souk Ahras	Bouati Mahmoud	Hammam N'bail	Boucheougouf
K_{232}						
1	0	0.475±0.014	0.647±0.019	0.272±0.008	1.863±0.060	0.446±0.013
	6	1.791±0.054	2.012±0.060	1.480±0.044	2.311±0.069	2.008±0.060
	12	3.366±0.100	3.385±0.101	3.398±0.102	3.282±0.098	3.398±0.102
2	6	1.925±0.057	2.345±0.070	1.488±0.044	2.331±0.069	2.312±0.069
	12	3.452±0.103	3.486±0.104	3.481±0.104	3.486±0.104	3.484±0.104
	K_{270}					
1	0	0.104±0.003	0.182±0.005	0.153±0.004	0.107±0.003	0.109±0.003
	6	0.256±0.008	0.226±0.006	0.281±0.008	0.275±0.008	0.257±0.007
	12	0.300±0.009	0.446±0.013	0.510±0.015	0.576±0.017	0.585±0.015
2	6	0.270±0.008	0.280±0.008	0.282±0.008	0.275±0.008	0.275±0.008
	12	0.330±0.009	0.613±0.018	0.867±0.026	0.646±0.019	0.699±0.21

1: Olive oil with citric acid; 2: Olive oil without any additive Mean±SD (n=3); in each column and for each part

Table 2: Evolution of the carotenoids and chlorophylls in the samples studied during storage time

Samples	Storage time (month)	(a) Tebessa	(b)	(c)	(d)	(e)
		Souk Ahras	Bouati Mahmoud	Hamмам N'baïl	Bouche gouf	
Carotenoids						
1	0	0.165±0.005	0.150±0.004	0.150±0.004	0.250±0.007	0.165±0.005
	6	0.125±0.003	0.125±0.003	0.105±0.003	0.200±0.006	0.100±0.003
	12	0.055±0.001	0.010±0	0.060±0.002	0.060±0.002	0.020±0
2	6	0.135±0.004	0.130±0.004	0.105±0.003	0.150±0.004	0.100±0.003
	12	0.065±0.002	0.015±0	0.050±0.001	0.045±0.001	0.050±0.001
Chlorophylls						
1	0	0.277±0.008	0.326±0.009	0.620±0.018	0.636±0.020	0.554±0.016
	6	0.228±0.006	0.103±0.003	0.461±0.013	0.571±0.020	0.278±0.008
	12	0.049±0.001	0.081±0.002	0.163±0.005	0.160±0.005	0.016±0
2	6	0.261±0.007	0.161±0.005	0.457±0.014	0.571±0.017	0.251±0.007
	12	0.016±0	0.049±0.001	0.114±0.003	0.196±0.006	0.016±0

1: Olive oil with citric acid; 2: Olive oil without any additive Mean±SD (n=3); in each column and for each part

olive oils and are the responsible for its greenish coloration. Those pigments are also important in olive oil stability.

Free acidity (FA)

Virgin olive oil contains about 98% neutral lipids, mainly triglycerides (96–97%) followed by small quantity of diglycerides (1–2%) and a variable quantity of free acidity which are used as a marker of oil quality (Olias and Garcia, 1997).

The quantity of free acidity measured as acidity (% oleic acid) is very important to determine the olive oil's quality. This value allows a classification for the olive oils. All olive oils were extra virgin at the starting time of this experience. Normally, the free acidity value remained relatively stable during storage in the dark at room temperature. In this work, no significant differences were observed between the five samples initially used, but a great evolution was observed after one year. Olive oils harvested in Tebessa, Souk Ahras remained extra virgin but olive oils collected from Bouati Mahmoud, Hammam N'baïl and Bouche gouf became virgin. Fig. 1 illustrates this evolution.

Peroxide value (PV)

Hydroperoxides were measured to determine the oxidation initial rate because they are generally accepted as the first products formed by oxidation (Hamilton and Rossell, 1986). Hydroperoxide formation in a crude olive oil can serve as an indicator of both; the oxidative processes and the oil's quality.

Thus, a rapid hydroperoxide formation demonstrates the initiation of the oxidative reactions that precede rancidity.

The peroxide value, being a crude indicator of the amount of primary oxidation product, is a measure of the active oxygen content. It is expressed as meq O₂/kg oil.

The effect of storage conditions on the formation of primary oxidation products, expressed as PV, versus time of storage is shown in Fig. 2.

The changes in the peroxide value during storage period, up to twelve months, may be due to vicinity of the double bond that is attacked by oxygen and variation in proportion of unsaturated bonds of triglycerides that are more prone to auto oxidation.

The final peroxide values PVs of all the samples were more than their initial values after every month of storage in the dark at room temperature. It is clear that the olive oil with the citric acid gave the lowest PV. For the first month, the rise rate in the PV is approximately the same for the olive oil samples with and without additive. After three, six and twelve months of storage, the addition's effect of the citric acid is very remarkable. For example in Fig. 2a, the percentages of increasing of PVs are respectively 15.45, 32.58 and 102.25% for the olive oil with the citric acid and 19.10, 34.69, and 107.87% for the olive oil without any additive. For Fig. 2e, the percentages of increasing PVs values are respectively 15.09, 31.58 and 53.94 for the olive oil with the citric acid and 17.79, 43.75 and 74.96% for the olive oil without any additive. The evolution during twelve months of storage of the peroxide values shows significantly higher values in all samples of olive oil without any additive. Then, the introduction of a tiny quantity 1/1000 of citric acid contributes to slowing down the phenomenon of ageing through peroxide braking in the medium.

Chemometric analysis

Partial Least Squares (PLS) model

The analysis of the variations in FTIR spectra is not very easy because these changes are very weak. PLS is one of the most useful methods for the study of the oxidation of olive oil.

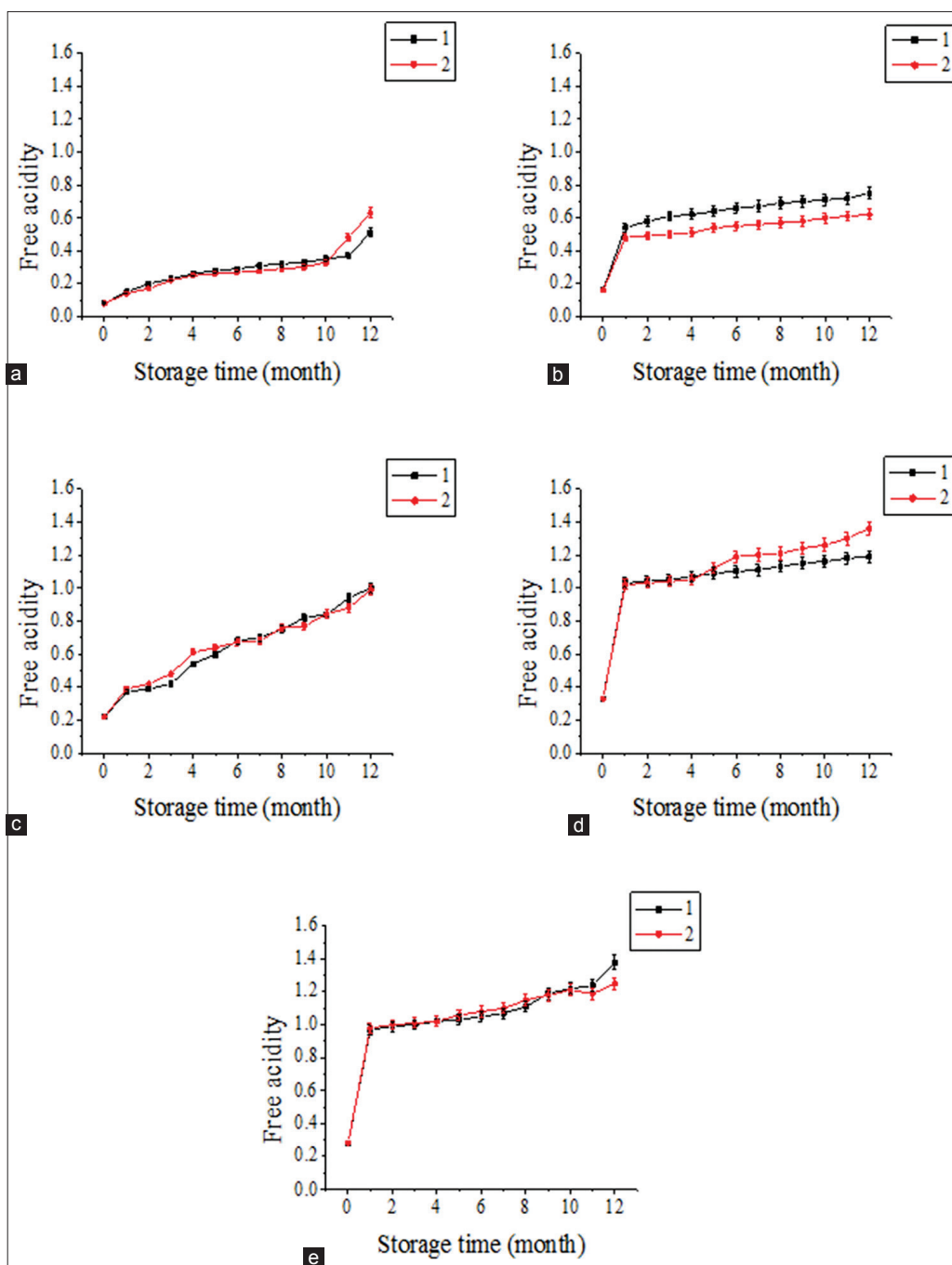


Fig 1. Variation in free acidity (%) during storage time of olive oil produced in (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'baïl, (e) Bouchegouf.

—■— Olive oil with citric acid; —●— Olive oil without any additive

In the PLS calibration models, the evaluation of the method linearity was carried out in order to show a proportional relationship between responses versus storage time of olive oil. The frequency regions of $3474\text{--}2679\text{ cm}^{-1}$ and $1746\text{--}1032\text{ cm}^{-1}$ were picked up for olive oil's storage time quantification.

The appropriate number of PLS-factors is determined by application of Haaland and Thomas (1988) criterion based on the minimal stable predicted residual sum of squares

PRESS. The performance of the model was evaluated by the coefficient of determination R^2 and the root mean square error of cross validation RMSECV.

In order to validate the developed model, cross validation using leave one out technique was used. Using PLS, the excellent model is obtained for BM sample; the R^2 value obtained is 0.985 (in calibration) and 0.969 (in prediction) with lowest RMSECV (0.804). Three latent factors were

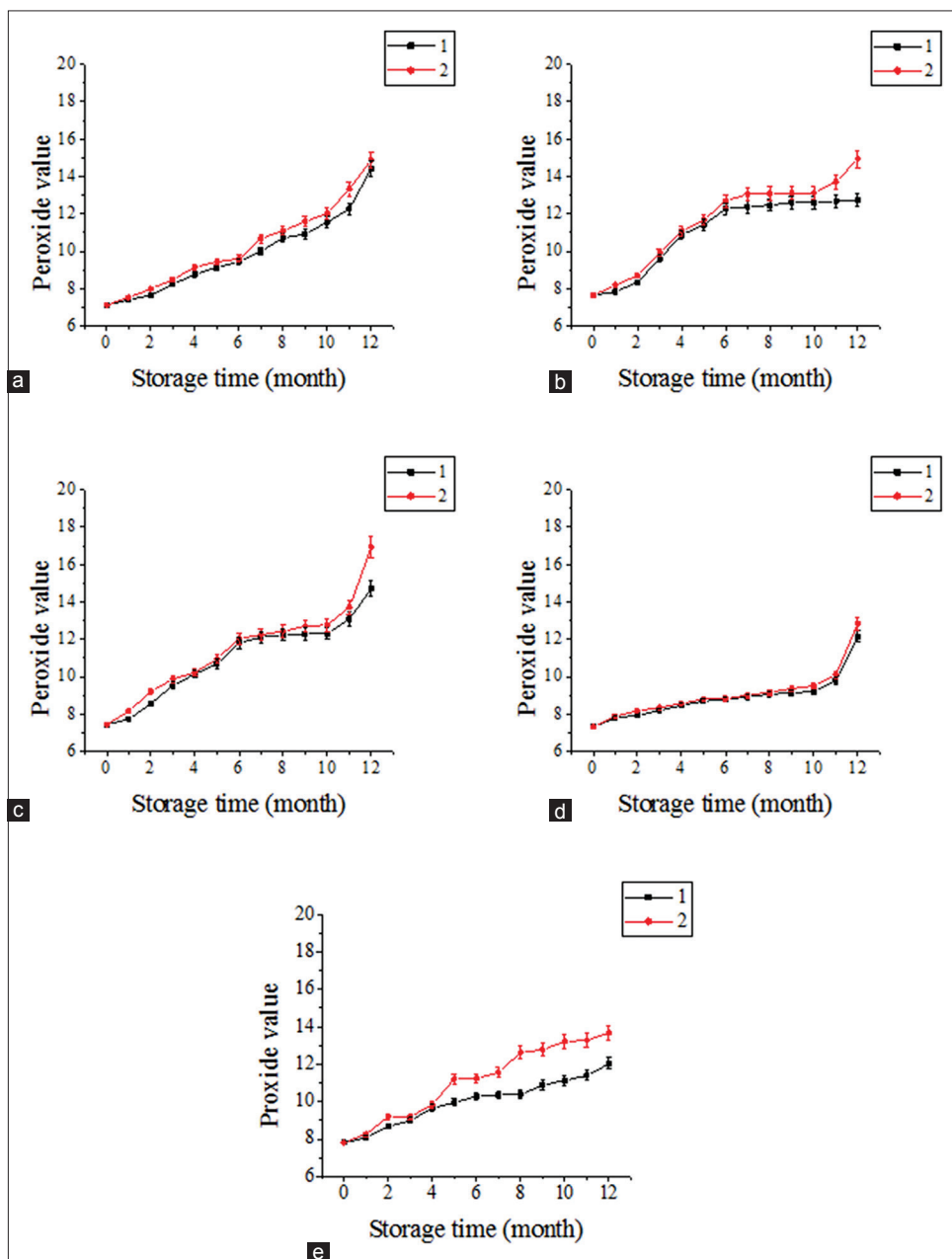


Fig 2. Variation in peroxide value (meq O₂/kg) during storage time of olive oil produced in (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'bail, (e) Bouchegouf.

■ Olive oil with citric acid; ● Olive oil without any additive

selected for building PLS models. PLS offers a better calibration model for T than SA. Inversely, it gives better prediction model for SA. The high value of RMECV (1.558) was obtained for B.

The chemometric analysis demonstrates that the main wavelength regions selected to construct the PLS model of T and BM samples are corresponded to: first, peroxide value and second, acidity and symmetric stretching vibration of the aliphatic CH₂ group at 2925 cm⁻¹. For SA sample model corresponded to peroxide value, acidity and -C=O (ester) at

3474 cm⁻¹. The model of HM sample corresponded to: first peroxide values, second at 1656 cm⁻¹ indicate the presence of grouping C=C. Third, bending vibration of the CH₂ and CH₃ aliphatic groups. Finally =C-H (cis) at 1402 cm⁻¹.

Figure 3 exhibits the scatter plot for the relationship between actual and predicted storage time for all samples. It indicates a close relationship between two variables assessed using FTIR-PLS. The relationship between actual and predicted storage time show a good correlation with R² of 0.999, 0.989, 0.980, 0.984 and 0.983 for all samples respectively.

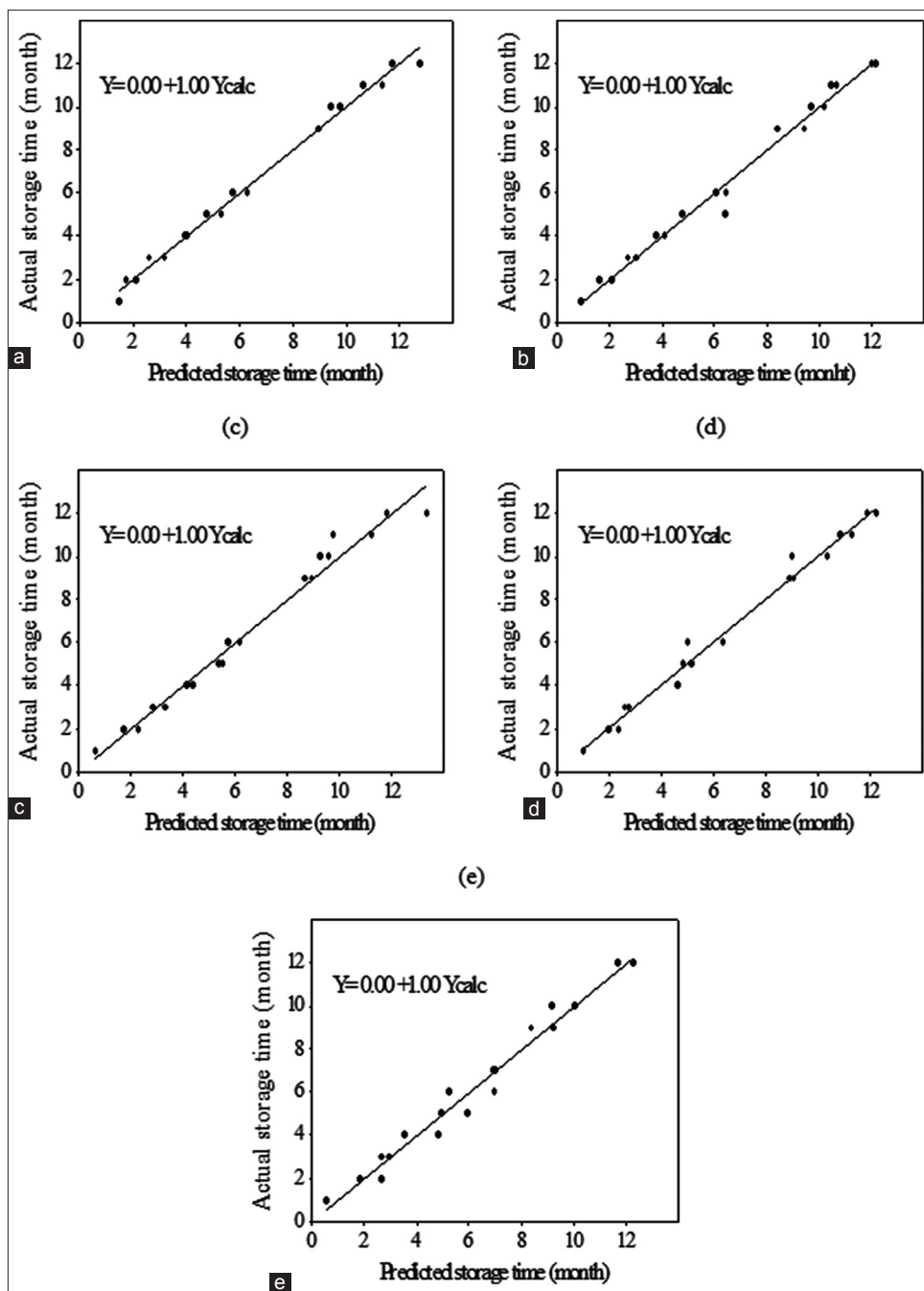


Fig 3. Correlation plot of the actual versus the predicted storage time of olive oil produced in (a) Tebessa, (b) Souk Ahras, (c) Bouati Mahmoud, (d) Hammam N'bail, (e) Bouchegouf.

CONCLUSION

To determine the effect of storage time of olive oil, in dark at room temperature, the results were compared to the values obtained for the samples analyzed immediately after extraction. The results were taken each month up to twelve months.

The quality of the selected olive oil was evaluated by spectrophotometric indices K_{232} , K_{270} ; free acidity and peroxide values and also by spectroscopic data of FTIR.

The initial values of the K_{232} coefficient were between 0.272 and 1.863. Whereas the initial values of the K_{270} were between 0.104 and 0.182. On above we observe significant changes in the concentrations of carotenoids at 470 nm. and chlorophylls at 670 nm.

Olive oil with the citric acid indicates, after one month that the effect is not significant, but after two months of storage, the addition's effects is very marked; the average of percentage of increase in the PV is respectively 4.71%

and 76.13 % for all the olive oils with and without any additive. The evolution during twelve months of storage of the peroxide values shows significantly higher values in all samples of olive oil without any additive.

FTIR–PLS is a tool to determine some analytical parameters in olive oils. The frequency regions of 3474–2679 cm^{-1} and 1746–1032 cm^{-1} were picked up for olive oil's storage time quantification. The relationship between actual and predicted storage time shows a good correlation with R^2 of 0.999, 0.989, 0.980, 0.984 and 0.983 for all samples respectively.

It is known that quality of olive oil is measured for samples without any additive; but the introduction of a tiny quantity 1/1000 of citric acid contributes to slow down the phenomenon of ageing through peroxide braking in the medium and enhance the stability of olive oils against auto-oxidation. We strongly recommend tolerating such additions in the same way as others like aromatic plants and garlic or spiruline which are likely to contribute more and consequently improve the quality of olive oil. Then, the consumers have to consider this argument to choose the appropriate olive oil.

Authors' contributions

K. Bekkar conducted the experimental work and literature research, analyzed the results and drafted the manuscript. R. Oumeddour supervised the research, interpreted the spectroscopic data, discussed all the results and revised the manuscript. S. Nigri discussed the chemometric methods, corrected the manuscript. R. Selaimia contributed in the correction of the manuscript.

REFERENCES

- Alavi, N. and M. T. Golmakani. 2017. Improving oxidative stability of olive oil: Incorporation of spirulina and evaluation of its synergism with citric acid. *Grasas Aceites*. 68(1): 178. DOI: 10.3989/gya.0940162.
- Aparicio, R. and J. Harwood. 2013. *Handbook of Olive Oil, Analysis and Properties*, 2nd ed, Springer Science+ Business Media, New York.
- Ashok, B. T. and R. Ali. 1999. The aging paradox: free radical theory of aging. *Exp. Gerontol*. 34: 293-303.
- Babbs, C. F. 1990. Free radicals and the etiology of colon cancer. *Free Radic. Biol. Med*. 8: 191-200.
- Ballus, C. A., R. Quirantes-Piné, A. Bakhouché, L. F. O. Da Silva, A. F. De Oliveira, E. F. Coutinho, D. M. Da Croce, A. Segura-Carretero and H. T. Godoy. 2015. Profile of phenolic compounds of Brazilian virgin olive oils by rapid resolution liquid chromatography coupled to electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (RRLC–ESI-TOF-MS). *Food Chem*. 170: 366-377.
- Bendini, A., L. Cerretani, F. Di Virgilio, P. Belloni, M. Bonoli-Carbognin and G. Lercker. 2007. Preliminary evaluation of the application of the FTIR spectroscopy to control the geographic origin and quality of virgin olive oils. *J. Food Qual*. 30: 424-437.
- Cerretani, L., A. Giuliani, R. M. Maggio, A. Bendini, T. G. Toschi and A. Cichelli. 2010. Rapid FTIR determination of water, phenolics and antioxidant activity of olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 112: 1150-1157.
- Choi, D., G. S. Lim, Y. L. Piao, O. Y. Choi, K. A. Cho, C. B. Park, Y. C. Chang, Y. I. Song, M. K. Lee and H. Cho. 2014. Characterization, stability, and antioxidant activity of *Salicornia herbacea* seed oil. *Korean J. Chem. Eng*. 31: 2221-2228.
- Christodouleas, D. C., C. Fotakis, A. Nikokavoura, K. Papadopoulos and A. C. Calokerinos. 2015. Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant profile of untreated oils. *Food Anal. Methods*. 8: 1294-1302.
- Cierniewska-Żytkiewicz, H., K. Ratusz, J. Bryś, M. Reder and P. Koczoń. 2014. Determination of the oxidative stability of hazelnut oils by PDSC and Rancimat methods. *J. Therm. Anal. Calorim*. 118: 875-88.
- Consleg. 2015. European Commission Regulation. 2015. 1991R2568 — EN — 01.01.2015 — 027.001, on the Characteristics of Olive Oil and Olive-Residue Oil and on the Relevant Methods of Analysis, Annexes II, III, IX.
- Covas, M. I. 2007. Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacol. Res*. 55: 175-186.
- Criado, M. N., M. P. Romero, M. Casanovas and M. J. Motilva. 2008. Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Food Chem*. 110: 873-880.
- Giuffrè, A. M. 2014a. Variation in triacylglycerols of olive oils produced in Calabria (Southern Italy) during olive ripening. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*. 91: 221-240.
- Giuffrè, A. M. 2014b. Wax ester variation in olive oils produced in Calabria (Southern Italy) during olive ripening. *J. Am. Oil Chem. Soc*. 91: 1355-366.
- Giuffrè, A. M. 2014c. Evolution of fatty alcohols in olive oils produced in Calabria (Southern Italy) during fruit ripening. *J. Oleo. Sci*. 63: 485-496.
- Giuffrè, A. M. and L. Louadj. 2013. Influence of crop season and cultivar on sterol composition of monovarietal olive oils in Reggio Calabria (Italy). *Czech J. Food Sci*. 31: 256-263.
- Giuffrè, A. M., S. Tellah, M. Capocasale, C. Zappia, M. Latati, M. Badiani and S. M. Ounane. 2016. Seed oil from ten Algerian peanut landraces for edible use and biodiesel production. *J. Oleo Sci*. 65: 9-20.
- Giuffrè, A. M. and M. Capocasale. 2016. Physicochemical composition of tomato seed oil for an edible use: The effect of cultivar. *Int. Food Res. J*. 23: 583-591.
- Gouvinhas, I., J. M. De Almeida, T. Carvalho, N. Machado and A. I. Barros. 2015. Discrimination and characterisation of extra virgin olive oils from three cultivars in different maturation stages using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics. *Food Chem*. 174: 226-232.
- Haaland, D. M. and E. V. Thomas. 1988. Partial least square methods for spectral analyses. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. *Anal. Chem*. 60: 1993-1202.
- Hamilton, R. J. and J. B. Rossell. 1986. *Analysis of Oils and Fats*. Elsevier Applied Science Publishers, Sole Distributor in the USA and Canada Elsevier Science Pub, Co., New York, NY, USA, pp. 1-90.
- Inarejos-Carcía, A. M., S. Gómez-Alonso, G. Fregapane and M. D. Salvador. 2013. Evaluation of minor components, sensory

- characteristics and quality of virgin olive oil by near infrared (NIR) spectroscopy. *Food Res. Int.* 50: 250-258.
- IOC. 2015. Trade Standard Applying to Olive Oils and Olive-Pomace Oils. COI/T.15/NC No 3/Rev. [Last accessed on 2015 Jun 09].
- Janakat, S., A. Al-Nabulsi, F. Hammad and R. Holley. 2015. Effect of Amurca on olive oil quality during storage. *J. Food Sci. Technol.* 52: 1754-1759.
- Janin, M., S. Medini and I. Técher. 2014. Methods for PDO olive oils traceability: State of art and discussion about the possible contribution of strontium isotopic tool. *Eur. Food Res. Technol.* 239: 745-754.
- Kesen, S., H. Kelebek and S. Selli. 2014. LC-ESI-MS Characterization of phenolic profiles Turkish olive oils as influenced by geographic origin and harvest year. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 91: 385-394.
- Kiliç, M., E. Bayraktar, S. Ateş and Ü. Mehamedoglu. 2002. Investigation of extractive citric acid fermentation using response-surface methodology. *Proc. Biochem.* 37: 759-767.
- Lerma-García, M. J., E. F. Simó-Alfonso, A. Bendini and L. Cerretani. 2011. Rapid evaluation of oxidised fatty acid concentration in virgin olive oil using Fourier-transform infrared spectroscopy and multiple linear regression. *Food Chem.* 124: 679-684.
- Li, X., H. Zhu, C. F. Shoemaker and S. C. Wang. 2014. The effect of different cold storage conditions on the compositions of extra virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 91: 1559-1570.
- Louadj, L. and A. M. Giuffrè. 2010. Analytical characteristics of olive oil produced with three different processes in Algeria. *Riv. Ital. Sostanze Grasse.* 80: 186-195.
- Luz Pizarro, M., M. Becerra, A. Sayago, M. Beltrán and R. Beltrán. 2013. Comparison of different extraction methods to determine phenolic compounds in virgin olive oil. *Food Anal. Methods.* 6: 123-132.
- Minguez-Mosquera, M. I., L. Rejano-Navarro, B. Gandul-Rojas, A. H. Sanchez-Gomez and J. Garrido-Fernandez. 1991. Color-pigments correlation in virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 322-337.
- Mishra, P., L. Lleo, T. Cuadrado, M. Ruiz-Altisent and N. Hernandez-Sanchez. 2017. Monitoring oxidation changes in commercial extra virgin olive oils with fluorescence spectroscopy based prototype. *Eur. Food Res. Technol.* 244: 565-575. DOI: 10.1007/s00217-017-2984-1.
- Mulinacci, N., F. Ieri, G. Ignesti, A. Romani, M. Michelozzi, D. Criti, M. Innocenti and L. Calamai. 2013. The freezing process helps to preserve the quality of extra virgin olive oil over time: A case study up to 18 months. *Food Res. Int.* 54: 2008-2015.
- Nigri, S. and R. Oumeddour. 2013. Fourier Transform Infrared and Fluorescence Spectroscopy for Analysis of Vegetable Oils. *Matec Web of Conferences.* 5: 04028. (Abstr.). DOI: 10.1051/mateconf/20130504028.
- Nigri, S. and R. Oumeddour. 2016. Detection of extra virgin olive oil adulteration using Fourier transform infrared, synchronous fluorescence spectroscopy and multivariate analysis. *Riv. Ital. Sostanze Grasse.* 93: 125-131.
- Nigri, S., R. Oumeddour and X. Fernandez. 2012. Analysis of some Algerian virgin olive oils by headspace solid phase micro-extraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Riv. Ital. Sostanze Grasse.* 84: 54-61.
- Olias, M. and J. M. Garcia. 1997. In: S. K. Mitra (Ed.), *Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits.* CAB International, Wallingford, U.K, pp. 229-243.
- Ontanón, I., L. Culleré, J. Zapata, B. Villanueva, V. Ferreira and A. Escudero. 2013. Application of a new sampling device for determination of volatile compounds released during heating olive and sunflower oil: sensory evaluation of those identified compounds. *Eur. Food Res. Technol.* 236: 1031-1040.
- Özcan, M. M. and F. Al-Juhaimi. 2015. Effect of date (*Phoenix dactylifera* L.) seed extract on stability of olive oil. *J. Food Sci. Technol.* 52: 1218-1222.
- Samaram, S., H. Mirhosseini, C. P. Tan, M. G. Ghazali, S. Bordbar and A. Serjouie. 2015. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chem.* 172: 7-17.
- Scheele, C. W. 1784. Anmärkning om citron-Saft, samt sätt att crystallisera den samma (note on lemon juice, as well as ways to crystallize the same). *Kongliga Vetenskaps Academiens Nya Handlingar.* 5: 105-109.
- Selaimia, R., R. Oumeddour and S. Nigri. 2017. The chemometric approach applied to FTIR spectral data for the oxidation study of Algerian extra virgin olive oil. *Int. Food Res. J.* 24: 1301-1307.
- Silva, L., B. Garcia and F. Paiva-Martins. 2010. Oxidative stability of olive oil and its polyphenolic compounds after boiling vegetable process. *LWT Food Sci. Technol.* 43: 1336-1344.
- Tavakoli, J., M. H. H. Khodaparast, M. Aminlari, R. E. Kenari and A. Sharif. 2013. Introducing pistacia khinjuk (kolkhoung) fruit hull oil as a vegetable oil with special chemical composition and unique oxidative stability. *Chem. Nat. Compd.* 49: 803-810.
- Velasco, L., A. Fernández-Cuesta, R. De la Rosa, M. V. Ruiz-Méndez and L. León. 2014. Selection for some olive oil quality components through the analysis of fruit flesh. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 91: 1731-1736.