



Caractérisation et classification des huiles d'olives monovariétales de deux régions au Maroc (Meknès-Tafilalet et Marrakech-Tensift-Al Haouz) [Characterization and classification of monocultivar olive oils from two areas in Morocco (Meknes-Tafilalet and Marrakech-Tansift-Al Haouz)]

M. Elbir¹, A. Amhoud¹, I. Houlali¹, A. Moubarik², H. Hasib³, A. Jouad⁴, M. Mbarki¹

1 Equipe Transdisciplinaire des Sciences Analytiques pour le Développement Durable (ETSADD), Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, BP 523, Beni Mellal, Maroc.

2 INANOTECH-MAScIR, ENSET, Avenue de l'Armée Royale, Madinat El Irfane, 10100 Rabat, Morocco

3 Equipe de Valorisation des Agro-Ressources, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, BP 523, Beni Mellal, Maroc.

4 Laboratoire de Chimie Organique Appliquée, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Received 29 Sept 2013, Revised 8 Dec 2013, Accepted 8 Dec 2013

** Corresponding author. E mail: mbarkimeister@gmail.com; Tel: +212 6 66 72 20 38*

Abstract

There is an increasing interest by consumers for high quality food products with a clear geographical origin. This review describes the potential use of Characterization and classification of Moroccan olive oil by chemometrics on NIRS and GC data. The infrared spectroscopy, followed by chemometric treatment of the spectral data, was used to classify olives oils according to their geographical origin. The results were quite satisfactory, in spite of the similarity of cultivar compositions between two denominations of origin ("Meknes-Tafilalt" and "Marrakech-Tansift-Alhaouz"). The results showed that NIR spectroscopy coupled with chemometric methods are an interesting technique in classifying olive oil samples. The Chemometric treatments of NIR spectra allow us to obtain similar results than those obtained by time consuming analytical techniques such as MIR and HPLC. The spectroscopic methods, combined with chemometric strategies, could represent a reliable, cheap and fast classification tool.

Keywords: Moroccan olive oil, spectroscopic methods, NIR, Chemometric treatment, PCA.

Résumé

Il ya un intérêt croissant des consommateurs pour les produits alimentaires de haute qualité avec une origine géographique claire. Ce travail décrit l'utilisation potentielle de la caractérisation et la classification des huiles d'olives marocaine par chimiométrie sur des données spectroscopique. La spectroscopie infrarouge, suivie d'un traitement chimiométrique des données spectrales, a été utilisé pour classer les huiles d'olives en fonction de leur origine géographique. Les résultats ont été tout à fait satisfaisants, malgré la similitude des compositions de cultivars entre deux appellations d'origine ("Meknès-Tafilalet" et «Marrakech-Tansift-Alhaouz»). Les résultats ont montré que la spectroscopie proche infrarouge couplée avec des méthodes chimiométriques sont une technique intéressante pour classer les échantillons d'huile d'olive. Les traitements chimiométrique de spectres proche infrarouge nous permettent d'obtenir des résultats similaires à ceux obtenus par analytiques comme le moyen infrarouge et HPLC. Les méthodes spectroscopiques, combinées avec des stratégies chimiométriques, pourraient représenter un outil de classification fiable, pas cher et rapide.

Mots-clés: Huiles d'olives marocaines, méthodes spectroscopiques, proche infrarouge, traitement chimiométriques, ACP.

1. Introduction

L'olivier est l'une des plus anciennes cultures ligneuses et est particulièrement répandue dans toute la région méditerranéenne et joue un rôle important dans l'économie rurale, le patrimoine local et la protection de l'environnement [12]. L'oléiculture représente une des plus anciennes activités agricoles dans le bassin méditerranéen où la production d'olive a une fortune économique transmise sur plusieurs générations [38]. L'oliveraie marocaine est constituée pour plus de 96%, par la variété population picholine marocaine [27]. Le secteur des huiles végétales alimentaires représente l'un des secteurs les plus déficitaires au Maroc. L'absence de données sur les huiles d'olives (HO) marocaines nous a conduits à entreprendre une étude générale sur les HO marocaines. Actuellement plusieurs auteurs ont proposé l'utilisation des techniques chromatographiques et spectroscopiques en couplage avec la chimiométrie comme une alternative pour la vérification de l'origine géographique, la discrimination des différents grades et la détection des artefacts ou adultérations dans l'huile d'olive [10-16-17-18-28-29]. Cette méthodologie de

couplage, en permettant l'interprétation de plusieurs variables simultanées, est susceptible de discriminer facilement des moindres différences existant entre les spectres Infrarouge ou chromatogrammes en phases gazeuse. La spectroscopie infrarouge serait un moyen de choix pour analyser des échantillons agro-alimentaires dans un laboratoire de routine. En plus, les interférences existant entre les liaisons ou fonctions organiques chimiques correspondant à des domaines Infrarouge similaires peuvent être résolues sur la base de l'origine géographique. C'est le cas du Moyen Infrarouge (MIR) pour des vins [32], fromages [24], les huiles d'olive [37] et le miel [35]. En proche Infrarouge (PIR) la classification géographique a été, également, réalisée pour différents aliments tels que le raisin [1], la sauce de soja [23], le vin [26], le riz [25], et l'huile d'olive [9]. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est l'une des techniques de séparation les plus utilisées dans l'analyse des aliments, principalement pour les études sur la composition chimique en espèces volatiles et semi-volatiles, les arômes et les pesticides [4]. En analysant les profils CPG de divers composés présents dans le vin, par exemple les alcanes, aldéhydes, alcools et acides, il est possible de classer les vins en fonction de leur origine géographique [14-36]. La détermination, par CPG couplée à la chimométrie, de la composition en acides gras et leurs concentrations correspondantes a permis la discrimination géographique des échantillons de lait [7] et de l'huile d'olive [29]. Grâce à un tel couplage, la détermination de l'origine géographique a été réalisée sur des masses de cacao [20] et de jus d'orange [34].

Au Maroc, il y a une forte demande des techniques analytiques fiables et rapides permettant d'identifier et classer les différents types des huiles d'olives (HOs) de différentes provenances géographiques, voire variétales. Le présent travail utilise la spectroscopie Proche Infrarouge (SPIR) et la CPG associées à la chimométrie afin de fournir une méthode alternative aux méthodes d'analyses chimiques laborieuses et coûteuses, grâce à la différenciation des classes des HOs par des modèles basés de données sur des algorithmes tels que l'analyse en composantes principales (ACP). Ces modèles permettent la prédiction de la provenance géographique et variétale des HOs marocaines. Ces bases de données ont été mises en tant que référence pour la classification des huiles olive sans connaissance préalable de leur identité, ce qui raccourcit le temps et le coût d'analyse. En fait, au Maroc, c'est l'insuffisance de telles études sur l'huile d'olive qui nous a poussé à mener le présent travail afin de pouvoir caractériser et classer des l'huiles d'olive de deux régions marocaines; la région Marrakech-Tansift-Al Haouz et la région, noté ci-après "K", cette région à un climat aride ou semi-aride en général et humide dans l'Atlas (de 1500 à 2000 m d'altitude) et le littoral. La pluviométrie y est très variable: 50% du territoire n'enregistre que des niveaux inférieurs à 300 mm par an et presque 30% à une pluviométrie comprise entre 300 et 400 mm par an. La température est très variable: 80% du territoire régional présente une température moyenne d'environ 18°. La deuxième région est Meknès-Tafilalt notée "M". Le climat de la région est diversifié, il s'étend de l'étage bioclimatique humide (1.100 mm de pluie) et à l'étage bioclimatique pré-saharien avec (250 mm). Il permet la production d'une gamme de cultures résultat de la combinaison d'une pluviométrie et des températures favorables en fonction des zones

2. Matériels et Méthodes

2.1. Échantillons

200 échantillons d'HOVs ont été collectés dans deux régions au Maroc, la région de Marrakech-Tansift-Al Haouz et la région de Meknès-Tafilalt. Les deux régions sont distantes de 120 km.

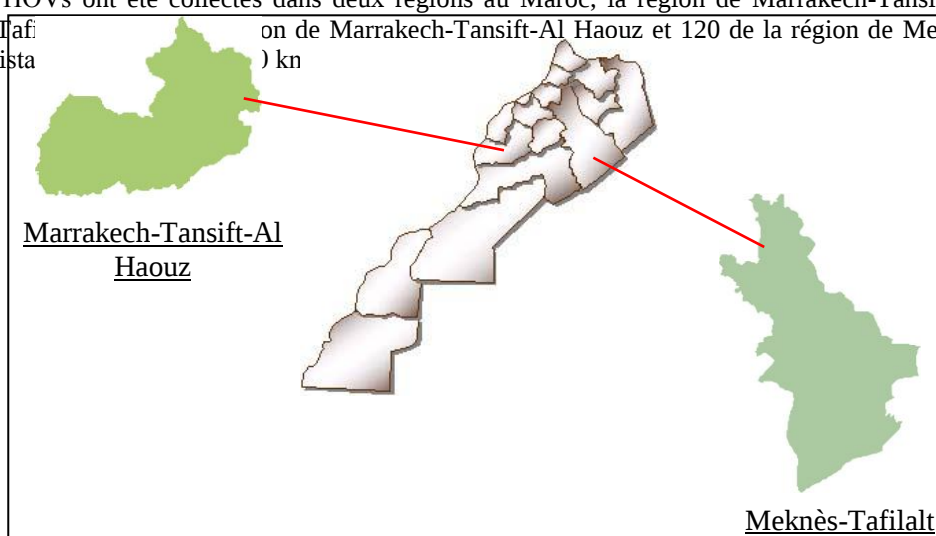


Fig.1: Carte géographique du Maroc montrant les 2 régions sièges de la collecte des huiles d'olives vierge du présent travail

2.2. Caractérisation physicochimique

Trois indices caractérisant les huiles d'olives ont été calculés selon la méthode AFT.60.204, Dec.1985. Ils sont définis ci-dessous :

- L'indice d'acide (I.A) est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres de un gramme de corps gras ;
- L'acidité (A) est le pourcentage d'acides gras libres exprimé conventionnellement selon la nature du corps gras, en acides oléiques de poids moléculaire (282) ;
- L'indice de peroxyde (Ip) est le nombre de milliéquivalent d'oxygène par kilogramme de corps gras ;

2.3. Préparation et analyse des esters méthyliques d'acides gras

Les esters méthyliques de l'huile d'olive ont été préparés, dans le n-heptane (0,12g/2ml), avec une solution froide de KOH (2M) selon la norme NF EN ISO 5509. Ces esters d'acides gras obtenus ont été analysés selon la norme NF EN ISO 5508 à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent Technologies 7890A (GC) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme ($T = 250^{\circ}\text{C}$). La colonne utilisée est une colonne capillaire de silice 60m x 0,25mm. La pression d'entrée de l'hydrogène comme gaz vecteur était 178kPa, avec un rapport 1:70. Le programme de la température du four était comme suit: 20 min à 210°C , de 210 à 245°C à raison de $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ puis 10 min à 245°C .

2.4. Spectroscopie proche infrarouge

Les spectres proche Infrarouge à transformée de Fourier (FT-PIR) ont été enregistrés avec un spectromètre Antaris Nicolet. Les échantillons de l'huile d'olive sont introduits dans une cellule de quartz de trajet optique de 2mm. Tous les spectres sont à une résolution de 4 cm^{-1} entre 4500 et 10000 cm^{-1} grâce au logiciel résultat intégration 2.1 Thermo Nicolet. Ces spectres FT-PIR se sont avérés étant très similaires pour pouvoir être distingués entre eux. 10 analyses a été effectuée pour chaque spectre. Un spectre de référence a été enregistré avant chaque mesure de l'échantillon sur un tube vide.

2.5. Analyse en Composantes Principales

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode statistique ancienne publiée en 1901 par Pearson et en 1933 par Hotteling. Elle est fréquemment utilisée dans la chimie analytique pour la facilité de son interprétation. En outre, elle contribue à réduire la dimensionnalité des données, tout en conservant la plupart de l'information par l'étude de toutes les relations entre les variables, simultanément (Brereton, 2009). L'ACP fournit une représentation graphique des similitudes et des différences entre les données dans l'espace défini par les composantes principales (Guihua Fang 2012). Dans le présent travail, des spectres PIR et des chromatogrammes ont été soumis à l'analyse par ACP afin d'examiner les regroupements possibles des huiles d'olives.

3. Résultats and discussion

3.1. Caractérisation physicochimique :

Les deux figures suivantes (fig.2-3) donnent l'acidité et l'indice de peroxyde pour les 2 régions sièges de la collecte des HOVs. Les échantillons de la région Marrakech-Tansift-Al Haouz (fig. 2) présentent des valeurs l'acidité, entres 0,36 et 9,63 d'acidité, variant selon différentes zones de la région. Les valeurs de l'indice de peroxyde sont respectivement entre 2,66 et 28,50 m.éq O_2/Kg d'huile.

Les échantillons de la région Meknès-Tafilalt (fig. 3) présentent assez de différence entre les zones de la région. Les valeurs de l'acidité sont entre 0,39 et 7,33 d'acidité et celles et l'indice de peroxyde sont, respectivement, entre 2,65 et 7,50 m.éq O_2/Kg d'huile.

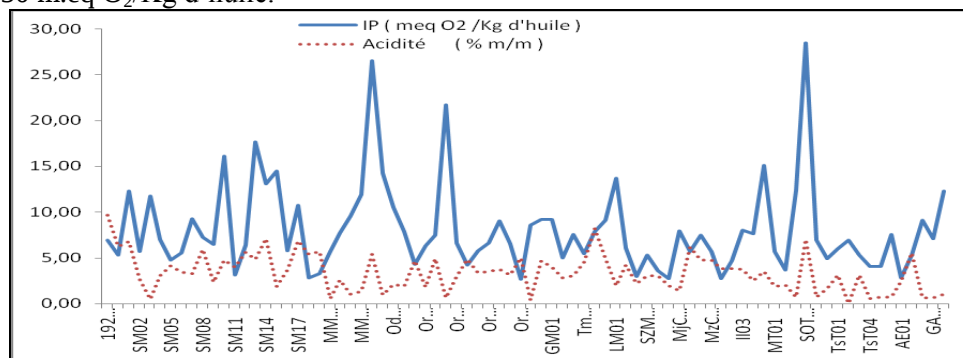


Fig.2 Indice de peroxyde et l'acidité de l'HOV de différentes zones dans la région Marrakech-Tansift-Al Haouz.

Les propriétés chimiques des huiles analysées, révèlent que l'acidité qui permet d'apprécier le degré d'altération des corps gras est très variée entre les différents échantillons. Nombreuses zones présentent des valeurs les plus élevées permettant d'affirmer que leurs huiles contiennent assez d'acides gras libres provoquant une acidité

élevée, en terme d'acide oléique. En effet les acides gras libres sous l'effet de l'oxygène atmosphérique provoquent le rancissement de l'huile. De plus, nous avons obtenu des valeurs qui sont supérieures à la valeur limite préconisée par de codex alimentaire pour une huile alimentaire. Ce résultat peut être lié à l'hydrolyse des liaisons esters suite à des mauvaises conditions de : récolte, climat, et conservation.

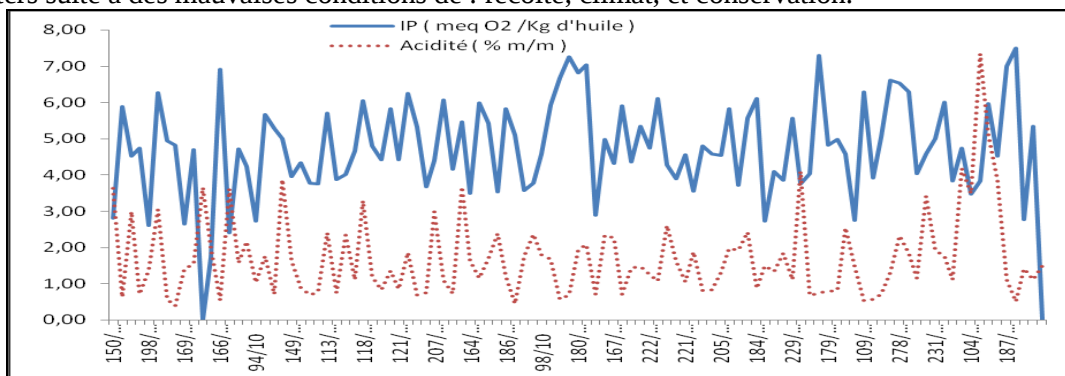


Fig.3 : Indice de peroxyde et l'acidité de HOV de différentes zones dans la région Meknès-Tafilalt.

3.2. Composition en acides gras

L'analyse des chromatogrammes en phase gazeuse a révélé l'existence de quatorze (14) acides gras dans la matière grasse issue de l'huile d'olive. La composition en acides gras a donné six acides gras saturés qui sont l'acide palmitique, l'acide margarique, l'acide stéarique, l'acide arachidique, l'acide béhénique, et l'acide lignocérique. Les acides gras insaturés sont au nombre de huit dont six sont monoinsaturés : l'acide hypogéique, l'acide palmitoléique, l'acide margaroléique, l'acide oléique, l'acide cis-vaccénique et l'acide gondoïque et deux autres sont polyinsaturés : l'acide linoléique et l'acide linolénique. Nous notons une certaine variabilité, en termes d'acides gras, dans la teneur des différents échantillons analysés.

Tableau 1. Teneur en acide oléique et l'acide linoléique des huiles d'olives vierges.

	Acide Oléique Min	Acide Oléique Max	Acide Oléique Moy	Acide Linoléique Min	Acide Linoléique Max	Acide Linoléique Moy
Marrakech	73	77,61	75,30	7,65	9,95	8,8
Meknès	46,75	68,32	57,53	13,86	22,44	18,15

Les résultats (tableau1) montrent que la teneur en acide oléique des échantillons de Meknès serait plus importante que celle des échantillons de Marrakech. Ce qui s'explique par le fait que la teneur en acide linoléique des échantillons de Meknès est moins importante que celle des échantillons de Marrakech. Ainsi nous attendons les résultats des autres échantillons dans la base de données du PC de votre appareil CPG.

3.3. Spectroscopie Proche infrarouge

La figure 4 montre les spectres en proche infrarouge obtenus pour les échantillons de l'huile d'olive vierge.

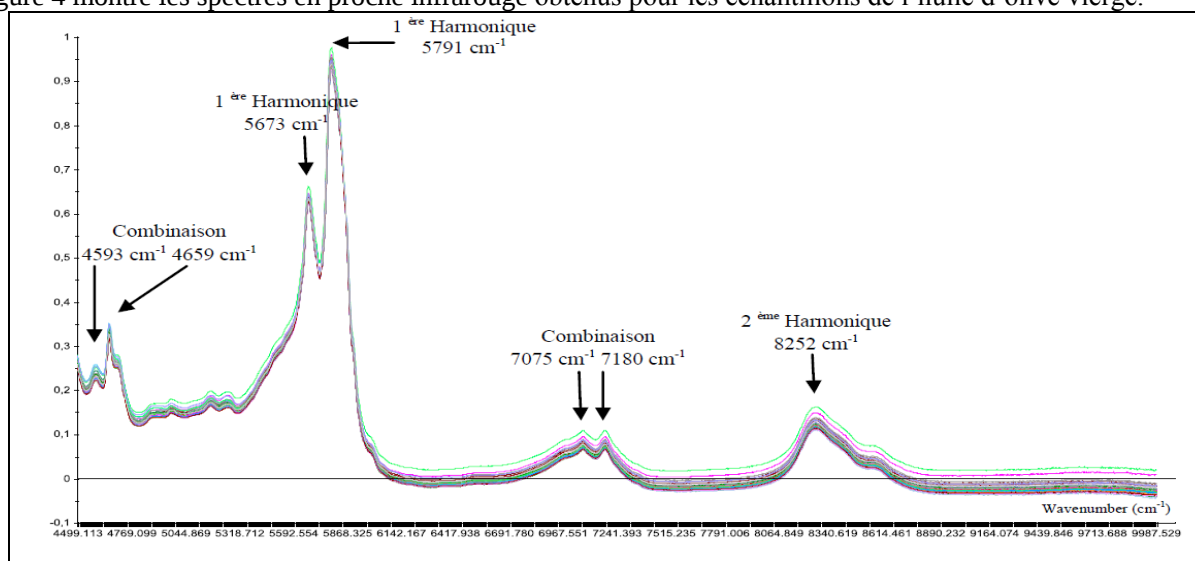


Fig. 4 : Spectres proche infrarouge d'huiles d'olive vierges

Il n'y a aucune différence visuelle entre les spectres selon l'origine géographique. Les bandes autour de 8252 cm^{-1} proviennent de secondes harmoniques des vibrations d'élongations CH, tandis que celles de 7180 et 7075 cm^{-1} sont dues à la combinaison de l'élongation CH et de la déformation CH du groupe $-\text{CH}_2$ (Bertrand & Dufour, 2006; Hourant et al., 2000; Wang et al., 2006). Les pics à 5791 et 5673 cm^{-1} sont attribués aux premières harmoniques des vibrations CH des groupes méthyle, méthylène et l'éthylène (Christy et al., 2004; Cozzolino et al., 2005). Les pics d'intensités faibles à 4659 et 4572 cm^{-1} sont associés à des combinaisons des vibrations CH de $-\text{CH}_3$ et $-\text{CH}_2$.

3.4. Analyse en Composantes Principales

Comme il a été possible de classer les échantillons en fonction de leur origine géographique, il est intéressant de comprendre comment cette classification a été faite sur la base des données proche infrarouge. Afin d'examiner la structure des données, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée (fig. 5).

L'ACP obtenu sur les spectres en PIR montre une meilleure discrimination entre les échantillons de Meknès (M) d'une part et ceux de Marrakech (K) d'autre part. Il y avait, alors, des informations relatives à l'origine géographique des huiles d'olive vierges sur ces spectres en PIR (fig. 5).

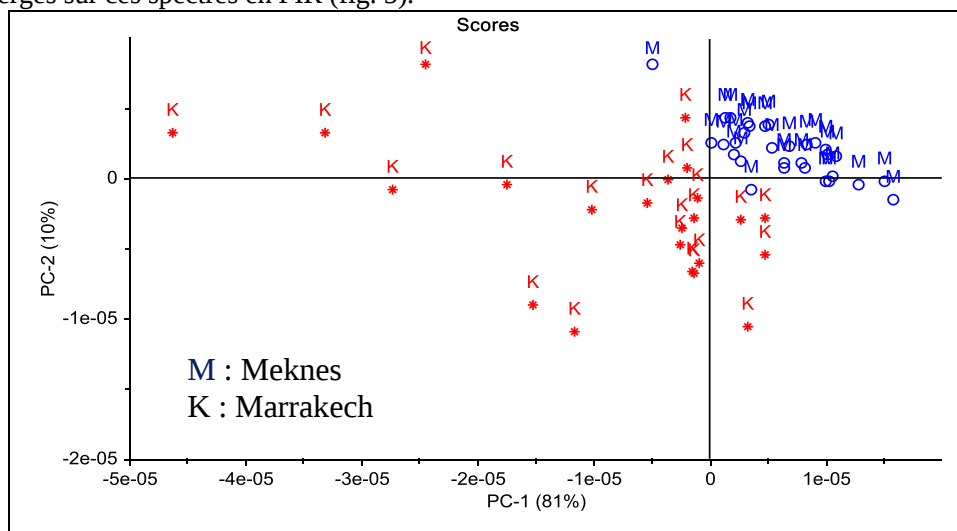
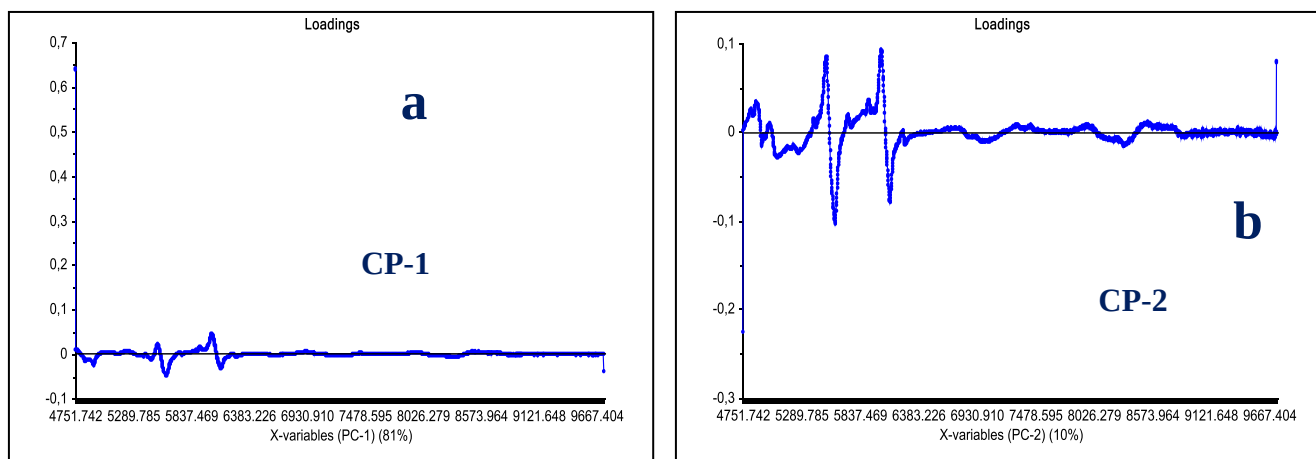


Fig 5. Représentation ACP des spectres PIR des échantillons des huiles d'olives vierges.
 M : Meknès; K : Marrakech

Les composantes principales qui permettent de différencier visuellement ces huiles d'olives vierges sont la CP-1 et la CP-2. Ces deux composantes principales expliquent respectivement 81 % et 10 % de la variance, soit 91% de la variance totale. La représentation des échantillons, en fonction de leurs origines géographiques, permet la mise en évidence de groupes plus ou moins compacts. Les deux figures 6a et 6b présentent l'information discriminante dans chaque composante principale. La figure 6-a montre que ce sont les deux zones ($5474\text{ cm}^{-1} - 5708\text{ cm}^{-1}$) et ($5949\text{ cm}^{-1} - 6178\text{ cm}^{-1}$) qui présentent l'information discriminante. Effectivement, les deux bandes de la première harmonique (5673 cm^{-1} et 5791 cm^{-1}) apparaissent dans cette première zone. En outre, la composante principale 2 (fig. 6-b) est corrélée avec CP-1.



Figures 6a et 6b. Composantes principales de l'ACP des spectres PIR ((a) CP-1 ; (b) CP-2)

Conclusion

Le présent travail a montré que les huiles d'olives vierges produites dans les unités de trituration de deux régions marocaines, Meknes-Tafilalt et Marrakech-Tansift-Alhaouz, distantes de l'ordre de 500 km présentent des caractéristiques, en termes d'acides gras et de peroxydes, très difficilement détectables directement sur des spectres bruts en proche infrarouge. Cependant l'utilisation de méthodes chimiométriques telles que l'analyse en composantes principales a été déterminante et efficace pour la discrimination de ces huiles. Résultat important vu le fait qu'il n'y a pas de parfaite visibilité variétale de l'olivier au Maroc puisque la question de l'existence de monovariétés autres que la picholine reste loin d'être très élucidée. La spectroscopie Proche Infrarouge couplée à des techniques chimiométriques appropriées a émergé comme étant une méthode d'analyse rapide et robuste pour des fins d'authentification, notamment afin de garantir l'originalité des huiles alimentaires fonctionnelles. Un tel développement des méthodes, basé sur le couplage entre une méthode analytique d'une part et une méthode statistique d'autre part, assure des résultats avec une précision acceptable dans un minimum de temps simple et avec un coût moindre.

Acknowledgements—The authors would like to thank the INRA of Beni Mellal for the assistance in collecting virgin olive oils.

References

1. Arana I., Jaren C., Arazuri S. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 13 (2005) 349-357.
2. Brereton R. *Standard for Edible Fats and Oils not Covered by Individual Standards*. (2009).
3. Bertrand D., Dufour E. *Technique & Documentation*. (2nd Edition). (2006).
4. Chang S. K. C., Holm E., Schwarz J., Rayas-Duarte P. *Food. Analytical Chemistry*. 67 (1995) 127R-153R.
5. Chimi H. *Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA*. MADREF/DERD. (2001).
6. Christy A. A., Kasemsumran S., Du, Y., Ozaki Y. *Analytical Science*. 20 (2004) 935-940.
7. Collomb M., Butikofer U., Sieber R., Jeangros B., Bosset J.O. *International Dairy Journal*. 12 (2002) 649- 659.
8. Cozzolino D., Murray I., Chree A., Scaife J. R. *LWT-Food Science and Technology*. 38 (2005) 821-828.
9. Downey G., McIntyre P., Davies A. N. *Applied spectroscopy*. 57 (2) (2003) 158-163.
10. Dupuy N., Galtier O., Le Dréau Y., Pinatel C., Kister J., Artaud J. *J. Lipid Sci. Technol.* 112 (2010) 463-475.
11. Dupuy N., Molinet J., Mehl F., Nanlohy F., Le Dréau Y., Kister J. *Industrial Crops and Products*. 43 (2013) 596-601.
12. Elbir M., Moubarik A., Rakib E. M., Grimi N., Amhoud A., Miguel G., Hanine H., Artaud J., Vanlout P., Mbarki M. *Maderas Ciencia y Tecnologia*, 14 (2012) 361.
13. Eliasson M., Rannar S., Trygg J. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 12 (7) (2011) 996-1004.
14. Etiévant P., Schlich P., Cantagrel R., Bertrand M., Bouvier, J. C. *J. Sci. Food Agric.* 46 (4) (2006) 421-438.
15. Fang G., Goh J.Y., Tay, M., Lau H.F., Li S.F.Y. *Food Chemistry*. 138 (2012) 1461-1469.
16. Fahl C., Reniero F., Guillou C. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 38 (6) (2000) 436-443.
17. Galtier O., Dupuy N., Le Dréau Y., Ollivier D., Pinatel C., Kister J., Artaud J. *Analy Chimica Acta*. 595 (2007) 136.
18. Galtier O., Le Dréau Y., Ollivier D., Kister J., Artaud J., Dupuy N. *Appl. Spectrosc.* 62 (5) (2008) 583-590.
19. Galtier O., Abbas O., Le Dréau Y., Rebufa C., Kister J., Artaud J., Dupuy N. *Vib. Spectrosc.* 55 (1) (2011) 132-140.
20. Hernández C. V., Rutledge D. N. *Analyst*. 119 (1994) 1171-1176.
21. Hotelling H. *Journal of Educational Psychology*. 24 (6) (1933) 417-441.
22. Hourant P., Baeten V., Morales M. T., Meurens M., Aparicio R. *Appl. Spectrosc.* 54 (8) (2000) 1168-1174.
23. Iizuka K., Aishima T. *Journal of Food Science*. 62 (1997) 101-104.
24. Karoui R., Dufour E., Pillonel L., Picque D., Cattenoz T., Bosset J. O. *European Food Research and Technology*. 219 (2004a) 184-189.
25. Kim H. J., Rhyu M. R., Kim J. M., Lee S. H. *Cereal chemistry*, 80 (2003) 346-349.
26. Liu L., Cozzolino D., Cynkar W. U., Gishen M., Colby C. B. *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 6754-6759.
27. Ministère d'Agriculture, de Développement Rural et des Pêches Maritimes. Maroc, *MADRPM*, 2006.
28. Ollivier D., Artaud J., Pinatel C., Durbec J.P., Guerer M. *Food Chemistry*. 97 (2006) 382-393.
29. Ollivier D., Artaud J., Pinatel C., Durbec J. P., Guérère M. *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 5723-5731.
30. Ollivier D., Pinatel C., Dupuy N., Guérère M., Artaud J. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 14 (2) (2007) 116-29.
31. Pearson K. *Edinburgh and Dublin Magazine and Journal of Science*. 2 (1901) 559-572.
32. Picque D., Cattenoz T., Corrieu G., Berger J. L. *Sciences des Aliments*. 25 (2005) 207-220.
33. Putzig, C. L., Leugers M. A., McKelvy M. L., Mitchell G. E., Nyquist R. A., Papenfuss R. R. *Anal. Chem.* 66 (1994) 26.
34. Ruiz del Castillo M. L., Caja M. M., Blanch G. P., Herriaz M. *Journal of Food Protection*. 66 (8) (2003) 1448-1454.
35. Ruoff K., Luginbuhl W., Kunzli R., Iglesias M. T., Bogdanov S., Bosset J.O. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (2006) 6873-6880.
36. Shimoda M., Shibamoto T., Noble A. C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 41 (1993) 1664-1668.
37. Tapp H. S., Defernez M., Kemsley E. K. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (2003) 6110-6115.
38. Uccella N. *Trends Food Sci. Technol.* 11 (2001) 315-327.
39. Wang L., Lee F. S. C., Wang X., He. Y. *Food Chemistry*. 95 (2006) 529-536.