



UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE, FACULTE DES SCIENCES
ECOLE DOCTORALE 251 SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT
OBSERVATOIRE DES SCIENCES DE L'UNIVERS – INSTITUT PHYTEAS
CENTRE EUROPEEN DE RECHERCHE ET D'ENSEIGNEMENT EN GEOSCIENCES
DE L'ENVIRONNEMENT – UM 34

Thèse présentée pour obtenir le grade universitaire de docteur

Discipline : Géosciences de l'environnement
Spécialité : Géochimie isotopique

Salim MEDINI

**Traçage géographique des huiles d'olive par les isotopes du Sr :
développement analytique et application aux huiles AOP de Nîmes**

A Soutenir devant le jury :

Marie-Claire PIERRET	LHyGeS UMR CNRS, U. Strasbourg	Rapporteur
Jean-Paul LACLAU	CIRAD, UMR Eco&Sols, Montpellier	Rapporteur
Anne POSZWA	LIEC UMR 7360 CNRS, U. Lorraine	Examineur
Jean-Dominique MEUNIER	CEREGE UM 34, U. Aix Marseille	Examineur
Christian PINATEL	CTO, Aix en Provence	Invité
Norbert CLAUER	Directeur de Recherche Émérite du CNRS	Invité
Myriam JANIN	GIS, Université de Nîmes	Co-directeur de thèse
Isabelle TECHER	GIS/CEREGE, Université de Nîmes	Directeur de thèse

Résumé

L'huile d'olive représente aujourd'hui un des ingrédients les plus précieux de la cuisine méditerranéenne et mondiale. La reconnaissance de plus en plus forte des nombreuses vertus de ce produit a induit une croissance de la production dans de nombreux pays, notamment en France. Le pourtour méditerranéen français s'est notamment engagé dans une production d'huile d'olive « de qualité », démontrée au travers d'un label AOC puis AOP (Appellation d'Origine Protégée). Ces labels confèrent une valeur marchande plus importante au produit, et sécurisent le consommateur quant au mode de production de l'huile. Ils participent indirectement ainsi à une meilleure gestion du risque sanitaire. Dans le département du Gard, dix mouliniers produisent des huiles d'olive sous le label «AOP». Toutefois, la valeur marchande de leurs produits AOP les soumet à un risque de fraude important. Cette fraude à la provenance et/ou à la qualité pouvant avoir des conséquences économiques et sanitaires. Dans le but de pallier à ces risques, différentes méthodes d'authentification sont évoquées dans la littérature, comme les caractéristiques organoleptiques, la composition en acides gras et triglycérides ou encore les éléments traces de l'huile. Bien que la discrimination soit possible, aucune de ces méthodes n'est vraiment efficace pour discriminer l'origine géographique des huiles d'olive d'une manière précise, notamment lorsqu'elles sont issues d'une même variété d'olive. Il est donc nécessaire d'identifier un traceur se rapportant au terroir de production, c'est-à-dire à sa géologie.

Depuis de nombreuses années, une approche a été mise en œuvre reposant sur l'identification de l'origine géographique d'un produit agro-alimentaire via la connaissance de ses isotopes du Sr, notamment via l'analyse du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. L'objectif de cette thèse est d'appliquer cette stratégie de reconnaissance aux huiles d'olive, en s'appuyant sur la production des huiles AOP de Nîmes dans le Sud de la France (Gard). La viscosité, la charge organique élevée, la teneur faible en Sr de cette matrice, et le caractère hydrophile du Sr, rendent néanmoins inadaptés les protocoles de purification du Sr existants. La première approche de l'étude correspond donc à la définition et à la validation d'une méthode de traitement des huiles d'olive en vue de la purification du Sr afin de procéder à l'analyse de sa composition isotopique (CI).

La seconde partie de l'étude est consacrée à la définition des processus d'assimilation et de transfert du Sr dans l'olivier. Cette approche, menée grâce à une étude détaillée d'un des moulins AOP de Nîmes (moulin des Costières), a permis de démontrer que le transfert du Sr des sols vers l'olivier et au sein des oliviers se fait sans fractionnement isotopique sur la base des résultats obtenus. La composition isotopique des différents organes de la plante peut être comparée à celle de son environnement de culture. La CI des huiles produites par traitement des olives s'avère également être directement reliée à celle du terroir de culture, identique à celle des olives et des autres organes de l'olivier, et donc non modifiée par les processus de fabrication. Afin d'avoir une meilleure compréhension du cycle biogéochimique du Sr dans l'environnement, des expérimentations en conditions d'irrigation contrôlée ont été réalisées sur une station régionale d'expérimentation (SERFEL). Les résultats du suivi des CI en Sr dans cet environnement soulignent que l'absorption du Sr par les racines de l'olivier constitue la source principale du Sr pour l'olivier (90%). Néanmoins, une influence très localisée des additifs agricoles sur le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dans les différents compartiments de l'arbre a pu être mise en évidence, ainsi qu'une influence de l'irrigation sur la biodisponibilité du Sr dans les sols de culture.

La dernière partie de l'étude s'appuie sur la mesure et la caractérisation des rapports isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des dix huiles d'olive AOP de Nîmes, et une comparaison de cette signature avec celle des formations géologiques sur lesquelles ont été installées les parcelles de culture. Cette approche permet de discuter de la pertinence de l'outil isotopique à la reconnaissance géographique du produit oléicole, pour différents contextes géologiques et différents mode de cultures. L'identité de la CI huile-territoire de culture a permis de conclure, dans le contexte de production de l'huile d'olive AOP de Nîmes, que les isotopes du Sr constituent un très bon outil de traçage de l'origine géographique des produits oléicoles. Enfin, afin de valider l'approche, deux échantillons d'huiles d'olive provenant du Maroc ont été analysés en isotopie du Sr. Leurs compositions ont été comparées à celles des huiles d'olive AOP de Nîmes. Cette comparaison révèle une discrimination entre la majorité des huiles d'olive AOP de Nîmes et les huiles Marocaines. L'étude pourrait être approfondie par une analyse plus exhaustive des différentes huiles d'olive des climats méditerranéens dans le but de faire une cartographie isotopique du secteur, et de lutter plus efficacement contre les contrefaçons.

Abstract

Olive oil is currently known as one of the most precious ingredients in world gastronomy and especially in the Mediterranean one. The recognition of its many virtues induced a growth in its production from many countries, including France. The French Mediterranean region is particularly engaged into the production of "high quality" olive oil. This commitment is demonstrated through national and international labels such as AOC (Controlled Designation of Origin – in French) and PDO (Protected Designation of Origin). These labels enhance a higher market value to the product, and secure the consumer about the oil production. In addition, they contribute to a better management of health risk since the production is made with special prescribed conditions. In the Gard department, ten millers produce a PDO labeled olive oil. The market value of their PDO products exposes fraudsters trying to seek financial gain and this fraud about the origin and / or the quality may have negative economic and health consequences. In order to mitigate these risks, different authentication methods are proposed in the literature, such as the organoleptic characteristics, the fatty acids and triglycerides composition or elements traces of the oil. Even if discrimination between different oils is possible, none of these methods seems effective to really discriminate the geographical origin of olive oil in a precise and systematic way, especially when they derive from the same variety of olive. It is therefore necessary to identify a tracer relating one olive oil to her production area, which means, its geology.

For many years, an approach based on the identification of the geographical origin for food product has been implemented through the knowledge of its Sr isotopes, particularly through the analysis of $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ ratio. The objective of this thesis is to develop a similar strategy for the olive oils, from the example of PDO Nîmes (Gard), in southern France. A specific methodology is necessary since the existing purification protocols of Sr revealed themselves inadequate because of viscosity, high organic load, hydrophilic nature of Sr and low Sr content of this matrix. In order to proceed to the analysis of the isotopic composition (IC), the first part of the study highlights the definition and validation of a specific method for the treatment of olive oils and strontium purification.

The second part of the study is dedicated to expose the processes of assimilation and transfer of strontium into the olive tree. This approach, conducted through a detailed study of one of Nîmes PDO mills (Costières mill), demonstrated that the transfer of strontium from soils to olive tree, and within the olive tree, occurs without isotope fractionation. The IC of the various organs of the plant is similar to his cultivation environment, as well as the IC of the oils produced by olives processing, which means that manufacturing process had not impact the primary oil IC. In order to better constrain the biogeochemical cycle of Sr in the environment, experiments were carried out in a regional experimentation station (SERFEL) under controlled irrigation conditions. The results evidence that the absorption of strontium by the roots of olive tree is the main source of Sr for the olive tree (90%) even if a much localized influence of agricultural additives on the $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ ratio in the different tree compartments may occur. In the same way, an influence of irrigation process on the bioavailability of Sr in soils has been demonstrated.

The last part of the manuscript studies the isotopic ratios $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ of the ten PDO olive oils of Nîmes and consists in a comparison of this signature with the geological formations underlying the cultivation soils. This approach allows discussing quality of Sr isotopic tool in the geographical recognition of the olive products from different geological contexts and different cultivation methods. The observed similarity between the IC from oils and soil allow us to conclude that, in this context of production, the Sr isotopes are an efficient tool to trace and certify the geographical origin of the oil. To confirm such results two samples of olive oil from Morocco were analyzed with the same methodology and we demonstrated clear discrimination between the majorities of PDO Nîmes olive oils Moroccan olive oils validated the strategy of olive oil authentication through Sr IC method. A more systematic analysis of Mediterranean oils has now to be performed to increase our knowledge of specific signatures and establish a mapping of each area.

Remerciements

Je tiens ici à remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ces trois années de thèse. La liste des remerciements qui va suivre se veut la plus exhaustive possible mais il n'y aura jamais suffisamment de place pour remercier tout le monde dans le détail, je m'excuse alors d'avance auprès de toutes celles ou ceux que j'aurais omis et à qui j'exprime toute ma gratitude.

Je remercie tout d'abord Isabelle Techer qui m'a fait confiance dès le début et m'a permis de réaliser ces trois années de thèses qui m'ont enrichis et marquent une période de ma vie que rien ne pourra remplacer. Merci Isabelle de m'avoir donné l'occasion et encouragé à valoriser mes travaux. J'aimerais remercier également Myriam Janin pour sa compréhension, et son aide efficace pour l'interprétation des données. J'ai également beaucoup apprécié pouvoir donner quelques coups de tarière en plein mois d'aout ou en décembre avec un sol dur comme du 'granite'. Je tiens également à remercier Joël Lancelot et Corinne Le Gal La Salle, de m'avoir accueillis au sein du laboratoire GIS, toujours avec le sourire.

Un grand merci à notre ingénieur de laboratoire Patrick Verdoux pour sa bonne humeur et son énergie débordante, et qui m'a beaucoup aidé à la réalisation de mon protocole d'extraction du Sr sur les huiles d'olive. Merci à Christian Pin pour son expérience, ses conseils et toutes les discussions sur les marnes du Miocène. Merci aux étudiants que j'ai encadrés, Jérémy, Lagia, Mourad, et Thibaut toujours volontaires, autonomes et efficaces, et qui ont permis de faire avancer ces travaux de thèse. Je remercie Carine Farina et Audrey Giménez pour leur sympathie, toujours avec le sourire, et qui m'ont fait prendre conscience que l'organisation des emplois de temps n'était pas une tâche facile.

Je remercie Bouchnafa Yahia le directeur de l'entreprise THTC et l'université de Nîmes qui ont contribué au financement de cette thèse. Merci à ma colocataire de bureau Lara Sassine, pour sa bonne humeur et ses encouragements, et son aide sur le logiciel 'Arc gis'.

Je voudrais remercier Mme Marie-clair Pierret et M Jean paul Laclau d'avoir accepté de relire cette thèse et d'en être rapporteurs. Je tiens à remercier M Jean-Dominique Meunier d'avoir accepté d'être président du jury. Je remercie également tous les membres du jury d'avoir accepté d'assister à la présentation de ce travail, particulièrement Mme anne Poszwa et M Norbert Clauer qui se sont déplacés respectivement de Nancy et depuis Strasbourg. Un grand merci pour M Pinatel pour sa vision valorisante de mon travail.

La réalisation de cette thèse aurait été beaucoup plus difficile sans ma chérie Nawel, qui a répondu toujours présente, et qui m'a beaucoup soutenu pendant ces trois années de thèse (pas toujours faciles), et qui m'a toujours poussé à aller de l'avant.

Un très grand merci pour mon ami et mon petit frère de substitution Mathieu Camoin, pour son soutien quotidien, pour sa disponibilité et sa grande gentillesse (Matic on garde contact frérot). Merci à mes amis Kamel, Boris, Fouad, Jérémy, Hamou, Yacine, et Julien.

Merci à mes parents qui de loin ont toujours eu confiance en moi, supporté, encouragé à avancer, et beaucoup aidé « j'ai de la chance de vous avoir ». Merci à mes deux frères Toufik et Lotfi pour m'avoir fait tant rire dans les périodes difficiles loin de la famille. Merci à Lynda et Kamel, merci à mes tantes et mes oncles et un grand merci aux grands parents.

Table des matières

Introduction générale	13
 Chapitre 1: Methods for PDO olive oils traceability: state of art and discussion about the possible contribution of strontium isotopic tool	 18
Abstract	19
Introduction	19
Organoleptic characteristics	21
Chemical characteristics	21
Volatiles	21
Organic matrices	22
Trace element	23
Chemometric methods	23
Stable isope ratio	24
Nest issue: identifying instead of discriminating the geographical origin	25
Conclusion	25
References	25
 Chapitre 2: Methodological development for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ measurement in olive oil and preliminary discussion of its use for geographical traceability of PDO Nîmes (France).	 31
Abstract	32
Introduction	32
Experimental procedure	33
Materials and reagents	33
Olive oil treatment for Sr content measurements	33
Olive oil treatment for Sr extraction	33
Sr extraction	34

Thermal ionisation mass spectrometer analysis (<i>Triton TI</i>).....	34
Results and discussion	34
Nimes olives oil (PDO)	34
Validation of the method on standard	35
First step of a Sr isotope study for identification of olive oils	36
Conclusion	37
References	37
 Chapitre 3: Geographic tracing of olive oil using constrain on Sr transfer in olive tree..	41
Abstract	42
Introduction	43
Study site	45
Methodology	47
Sampling	47
Samples traitment.....	50
Results and discussion	52
Results	52
Discussion	56
<i>Soils-roots transfer</i>	56
<i>Transfer within plants</i>	61
<i>From the plant to the finished product, olive oil</i>	64
Conclusion	65
References	68

Chapitre 4 : Caractérisation isotopique ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) des huiles d'olive AOP de Nîmes (France) - Application pour la traçabilité géographique75

Introduction	76
Sites d'étude	80
Approche expérimentale	82
Résultats et discussion	83
Les huiles AOP produites par les moulins situés au sud de la faille de Nîmes	85
<i>Le moulin des Costières (cf chapitre 3)</i>	85
<i>Le moulin de Pierredon</i>	86
<i>La coopérative de Beaucaire</i>	92
Les huiles AOP produites par les moulins situés au Nord de la faille de Nîmes	94
<i>Moulin de Pattus et moulin d'Uzès</i>	94
<i>Moulin Paradis, le moulin de Catresse et le moulin de Thomassot</i>	96
Coopérative de Villevieille (Sommières)	98
Composition isotopique en Sr ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) des huiles d'olive du Maroc	101
Conclusion	105
Références bibliographiques	107

Chapitre 5 : Influence de l'irrigation et des apports anthropiques sur la biodisponibilité du Sr, impact sur la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des oliviers116

Introduction	117
Site d'étude et conditions de culture	119
Matériels et méthode	124
Echantillonnage	124
Traitement des échantillons	126
Résultat	128

Sols	130
Compartiments végétaux	134
Amendements	136
Discussion	136
Sols	136
Sols-Racines	140
Végétaux	141
Conclusion	143
Références bibliographiques	146
Conclusion générale	152
Références bibliographiques	157

Liste des figures

Figure 1-1 : Summary of existing methods to discriminate olive oils geographical origin. See text for specification and examples for each of them	20
Figure 2-1 : Strontium extraction protocol in olive oil	34
Figure 2-2 : a) Map of Morocco and location of Oued Souss and Mabrouka olive oils ;b) Map of the Gard (France) department and location of olive oil mills recognized in the Nîmes PDO. Location of the area of production of the three studied olive mills; c) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ of PDO olive oils from Nîmes and olive oils from Morocco	35
Figure 2-3 : $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the standard samples: after pretreatment, after calcinations and without any manipulation	36
Figure 2-4 : Cycle Biogéochimique du Sr (Stewart <i>et al.</i> , 1998).....	40
Figure 3-1: Location of the studied site: a) Geological context (from Desauettes et Vigneron 1958; Barrière et al 1973) and b) satellite view of the costières plots; c) scheme of the Costières plots	47
Figure 3-2 : a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of soils collected at 40 cm in depth on the F plot of “the Costières” and of one soil collected outside the plot; b) Isotopic composition versus Sr concentration of these soils for the Picholine variety	54
Figure 3-3 : a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of soils and roots on the F plot of Costières taking into account the sampling period and the cultivated olive variety (Aglandau/Picholine); b) Evolution of the $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ ratios from the geological reservoir (soils) to the biological ones (roots, branches,leaves and olives) for the two studied olive variety; c) Comparison between $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ of leaves in the different plots and of the olive oil	60
Figure 3-4 : a) Mixing diagram $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ versus $1/\text{Sr}$ pointing out the relation between soils, roots, olives, irrigation water and Biovie; b) Mixing diagram $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ versus $1/\text{Sr}$ of pointing out the relation between soils, leaves, irrigation water and additive such as white clay (kaolinite) and copper oxide (Cu_2O)	61
Figure 3-5 : Mean $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios and transfer factor in the different geological and biological reservoirs,in added products and in olive oil for the Costières de Nîmes	67
Figure 3-6 : Extraction de l’huile d’olive par le système de presse traditionnel (Sacchi (2007))	74

Figure 4-1 : Géologie et périmètre de culture des parcelles AOP de Nîmes (tirets noirs). Localisation des moulins et coopératives étudiés et report des compositions isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive AOP de ces producteurs (l'erreur sur la mesure est en moyenne de 7.10^{-5})	82
Figure 4-2 : Coupe géologique NE-SW de la région d'Estézargues (Extrait d'Uzès carte géologique - N°939 - BRGM). Localisation des situations géologiques des parcelles de culture 'Fenouillère' et 'Pylône'	86
Figure 4-3 : Rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase soluble des formations géologiques des différentes parcelles et de l'huile d'olive du moulin de Pierredon.....	92
Figure 4-4 : Rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive AOP de Nîmes : homogénéité des valeurs en fonction de la localisation géographique et donc géologique des parcelles AOP de Nîmes ...	99
Figure 4-5 : La localisation des principales régions de culture des oliviers au Maroc (Moudjaoui, 2013)	102
Figure 4-6 : a) Carte géologique (de l'extrait de Fès-Boulemane et Meknès-Tafilalet carte géologique "Maroc") et localisation des parcelles de Oued souss; b) rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive Oued souss et Mabrouka	104
Figure 4-7 : Comparaison des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive AOP et du Maroc.....	105
Figure 5-1 : Plan de la parcelle d'expérimentation 'oliviers' de la SERFEL 'Gard, 30). Identification des parcelles de culture sélectionnées pour cette étude et des zones de prélèvements.....	120
Figure 5-2 : Coupe géologique NE-SW de la région des Costières (d'après Desautettes et Vigneron ; 1958, Barrière et al ; 1973). Localisation des situations géologiques des parcelles de culture de la SERFEL	121
Figure 5-3 : Typologie des sols de la parcelle 'Oliviers' de la Serfel (M. Arregui, ingénieur agronome à la SERFEL - communication personnelle).....	123
Figure 5-4 : a) Granulométrie dans les sols à 30cm de profondeur dans la parcelle de la SERFEL (M. Arregui, communication personnelle SERFEL) ;b) Rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la fraction soluble des sols prélevés à 30 cm de profondeur dans les différentes modalités d'irrigations sur la parcelle de la SERFEL.....	131
Figure 5-5 : a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des phases solubles des sols prélevés à différentes profondeurs dans la modalité non irriguée; b) dans la modalité moyennement irriguée; c) dans la modalité fortement irriguée	133
Figure 5-6 : a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée des sols et des racines non irriguées ; b) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée des sols et des racines moyennement irriguées ; c) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée, de la phase échangeable des sols et des racines non irriguées ; d) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	

de la phase carbonatée, de la phase échangeable des sols et des racines moyennement irriguées 135

Figure 5-7 : Schématisation de l'influence des amendements sur les sols des différentes modalités d'irrigation 139

Figure 5-8 : Le $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des racines, des branches et des feuilles dans les différentes modalités d'irrigations sur la parcelle de la SERFEL 143

Liste des tableaux

Tableau 2-1 : Microwave operating conditions	34
Tableau 2-2 : List of the studied samples (Variety, Production year, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, [Sr])	35
Tableau 2-3 : Data of standard-samples submitted to the olive oil treatment protocols	36
Tableau 3-1 : Treatments used during the olive growth on the Costières plots	49
Tableau 3-2: Sr isotopic composition ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) and Sr contents [Sr] in the different studied compartments (water, soils, branches, leaves, olives, oil, and added products) on the plots of the Costières	55
Tableau 4-1: Données isotopiques et concentrations en Sr des huiles d'olives AOP de Nîmes et des huiles marocaines	84
Tableau 4-2: Rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des formations géologiques prélevées au niveau des parcelles du moulin de Pierredon, des ajouts de culture et des eaux impliqués dans la production des huiles AOP de Pierredon	88
Tableau 5-1: Traitements utilisés sur la parcelle de la SERFEL	124
Tableau 5-2: Données isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents compartiments (eaux, sols, branches, feuilles, ajouts) de la variété picholine sur la parcelle de la SERFEL de la campagne d'échantillonnage 11/2012	128
Tableau 5-3: Données isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents compartiments (eaux, sols, branches, feuilles, ajouts) de la variété picholine sur la parcelle de la SERFEL de la campagne d'échantillonnage 09/2013	129
Tableau 5-4: Données isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents compartiments (branches, feuilles) de la variété aglandau sur la parcelle de la SERFEL de la campagne d'échantillonnage 11/2012.....	130

Introduction générale

L'huile d'olive occupe une place importante dans l'alimentation traditionnelle des pays méditerranéens et est connue pour sa valeur nutritionnelle ainsi que ses bienfaits sur la santé, notamment grâce à ses composés phénoliques (Konstantinidou *et al.*, 2010; Visioli, 2012). La reconnaissance de ses bienfaits sur la santé, mais aussi en cosmétique, conduit à une demande de plus en plus forte et donc à une production mondiale des huiles d'olive en augmentation continue depuis plusieurs années. Afin de mettre en valeur ce produit et valoriser leur activité, certains oléiculteurs se sont engagés dans la production d'une huile dite « de qualité », issue d'un terroir bien défini, et soumise à un cahier des charges spécifique. En Europe, ces productions de qualité respectant des critères stricts d'origine géographique et de procédés de production peuvent être reconnues. Deux appellations officielles, l'AOP (Appellation d'Origine Protégée) et l'IGP (Identification Géographique Protégée) permettent ainsi de protéger un produit et de lui donner un nom en fonction de la région dont il est issu. Aujourd'hui, la production oléicole européenne dispose d'une centaine d'AOP et IGP enregistrées. Ces labels confèrent au produit une valeur marchande plus importante et doivent permettre aux consommateurs de distinguer les huiles d'olive selon leurs provenances et leurs modes de production, et donc selon leur qualité. Dans le département du Gard et autour de l'agglomération nîmoise, de nombreux mouliniers produisent des huiles d'olive sous le label « AOP ». Ces dernières sont issues principalement de l'olive de type picholine cultivée uniquement sur des parcelles référencées par le décret du 17 Novembre 2004. A noter que cette variété d'olive n'est pas produite uniquement à Nîmes, mais également dans d'autres pays méditerranéen et n'est donc pas spécifique de l'huile d'olive AOP de Nîmes.

Aujourd'hui, les huiles d'olive, dont l'huile AOP de Nîmes, sont de plus en plus soumises à des contrefaçons, notamment la fraude sur la provenance du produit. Cette fraude à la provenance peut générer des risques sanitaires et économiques importants. Dans le but de

pallier à ces risques, différentes méthodes d'authentications sont évoquées dans la littérature, comme l'utilisation des caractéristiques organoleptiques des huiles, leur composition en acides gras et triglycérides (Tsimidou *et al.*, 1993; Ollivier *et al.*, 2006), les teneurs en éléments traces (Jimenez *et al.*, 2004; Benincasa *et al.*, 2007), ou encore les éléments volatiles (Cosio *et al.*, 2006; Haddi *et al.*, 2011). L'objectif du premier chapitre de ce mémoire est donc de recenser ces méthodes, en soulignant leurs forces et faiblesses. Ce chapitre sera présenté sous forme d'un article publié au journal «*European Food Research and Technology* » (Janin *et al.*, 2014). Cette article met en lumière que, bien que la discrimination soit possible, aucune de ces méthodes n'est efficace pour identifier l'origine géographique d'une huile d'olive d'une manière précise, notamment lorsqu'elle est issue d'une même variété d'olive. Seule la prise en compte du facteur 'géologique' (ou « terroir ») permettrait cette distinction.

De nombreux travaux de recherche ont permis de proposer une approche géochimique d'identification de l'origine géographique des produits agro-alimentaires d'origine végétale. En effet, en s'appuyant sur l'hypothèse de Graustein (1988), et l'étude de Blum *et al.* (2000), selon laquelle le transfert de l'élément Sr des sols aux plantes se fait sans modification isotopique, l'une des approches proposées pour identifier l'origine géographique d'un produit repose sur la caractérisation de son identité isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Cette approche, reliée à la géologie des zones de culture des végétaux, a été appliquée à de nombreux produits agro-alimentaires, tels que les vins, les jus d'orange, le ginseng, le café ou le riz (Lurton *et al.*, 1999, Kawasaki *et al.*, 2002, Choi *et al.*, 2008, Rummel *et al.*, 2010, Techer *et al.*, 2011). Ces études traitent principalement d'échantillons de plantes par digestion dans un appareil à micro-ondes pour dissoudre les composants organiques. L'objectif du second chapitre de ce mémoire est donc d'évaluer la faisabilité d'une telle identification sur l'huile d'olive. Cependant, la viscosité, la charge organique élevée, la teneur faible en strontium de cette

matrice (Benincasa *et al.*, 2007), et le caractère hydrophile du Sr, rendent inadaptés les protocoles de traitements et de purifications du Sr existants. La première démarche a donc consisté à mettre en place une méthodologie de traitement des huiles d'olive en vue de l'extraction de l'élément strontium. La mise en place d'un tel protocole a duré la majeure partie de la première année de thèse. En effet, plusieurs méthodes ont été testées en vain comme la minéralisation par microonde, l'ultracentrifugation, l'extraction liquide-liquide. La mise au point de la méthode a menée sur des huiles AOP de Nîmes produites en cours de l'année 2011, 2012 et 2013. La précision et la validité de la procédure ont été contrôlées par un standard NBS 987 certifié par le NIST (National Institute of Standards and Technology). La présentation de cette méthode de traitement et d'analyse se fera également sous la forme d'un article publié dans le journal « *Food Chemistry* » (Medini *et al.*, 2015).

Le Sr est un élément naturel présent dans les roches, les sols et les eaux à des teneurs variables, variant de 1ppm dans les roches ultrabasiques jusqu'à plus de 2000ppm pour les roches carbonatées (Faure, 1986), et inférieures à la dizaine de ppm dans les eaux souterraines (Singhal & Gupta, 2010). Sa composition isotopique (notée CI dans l'ensemble de ce document) exprimée en rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, dans ces réservoirs est très variable et liée à la nature intrinsèque du réservoir, à son âge et à son histoire géologique. En effet, le ^{87}Sr est radiogénique et provient de la décroissance radioactive β^- du ^{87}Rb , dont la demi-vie radioactive $t_{1/2}$ est de $48,8.10^9$ ans. Le Sr se retrouve également dans les végétaux à différentes teneurs selon l'espèce végétale et l'organe considéré (Coughtrey et Thorne, 1983). Afin d'étudier les processus d'assimilation et de transfert du Sr dans l'olivier, et *in fine* dans l'huile, et donc de valider l'hypothèse d'un transfert du Sr sans fractionnement isotopique des sols aux plantes, des mesures in-situ ont été menées sur un moulin AOP de Nîmes, le moulin « des Costières ». Les compositions isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ont été mesurées dans

l'environnement géologique et hydrologique du moulin, et dans différents compartiments de deux variétés d'olivier (Picholine et Aglandau). Le travail a été réalisé à l'échelle d'une parcelle et extrapolé à l'ensemble du domaine oléicole. Ce chapitre est sous forme d'article soumis au journal « *Food Chemistry* » en novembre 2014 (Medini *et al.*, *soumis*).

Les travaux menés sur le moulin « des Costières » ont permis de démontrer une identité quasi parfaite entre la CI de la phase soluble des sols de culture des oliviers et celle des différents organes de l'olivier, ainsi que de l'huile d'olive produite. Cette relation entre les composantes isotopiques en Sr de l'huile et celles des sols (phase carbonatée) souligne l'absence de fractionnement isotopique au cours du transfert de l'élément. La validation de l'approche à l'échelle de l'ensemble des producteurs d'huile AOP de Nîmes nécessite cependant une approche plus globale. Le chapitre 4 consiste à analyser les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des dix huiles d'olive AOP de Nîmes, et en une comparaison avec les composantes des formations géologiques des parcelles de culture. Cette approche a pour objectif de discuter de la pertinence de l'outil isotopique à la reconnaissance géographique du produit oléicole pour différents contextes géologiques. La comparaison des compositions isotopiques en Sr des huiles d'olive AOP de Nîmes et des formations qui constituent les parcelles de cultures donnant des résultats pertinents, la méthode de reconnaissance de l'origine géographique via les isotopes du Sr a été complétée par une analyse comparative portant sur deux échantillons d'huiles provenant du Maroc, et issues probablement de la variété Picholine, au même titre que les AOP de Nîmes. Ces travaux constituent le chapitre n°4 de ce mémoire, rédigé sous forme d'article pour une soumission prochaine (Medini *et al.*, *in prep*).

La dernière partie de cette étude consiste en une meilleure compréhension du cycle biogéochimique du Sr dans le contexte de la croissance des oliviers, via la signature isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents compartiments. Pour cette problématique, un suivi des composantes isotopiques du Sr dans des contextes de culture contrôlés et variables a été

réalisé. Ce suivi a été réalisé dans le cadre d'une étude menée par une station régionale d'expérimentation, la SERFEL sur laquelle mes travaux se sont appuyés. Trois modes de culture d'oliviers distincts ont été testés sur une même formation géologique et dans un environnement entièrement contrôlé (irrigation, traitements..). Le rôle de l'impact de ces différents paramètres sur la biodisponibilité du Sr est étudié plus précisément dans le cadre de l'irrigation des parcelles. Ce chapitre sera également présenté sous forme d'article en préparation (Medini *et al.*, *in prep*).

Le manuscrit sera donc divisé en cinq chapitres sous forme d'articles : le premier chapitre est un recensement des méthodes d'authentification des huiles d'olive existantes dans la littérature ; le chapitre explicite la méthode de traitement des huiles, d'extraction et de mesure de Sr dans la matrice huileuse mise en place et validée dans le cadre de cette thèse ; le troisième étudie le transfert du Sr dans l'olivier, et l'impact des produits de traitement ; le chapitre porte sur une étude générale de la signature isotopique du Sr de toutes les huiles d'olive AOP de Nîmes en faisant le lien avec la géologie locale (échelle géologique en Annexe 2) et comprend un test de reconnaissance des huiles d'olive de Nîmes par comparaison avec des huiles d'olives marocaines. Enfin, le dernier chapitre étudie l'impact de l'irrigation sur la biodisponibilité du Sr, et l'effet de certains paramètres de culture sur la signature isotopique en Sr ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) des sols de culture et des oliviers.

Chapitre 1

Methods for PDO olive oils traceability: state of art and discussion about the possible contribution of strontium isotopic tool

Myriam Janin · Salim Medini · Isabelle Técher

Received: 18 March 2014 / Revised: 19 June 2014 / Accepted: 23 June 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract Olive oil represents an important ingredient in the Mediterranean diet and is appreciated both for nutritional and sensory properties, often related to geographical origin and cultivar of olive fruits employed. Fraudsters trying to seek financial gain can adulterate the product causing economic repercussions and, sometimes sanitary risks. The “protected designation of origin” (PDO) label insures a relative protection of both consumers and honest producers, since it prescribes production techniques and specific geographical origin, but one of the main problems is to set down objective tools to control these specifications. We reviewed numerous studies using various analytical tools to discriminate PDO olive oils’ geographical origin depending on (1) volatiles compounds, (2) fatty acid and triacylglycerol composition, (3) trace elements, and/or (4) stable isotope ratios, but we highlighted that, despite their efficiency, none of them could provide an irrefutable identification. However, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signature revealed to be an optimal geographical fingerprint in the same purpose for other food products like cereals, orange juice, coffee or alcoholic beverages. Such $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ studies do not exist on olive oils, probably because of analytical issues, but we propose that developing complementary $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ studies could be a promising tool to reinforce the characterization of PDO olive oils.

Keywords Olive oil · Protected designation of origin · Analytical methods · Geographical origin · Fraud · Strontium

Introduction

Over the years, recognition of food authenticity has become an important issue in terms of quality and safety control of food products. Due to specific characteristics enhancing a high quality, such as the geographical origin and/or production processes, some products have higher market prices. Consequently, fraudsters trying to seek financial gain can aim to adulterate food by improperly mislabeling products, mixing high-quality ones with sub-standards, and/or non-observing specific production processes. In addition to economic aspects, such adulteration can sometimes cause severe risks for the public safety. For these reasons, to protect consumers and honest producers and to protect prescribed production techniques and specific geographical origin, the European Union Protected Food Name Schemes came into force in 1992 [1]. Legal regulations now require a labeling system for the protection of food names on a geographical basis. One of the three existing schemes is the protected designation of origin (PDO) used to describe foodstuffs production, processes and treatments using prescribed techniques in a specific geographical area. The other ones are (1) the protected geographical indication (PGI), for products having a geographical link in at least one of the stages of production, processing or preparation and (2) the certificate of specific character (CSC, also known as Traditional Specialty Guarantee) which not refers to a specific geographical origin, but defines traditional character in terms of production techniques or composition. To insure a real application of these laws, control tools

M. Janin (✉) · S. Medini · I. Técher
Laboratoire de Géochimie Isotopique Environnementale (GIS)/CEREGE, CNRS-UM 34, Université de Nîmes et d’Aix-Marseille, 150 rue Georges Besse,
30035 Nîmes Cedex 1, France
e-mail: myriam.janin@unimes.fr

S. Medini
e-mail: medinimalim88@yahoo.com

I. Técher
e-mail: isabelle.techer@unimes.fr

Published online: 03 July 2014

 Springer

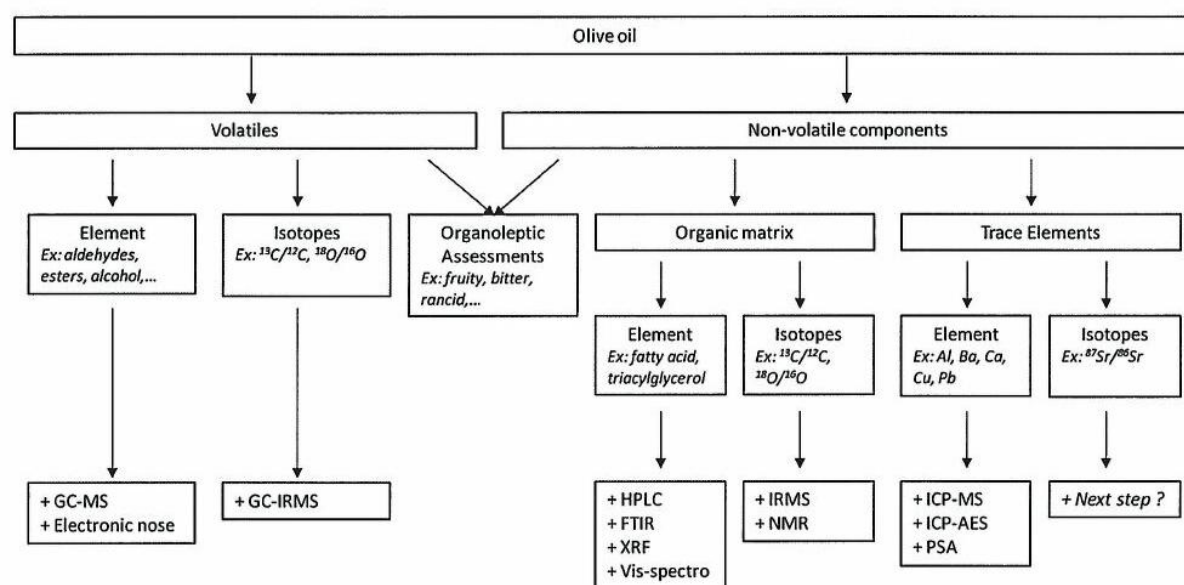


Fig. 1 Summary of existing methods to discriminate olive oils geographical origin. See text for specification and examples for each of them

have to be defined. These controls require the selection of specific compositional markers to trace any food samples from the producer to the consumer and ascertain what is claimed on the previously cited labels.

Strategies employed to detect fraudulent food products thus cover many different aspects and can be relied on various analytical methods. The PDO-approved agricultural products and foodstuffs that are produced, processed and prepared in a given geographical area, using a recognized know-how, are related to official specifications. Studies published on food authentication are usually based on food composition, which may vary with soil characteristics, vegetal variety, growing conditions, climate and/or fertilization. Such authentications are not irrefutable on the identification of the geographical origin and usually require comparative indicators. Consequently, they are more “discrimination” between original and fraudulent products, than real “identification” of the geographical origin, that is to say the characterization of a specific geographical area of the foodstuff production. This “identification” issue has been resolved for some agrifood products such as rice [2], wines [3–5] and coffee [6], using of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic ratio as geographical traceability marker. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio could be an optimal geographical fingerprint for food since (1) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ is a parameter reflecting local geological and geochronological settings and (2) strontium is actively involved in the metabolism of bio-organisms, and biological processes do not significantly fractionate strontium isotopes [7].

Extra virgin Olive oil represents an important ingredient in the Mediterranean diet [8] and is appreciated both

for nutritional and sensory properties, often related to geographical origin and cultivar of olive fruits employed. Mediterranean countries are the largest olive oil producers. Indeed, data collected from 1961 to 2006 point out that Spain, Italy and Greece took together account for around three-quarters of all olive oil produced worldwide [9]. Consequently, olive oil quality and purity is important from the possible repercussions on the economy of Mediterranean countries, but is also important from a nutritional point of view since epidemiological studies provided evidences that consumption of virgin olive oil contributes to the lower incidence of coronary disease due to the presence of some antioxidant micronutrient. Many types of extra virgin olive oils are produced by mixing from different cultivar, but numerous growers have chosen high-quality production and European labeling in order to satisfy consumer requirements. PDO olive oils refer to specific areas and process of production, and one of the major issues is the traceability from the producers to the consumers. To guarantee this high-quality traceability, a specific regulation applies [10] and numerous accurate and sensitive analytical methods are developed in order to insure product authenticity. The different methodologies range from “simple” organoleptic characterization, to DNA markers, volatiles compounds, trace element contents and light isotopes ratios [11]. The aim of this paper is (1) to provide an overview of existing methodology for discrimination of PDO in olive oils (summarized in Fig. 1), with a focus on their respective strengths and weaknesses, (2) to discuss the promising results given by $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ identification on various food products and (3)

to evaluate the existence and feasibility of complementary $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ studies on olive oils.

Organoleptic characteristics

The sensorial quality of a virgin olive oil is determined by a series of positive (fruity, bitter, pungent) and negative (fusty, winy-vinegary, musty, muddy, rancid) attributes that characterized it. The intensities of these olive oil attributes are quantified by trained assessors able to discriminate oils specificities. The official methodology is called panel test and is regulated by the International Olive Oil Council (IOOC) trade norm [12] and the European Commission Regulation [13]. The aim of the assessors is to provide an intensity scale of each characteristic (fruity, bitter, etc....). The European commission provides a decision tree according to which the testing laboratory (recognized by the IOOC) can verify whether an olive oil is consistent with a certain category or not [12].

Oil quality is directly related with both agricultural aspects (olive fruit quality, grade of ripeness, handling during harvesting [14]) and manufacturing practice (oil processing, storage condition [15]). The organoleptic evaluation of olive oil thus is a very important consideration regarding a consumer's refusal toward defect-free oils, but oil's rejection may be an objective issue, and not just a matter of preferences. For instance, Perez-Camino et al. [16] revealed that the use of olive fruits with fermentive alteration causes the increase in concentration of fatty acid alkali esters (FAAEs), resulting in musty, winy-vinegary or muddy attributes. Gomez-Coca et al. [17] related the FAAEs concentrations of olive oil with sensory classification and established a connection between the presence of large quantities of FAAEs and fermentative organoleptic defects. In the same way, Lopez-Feria et al. [18] quantified the main sensory defect and one positive attribute of virgin olive oils using the direct coupling headspace–mass spectrometry (HS–MS) and multivariate calibration techniques. Even if instrumental alternatives must be developed to get further these first appreciations, sensory determination remains a fundamental method that is notably able to mark negative sensorial attributes.

The main point here is that low-quality olive oils with weak organoleptic defects are often the objects of illegal practices opposite to PDO requirement (e.g., process and production in a given geographical area using recognized know-how). However, even if the use of sensory attribute is successful to detect adulteration of oil samples, its capability to provide clear identification seems limited. Indeed, this sensorial analysis may include several disadvantages such as: lack of references standards, problems of correspondence of intensity between attributes of complex

blends, poor repeatability and subjectivity [19]. Moreover, this method requires the adequate panelist's training, which can turn out to be lengthy and expensive.

Olive oil is one of the rare food products that undergo a standards sensory evaluation on top of chemical analysis. Unfortunately, this information is largely insufficient for characterizing this oil in the frame of PDOs. No chemical parameter is set for PDO traceability and authentication of olive oils [13], but in the past few years, numerous studies reported on use of analytical tools for discrimination of PDO products (detailed in next section). These studies were performed using extremely varied physical–chemical determinations, often in association with chemometric analyses.

Chemical characteristics

Volatiles

The sensorial attributes of olive oils are mainly generated by volatile constituents including carbonyl compounds (aldehydes, ketones, etc....), alcohols, esters and hydrocarbons [20, 21]. These attributes may have a high influence on the flavor of olive oil [22, 23]. Thereby, the potential discrimination of geographical origin of olive oil can be based on their volatile profile characterization [24, 25]. The detection of volatile compounds can be achieved either by analytical techniques such as gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) or by electronic gas sensor array system commonly called “electronic nose.”

Most of the techniques directed to the identification and quantification of volatiles constituents are related to the analysis of the headspace of the sample through GC–MS, eventually with some specific variant. The headspace (HS) technique analyzes the vapors (gas phase) in equilibrium with the oil (liquid phase) and requires GC–MS coupled with direct thermal extraction [26] or solid-phase microextraction (SPME) [23, 27–29]. This technique allows the detection of numerous volatile species such as aldehydes, terpenes and alcohols. Depending on the specific concentration of these substances, they give the specific aromatic profile of one olive oil. For instance, hexanal and nonanal (aldehydes family) give an herb olive aroma [21, 30], while ethanol gives the smell of ripened olive [31]. In the frame of oil characterization, the HS–MS techniques has been applied with success for the determination of adulteration such as mixing of olive oil with hazelnut oil, sunflower oil and/or olive–pomace oil [32, 33], the detection of contaminants (such as benzene, toluene, ethylbenzene, xylene isomers and styrene [34] and the differentiation between different geographical origin, as for instance for extra virgin olive oils from different Mediterranean areas [35].

GC–MS techniques are expensive and time consuming, so a variety of new sensor devices, as well as new techniques, recently emerged to help manufacturer in the field of quality control. Several studies demonstrated the potential of electronic nose in food-relevant applications for the quality control of olive oil [36, 37] and for the verification of geographical origin [24, 25]. The interaction of volatiles on the sensing element causes changes in electrical resistance of the sensor, changes converted into odor fingerprint and then interpreted using the appropriate mathematical technique. When compared to the classic method (GC–MS and companion techniques), the electronic nose seems to be a powerful complementary tool and provides promising perspectives for the use of a low-cost and rapid system for the verification of the quality and geographical origin of the olive oils according to their volatile profile [25, 38]. For instance, Haddi et al. [25] pointed out the efficiency of the approach in the discrimination of Moroccan olive oils samples produced from olive cultivars in five different areas. The methodology also provides such discrimination among a same olive oil variety [38].

Organic matrices

Previous studies demonstrated the feasibility of olive oils characterization using their fatty acid and triacylglycerol compositions [39–42]. Because of the variability in fatty acid (oleic, linoleic, palmitic, stearic ...) and triacylglycerol (e.g., three fatty acids carbon chains fixed on a glycerol group) compositions in oil samples, statistical methods can be used to describe PDO characteristics. Such chemometric treatments are detailed hereunder.

To determine the origin of five French olive oils recognized by a RDO (registered designations of origin that is a French designation) or a PDO, Ollivier et al. [40, 42] performed separate analyses of their fatty acid and triacylglycerol composition. This approach was realized on different olive oil varieties. First, olive oil samples in *n*-heptane were transmethyated with a cold and fatty acid methyl esters (FAME) and analyzed on a gas chromatograph (GC) equipped with a split/split-less injector and flame ionization detector (FID). Triacylglycerols were analyzed by a high-performance liquid chromatography (HPLC) system where a separation in a flow rate linear gradient according to the specific carbon composition. Triacylglycerol-specific identification was carried out with the help of standards and by comparison with literature data. A linear discriminant analysis (LDA) applied to the resulting dataset (given as a % of the total composition) allowed a good discrimination between samples of French olive oils from different areas. Ollivier and co-workers studies demonstrated that it was possible to characterize olive oils from the same country using their fatty acid and triacylglycerol compositions,

but only samples with different varietal compositions were perfectly differentiated. Samples with varieties in common were misclassified implying that fatty acid and triacylglycerol composition of olive oils cannot be used as a single geographical “marker as evidenced by other studies on fatty acid composition” [39, 41].

Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy is a rapid and nondestructive analytical tool for the study of oils, which requires a minimal sample preparation. FTIR is also an excellent tool for quantitative analysis since the intensities of spectral bands are proportional to concentration. For this reason, FTIR has been used, among others, to distinguish olive oils from different geographical origin [43–45].

FTIR spectra are obtained from the absorbance at infrared wavelengths of an olive oil thin film created by direct deposit between two well-polished disks. Each selected spectral region (peak or shoulder) represents a structural or functional group information, either about the lipids or minor components of the oil samples. This technique is especially powerful to highlight mixing of olive oil with low-cost edible oils. Consequently, FTIR is mainly used to detect adulteration and to establish the authenticity of olive oil, as well as near-infrared spectroscopy (NIR) [46–48] and Fourier transform Raman spectroscopy (FT-Raman) [47, 49]. For example, Bendini et al. [44] determined free fatty acid (FFA) content on 84 monovarietal olive oil samples from eight Italian regions and combined their results to multivariate analysis to discriminate the majority of the samples coming from three of them (Emilia Romagna, Sardinia and Sicilia). In the same way, De Luca et al. [45] succeeded in the classification of different olive oils produced from the same variety, but in several regions (areas) in Morocco.

X-ray fluorescence (XRF) is a well-established analytical technique for the determination of trace, minor and major elements, in a large variety of matrices [50]. However, the determination of organic content by XRF remained a difficult task since the X-ray cross sections for light elements are very low. However, Bortoletto et al. [51] developed an innovative technique based on X-ray scattering and using principal component analysis (PCA) to classify complex organic matrices of different vegetable oils. With this new procedure, the X-ray spectra are processed through PCA, and a classification is obtained as a function of the nature of the oil (olive, corn, soybean...). However, this classification is not performed for geographical discrimination, but to verify oil adulteration (water addition...) with the possibility of distinguishing different types of oil having variable fatty acids contents (corn, soybean, olive, etc.). Finally, this procedure seems to be very promising, especially with the possibility of performing *in situ* measurements with a portable instrument, but the issue of PDOs authentication remains.

Recently, Pizarro et al. [52] proposed a strategy to evaluate the potential of visible spectroscopy fingerprints combined with multivariate data analyses in the discrimination of Spanish olive oils regarding their geographical origin. Indeed, the potential of UV–visible spectroscopy as fingerprint technique in combination with chemometrics had been examined recently on wines [53] or coffees [54] and seems to be another alternative for reducing cost and time in samples preparation and analysis. Pizarro et al. [52] obtained a perfect discrimination between the defined categories after performing PLS and LDA (see later for details) on samples of various varieties and areas, which emphasizes the feasibility of the proposed strategy.

Trace element

The normal range of organic compounds in food may vary with fertilization, climatic conditions and history of the field, species, as well as geographical location and soil characteristics. Taking into account all these imprints, it is sometimes difficult to consider only organic compounds to discuss the authenticity of a food [55]. Consequently, the content of selected minerals and trace elements, known to reflect the environmental growing conditions, proved to be useful to discriminate the geographical origin of food samples such as wine [56, 57], potatoes [58–60], pistachios [61] or even PDO cheese samples [62].

Jimenez et al. [63] assumed a correlation between the elemental content of Spanish olive oils and their origin and performed a pilot study on the geographical characterization of these oils using trace elements contents. Trace elements in fat and oils are particularly difficult to analyze, and usually, they required a massive sample treatments in order to eliminate the organic matrix (wet, dry or microwave digestion) because of negative effects on inductively coupled plasma techniques analyses. However, alternative techniques are available for introduction of oil samples directly into the ICP, such as online emulsification. The analytical procedure used inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP–MS) for multielemental determination of Al, Ba, Bi, Ca, Cu, Mn, Pb and Sn, coupled to a flame atomic absorption spectrometer (FAAS) for the determination of Na, K and Mg (because of numerous interferences by ICP–MS). The statistical analysis carried out showed that Al, Ba and Mn have a differentiating ability, which permits separation of olive oils from different Spanish cultivars according to their geographical origin.

However, in 2005, Zeiner et al. [64] used atomic emission spectrometry (ICP–AES) and electro thermo atomization–atomic absorption spectrometry (ETA–AAS—for concentrations below the LOD of ICP–AES) in the same sample digest and analyzed Al, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Na, Ni, Pb and Zn contents. They highlighted differences in

Al, Co, Cu, K and Ni contents according the geographical origin of fourteen Croatian olive oils. Consequently, multi-elemental measurements seem to be a powerful tool of discrimination between different olive oils when associated to statistical data analysis to extract the relevant information.

Since then, numerous studies used ICP or AAS techniques to check the authenticity of olive oils in terms of geographical origin such as Benincasa et al. [65] on Italian oils (ICP–MS equipped with a dynamic reaction cell), Carmen et al. [66] on Spanish oils (ETA–AAS) or Araghipour et al. [67] on oils from five different European countries (proton transfer reaction–MS). These approaches sometimes succeeded in the recognition of an olive oil country of origin, but were not decisive in terms of traceability from a specific area of production.

In the same way, the presence of trace metals in olive oils may be due to both endogenous factors (like plant metabolism) and environmental factors, so the heavy metals composition alone could reflect a specific geographical origin. Some specific techniques such as potentiometric stripping analysis (PSA) were performed to detect heavy metals. However, Farhan et al. [68] showed that the composition in heavy metals may be altered during production processes (oil extraction, packaging ...) and cannot be representative of the origin of the product. Consequently, PSA-similar analyses are limited to the determination of some trace metals of nutritional and toxicological interest [69, 70].

Chemometric methods

Volatiles content, organic components, trace element profile and all possible chemical descriptors were used to establish differences between PDOs olive oils. Due to the large number of variables involved, multivariate data analysis was required to extract the relevant information. Two types of statistical procedures may be applied to discriminate the sources of variability. The “untargeted method” consists in a samples classification without any a priori knowledge of their origin, while a “targeted method” is used to establish the similarity of an unknown sample toward authentic material.

The most common untargeted procedures used are:

- (1) The PCA: the objective is to identify in the hyper-space of the variable the direction, on which most of the information is retained. In other words, using projections of the dataset, it is possible to demonstrate similarities and differences by determining at the same time, which variables are principally involved [28, 51, 63].
- (2) The cluster analysis (CA): the objective is to group the objects in clusters by measuring the distance or the

similarities between them, with the assumption that the nearness of objects is correlated with the similarity of their properties [45].

- (3) The analysis of variance (ANOVA): the objective is to analyze the differences between two or more group means [71].

The most common targeted procedures used are:

- (1) The LDA: is based on the assumption that the samples distribution is multivariate normal, and the covariance matrix of each category is not significantly different from one case to another. In other words, the samples are assigned to the category with the lowest differences in the hyperspace of the previously identified variables. The limit between two categories is a linear function [42, 65, 72].
- (2) The partial least square (PLS): is an asymmetric method establishing a correlation analysis between two dataset and permitting to predict one set from another by estimating the values of one variable from a set of independent variables [18, 52].

All these methods have been applied to discriminate olive oil samples from different geographical origin. They may be applied on volatiles, organic or trace elements profiles, as well as stable isotope ratios.

Stable isotope ratio

It is now established that the content of selected volatiles, molecules or selected elements in olive oils reflects the soil type, the environmental growing conditions and the manufacturing processes, allowing discrimination depending on their geographical origin. The most frequently occurring elements in organic matrices do not include radioactive isotopes, so the content in stable isotopes of different origin may reflect local agriculture practices and climatic characteristics and thus may provide unique and representative fingerprints reliable to different PDOs. Because of that, stable isotope ratio (SIR) has been demonstrated to be a good descriptor for different food products [73]. In case of olive oils, Carbon, Oxygen, Hydrogen and Phosphorus isotope ratios have been used with success for the characterization of their geographical origin. Mainly, by combining stable isotopes and element data, a good discrimination between various varieties of olive oils can be obtained [74].

Mass spectrometer (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) are useful technique for acquiring data on the origin of food products [55]. Mass spectrometry previously described (e.g., ICP-MS) does not usually provide the sensitivity or the precision required to detect slight

differences in natural isotopic abundance. Such precise measurements thus require a Multicollector magnetic sector mass spectrometer, also called isotopic ratio mass spectrometer (IRMS). IRMS is often used for $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ by measuring their atomic mass according to magnetic deviation. Several interfaces exist to introduce samples into the IRMS. The most commonly used are elemental analyzers (EA-IRMS) and gas chromatographs (GC-IRMS). EA-IRMS involves a sample pre-treatment and is appropriate for the analysis of nonvolatile substances (e.g. fatty acids for example). However, while EA-IRMS provides only an average value for the entire sample, GC-IRMS can provide additional information by analysis of a complex mixture. GC-IRMS exhibits a higher discriminatory power by implies a volatile form of the samples.

The $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ may be measured using EA-IRMS or gas chromatography/combustion-IRMS (GC/C-IRMS) in bulk olive oil or in some sub-component such as individual fatty acids. Royer et al. [75] suited the fatty acids $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ of French, Italian and Greek olive oil samples and achieved a regional classification of the Greek ones. Angerosa et al. [76] evidenced a relation between $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ and latitude of olive oils from Italy, Greece, Spain, Tunisian, Morocco and Turkey, suggesting as cofactors of variability the distance from the sea and environmental conditions during the growing of plants. This confirms that these SIRs are good tools for characterizing the geographical origin of different olive oils, assuming that they are correlated with the climatic and geological characteristics of the country of origin.

NMR allows the measurement of, among others, ^1H , ^{13}C and ^{31}P and is commonly used in combination with IRMS for SIR measurements [55]. NRM is less sensitive than MS (ng range instead of pg range for MS), but allows the detection of important nuclides from organic compounds such as ^1H . Consequently, ^1H and ^{13}C NMR fingerprints are commonly investigated in olive and may be combined with chemometric analysis for the classification and the prediction of the geographical origin [77–81]. Petrakis et al. [82] add ^{31}P to ^1H NMR fingerprint to characterize Greek virgin olive oils. Recently, Dais and Hatzakis [83] provided a critical review of NMR method to characterize olive oils in terms of quality, adulteration, geographical origin and botanical origin. They listed numerous studies for the discrimination of PDO olive oils on a regional (sites with the same geographical region), national (different region within the same country) and even on an international scale. One of their main conclusions is that there is no integrated approach to obtain irrefutable information about PDOs on a national, and perhaps international scale, since a multitude of factors has to be taken into consideration, like pseudo-climatic conditions (climate, soil, etc.) ripeness of olives closely connected with the time of collection, genetic factor (cultivar) and/or agronomic conditions (irrigation).

Studies with other chemical tracers (see previous sections) lead to the same conclusion. Many factors influence the food composition, which often limits a real authentication (e.g., identification) of PDOs products to only discriminate known samples.

Next issue: identifying instead of discriminating the geographical origin

As evidenced, traceability and authenticity of olive oils have been the objects of numerous studies using various physical–chemical determinations in association with chemometric analyses. However, none of these characteristics seems to be irrefutable in the identification of the geographical origin of these oils without comparative indicators. Such issues have already been resolved for other food products such as dairy products [84, 85], rice [2–86], cereals [87], meat [88], orange juice [89], coffee [6, 90] and alcoholic beverages [3, 5, 91]. Among the studied parameters, the ratios of the isotopic abundances of light (H, C, N, O, S) and Sr elements provided the best promising results for these purposes. In these last years, the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio has been increasingly used as an optimal geographical fingerprint for food and animals [92]. For instance, numerous works on German [3], French [4], Italian [5] and Argentinean [93] wines have demonstrated a significant correlation between the value of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ in wines and their respective values in soils. In the same way, Sr isotopes in Reunion and New Caledonian coffee beans appear to be correlated with the geological patterns of their country of origin [6]. Consequently, the use of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic ratio as geographical traceability marker could be of great interest in the PDO olive oils authentication.

To our knowledge, such $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ studies do not exist on any vegetable oil, probably because of analytical issues. Indeed, a vegetable oil (including olive oils) is a complex matrix with higher viscosity and organic load than the food products cited earlier. In addition, olive oils seem characterized by low Sr content [65]. The development of a specific methodology of Sr purification thus has to be performed prior to Sr isotopic ratio analysis. This issue, and the possibility to perform $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ analyses on olive oil samples, will be the object of a future paper [Medini et al., Methodological development for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ measurement in olive oil—application for geographical traceability of PDO Nîmes (France)].

Conclusion

At the present time, recognition of food authenticity is an important issue in terms of economic aspects and possible sanitary risks. Consequently, control tools are defined

to insure a real traceability from the producer to the consumer. The scientific work on the authenticity and quality of olive oil is an ever-growing area, and studies commented upon throughout this review evidenced that both organoleptic assessment and analytical methods are important to establish the quality and the origin of PDO olive oils.

Negative sensorial attributes may be connected to fermentative alteration and then to low-quality oils. Discriminate oils specificities for trained assessors may be a way to detect adulteration and mislabeling. In addition, specificities in olive oil composition may also be interpreted as “marker” to insure product authenticity. Numerous studies reported on use of various analytical tools for discrimination of PDO products regarding (1) volatiles compounds, (2) fatty acid and triacylglycerol composition, (3) trace elements and/or (4) SIRs. However, no specific chemical parameter revealed really set for PDO traceability and authentication of olive oils since this review evidenced that the current methods allow discrimination of PDO olive oils, eventually from adulterated oils, but do not provide clear geographical indications. Indeed, basing on the traditional methods, discrimination seems sometimes possible between olive oils from different countries, but at the moment, no analytical tool is effective in discriminating the PDO origin for oils from two near regions of production. Consequently, further research is necessary to insure a real control on the labeling system, such as PDO’s, protecting olive oils on a geographical basis and the use of Sr isotopic ratios could here provide promising results. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signature revealed an optimal geographical fingerprint in the same purpose for other food products like cereals, orange juice, coffee or alcoholic beverages and thus could be a promising alternative to existing methods for the characterization of PDO olive oils, even if the development of a specific methodology of Sr purification has to be performed.

Acknowledgments The authors are indebted to the two reviewers who helped improve the manuscript, and especially would like to thank Nicola Caporaso for his constructive comments. This study has been carried out with support from the “Centre de Recherche et d’Enseignement de Géosciences de l’Environnement” and the “Université de Nîmes”.

Conflict of interest None.

Compliance with Ethics Requirements This article does not contain any studies with human or animal subjects.

References

1. European Commission Regulation (1992). EEC No. 2081/92 on the protection of geographical indications and designations of origin for agriculture products and foodstuffs. Off J Eur Commun, L208
2. Kawasaki A, Oda H, Hirata T (2002) Determination of strontium isotope ratio of brown rice for estimating its provenance. Soil Sci Plant Nutr 48:635–640

3. Horn P, Schaaf P, Holbach B, Hoelxl S, Eschnauer H (1993) ^{87}Sr and ^{86}Sr from rock and soil into vine and wine. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 196:407–409
4. Barbaste M, Robinson K, Guilfoyle S, Medina B, Lobinsky R (2002) Precise determination of the strontium isotope ratios in wine by inductively coupled plasma sector field multicollection mass spectrometry (ICP-SF-MC-MS). *J Anal At Spectrom* 17:135–137
5. Durante C, Baschieri C, Bertacchini L, Cocchi M, Sighinolfi S, Silvestri M, Marhetti A (2013) Geographical traceability based on $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ indicator: a first approach for PDO Lambrusco wines from Modena. *Food Chem* 141:2779–2787. doi:10.1016/j.foodchem.2013.05.108
6. Techer I, Lancelot J, Descroix F, Guot B (2011) About Sr isotopes in coffee «Bourbon Pointu» of the Réunion Island. *Food Chem* 126:718–724
7. Stewart B, Capo RC, Chadwick OA (1998) Quantitative strontium isotope models for weathering, pedogenesis and biogeochemical cycling. *Geoderma* 82:173–195
8. Anania G, Pupo D'Andra MR, (2008) The global market for olive oil: actors, trends, policies, prospects and research needs. TRADEAG—Agricultural Trade Agreements—working papers
9. Buckland G, Gonzalez CA (2010) Trends in olive oil production, supply and consumption in Mediterranean countries from 1961 to present day. In: Preedy VR, Watson RR (eds) *Olives and olive oil in health and disease prevention*. Academic Press, London, pp 689–698
10. European Commission Regulation (2009) EEC No. 182/2009 on the marketing standards for olive oil. *Off J Eur Commun* L63
11. Perri E, Benincasa C, Muzzalupo I (2012) Olive oil traceability. In: *Olive germplasm—the olive cultivation, table olive and olive oil industry in Italy*. <http://www.intechopen.com/download/get/type/pdfs/id/41344>
12. International Olive Council (2011) Sensory analysis of olive oil. Method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. COI/T. 20/Doc. No 15/Rev 4:1–14
13. European Commission Regulation (1991) EEC No. 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis, and subsequent amendments. *Off J Eur Commun* L248:1–102
14. García JM, Sella S, Pérez-Camino MC (1996) Influence of fruit ripening on olive oil quality. *J Agric Food Chem* 44:3516–3520
15. Luchetti F (2000) Introduction. In: Harwood J, Aparicio R (eds) *Handbook of olive oil—analysis and properties*. An Aspen Publication, Gaithersburg, pp 1–16
16. Perez-Camino MC, Moreda W, Mateos R, Cert A (2002) Determination of esters of fatty acids with low molecular weight alcohols in olive oils. *J Agric Food Chem* 50:4721–4725
17. Gomez-Coca RB, Moreda W, Perez-Camino MC (2012) Fatty acid alkyl esters presence in olive oil vs organoleptic assessment. *Food Chem* 135:1205–1209. doi:10.1016/j.foodchem.2012.05.053
18. Lopez-Feria S, Cardenas S, Garcia-Mesa JA, Fernandez-Hernandez A, Valcarcel M (2007) Quantification of the intensity of virgin olive oil sensory attributes by direct coupling headspace-mass spectrometry and multivariate calibration techniques. *J Chromatogr A* 1147:144–152. doi:10.1016/j.chroma.2007.02.107
19. Lawless HT (1999) Descriptive analysis of complex odors: reality, model or illusion? *Food Qual Prefer* 10:325–332
20. Flath RA, Forrey RR, Guadagni DG (1973) Aroma components of olive oil. *J Agric Food Chem* 21:948–952. doi:10.1021/jf60190a030
21. Aparicio R, Morales MT, Alonso MV (1996) Relationship between volatile compounds and sensory attributes of olive oils by the sensory wheel. *J Am Oil Chem Soc* 73:1253–1264
22. Procida G, Giomo A, Cichelli A, Conte LS (2005) Study of volatile compounds of defective virgin olive oils and sensory evaluation: a chemometric approach. *J Sci Food Agric* 85:2175–2183. doi:10.1002/jsfa.2122
23. Kalua CM, Allen MS, Bedgood DR Jr, Bishop AG, Prenzler PD, Robards K (2007) Olive oil volatile compounds, flavor development and quality: a critical review. *Food Chem* 100:273–286. doi:10.1096/j.foodchem.2005.09.059
24. Cosio MS, Ballabio D, Benedetti S, Gigliotti C (2006) Geographical origin and authentication of extra virgin olive oils by an electronic nose in combination with artificial neural networks. *Anal Chim Acta* 567:202–210
25. Haddi Z, Amari A, Ali AO, Bari NE, Barhoumi H, Maaref A, Jaffrezic-Renault N, Bouchikhi B (2011) Discrimination and identification of geographical origin virgin oil by an e-nose based on MOS sensors and pattern recognition techniques. *Proced Eng* 25:1137–1140
26. Zunin P, Boggia R, Lanteri S, Leardi R, De Andreis R, Evangelisti F (2004) Direct thermal extraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of volatile compounds of extra-virgin olive oils. *J Chromatogr A* 1023:271–276
27. Cavalli JF, Fernandez X, Lizzani-Cuvier L, Loiseau AM (2004) Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: identification of quality-freshness markers. *Food Chem* 88:151–157
28. Cimato A, Dello Monaco D, Distanti C, Epifani M, Siciliano P, Taurino AM, Zuppa M, Sani G (2006) Analysis of single-cultivar extra-virgin olive oils by means of an electronic nose and HS-SPME/GC/MS methods. *Sens Actuators, B* 114:674–680. doi:10.1016/j.snb.2005.06.058
29. Cajka T, Riddellova K, Klimankova E, Cerna M, Pudil F, Hajšlová J (2010) Traceability of olive oil based on volatiles pattern and multivariate analysis. *Food Chem* 121:282–289
30. Morales MT, Luna G, Aparicio R (2005) Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chem* 91:293–301
31. Angerosa F, Basti C, Vito R (1999) Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars. *J Agric Food Chem* 47(3):836–839. doi:10.1021/jf980911g
32. Lorenzo IM, Perez Pavon JL, Fernandez Laespada ME, Garcia Pinto C, Moreno Cordero B (2002) Detection of adulterants in olive oil by headspace-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 945:221–230. doi:10.1016/S0021-9673(01)01502-3
33. Pena F, Cardenas S, Gallego M, Valcarcel M (2005) Direct olive oil authentication: detection of adulteration of olive oil with hazelnut oil by direct coupling of headspace and mass spectrometry, and multivariate regression techniques. *J Chromatogr A* 1074:215–221. doi:10.1016/j.chroma.2005.03.081
34. Pena F, Cardenas S, Gallego M, Valcarcel M (2004) Direct screening of olive oil samples for residual benzene hydrocarbon compounds by headspace-mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 526:77–82. doi:10.1016/j.aca.2004.07.073
35. Cerrato Oliveros C, Boggia R, Casale M, Armanino C, Forina M (2005) Optimization of a new headspace mass spectrometry instrument: discrimination of different geographical origin olive oils. *J Chromatogr A* 1076:7–75. doi:10.1016/j.chroma.2005.04.020
36. Cosio MS, Ballabio D, Benedetti S, Gigliotti C (2007) Evaluation of different storage conditions of extra virgin olive oils with an innovative recognition tool built by means of electronic nose and electronic tongue. *Food Chem* 101:485–491
37. Panagoua EZ, Sahgal N, Magan N, Nychas GJE (2008) Table olives volatile fingerprints: potential of an electronic nose for quality discrimination. *Sens Actuators, B* 134:902–907
38. Escuderos ME, Garcia M, Jimenez A, Horrillo MC (2013) Edible and non-edible olive oils discrimination by the application of a sensory olfactory system based on tin dioxide sensors. *Food Chem* 136:1154–1159. doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.051

39. Tsimidou M, Karakostas K (1993) Geographical classification of Greek virgin olive oil by non-parametric multivariate evaluation of fatty acid composition. *J Sci Food Agric* 62:253–257. doi:10.1002/jsfa.2740620308
40. Ollivier D, Artaud J, Pinatel C, Durbec JP, Guerere M (2003) Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *J Agric Food Chem* 51:5723–5731
41. Aranda F, Gomez-Alonso S, Rivera del Alamo RM, Salvador MD, Fregapane G (2004) Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: comparison with other Spanish cultivars. *Food Chem* 86:485–492
42. Ollivier D, Artaud J, Pinatel C, Durbec JP, Guerere M (2006) Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chem* 97:382–393
43. Tapp HS, Defernez M, Kemsley EK (2003) FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *J Agric Food Chem* 51:6110–6115
44. Bendini A, Cerretani L, Di Virgilio F, Belloni P, Bonoli-Carognin M, Lercker G (2007) Preliminary evaluation of the application of the FTIR spectroscopy to control the geographic origin and quality of virgin oils. *J Food Qual* 30:424–437. doi:10.1111/j.1745-4557.2007.00132.x
45. De Luca M, Tarouzi W, Ioel G, Kzaiber F, Oussama A, Oliviero F, Tauler R, Ragno G (2011) Derivative FTIR spectroscopy for cluster analysis and classification of morocco olive oils. *Food Chem* 124:1113–1118. doi:10.1016/j.foodchem.2010.07.010
46. Christy AA, Kasemsumran S, Du Y, Ozaki Y (2004) The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Anal Sci* 20:935–940
47. Yang H, Irudayaraj J, Paradar MM (2005) Discriminant analysis of edible oils and fats by TIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. *Food Chem* 93:25–32. doi:10.1016/j.foodchem.2004.08.039
48. Galtier O, Dupuy N, Le Dreau Y, Ollivier D, Pinatel C, Kister J, Artaud J (2007) Geographic origins and compositions of virgin oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *Anal Chim Acta* 595:136–144. doi:10.1016/j.aca.2007.02.033
49. Beaten V, Meurens M (1996) Detection of virgin olive oil adulteration by Fourier transform Raman spectroscopy. *J Agric Food Chem* 44:2225–2230
50. Jenkins R (1999) X-ray fluorescence spectrometry, 2nd edn. Wiley, New York
51. Bortolotto GG, Pataca LCM, Bueno MIMS (2005) A new application of X-ray scattering using principal component analysis—classification of vegetable oils. *Anal Chim Acta* 539:283–287
52. Pizarro C, Rodriguez-Tecedor S, Perez-del-Notario N, Esteban-Diez I, Gonzalez-Saiz JM (2013) Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. *Food Chem* 138:915–922. doi:10.1016/j.foodchem.2012.11.087
53. Urbano M, Luque De Castro MD, Perez PM, Garcia-Olmo J, Gomez-Nieto MA (2006) Ultraviolet–visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classifications of wines. *Food Chem* 97:166–175
54. Souto UTCP, Pontes MJC, Silva EC, Galvao RKH, Araujo MCU, Sanches FAC, Cunha FAS, Oliveira MSR (2010) UV–visible spectrometric classification of coffees by SPA-LDA. *Food Chem* 119:368–371. doi:10.1016/j.foodchem.2009.05.078
55. Gonzalez A, Armenta S, De La Guardia M (2009) Trace-element composition and stable isotope ratio for discrimination of foods with protected designation of origin. *Trend Anal Chem* 28:1295–1311
56. Baxter MJ, Crews HM, Dennis MJ, Goodall I, Anderson D (1997) The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chem* 60:443–450. doi:10.1016/S0308-8146(96)00365-2
57. Monaci F, Bargagli R, Focardi S (2003) Element concentrations in Chianti Classico appellation wines. *J Trace Elem Med Biol* 17:45–50
58. Anderson KA, Magnuson BA, Tschirgi ML, Smith B (1999) Determining the geographic origin of potatoes with trace metal analysis using statistical and neural network classifiers. *J Agric Food Chem* 47:1568–1575. doi:10.1021/jf980677u
59. Padin PM, Pena RM, Garcia S, Iglesias R, Barro S, Herrero C (2001) Characterization of Galician (N.W. Spain) quality brand potatoes: a comparison study of several pattern recognition techniques. *Analyst* 126:97–103. doi:10.1039/b007720h
60. Di Giacomo F, del Signore A, Giaccio M (2007) Determining the geographic origin of potatoes using mineral and trace element content. *J Agric Food Chem* 55:860–866. doi:10.1021/jf062690h
61. Anderson KA, Smith B (2005) Use of chemical profiling to differentiate geographic growing origin of raw pistachios. *J Agric Food Chem* 53:410–418. doi:10.1021/jf048907u
62. Del Signore A, Di Giacomo F, Giaccio M (2004) Determining the regional origin of cheeses with trace metal analysis using statistical classifiers. *J Commod Sci* 43:133–144
63. Jimenez MS, Velarte R, Gomez MT, Castillo JR (2004) Multi-element determination using on-line emulsion formation and ICP-MS/FAAS for the characterization of virgin oils by principal component analysis. *Atomic Spectrom* 25:1–12
64. Zeiner M, Steffan I, Cindric IJ (2005) Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: a pilot study on the geographical characterization. *Microchem J* 81:171–176. doi:10.1016/j.microc.2004.12.002
65. Benincasa C, Lewis J, Perri E, Sindona G, Tagarelli A (2007) Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Anal Chim Acta* 585:366–370. doi:10.1016/j.aca.2006.12.024
66. Carmen CV, Bouzas PR, Oliveras-López MJ (2012) Determination of trace elements in extra virgin olive oils: a pilot study on the geographical characterization. *Food Chem* 134:434–439
67. Araghpour N, Colineau J, Kot A, Akkermans W, Rojas JMM, Beauchamp J, Wisthaler A, Mark TD, Downey G, Guillou C, Mannina L, Van Ruth S (2008) Geographical origin classification of olive oils by PTR-MS. *Food Chem* 108:374–383. doi:10.1016/j.foodchem.2007.10.056
68. Farhan FM, Rammati H, Ghazi-Moghadam G (1988) Variation of trace metal content of edible oils and fats during refining processes. *J Am Oil Chem Soc* 65:1961–1962
69. Le Coco F, Ceccon L, Ciraolo L, Novelli V (2003) Determination of cadmium(II) and zinc(II) in olive oils by derivative potentiometric stripping analysis. *Food Control* 14:55–59
70. Giacomo D, La Pera L, Giuffrida D, Salvo F, Lo Turco V (2004) Influence of the olive variety and the zone of provenience on selenium content determined by cathodic stripping potentiometry (CSP) in virgin olive oils. *Food Chem* 88:135–140. doi:10.1016/j.foodchem.2003.12.036
71. D'Imperio M, Dugo G, Alfa M, Mannina L, Segre AL (2007) Statistical analysis on sicilian olive oils. *Food Chem* 102:956–965. doi:10.1016/j.foodchem.2006.03.003
72. Lerma-Garcia MJ, Ramis-Ramos G, Herrero-Martinez JM, Simo-Alfonso EF (2010) Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Food Chem* 118:78–83. doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.092
73. Calderone G (2005) Applications des techniques isotopiques modernes pour la caractérisation de produits alimentaires et de boissons. PhD dissertation, University of Nantes, France. pp 252
74. Camin F, Larcher R, Nicolini G, Bontempo L, Bertoldi D, Perini M, Schlicht C, Schellenberg A et al (2010) Isotopic and elemental data for tracing the origin of European olive oils. *J Agric Food Chem* 58:570–577

75. Royer A, Gerard C, Naulet N, Lees M, Martin GJ (1999) Stable isotope characterization of olive oils. I—compositional and carbon-13 profiles of fatty acids. *J Am Oils Chem Soc* 76:357–363
76. Angerosa F, Breas O, Contento S, Guillou C, Reniero F, Sada E (1999) Application of stable isotope ratio analysis to the characterization of the geographical origin of olive oils. *J Agric Food Chem* 47:1013–1017. doi:10.1021/jf9809129
77. Mannina L, Patumi M, Proietti N, Bassi D, Segre AL (2001) Geographical characterization of Italian virgin olive oil using high field ^1H NMR spectroscopy. *J Agric Food Chem* 49:2687–2696
78. Vlahov G, Del Re P, Simone N (2003) Determination of geographical origin of olive oils using ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. I—classification of olive oils of the Puglia region with denomination of protected origin. *J Sci Food Agric* 51:5612–5615
79. Rezzi S, Axelsson DE, Heberger K, Reniero F, Mariani C, Guillou C (2005) Classification of olive oils using high throughput flow ^1H NMR fingerprinting with principal component analysis, linear discriminant analysis and classification probabilistic neural networks. *Anal Chim Acta* 552:13–24
80. Alonso-Salces RM, Moreno-Rojas JM, Holland MV, Reniero F, Guillou C, Heberger K (2010) Virgin olive oil authentication by multivariate analyses of ^1H fingerprints and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ data. *J Agric Food Chem* 58:5586–5596
81. Longobardi F, Ventrella A, Napoli C, Humpfer E, Schutz B, Schafer MG, Kontominas MG, Sacco A (2012) Classification of olive oils according to geographical origin by using ^1H NMR fingerprinting combined with multivariate analysis. *Food Chem* 130:177–183
82. Petrakis PV, Agiomyrgianaki A, Christophoridou S, Spyros A, Dais P (2008) Geographical characterization of greek virgin olive oils (cv. Koroneiki) using ^1H and ^31P NMR fingerprinting with canonical Discriminant analysis and classification binary trees. *J Agric Food Chem* 56:3200–3207
83. Dais P, Hatzakis E (2013) Quality assessment and authentication of virgin olive oil by NMR spectroscopy: a critical review. *Anal Chim Acta* 765:1–27. doi:10.1016/j.aca.2012.12.003
84. Rossmann A, Haberhauer G, Holzl S, Horn P, Pichlmayer F, Voerkelius S (2000) The potential of multiclement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. *Eur Food Res Technol* 211:32–40
85. Fortunato G, Mumic K, Wunderli S, Pillonel L, Bosset JO, Gremaud G (2004) Application of strontium isotope abundance ratios measured by MC-ICP-MS for food authentication. *J Anal At Spectrom* 19:227–234
86. Kelly S, Baxter M, Chapman S, Rhodes C, Dennis J, Brereton P (2002) The application of isotopic and elemental analysis to determine the geographical origin of premium long grain rice. *Eur Food Res Technol* 214:72–78
87. Asfaha DG, Quétel CR, Thomas F, Horacek M, Wimmer B, Heiss G et al (2011) Combining isotopic signatures of $n(87\text{Sr})/n(86\text{Sr})$ and light stable element (C, N, O, S) with multi-elemental profiling for the authentication of provenance of European cereal samples. *J Cereal Sci* 53:170–177
88. Franke BM, Koslitz S, Micaux F, Piantini U, Maury V, Pfammatter E, Wunderli S, Gremaud G, Bosset JO, Hadorn R, Kreuzer M (2008) Tracing the geographic origin of poultry meat and dried beef with oxygen and strontium isotope ratios. *Eur Food Res Technol* 226:761–769
89. Rummel S, Hoelzl S, Horn P, Rossmann A, Schlicht C (2010) The combination of stable isotope abundance ratios of H, N and S with $87\text{Sr}/86\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices. *Food Chem* 118:890–900. doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.115
90. Weckerley B, Richling E, Heinrich S, Schreier P (2002) Origin assessment of green coffee (*Coffea arabica*) by multi-element stable isotope analysis of caffeine. *Anal Bioanal Chem* 374:1845–1850
91. Parker IG, Kelly SD, Sharman M, Dennis MJ, Howie D (1998) Investigation into the use of carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of Scotch whisky congeners to establish brand authenticity using gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry. *Food Chem* 32:423–428
92. Kelly S, Heaton K, Hoogewerff J (2005) Tracing the geographical origin of food: the application of multi-element and multi-isotope analysis. *Trends Food Sci Technol* 16:555–567
93. Di Paola-Narajo RD, Baroni MV, Podio NS, Rubinstein HR, Fabiani MP, Badini RG, Inga M, Ostera HA, Cagnoni M, Gallegos E, Gautier E, Peral-Garcia P, Hoogewerff J, Wunderlin WA (2011) Fingerprints for main varieties of Argentinean wines: terroir differentiation by inorganic, organic and stable isotopic analyses coupled to chemometrics. *J Agric Food Chem* 59:7854–7865



En résumé ce chapitre souligne l'état de l'art quant aux méthodes d'authentification des huiles d'olive. Ces méthodes reposent sur l'analyse de différentes composantes :

1. Les caractéristiques organoleptiques des huiles d'olive,
2. Les composés volatils par GC-IRMS,
3. La composition en acides gras et triglycérides (HPLC, FTIR, XRF, Vis-spectro),
4. Les isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ et $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (IRMS, NMR),
5. Les éléments traces (ICP-MS, ICP-AES, PSA).

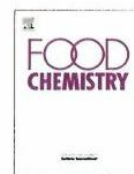
Bien que la discrimination entre différentes huiles soit possible, aucune de ces méthodes n'est efficace pour certifier l'origine géographique des huiles d'olive d'une manière précise, notamment lorsqu'elles sont issues d'une même variété d'olive. Dans ce dernier cas, la variété étant la même, de nombreuses caractéristiques organiques et chimiques seront identiques. Un des traceurs discriminant serait alors un traceur se rapportant au terroir de production, c'est-à-dire à sa géologie.

Depuis de nombreuses années, une approche a été mise en œuvre reposant sur l'identification de l'origine géographique de produits agro-alimentaires comme les vins, les jus d'oranges, les cafés, le ginseng et le riz (Lurton *et al.*, 1999; Lancelot *et al.*, 1999; Weckerley *et al.*, 2002, Kawasaki *et al.*, 2002, Kelly *et al.*, 2002, Choi *et al.*, 2008, Rummel *et al.*, 2010, Techer *et al.*, 2011) via la connaissance de ses isotopes du Sr et l'analyse du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. L'objectif de ce chapitre 2 est d'appliquer cette stratégie de reconnaissance isotopique aux huiles d'olive, en analysant la production des huiles AOP de Nîmes dans le Sud de la France (Gard). La viscosité, la charge organique élevée, la teneur faible en Sr (entre $1,5 \text{ ng.g}^{-1}$ et 50 ng.g^{-1}) (Benincasa *et al.*, 2007) de cette matrice, ainsi que le caractère

hydrophile du Sr, rendent néanmoins inadaptés les protocoles de purification du Sr existants. La mise en place du protocole a duré plusieurs mois, après avoir testé plusieurs méthodes qui se sont avérées inefficaces (la minéralisation microonde, extraction liquide-liquide et l'ultracentrifugation). La première approche de l'étude consiste donc à la définition, et à la validation d'une méthode de traitement des huiles d'olive en vue de la purification du Sr afin de procéder à l'analyse de sa composition isotopique par spectroscopie de masse à thermo-ionisation (TIMS).

Une fois la méthode développée et validée la deuxième étape consiste à en vérifier l'applicabilité sur trois huiles d'olive AOP de Nîmes (Costière, Pierredon et Beaucaire) produite en 2011, 2012 et 2013, et de comparer leurs compositions isotopiques à celles de deux huiles d'olive d'origine géographique différente, à savoir le Maroc.

Chapitre 2



Analytical Methods

Methodological development for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ measurement in olive oil and preliminary discussion of its use for geographical traceability of PDO Nîmes (France)



Salim Medini*, Myriam Janin, Patrick Verdoux, Isabelle Techer

Laboratoire de Géochimie Isotopique environnementale (GIS)/CEREGE, CNRS-UM 34, Université de Nîmes et d'Aix-Marseille, 150 rue Georges Besse, 30035 Nîmes Cedex 1, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 January 2014

Received in revised form 27 August 2014

Accepted 30 August 2014

Available online 10 September 2014

Keywords:

Olive oil

Elemental extraction

 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

PDO

Discrimination

Geographical origin

Treatment methodology

ABSTRACT

The lack of a geographical identification protocol for olive oils can lead to fraud and health risks. As some works call for Sr isotopes for the geographical identification of agri-food products, this study focus on the feasibility of extracting Sr from olive oils for isotopic measurements by TIMS. In fact, existing protocols for purification of Sr are unsuitable for lipid matrix. The defined protocol is applied to samples of PDO Nîmes olive oil. The accuracy of the extraction procedure is tested against isotopic standards. The values obtained are in conformity with NIST certified values. This consistency demonstrates that no modification of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio is brought about by this protocol. Consequently, the method is preliminary used on PDO Nîmes and Moroccan oils to evaluate the feasibility of a discriminant Sr signature on the two geographical products. This study provides promising results for the geographical discrimination and identification of PDO olive oils.

© 2014 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Olive oil is known for its beneficial effects on health. Containing mono-unsaturated fats and antioxidants, such as flavonoids and polyphenols, olive oil has earned a reputation for protecting the cardiovascular system. Its use is also well known in the field of beauty care and cosmetics. Owing to these qualities, olive oils are increasingly consumed (3.2 million tonnes in 2010) and the area under culture is expanding (8 million ha) (IOC) (International Olive Council). In France, around the city of Nîmes (Gard department), many olive orchards are moving towards controlled cultivation to produce an olive oil recognised by the European Union as having a Protected Designation of Origin (PDO). This designation provides consumers with a guarantee of the geographical origin, the quality, the know-how and strict conditions used in controlling the production and manufacturing of a given product. The PDO label gives the oil a market value, but it has been subject to numerous attempts at counterfeiting and fraud. The PDO for olive oils from Nîmes mainly concerns the Picholine olive variety, which is cultivated only on

plots referenced by the decree of 17th November 2004 by the National Institute of Designations of Origin (INAO in French). These plots are subject to very precise specifications that help to distinguish Nîmes olive oil from all other produce originating from neighbouring or more distant countries. Ten mills are recognised in the Nîmes country to produce PDO olive oils from these referred plots. However, to our knowledge, it is impossible to perform geographical identification on olive oils produced from the same olive variety. Indeed, current methods of identifying an olive oil are based on their fatty acid and triglyceride composition (Tsimidou & Karakostas, 1993; Aranda, Gomez-Alonso, Rivera del Alamo, Salvador, & Fregapane, 2004; Ilivier, Artaud, Pinatel, Durbec, & Guerere, 2003; Ollivier, Artaud, Pinatel, Durbec, & Guerere, 2006), on volatile compounds (Cosio, Ballabio, Benedetti, & Gigliotti, 2006; Haddi et al., 2011) or trace elements (Araghipour et al., 2008; Benincasa, Lewis, Perri, Sindona, & Tagarelli, 2007; Jimenez, Velarte, Gomez, & Castillo, 2004). Although discrimination is possible, none of these methods is effective in identifying a specific geographical origin (Janin, Medini, & Techer, 2014) with the aim of eliminating the risk of fraud. This lack of a geographical authentication protocol not only gives rise to a significant risk of fraud, but also to health risks associated with pesticides and uncontrolled cultivation methods which do not comply with food health standards. For instance, the Spanish toxic

* Corresponding author. Tel.: +33 466 70 99 79.

E-mail addresses: medinisalim88@yahoo.com (S. Medini), myriam.janin@unimes.fr (M. Janin), patrick.verdoux@unimes.fr (P. Verdoux), isabelle.techer@unimes.fr (I. Techer).<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.121>

0308-8146/© 2014 Published by Elsevier Ltd.

oil syndrome affected more than 20,000 people, with 300 deaths recorded in 1981 (Capote, Jiménez, & de Castro, 2007).

A new way to assign an olive oil to its geographical growing area involves using a tracer of bedrock geology, such as strontium isotopes. Indeed, strontium (Sr) is natural element present in rocks and soils at various concentrations (mainly in trace amounts), with an isotopic composition linked to the nature, age and origin of the material. This element is also encountered in plants at lower contents depending on the species considered (Coughthrey & Thorne, 1983). The Sr in plants is assumed to be absorbed from the soil mainly during germination. Different sources of strontium in soil can be used by plants: Sr in organic or inorganic complexes (Capo, Stewart, & Chadwick, 1998), Sr in free solution (Semhi, Clauer, & Chaudhuri, 2012) or Sr from the underlying groundwater. Based on the assumption that the transfer of Sr from soil to plants takes place without isotopic fractionation (Graustein, 1988), various approaches have been proposed to identify the geographical origin of plant products by determining their $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio, which might reflect the values observed in the soil. However, a more recent study conducted by De Souza, Reynolds, Kiczka, and Bourdon (2010) points out a slight isotope fractionation during Sr absorption by plants (such as *Rhododendron* and *Vaccinium*), with a preferential assimilation of light isotopes. This fractionation allows us to distinguish the Sr isotope signature of plants and their growing soil when expressed in terms of $\delta^{88/87}\text{Sr}$ values, even when the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios are closely similar (De Souza et al., 2010). The role of fractionation to explain these Sr isotope compositions is debateable, since the measurements were performed in a natural weathering system whose mechanisms and parameters are poorly constrained. Despite these drawbacks, the identification method based on the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio has been successfully applied to food products such as wine, orange juice, coffee, ginseng and rice (Choi, Lee, Lee, & Han, 2008; Kawasaki, Oda, & Hirata, 2002; Kelly et al., 2002; Lancelot, Herreiras, Verdoux, & Lurton, 1999; Lurton, Lancelot, Herreiras, & Verdoux, 1999; Rummel, Hoelzl, Horn, Rossmann, & Schlicht, 2010; Techer, Lancelot, Descroix, & Guyot, 2011; Weckerley, Richling, Heinrich, & Schreier, 2002). These studies mainly treat the plant samples by digestion in a microwave apparatus to dissolve the organic components. The extraction of elemental Sr is then performed using Sr-specific resin. These protocols were performed on hydrated samples with Sr contents higher than ca. $25 \mu\text{g g}^{-1}$ (Coughthrey & Thorne, 1983), but none of them were applied to a fatty matrix very poor in Sr such as olive oil (between 1.5 ng g^{-1} and 50 ng g^{-1}) (this study; Benincasa et al., 2007). Indeed, because of its hydrophilic nature, strontium is only present in very low amounts in lipid matrices such as olive oil.

The objective of this study is to assess the feasibility of Sr extraction from a complex matrix such as olive oil, and to carry out isotopic measurements to implement further a geographical identification approach using Sr isotopes. Existing protocols for purification of Sr are unsuitable due to the viscosity, high organic load and low strontium content of the lipid matrix, coupled with the hydrophilic nature of Sr. Therefore, the first approach proposed here involved setting up a methodology for olive oil treatment for Sr extraction. The extraction tests were performed on Nîmes PDO olive oil and the analyses were checked against a NBS987 standard solution. The feasibility of the measurements was then corroborated by considering two Moroccan olive oils. The Moroccan samples selected in our study are mainly derived from Picholine olives, the same variety used in the case of the Nîmes olive oil. The data obtained contribute to preliminary discuss the use of Sr isotopes in conjunction with the geology of growing soils to reveal a possible link between the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signature of olive oils and their production areas.

2. Experimental procedure

2.1. Materials and reagents

Analytical reagent-grade acids, HNO_3 (Panreac, 69%, Hiperpur TMA) and HCl (Panreac, 35%, Hiperpur TMA) were used after double sub-boiling distillation in FEP Teflon bottles. H_2O_2 (Fluka Analytical, $\geq 30\%$ RT, for trace analysis) and H_3PO_4 (Merck, 85%, Suprapur) diluted with de-ionised water (resistance $\geq 18.2 \text{ M}\Omega$) were also used.

All the chemical treatments and strontium extraction procedures on olive oils were performed in an ISO Class-6 clean room to reduce risk of external contamination.

2.2. Olive oil treatment for Sr content measurements

4 g of olive oil are required to obtain a measurable amount for analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). This sample mass was chosen taking into account the literature data on Sr contents in olive oil (between 1.5 ng g^{-1} and 50 ng g^{-1}) (Benincasa et al., 2007) and the detection limit of the apparatus ($\text{DL} = 0.5 \text{ ppb}$). The olive oil samples were treated in an ETHOS One microwave system (ThermoFisher)(Milestone, Thermo Fisher), with each reactor accepting a maximum organic matter mass of 0.5 g. Samples were thus split equally between 8 reactors. Digestion in the microwave oven was performed using 7 ml HNO_3 (7N) and 1 ml H_2O_2 according to the specific protocol described below (Table 1).

After mineralisation, the 8 solutions were poured off into one beaker and evaporated to dryness. The dry residue was dissolved in 10 ml of HNO_3 (1N) and the Sr contents were determined by ICP/MS at the Laboratory of Hydrology and Geochemistry in Strasbourg, France, following the procedure of Samuel, Rouault, and Besnus (1985). Reproducibility tests were carried out routinely by systematic analysis of the BE-N and GL-O international rock standards, yielding a reproducibility of 5% for trace elements.

2.3. Olive oil treatment for Sr extraction

For an average Sr content of $1.5\text{--}50 \text{ ng g}^{-1}$ (ppb), 2–100 g of olive oil were required to obtain a measurable aliquot for analysis by mass spectrometry (TRITON TI). Such high sample masses could not be treated conveniently in the Ethos One microwave (taking into account the maximum amount of organic matter accepted by the apparatus). We therefore considered another treatment protocol for Sr extraction and isotopic measurement (Fig. 1).

The sample of olive oil was weighed on a Mettler Toledo balance (AX 205 Max $81 \text{ g}/220 \text{ g}$, $d = 0.01 \text{ mg}/0.1 \text{ mg}$) placed in a controlled environment room adjacent to the clean room. Oil was placed in a quartz crucible to prevent contamination. The first step of the treatment involves organic matter decomposition (pre-treatment) carried out by reaction of oil with 3 ml H_2O_2 and 21 ml HNO_3 (7N). Acids were introduced in three steps, and the mixture is gradually heated on a hotplate (PRAZITHERM) at 120°C for 48 h under an ISO class 5 laminar flow hoods. These steps were used to degrade the organic matter and to avoid overpressure during the following step of calcination.

The pre-treated solution was then recovered and closed with a lid adapted to a quartz crucible before being placed in a muffle furnace (Stuart Scientific). Calcination was carried out by heating to the maximum temperature of 650°C in 30 min, which was then maintained for 2 h. This step helped to eliminate the residual organic matter and produce a dry residue in the form of a white powder.

Table 1
Microwave operating conditions.

Matrix	Oil mass (g)	Protocol	Mineralization treatment
Vegetable matter	4	- 1 mL of H ₂ O ₂ 30% - 7 mL of HNO ₃ 65%	↗ 10 min at 130°C to 1500W
			→ 10 min at 130 °C to 1500W
			↗ 10 min at 180°C to 1500W
			→ 45 min at 180°C to 1500W

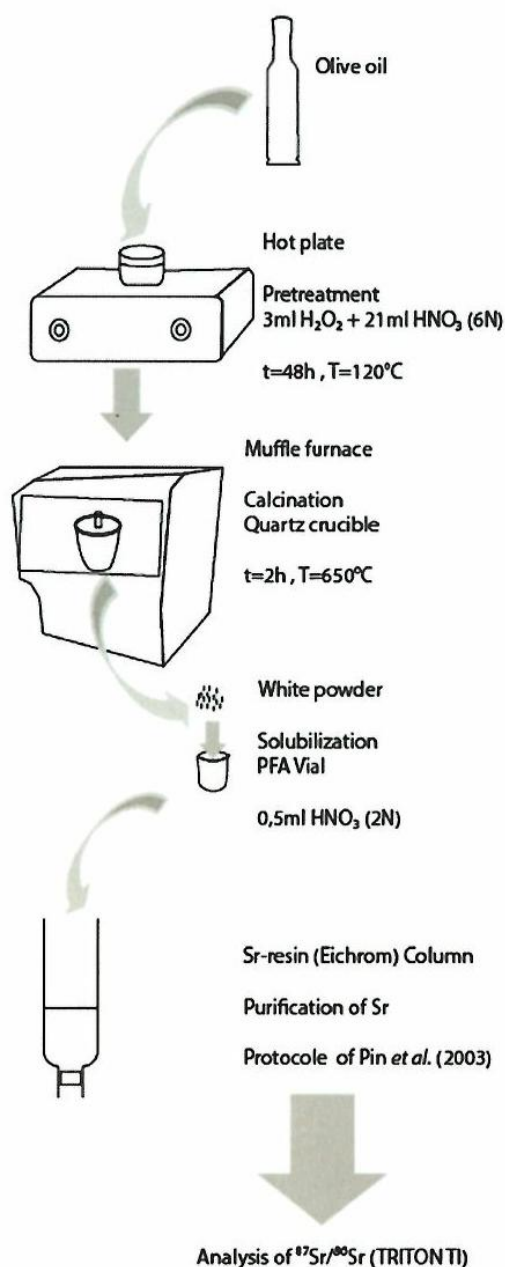


Fig. 1. Strontium extraction protocol in olive oil.

2.4. Sr extraction

The dry residue obtained after calcination was taken up in solution with 0.5 ml of HNO₃ (2 M) after cooling of the crucible, the total dissolution being performed in a 7 ml PFA vial (Saville, USA). The vial was then placed on a hotplate for 5–10 min. The solution was recovered and strontium extracted on Sr-specific resin (EICHROM) according to the purification protocol due to Pin, Joannon, Bosq, Le Fèvre, and Gauthier (2003). A mass of 33 mg of resin was loaded onto columns of 4 cm height fitted with a sintered Teflon (FEP) flow path to retain the resin. The solution containing the eluted Sr (Pin et al., 2003) was then evaporated on a hotplate to obtain a dry Sr residue in the form of a bead.

The dry residue was deposited on a tantalum filament (H. CROSS Company, USA), previously cleaned in a bakeout device (Thermo Scientific). Before sample deposition, 1 µl of 3 M phosphoric acid (H₃PO₄) was placed in the centre of the filament, and dried by rapidly increasing the filament current. A drop of Sr residue dissolved with 1 µl of HNO₃ (1N) was deposited on the cooled filament. The current in the filament was gradually increased to obtain a dry deposit ready for analysis on a thermal ionisation (Triton TI) mass spectrometer.

2.5. Thermal ionisation mass spectrometer analysis (Triton TI)

Four isotopes of strontium (⁸⁴Sr, ⁸⁶Sr, ⁸⁷Sr and ⁸⁸Sr) were measured by thermal ionisation mass spectrometer (ThermoFinnigan Triton TI). Various ratios including ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr were measured using a statistical procedure compiling 100 values, obtained from 10 blocks of 10 measurements. The ⁸⁶Sr/⁸⁸Sr ratios were normalised using the fixed ratio of 0.1194 and the split ratio was calculated. All the measured ratios were corrected by monitoring ⁸⁵Rb. In addition, interferences with ⁸⁷Rb were taken into account and corrected. The analytical error is expressed as two standard deviations (2σ). The external reproducibility of the machine was measured and controlled using an international standard strontium NBS-987 certified by NIST (National Institute of Standards and Technology), yielding a ⁸⁶Sr/⁸⁸Sr ratio of 0.710245 ± 0.00001.

3. Results and discussion

3.1. Nîmes olive oil (PDO)

The treatment protocols and measurement of Sr isotopes by TIMS were tested using four Nîmes PDO olive oils produced by three mills recognised amongst the 10 recognised by the Nîmes PDO specifications (mill of 'Pierredon', of 'the Costières' and of 'Beaucaire'). The oils were produced in 2011, 2012 and 2013 (Table 2 and Fig. 2b). These four olive oils are derived mainly from the Picholine olive variety (70%). ICP/MS measurements performed on three selected samples yield Sr contents of 13.9, 2 and 2.1 ppb for the Pierredon oil for the Costières oil and for Beaucaire oil, respectively (Table 2).

Table 2List of the studied samples (variety, production year, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, [Sr]).

Samples	Production year	Main variety	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2δ	[Sr] (ng.g ⁻¹)
Costières	2012	Picholine	0.7088	2.0×10^{-4}	2.0
Pierredon	2011	Picholine	0.70727	8.0×10^{-5}	
Pierredon	2012	Picholine	0.70775	2.5×10^{-5}	13.9
Pierredon (D)	2012	Picholine	0.70779	6.2×10^{-5}	
Beaucaire	2013	Picholine	0.70881	2.5×10^{-5}	2.1
OuedSouss	2012	Picholine	0.70899	9.5×10^{-5}	2.1
Mabrouka	2012	Picholine	0.70914	1.3×10^{-4}	3.9

D: duplicate.

On an isotopic point of view, for the first time, we show that Sr isotopes from an olive oil matrix can be detected and can be maintained for a sufficient period of time to allow the measurement of significant ratios. Even if relatively high analytical errors (2δ) are associated with these preliminary results ($\pm 2 \times 10^{-4}$ – Table 2), we are able to demonstrate the effectiveness of the protocol for Sr extraction from olive oil. The Costières oil and the Beaucaire oil yield respectively a $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio of 0.7088 ± 0.0002 , and of 0.70881 ± 0.000025 . The Pierredon oil produced in 2011 yields a $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ value of 0.70727 ± 0.00008 , while the two aliquots of the 2012 production give values of 0.70775 ± 0.000062 and 0.70779 ± 0.000025 (Table 2; Fig. 2c). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the two aliquots of this oil are identical within analytical error, which confirms the good reproducibility of the method of Sr extraction.

3.2. Validation of the method on Standards

The protocol described here allows the measurement of the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio in olive oil samples. However, to check that this value is significant and not disturbed by contamination or other processes, the different steps of the treatments were performed on an NBS987 standard-sample blank instead of an olive oil sample, but using the same materials and reagents (Table 3). Sr extraction and isotope analyses were performed on the sample obtained (1) after the pre-treatment procedure (NBS 987-test-Pr sample) and (2) after calcination in the muffle furnace (NBS 987-test-Ca sample). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of each sample were measured and compared with the non-treated NBS987 standard (direct measurement by TIMS). A replicate of each aliquot was analysed to check the repeatability of the results.

The six measured standard-samples yield identical $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios that are consistent with the value certified by NIST taking into account the analytical error (Table 3, Fig. 3). This consistency in strontium isotope composition demonstrates that the olive oil treatment described here does not lead to any modification of the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios. Thus, the protocol is validated as being applicable for the accurate determination of the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic signature of oils. Using this new methodology and the demonstration that Sr can be detected and measured accurately in olive oil, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios can now be studied to assess the feasibility of a geographical discrimination of this product according to its growing area. This method has already been applied to some food

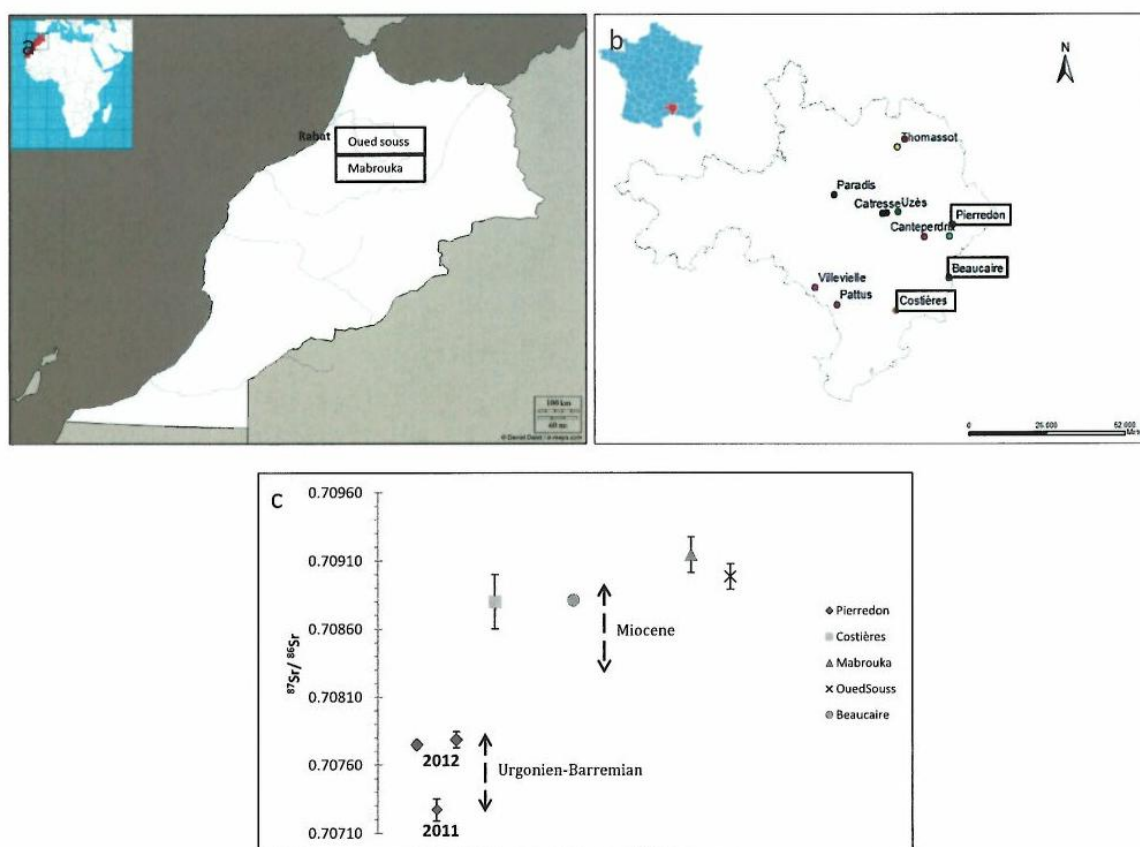


Fig. 2. (a) Map of Morocco and location of Oued Souss and Mabrouka olive oils; (b) map of the Gard (France) department and location of olive oil mills recognised in the Nîmes PDO. Location of the area of production of the three studied olive mills; (c) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ of PDO olive oils from Nîmes and olive oils from Morocco.

Table 3
Data of standard-samples submitted to the olive oil treatment protocols.

Samples	Bulk	Treatments	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2σ
NBS987	2 μl NBS 987	No treatment	0.710248	5.00E–06
			0.710251	1.10E–05
NBS987-test-Pr	2 μl NBS 987	Pretreatment ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{HNO}_3$)	0.710252	1.40E–05
			0.710246	8.00E–06
NBS987-test-Ca	2 μl NBS 987 + 30 ml H_2O	Calcinations	0.710234	1.10E–05
			0.710251	8.00E–06

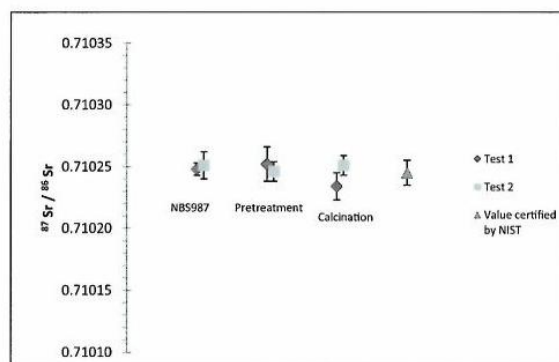


Fig. 3. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the standard samples: after pretreatment, after calcinations and without any manipulation.

products (Choi et al., 2008; Kawasaki et al., 2002; Kelly et al., 2002; Lancelot et al., 1999; Lurton et al., 1999; Rummel et al., 2010; Techer et al., 2011; Weckerley et al., 2002) and we now need to establish the suitability of this approach for olive oil.

3.3. First step of a Sr isotope study for identification of olive oils

During germination, the strontium absorbed by plants is mainly taken up from the soil (Capo et al., 1998). Due to the high atomic weight of Sr, its isotope ratio remains constant in low temperature processes. As a result, during plant growth above bedrock, the strontium absorbed by the plant is supposed to have the same $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio as the soil leachate in the growing area (Capo et al., 1998; Graustein, 1988; Poszwa et al., 2004). Even if fractionation of Sr isotopes during plant growth has been mentioned by certain authors (De Souza et al., 2010), this effect remains sufficiently weak to allow us to draw a relatively good correlation between the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio of a food product and its growing area. Therefore, one of the proposed approaches involves the identification of the geographical origin of a product through its $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic composition.

To test the feasibility of olive oil discrimination based on this method, a first approach has been performed that consists in comparing the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of two olive oil productions: the Nîmes PDO olive oils produced in the South of France (Fig. 2b) and Morocco olive oils produced in the Meknes area (Fig. 2a). The French set of data was represented by the four samples previously studied; the Morocco oils were represented by two samples: the “Mabrouka” oil and the “Oued Souss” oil region. This preliminary approach addresses the isotopic characterisation of the products without any precise consideration of the geological characteristics of their growing area. The approach is mainly performed to investigate the potential discrimination between two geographically distinct products. A more detailed study needs to be in order to

consider the ten PDO French mills and to draw an isotopic map of this PDO production.

In addition to the results obtained on the PDO olive oils from Nîmes, the Sr contents and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios measured on the Moroccan olive oils are, respectively, 2.1 ppb and 0.70899 ± 0.000095 for Oued Souss and 3.9 ppb and 0.70914 ± 0.000130 for Mabrouka (Table 2, Fig. 2c). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the two studied Moroccan olive oils appear to be significantly higher than the Nîmes samples, with values higher than 0.7089 against around 0.7073–0.7088 (Fig. 2c). This preliminary comparison using two sets of 2–5 samples from two distinguishable areas underlines the feasibility of a discrimination based on the Sr isotopic tracer. However, to really discuss if an olive oil is a Nîmes PDO or not, we require to better define the Sr signature of each oil produced by the ten mills recognised by this PDO and to determine the source of the Sr in the oil notably its link with the geological country. This approach that includes a geographical and geological study of each cultivated area will be performed further together with a better understanding of the parameters that govern the Sr isotopic composition of olive oil. For instance, we need to determine the interrelationships between the Sr isotope ratios of olive oils, rocks and soils. The impact of any manufacturing processes must also be constrained.

We can make a preliminary assessment of the influence of the rock/soil composition on olive oil Sr composition when knowing the Sr isotopic signature of the formation on which plots are located. This can be due for instance for the Pierredon and Beaucaire area. The Pierredon olive oil comes from the area of Estezargues (Gard department), where orchards are developed on a limestone formation of Urgonian-Barremian age (112–125 My) (Extract from Uzes geological map – No. 939 – BRGM). The Sr isotopic composition of this marine limestone can be assumed to reflect the seawater $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio at the time of deposition of the formation, assuming that the marine sediments have recorded the seawater Sr signature. The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ seawater ratios during Urgonian to Barremian times are expected to range between 0.707227 and 0.707704 (Dennebouy, 2002; Jones, Jenkyns, Coe, & Hesselbo, 1994). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the Pierredon oil produced in 2011 (0.70727 ± 0.000080), and in 2012 (0.70775 ± 0.000025 ; 0.70779 ± 0.000060) belong to the Urgonian-Barremian seawater domain of composition even if slightly higher for one value.

The Beaucaire olive oil comes from orchards located on Calcareous sandstone sediments of Miocene age (5.3–23 My). These are marine deposits related to perialpine sea, deposited on a limestone bedrock from the Cretaceous (65.5–145.5 My). On the same way, if considering the concept that marine sediments could have recorded the seawater composition at time of deposition, Miocene rocks could be characterised by a $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio ranging from 0.708273 to 0.709045 (Dennebouy, 2002; Jones et al., 1994). The Beaucaire olive oils Sr composition (0.70881 ± 0.000025) belongs to this range of values.

On the basis of these two studied examples, it seems to be a good correlation between the Sr isotopic composition of an olive oil and the bedrock geology of the producing orchards (Fig. 2c). For the Costières olive oil as for the 7 others oils recognised the PDO, orchards are located on non-marine formations. The Sr isotopic composition of the rocks cannot be approached theoretically and samples need to be collected and analysed to reach this information. This approach required a more detailed geological and geochemical study that will not be completed here.

The first comparison between the geology of an area and the Sr composition of an oil produced in this area suggests that $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ may be used to identify olive oils in relation to their area of production. However, this possibility needs to be further explored and corroborated.

4. Conclusion

Olive oil is a viscous matrix rich in organic matter and with low Sr content. Despite this low abundance of elemental Sr, isotopes of Sr could be considered to discriminate and identify the geographical origin of a given product. This involves establishing the feasibility of Sr extraction for isotopic measurements by mass spectrometer. In the present paper, we develop and describe a protocol of strontium extraction from olive oils.

The procedure involves a chemical treatment of the olive oil in two steps: (1) pre-treatment and (2) calcination to eliminate the organic matter and preparation of a residue in powder bead form to solubilise the viscous matrix, followed by the extraction of Sr on a column according to the protocol described by Pin et al. (2003).

This procedure is checked by using an aliquot of the NBS987 standard instead of an olive oil sample in each processing step. The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the standard sample were measured and checked against the recommended value for the international standard NBS987. The consistency of the data demonstrates the efficiency of the proposed treatment protocol for Sr olive oil extraction.

Seven samples were analysed in a preliminary approach to test discrimination (five Nîmes PDO olive oils and two olive oils from Morocco), yielding the following results:

- Discrimination between the studied Nîmes PDO olive oils and olive oils from Morocco: the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of Moroccan olive oils are much more radiogenic, and can thus be discriminated from the values obtained for the studied Nîmes olive oil. However, seven French mills must now be studied to get further in this discrimination.
- Identification of a direct link between the bedrock geology of the olive growing area and the Sr isotopic composition of olive oils. This preliminary study is very promising and should be pursued with the aim of identifying the geographical provenance of olive oils. For this purpose, other analyses of Nîmes PDO olive oils have been measured and will be reviewed in a future article (Medini, Janin, & Techer, 2014, In prep).

References

- Aranda, F., Gomez-Alonso, S., Rivera del Alamo, R. M., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2004). Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars. *Food Chemistry*, 86, 485–492.
- Araghipour, N., Colineau, J., Kot, A., Akkermans, W., Rojas, J. M. M., Beauchamp, J., et al. (2008). Geographical origin classification of olive oils by PTR-MS. *Food Chemistry*, 108, 374–383. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.056>.
- Benincasa, C., Lewis, J., Perri, E., Sindona, G., & Tagarelli, A. (2007). Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta*, 585, 366–370. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.024>.
- Capo, R. C., Stewart, B. W., & Chadwick, O. A. (1998). Strontium isotopes as tracers of ecosystem process: Theory and methods. *Geoderma*, 82, 190–225.
- Capote, F. P., Jiménez, J. R., & de Castro, M. D. (2007). Sequential (step-by-step) detection, identification and quantitation of extra virgin olive oil adulteration by chemometric treatment of chromatographic profiles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 1859–1865.
- Choi, S. M., Lee, H. S., Lee, G. H., & Han, J. K. (2008). Determination of the strontium isotope ratio by ICP-MS ginseng as a tracer of regional origin. *Food Chemistry*, 108, 1149–1154.
- Cosio, M. S., Ballabio, D., Benedetti, S., & Gigliotti, C. (2006). Geographical origin and authentication of extra virgin olive oils by an electronic nose in combination with artificial neural networks. *Analytica Chimica Acta*, 567, 202–210.
- Coughrey, P. J., & Thorne, M. C. (1983). Strontium. In *Radionuclide distribution and transport in terrestrial and aquatic ecosystems: A critical review of data* (pp. 93–219). AA Balkema Rotterdam.
- Dennebouy, S. (2002). Mise en évidence et caractérisation de la variabilité haute fréquence du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ du strontium océanique. Thèse Doct. "Dynamique et Ressources des Bassins Sédimentaires", Ecole des Mines de Paris, soutenue le 19 déc. 2001 – Mém. Sc. de la Terre, ENSMP, Paris, 2002, 44, p. 202.
- De Souza, G., Reynolds, B., Kiczka, M., & Bourdon, B. (2010). Evidence for mass-dependent isotopic fractionation of strontium in a glaciated granitic watershed. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 2596–2614.
- Graustein, W. C. (1988). $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios measure the sources and flow of strontium in terrestrial ecosystems. In P. W. Rundel, J. R. Ehleringer, & K. A. Nagy (Eds.), *Stable isotopes in ecological research* (pp. 491–512). Springer-Verlag.
- Haddi, Z., Amari, A., Ould Ali, A., El Bari, N., Barhoumi, H., Maaref, A., et al. (2011). Discrimination and identification of geographical origin virgin oil by an e-nose based on MOS sensors and pattern recognition techniques. *Procedia Engineering*, 25, 1137–1140.
- Janin, M., Medini, S., & Techer, I. (2014). Methods for PDO olive oils traceability: State of art and discussion about the possible contribution of Sr isotopic tool. *European Food Research and Technology*.
- Jimenez, M. S., Velarte, R., Gomez, M. T., & Castillo, J. R. (2004). Multi-element determination using on-line emulsion formation and ICP-MS/FAAS for the characterization of virgin oils by principal component analysis. *Atomic Spectrometry*, 25, 1–12.
- Jones, C. E., Jenkins, H. C., Coe, A. L., & Hesselbo, S. P. (1994). Strontium isotopic variations in Jurassic and Cretaceous seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58, 3061–3074.
- Kawasaki, A., Oda, H., & Hirata, T. (2002). Determination of strontium isotope ratio of brown rice for estimating its provenance. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48, 635–640.
- Kelly, S., Baxter, M., Chapman, S., Rhodes, C., Dennis, J., & Brereton, P. (2002). The application of isotopic and elemental analysis to determine the geographical origin of premium long grain rice. *European Food Research and Technology*, 214, 72–78.
- Lancelot, J., Herreiras, J., Verdoux, P., Lurton, L. (1999). The use of strontium isotopes geochemistry for a high resolution identification of wines from the Rhone Valley. In: Fifth European Symposium of Food Authenticity, La Baule, 9–11 June, 1999.
- Lurton, L., Lancelot, J., Herreiras, J., & Verdoux, P. (1999). Authentification de vins de la Vallée du Rhône à l'aide du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de leur terroir d'origine. XXIVème Congrès Mondial de la Vigne et du Vin. Mayence, 5–9 juillet, 1999.
- Medini, S., Janin, M., Techer, I. (2014). Sr isotopic characterization of Nîmes PDO olive oils (France) and Moroccan olive oils. Application for geographical traceability. In prep.
- Illivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J. P., & Guerere, M. (2003). Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 5723–5731.
- Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J. P., & Guerere, M. (2006). Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*, 97, 382–393.
- Pin, C., Joannon, S., Bosq, C., Le Fèvre, B., & Gauthier, P. J. (2003). Precise determination of Rb, Sr, Ba and Pb in geological materials by isotope dilution and ICP-quadrupole mass spectrometry following selective separation of the analytes. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18, 135–141.
- Poszwa, A., Ferry, B., Dambrine, E., Pollier, B., Wickman, T., Loubet, M., et al. (2004). Variations of bioavailable Sr concentration and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio in boreal forest ecosystems. Role of biocycling, mineral weathering and depth of root uptake. *Biogeochemistry*, 67, 1–20.
- Rummel, S., Hoelzl, S., Horn, P., Rossmann, A., & Schlicht, C. (2010). The combination of stable isotope abundance ratios of H, N and S with $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices. *Food Chemistry*, 118, 890–900. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.115>.
- Samuel, J., Rouault, R., & Besnus, Y. (1985). Analyse multi-élémentaire standardisée des matériaux géologiques en spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif. *Analyses*, 13 [321–317].
- Semhi, K., Clauer, N., & Chaudhuri, S. (2012). Variable element transfers from an illite-rich substrate to growing plants during a three-month experiment. *Applied Clay Science*, 57, 17–24.
- Techer, I., Lancelot, J., Descroix, F., & Guyot, B. (2011). About Sr isotopes in coffee "Bourbon Pointu" of the Réunion Island. *Food Chemistry*, 126, 718–724.
- Tsimidou, M., & Karakostas, K. (1993). Geographical classification of Greek virgin olive oil by non-parametric multivariate evaluation of fatty acid composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62, 253–257. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740620308>.
- Weckerley, B., Richling, E., Heinrich, S., & Schreier, P. (2002). Origin assessment of green coffee (Coffea Arabica) by multi-element stable isotope analysis of caffeine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, 1845–1850.



Les travaux développés dans ce chapitre ont permis :

- De mettre en place et de valider une méthode de traitement des huiles d'olive pour extraire efficacement et sans contamination le Sr faiblement concentré dans cette matrice ;
- De mesurer précisément le rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ sur cette matrice lipidique ;
- Les premières comparaisons des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de deux huiles d'olive de provenance distincte souligne le potentiel de la méthode $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pour l'identification géographique des huiles d'olive AOP de Nîmes et,
- La possibilité de discriminer deux huiles d'olive issues de la même variété et de deux régions différentes (France/ Maroc).

Cette étude préliminaire est prometteuse et devrait être poursuivie dans le but d'authentifier l'origine géographique de toutes les huiles d'olive AOP de Nîmes, en identifiant la relation des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles avec la géologie du terroir de production parfaitement contraint (décret 17 novembre 2014) (Annexe 1). Toutefois, pour être validée, cette approche nécessite une meilleure connaissance du cycle biogéochimique du Sr lors de la croissance des oliviers.

Le Sr est un métal alcalino-terreux présent naturellement dans la plante à différentes concentrations (variant de 0,2 ppm par exemple dans le grain de maïs à 320 ppm dans les champignons). Le facteur de transfert du Sr est conditionné principalement par deux variables : (i) l'espèce végétale d'une part (Coughtrey et Thorne, 1983), et (ii) la compétition avec les éléments du même rayon ionique comme le Calcium (Ca^{2+}) d'autre part (Ehlken et Kirchner, 2002). Par ailleurs, le Sr de la plante est issu de deux réservoirs principaux :

1/La fraction labile du sol. Celle-ci est généralement considérée comme étant la principale source des cations "échangeables" pour la végétation. Cette phase correspond à l'eau, et aux ions adsorbés sur les surfaces minérales et sur la matière organique (MO) quand les sites d'adsorption du sol sont inférieures ou égale à la saturation (Stewart *et al.*, 1998). Le réservoir du Sr labile est alimenté par l'altération des minéraux primaires et secondaires, par la dégradation et la lixiviation des résidus des végétaux, et par les échanges avec l'eau mobile dans le sol (Figure 4).

2/La solution libre ou l'eau mobile dans le sol, issue principalement des précipitations (Stewart *et al.*, 1998, Raiber *et al.*, 2009, Rich *et al.*, 2012). D'autres processus peuvent aussi contribuer à l'alimentation en Sr de l'eau mobile dans le sol comme, la dégradation et la lixiviation des résidus de la litière des végétaux, et l'échange avec le réservoir du Sr labile du sol (Figure 4).

D'autres réservoirs secondaires peuvent être considérés par la plante, d'une manière directe, comme le dépôt sur les feuilles de Sr atmosphérique issu des précipitations ou des poussières (Graustein, 1988 ; Gosz et Moore, 1989), ainsi qu'un apport lié à certains paramètres de culture, tels que les produits phytosanitaires et les engrais (Choi *et al.*, 2004, Techer *et al.*, 2011), ou d'une manière indirecte, comme la contribution des précipitations à la recharge du réservoir de l'eau mobile, et les poussières atmosphériques déposées sur les minéraux primaires (Figure 4).

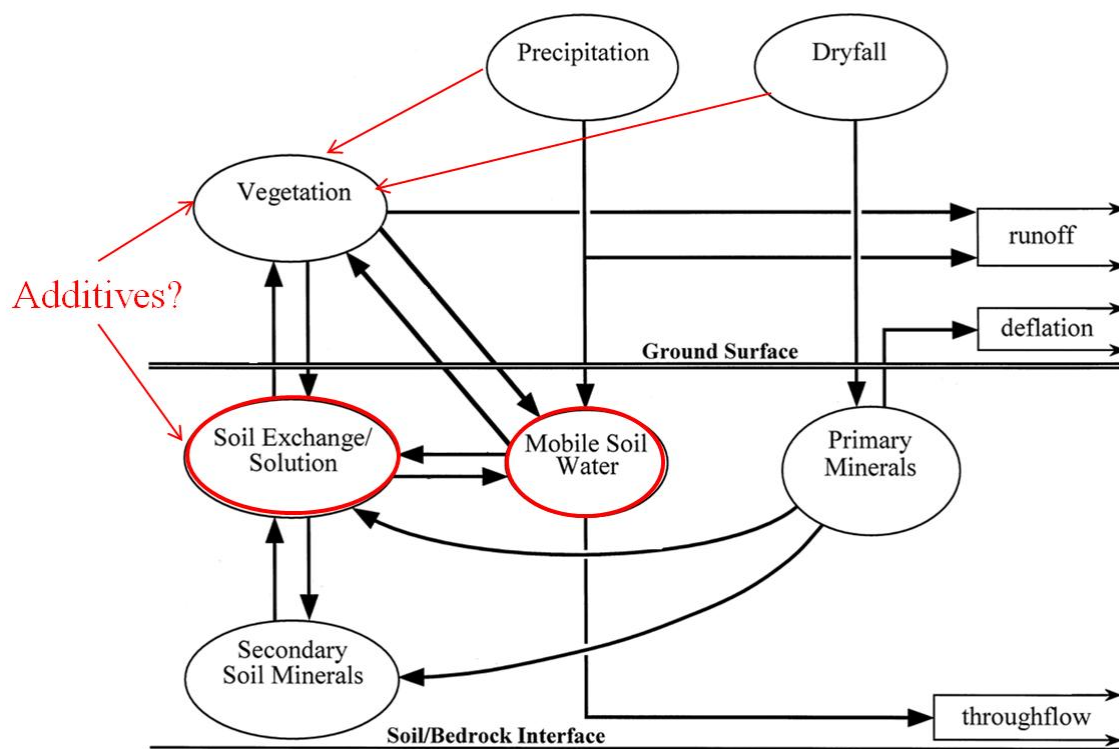


Figure 4 : Cycle Biogéochimique du Sr (Stewart *et al.*, 1998)

Le chapitre 3 est consacré à contraindre les différentes sources de Sr pour l'olivier, ainsi qu'à définir les processus d'assimilation et de transfert du Sr dans l'olivier. L'étude est réalisée à l'échelle d'une parcelle du moulin des Costières (sud de la France) produisant une huile d'olive AOP.

Chapitre 3

Geographic tracing of olive oil based on the constrains of the Sr transfer towards olive trees

Salim Medini, Myriam Janin and Isabelle Techer

Submitted to the “Food Chemistry” Journal on 10.27.2014

Salim Medini^{1*} (medinisalim88@yahoo.com)

Myriam Janin¹ (myriam.janin@unimes.fr)

Isabelle Techer¹ (isabelle.techer@unimes.fr)

¹Laboratoire de Géochimie Isotopique environnementale (GIS)/CEREGE, CNRS-UM 34,
Université de Nîmes et d'Aix-Marseille, 150 rue Georges Besse, 30035 Nîmes Cedex 1,
France

*Corresponding author: Salim Medini

Université de Nîmes, Laboratoire de Géochimie Isotopique Environnementale (GIS)
150 rue Georges Besse, 30 035 NIMES Cedex 1
Tel : +33 466 70 99 79

Abstract

The recognition of the geographical origin of olive oils is necessary to safeguard the market against fraud and health risks. Recent studies have made it possible to propose a geochemical approach for the identification of the olive oils' origin based on the isotopic analysis ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$). However, this approach requires a good knowledge of the Sr biogeochemical cycle.

The aim of this study is to constrain the sources of Sr and the conditions of assimilation and transfer of this element within the olive tree. The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio was measured in the geological environments of a mill holding, and in various compartments of olive trees. At the scale of the olive-growing area, the results reveal a close similarity of Sr isotopic composition between the soil, the olive trees and the resulting olive oil. It confirms the feasibility and the advantage of the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ tool to certify the geographical origin of olive oil.

Keywords: Geographical tracing, Olive Oil, Sr isotopic composition, transfer.

1. Introduction

Olive trees have a very branching, dark-green habit and a brown bark. They can reach fifteen to twenty metres high, and live for several centuries. They belong to the Oleaceae family (genus *Olea*), to the Dicotyledons group. Their genetic origin remain unknown, but the Oleaster (wild olive) has always been considered as the ancestor of the olive tree (Himour, 2010). The olive tree is considered as one of the species which is best adapted to the Mediterranean semi-arid environment, and is traditionally cultivated under dry conditions (Gimenez, Fereres, Ruz & Orgaz, 1997). It has a low growth rate (10 to 15 cm/year), and the moderate morphological activity enables the tree to tolerate short-term hydrous stress (Lakso, 1985). There are several varieties of olives in the world (almost 2000 varieties of olive trees) with specific organoleptic characteristics for each variety. In France, there remain nearly 400 varieties, including about 50 that are used for the manufacture of olive oil. In the Gard department, mainly two varieties of olives are cultivated: Négrette and Picholine. The latter represents more than 70% of olives used for the manufacture of olive oil recognized by the Nimes Protected Designation of Origin label.

The Protected Label of origin (PDO) is an European label certifying the origin and the quality of agro-food products. The plots of olive trees that produce the olive oil with the PDO

“Nîmes” label are thus subjected to very precise specifications in terms of localization of the growing area, method of cultivation, and manufacturing processes. This specification means that PDO olive oils from Nîmes are unique, being distinct from those of other countries. In the field of recognition of quality products, many methods are currently used to identify the origin of olive oil. These methods are based especially on their compositions in terms of triglycerides, mainly fatty acyls (Ollivier, Artaud, Pinatel, Durbec, & Guérère, 2006), volatile compounds (Haddi et al., 2011), or trace elements (Benincasa, Lewis, Perri, Sindona, & Tagarelli, 2007). However, these methods are not able to discriminate two oils produced by the same variety (Janin, Medini, & Técher, 2014). This lack of procedures for geographical authentication and discrimination generates a risk of fraud relative to the source of oils, and as a consequence, leads to economic and sanitary impacts detrimental to the olive-growing sector and consumers.

Over the last few years, some studies have been based on using the strontium isotope composition ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) to identify the geographical origin of agro-food products (Choi, Lee, Lee, & Han, 2008; Techer, Lancelot, Descroix, & Guyot, 2011). A preliminary study based on the same approach has been carried out successfully on a complex matrix such as olive oil, owing to the development of an innovative protocol aimed at the extraction of Sr from the lipidic matrix (Medini, Janin, Verdoux, & Techer, 2015). By using this technique to compare the Sr isotope composition of oils produced from the same variety but grown on different soils (France and Morocco), it seems possible to establish a link between the geology of the growing soil and the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signature of the resulting oil, and thus discriminate between two productions (Medini et al., 2015). An analysis of all the Nîmes PDO oils also reveals a link between the geology of the area and the Sr isotope composition of the oil (Medini et al., In prep). However, to be validated, this approach requires a better knowledge of the biogeochemical cycle of Sr and, in particular, its transfer from the environment towards the

plant. Sr is an element naturally present in the plant at variable contents according to the species. During plant growth, two main sources of Sr are supposed:

1/ The labile fraction of the soil that is generally considered as being the main source of “exchangeable” cations for the vegetation. This phase is defined by the ions in solution that are adsorbed onto mineral surfaces and organic matter (OM) when the soil is lower or equal to saturation of the adsorption sites (Stewart, Capo, & Chadwick, 1998).

2/ The free solution or mobile water in the soil, mainly derived from precipitation (Stewart et al., 1998). However, some studies also suspect an atmospheric input of Sr via foliar absorption (Gosz, 1989; Graustein, 1988), as well as additives related to certain cultivation parameters, such as the plant health products and fertilizers (Choi et al., 2008; Techer et al., 2011). The aim of this study is then to determine and quantify the various inputs of Sr that potentially influence the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signature of the olive trees, and ultimately the olive oils, in the context of cultivation defined by the specifications of the Nimes PDO label. The investigation was undertaken on the plots of one of the ten mill holdings selected by the Nimes PDO, the Costières oil mill located in the department of Gard (southern France).

2. Study site

The Costières oil mill is located to the South-East of the city of Nimes (Southern France), between the towns of Saint-Gilles and Bellegarde, in the area known as “Costières”. This area represents a clearly distinct geographical entity, forming a plateau at between 30 and 80 m above sea level (NGF datum: French levelling network), which comes up against the limestones of the “garrigues” to the west (Figure 1a). The Costières area has been the subject of many geological investigations (Barrière and Toni, 1973; Desaunettes and Vigneron 1958). Its geological history starts with the transgression of the Pliocene Sea that extended right up to the foot of the “garrigues” (Barremian limestones) and led to the deposition of two types of sedimentary facies:

During the Plaisancian (3.6-2.6 Ma ago): an argillaceous sediment made up of grey-blue clay. At depth, these clays show a grey-blue facies, but display a yellow facies on the surface when they are weathered. The Plaisancian forms the impermeable substratum of the overlying Plio-Quaternary formations.

During the Astian (2.6-1.8 Ma ago): a sediment showing sandy facies, generally with a thickness of 10 m, made up of yellow or greenish sands, medium to fine grained (median size: 0.15 to 0.25 mm).

When the Pliocene sea retreated, it gave way to a large braided river (the old Rhone), which covered the area with a thick layer of gravels derived from the Rhone or the Durance rivers (Villafranchian, 3.6-0.9 Ma ago). These gravels are made up mainly of pebbles of alpine quartzite and quartz from the Cevennes, with smaller proportions of limestones, magmatic rocks (granites, granulites, basalts and variolites), jasper and flint, as well as metamorphic rocks (quartzose, sericitic and micaceous schists, gneiss, etc.). The weathered gravels were then covered by a layer of loess (silt and limestone), following the glacial events of the Quaternary, with its deposition being favoured by northerly winds (Barrière and Toni, 1973; Desaunettes and Vigneron, 1958).

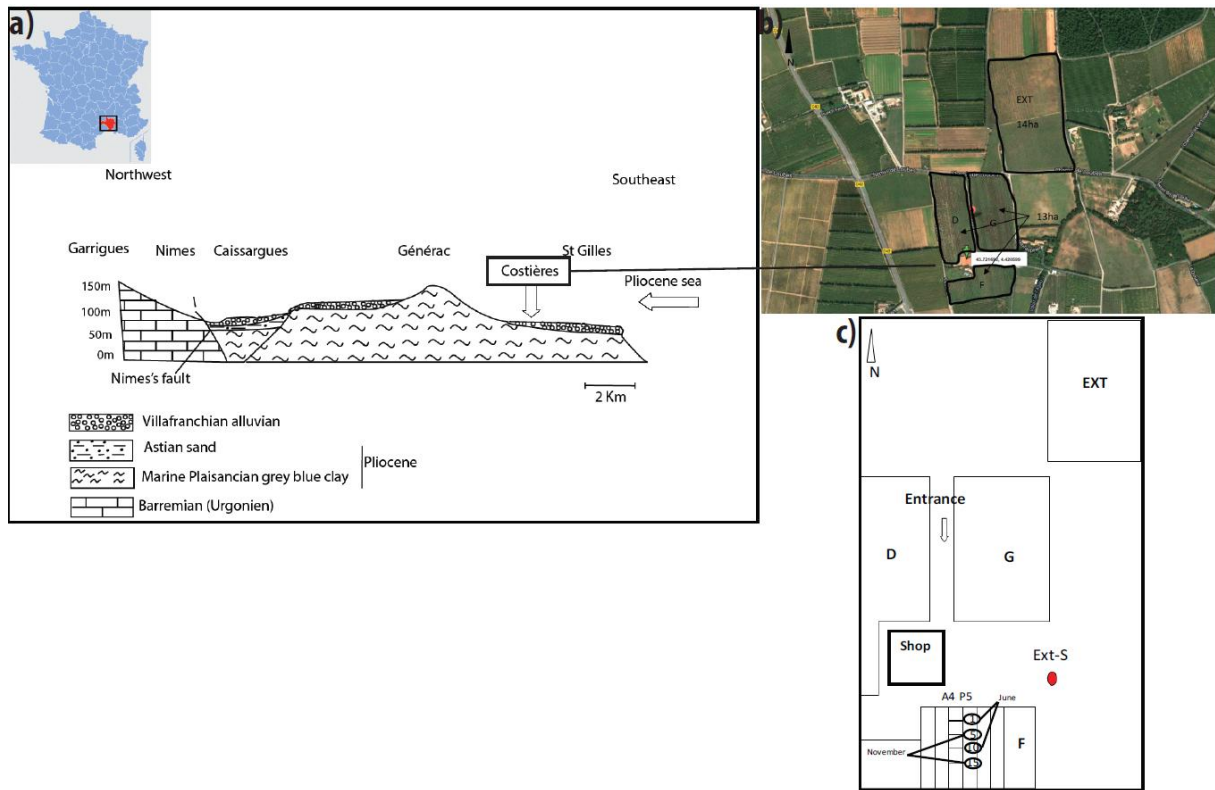


Figure 1: Location of the studied site: a) Geological context (from Desauettes & Vigneron 1958; Barrière et al 1973) and b) satellite view of the cost  res plots; c) scheme of the Cost  res plots

3. Methodology

3.1. Sampling

In September 1996, the Cost  res olive oil producers started to plant about 5 000 olive trees (Cendre, Aglandau and Picholine varieties), continuing with a further 3000 in April 1997 and, finally, 2 000 in September 1997. Today, the cultivated area extends over 30 hectares with 10 000 trees, divided into four plots (denoted D, G, F and EXT) (Figure 1b, 1c). Since 2008, the holding has been converting to organic production, in which three main treatment products are authorized (Table 1). In 2011, the olive-growing area officially obtained the ‘‘Organic Agriculture’’ label. The cultivation method on the Cost  res mill holding is moreover based on drop-by-drop irrigation of the olive trees using water from the ‘‘Bas-Rhône

Languedoc” canal (management company BRL) that conveys water of the Rhone towards the south of the Gard department.

In the framework of our study, we carried out sampling on plot “F” of the Costières mill holding, selecting two varieties of olive trees, Picholine (P5 reference) and Aglandau (A4 reference); the latter being allowed to represent small percentages in the PDO Nimes oil (decree of 17 November 2004 “INAO”). These two varieties were selected close to each other to limit the effects due to substrate heterogeneity. Four replicates were studied for each variety, taking care to remain always in the same cultivation zone (plantation lines (L) 1, 5, 10 and 15) (Figure 1c). Sampling was carried out at two periods:

1/In June 2012: sampling of varieties P5 and A4 with two replicates (L1 and L10)

2/In November 2012: sampling of varieties P5 and A4 with two other replicates (L5 and L15) + sampling of the soils, water and crop improvement products (noted below as “additives”) (fungicides and fertilizers).

Sampling consists of:

- Collection of branches (B), leaves (F), and olives (O) for each replicate. A batch of 30 leaves taken at the same level as branches was considered to ensure the representativeness of the data on the scale of the tree, and 20 olives were taken from each sampled tree of the Aglandau variety.
- Collection of “small” roots (R) wherever permitted by the environment: for given trees, these roots were taken within a few cm to tens of cm below the surface during digging for soil sampling. This type of network of small roots is known to develop in surface layers near the water supply zone, drippers, etc. (Fernández-Escobar , Moreno ,& García-Creus, 1999).

- Sampling of soils (S) at the foot of each studied replicate tree, as well as a soil from outside the plot. Considered as a reference, this soil was observed, since it has not undergone any applications of agricultural additives (ext-S). Sampling was carried out using an auger 1 m away from the tree; the soils were sampled at a depth of 40 cm, for which no imprint of cultivation additive was observed (Medini et al., in prep).
- Collection of irrigation water (IW)
- Identification and analysis of additives (fungicides, insecticides, weedkillers, soil improvers) (Table 1).
- Lastly, a bottle of olive oil from year 2012 was sampled from ongoing production year. This sample was kept closed at ambient temperature and in darkness to avoid the oxidation of its triglycerides by hydrolysis.

Table 1: Treatments used during the olive growth on the Costières plots

Product	Type	Composition	Description	Usage Period	Quantity
Cuprous Oxide	Fungicide	50% Cu2O	-Red	March	6kg/ 2000L
			-Soluble in water		spray
			-Prevention against "Leaf Spot*"		(Personal communication, Fabien Jeanjean)
Biovie	Fertilizer	Dried blood rich in Fe and N	-Brown	March	350 g/ arbre
					Under trees
					(Personal communication, Fabien Jeanjean)
White clay (kaolinite)	Insecticide	Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄	-White	July	-First passage (50 kg.ha ⁻¹)
		Pure kaolinite	-Prevention against the olive fly (Dacus oleae)		-Second passage (30 kg.ha ⁻¹), 15 days after
		(Cama et al, 2002)			Spray (Personal communication, Fabien Jeanjean)

3.2. Samples treatment

The chemical extraction of Sr was carried out on resin columns (Sr-specific resin, EICHRON) according to the purification protocol of (Pin, Joannon, Bosq, Le Fèvre, & Gauthier, 2003), after samples solubilization. Samples from the plants (roots, branches, leaves and olives) were first ultrasonically cleaned in water and dried, then finely crushed using a tungsten carbide Spex mill. Crushing of the olive samples was carried out under liquid nitrogen. The water from plants washing was collected, evaporated and the dry residue taken up in solution for extraction and isotopic analysis of Sr. The obtained powdered samples (mass ranging from 0.3 to 0.4 g, depending on the matrix) were digested using 7 ml HNO₃ (7N) and 1 ml H₂O₂ in an ETHOS One microwave oven (Milestone, Thermo Fisher), according to the following protocol: gradual heating for 25 min to 220 °C, stabilization for 15 min at 220°C, and a cooling step for 10 min. The solutions prepared this way were evaporated to dryness.

The soils were sieved through a 2 mm mesh to remove the coarse grains, especially potential residues of the litter. They were then dried at 45°C. After complete drying, a mass of 80 to 150 mg was weighed and then subjected to leaching in dilute acid (1 ml of 1N acetic acid) for 5 min (Van der Hoven & Quade, 2002), for recovery of the soluble phases after centrifugation. This approach allowed separation of the leachate from the matrix. The leachate is made up of soluble phases, mainly the carbonate phases, but also salts and interstitial waters. Under irrigated cultivation, it has been shown that the isotopic composition (IC) of Sr contained in the carbonate phase is identical to that of the exchangeable phase or the labile fraction (Medini et al., in prep). The leachate was then evaporated and the obtained dry residue taken again for separation on Sr-resin.

The agricultural additives were also treated by acid leaching, assuming a necessary dissolution for the release of elements likely to be taken up by the plant. A mass of 200-250 mg of cuprous oxide or Biovie was weighed and washed with hydrochloric acid (5 ml of 1N HCl) for 5 min. The soluble phase of this oxide was then recovered and evaporated to dryness. Afterwards, the obtained dry residue was recovered with 2 ml of hydrogen peroxide (H₂O₂). The solution was then evaporated to dryness for a second time.

The irrigation water was evaporated after filtration (0.45 µm) the dry deposit recovered with HNO₃ 2N. Finally, the olive oil was treated using the Sr extraction protocol described in (Medini et al., 2015).

After extraction, Sr was deposited on a tantalum filament (H. CROSS Company, USA) and analysed for its four isotopes (⁸⁴Sr, ⁸⁶Sr, ⁸⁷Sr and ⁸⁸Sr) using a thermal ionization mass spectrometer (Thermo Finnigan Triton TI). The isotopic ratios were determined using a statistical procedure including 100 measured values. The ⁸⁶Sr/⁸⁸Sr ratios were normalized using a fixed ratio of 0.1194. The potential interferences with ⁸⁷Rb were also taken into account and corrected. The error of analysis is expressed in (2σ). The external reproducibility of the instrument was checked against the international strontium standard NBS-987 certified by NIST (National Institute of Standards and Technology), yielding a ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr ratio of 0.710245±10⁻⁵.

The Sr contents in the leachates were also determined by ICP-MS (Laboratory of Hydrology and Geochemistry of Strasbourg), following the procedure of (Samuel, Rouault, & Besnus, 1985).

4. Results and discussion

4.1. Results

$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios and Sr contents are reported in Table 2 for the various studied samples. The soluble phases of the soils sampled at 40 cm in depth in the environment of the Picholine trees yield Sr contents of about 300 to 360 ppm. Only the soil sampled for the L1 replicate yields a higher content of 546 ppm (Figure 2b). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of these soils, as well as those sampled at the foot of the Aglandau trees, range between $0.70843 \pm 1.6 \cdot 10^{-5}$ and $0.708696 \pm 8 \cdot 10^{-6}$ ($n=7$). Only a single soil sample (collected near an Aglandau tree for the L15 replicate) yields a significantly less radiogenic IC (A4-15-S; $0.70825 \pm 2.4 \cdot 10^{-5}$) (Figure 2a). Except for this last example, the isotopic compositions measured in the cultivated soils ($0.7085 \pm 1.1 \cdot 10^{-4}$) ($n=7$) are generally comparable with the value measured in soils from outside the plot (ext-S; $0.70866 \pm 2 \cdot 10^{-5}$), which are not impacted directly by current applications of agricultural additives. The soils sampled at 40 cm in depth are thus not imprinted by agriculture additives as expected (Medini et al., in prep). Throughout the discussion, the properties defined for the soils sampled in these conditions were considered as reference components of the “pedological” source term.

The roots of the olive trees are very significantly depleted in Sr compared to the soils, with contents ranging from 14 to 35 ppm and their $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios vary between $0.708433 \pm 4 \cdot 10^{-6}$ and $0.708826 \pm 4 \cdot 10^{-6}$ ($n=8$), with a mean value of $0.7086 \pm 1.4 \cdot 10^{-4}$. These values are close to those measured in the soluble phase of the soils. However, two root samples show higher IC with respect to this domain: in the case of replicate L10 when considering either the Picholine or the Aglandau variety and in the case of replicate L1 for Aglandau (Figure 3a). These higher values in roots compare to soils relate to sampling carried out in June.

The IC of the branches varies from 0.708281 ± 8.10^{-6} to 0.70875 ± 10^{-5} (n=8). The mean IC value of the branches ($0.7086 \pm 1.5.10^{-4}$) (n=8) is comparable with that of the roots ($0.7086 \pm 1.4.10^{-4}$) (n=8) (Table 2). Taken individually, the Sr isotope composition of the branches of a given olive tree is close to that measured in the corresponding roots (as observed in 6 individual samples) (Figure 3b). Two cases escape this rule:

- The Sr IC of branches from Aglandau olive tree of replicate L1 (A4-1-B; 0.708281 ± 8.10^{-6}) is lower than that of the roots (A4-1-R; 0.708433 ± 4.10^{-6}).

- Conversely, the Sr IC of branches from Picholine olive tree of replicates L1 and L5 (P5-1-B; 0.708463 ± 6.10^{-6} , P5-5-B; 0.708625 ± 6.10^{-6}) is slightly higher than those of the corresponding roots (P5-1-R; 0.708419 ± 8.10^{-6} , P5-5-R; 0.708504 ± 8.10^{-6}).

The leaves are low in Sr (8 to 20 ppm) (Table 2), and the range of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios is comparable with that measured in the roots and branches ($0.70830 \pm 1.6.10^{-5}$ to $0.70877 \pm 1.3.10^{-5}$) (n=8) for any given olive tree taken individually. Only replicate L5 is an exception to this rule: the Sr IC of the leaves (A4-5-F; 0.708576 ± 8.10^{-6} and P5-5-F; 0.708562 ± 8.10^{-6}) is slightly lower than that of the branches (A4-5-B; 0.708656 ± 7.10^{-6} and P5-5-B; 0.708625 ± 8.10^{-6}) (Figure 3b) Furthermore, there is no difference in the behaviour of Sr according to the variety (Aglandau or Picholine olive).

The olives are very low in Sr (0.45 to 0.67 ppm) (Table 2), and their IC values range between 0.70825 ± 10^{-5} and 0.70861 ± 10^{-5} (n=6) corresponding to the range of values already recorded for the parts of the plant. Considering a same tree, values are similar in the roots, the branches, the leaves and the olives (Figure 3b). Only the olives of L10 do not comply with this rule, and show a lower $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio than the other compartments.

The IC values of the additives are quietly higher to those still recorded, from 0.70950 ± 2.10^{-5} to 0.74325 ± 4.10^{-5} , with Sr contents respectively of 23.8, 1.82 and 1.5 ppm for the Biovie, the cuprous oxide and the white clay (Table 2).

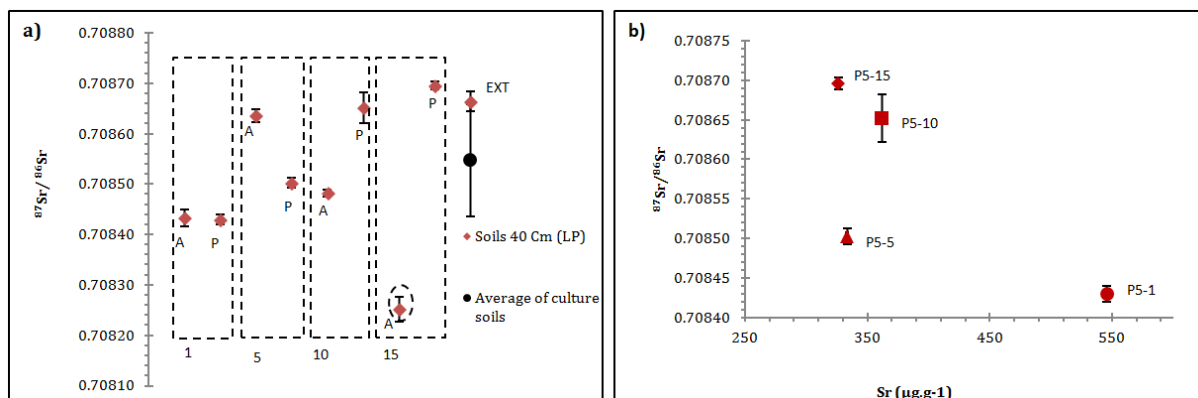


Figure 2: a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of soils collected at 40 cm in depth on the F plot of “the Costières” and of one soil collected outside the plot; b) Isotopic composition versus Sr concentration of these soils for the Picholine variety

Tableau 2: Sr isotopic composition ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) and Sr contents [Sr] in the different studied compartments (water, soils, branches, leaves, olives, oil, and added products) on the plots of the Costières

Nature	Samples	Species	Sampling period	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2 s	Average	[Sr] $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
Soils	2012-11-A4-1-S	/	November	0.708433	1.60 E-05	0.7085 $\pm$ 1.50E-04 (n=7)	/
	2012-11-P5-1-S	/	November	0.708430	9.80 E-06		546
	2012-11-A4-5-S	/	November	0.708636	1.20E-05		/
	2012-11-P5-5-S	/	November	0.708503	1.00E-05		333
	2012-11-A4-10-S	/	November	0.708483	7.00E-06		/
	2012-06-P5-10-S	/	June	0.708652	3.00E-05		362
	2012-11-A4-15-S	/	November	0.708252	2.40E-05		/
	2012-11-P5-15-S	/	November	0.708696	8.00E-06		326
Roots	2012-11-EXT-S	/	November	0.708664	2.00E-05	0.7086 $\pm$ 1.50E-04 (n=8)	/
	2012-11-A4-1-R	Aglandau	November	0.708433	3.80E-06		/
	2012-06-A4-1-R	Aglandau	June	0.708648	1.10E-05		/
	2012-11-P5-1-R	Picholine	November	0.708419	8.00E-06		/
	2012-11-A4-5-R	Aglandau	November	0.708624	5.00E-06		/
	2012-11-P5-5-R	Picholine	November	0.708504	8.00E-06		34.6
	2012-06-A4-10-R	Aglandau	June	0.708761	7.00E-06		/
	2012-06-P5-10-R	Picholine	June	0.708826	8.00E-06		14
Branches	2012-11-A4-15-R	Aglandau	November	0.708647	6.50E-06	0.7086 $\pm$ 1.60E-04 (n=8)	/
	2012-11-P5-15-R	Picholine	November	0.708732	8.50E-06		/
	2012-11-A4-1-B	Aglandau	November	0.708281	8.00E-06		/
	2012-11-P5-1-B	Picholine	November	0.708463	6.00E-06		/
	2012-11-A4-5-B	Aglandau	November	0.708656	7.00E-06		/
	2012-11-P5-5-B	Picholine	November	0.708625	7.00E-06		/
	2012-06-A4-10-B	Aglandau	June	0.708722	1.10E-05		/
	2012-06-P5-10-B	Picholine	June	0.708754	1.00E-05		/
Leaves	2012-11-A4-15-B	Aglandau	November	0.708687	9.00E-06	0.7086 $\pm$ 1.60E-04 (n=8)	/
	2012-11-P5-15-B	Picholine	November	0.708679	1.00E-05		/
	2012-11-A4-1-F	Aglandau	November	0.708305	1.60E-05		20.7
	2012-11-P5-1-F	Picholine	November	0.708421	1.00E-05		/
	2012-11-A4-5-F	Aglandau	November	0.708576	8.00E-06		/
	2012-11-P5-5-F	Picholine	November	0.708562	8.00E-06		/
	2012-06-A4-10-F	Aglandau	June	0.708768	1.30E-05		8.13
	2012-06-P5-10-F	Picholine	June	0.708741	6.00E-06		/
Olives	2012-11-A4-15-F	Aglandau	November	0.708667	7.00E-06	0.7085 $\pm$ 1.70E-04 (n=4)	/
	2012-11-P5-15-F	Picholine	November	0.708690	1.00E-05		/
	2013-09-Cos-D-F	Mixture	September	0.708719	6.60E10 ⁻⁶		9.25
	2013-09-Cos-G-F	Mixture	September	0.70896	1.20 E-06		8.2
	2013-09-Cos-F-F	Mixture	September	0.708710	6.00 E-06		11.8
	2013-09-Cos-Ext-F	Mixture	September	0.70871	1.00 E-06		7.16
	2012-11-A4-1-O	Aglandau	November	0.708258	2.00E-05		0.67
	2012-11-A4-5-O	Aglandau	November	0.708592	8.40E-06		/
Waters	2012-11-A4-10-O	Aglandau	November	0.708592	2.40E-05	0.708564 $\pm$ 7.00E-6 (n=2)	0.45
	2012-11-A4-15-O	Aglandau	November	0.708612	1.00E-05		/
Additives	2012-06-EI(1)	/	June	0.708559	7.00E-06	/	/
	2012-06-EI(2)	/	June	0.708569	1.20E-05		/
Olive oil	CU ₂ O-COS	/	November	0.710983	1.60E-05	/	1.82
	Biovie-COS	/	November	0.709499	2.00E-05		23.8
	White clay	/	/	0.743247	4.00 E-05		1.5
	(Medini et al., In prep)						
Olive oil	Cos-12-H	/	/	0.7088	2.00 E-04	/	1.98
							ng.g ⁻¹

4.2. Discussion

The various compartments of the olive tree have identical average Sr isotope compositions themselves being moreover close to soils' values (Table 2). This implies a major input of Sr from the pool of exchangeable cations in the soil (Stewart et al., 1998), rather than other natural or anthropic sources (atmospheric particles, fertilizers, etc.).

In the context of olive growing at the Costières mill, the Sr is transferred from the soil towards the other parts of the plant via the roots without visible modification of the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio, in agreement with the studies of (Graustein, 1988) and (Blum et al., 2000). This remark applies at a general statistical scale, as some variations can be observed at the tree scale, which could indicate local influences of other Sr sources.

4.2.1. Soil-roots transfer

The soils sampled at 40 cm under the olive trees show isotopic and chemical characteristics comparable to the soil outside the cultivated plots, which leads to conclude that there is no impact on these soils due to agricultural additives (Biovie-Cos, cuprous oxide and white clay). However, these soils vary at the scale of the plot reflecting a natural mineralogical heterogeneity. Overall, the Sr isotope compositions of these soils (soluble phase) are the same as in the roots sampled nearer the ground surface. However, a variation in this isotopic pattern is observed in A4-1, A4-10 and P5-10 situations, where roots yield higher IC values than the reference soils (Figure 3a). This difference is invariably apparent on olive trees of the Picholine or Aglandau type, but only for a precise period of sampling. The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios measured in the roots of the two olive varieties (Picholine and Aglandau) collected in November are very close to the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the soils. On the other hand, the IC of the roots collected in June (A4-1-R; $0.70865 \pm 1.1 \cdot 10^{-5}$, A4-10-R; $0.708761 \pm 7 \cdot 10^{-6}$ and P5-10-R; $0.708826 \pm 8 \cdot 10^{-6}$) is higher than the value measured in the soluble phases of the soils

(A4-1S; $0.70843 \pm 1.6 \cdot 10^{-5}$, A4-10-S; $0.708483 \pm 7 \cdot 10^{-6}$ and P5-10-S; $0.70865 \pm 3 \cdot 10^{-5}$) (Figure 3a). This variation as a function of the sampling period can be explained by considering the cultivation methods: olive trees have been treated (1) by Biovie and cuprous oxide in March, (2) with white clay in July (Table 1). Cuprous oxide and white clay have been sprayed onto the foliage whereas Biovie has been deposited at the tree foots. Roots samples collected in June can have been affected by Biovie. To support these data, a comparison is made regarding the Aglandau variety and the L1 replicate, for which a root was sampled in June and another in November. The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio of the root sampled in June is higher ($0.708648 \pm 4 \cdot 10^{-6}$) than in the root sampled in November ($0.70843 \pm 1.1 \cdot 10^{-5}$) (Table 2; Figure 3a). Considering that Biovie is a product with a higher $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ($0.70950 \pm 2 \cdot 10^{-5}$) deposited on the surface of the soils, the trends towards more radiogenic values in the roots two months after its deposition can be explained by a localized effect of the product. The roots sampled in June could have assimilated Sr from Biovie, but its effect would not last more than 6 months. To explore the possible addition of Sr of anthropic origin to the roots, the data were plotted on a mixing diagram (Figure 4a) showing $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ vs. the reciprocal of the Sr content ($1/\text{Sr}$). In such a diagram, the physical mixing of two end-members is expressed as straight lines between the considered end-members (Faure, 1986). Data of roots, soils and Biovie are considered to evaluate a potential link between the three components. In the same way, values of the irrigation water will be studied to discuss its potential effect.

Three theoretical straight binary mixing lines are plotted in Figure 4a, corresponding to: (I) mixtures of soil (soluble phase) with Biovie, (II) mixtures of soil (soluble phase) with irrigation water, and (III) mixtures of Biovie with irrigation water (Figure 4a). The Sr contents and isotope compositions of the binary mixtures are obtained from the equation of (Faure, 1986):

$$Sr_m = Sr_A f + Sr_B(1 - f) \quad (1)$$

$$(\varepsilon)_m = \frac{Sr_A Sr_B [(\varepsilon)_B - (\varepsilon)_A]}{Sr_m (Sr_A - Sr_B)} + \frac{Sr_A \varepsilon_A - Sr_B \varepsilon_B}{Sr_A - Sr_B} \quad (2)$$

Where Sr_m and ε_m are respectively the Sr contents and isotopic ratios ($^{87}Sr/^{86}Sr$) of the mixtures, and f the fraction of end-member in the mixtures. Subscripts A and B refer to two end-members.

The report of data for the two studied roots suggests that 90% of the Sr in the root sampled in November (P5-5-R) derived from the soluble phase of the soil, and has only been slightly influenced by Sr from irrigation water (10%). On the other hand, the root sampled in June not only assimilated more Sr from irrigation water, but also more Sr from Biovie (Figure 4a). The data point obtained, in terms of both Sr content and isotope composition is indeed located within the triangle linking the three studied end-members, thus indicating a ternary mixture between soil, irrigation water and Biovie. These observations support the hypothesis of an impact of Biovie on the Sr plant composition during the initial months after application. More than 9 months after the first application of this product, its effect is no longer detectable in the roots, and therefore, by inference, in the surrounding soil. This highlights the mobility of Sr over time in the soils, and its potential transfer from the roots, probably towards the other organs of the plant. This is confirmed by another observation, which is that even most of the studied olives, sampled from Aglandau trees in November, yield the same isotopic characteristics as the tree from which they were taken, except the L10 replicate, where olives (A4-10-O; $0.70859 \pm 2.4 \cdot 10^{-5}$) are less radiogenic than the other organs of the plant (A4-10-R; $0.708761 \pm 7 \cdot 10^{-6}$, A4-10-B; $0.70872 \pm 1.1 \cdot 10^{-5}$, A4-10-F; $0.70877 \pm 1.3 \cdot 10^{-5}$) (Figure 3b – see §4.2.2). for the specific discussion on Sr transfer within the plant). In this case, the roots, branches and leaves of this olive tree were sampled in June, that is to say, two months after the application of Biovie, and not in November like olives. Since the $^{87}Sr/^{86}Sr$ ratios of the

roots may be influenced by this fertilizer, its isotopic signature, and thus its influence, would thus have been transferred in a sporadic way to the other organs of the plant (roots, branches, and leaves) sampled during the same period (June), but would have decreased within the olives. Consequently, the isotopic signature of the olives rather tends towards the “unimpacted soil” compartment as seen on Figure 3b. In addition, the Sr of olives sampled in November (P5-5-R) results from a binary mixture between Sr in the soluble phase of the soil and Sr in the irrigation water since the measurements of the Sr content and the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio show that olive “P5-5-O” plots on the soil-irrigation water mixing line (Figure 4a). Translocation from soil via the roots is therefore the main mechanism for the incorporation of Sr into the olives, which thus do not seem to be influenced by atmospheric inputs like leaves may be (see §4.2.2. for explanation). Anyhow, this paragraph leads to the conclusion that the Sr isotope composition measured in the roots is representative of that in the soil at any given moment.

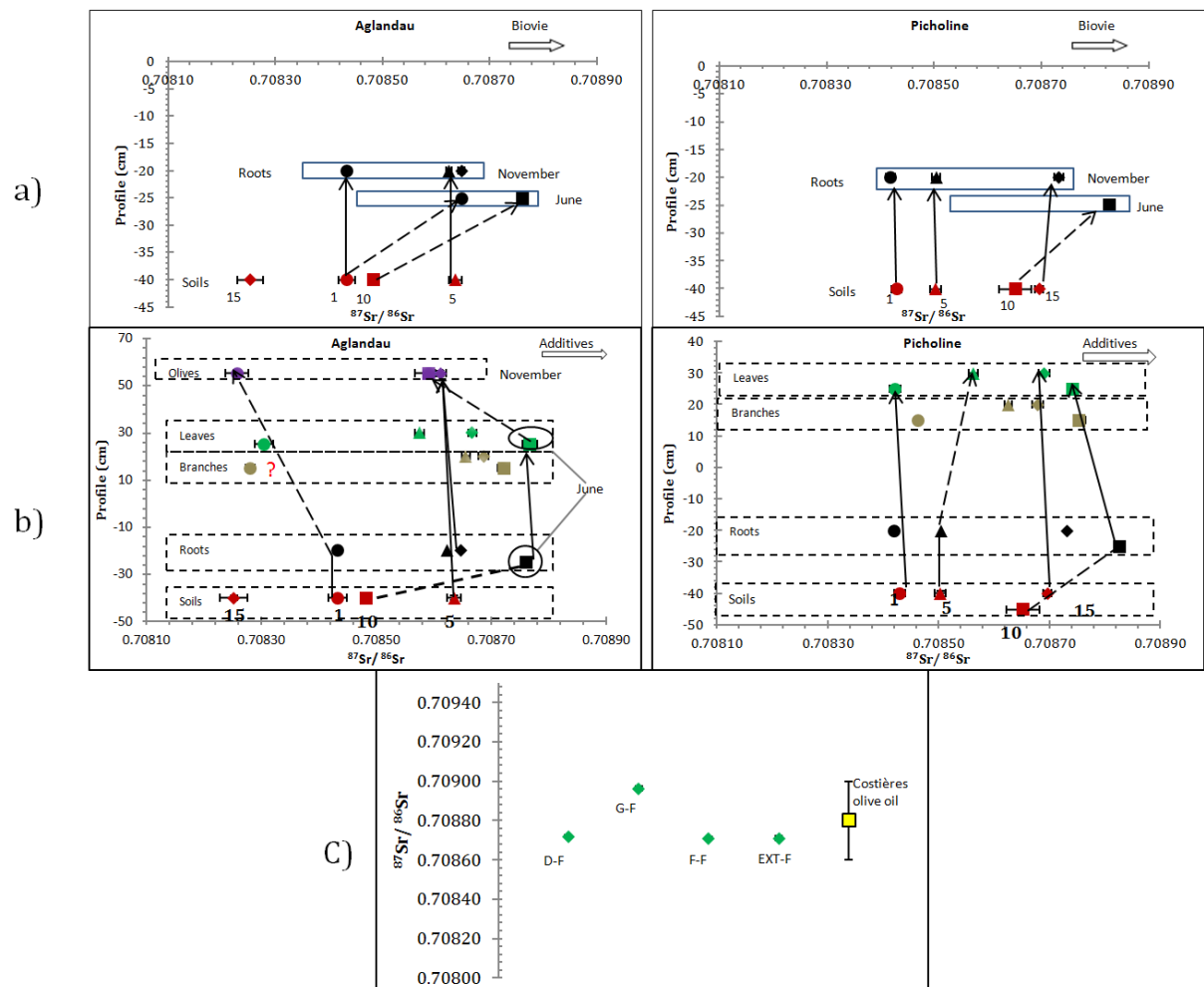


Figure 3: a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of soils and roots on the F plot of Costières taking into account the sampling period and the cultivated olive variety (Aglandau/ Picholine); b) Evolution of the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios from the geological reservoir (soils) to the biologic cal ones (roots, branches, leaves and olives) for the two studied olive variety; c) Comparison between $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ of leaves in the different plots and of the olive oil

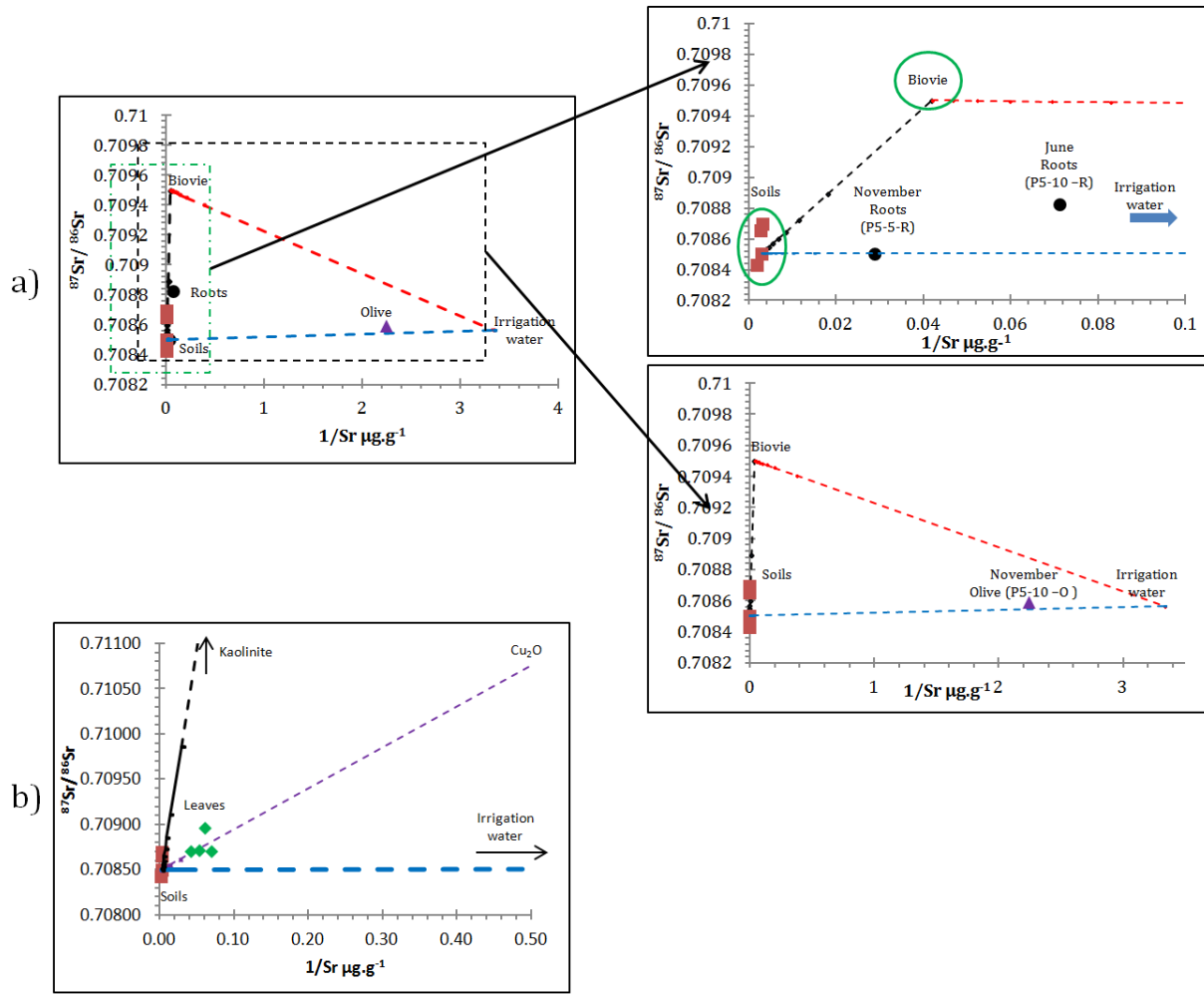


Figure 4: a) Mixing diagram $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ versus $1/\text{Sr}$ pointing out the relation between soils, roots, olives, irrigation water and Biovie; b) Mixing diagram $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ versus $1/\text{Sr}$ of pointing out the relation between soils, leaves, irrigation water and additive such as white clay (kaolinite) and copper oxide (Cu_2O)

4.2.2. Transfer within plants

The range of the Sr isotope compositions measured in the three parts of the olive tree (i.e. the roots, branches and leaves) are identical, ranging from 0.7083 to 0.7087 in the branches and leaves, and from 0.7084 to 0.7088 in the roots (n=8) (Figure 3a). Taken individually, the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of the branches and leaves of the olive tree are identical. In the same way, these IC values are often very close to those measured in the corresponding roots, and this also applies to soils when there is no recorded impact of anthropic additives. Absorption by the roots can thus be considered as the dominant transfer mechanism for Sr in plant tissues. After its absorption through the root system, the Sr is transported and concentrated in the

foliar organs of the olive trees, as seen for over plants variety (Al-Oudat, Asfary, Mukhalaliti, Al-Hamwi, & Kanakri, 2006; Carini & Lombi, 1997; Von Fircks, Rosen, & Sennerby-Forsse, 2002). However, absorption via the roots is related to a certain number of varied, the most determinant being the plant species (Sasmaz & Sasmaz, 2009; Willey & Fawcett, 2006), the mineral composition of the soil (Choi et al., 2008), and the organic matter content and pH of the soil (Roca & Vallejo, 1995; Veresoglou, Tsialtas, Barbayiannis, & Zalidis, 1995). For instance, the absorption of Sr decreases with increasing organic matter content (Bergeijk, Noordijk, Lembrechts, & Frissel, 1992; Lakanen & Paasikallio, 1970), whereas an acid medium favours its desorption from soil particles, thus increasing its bioavailability (Borovec, 2000). The competition between chemically similar elements, in particular exchangeable Ca and Mg contents, also plays a dominant role in the absorption of Sr by the plant (Camps, Rigol, Hillier, Vidal, & Rauret, 2004; Choi et al., 2008; Moyen & Roblin, 2010).

Some studies point to a second route of entry of Sr into the plant, through the leaves. The dusty or liquid atmospheric Sr deposited on the leaves can be incorporated into the plant via the stomata, or by diffusion through the walls of the foliar cells. This “foliar” contribution to Sr uptake is considered as relatively minor because of the very low mobility of this element in the phloem (Feller, 1989; Malek, Hinton, & Webb, 2002). Locally, at the scale of the studied plot, atypical Sr data will help to discuss this process in case of olive trees.

- The branches, and to a lesser extent the leaves, of the Picholine olive trees in replicates L5 yield higher IC values (P5-5-B; 0.708625 ± 7.10^{-6}) compared with the corresponding roots (P5-5-R; 0.708504 ± 8.10^{-6}). This variation implies the role of another Sr source in the foliage of this tree. Although leaves were carefully washed, the adsorption of particles onto their surface remains a possible mechanism. The imprint of an anthropic input is thus, not to be excluded. Since cuprous oxide and white clay are two sprayed treatments with highly radiogenic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signatures, it

can be considered a specific effect of one or other of these products. The combination of Sr isotopic and elementary data of the foliage points out a “soil-Cu₂O” mixture in a mixing diagram (Figure 4b). One must consider a role of Sr from Cu₂O to explain the foliage Sr pattern in this tree. Around 2% of the Sr in the leaves comes from the fungicide product.

- On the contrary, the Sr of the branches and the leaves from the Aglandau olive tree in replicate L1 is less radiogenic (0.708281 ± 8.10^{-6} ; $0.70830 \pm 1.6.10^{-5}$) than that of their roots ($0.708433 \pm 3.8.10^{-6}$). Since none of the parameters proposed so far can explain this variation, another mechanism needs to be considered.

Except for these two cases, the similar isotopic compositions measured in the three compartments (roots, branches and leaves) of the olive trees lead us to assume that the transfer of Sr in the plant takes place without isotopic fractionation, thus corroborating the study of Blum et al., (2000) and the hypothesis of Graustein, (1988). There are currently a very few data concerning the behaviour of Sr in a given plant, as well as the processes of fractionation which might occur in such a medium. However, because of the high atomic mass of Sr, its isotope ratio remains constant during processes at low temperature. This would be compatible with the absence of fractionation during the uptake of Sr during the growth of the plant, and thus the lack of variation observed in $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio between the roots and the growing soil (Graustein, 1988). However, a more recent study undertaken by (De Souza, Reynolds, Kiczka, & Bourdon, 2010) reveals a weak isotopic fractionation during absorption of Sr by plants, with a preference for the light isotopes. Measurements are expressed in terms of $\delta^{88/87}\text{Sr}$, which allows detection of slight isotopic variations, even when the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios are very similar. It is debatable whether the role of fractionation can explain these Sr isotope compositions, since the measurements relate to a natural system whose parameters are yet poorly constrained.

4.2.3. From the plant to the finished product, olive oil

Olive oil is produced exclusively by pressing mechanically olives. How much of the Sr contained in the oil comes from the olive fruit? What is the link with the other organs of the tree? The absorption of Sr by the olive fruit can occur in two different ways: supply from other active organs of the plant (roots, branches, leaves, etc.), which is known as translocation (Carini and Bengtsson 2001), or deposition on their surface by direct absorption. The absorption and translocation rates of Sr into the fruit depend on the variety and the age of the plant (Carini and Bengtsson, 2001). The rate of absorption is measured by a transfer factor ($[\text{Fruit}] / [\text{Soil}]$). Thus, for olives, this rate is comprised between $1.4 \cdot 10^{-3}$ and 10^{-1} (Carini and Bengtsson, 2001; Al-Oudat et al., 2006; this study), whereas, for instance, it ranges between $1.2 \cdot 10^{-3}$ and $7.0 \cdot 10^{-2}$ for grapes (Carini and Bengtsson, 2001).

The olive oil results from a mixture of olives collected on several plots of the mill holding. The variability of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios at the scale of the mill can be significant but was not determined in this study. To obtain a more representative view of the Sr average signature of the olive trees over the whole mill holding, we sampled two leaves of each tree on each plot (F, D, G) as well as from outside the mill (EXT) (Figure 1b, 1c and Table 2). The average Sr IC of these various leaves should point towards the Sr average IC of the olive trees, which is thus representative of the olives of the whole Costières olive mill. This should provide an appropriate theoretical Sr isotopic signature relative to that of the harvest for the production of oil.

The leaves from the olive trees of the various plots of the Costières oil mill holding are low in Sr (7 to 12 ppm) (Table 2). Their IC values lie between $0.70871 \pm 1.0 \cdot 10^{-5}$ and $0.70896 \pm 1.2 \cdot 10^{-5}$ ($n=4$) (Figure 3c). Costières olive oil is very low in Sr (1.98 ng.g^{-1}), with a $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signature (0.7088 ± 2.10^{-4}) identical to the average IC of leaves from trees of the various plots ($0.7088 \pm 1.2 \cdot 10^{-4}$) (Figure 3c). Thus, the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio being identical, on

average, in the biological (roots, branches, leaves and olives) and geological parts (soils), the IC values of the leaves in the various plots of the mill holding can be considered as identical to the IC of the olives collected for the manufacture of Costières PDO olive oil. The Sr of this oil results from mixing of olives collected on the four plots, which in turn is derived from the soils, and is identical to the leaves, without any modification of the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio. There is, thus, a common isotopic identity between the Costières PDO olive oil and the soils on which grew the olive trees. The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio is, therefore, an efficient tool for determining the geographical origin of the olive oils based on the local geology of the site.

5. Conclusion

This study aims to determine the various inputs of Sr likely to influence the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signature of olive trees, and discuss the feasibility of using Sr isotopes for the geographical tracing of olive oil. For this purpose, we measured the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios of various parts of a selection of olive trees (roots, branches, leaves and olives), as well as of the geological end-members (soils and water), the additive agricultural products (fertilizers, fungicides...) applied to a plot of the Costières mill holding covered by the specification of “Nîmes” PDO olive oil. The transfer of Sr between soil, plant and olive oil are studied, as well as the influence of the additives.

The Sr contents decrease from soil towards the top of the trees. However, the average Sr isotope composition in the soil is identical in the various parts of the olive tree (Figure 5). This implies that absorption via the roots from soil is the main source of Sr for the plant (90%) compared to other natural sources (airborne dusts) or anthropogenic inputs (fertilizers, fungicides). However, there is a sporadic and very localized influence of the agricultural additives on the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio in the various compartments of the tree; the fertilizer applied to the soil surface in March has an impact on the IC of the roots sampled in June, while the

fungicide and insecticide have an impact on the IC of some branches and leaves. In spite of these localized differences, the variations remain sufficiently limited not to be representative at the scale of the olive mill plots studied here. This study shows also that isotopic compositions are closely similar among the soils (bedrock geology), the plant (roots, branches, leaves and olives), and the end agro-food product, which in this case is olive oil, thus reflecting the influence of the geological environment. As a result, the Sr isotopic composition of an oil is mainly linked to the geology of the cultivation plots. Hence, the $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio proves to be a very good geographical tracer and a potentially efficient tool to certify the origin of olive products in areas where fraud and sanitary risks are increasingly presently, especially concerning the market of olive oils.

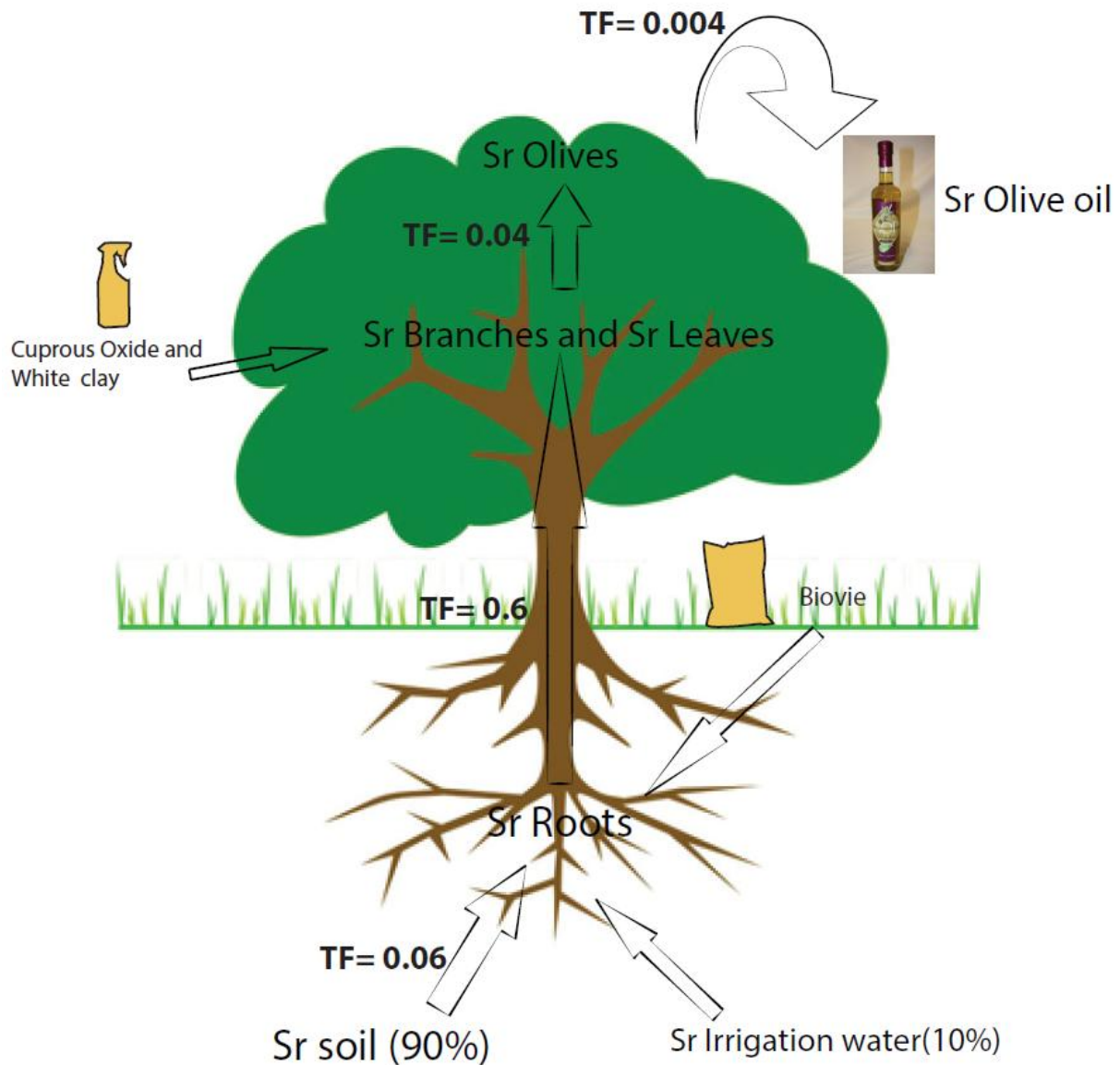


Figure 5: Mean $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios and transfer factor in the different geological and biological reservoirs, in added products and in olive oil for the Costières de Nîmes

Acknowledgements

The authors would like to thank Michael Carpenter for his expert English language review, and Mr. Fabian Jeanjean, the owner of the Costières' mill, for his stimulating collaboration. N. Clauer (Emeritus Research Director of the French National Research Center) is thanks for its valuable comments of the manuscript.

References

1. Al-Oudat, M., Asfary, A F., Mukhalalhti, H., Al-Hamwi, A., Kanakri S. (2006). Transfer factors of ^{137}Cs and ^{90}Sr from soil to trees in arid regions. *Journal of Environmental Radioactivity* 90, 78-88.
2. Barrière, J et Toni, C. (1972). Les Costières du Gard. Données nouvelles et interprétation. Bull. Soc. lang. géog., t.6, fasc.3, p.321-276.
3. Barrière, J., Bousquet, J C., et Toni, C. (1973). Données nouvelles sur la néotectonique des Costières du Gard. *C.R. Acad.Sci.*, Paris,t. 277, Sér. D, p.285-288.
4. Benincasa, C., Lewis, J., Perri, E., Sindona, G., Tagarelli, A. (2007). Determination of trace element in Italian virgin oilive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta* 585, 366-370, doi: 10.1016/j.aca.2006.12.024.
5. Bergeijk, K E., Noordijk, H., Lembrechts, J., Frissel, M J. (1992). Influence of pH, soil type and soil organic matter content on soil to plant transfer of radiocesium and strontium as analyzed by a non parametric method. *Journal of Environmental Radioactivity* 15, 265-276.
6. Blum, J., Taliaferro, E., Weisse, M., Holmes, R. (2000). Changes in Sr/Ca, Ba/Ca and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios between trophic levels in two forest ecosystems in the northeastern U.S.A. *Biogeochemistry* 49: 87–101.
7. Borovec, Z. (2000). Elements in size-fractionated bottom sediments of the Elbe River in its Czech part. *Aquat Sci*, 62:232-251.
8. Cama, J., Metz, V., Ganor, J. (2008). The effect of pH and temperature on kaolinite dissolution rate under acidic conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 66, No. 22, pp. 3913–3926.

9. Camps, M., Rigol, A., Hillier, S., Vidal, M & Rauret, G. (2004). Quantitative assessment of the effects of agricultural practices designed to reduce ^{137}Cs and ^{90}Sr soil-plant transfer in meadows. *Sci Tot Environ*, 37:2820-2828.
10. Carini, F., & Bengtsson, G. (2001). Post-deposition transport of radionuclides in fruit. *Journal of Environmental Radioactivity* 52, 215-236
11. Carini, F., & Lombi, E. (1997). Foliar and soil uptake of ^{134}Cs and ^{85}Sr by grape vines. *The Science of Total Environment* 207, 157-164.
12. Choi, S M., Lee, H S., Lee, G H., & Han, J K. (2008). Determination of the strontium isotope ratio by ICP-MS ginseng as a tracer of regional origin. *Food Chemistry*, 108, 1149–1154.
13. Desaunettes, J R., & Vignerot, J. (1958). Etude pédologique au 1/50000^e de la Costière du Gard et de la Vistrenque. Extrait des annales Agronomique, livraison du N°6 de 1958 ; pages 749 à 789.
14. De Souza, G., Reynolds, B., Kiczka, M., Bourdon, B. (2010). Evidence for mass-dependent isotopic fractionation of strontium in a glaciated granitic watershed. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 2596–2614.
15. Faure, G. (1986), Principles of Isotope Geology. John Wiley and Sons, Inc. (2nd ed., p.589).
16. Feller, U. (1989). Transfer of Rubidium from the Xylem to the Phloem in Wheat Internodes. *Journal of Plant Physiology* Volume 133, Issue 6, Pages 764–767.
17. Fernández-Escobar, R., Moreno, R., García-Creus, M. (1999). Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia Horticulturae* 25–45.

18. Gimenez, C., Fereres, E., Ruz, C., Orgaz, F. (1997). Water relations and gas exchange of olive trees: diurnal and seasonal patterns of leaf water potential, photosynthesis and stomatal conductance. *Acta Hort.* 449, 411–415.
19. Gosz, J R., Moore, D I. (1989). Strontium isotope studies of atmospheric inputs of forested watersheds in New Mexico. *Biogeochemistry* 8, 115-134
20. Graustein, W C. (1988). $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios measure the sources and flow of strontium in terrestrial ecosystems. In Rundel, P.W., Ehleringer, J.R. and Nagy, K.A. eds *Stable Isotopes in Ecological Research*, 491-512. Springer-Verlag.
21. Haddi, Z., Amari, A., Ould Ali, A., El Bari, N., Barhoumi, H., Maaref, A., Jaffrezic-Renault, N., Bouchikhi, B. (2011). Discrimination and identification of geographical origin virgin oil by an e-nose based on MOS sensors and pattern recognition techniques. *Procedia Engineering*, 25, 1137-1140.
22. Himour, S. (2010). Etude comparée de régénération de plants par voie végétative en culture in vitro. Université Mentouri-Constantine.
23. Janin, M., Medini, S., Techer, I. (2014). Methods for PDO olive oils traceability: State of art and discussion about the possible contribution of Sr isotopic tool. *European food research and Technology*. In press
24. Lakanen, E., Paasikallio, A. (1970). Effects of soil factors on the uptake of radiostrontium by plants. Part 2. *Annales Agriculturae Fenniae e Seria: Agrogeologia, Chimica et Physica* 9, 133-138.
25. Lakso, A N. (1985). The effects of water stress on physiological processes in fruit crops. *Acta Hort.* 171, 275–290.
26. Malek, M., Hinton, T G., Webb, S B. (2002). A comparison of ^{90}Sr and ^{137}Cs uptake in plants via three pathways at two Chernobyl contaminated sites. *Environmental Radioactivity.*, 58, 129–141.

27. Moyen, C., Roblin, G. (2010). Uptake and translocation of strontium in hydroponically grown maize plants, and subsequent effects on tissue ion content, growth and chlorophyll a/b ratio: comparison with Ca effects. *Environmental and Experimental Botany* 68, 247–257.
28. Medini, S., Janin, M., Verdoux, P., Techer, I. (2014). Methodological development for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ measurement in olive oil and preliminary discussion of its use for geographical traceability of PDO Nîmes (France). *Food Chemistry*. In press
29. Medini, S., Janin, M., Techer, I. (2014). Imprint of farming methods on the Sr bioavailability for olive trees; Implication on the traceability of olive oil using the Sr isotopic tool. In prep
30. Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J P., Guerere, M. (2003). Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 5723-5731.
31. Pin, C., Joannon, S., Bosq, C., Le Fèvre, B., Gauthier, P J. (2003). Precise determination of Rb, Sr, Ba and Pb in geological materials by isotope dilution and ICP-quadrupole mass spectrometry following selective separation of the analytes. *J. Anal. At. spectrom.*, 18, 135-141.
32. Roca, M C., Vallejo, V R. (1995). Effect of soil potassium and calcium on caesium and strontium uptake by plant roots. *J. Environ. Radioactiv.* 28, 141–159.
33. Sasmaz A & Sasmaz M. (2009). The phytoremediation potential for strontium of indigenous plants growing in a mining area, *Environ. Exp. Bot.*, 67, 139–144.
34. Samuel, J., Rouault, R., Besnus, Y. (1985). Analyse multi-élémentaire standardisée des matériaux géologiques en spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif. *Analysis*, 13, 321-317.

35. Stewart, B W., Capo, R C., Chadwick, O A. (1998). Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods, *Geoderma* 82, page 197-225.
36. Techer, I., Lancelot, J., Descroix, F., Guyot, B. (2011). About Sr isotopes in coffee 'Bourbon Pointu' of the Réunion Island. *Food Chemistry*, 126, 718–724.
37. Van der Hoven, S & Quade, J. (2002). Tracing spatial and temporal variations in the source of calcium in pedogenic carbonates in a semiarid environment. *Geoderma* 108, 256-276.
38. Veresoglou, D S., Tsialtas, J T., Barbayiannis, N., Zalidis, G C. (1995). Cesium and strontium uptake by two pasture plant species grown in organic and inorganic soils. *Agric. Ecosyst. Environ.* 56, 37–42.
39. Von Fircks, Y., Rosen, K., & Sennerby-Forsse, L. (2002). Uptake and distribution of ^{137}Cs and ^{90}Sr in *Salix viminalis* plants. *J Environ Radioactiv*, 63(1):1-14.
40. Willey, N., & Fawcett, K. (2006). A phylogenetic effect on strontium contents in angiosperms. *Environ. Exp. Bot.* 57, 258–269.



Ce chapitre a démontré :

- Que la source principale du Sr dans les oliviers, dans un contexte de culture irrigué et ‘biologique’, est la phase soluble ou carbonatée du sol, cette phase est liée à l’eau mobile en équilibre avec le sol, avec une contribution de plus de 90% par rapport aux autres sources naturelles ou anthropiques du Sr.
- Une influence ponctuelle et périodique des ajouts de culture sur la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dans l’olivier. Cette influence n’est pas représentative à l’échelle du moulin étudié.
- Une composition isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ identique dans les oliviers et l’huile d’olive par rapport à celle de la phase soluble des ‘sols’.

Cette étude souligne l’intérêt de l’outil $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pour certifier l’origine géographique des huiles d’olive connaissant la géologie de la région de production. Cependant, cette corrélation n’est pas vérifiée à l’échelle de toutes les parcelles et de tous les moulins AOP de Nîmes. Afin de valider l’approche de traçabilité par l’outil isotopique Sr à l’échelle du territoire AOP de Nîmes, cette démonstration à l’échelle de l’ensemble de la production doit être faite.

Les huiles d’olive de Nîmes ont reçu le label AOP en février 2007, cette appellation est une reconnaissance au niveau européen, soumise à un cahier des charges très précis. Ce dernier définit par exemple une quantité minimum de 70% d’olives de variété Picholine qui doit être utilisée pour la production des huiles d’olive AOP de Nîmes. Le cahier des charges précise également les paramètres tels la densité de plantation, l’entretien du sol, la taille des oliviers, les traitements phytosanitaires, le degré de maturité des olives à respecter avant récolte etc. Chaque moulinier a cependant sa propre technique de production (le système de presse traditionnelle est détaillé dans la figure 6 et obtient donc une AOP de qualité qui lui est propre, tout en respectant rigoureusement le cahier des charges de l’AOP. Afin d’assurer la

qualité et de justifier le coût de ces produits, les producteurs d'huiles d'olive AOP de Nîmes cherchent à garantir une traçabilité géographique irréprochable de leurs produits. Ils sont en effet malheureusement de plus en plus souvent victimes de fraude et de contrefaçons. Le chapitre 4 vise à déterminer la composition isotopique en Sr des dix huiles d'olive AOP de Nîmes, et à comparer cette signature avec celle de la phase soluble des formations géologiques sur lesquelles reposent leurs parcelles de culture, elle-même parfaitement délimitées sur un terroir défini par l'INAO. Enfin, afin de valider cette approche, deux échantillons d'huiles d'olive provenant du Maroc seront analysés en isotopie du Sr. Leur composition isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ sera comparée à celle des huiles d'olive AOP de Nîmes.

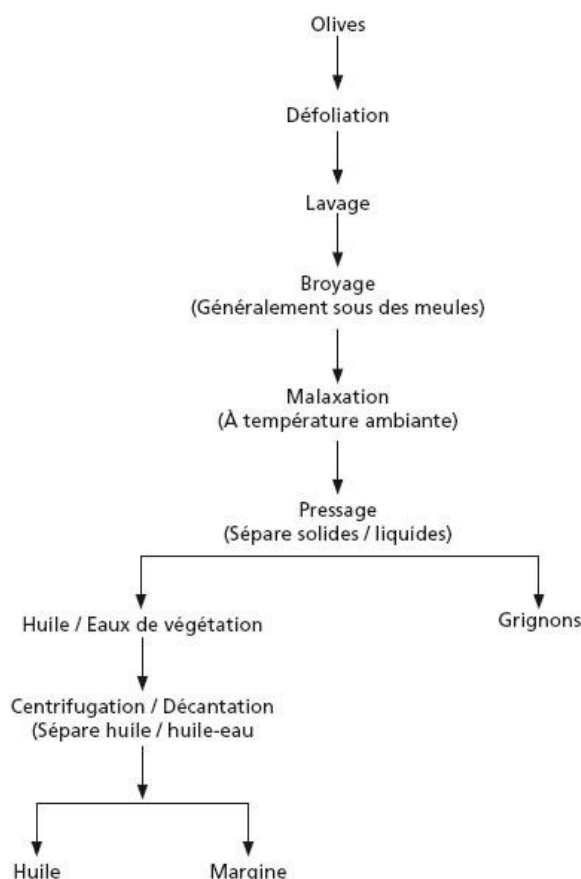


Figure 6 : Extraction de l'huile d'olive par le système de presse traditionnel (Sacchi (2007))

Chapitre 4

Caractérisation isotopique ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) des huiles d'olive AOP de Nîmes (France) - Application à la traçabilité géographique

I. Introduction

La labellisation d'un produit alimentaire certifiant son origine géographique est aujourd'hui un indicateur de qualité recherché par les consommateurs. En effet, reconnaître la source de production et d'élaboration d'un produit équivaut à identifier les pratiques de ces processus de production et d'élaboration, et donc à certifier la nature et la qualité du produit. Plusieurs labels sont ainsi reconnus à l'échelle nationale (AOC « Appellation d'Origine Contrôlée ») et européenne (AOP « Appellation d'Origine Protégée » ; IGP « Indication Géographique Protégée »). Afin d'éviter les fraudes et les contrefaçons autour de ces labels, et donc d'éliminer les risques potentiels en matière de sécurité sanitaire, les organismes agréés (tel que, en France, la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes « DGCCRF », relevant du ministère de l'économie) recherchent et développent des indicateurs de démonstration de l'origine géographique des produits agro-alimentaires. Une variété d'indicateurs est ainsi disponible et peut être appliquée à un aliment donné dans l'objectif de contrôler et de vérifier son origine géographique. Dans le domaine des huiles d'olive, la démonstration de son origine de production est par ailleurs en lien étroit avec sa valeur marchande. En effet, l'huile d'olive est un produit à forte valeur ajoutée, ce qui en fait donc la cible de fraudes mettant à mal le marché de la consommation (Moore *et al.*, 2012). Le contrôle des origines dans ce domaine s'appuie sur des méthodes de caractérisation multi-éléments (Jimenez *et al.*, 2004 ; Benincasa *et al.*, 2007 ; Araghipour *et al.*, 2008) ou encore des méthodes biochimiques et moléculaires (Tsimidou *et al.*, 1993; Aranda *et al.*, 2004; Ollivier *et al.*, 2006 ; Cosio *et al.*, 2006; Haddi *et al.*, 2011). Ces méthodes sont particulièrement adaptées à la reconnaissance de l'origine géographique d'une huile d'olive

au travers de la reconnaissance de la variété d'olive la composant. Néanmoins, ces méthodes sont fortement limitées en cas d'huiles issues d'une même variété d'olives, même si elles sont cultivées sur des territoires géographiquement différents. Ce manque de protocole d'authentification géographique ne permet donc pas de mettre en place une politique de détection des fraudes à la provenance efficace, ce qui implique donc des risques, tant économiques que sanitaires, dans ces filières de production.

Près de 2,7 millions de tonnes d'huiles d'olive sont aujourd'hui produits dans le monde. Selon l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, l'Espagne, l'Italie, la Grèce et le Portugal sont les principaux pays européens producteurs d'huile d'olive. Ces 4 pays produisent la quasi-totalité de l'huile d'olive européenne et 80% de la production mondiale. La France a produit en 2005 près de 4.700 tonnes d'huile d'olive ; cette production annuelle est passée à 5500 tonnes en 2010 (Alexandra- AFIDOL 2011) mais elle reste fortement dépendante des autres pays. En effet, la consommation française atteint 100 000 tonnes par an. La surface oléicole est cependant chaque année en expansion. Cette surface est surtout développée autour de la Méditerranée, au sud de la France. Dans le département du Gard (30, France), la production d'huile d'olive est centrée sur un objectif de qualité, avec 10 moulins reconnus par l'Europe en AOP, garantissant certaines spécificités du produit liées à son origine géographique et des contrôles rigoureux des conditions de production et de fabrication. La variété d'olive Picholine représente près de 70% des variétés utilisées pour la fabrication de l'huile d'olive AOP de Nîmes (Alexandra- AFIDOL 2011). Elle est cultivée sur 223 communes et des terroirs spécifiques définis par l'INAO (Institut national des appellations d'origine) dans le décret du 17 Novembre 2004. Des travaux récents ont démontré qu'il était possible de retracer l'origine de production d'une huile d'olive donnée au travers de la caractérisation en isotopie du Sr de ce produit (Medini *et al.*, *soumis*) (Cf.

chapitre 3). Ce travail a pu être réalisé grâce à l'établissement d'une méthodologie innovante de séparation et de détection du Sr dans la matrice lipidique (Medini *et al.*, 2015).

Le Sr est un élément naturel présent dans les roches, les sols et les eaux à des teneurs variables, variant de 1ppm dans les roches ultrabasiques jusqu'à plus de 2000 ppm pour les roches carbonatées (Faure, 1986), et inférieures à la dizaine de ppm dans les eaux souterraines (Singhal & Gupta, 2010). La répartition des isotopes du Sr, et plus spécifiquement le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, dans chacun de ces réservoirs est spécifique de l'environnement géologique (type de roche mère, âge, histoire géologique, nature et origine des eaux,...). Une région géographique donnée pouvant être définie par une géologie 'type' pourra donc être 'identifiée' par une gamme de composition isotopique en Sr, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, qui lui sera propre (l'abréviation CI sera utilisée dans la suite du document pour référer à ce rapport isotopique). L'élément Sr se retrouve également dans les végétaux bien qu'à des teneurs souvent faibles (de l'ordre de 8 à 35 ppm) (Coughtrey et Thorne, 1983 ; Marschner, 1986 ; Medini *et al.*, *soumis*). Les deux sources principales de cet élément dans les végétaux sont la fraction labile du sol, et la solution libre ou l'eau mobile dans le sol (Stewart *et al.*, 1998), le Sr étant assimilé principalement via le réseau racinaire. Cette origine pédologique du Sr est attestée pour les oliviers, pour lesquels il a été démontré que le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents réservoirs de l'arbre (branche, feuilles, olives) était très proche à identique à celui des phases carbonatées des formations des parcelles de culture (Medini *et al.*, *soumis*). Ces travaux soulignent également le non fractionnement des isotopes de Sr lors des transferts sol-plante ainsi que proposé par Graustein (1988) et Blum et co-auteurs (Blum *et al.*, 2000). Néanmoins, des apports complémentaires de Sr naturels (pluie et poussières atmosphériques) ou anthropiques (ajouts de fertilisants et amendements sur les parcelles de culture) peuvent ponctuellement, et selon les contextes et environnements de culture, être identifiés au sein des végétaux. Une étude, réalisée à l'échelle de la production d'une des 10 huiles d'olives AOP de Nîmes,

« l'huile d'olive des Costières » (AOP Costières) a montré l'influence négligeable de ces apports secondaires en Sr liés aux additifs de culture (fongicides et engrais), et une identité isotopique quasi-parfaite entre le sol (phase carbonatée), les oliviers (différents compartiments) et l'huile d'olive produite. Cette étude souligne l'intérêt de l'outil $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pour certifier l'origine géographique d'huiles d'olive connaissant la géologie de la région de production. Cependant, cette corrélation n'a pas été vérifiée à l'échelle de toutes les parcelles et de tous les moulins AOP de Nîmes. Afin de valider l'approche de traçabilité de toutes les huiles AOP de Nîmes par l'outil isotopique Sr, cette démonstration à l'échelle de l'ensemble de la production doit être faite.

L'objectif de ce travail est donc d'analyser les caractéristiques isotopiques en Sr des neuf huiles d'olive AOP de Nîmes, et de les comparer à celles, mesurées ou attendues des roches / sols des parcelles de culture des oliviers. Cette comparaison permettra ainsi de discuter de la pertinence de l'outil isotopique à la reconnaissance géographique du produit oléicole, pour différents contextes géologiques et dans les différents contextes de culture reconnus par le cahier des charges des AOP de Nîmes. Le travail précis de comparaison des réservoirs biologiques, géologiques, et hydrogéologiques, ne pouvant être réalisé sur l'ensemble complexe de tous les moulins, une approche plus globale est menée visant uniquement la comparaison 'huile / roches' du point de vue isotopique. Cette approche a pour but de démontrer ou non des liens 'évidents' entre ces deux réservoirs. Dans certains contextes, le prélèvement des sols/roches permettra de définir in-situ les composantes isotopiques en Sr des réservoirs géologiques, dans d'autres contextes, en l'absence d'autorisation d'accès aux parcelles, l'approche s'appuiera sur une étude bibliographique de la géologie et de la géochimie de la région. Enfin, afin de renforcer la discussion, les données $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de deux échantillons d'huiles provenant du Maroc, et issues probablement de la

variété Picholine, au même titre que les AOP de Nîmes (Medini *et al.*, 2015) seront présentées et comparées.

II. Sites d'étude

La zone de production des huiles d'olives AOP de Nîmes définie par le décret du 17 Novembre 2004 comprend 223 communes, dont 183 dans le département du Gard, et 40 dans le département de l'Hérault (Figure 1).

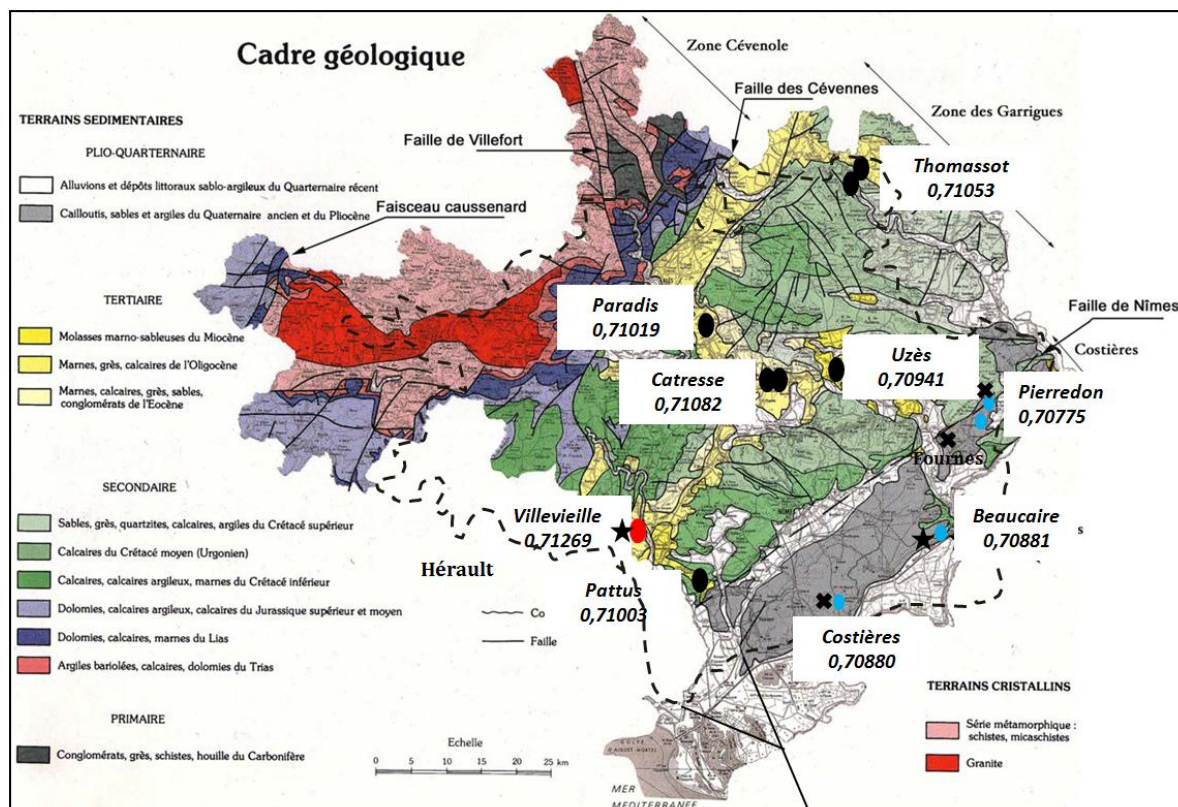
Les producteurs d'huile d'olive AOP de Nîmes sont à ce jour au nombre de dix: 8 moulins (moulin des Costières, de Pierredon, de la Voie Domitienne, de Pattus, d'Uzès, de Paradis, de Catresse, de Thomassot) et 2 coopératives (de Beaucaire et de Villevielle) (Figure 1). Ces 10 producteurs élaborent leurs huiles à partir, de façon prédominante (>70%) d'olives de variété Picholine, cultivées sur les parcelles du domaine géographique délimité par le décret du 17 novembre 2004 (Figure 1). D'un point de vue géologique, trois grands secteurs peuvent être identifiés dans ce domaine :

1 / Le secteur localisé au sud-est de la faille de Nîmes, sur lequel se regroupent le moulin des Costières à Saint-Gilles, la coopérative de Beaucaire et le moulin de la voie Domitienne à Beaucaire, ainsi que le moulin de Pierredon à Estézargues. Cette région a une altitude moyenne qui ne dépasse pas 100m. Géologiquement elle est caractérisée à l'affleurement par des dépôts argileux et sableux du Pliocène (1,8-5,3 Ma), du Pléistocène (0,01-1,8 Ma) et de l'Holocène (0,01 à aujourd'hui) (échelle géologique en annexe 2). Des dépôts de cailloutis rhodaniens ou duranciens affleurent localement (Villafranchien (-3,6-0,9)), constitués principalement de galets de quartzite alpin et de quartz cévenol (Nguyen et Marchal, 2010; Rolley, 2007);

2/ Le secteur central, est situé entre deux failles (la faille des Cévennes et celle de Nîmes) (Figure 1). On y retrouve le moulin de Pattus à Aigue-vives, le moulin d'Uzès à Uzès, le

moulin de Paradis à Martignargues, le moulin de Catresse à Arpaillargues, et enfin le moulin de Thomassot à Verfeuil. L'altitude moyenne de ce secteur est en moyenne de 200 à 300m. Cette zone est divisée géologiquement en trois parties : A/ une zone constituée majoritairement de calcaires à faciès Urgonien d'âge Crétacé (inférieur et moyen) (100-145 Ma) (zone des garrigues), B/ le fossé d'Alès à la jointure des Cévennes et des Garrigues comblé par des dépôts Oligocènes (23-34 Ma), C/ enfin, le bassin d'Uzès, majoritairement recouvert par des formations plus récentes de molasses du Miocène (5,3-23 Ma) sus-jacentes aux calcaires et marno-calcaires du Crétacé inférieur.

3/ Le secteur ouest est situé en bordure des Cévennes et une partie du département de l'Hérault, et correspond aux parcelles de culture de la coopérative de Villevieille (localisée à Sommières). Cette zone cévenole est située au nord de la faille des Cévennes et est la plus élevée du département, avec comme point culminant le Mont Aigoual à 1565 m. Géologiquement, les Cévennes sont un domaine du socle primaire constitué principalement de schistes métamorphiques d'âge Cambrien-Ordovicien (500-540Ma) et de granites d'âge Carbonifère (300-359Ma), couvert localement par des formations calcaires du Trias (200-250 Ma) et du Jurassique (145-200Ma) (Sabourdy, 1975). Ces derniers représentent les formations sédimentaires de la bande sous cévenole.



★ Coopérative

✱ Sols, calcaire et argile échantillonnés

● Rapports isotopiques faibles

● Rapports isotopiques moyennement élevés

● Rapport isotopique élevé

Périmètre de culture des parcelles d'huile d'olive AOP de Nîmes

Figure 1: Géologie et périmètre de culture des parcelles AOP de Nîmes (tirets noirs). Localisation des moulins et coopératives étudiés et report des compositions isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive AOP de ces producteurs (l'erreur sur la mesure est en moyenne de 7.10^{-5}).

III. Approche expérimentale

Une bouteille d'huile d'olives de l'année 2012 et/ou 2013 a été collectée auprès de chacun des 9 moulins AOP de Nîmes (l'huile AOP du moulin des Costières ayant déjà fait l'objet d'une étude détaillée – Medini *et al.*, 2014, *soumis*). Deux bouteilles d'huile d'olive marocaines (huile Mabrouka et huile de OuedSouss) ont été achetées auprès d'un centre commercial local et permettront ainsi d'effectuer une étude comparative. Ces huiles sont conservées à température ambiante, dans le noir et hermétiquement fermées, afin d'éviter les

phénomènes d'oxydation des triglycérides par hydrolyse, phénomènes catalysés par la lumière ou la chaleur.

60 g d'huile d'olive ont été traités pour l'extraction du Sr et l'analyse au spectromètre de masse à thermo-ionisation (Triton TI), selon la méthodologie spécifiquement développée (Medini *et al.*, 2015). Après un premier prétraitement avec 3ml de H₂O₂ et 21ml de HNO₃ à 120°C pendant 48h, l'huile est calcinée dans un four à moufle à 650°C pendant 2h. Le résidu sec obtenu est ensuite dissout avec 0,5 ml de HNO₃ avant de procéder à l'extraction du Sr selon le protocole de purification de (Pin *et al.*, 2003). L'ensemble des protocoles de traitement de l'huile, d'extraction du Sr et d'analyse isotopique est détaillé dans (Medini *et al.*, 2015). Les teneurs en Sr ont été déterminées par ICP / MS au Laboratoire d'Hydrologie et de Géochimie de Strasbourg (France), selon la procédure de Samuel *et al.* (1985).

IV. Résultats et discussion

Les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ et les concentrations en Sr des différentes huiles d'olive AOP de Nîmes des moulins et coopératives étudiées sont reportés dans le Tableau 1. Les valeurs sont hétérogènes, comprises entre 0,70775 et 0,71269. Trois grands groupes peuvent être identifiés.

Tableau 1: Données isotopiques et concentrations en Sr des huiles d'olives AOP de Nîmes et des huiles marocaines

Echantillons	Nom de laboratoire	Production	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2σ	[Sr] (ng.g ⁻¹)
Costières	Cos-12-H	AOP de Nîmes	0,7088	$2,00.10^{-4}$	1,98
Pierredon	Pie-12-H	AOP de Nîmes	0,70775	$2,50.10^{-5}$	13,7
Villevieille	Vil-13-H	AOP de Nîmes	0,71269	$1,40.10^{-4}$	1,81
Catresse	Cat-13-H	AOP de Nîmes	0,71082	$5,00.10^{-5}$	1,35
Thomassot	Tho-13-H	AOP de Nîmes	0,71053	$4,20.10^{-5}$	1,32
Beaucaire	Bea-13-H	AOP de Nîmes	0,70881	$2,50.10^{-5}$	2,06
Paradis	Par-13-H	AOP de Nîmes	0,71019	$2,70.10^{-5}$	1,03
Uzès	Uze-13-H	AOP de Nîmes	0,70941	$7,00.10^{-5}$	2,21
Pattus	Pat-13-H	AOP de Nîmes	0,71003	$2,00.10^{-5}$	1,72
Mabrouka	Mab-12-H	Maroc (Fes Meknes)	0,70914	$1,30.10^{-4}$	3,90
Oued sous	Oue-12-H	Maroc	0,70899	$9,40.10^{-5}$	2,14

- Les huiles AOP produites par les moulins situés au sud de la faille de Nîmes (moulin des Costières, moulin de Pierredon et la coopérative de Beaucaire) ont les CI les plus faibles comprises entre 0,70775 et 0,7088 (erreur de mesure de l'ordre de 8.10^{-5}); les teneurs en Sr de ces huiles varient entre 1,98 et 13,7 ppb.
- Les huiles AOP produites par les moulins situés au Nord de la faille de Nîmes (moulin Pattus, moulin d'Uzès, moulin de Paradis, moulin de Catresse et moulin de Thomassot) ont une CI $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ plus élevée, de l'ordre de 0,70941 à 0,71082 (erreur de mesure de l'ordre de 4.10^{-5}); les teneurs en Sr de ces huiles varient de 1,32 à 2,21 ppb.
- Le Sr de l'huile d'olive de la coopérative de Villevieille (au Nord-Ouest à la limite du département du Gard) a une CI encore plus élevée avec $0,7127 \pm 1,40.10^{-4}$, et une teneur en Sr de 1,81 ppb.

Le regroupement des moulins selon la composition isotopique en Sr de l'huile d'olive correspond à la distinction géologique du territoire faite précédemment. On notera donc déjà

un lien entre composition $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ d'une huile et la géologie de la zone de production des olives.

1. Les huiles AOP produites par les moulins situés au sud de la faille de Nîmes

1.1 Le moulin des Costières (cf chapitre 3)

Le moulin des Costières est situé sur la commune de Saint-Gilles. Son domaine de culture s'étend sur quatre parcelles adjacentes au moulin, concentrées sur le même site et sur une même formation géologique, constituée d'une nappe de cailloutis d'âge villafranchien moyen (formation de Surville III), d'une épaisseur moyenne de 15m. Une étude détaillée a été réalisée sur ces parcelles, sur les différents compartiments des oliviers et sur l'huile d'olive produite (Medini *et al.*, *soumis*) (cf. Chapitre 3). Ainsi, une identité isotopique a été constatée entre l'huile d'olive AOP de ce domaine des Costières ($0,7088 \pm 2.10^{-4}$) et le terroir de culture des oliviers. En effet, en considérant la phase soluble de la formation du Villafranchien (source de Sr pour les oliviers), une CI relativement homogène de l'ordre de 0,7082 - 0,7087 a été mesurée aussi bien dans les formations des parcelles que dans les huiles du Moulin des Costières (Medini *et al.*, *soumis*) (chapitre 3). Les huiles issues du moulin des Costières portent donc une empreinte isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ liée essentiellement à ces formations géologiques (phase soluble), et égale à $0,7088 \pm 2.10^{-4}$. Toute huile de CI différente ne pourra donc pas être considérée comme ayant été produite sur ce domaine.

L'identité de CI huile-territoire de culture a donc permis de conclure que les isotopes du Sr constituent un excellent outil de traçage de l'origine géographique du produit dans le cas de la production de l'AOP huile d'olive des Costières (Medini *et al.*, *soumis*) (Chapitre 3).

1.2 Le moulin de Pierredon

L'huile d'olive de Pierredon provient du domaine du même nom situé sur la commune d'Estézargues, à la limite sud-est de la faille de Nîmes (Figure 1). Cette commune est ancrée géologiquement sur la formation du Villafranchien (0,9-3,6Ma), d'une épaisseur de 3 à 10m, constituée de galets de quartzites (majoritairement des calcaires siliceux alpins et des quartzites alpins), associés rarement à du limon argilo-sableux, et limitée au sud par le Pliocène moyen sableux (Astien (1,8-2,6Ma)), d'une épaisseur de 10 à 40m. Cette formation recouvre le Plaisancien (2,6-3,6Ma) constitué d'argiles calcaires d'origine marine et de marnes bleutées (Damiani, 1967). Enfin, au nord du village, le Barrémien supérieur à faciès Urgonien (112-125 Ma) forme l'ensemble des plateaux calcaires de l'Uzège (Figure 2).

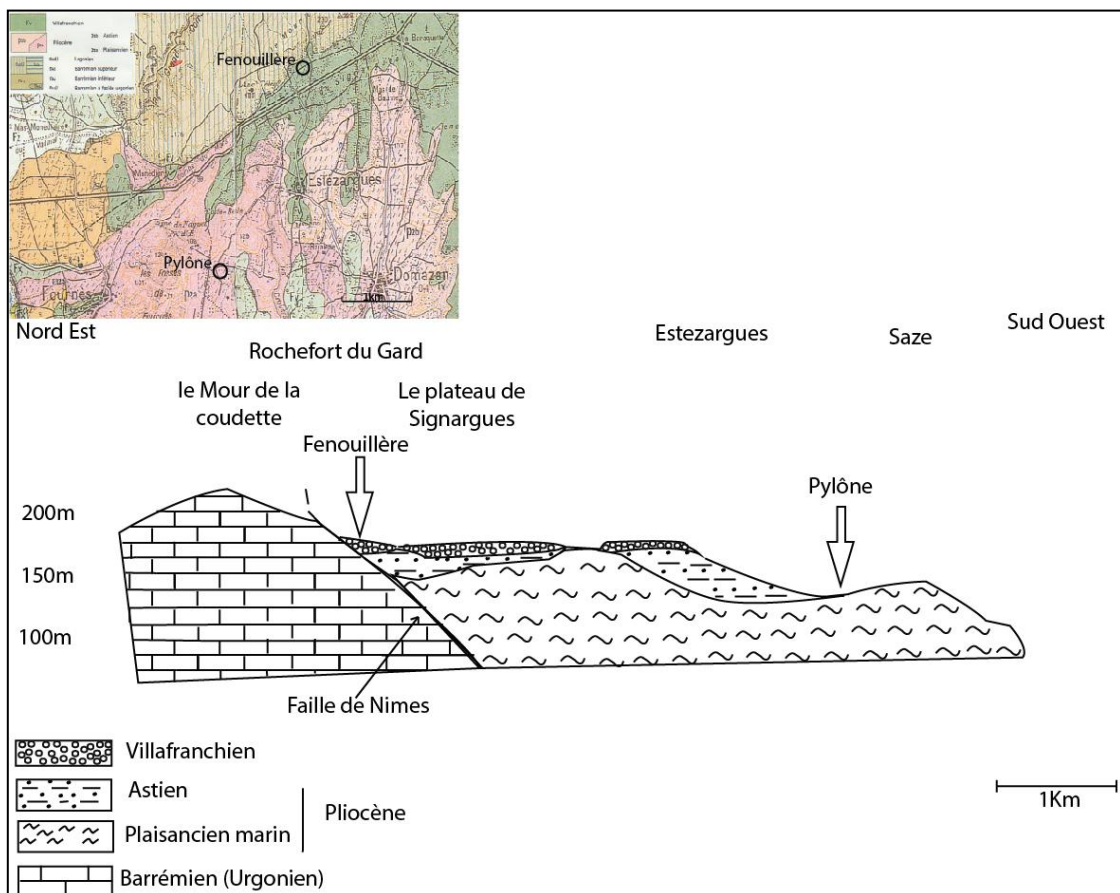


Figure 2: Coupe géologique NE-SW de la région d'Estézargues (Extrait d'Uzès carte géologique - N°939 - BRGM). Localisation des situations géologiques des parcelles de culture 'Fenouillère' et 'Pylône'

Les parcelles de culture des oliviers du moulin de Pierredon sont relativement dispersées à l'échelle géographique et en conséquence, reposent sur différents types de terrains géologiques (Figure 2). Deux grands types de formations sont identifiés: au Nord-est, les cultures reposent sur la formation caillouteuse du Villafranchien, très peu épaisse dans la zone concernée, avec une base calcaire d'âge Urgonien-Barrémien. Ces calcaires se retrouvent à quelques mètres en bordure des parcelles et à quelques mètres sous les cailloutis villafranchiens. La parcelle la plus représentative dans ce secteur, est nommée 'parcelle de la Fenouillère' (Fen). Plus au sud-ouest, les cultures s'implantent sur la formation marneuse du Plaisancien. La parcelle la plus représentative dans ce secteur, est nommée 'parcelle du Pylône (Py)' (Figure 2).

Du point de vue des modes de culture, les oliviers du domaine de Pierredon sont cultivés sans irrigation. Ils sont traités au cours de l'année, principalement contre les mouches et les diptères à l'aide d'un insecticide, le diméthoate ($C_5H_{12}NO_3PS_2$). Cet insecticide, couramment utilisé peut être libéré dans l'environnement ; Il ne serait cependant pas adsorbé sur les particules du sol (The Royal Society of Chemistry, 1988). Les échanges avec le propriétaire du domaine n'ont pas conduit à identifier d'autres traitements ou amendements, à l'exception des épandages de grignons. Les grignons sont des résidus de l'extraction de l'huile d'olive constitués de la pulpe et des noyaux concassés et déversés comme amendement aux pieds des oliviers. Seule la parcelle de la Fenouillère est traitée par épandage de grignons.

Les formations affleurant dans les deux parcelles les plus représentatives du moulin de Pierredon ont été échantillonnées (référence 'S'), ainsi que le diméthoate, les grignons et l'eau de robinet utilisée dans le processus de lavage des olives avant l'étape de l'extraction de l'huile d'olive. Les modalités d'échantillonnage et de traitements de ces matériaux sont ceux définis dans (Medini *et al.*, soumis) (cf. chapitre 3). En plus de ces échantillons : (1) les

marnes bleues du Plaisancien ont été prélevées sur un site naturel, non cultivé à l'est de la ville de Fournes (Fosses de Fournes) (Figure 1), (2) le calcaire blanc Barrémien à facies Urgonien a été prélevé en remontant au NE de la parcelle de la Fenouillère vers le Mour de la coudette (Figure 2). En effet, cette formation est très présente dans l'environnement de culture, en affleurement et à quelques mètres de profondeur. Les racines d'un olivier pouvant atteindre 7m de profondeur (Maillard, 1975), le rôle des calcaires urgoniens comme source potentielle du Sr pour les oliviers doit donc être évalué.

La composition isotopique en Sr des différentes formations géologiques de l'environnement de culture du domaine de Pierredon est déterminée en considérant leurs phases solubles extraites par un lessivage (ou « leaching ») en acide acétique. Les valeurs de ces CI sont reportées dans le tableau 2. A noter que du fait de sa faible teneur en Sr (tableau 2), le $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ du diméthoate n'a pas pu être déterminé.

Tableau 2: Rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des formations géologiques prélevées au niveau des parcelles du moulin de Pierredon, des ajouts de culture et des eaux impliqués dans la production des huiles AOP de Pierredon.

Echantillons	Nom de laboratoire	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2δ	[Sr] ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Cailloutis Fenouillère	Fen-S1-L	0,70836	$1,90.10^{-5}$	/
	Fen-S2-L	0,70820	$9,00.10^{-6}$	/
Calcaire Urgonien	Mour-S-L	0,707475	$4,00.10^{-6}$	201
Marne Pylône	Py-S-L	0,708159	$7,00.10^{-6}$	432
Marnes de Fournès	Fournès-S-L	0,708057	$8,00.10^{-6}$	/
Diméthoate	Di-Pierredon	/	/	0,035
Grignons	G-Fen	0,70830	$4,20.10^{-5}$	/
Eau de robinet	P-Eau	0,708362	$6,00.10^{-6}$	/

- Les compositions isotopiques des formations échantillonnées au niveau des parcelles de culture (phase carbonatée), à 40 cm aux pieds des oliviers, varient de $0,708199 \pm 9.10^{-6}$ (Fen-S2-L) à $0,70836 \pm 1,9.10^{-5}$ (Fen-S1-L) au niveau de la parcelle 'Fenouillère' et à $0,708159 \pm 7.10^{-6}$ au niveau de la parcelle 'Pylône'.

- Les calcaires urgoniens (Mour-S-L) prélevés à la limite de la parcelle de la Fenouillère (Figure 2) présentent une composition isotopique de la phase carbonatée de $0,707475 \pm 4.10^{-6}$. Les sédiments marins enregistrent au moment de leur formation la signature en $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de l'eau de mer de l'environnement de dépôt. Dans l'hypothèse où les processus diagénétiques n'ont pas perturbé la composition isotopique de ce sédiment marin, il est donc possible de remonter à son rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ à partir de la connaissance de celui de l'eau de mer au moment du dépôt de la formation. Pour validation, une comparaison est faite entre la CI du calcaire du Mour de la Coudette et celle de l'eau de mer de l'Urgonien-Barrémien (Jones *et al.*, 1994; Dennebouy, 2002). Cette dernière valeur s'étendrait entre 0,707227 et 0,707704. Une bonne adéquation entre la valeur $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ mesurée pour le calcaire du Mour de la coudette ($0,707475 \pm 4.10^{-6}$) et les données de littérature est donc bien soulignée (Figure 3).
- Les marnes plaisanciennes de la fosse de Fournès (Fournès-S-L) affichent une CI de $0,708057 \pm 8.10^{-6}$ très proche de celle mesurée sur les formations prélevées dans la parcelle du Pylône, bien que légèrement inférieure ($0,708159 \pm 7.10^{-6}$) (Figure 3). Cette légère différence entre les deux sites présentant la même formation à l'affleurement pourrait être envisagée dans un premier temps comme résultant des traitements de culture (diméthoate). L'impact de ces produits est cependant très limité, du fait des très faibles concentrations du pesticide ($0.035\mu\text{g/g}$). Cet écart pourrait également s'expliquer par une simple variation naturelle de la CI du Sr dans cette formation.
- L'huile d'olive de Pierredon est pauvre en Sr ($13,7 \text{ ng.g}^{-1}$) et sa CI est peu élevée, avec une valeur de $0,70775 \pm 2,5.10^{-5}$.

Dans un premier temps une simple analyse de comparaison, souligne un écart entre la CI des réservoirs géologiques et celle de l'huile d'olive dans l'environnement du moulin de Pierredon. Cependant, il est rappelé que cette huile est issue d'un mélange d'olives récoltées sur plusieurs parcelles du moulin dont la nature géologique, comme indiquée ci-dessus, est hétérogène. Ayant montré précédemment que la source principale du Sr dans l'olivier est celle des phases solubles des sols, la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de l'huile d'olive Pierredon pourrait donc résulter d'un mélange des compositions isotopiques des différentes formations rencontrées dans l'environnement de culture. Dans cette démarche, des valeurs comprises entre 0,7081 et 0,7083 (cailloutis villafranchiens, de CI comprises entre 0,70836 et 0,708199, et marnes plaisanciennes, de CI égale à $0,708159 \pm 7.10^{-6}$), devraient être mesurées dans l'huile de Pierredon. La valeur mesurée est cependant bien plus faible ($0,70775 \pm 2,5.10^{-5}$) que cette valeur attendue sur la base de cette hypothèse. En ne considérant que les seules formations à l'affleurement dans les parcelles du domaine, on ne peut expliquer la composition isotopique faible de l'huile d'olive du moulin de Pierredon (Figure 3). Deux explications peuvent être amenées :

- Soit la phase soluble du sol n'est pas la phase où le Sr est biodisponible. En effet, cette phase biodisponible peut dépendre de plusieurs paramètres, tels que la teneur en eau des sols, les types de minéraux, la température, le pH et le potentiel d'oxydoréduction (Hinsinger, 1998 ; Durante *et al.*, 2013 ; Takeda *et al.*, 2006 ; Berthelin et Bourrelrier, 1998). Le rôle de ces paramètres sur la biodisponibilité du Sr sera étudié plus précisément dans le cadre d'une étude sur des parcelles de culture expérimentales (SERFEL– chapitre 5).
- Soit il existe une autre source de Sr pour la plante, source ayant un faible rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Dans les modes de culture de Pierredon, aucun des composants étudiés (grignon, eaux...) ne présente ce domaine de faible rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

(Tableau 2). Un rôle majeur des calcaires urgoniens sous-jacents aux cailloutis villafranchiens peut néanmoins être discuté. En effet, ces calcaires présentent une CI faible, égale à $0,707475 \pm 4.10^{-6}$ (Figure 3), et proche de celle mesurée dans l'huile d'olive. Le réseau racinaire des oliviers dans les parcelles non irriguées est généralement bien développé et permet potentiellement d'aller chercher les éléments nutritifs à plusieurs mètres de profondeurs (Maillard, 1975). Ainsi, il est envisageable que le réseau racinaire des oliviers du moulin de Pierredon ait été suffisamment développé et ait pu atteindre la formation calcaire qui constitue la base de la parcelle Fenouillère ; cette formation constituerait alors la source de Sr assimilé par la plante. Ainsi, lorsque la formation à l'affleurement est pauvre en éléments nutritifs (ce qui est probablement le cas des cailloutis de la parcelle de la Fenouillère) et que la culture se fait sans irrigation, les oliviers pourraient être susceptibles d'aller puiser le Sr biodisponible dans des formations plus profondes.

Dans cette hypothèse, la figure 3 souligne les liens entre la composition isotopique en Sr de l'huile d'olive et celle des réservoirs géologiques à l'échelle de l'ensemble des parcelles du moulin. Bien que le contexte de ce moulin soit complexe de par la diversité des terrains de culture et un mode d'irrigation différent de celui précédemment étudié, une relation terroir / huile peut être établie d'un point de vue isotopique : la CI de l'huile d'olive produite appartient au domaine de composition des roches de l'environnement. Afin de contraindre cette relation, une étude plus fine visant à comprendre les facteurs influençant la biodisponibilité du Sr sera menée ultérieurement (Chapitre 5).

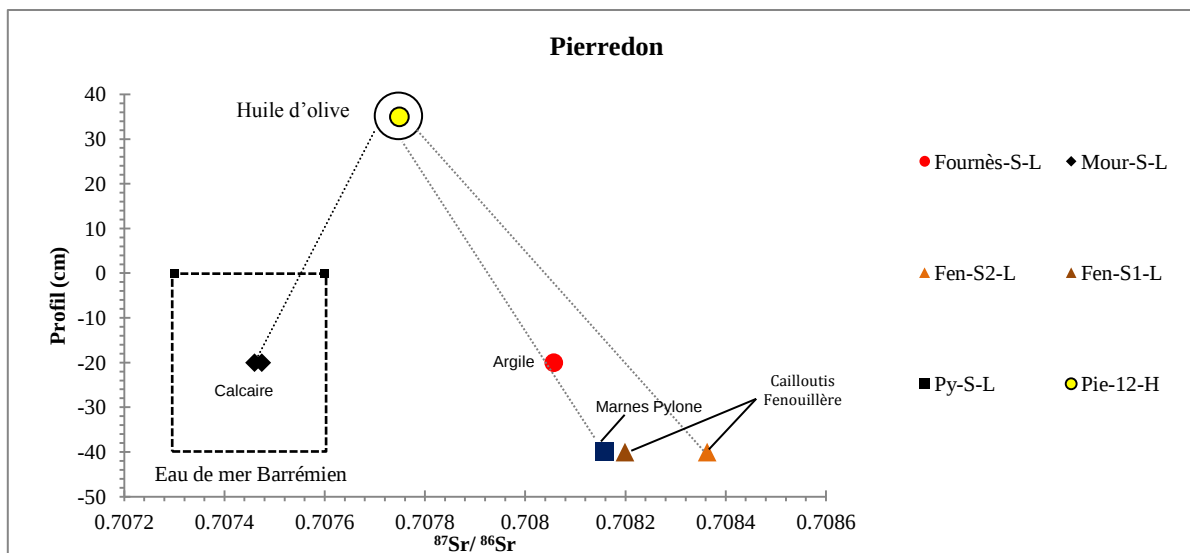


Figure 3: Rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase soluble des formations géologiques des différentes parcelles et de l'huile d'olive du moulin de Pierredon

1.3 La coopérative de Beaucaire

La coopérative de Beaucaire est située au niveau de la ville du même nom, au sud de la faille de Nîmes, sur la rive droite du Rhône, au centre d'un triangle formé par Nîmes à l'ouest, Avignon au Nord-est et Arles au Sud (Figure 1). Cette coopérative reçoit et traite les olives de différents et de nombreux producteurs, majoritairement ceux implantés dans la région autour de Beaucaire (communication personnelle syndicat des huiles d'olive AOP de Nîmes, Julie Carou).

Du point de vue géologique, l'environnement de Beaucaire est comparable à celui déjà identifié dans la zone de St Gilles (Figure 1). Il est principalement représenté par des cailloutis ou alluvions plio-quadernaires. Cette région a vu se succéder durant le quadernaire plusieurs épisodes de sédimentation liés à la genèse du delta du Rhône, comme les dépôts d'alluvion holocènes sous forme de sables, limons, galets et graviers (Ménillet et Paloc, 1973).

L'huile produite par la coopérative de Beaucaire sur l'année 2013 a été prélevée et analysée en concentration et en composition isotopique en Sr : cette huile est très pauvre en Sr ($2,06 \text{ ng. g}^{-1}$), et porte une signature en $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de $0,70881 \pm 2,5 \cdot 10^{-5}$. Cette CI est comparable à celle relevée pour l'huile du moulin des Costières située dans le même contexte géologique (Figure 1). La similitude entre les CI des deux huiles d'olives AOP de Beaucaire ($0,70881 \pm 2,5 \cdot 10^{-5}$) et des Costières ($0,7088 \pm 2 \cdot 10^{-4}$), sachant que les oliviers sont cultivés sur des terrains géologiques comparables, permet donc de valider une nouvelle fois l'analogie 'terroir / huile' du point de vue des isotopes du Sr. L'analyse des huiles AOP de Beaucaire renforce donc l'utilisation des isotopes du Sr comme un outil d'identification géographique.

En conclusion, pour ce secteur géographique, on peut noter que la CI des huiles produites par les moulins au sud de la faille de Nîmes est homogène, comprise entre 0,70775 et 0,7081, et est en corrélation avec la CI des phases carbonatées des formations plio-quaternaires qui constituent la majorité des affleurements de cette région. La CI décroît (de 0,7081 à 0,70775) en allant vers le nord ouest, et en s'approchant de la faille de Nîmes (Figure 1). Sachant que les formations crétacées du plateau des garrigues sont de plus en plus proches de la surface au fur que l'on s'approche de cette faille (Figure 2), et que la CI de ces formations est inférieure à celle des formations plio-quaternaires, la diminution en CI observée dans les huiles peut tout à fait être corrélée à un impact croissant de ces formations sur la signature isotopique des terroirs. Les huiles AOP produites par les moulins au sud de la faille de Nîmes peuvent donc sans conteste être rattachées d'un point de vue de la CI à leurs terroirs de production.

2. Les huiles AOP produites par les moulins situés au Nord de la faille de Nîmes

2.1 Moulin de Pattus et moulin d'Uzès

Les moulins de Pattus et d'Uzès sont situés tous deux au nord de la faille de Nîmes, dans un domaine géologiquement marqué par des formations du Mézosoïque (Crétacé inférieur et moyen) et localement dans le cas d'Uzès par des molasses sableuses du Miocène (Figure 1). Cette dernière formation, d'une épaisseur de 10 à 15 m, forme le plateau d'Uzès. Elle peut être zoogène ou marneuse, et elle n'apparaît que localement sous des alluvions de limons, et de cailloutis modernes charriés par différents fleuves. Plus au sud, le moulin de Pattus (commune d'Aigue-Vives) se situe sur la formation de calcaires crétacés qui constitue le plateau des garrigues, comblé localement par les molasses marno-sableuses du Miocène (Figure 1).

Ces deux moulins reçoivent et traitent des olives issues de parcelles ancrées sur ces deux grands types de formations géologiques. Les huiles d'olive AOP produites par ces deux domaines ont été échantillonnées pour l'année 2013, et ont été analysées en concentration et en composition isotopique en Sr. Les teneurs en Sr sont de 2,21 et de 1,72 ng.g⁻¹ respectivement pour les huiles du moulin d'Uzès et de Pattus. Les signatures en ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr varient de 0,70941±7.10⁻⁵ pour l'huile du moulin d'Uzès à 0,71003±2.10⁻⁵ pour l'huile du moulin de Pattus.

N'ayant pu avoir l'autorisation d'accéder aux parcelles de culture afin d'en échantillonner les sols, le lien entre la composition isotopique en Sr des huiles d'olive de ces deux domaines, et celle des terrains géologiques des parcelles de culture a été évalué par une approche bibliographique.

- La CI en Sr des calcaires du Crétacé inférieur (99,6-145,5Ma) peut être approchée par la connaissance des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de l'eau de mer à l'époque de sédimentation. En effet, comme montré dans le §1.22 ('Moulin de Pierredon'), la composition isotopique de l'eau de mer à une période donnée peut permettre d'évaluer celle des carbonates marins déposés à la même période. Ces rapports seraient compris entre 0,70723 et 0,70761 pour le Crétacé inférieur (Dennebouy, 2002; Jones *et al.*, 1994).
- La CI en Sr des formations marneuses du Miocène (du Serravallien, Langhien et du Burdigalien) ne peut pas être évaluée à partir de l'eau de mer (apports de sédiments détritiques). Une approche de terrain et de mesures a cependant été réalisée par Mahdjoubi *et al.*, (2005) dans la région de l'oued Aflun qui draine le massif marneux du Miocène moyen de la région de Kbdana (Maroc), sur des formations de même nature et de même âge. La fraction soluble étudiée a été caractérisée par un rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de 0,71074 (Mahdjoubi *et al.*, 2005).

Les huiles d'olives d'Uzès et de Pattus ont des CI plus élevées que celles attendues dans les formations calcaires du Crétacé, et inférieures à celle des marnes du Miocène (Figure 4). Ces valeurs sont donc tout à fait cohérentes avec un mélange d'olives cultivées sur ces deux types de terrain. La proportion variable d'olives issues de terrains marneux par rapport à celles issues de terrain calcaires, ainsi que la variabilité intrinsèque des CI de ces terrains, rend peu pertinente la quantification exacte de ces mélanges. Néanmoins, la composition intermédiaire des huiles entre ces deux pôles confirme une identité de l'huile d'olive en regard de son terroir de production. De plus, la similitude dans la CI des deux moulins d'Uzès et de Pattus est par ailleurs rassurante en regard d'une identification géographique.

2.2 Moulin Paradis, le moulin de Catresse et le moulin de Thomassot

Les moulins de Paradis (Martigues), de Catresse (Arpaillargues et Aureillac) et de Thomassot (Verfeuil) sont situés tous les trois au nord de la faille de Nîmes, sous la bordure cévenole. Les parcelles de culture de ces moulins sont situées sur une formation détritique d'âge Oligocène inférieur nettement discordante sur l'ensemble des terrains plus anciens, et reposant soit sur du Crétacé inférieur, soit sur l'Eocène (Figure 1). Deux types de formations sont distingués: 1/une formation composée de grés grossiers siliceux et de marnes sableuses, 2/une formation de calcaires argileux d'origine lacustre et de marnes d'une épaisseur d'environ 50m (Gras, 1970).

Les huiles de Catresse, de Paradis et de Thomassot prélevées auprès des moulins sur la production de l'année 2013 sont très peu concentrées en Sr, avec des teneurs respectives de 1,35 ; 1,03 ; 1,32 ppb. Les CI en Sr de ces trois huiles sont respectivement de $0,71082 \pm 5 \cdot 10^{-5}$; $0,71019 \pm 2,7 \cdot 10^{-5}$; $0,71053 \pm 4,2 \cdot 10^{-5}$ (Tableau 1). Ces valeurs de CI sont homogènes entre elles, et supérieures à celles rencontrées précédemment pour les autres parcelles de culture situées plus au sud. Du fait du caractère continental et détritique des formations à l'affleurement dans cette région, leur composition isotopique en Sr ne peut pas être approchée à partir de la CI de l'eau de mer de l'âge de la formation, comme ce fut le cas pour les formations marines vues précédemment. De plus, ce caractère continental et détritique les rend, par définition, hétérogènes en termes de nature et d'origine et donc de composition isotopique en Sr. Néanmoins, ces produits détritiques, issus principalement du démantèlement de la chaîne cévenole constituée de roches métamorphiques et magmatiques anciennes, auront une CI en Sr certainement supérieure à celles relevées plus au sud sur des roches sédimentaires plus récentes (Figure 4). Les données de littérature pour les granites des Cévennes donnent ainsi des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de roche totale variant de 0,710 à 0,714

(Sabourdy, 1975). Ayant démontré que la source principale du Sr dans l'olivier est celle des phases solubles des sols, elle-même liée aux formations géologiques de la zone, la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de l'huile d'olive de Catresse, de Paradis et de Thomassot pourrait donc résulter d'un mélange des compositions isotopiques des différents matériaux retrouvés sur les parcelles de cultures, notamment des granites. Cela permettrait donc d'expliquer les CI supérieures mesurées pour ces trois huiles, celles-ci étant directement imputables à la géologie du terroir, et à la présence des produits de désagrégation de la chaîne cévenole. Par ailleurs, pour les trois moulins situés dans ces régions géologiques, une composition isotopique homogène est mesurée : variant de 0,7102 à 0,7108. Là encore une identité géologie/terroir/huile peut donc être envisagée et une huile présentant une CI en dehors de ce domaine ne pourra donc pas être assimilée à une huile d'olive AOP de Pattus, Catresse ou Thomassot.

3. Coopérative de Villevieille (Sommières)

La Coopérative de Villevieille est comptée parmi les plus grandes en France avec près de 1000 adhérents producteurs tout au long des Cévennes et de la Camargue. Les parcelles de culture des olives récoltées par la coopérative de Villevieille sont néanmoins majoritairement situées autour de la commune de Sommières. D'un point de vue des terrains géologiques, la région de Sommières est constituée du sud-ouest au nord-est par des collines et des plateaux calcaires à une altitude de 150 à 250 m (Freytet, 1971). Elle est drainée vers le sud par deux rivières : le Vidourle et le Vistre. La série stratigraphique à Sommières s'étend du Jurassique moyen au Quaternaire, avec de façon marquante, l'absence de dépôts marins du Crétacé moyen au Miocène, et la présence de dépôts continentaux et lacustres importants suite à l'émersion de l'isthme durancien (à la fin de l'Urgonien) (Rolley, 2007).

Cette grande diversité géologique, rend inaccessible la définition d'une CI unique (ou d'une gamme de CI) spécifique de la géologie locale. Néanmoins, on peut noter une valeur de CI pour l'huile de Villevieille ($0,71269 \pm 1,4 \cdot 10^{-4}$) supérieure à celle des huiles des autres moulins (entre $0,70775 \pm 2,5 \cdot 10^{-5}$ et $0,71082 \pm 5 \cdot 10^{-5}$) (Figure 4). Les parcelles de culture des huiles produites par cette coopérative sont pour certaines situées en domaine cévenol, c'est-à-dire dans une zone où les terrains magmatiques et métamorphiques ont une CI supérieure aux zones plus méridionales du Gard. Par exemple, la CI des granites des Cévennes obtenu sur roche totale peut atteindre des valeurs de CI de l'ordre de 0,714 (Sabourdy, 1975). De même que l'eau du Vidourle qui a une CI comprise entre ($0,711203 \pm 8 \cdot 10^{-6}$ et $0,712662 \pm 8 \cdot 10^{-6}$) (Legeay; 2013), draine la région de Villevieille du nord est au sud ouest. La CI des huiles produites par la coopérative de Villevieille est donc également cohérente avec la nature géologique des terroirs de production. Bien qu'il soit ici plus difficile d'être affirmatif quant à

l'origine géographique de l'huile, cette constatation va en tous les cas dans le sens de la pertinence de l'outil isotopique pour la traçabilité géographique des huiles d'olive.

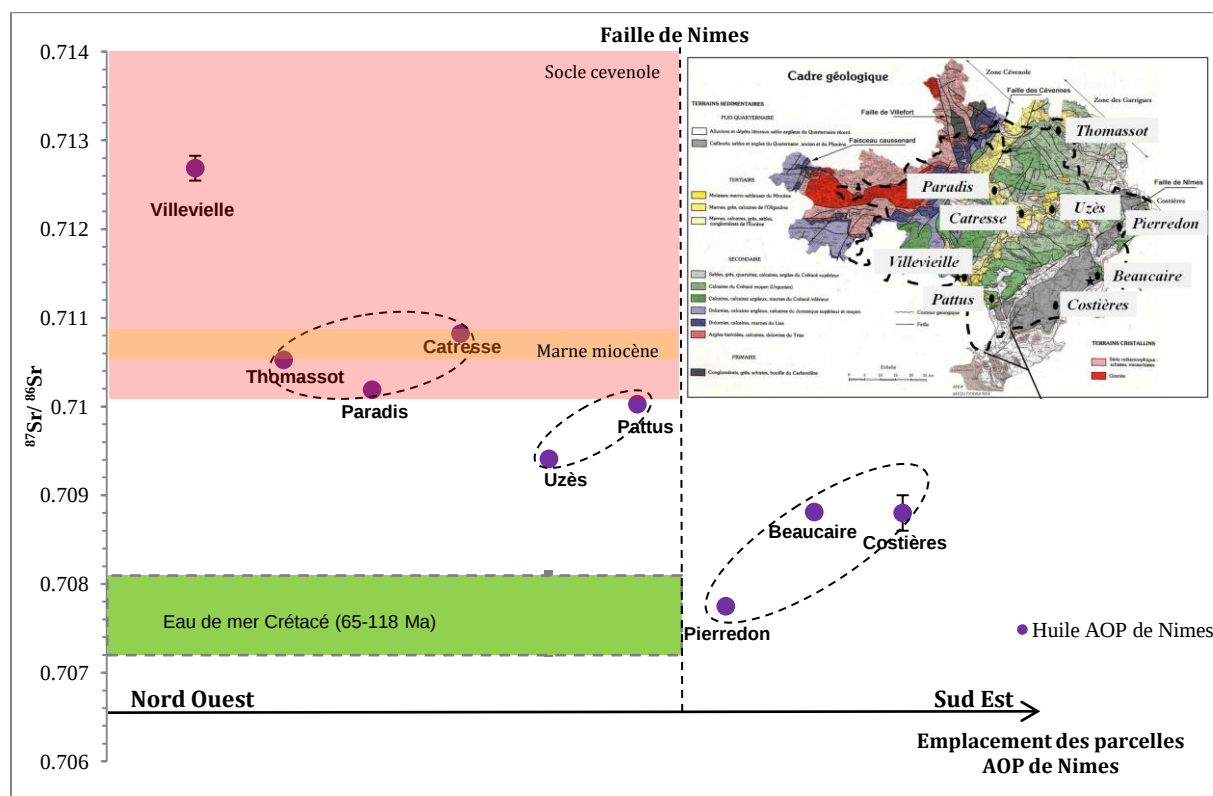


Figure 4: Rappports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive AOP de Nîmes : homogénéité des valeurs en fonction de la localisation géographique et donc géologique des parcelles AOP de Nîmes

D'un point de vue général, il est intéressant d'observer que la CI des huiles d'olive produites par les différents moulins AOP de Nîmes augmente de 0,70775 à 0,71265 en allant du sud-est au nord-ouest, c'est-à-dire selon la localisation des moulins, et donc des parcelles de culture (Figure 4). En effet, les rapports isotopiques les plus faibles sont relevés dans les huiles des moulins situés au sud de la faille de Nîmes, sur les formations plio-quaternaires, et les rapports augmentent lorsque l'on se rapproche de la faille des Cévennes, du fait probablement de l'influence des CI élevées des apports continentaux magmatiques et métamorphiques des formations cévenoles. La nature géologique des terroirs de culture a

donc bien une influence nette sur la CI des huiles d'olive produites à partir de ces terrains. Cette observation souligne le lien entre la composition isotopique en Sr d'une huile et la géologie de la zone de production ; elle fortifie également l'approche d'une identification géographique des huiles d'olive via leur signature isotopique en Sr.

La mesure et la caractérisation des rapports isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des dix huiles d'olive AOP de Nîmes, ont permis une comparaison globale de cette signature avec celle des formations géologiques sur lesquelles reposent les parcelles de culture et l'observation d'une bonne adéquation entre la CI des huiles d'olives, et les CI des formations géologiques des parcelles de culture. La CI des huiles d'olive de Nîmes est comprise entre 0,70775 et 0,71265, ainsi, toute huile d'olive ayant une CI différente de ce domaine de composition n'aura pas été produite sur le terroir des AOP de Nîmes, et donc ne respecterait pas l'un des critères de qualité défini par l'INAO. Une huile d'olive ayant une CI dans le domaine défini précédemment serait, quant à elle, susceptible d'appartenir aux huiles d'olive AOP de Nîmes. Néanmoins, dans le cas où une huile aurait été produite sur une formation géologique différente mais isotopiquement proche des terrains du terroir AOP de Nîmes serait susceptible d'avoir une CI similaire aux CI des huiles d'olive AOP de Nîmes.

Afin de valider cette approche, et donc dans un objectif de discrimination des huiles, deux échantillons d'huiles d'olive, ne provenant pas du domaine AOP de Nîmes, ont été analysés. Le choix a porté sur deux huiles du Maroc, issues principalement d'olives de variété picholine et donc pas discriminable des huiles AOP de Nîmes par les méthodes classiques de traçage (cf. chapitre 1 et 2), d'où la nécessité de prendre en compte le paramètre « géologique ».

4. Composition isotopique en Sr ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) des huiles d'olive du Maroc

La culture de l'olivier est présente sur l'ensemble du territoire marocain, à l'exception de la bande côtière atlantique (Rapport de la Direction régionale de l'agriculture de Meknès, 2011). La variété la plus utilisée sur ce territoire est la picholine, représentant plus de 96 % des variétés utilisées pour la production de l'huile d'olive marocaine.

Trois régions principales de production se distinguent, pour plus de 70 % des plantations oléicoles au Maroc (Figure 5) :

1/ La région de Marrakech qui produit 24 % de la totalité d'huile d'olive marocaine et qui est constituée majoritairement de formations quaternaires, déposées sur des calcaires d'âge miocène (23-5,3Ma),

2/ La région de Fès-Meknès qui produit 21% de l'ensemble des huiles d'olive marocaine et qui du point de vue géologique est constituée de terrains calcaires lacustres d'âge pliocène (5,3-2,6Ma), et des marnes bleues d'âge tortonien (11,3-7,2Ma),

3/ La région du Rif au nord du Maroc qui produit 24% de la totalité des huiles d'olive marocaines et qui correspond à une chaîne montagneuse formée au Tertiaire. Cette chaîne est constituée d'unités allochtones charriées sur la marge de la plaque d'Afrique. Plusieurs formations sont présentes dans cette région, en allant du calcaire et dolomies du trias et du lias, jusqu'aux grès et limons du Quaternaire (6eme colloque GEOFCAN- 25-26/09/2007- Bondy, France). Le territoire marocain présente localement des similitudes avec celui de la région de Nîmes, cependant, d'autres formations géologiques différentes sont rencontrées au Maroc, et qui diffèrent de celle de Nîmes (France). Il est donc intéressant d'analyser une huile 'lambda' provenant du Maroc, dans le but d'identifier son origine géographique avec exactitude et de la comparer aux huiles issues de Nîmes.

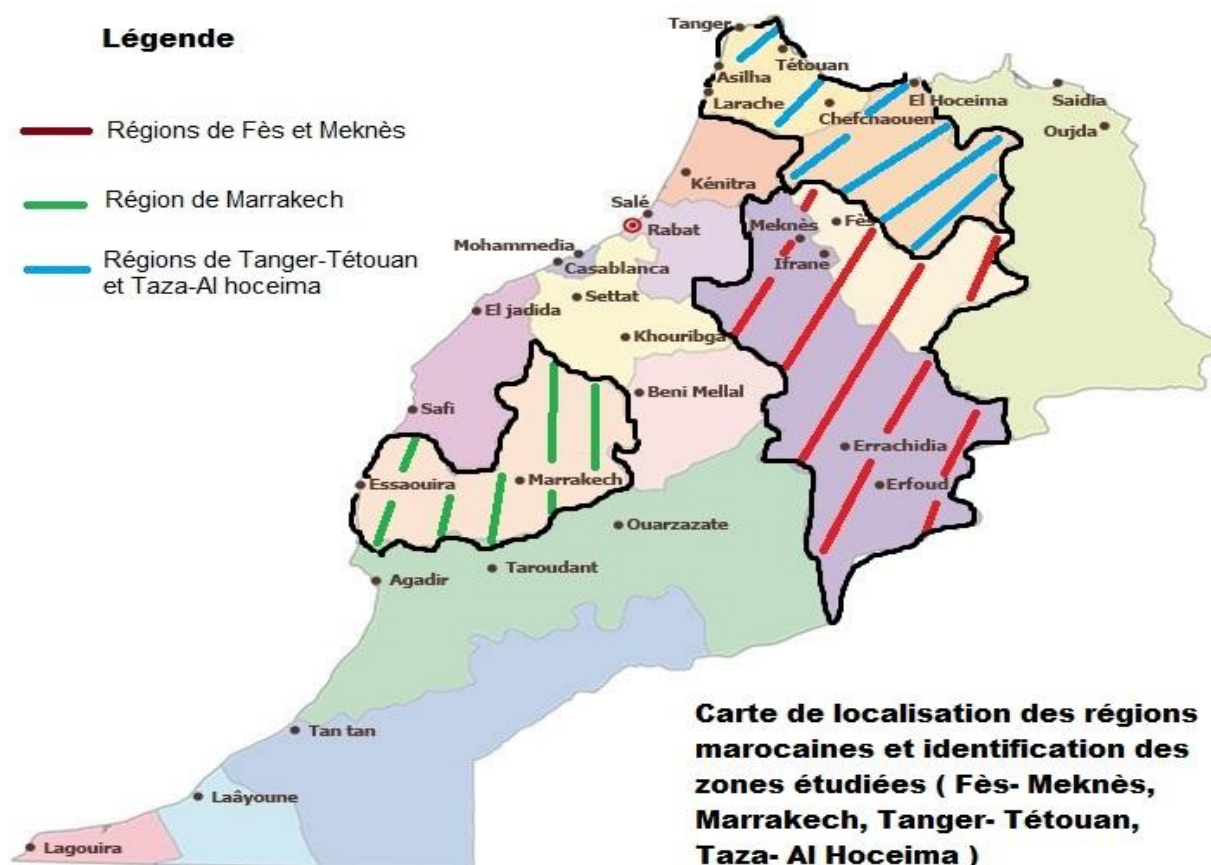


Figure 5 : La localisation des principales régions de culture des oliviers au Maroc (D'après Moudjaoui, 2013)

Les deux huiles d'olive marocaines étudiées ont été produites en 2012. L'huile de Oued Souss est vendue comme étant produite dans la région de Fès-Meknès, alors que le terroir de production de l'huile de Mabrouka est inconnu. Les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de ces deux huiles d'olive sont par ailleurs très proches avec des valeurs respectives de $0,70914 \pm 1,3 \cdot 10^{-4}$ pour l'huile Mabrouka et $0,70899 \pm 9 \cdot 10^{-5}$ pour l'huile de l'Oued Souss. Les olives ayant servies à la production de l'huile de l'Oued Souss sont issues d'un terroir composé principalement des marnes tortoniennes. Bien que nous ne disposions pas de valeur de CI pour cette formation spécifiquement, il faut noter que la même formation affleure également au sud de la Sicile (Sprovieri *et al.*, 2003). Ainsi, la phase soluble de cette formation marneuse a pu être étudiée et une CI de $0,708845 \pm 2,2 \cdot 10^{-5}$ et $0,709835 \pm 8 \cdot 10^{-5}$ a été mesurée (Sprovieri *et al.*, 2003). Ces

valeurs sont du même ordre de grandeur que celles mesurées pour l'huile de l'Oued Souss ($0,70899 \pm 9.10^{-5}$). La signature isotopique de l'huile de l'Oued souss pourrait donc être dans le même domaine de composition isotopique que les roches du territoire de production. Bien que l'huile d'olive "Mabrouka" ait une origine inconnue, son rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ semble identique à celui de l'huile d'olive "Oued Souss" (Figure 6b), et il est donc possible que les zones de production de ces deux huiles d'olive soient implantées sur des secteurs géologiques similaires.

La comparaison entre les CI des deux huiles d'olive marocaine et celles des huiles d'olive AOP de Nîmes et menée au travers de l'examen de la Figure 7. Cette figure souligne une discrimination entre la majorité des huiles d'olive AOP de Nîmes et les huiles Marocaines. Cette discrimination est visible pour les huiles des moulins de Pierredon, Uzès, Pattus, Paradis, Thomassot, Catresse et Villevieille qui se situent effectivement dans des environnements géologiques distincts de ceux du Maroc. Dans ces contextes, la CI des huiles d'olive est donc discriminante et l'outil $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ permet de distinguer une huile AOP de Nîmes d'une huile marocaine toutes les deux issues de la même variété d'olives. L'outil isotopique est donc un outil d'intérêt réel dans la traçabilité et la discrimination des huiles en regard de leur terroir de production.

Néanmoins, on peut noter que, de par sa nature, cet outil ne permet pas d'être affirmatif quand les géologies des terroirs de production sont similaires. En effet, on remarque que l'huile de l'Oued Souss a une valeur de CI comparable à celles des huiles AOP de Nîmes produites par le moulin des Costières et la coopérative de Beaucaire. Or ces huiles AOP sont issues des terroirs géologiques de nature similaire à ceux produisant l'huile de l'Oued Souss. En effet, les parcelles du moulin des Costières et de Beaucaire sont sur des formations

lacustres villafranchiennes, retrouvées dans la région de Fès-Meknès. La similarité observée entre ces huiles AOP Nîmes et marocaine ne remet donc pas en cause la pertinence de l'outil isotopique dans un objectif de traçabilité et de discrimination d'un terroir de production, au contraire. Cette similarité démontre en effet le lien entre terroir et huile d'un point de vue isotopique. Ainsi, dans un objectif de traçabilité, et dans le cas où la CI des terroirs de production serait trop proche pour permettre une discrimination directe, une approche multi-proxy devrait alors être envisagée pour certifier l'origine des huiles considérées.

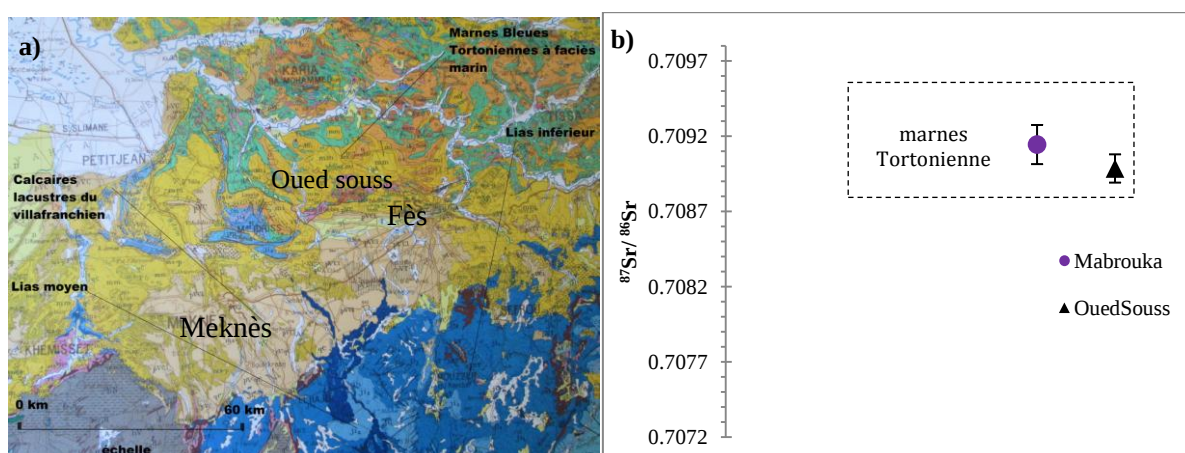


Figure 6:a) Carte géologique (de l'extrait de Fès-Boulemane et Meknès-Tafilelt carte géologique "Maroc") et localisation des parcelles de Oued souss; b) rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive Oued souss et Mabrouka

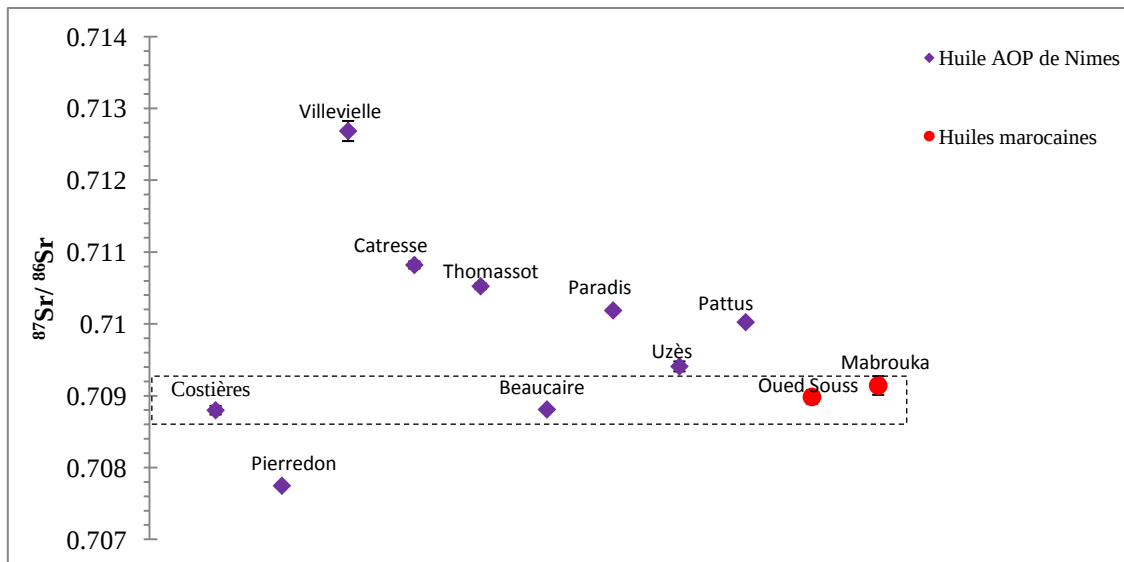


Figure 7: comparaison des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive AOP et du Maroc

V. Conclusion

La comparaison des compositions isotopiques en Sr des huiles d'olive AOP de Nîmes, et des formations qui constituent les parcelles de culture des oliviers, a permis d'établir un lien évident entre la géologie du terroir de production et la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de l'huile d'olive AOP.

Le domaine des CI des huiles d'olive AOP de Nîmes varie de 0,70775 à 0,71269, et peut être associé à des zones de production distinctes corrélées à des environnements géologiques spécifiques: 1/ huiles d'olive de faibles CI, comprises entre 0,70775 et 0,7088 ; Ces huiles sont produites dans les secteurs localisés au sud de la faille de Nîmes sur des formations majoritairement d'âge quaternaire, 2/ huiles d'olive de CI moyennement élevées, comprises entre 0,70941-0,71082, issues des parcelles de culture localisées au nord de la faille de Nîmes, dans la zone des garrigues influencée par les apports détritiques de la zone cévenole, 3/ huile d'olive de CI élevée égale à $0,71269 \pm 1,4 \cdot 10^{-4}$, et produite par la coopérative de Villevielle rassemblant des olives issues de différentes parcelles, notamment des parcelles situées sur les

Cévennes, et donc issues de terroirs implantées dans des régions géologiques à fort impact magmatique et métamorphique avec des âges plus anciens. Ces corrélations entre l'huile d'olive et la géologie de la zone établissent que le $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ peut être utilisé pour identifier les huiles d'olive en fonction de leur terroir de production.

Néanmoins, de par la nature même de l'outil, cette étude a également montré la nécessité d'une approche multi-proxy quand les géologies des terroirs sont proches isotopiquement. L'analyse des variations des compositions isotopiques de l'eau et du carbone ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$) pourrait par exemple constituer une bonne méthode complémentaire dans l'objectif d'une certification. En effet, beaucoup d'oliviers au Maroc sont cultivés dans un climat sec et en labour (sans irrigation), sous des températures annuelles relativement élevées (20 et 22 °C). Au contraire, les parcelles d'oliviers dans la région de Nîmes et du Gard sont le plus souvent irriguées, et sous des températures moyennes de 15°C. La nature isotopique et la quantité d'eau assimilée par les oliviers dans ces contextes différents devraient donc engendrer des signatures $\delta^{18}\text{O}$ différentes, de même que les conditions de sécheresse qui peuvent engendrer des signatures $\delta^{13}\text{C}$ enrichies (O'Leary, 1993; Barbour *et al.*, 2005). Quoiqu'il en soit, cette première étude de faisabilité montre le fort potentiel de la CI $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pour discriminer des huiles d'olive d'origine géographique différentes et des études complémentaires devraient être réalisées dans d'autres contextes géologiques afin d'acquérir une base de données de la CI des huiles d'olives à l'échelle européenne puis mondiale.

Références bibliographiques

1. Alexandra Paris-AFIDOL. (2011). Goutez l'origine...d'huiles s'olive s'exception.
2. Aranda, F., Gomez-Alonso, S., Rivera del Alamo, R M., Salvador, M D., Fregapane, G. (2004). Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars. *Food Chemistry*, 86, 485-492.
3. Araghipour, N., Colineau, J., Kot, A., Akkermans, W., Rojas, J M M., Beauchamp, J., Wisthaler, A., Mark, T D., Downey, G., Guillou, C., Mannina, L., Van Ruth, S. (2008). Geographical origin classification of olive oils by PTR-MS. *Food Chemistry*, 108, 374-383, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.10.056.
4. Barbour, M M., Hunt, J E., Dungan, R J., Trunbull, M H., Brailsford, G W., Farquhar, G D., & Whitehead, D. (2005). Variation in the degree of coupling between $\delta^{13}\text{C}$ of phloem sap and ecosystem respiration in two mature *Nothofagus* forests. *New Phytologist*, 166, 497–512.
5. Benincasa, C., Lewis, J., Perri, E., Sindona, G., Tagarelli, A. (2007). Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta* 585, 366-370, doi: 10.1016/j.aca.2006.12.024.
6. Berthelin, J., & Bourrelie, P H. (1998). Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Académie des sciences, rapport n° 42. TEC & DOC (Ed), Londres, Paris, New York. 440 pp.
7. Blum, J., Taliaferro, E., Weisse, M., Holmes, R. (2000). Changes in Sr/Ca, Ba/Ca and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios between trophic levels in two forest ecosystems in the northeastern U.S.A. *Biogeochemistry* 49: 87–101.

8. Cosio, M S., Ballabio, D., Benedetti, S., Gigliotti, C. (2006). Geographical origin and authentication of extra virgin olive oils by an electronic nose in combination with artificial neural networks. *Analytica Chimica Acta*, 567, 202-210.
9. Coughtrey, P.J., & Thorne MC. (1983). Strontium. In: Radionuclide distribution and transport in terrestrial and aquatic ecosystems: a critical review of data. *AA Balkema, Rotterdam*, 93-219.
10. Damiani, L. (1967). Notice explicative Carte géologique de FRANCE (1/50000), feuille Uzès (939). BRGM Ed, Orléans.
11. Dennebouy, S. (2002). Mise en évidence et caractérisation de la variabilité haute fréquence du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ du strontium océanique. Thèse Doct. “Dynamique et Ressources des Bassins Sédimentaires”, Ecole des Mines de Paris, soutenue le 19 déc. 2001 - Mém. Sc. de la Terre, ENSMP, Paris, 2002, 44, 202 p.
12. Durante, C., Baschieri, C., Bertacchini, L., Cocchi, M., Sighinolfi, S., Silvestri, M., Marchetti, A. (2013). Geographical traceability based on $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ indicator: A first approach for PDO Lambrusco wines from Modena. *Food Chemistry* 141: 2779–2787.
13. Faure, G. (1986). Principles of Isotope Geology. John Wiley and Sons, Inc. (2nd ed., p.589).
14. Freytet. (1971). Les dépôts continentaux et marins du crétacé supérieur et des couches de passage à l'éocène en Languedoc. Bulletin du B.R.G.M. (2), section I, n°4, 54p.
15. Gras, H. (1970). Notice explicative Carte géologique de FRANCE (1/50000), feuille Anduze (938). BRGM Ed, Orléans.
16. Graustein, W C. (1988). $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios measure the sources and flow of strontium in terrestrial ecosystems. In Rundel, P.W., Ehleringer, J.R. and Nagy, K.A. eds Stable Isotopes in Ecological Research, 491-512. Springer-Verlag.

17. Haddi, Z., Amari, A., Ould Ali., A., El Bari, N., Barhoumi, H., Maaref, A., Jaffrezic-Renault, N., Bouchikhi, B. (2011). Discrimination and identification of geographical origin virgin oil by an e-nose based on MOS sensors and pattern recognition techniques. *Procedia Engineering*, 25, 1137-1140.
18. Hinsinger, P. (1998). How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Adv. Agron.* 64, 225e265.
19. Jimenez, M S., Velarte, R., Gomez, M T., Castillo, J R. (2004). Multi-element determination using on-line emulsion formation and ICP-MS/FAAS for the characterization of virgin oils by principal component analysis. *Atomic Spectrometry*, 25, 1-12.
20. Jones, C E., Jenkyns, H C., Coe, A L., Hesselbo, S P. (1994). Strontium isotopic variations in Jurassic and Cretaceous seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58, 3061-3074.
21. Legeay, P L. (2013). Parcours Hydrologie-Hydrogéologie Utilisation des isotopes du strontium pour caractériser les dynamiques de recharge et de transfert d'un aquifère karstique. Laboratoire hydrosience Montpellier.
22. Mahjoubi, R., Kamel, S., Noack, Y., Michard, A., Nachon, D., et Carruesco, C. (2005). Traçage isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dans un système paléogéologique : cas des carbonates des sédiments superficiels de la lagune de Nador (Maroc nord oriental). *Bull. Soc. géol. Fr.* 176, no 4, pp. 373-380.
23. Maillard, R. (1975). L'olivier .Maison des agriculteurs .Ed .Inuviflec . Paris, 147 P.
24. Marschner, H. (1986). Mineral nutrition in higher plants. Wd Ltd. *The Greystone Press*, Antrim, Northern Ireland.
25. Medini, S., Janin, M., Verdoux, P., & Techer, I. (2015). Methodological development for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ measurement in olive oil and preliminary discussion of its use for

- geographical traceability of PDO Nîmes (France). *Food Chemistry*, 171, 78–83.
doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.121.
26. Medini, S; Janin, M; Techer, I. (2014). Transfer of Sr in olive growing-tree and feasibility of geographical tracing of olive oil using Sr isotope composition. *foodchemistry*. Submitted
 27. Menillet, F., & Paloc, H. (1973). Notice de la carte géologique de Nîmes au 1/50 000. BRGM, XXIX-42, Orléans, 1973, 40 p.
 28. Moore, J C., Spink, J., Lipp, M. (2012). Development and application of database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. *Journal of Food Science* _ Vol. 77, Nr. 4.
 29. Moudjaoui, L. (2013). Étude de la Géologie du Maroc et le lien avec la composition isotopique des huiles d'olives locales. Rapport stage Master 1. Université de Nîmes (Laboratoire GIS).
 30. Nguyen, D., Marchal, J P. (novembre 2010). Potentiel géothermique des aquifères superficiels et de moyenne profondeur du département du Gard. BRGM/RP-58731-FR.
 31. O’Leary, M H. (1993). Biochemical basis of carbon isotope fractionation. In J. R. Ehleringer, A. E. Hall, & G. D. Farquhar (Eds.), *Physiological ecology series: “Stable isotopes and plant carbon–water relations”* (pp. 19–28). San Diego, California, USA: Academic Press.
 32. Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J.P., Guerere, M. (2006). Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*. 97, 382-393.
 33. Pin, C., Joannon, S., Bosq, C., Le Fèvre, B., Gauthier, P J. (2003). Precise determination of Rb, Sr, Ba and Pb in geological materials by isotope dilution and

- ICP-quadrupole mass spectrometry following selective separation of the analytes. *J. Anal. At. spectrom.*, 18, 135-141.
34. Rolley, J P. (2007). Géologie du département du GARD Essai de synthèse géologique.
 35. Sabourdy, G. (1975). Apport de la géochimie à la connaissance de la pétrogenèse des granitoïdes des Cévennes méridionales, Massif Central Français. *Annales Scientifiques de l'Université de Clermont-Ferrand*. 1975, Vol. 52, 278p.
 36. Samuel, J., Rouault, R., Besnus, Y. (1985). Analyse multi-élémentaire standardisée des matériaux géologiques en spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif. *Analysis*, 13, 321-317.
 37. Singhal, B B S., & Gupta, R P. (2010). Applied hydrogeology of fractured rocks: Second edition. *Applied Hydrogeology of Fractured Rocks: Second Edition* (pp. 1–408). doi:10.1007/978-90-481-8799-7
 38. Sprovieri, M., Barbieri, M., Bellanca, A., and Neri, R. (2003). Astronomical tuning of the Tortonian $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ curve in the Mediterranean basin. *Terra Nova*, Vol 15, No. 1, 29–35.
 39. Stewart, B W., Capo, R C., Chadwick, O A. (1998). Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods, *Geoderma* 82, page 197-225.
 40. The Royal Society of Chemistry. (1988). The agrochemicals handbook, 2^e édition (première mise à jour--avril 1988). Nottingham, Angleterre.
 41. Takeda, A., Tsukada, H., Takaku, Y., Hisamatsu, S., Inaba, J., & Nanzyo, M. (2006). Extractability of major and trace elements from agricultural soils using chemical extraction methods: Application for phytoavailability assessment. *Soil Science and Plant Nutrition* 52, 406–417.

42. Tsimidou, M., Karakostas, K. (1993). Geographical classification of Greek virgin olive oil by non-parametric multivariate evaluation of fatty acid composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62, 253-257, doi: 10.1002/jsfa.2740620308.



Ce chapitre a permis :

- De confirmer le lien entre la composition isotopique en Sr des formations géologiques du terroir AOP de Nîmes, et celle des dix huiles d'olive produites.
- De définir un domaine de signatures isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ spécifiques aux huiles d'olive AOP de Nîmes, contraintes selon le secteur de production. Trois groupes de compositions ont été identifiés en fonction de la localisation géographique et de la nature géologique des formations constituant les parcelles de culture.
- De discriminer la majorité des huiles d'olive AOP de Nîmes d'huiles d'olive en provenance du Maroc.

Ces différents points soulignent la pertinence des isotopes du Sr comme traceur de l'origine géographique des produits oléicoles, dans le contexte de culture des huiles d'olive AOP de Nîmes. Cependant, l'identité entre les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive et les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée des sols de culture n'est pas toujours parfaite. Il est rappelé que la comparaison huile / terroir a été faite en considérant, au niveau du réservoir géologique, la phase carbonatée. Cette démarche s'appuie, sur le fait que la plante absorbe le Sr dans la fraction carbonatée ou soluble du sol (Joubert, 2008), cette dernière est liée à la fraction de l'eau mobile dans le sol. Afin d'expliquer les écarts ponctuellement observés entre les compositions isotopiques des huiles et celles des sols, il est nécessaire de contraindre les phénomènes qui contrôlent l'absorption du Sr dans la plante. Plusieurs paramètres peuvent être regardés, comme le mode de culture, notamment les traitements et amendements apportés aux oliviers, et l'irrigation. Quel est le rôle de l'irrigation, et des engrais et pesticides sur la

biodisponibilité du Sr? Les modes de culture, induisent-ils des changements dans l'absorption du Sr par les oliviers?

La biodisponibilité du Sr dans le sol est liée à la forme chimique sous laquelle il est présent, et de l'aptitude de la plante à l'assimiler. La plante absorbe le Sr préférentiellement sous forme libre Sr^{2+} dans la fraction soluble du sol (Joubert, 2008). Plusieurs paramètres peuvent influencer la disponibilité du Sr dans la plante, les plus importants sont:

Le pH : L'augmentation du pH favorise la déprotonation des sites d'adsorption de la plante, et augmente ainsi la fixation des cations sur ces sites d'adsorption. Au contraire, lors de la diminution du pH, les carbonates tels que la calcite (CaCO_3) se dissolvent partiellement, en libérant les cations métalliques qui leurs sont associés. Et donc, ces cations sous forme libre sont facilement assimilables par la plante.

Le potentiel d'oxydo-réduction Eh : Les pratiques agricoles (irrigation, tassement par passage d'engin, apports de MO par les engrais) diminuent le degré d'aération du sol, favorisent l'anoxie (réduction de la quantité d'oxygène), et donc baissent le potentiel d'oxydo-réduction (Joubert, 2008). Ce dernier peut influencer la mobilité des éléments métalliques selon leurs degrés d'oxydation.

Le but de ce chapitre est de contraindre les différents paramètres qui influencent la biodisponibilité du Sr dans le sol, et de discuter de l'impact des ajouts de culture sur la composition isotopique en Sr du sol et de l'olivier. Cette approche ne peut se faire que dans des conditions contrôlées d'expérimentation. A ce titre, une collaboration de recherche a été mise en place entre l'université de Nîmes et la SERFEL (Sica d'expérimentation régionale pour les fruits et légumes) (sud de la France) (UNIMES : 2012_224_REC_SERFEL). Cette

collaboration intègre notamment la mise à disposition des parcelles de culture d'oliviers de la SERFEL pour toutes mesures relatives à l'approche isotopique qui sera détaillée ci-après.

Chapitre 5

Influence de l'irrigation et des apports anthropiques sur la biodisponibilité du Sr, impact sur la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des oliviers

I. Introduction

Le strontium (Sr) est un métal alcalino-terreux présent dans les plantes à des concentrations variables selon l'espèce végétale (variant de 0,2 ppm dans le grain de maïs à 320 ppm dans les champignons) (Coughtrey et Thorne, 1983 ; Marschner, 1986). Il peut être considéré dans les processus biogéochimiques comme un analogue du calcium (Ca), du fait de leurs propriétés chimiques proches (Faure, 1986 ; Cole *et al.*, 2000). D'un point de vue géologique cet élément peut être retrouvé dans les minéraux de type feldspath, plagioclase, apatite, sulfates, ou encore dans les carbonates (strontianite, célestine, calcite, dolomite et surtout l'aragonite) (Capo *et al.*, 1998).

Le cycle biogéochimique du Sr a été étudié notamment par Stewart *et al.* (1998) et Capo *et al.* (1998). Deux sources principales de Sr peuvent être utilisées par une plante: 1/La fraction labile du sol, et 2/ la solution libre ou l'eau mobile dans le sol (Stewart *et al.*, 1998 ; Raiber *et al.*, 2009 ; Semhi *et al.*, 2012 ; Rich *et al.*, 2012). Le strontium issu de la solution libre du sol est absorbé dans les plantes par le rhizobium (bactéries présentant la capacité de rentrer en symbiose avec les plantes). Cette absorption peut se faire sous forme de cation divalent (Sr^{2+}) échangeable, selon trois mécanismes : 1/par fixation sur les complexes argilo-humiques, 2/sous forme d'ions libres, ou 3/par l'intermédiaire de chélateurs qui vont jouer le rôle de transporteur à travers la membrane racinaire (Soltner, 2001). La quantité de Sr

présente dans le sol est liée à différents paramètres tels que l'érosion des minéraux primaires des roches sous-jacentes, les apports atmosphériques (précipitations et dépôts secs) (Graustein, 1988 ; Gosz & Moore, 1989), et les apports anthropiques (Choi *et al.*, 2004 ; Techer *et al.*, 2011).

Des études récentes (Takeda *et al.*, 2008 ; Betencourt, 2012) ont porté sur les mécanismes d'adsorption/absorption des éléments traces ou majeurs dans la plante, et de transports dans les différents écosystèmes et aux interfaces sols/plantes et atmosphère. Ainsi, il a été constaté que seule une fraction de la quantité totale de l'élément présent dans le sol était accessible à la plante, et effectivement prélevée par celle-ci. Cette fraction est appelée « fraction biodisponible » ou « fraction phytodisponible », et est directement dépendante de la solubilité de l'élément considéré, la teneur en eau, le type du minéral, la température (Durante *et al.*, 2013 ; Takeda *et al.*, 2006), le pH (Takeda *et al.*, 2008; Hinsinger, 1998,2001) et le potentiel d'oxydoréduction dans l'espace racinaire de la plante (Berthelin & Bourrelrier, 1998). Ainsi, le Sr effectivement absorbé par une plante est un paramètre complexe à appréhender. La composition isotopique du Sr ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) peut être utilisée pour tracer les processus biogéochimiques et l'origine du Sr (Capo *et al.*, 1998), pour tracer les mélanges et les circulations en rivières (Négrel *et al.*, 1993, Blum *et al.*,2000), ainsi que pour déterminer l'origine géographique des produits agroalimentaires (Choi *et al.*, 2008, Técher *et al.*, 2011 ; Medini *et al.*, *in prep*).

Des travaux ont souligné une variation possible de la composition isotopique en Sr (CI) entre le réservoir géologique et la plante en culture sur celui-ci. Ces variations observées entre les rapports isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de ces deux compartiments pourraient être liés à des phénomènes de fractionnement du Sr (1) lors du transfert dans les différents compartiments du végétal (De souza *et al.*, 2010), ou (2) lors de l'absorption du Sr par la plante selon une sélectivité des phases biodisponibles. Des variations temporelles dans les paramètres de

cultures (tels que l'irrigation ou l'ajout d'amendement) pourraient également engendrer des variations dans la nature même de la phase du Sr biodisponible pour la plante, et induire donc une apparente différence entre la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des sols et celle des plantes en culture.

Afin de contraindre le cycle biogéochimique du Sr, au travers notamment de la caractérisation de l'impact de l'environnement sur la biodisponibilité du Sr, l'étude vise à identifier les compositions isotopiques en Sr au sein de racines, branches et feuilles d'oliviers en rapport avec celles de différentes phases minérales des parcelles de culture. L'approche a été menée sur une station expérimentale de culture, la SERFEL (Sica d'expérimentation régionale pour les fruits et légumes) (St Gilles 30, France), où les conditions de culture (engrais, pesticides,...), ainsi que l'irrigation sont contrôlées.

Des analyses systématiques des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ont été réalisées au sein de différents compartiments d'oliviers de variétés picholine et aglandau (des racines, des branches et des feuilles), de deux phases minérales du réservoir géologique (le Sr de la phase carbonatée, et celui de la phase « échangeable des cations »), et de différents amendements. La comparaison de ces données permettra d'identifier la source principale de Sr biodisponible et de discuter de la répartition de cet élément dans les différents compartiments de l'olivier. Le rôle de l'irrigation et de l'ajout de produits de cultures sur la nature de la source de Sr sera appréhendé.

II. Site d'étude et conditions de culture

La station SERFEL est une station régionale d'expérimentation spécialisée dans les fruits et légumes à noyau. L'une de ses missions concerne la culture des oliviers avec pour objectif l'évaluation de l'influence du paramètre « irrigation » sur la quantité d'olives produites et la qualité de l'huile d'olive générée, ainsi que la régularité de la production et la performance du verger. Ainsi, depuis 2003, deux variétés d'oliviers (picholine et aglandau) sont cultivées au

sein de cette station dans des conditions connues et contrôlées. L'expérimentation repose sur un panel de 375 oliviers, soumis à cinq modalités d'irrigations :

- 1 groupe témoin non irrigué (modalité non irriguée, qui sera notée Ø),
- 2 groupes fortement irrigués notés « A et B », recevant une dose d'eau de 25 mm/jour,
- 2 groupes moyennement irrigués « C et D », recevant une demi-dose d'eau de 12,5mm/jour.

Chaque modalité comporte trois répétitions (Rep1, Rep2 et Rep3) pour chaque variété, et chaque répétition comporte trois arbres (Figure 1).

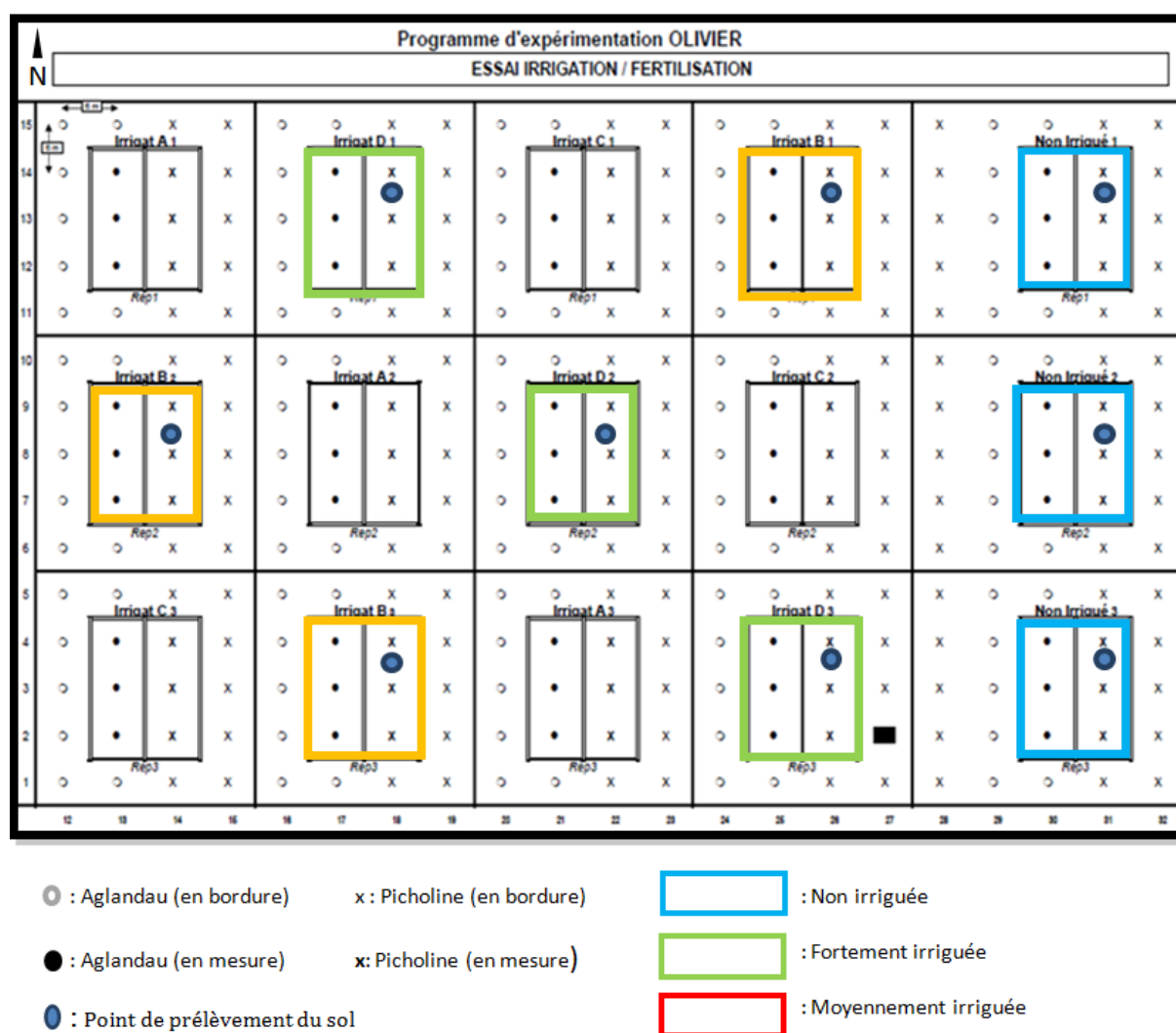


Figure 1: Plan de la parcelle d'expérimentation 'oliviers' de la SERFEL (Gard, 30). Identification des parcelles de culture sélectionnées pour cette étude et des zones de prélèvements.

La SERFEL est située dans la région dite ‘des Costières’, qui est caractérisée par un sédiment imperméable à faciès argileux constitué d’argiles gris-bleues d’âge Plaisancien (2,6-3,6 Ma). Cette formation est recouverte par des formations de type cailloutis duranciens ou rhodaniens du plio-quaternaire (Villafranchien, 0,9-3,6Ma) (Figure 2). Cette formation du Villafranchien est elle même constituée de plusieurs matériaux hétérogènes de galets de quartzite alpin et de quartz cévenols, ainsi que de calcaires, de roches magmatiques, de jaspes et silex et de roches métamorphiques en plus faible proportion (Desaunettes & Vigneron, 1958 ; Barrière & Toni, 1973). Les sols de la zone d’étude se sont donc développés sur cet ensemble sédimentaire hétérogène. Il en résulte une hétérogénéité des sols qui s’observe à l’échelle même de la parcelle d’expérimentation SERFEL.

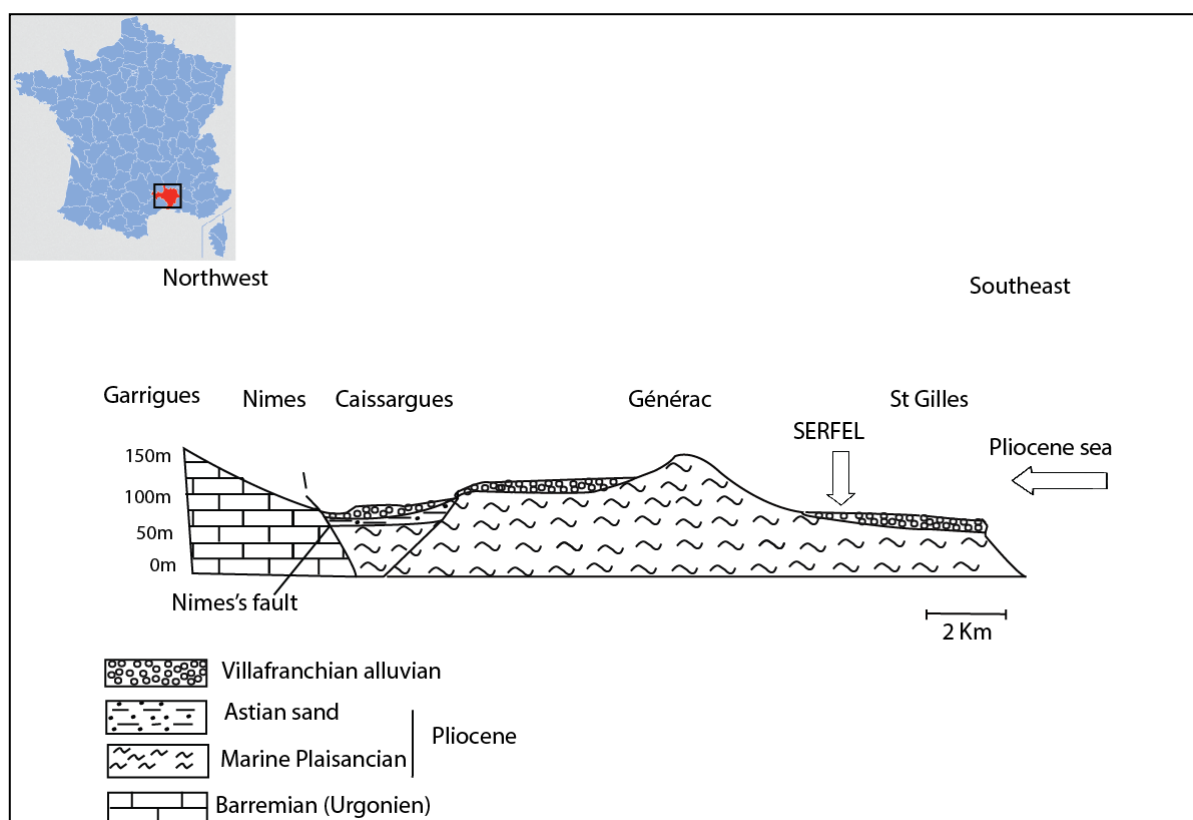


Figure 2 : Coupe géologique NE-SW de la région des Costières (d’après Desaunettes et Vigneron ; 1958, Barrière et al ; 1973). Localisation des situations géologiques des parcelles de culture de la SERFEL

La figure 3 représente le type de sols identifiés dans la parcelle expérimentale ‘oliviers’ de la SERFEL (M. Arregui, ingénieur agronome à la SERFEL - communication personnelle) en considérant deux variables :

La granulométrie : globalement deux types de sols sont identifiés : des sols à plus de 70% de fraction fine et des sols à moins de 70% de fraction fine (en agronomie les fractions fines sont les fractions <2mm, ils peuvent être composé de sable, limon et/ou argile). La partie « Est » de la parcelle est caractérisée surtout par la présence de sols « pauvres » en fraction fine (<70%) où cette fraction n’est détectable que sur les 25 premiers cm à la surface. La partie centrale de la parcelle contient des sols où la fraction fine est plus importante, s’étendant sur plus de 75 cm, voire 100 cm.

La présence de calcaire : certaines zones de la parcelle sont marquées par la présence de calcaires au sein des sols, alors que d’autres zones en sont exemptes: près de 40% de la parcelle, zones localisées ponctuellement au centre de la parcelle, sont ainsi référencées comme présentant des roches calcaires – et près de 60% de la parcelle, zones localisées principalement en bordure latérales « Est et Ouest », zone référencées comme des sols avec peu ou sans calcaire (Figure 3).

Du point de vue hydrogéologique, la zone des Costières est alimentée exclusivement par l’eau de pluie (Poul *et al.*, 1975). Cependant, la parcelle de la SERFEL est irriguée par de une eau alimentée directement par le canal BRL (Le canal du Bas-Rhône Languedoc ou canal Philippe-Lamour, un canal d’irrigation amenant l’eau du Rhône vers le sud du département du Gard et l’est du département de l’Hérault) sans traitement préalable.

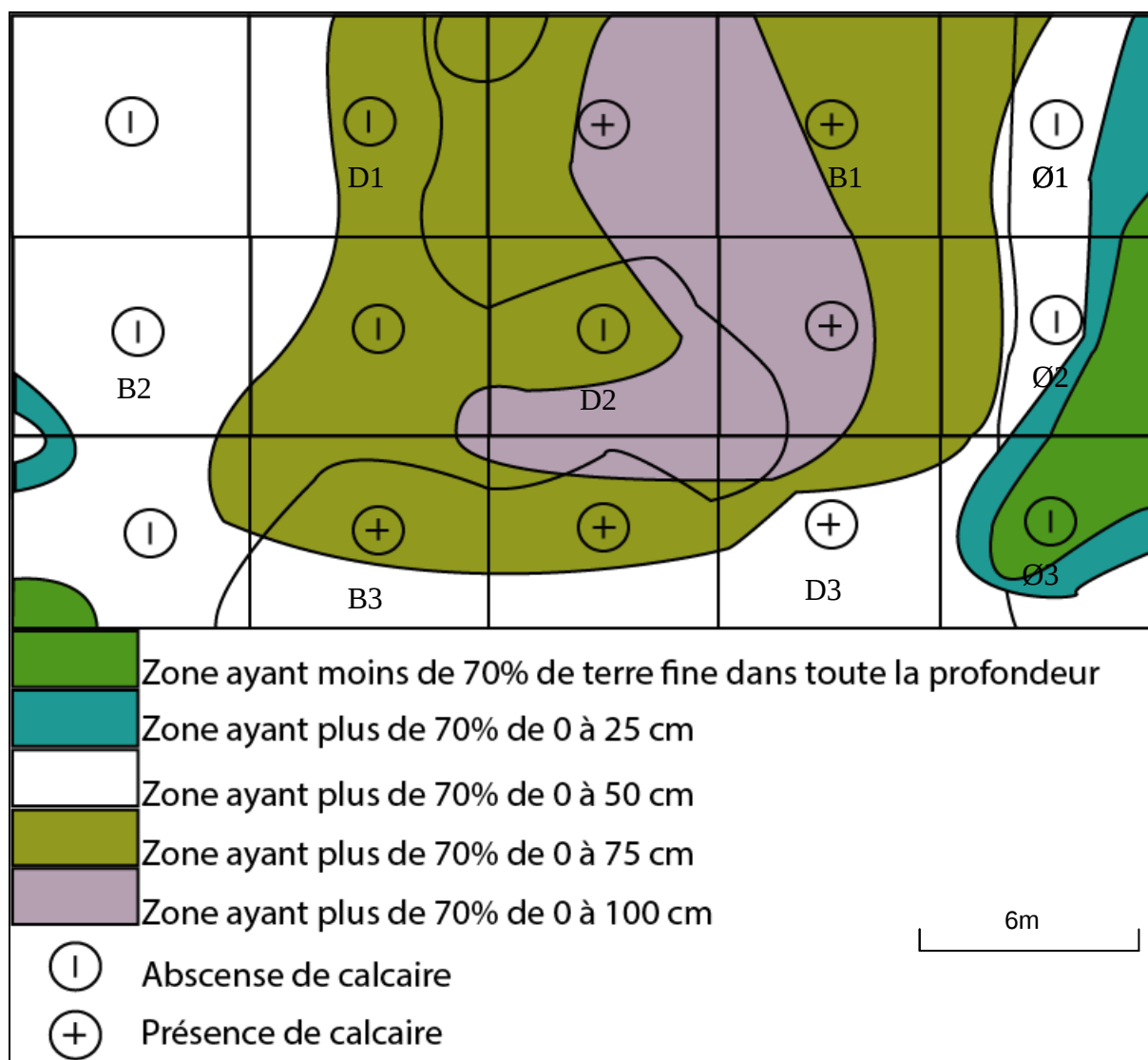


Figure 3: Typologie des sols de la parcelle 'Oliviers' de la Serfel (M. Arregui, ingénieur agronome à la SERFEL - communication personnelle)

Dans le cadre des cultures réalisées par la SERFEL dans l'essai 'oliviers', deux amendements sont utilisés pour traiter les arbres :

(1) La bouillie bordelaise, de couleur bleue, et composée de sulfate de cuivre et de chaux éteinte (Tableau 1), utilisée en prévention de « l'œil de paon » (maladie affectant les oliviers), ainsi que contre la bactériose (bactérie causant l'apparition du chancre sur les branches de l'olivier), et la fumagine (un champignon qui se développe sur le miellat produit par les

cochenilles) (AFIDOL, 2008). Ce pesticide est pulvérisé sur les feuilles avant la floraison (Mars) et après la récolte (début Octobre),

(2) l'argile blanche (kaolinite), de couleur blanche, composée de silicate d'aluminium hydraté, de formule $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ (Tableau 1). Ce pesticide est utilisé en moyen de lutte contre la mouche d'olive (*Dacus oleae*), et appliqué généralement au début du mois de juillet. La kaolinite se trouve dans les roches argileuses, ou dans les roches magmatiques, résultat de l'altération des feldspaths des granites. Selon sa genèse et son âge, son Sr peut être très radiogénique.

Tableau 1: Traitements utilisés sur la parcelle de la SERFEL

Traitements	Date d'application	Composition chimique	Cycle de l'olivier
Argile blanche (en pulvérisation)	19/07 et 10/08 (50 kg/ha)	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ (Cama <i>et al.</i> , 2002)	Development du fruit
Bouillie bordelaise (en pulvérisation)	5/10	80% CaCO_3 20 % Cu	Avant la récolte des olives verte

III. Matériels et méthode

1. Echantillonnage

La stratégie d'échantillonnage a été de sélectionner trois essais tripliqués (Rep1, Rep2 et Rep3) de picholine (P) et d'aglandau (A) selon trois degrés d'irrigation : non irrigué (essai Ø), fortement irrigué (essai B), moyennement irrigué (essai D) (Figure 1). L'échantillonnage a été réalisé sur deux périodes :

1/ Novembre 2012 : échantillonnage des variétés « P » et « A » sur les trois modes d'irrigations (Ø, B, D), et sur les trois répétitions (Rep1, Rep2 et Rep3). Ont été collectés lors de cette campagne:

- Les feuilles (F) et les branches (B), trois à quatre branches avec leurs feuilles (environ 30 feuilles), prélevées au même niveau pour assurer la représentativité des données à l'échelle de l'arbre,
- Les sols (S), à une distance de 1m de l'arbre et à une profondeur de 30 cm afin de s'affranchir des effets de surface (résidus de la litière par exemple).
- L'eau d'irrigation (EI), et l'eau de pluie (EP). A noter que ces eaux sont filtrées sur place à l'aide de filtre à 0,45µm, pour enlever la matière en suspension et acidifiées avec de l'acide nitrique (6N) (avec un pH entre 3 et 4), bi-distillé, pour éviter la précipitation des cations.
- La bouillie bordelaise (BB), sous forme d'une poudre bleue.

2/ Septembre 2013 :

- Les mêmes compartiments des oliviers de variété « P » ont été échantillonnés selon la même stratégie. Ceci afin d'avoir une approche d'évaluation des composantes dans le temps.
- Les S à 40 cm de profondeur des Rep 1 et 2, ainsi qu'un profil complet (40, 60, 80 cm pour le Rep3) pour chaque modalité d'irrigation (non irriguée Ø, moyennement irriguée D et fortement irriguée B). La profondeur des racines d'oliviers varie selon les caractéristiques du sol et l'âge de l'olivier, ainsi, à l'étape juvénile, les racines des oliviers ne dépassent pas les 80 cm de profondeur (Fernández *et al.*, 1991).
- Les 'petites' racines (R) de certains arbres interceptées lors du prélèvement des sols
- L'argile blanche (AB), sous forme de poudre blanche.

2. Traitement des échantillons

Afin de mesurer le rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de chacun des échantillons prélevés, un traitement spécifique selon leur nature a d'abord été appliqué de manière à les mettre sous la forme requise pour la purification du Sr.

Pour les matières végétales (racines, branches et feuilles) : une masse de 0,3 à 0,4 g (selon la matrice) est soumise à une minéralisation par microonde, selon le protocole décrit dans (Medini *et al.*, soumis) (cf. chapitre 3). Avant cette étape de minéralisation, les feuilles auront été lavées à l'eau distillée et aux ultrasons. L'eau de lavage a été collectée et évaporée afin d'isoler la fraction déposée sur les feuilles. Le résidu sec sera repris en milieu nitrique (HNO_3 , 2N) pour l'extraction élémentaire du Sr et l'analyse isotopique au spectromètre de masse.

Dans les sols, le Sr est potentiellement disponible dans deux phases: (1) La phase carbonatée, extraite avec un leaching en acide acétique (1N) et (2) La fraction échangeable des cations. Le protocole d'extraction de la phase carbonatée, ou soluble, est détaillé dans (Medini *et al.*, soumis) (cf. chapitre 3) ; La fraction échangeable est extraite selon le protocole de Takeda *et al.* (2006) qui consiste en l'utilisation de nitrate d'ammonium (NH_4NO_3) selon un rapport 1:10 de sol par volume de solution (NH_4NO_3). Ainsi 100 mg de sol sont pesés dans lequel est ajouté 1 ml de nitrate d'ammonium (1M). Le mélange sol/nitrate d'ammonium est placé à l'étuve à 20°C pendant une durée de 2 heures. La solution est soumise à une centrifugation à 11000 tour/ min pendant 5min, et le lessivât est prélevé pour purification du Sr.

En ce qui concerne les amendements, une masse de 200mg pour la bouillie bordelaise, et de 300 mg pour l'argile blanche a été pesée et soumise à un lessivage en acide acétique (1N)

pendant 5min (Van der Hoven & Quade, 2002). Le lessivât obtenu est considéré comme la fraction solubilisable et donc potentiellement assimilable par la plante (Morel *et al.*, 1996).

Les échantillons d'eaux ont été évaporés sur plaque chauffante pour traitement du dépôt sec pour la purification du Sr. Le volume d'eau évaporé est fonction de la quantité de Sr nécessaire pour l'analyse et donc de la concentration en Sr des eaux. Ainsi, pour une concentration moyenne en Sr de $350 \mu\text{g. l}^{-1}$ dans l'eau du BRL (EI) (Sassine *et al.*, *soumis*), et en moyenne de $8,8 \text{ ng. l}^{-1}$ pour l'eau de pluie (EP) (Ladouche *et al.*, 2009), respectivement 6 ml et 60 ml pour l'EI pour l'EP ont été évaporés.

Suite à ces différents traitements, le Sr des échantillons a été purifié sur résine Sr-resin (EICHROM) selon le protocole de Pin *et al.* (2003). Les compositions isotopiques de l'élément ont été déterminées au spectromètre de masse à thermo-ionisation (Triton TI). Les concentrations en Sr de quelques sols, feuilles et les ajouts sur la parcelle, ont également été déterminées par mesures en ICP-AES/MS au Laboratoire d'Hydrologie et de Géochimie de Strasbourg selon le protocole de Samuel *et al.* (1985).

IV. Résultats

Tableau 2: Données isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents compartiments (eaux, sols, branches, feuilles, ajouts) de la variété picholine sur la parcelle de la SERFEL de la campagne d'échantillonnage 11/2012

Type	Echantillons	Modalité d'irrigation	Traitements	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2 δ	[Sr] $\mu\text{g.g}^{-1}$
Sol (30 cm de profondeur et à 1 m de l'arbre)	2012-11-P- Ø-Rep1-S	Non irriguée	Ac. Acétique	0,708544	9,60E-06	259,51
	2012-11-P- Ø-Rep2-S	Non irriguée	Ac. Acétique	0,708528	7,00E-06	/
	2012-11-P- Ø-Rep3-S	Non irriguée	Ac. Acétique	0,708605	1,00E-05	/
	2012-11-P- B-Rep1-S	Fortement irriguée	Ac. Acétique	0,708631	1,00E-05	305,99
	2012-11-P- B-Rep2-S	Fortement irriguée	Ac. Acétique	0,708717	1,30E-05	/
	2012-11-P- B-Rep3-S	Fortement irriguée	Ac. Acétique	0,708899	9,00E-06	458,80
	2012-11-P- D-Rep1-S	moyennement irriguée	Ac. Acétique	0,708916	1,00E-05	/
	2012-11-P- D-Rep2-S	moyennement irriguée	Ac. Acétique	0,708858	9,00E-06	357,49
	2012-11-P- D-Rep3-S	moyennement irriguée	Ac. Acétique	0,709045	1,60E-05	360,49
Branche	2012-11-P- Ø-Rep1-B	Non irriguée	végétaux	0,709031	1,00E-05	/
	2012-11-P- Ø-Rep2-B	Non irriguée	végétaux	0,709110	6,20E-06	/
	2012-11-P- Ø-Rep3-B	Non irriguée	végétaux	0,709044	8,20E-06	/
	2012-11-P- D-Rep1-B	moyennement irriguée	végétaux	0,709160	7,00E-06	/
	2012-11-P- D-Rep2-B	moyennement irriguée	végétaux	0,709221	6,40E-06	/
	2012-11-P- D-Rep3-B	moyennement irriguée	végétaux	0,709296	6,90E-06	/
	2012-11-P- B-Rep1-B	Fortement irriguée	végétaux	0,709081	1,10E-05	/
	2012-11-P- B-Rep2-B	Fortement irriguée	végétaux	0,709109	8,00E-06	/
	2012-11-P- B-Rep3-B	Fortement irriguée	végétaux	0,709019	7,00E-06	/
Feuille	2012-11-P- Ø-Rep1-F	Non irriguée	végétaux	0,709134	6,30E-06	/
	2012-11-P- Ø-Rep2-F	Non irriguée	végétaux	0,709182	9,10E-06	/
	2012-11-P- Ø-Rep3-F	Non irriguée	végétaux	0,709095	8,00E-06	12,48
	2012-11-P- D-Rep1-F	moyennement irriguée	végétaux	0,709192	6,30E-06	/
	2012-11-P- D-Rep2-F	moyennement irriguée	végétaux	0,709250	5,00E-06	/
	2012-11-P- D-Rep3-F	moyennement irriguée	végétaux	0,709282	6,00E-06	22,23
	2012-11-P- B-Rep1-F	Fortement irriguée	végétaux	0,709100	5,00E-06	/
	2012-11-P- B-Rep2-F	Fortement irriguée	végétaux	0,709149	5,10E-06	/
	2012-11-P- B-Rep3-F	Fortement irriguée	végétaux	0,709061	4,50E-06	16,05
Bouillie bordelaise	2012-11-BB-SERFEL	/	Ac. acétique	0,708011	2,50E-05	10,55
Argile blanche	2012-11-AB-SERFEL	/	Ac. acétique	0,743247	4 E-05	1,50
Eau d'irrigation	2012-11-E-I-SERFEL	/	/	0,708489	8,00E-06	/
Eau de pluie	2013-03-E-P	/	filtration à 0,45 μm	0,708769	9,20E-06	/
Eau de lavage	2013-11-E-D-REP2-F	moyennement irriguée	sans filtration	0,709434	3,30E-05	

Tableau 3:Données isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents compartiments (eaux, sols, branches, feuilles, ajouts) de la variété picholine sur la parcelle de la SERFEL de la campagne d'échantillonnage 09/2013

Type	Echantillons	Modalité d'irrigation	Traitements	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2 δ
Branches	2013-09-P- Ø-Rep1-B	Non irrigué	Végétaux	0,709248	1,00E-05
	2013-09-P- Ø-Rep2-B	Non irrigué	Végétaux	0,709182	1,00E-05
	2013-09-P- Ø-Rep3-B	Non irrigué	Végétaux	0,709171	8,00E-06
	2013-09-P- D-Rep1-B	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709319	7,00E-06
	2013-09-P- D-Rep2-B	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709212	9,00E-06
	2013-09-P- D-Rep3-B	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709260	6,00E-06
	2013-09-P- B-Rep1-B	Fortement irrigué	Végétaux	0,709212	8,00E-06
	2013-09-P- B-Rep2-B	Fortement irrigué	Végétaux	0,709039	5,00E-06
	2013-09-P- B-Rep3-B	Fortement irrigué	Végétaux	0,708977	9,20E-06
Feuilles	2013-09-P- Ø-Rep1-F	Non irrigué	Végétaux	0,709220	7,00E-06
	2013-09-P- Ø-Rep2-F	Non irrigué	Végétaux	0,709370	6,00E-06
	2013-09-P- Ø-Rep3-F	Non irrigué	Végétaux	0,709439	6,00E-06
	2013-09-P- D-Rep1-F	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709318	8,00E-06
	2013-09-P- D-Rep2-F	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709377	8,00E-06
	2013-09-P- D-Rep3-F	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709450	1,20E-05
	2013-09-P- B-Rep1-F	Fortement irrigué	Végétaux	0,709325	7,00E-06
	2013-09-P- B-Rep2-F	Fortement irrigué	Végétaux	0,709209	6,00E-06
	2013-09-P- B-Rep3-F	Fortement irrigué	Végétaux	0,709283	7,00E-06
Sols à 40 cm	2013-09-P- Ø-Rep1-S40	Non irrigué	Ac. Acétique	0,708509	6,00E-06
	2013-09-P- Ø-Rep2-S40	Non irrigué	Ac. Acétique	0,708572	8,00E-06
	2013-09-P- Ø-Rep3-S40	Non irrigué	Ac. Acétique	0,708517	8,00E-06
Sols à 60 cm	2013-09-P- Ø-Rep3-S60	Non irrigué	Ac. Acétique	0,708530	8,00E-06
Sols à 80 cm	2013-09-P- Ø-Rep3-S80	Non irrigué	Ac. Acétique	0,708571	7,00E-06
Sols à 40 cm	2013-09-P- D-Rep1-S40	Moyennement irrigué	Ac. Acétique	0,708816	9,20E-06
	2013-09-P- D-Rep2-S40	Moyennement irrigué	Ac. Acétique	0,708811	1,00E-05
	2013-09-P- D-Rep3-S40	Moyennement irrigué	Ac. Acétique	0,709012	2,50E-05
Sols à 60 cm	2013-09-P- D-Rep3-S60	Moyennement irrigué	Ac. Acétique	0,709147	1,00E-05
Sols à 80 cm	2013-09-P- D-Rep3-S80	Moyennement irrigué	Ac. Acétique	0,709255	1,10E-05
Sols à 40 cm	2013-09-P- B-Rep1-S40	Fortement irrigué	Ac. Acétique	0,708551	1,30E-05
	2013-09-P- B-Rep2-S40	Fortement irrigué	Ac. Acétique	0,708753	1,00E-05
	2013-09-P- B-Rep3-S40	Fortement irrigué	Ac. Acétique	0,708913	1,80E-05
Sols à 60 cm	2013-09-P- B-Rep3-S60	Fortement irrigué	Ac. Acétique	0,708946	1,05E-05
Sols à 80 cm	2013-09-P- B-Rep3-S80	Fortement irrigué	Ac. Acétique	0,708776	1,10E-05
Racine à 70 cm	2013-09-P- Ø-Rep3-R	Non irrigué	Végétaux	0,709212	1,00E-05
Racine à 30 cm	2013-09-P- D-Rep3-R	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709286	9,00E-06
Racine à 70 cm	2013-09-P- Ø-Rep3-R2	Non irrigué	Végétaux	0,709049	8,00E-06
Racine à 30 cm	2013-09-P- D-Rep3-R2	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709138	6,00E-06
Sols à 40 cm	2013-09-P- Ø-Rep3-S40	Non irrigué	NH ₄ NO ₃	0,708879	3,00E-05
Sols à 60 cm	2013-09-P- Ø-Rep3-S60	Non irrigué	NH ₄ NO ₃	0,708988	1,40E-05
Sols à 80 cm	2013-09-P- Ø-Rep3-S80	Non irrigué	NH ₄ NO ₃	0,708979	1,00E-05
Sols à 40 cm	2013-09-P- D-Rep3-S40	Moyennement irrigué	NH ₄ NO ₃	0,709044	1,30E-05
Sols à 60 cm	2013-09-P- D-Rep3-S60	Moyennement irrigué	NH ₄ NO ₃	0,709192	1,00E-05
Sols à 80 cm	2013-09-P- D-Rep3-S80	Moyennement irrigué	NH ₄ NO ₃	0,709279	2,60E-05

Tableau 4:Données isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des différents compartiments (branches, feuilles) de la variété aglandau sur la parcelle de la SERFEL de la campagne d'échantillonnage 11/2012

Type	Echantillons	Modalité d'irrigation	Traitements	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2 δ
Branche	2012-11-A-Ø-Rep1-B	Non irrigué	Végétaux	0,709053	1,1E-05
Feuille	2012-11-A-Ø-Rep1-F	Non irrigué	Végétaux	0,709179	1,2E-05
Branche	2012-11-A-Ø-Rep2-B	Non irrigué	Végétaux	0,709045	6,0E-06
Feuille	2012-11-A-Ø-Rep2-F	Non irrigué	Végétaux	0,709143	4,8E-06
Branche	2012-11-A-Ø-Rep3-B	Non irrigué	Végétaux	0,709045	7,4E-06
Feuille	2012-11-A-Ø-Rep3-F	Non irrigué	Végétaux	0,709189	5,0E-06
Branche	2012-11-A-D-Rep1-B	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709231	9,4E-06
Feuille	2012-11-A-D-Rep1-F	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709188	1,0E-05
Branche	2012-11-A-D-Rep2-B	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709022	8,2E-06
Feuille	2012-11-A-D-Rep2-F	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709074	8,0E-06
Branche	2012-11-A-D-Rep3-B	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709216	4,8E-06
Feuille	2012-11-A-D-Rep3-F	Moyennement irrigué	Végétaux	0,709191	8,8E-06
Branche	2012-11-A-B-Rep1-B	Fortement irrigué	Végétaux	0,709128	1,1E-05
Feuille	2012-11-A-B-Rep1-F	Fortement irrigué	Végétaux	0,709107	1,1E-05
Branche	2012-11-A-B-Rep2-B	Fortement irrigué	Végétaux	0,708927	5,4E-06
Feuille	2012-11-A-B-Rep2-F	Fortement irrigué	Végétaux	0,709047	5,8E-06
Branche	2012-11-A-B-Rep3-B	Fortement irrigué	Végétaux	0,709040	9,0E-06
Feuille	2012-11-A-B-Rep3-F	Fortement irrigué	Végétaux	0,709080	1,0E-05

Les compositions isotopiques $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ et les teneurs en Sr des sols, des différents organes de l'olivier (racines, branches, feuilles), ainsi que des ajouts aux cultures prélevés lors des deux campagnes d'échantillonnages, sont rapportés dans les Tableaux 2, 3 et 4.

a. Sols

Les concentrations en Sr des phases solubles des sols prélevés à 30cm de profondeur sont de l'ordre de 260 à 460ppm. D'un point de vue isotopique, les compositions en $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de cette fraction des sols sont représentées sur la Figure 4b. Bien qu'échantillonnés sur la même parcelle, les sols présentent des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la fraction soluble variables d'une modalité d'irrigation à une autre, et également au sein même d'une modalité ($0,708528 \pm 7.10^{-6}$ pour Ø-Rep2-S, $0,709045 \pm 1,6.10^{-5}$ pour D-Rep3-S, et $0,708858 \pm 9.10^{-6}$ pour D-Rep2-S). Il est néanmoins possible de dégager une tendance avec, en moyenne, des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des sols moyennement irrigués (D) compris entre $0,708858 \pm 9.10^{-6}$ et $0,709045 \pm 1,6.10^{-5}$, supérieurs

aux rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des sols fortement irrigués (B) ($0,708631 \pm 10^{-5}$ et $0,708899 \pm 9.10^{-6}$). Ces derniers sont eux mêmes supérieurs aux rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des sols non irrigués (Ø) ($0,708528 \pm 7.10^{-6}$ et $0,708605 \pm 10^{-5}$) (Figure 4b). Les compositions $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des 3 échantillons de Sols-Ø sont par ailleurs homogènes (0,7085-0,7086), et comparables aux valeurs de compositions $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des sols prélevés sur la parcelle de culture du moulin des Costières (0,7082-0,7087), un moulin oléicole AOP de Nîmes localisé dans le même environnement géologique (Medini *et al.*, soumis) (Figure 5a). A l'inverse, les compositions $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des 3 échantillons de Sols-B et D sont très hétérogènes à l'échelle même de la modalité.

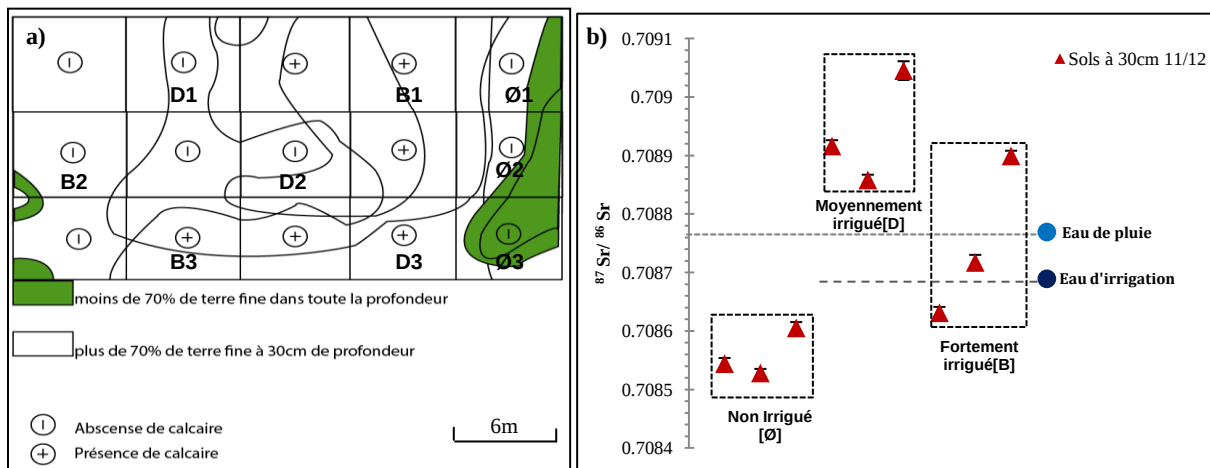


Figure 4:a) Granulométrie dans les sols à 30cm de profondeur dans la parcelle de la SERFEL (M. Arregui, communication personnelle SERFEL) ;b) Rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la fraction soluble des sols prélevés à 30 cm de profondeur dans les différentes modalités d'irrigations sur la parcelle de la SERFEL

La comparaison de ces compositions avec celles des eaux d'irrigation et l'étude des profils selon la profondeur soulignent les points suivants (Figure 5):

(i) En surface (30-40cm) les fractions solubles des sols-D (moyennement irrigués) présentent des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (0,7088 et 0,7090) supérieurs au rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de l'eau d'irrigation, compris entre 0,70849 et 0,70869 (Figure 5b). Les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de cette fraction augmentent avec la profondeur ($0,70915 \pm 10^{-5}$ à 60cm, $0,70926 \pm 1,1.10^{-5}$ à 80cm) (Figure 5b).

(ii) En moyenne, les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la fraction soluble des sols-B (fortement irrigués) (0,70855-0,70894) sont plus élevés que ceux des sols non irrigués, et également supérieurs au rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de l'eau d'irrigation (0,70849-0,70869). Le domaine de composition est hétérogène à -30 et -40 cm avec une légère tendance à l'augmentation avec la profondeur ($0,708899 \pm 9.10^{-6}$ à 30cm et $0,70895 \pm 1,1.10^{-5}$ à 60cm). L'échantillon prélevé à -80cm de profondeur ne suit cependant pas cette tendance : on retrouve à cette profondeur une composition isotopique comparable à celles mesurées en surface ($0,70878 \pm 1,1.10^{-5}$ à 80cm) (Figure 5c).

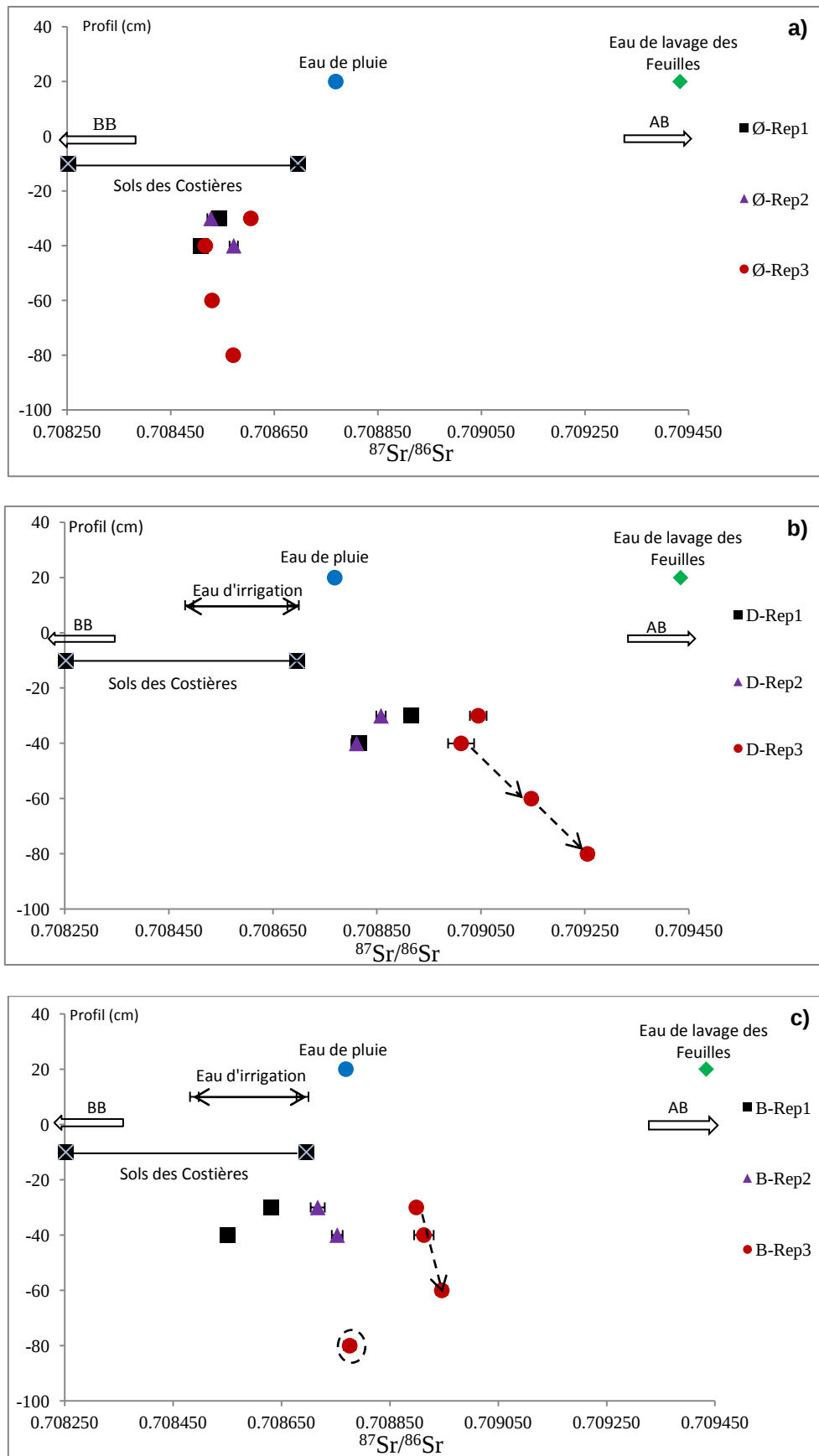


Figure 5: a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des phases solubles des sols prélevés à différentes profondeurs dans la modalité non irriguée; b) dans la modalité moyennement irriguée; c) dans la modalité fortement irriguée

b. Compartiments végétaux

Les compositions $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des racines des oliviers cultivés sur la modalité D et Ø varient entre $0,709049 \pm 8.10^{-6}$ et $0,709286 \pm 9.10^{-6}$ ($n=4$). Il est intéressant de remarquer que les valeurs de $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ mesurées sur la D-Rep3-R ($0,709286 \pm 9.10^{-6}$) et la D-Rep3-R2 ($0,709138 \pm 6.10^{-6}$) sont proches de celles mesurées dans la phase carbonatée du sol de culture correspondant « D-Rep3-S » ($0,709012$ - $0,709279$). Au contraire, les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des racines des oliviers de la modalité non irriguée Ø-Rep3-R ($0,709212 \pm 1,1.10^{-5}$) et Ø-Rep3-R2 ($0,709049 \pm 8.10^{-6}$) sont nettement plus élevés que les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des phases solubles des sols correspondants Ø-Rep3-S ($0,70857$ - $0,70860$) (Figure 6a). L'identité 'racines/sols' est cependant observée, dans ce contexte, lorsqu'on considère la fraction échangeable du sol extraite en nitrate d'ammonium Ø-Rep3-S ($0,708879$ - $0,709209$).

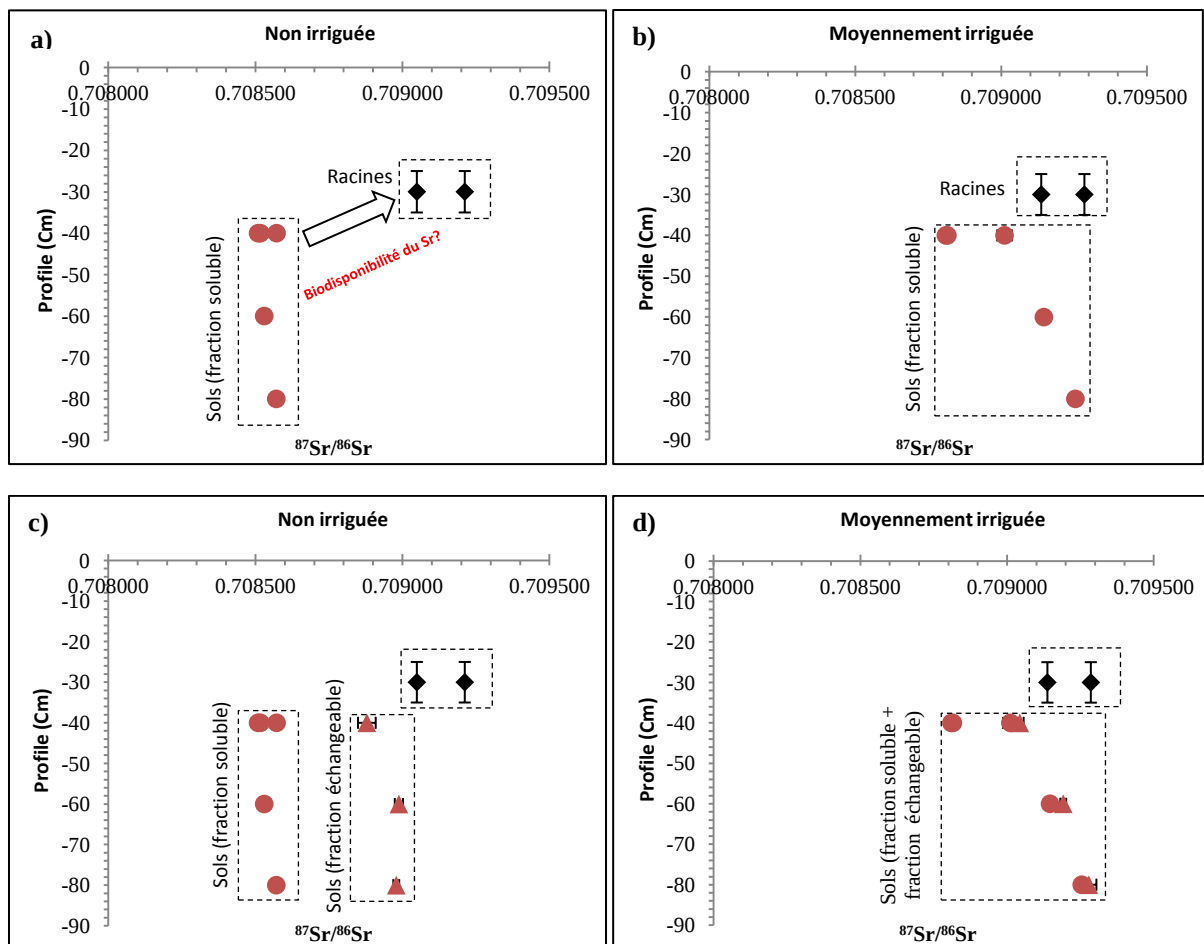


Figure 6: a) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée des sols et des racines non irriguées ; b) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée des sols et des racines moyennement irriguées ; c) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée, de la phase échangeable des sols et des racines non irriguées ; d) $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée, de la phase échangeable des sols et des racines moyennement irriguées

La concentration des feuilles en Sr est de l'ordre de $12 \text{ à } 22 \mu\text{g.g}^{-1}$ de matière sèche (Tableau 2), et la gamme des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ s'étend de $0,709047 \pm 6.10^{-6}$ à $0,70945 \pm 1.2.10^{-5}$ ($n=27$). La CI des branches varie quant à elle entre $0,708927 \pm 9.2.10^{-6}$ et $0,709319 \pm 7.10^{-6}$ ($n=27$). En moyenne, la CI des feuilles ($0,7092 \pm 10^{-4}$) est comparable à celles relevées dans les branches ($0,7091 \pm 10^{-4}$), elle-même comparable à celle des racines ($0,7092 \pm 10^{-4}$) (Tableau 2, 3 et 4). Il est important de noter que les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des feuilles et des branches sont similaires pour une même modalité d'irrigation quelle que soit la variété analysée, picholine ou aglandau (Feuilles : $0,709061$ - $0,709450$ pour la variété picholine ; $0,709047$ - $0,709191$ pour la variété aglandau) (Branches : $0,708977$ - $0,709319$ pour la variété picholine ; $0,708927$ -

0,709231 pour la variété aglandau). Cela suggère que l'assimilation du Sr se fait de la même façon pour les deux variétés d'oliviers et tend donc à confirmer l'étude de Beltrán *et al.* (2015) montrant que le comportement des éléments métalliques absorbés par l'arbre n'est pas influencé par la variété d'oliviers.

c. Amendements.

Les différents amendements utilisés présentent des compositions isotopiques et des concentrations variables en Sr. Pour la bouillie bordelaise (BB-SERFEL) on obtient une valeur de $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de $0,708011 \pm 2,5 \cdot 10^{-5}$ et une teneur en Sr de 10 ppm ; L'argile blanche (AB-SERFEL) présente, quant à elle, un rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de $0,743247 \pm 4 \cdot 10^{-5}$ et une teneur en Sr de 1,5 ppm. Ces différences en compositions et concentrations devraient permettre de discriminer leurs éventuelles influences sur la composition en Sr des différents compartiments des oliviers. L'argile blanche est fortement radiogénique, un faible apport de Sr de ce produit dans le végétal serait marqué par une augmentation de la CI des compartiments affectés, au contraire, les compartiments affectés par la bouillie bordelaise serait marqués par une diminution de la CI.

V. Discussions

1. Sols

Sur l'ensemble de la parcelle 'olivier', les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des phases solubles des sols de culture pris à 30cm de profondeur présentent une assez grande variabilité (Figure 4b). Des domaines de composition distincts peuvent cependant être mis en évidence selon les modalités d'irrigation : les sols non irrigués sont moins riches en ^{87}Sr que les sols moyennement ou fortement irrigués. Une première approche pourrait donc consister à envisager l'irrigation comme un paramètre susceptible d'influencer le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des

sols par apport de Sr à rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ plus radiogénique que le sol lui-même. Cependant les compositions $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des deux sources en eau du site (eau d'irrigation; $0,708489 \pm 8.10^{-6}$ et eau de pluie ; $0,708769 \pm 9,2.10^{-6}$) sont inférieures à celles des sols irrigués (Figure 4b). Ces eaux ne peuvent donc constituer la raison principale de la modification du $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des sols par apport de ^{87}Sr . De ce fait, pour tenter d'expliquer la variabilité isotopique, d'autres paramètres de l'environnement de culture doivent être pris en considérations tels que la granulométrie, la nature pétrologique des sols (présence de calcaire), ou la présence de produits de traitements « ajouts » utilisés en culture. Le rôle de ces différents paramètres va donc être discuté dans les paragraphes suivants.

a) Influence des paramètres intrinsèques du sol (granulométrie et proportion en calcaire)

La Figure 4a représente la granulométrie, ainsi que la présence ou absence de calcaire dans les différents sols de la parcelle SERFEL à une profondeur de 30cm. Les sols B1 (B-Rep1-S) et B3 (B-Rep2-S) sont majoritairement composés de calcaire, et sont tous les deux composés de plus de 70% de terre fine (granulométrie) à 30cm de profondeur. Néanmoins, leurs signatures isotopiques sont différentes avec un rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ du sol B1 ($0,70863 \pm 10^{-5}$) inférieur à celui du sol B3 ($0,708899 \pm 9.10^{-6}$) (Figure 4b). La nature du sol et sa granulométrie ne sont donc pas les facteurs contrôlant exclusivement la composition isotopique en Sr. Cela est confirmé par le fait que les sols de B1 (B-Rep1-S) et de Ø3 (Ø-Rep3-S) présentent des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ similaires (respectivement $0,70863 \pm 10^{-5}$ et $0,70860 \pm 10^{-5}$) malgré une composition et une granulométrie différente (absence de calcaire et moins de 70% de terre fine sur toute la profondeur pour le sol Ø3 (Ø-Rep3-S).

b) Influence des paramètres anthropiques (ajouts de culture)

Pendant l'échantillonnage, une poudre bleue, et parfois des dépôts blancs ont été observés à la surface des branches et des feuilles. L'observation des produits utilisés par la SERFEL dans la cadre de la culture des oliviers et les échanges avec le personnel de la station font à penser qu'il s'agit de résidus de bouillie bordelaise ($0,708011 \pm 2,5 \cdot 10^{-5}$) et d'argile blanche ($0,743247 \pm 4 \cdot 10^{-5}$). Le lavage des échantillons de feuilles permet ainsi de récupérer un mélange d'ajouts « bouillie bordelaise + argile blanche » dont la composition isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ est de $0,70943 \pm 3,3 \cdot 10^{-5}$. L'hétérogénéité des rapports isotopiques en Sr observée dans les sols de la parcelle de la SERFEL, pourrait être le résultat d'une influence différentielle de ce mélange d'amendement qui se serait déposé sur les sols et se seraient infiltrés en profondeur.

Comme vu précédemment les sols non irrigués (Ø-Sols) ont une CI très proche entre les trois répétitions et sont dans la même gamme de valeurs que les sols de la parcelle de culture du moulin des Costières situé dans la même région et sur un terrain géologique similaire, mais soumis à des conditions de culture différentes (culture 'bio' – cf chapitre 3) (Figure 5a). Les sols Ø correspondraient donc à un état « témoin » pas ou peu impactés par les ajouts anthropiques. Dans cette hypothèse, si des dépôts des produits de culture ont pu se faire en surface des sols lors des épandages, aucune trace de ces produits n'est retrouvée en profondeur ($> 30\text{cm}$). L'absence d'irrigation peut expliquer le fait que cette fraction de produits anthropiques ne s'infiltrerait pas (Figure 7). A l'inverse, les sols moyennement irrigués (sols-D) ont des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ plus élevés que ceux des sols des Costières et des sols non irrigués, et plus élevés aussi que celui de l'eau d'irrigation (Figure 5b). L'infiltration d'ajouts anthropiques et le mélange à la fraction soluble des sols pourraient expliquer cette augmentation. Le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dans ces sols-D augmente avec la profondeur et tend vers la valeur $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ mesurée sur le mélange d'ajouts, représenté par l'eau de lavage des feuilles

et plus spécifiquement vers la valeur de l'argile blanche (Figure 5b). L'apport en eau d'irrigation peut ainsi favoriser l'infiltration et la dissolution du fongicide dans les sols de culture (Figure 7). Dans le cas des sols fortement irrigués (B-sols), on peut observer la même tendance avec une CI plus élevée que les CI des sols de référence et que l'eau d'irrigation. Cependant, les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ n'augmentent pas de façon systématique avec la profondeur. Localement, avec une légère augmentation, plus faible que celle observée sur les sols moyennement irrigués, est observée (Figure 5c). Ici également, cette CI supérieure pourrait être liée à l'influence des ajouts dissouts et infiltrés en profondeur mais la quantité plus importante d'eau d'irrigation apportée dans ce cas aurait permis une dilution de l'amendement plus importante et/ou un drainage plus profond dans les sols. Ainsi les sols prélevés à différentes profondeurs lors de cette étude apparaîtraient moins influencés par ce phénomène (l'effet des amendements étant ici plus étendus et donc plus diffus), ce qui expliquerait ce rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ moins radiogénique que pour les sols moyennement irrigués (Figure 7).

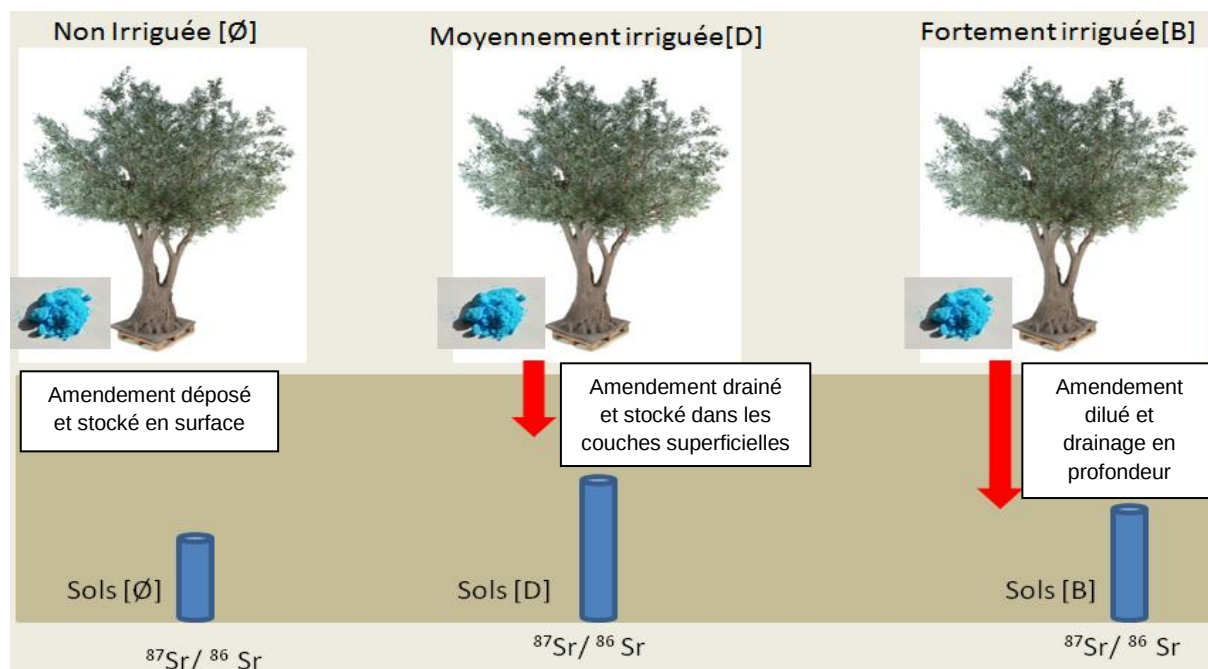


Figure 7: Schématisation de l'influence des amendements sur les sols des différentes modalités d'irrigation

2. Sols-Racines

La dissolution des carbonates dans les sols détermine la libération et la biodisponibilité des ions Sr^{2+} (Petrini *et al.*, 2015). Selon ces travaux, on devrait avoir dans les racines un Sr provenant de la dissolution de la phase carbonatée, avec un rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ non modifié lors de ce transfert. La CI en Sr de la phase carbonatée des sols à différentes profondeurs, ainsi que la CI des racines dans deux modalités d'irrigation (non irriguée et moyennement irriguée) sont représentées sur la Figure 6. Les données montrent une parfaite adéquation entre les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la phase carbonatée des sols moyennement irrigués avec les CI des racines de la même modalité d'irrigation (Figure 6b). Dans ce cas, le transfert du Sr de la phase soluble du sol vers les racines semble donc se faire sans modification du rapport isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, comme dans l'étude de Petrini *et al.* (2015) ; la phase soluble des sols irrigués correspond donc ici à la phase biodisponible du Sr, et à l'origine du Sr total absorbé par la plante. Néanmoins, dans le cas des sols non irrigués la CI de la phase soluble est inférieure à celle des racines correspondantes (Figure 6a). La phase soluble du sol ne serait donc pas dans ce cas à l'origine, du moins pas totalement, du Sr assimilé par les racines. Certaines études, ont montré que l'absorption du Sr à partir des minéraux carbonatés n'était pas uniforme et dépendrait de nombreux paramètres tels que la solubilité, la teneur en eau, le type de minéraux, la température (Durante *et al.*, 2013 ; Takeda *et al.*, 2006), le pH (Takeda *et al.*, 2008; Hinsinger, 1998 ; 2001) et le potentiel d'oxydoréduction (Berthelin & Bourrelrier, 1998), et dans l'espace racinaire de la plante. Ainsi, Takeda *et al.* (2006) ont montré que le Sr de la phase carbonatée obtenue avec un leaching en acide acétique (tel que celui réalisé ici) ne serait pas nécessairement celui absorbé par la plante. Nous avons donc cherché à extraire la fraction dite « échangeable » du Sr avec du nitrate d'ammonium (NH_4NO_3). Ce réactif à pH basique permet l'extraction de la fraction échangeable des métaux dans les sols (Takeda *et al.*, 2006; Durante *et al.*, 2013), et une bonne estimation des cations alcalins et alcalino-terreux

biodisponibles pour la plante, adsorbés sur des argiles, ou liés à des carbonates (Simard, 1993 ; Petrini et al, 2015).

Les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de la fraction échangeable extraite en nitrate d'ammonium dans les sols non irrigués sont proches des rapports mesurés dans les racines correspondantes (Figure 6c et 6d). Dans ce contexte de culture, la phase biodisponible du Sr correspond à la fraction échangeable, et le Sr absorbé par la plante proviendrait donc de cette fraction. On peut noter que les CI de la phase échangeable du sol sont supérieurs aux CI de la phase carbonatée de ces mêmes sols. Cette différence dans la nature de la fraction biodisponible pourrait donc être due à une influence de la disponibilité de l'eau. En effet, l'irrigation a une influence sur les propriétés du sol, tant physiques, que physico-chimiques, ou biologiques. Or la biodisponibilité des éléments métalliques dans les sols, dépend de leurs formes chimiques, et de l'aptitude de la plante à les absorbés. La plante absorbe ces éléments via les racines dans la fraction dite « soluble » du sol (Morel *et al.*, 1996), et cette fraction peut être réalimentée par la fraction dite « échangeable » (Juste *et al.*, 1995 ; Comerford, 2005). Dans le cas des sols moyennement irrigués, la quantité d'eau dans les sols est supérieure et permettrait donc un accès suffisant pour la plante à du Sr « soluble » (solubilisé par l'eau d'irrigation à partir des carbonates du sol). A l'inverse, dans le cas des sols non irrigués, la fraction de Sr biodisponible serait alors extraite d'autres fractions du sol, celles nécessitant des conditions physico-chimiques différentes (i. e. NH_4NO_3) par exemple la fraction dite « échangeable ».

3. Végétaux

Les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de toutes les racines, des branches et des feuilles des oliviers prélevés sur le site de la SERFEL sont représentés sur la Figure 8. Quelle que soit la variété d'olivier (picholine ou aglandau), les CI des branches sont comparables entre elles

pour une même modalité d'irrigation. De même les CI des feuilles sont homogènes au sein d'une modalité donnée. Cette homogénéité à l'échelle d'une modalité pour les variétés picholine et aglandau échantillonnées dans des conditions de sols, de culture, et d'irrigations similaires, indique que le comportement du Sr et de ses isotopes est similaire pour les deux variétés d'olivier. Les branches ont par ailleurs des compositions en $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ relativement proches de celles des racines (Figure 8). La cohérence des $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ entre les racines et les branches d'un même arbre indique que le transport du Sr dans la plante via la sève brute n'engendrerait pas de modification de la signature en $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, c'est-à-dire qu'il se ferait sans fractionnement entre ces isotopes, confirmant l'étude précédente (Medini *et al.*, *soumis*) ainsi que les travaux de Blum *et al.* (2000), et l'hypothèse de Graustein (1988).

Les échantillons des feuilles et des branches sont prélevées sur deux périodes (en Novembre et en Septembre). Les CI des feuilles prélevées au mois de Novembre (0,70910-0,70928) sont moins radiogéniques que les CI des feuilles prélevées au mois de Septembre (0,70920-0,70945). Les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des feuilles (0,7091-0,7094) sont généralement supérieurs à ceux des branches (0,7089-0,7093), notamment pour celles prélevées au mois de septembre (Figure 8). Ces signatures $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ sont supérieures à celles des eaux de pluie et d'irrigation, donc le fait que la feuille soit un organe d'accumulation d'eau ne permet pas d'expliquer cette variation en regard du $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des branches (qui correspondent à un organe de transfert). Cette différence pourrait donc être liée à l'activité métabolique de la feuille, notamment les échanges avec le milieu extérieur. En effet, les feuilles sont un lieu d'échanges avec l'environnement extérieur, et grâce à l'ouverture des stomates, les feuilles adsorbent les particules atmosphériques qui pourraient contenir un Sr exogène. Des apports anthropiques, comme par exemple le mélange des amendements ($0,70943 \pm 3.10^{-5}$), pourraient donc influencer la signature isotopique propre des feuilles, ce qui expliquerait leur augmentation relative par rapport à celle des branches. Cette différence pourrait plus spécifiquement être

due à l'influence de l'argile blanche, dont la CI est très radiogénique ($0,74325 \pm 4.10^{-5}$), sur les feuilles prélevée au mois de septembre (c'est-à-dire deux mois après l'épandage de l'argile blanche), alors cette influence serait moins marquée sur les feuilles prélevées au mois de Novembre (soit cinq mois après l'épandage de l'argile blanche). Cette influence de l'environnement extérieur n'est pas visible dans les branches à cause de la présence de l'écorce dont l'un des rôles est de limiter les interactions plante-extérieur.

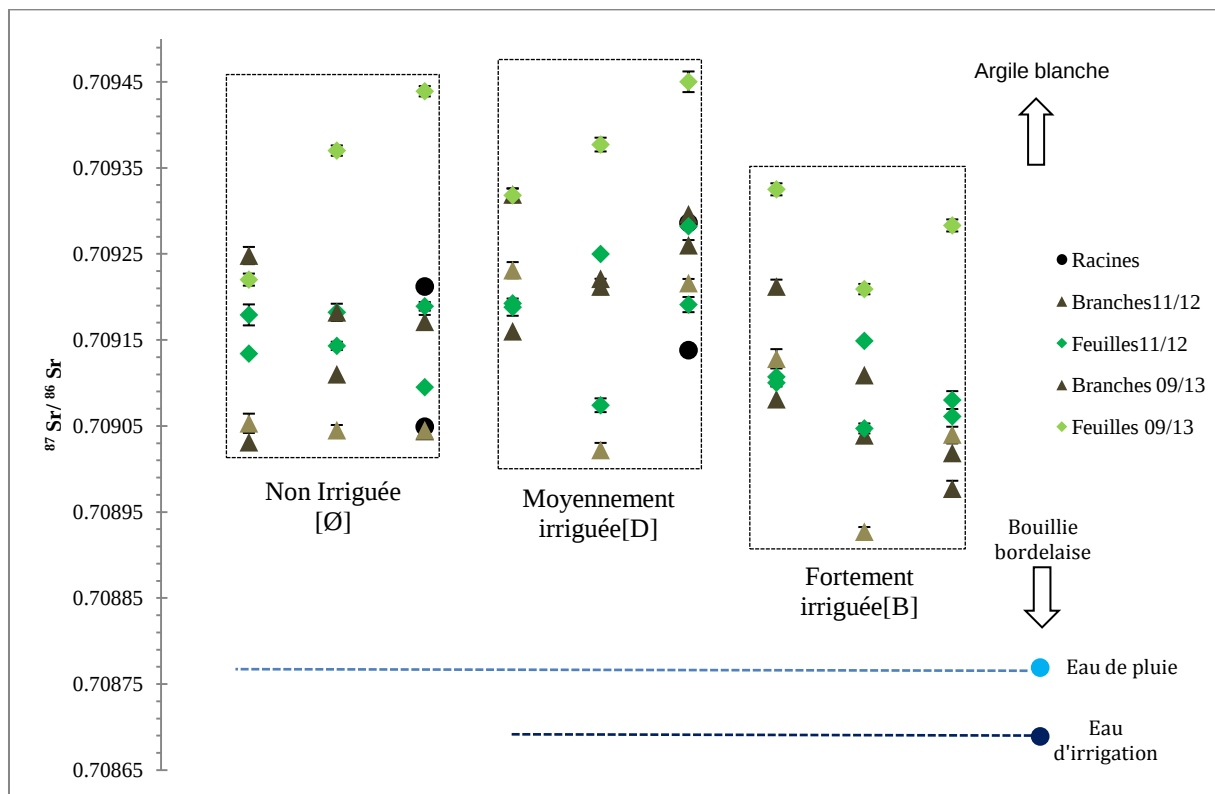


Figure 8: Le $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des racines, des branches et des feuilles dans les différentes modalités d'irrigations sur la parcelle de la SERFEL

VI. Conclusion

Cette étude visait à déterminer le cycle biogéochimique du Sr, les différents apports de Sr susceptibles d'influencer la signature $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des oliviers, et ainsi de discuter de l'impact de l'irrigation sur la biodisponibilité du Sr pour l'olivier. À cette fin, nous avons mesuré les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de différentes parties de l'olivier (racines, branches, feuilles), ainsi que les

pôles géologiques (sols et eaux), et les pesticides appliqués sur la parcelle de la station expérimentale de la SERFEL, où les conditions de culture, ainsi que l'irrigation sont contrôlées.

La composition isotopique du Sr dans les différents sols prélevés sur la parcelle de la SERFEL, est très hétérogène, deux paramètres sont étudiés pour expliquer ces hétérogénéités :

1/La nature du sol et sa granulométrie : ce paramètre n'est pas le facteur principal contrôlant la CI des sols.

2/ Les paramètres anthropiques (ajouts) : une influence des pesticides a été constatée. En effet deux tendances ont été observées selon le mode d'irrigation. Pour la modalité non irriguée, les CI des sols ne sont pas ou peu impacté par les ajouts anthropiques. A l'inverse, dans le cas des sols irrigués, les CI sont influencés par le mélange de pesticide déposé à la surface du sol, et infiltré en profondeur. En effet cette infiltration engendre une modification de la CI des sols qui se traduit par une CI des sols irrigués plus élevée que la CI des sols non irrigués, ainsi qu'une augmentation du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ avec la profondeur.

Afin de déterminer la source principale du Sr biodisponible, la mesure isotopique sur deux réservoirs du sol (phase carbonatée et la phase échangeable) a été réalisée et comparée à la CI des racines. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence que le Sr biodisponible est influencé par le mode d'irrigation, c'est-à-dire par la quantité d'eau ajoutée aux sols. Dans le cas des sols irrigués, le Sr biodisponible provient de la phase carbonatée ou soluble du sol. Cela confirme l'étude effectuée sur les parcelles du moulin des Costières (cf. chapitre 3), où les cultures étaient en mode irriguée. A l'inverse, dans le cas des sols non irrigués, la fraction de Sr biodisponible serait liée à d'autres fractions échangeables du sol, que nous avons pu en laboratoire extraire avec du nitrate d'ammonium. Cette extraction permettant d'avoir une vision de la fraction échangeable des cations dans le sol, cela pourrait expliquer les écarts

retrouvés dans le chapitre précédent entre les CI des phases carbonatées des sols des parcelles ‘non irriguée’ du moulin Pierredon, et la CI mesurée sur l’huile d’olive de Pierredon (Medini *et al.*, *in prep*- Chapitre 4).

Enfin, et comme démontré dans un précédent chapitre sur la parcelle du moulin des Costières (cf. chapitre 3), la CI du Sr est proches dans les différents compartiments de l’olivier, avec uniquement de très faibles variations ponctuelles et explicables par l’environnement de culture Ceci confirme donc encore que les isotopes du Sr constituent un très bon outil de traçage de l’origine géographique des produits oléicoles.

Référence bibliographique

1. AFIDOL. (Novembre 2008). La réduction des doses de cuivre : une nécessité pour l'oléiculture de demain, Infolea 2020, n°6.
2. Barrière, J., Bousquet, J.-Cl, Et Toni, Cl. (1973). Données nouvelles sur la néotectonique des Costières du Gard. *C.R. Acad.Sci.*, Paris,t. 277, Sér. D, p.285-288.
3. Beltrán, M., Sánchez-Astudillo, M., Aparicio, R., García-González, D L. (2015). Geographical traceability of virgin olive oils from south-western Spain by their multi-elemental composition. *Food Chem* 169:350–357. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.104
4. Berthelin, J., & Bourrelrier, P.H. (1998). Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. *Académie des sciences, rapport n° 42*. TEC & DOC (Ed), Londres, Paris, New York. 440 pp.
5. Betencourt, E., (2012). Interactions entre céréale et légumineuse en association et acquisition du phosphore du sol : processus rhizosphériques sous-jacents. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques (Montpellier Supagro), Thèse dirigée par Philippe Hinsinger.
6. Blum, J., Taliaferro, E., Weisse, M., Holmes, R. (2000). Changes in Sr/Ca, Ba/Ca and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios between trophic levels in two forest ecosystems in the northeastern U.S.A. *Biogeochemistry* 49: 87–101.
7. Cama, J., Metz, V., Ganor, J. (2008). The effect of pH and temperature on kaolinite dissolution rate under acidic conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 66, No. 22, pp. 3913–3926.
8. Capo, R C., Stewart, B W., Chadwick, O A. (1998). Strontium isotopes as tracers of ecosystem process: theory and methods. *Geoderma* 82:190-225.

9. Choi, S.-M., Lee, H.-S., Lee, G.-H., & Han, J.-K. (2008). Determination of the strontium isotope ratio by ICP-MS ginseng as a tracer of regional origin. *Food Chemistry*, 108, 1149–1154.
10. Cole, T., Bidoglio, G., Soupioni, M., O'Gorman, M., & Gibson, N. (2000). Diffusion mechanisms of multiple strontium species in clay, *Geochim Cosmochim Acta*, 64(3):385-396.
11. Comerford, N B. (2005). Soil factors affecting nutrient bioavailability. *Ecological Studies*, 181, 1–14.
12. Coughtrey PJ.,& Thorne MC. (1983). Strontium. In: Radionuclide distribution and transport in terrestrial and aquatic ecosystems: a critical review of data. AA Balkema, Rotterdam, 93-219.
13. De Souza, G., Reynolds, B., Kiczka, M., Bourdon, B. (2010). Evidence for mass-dependent isotopic fractionation of strontium in a glaciated granitic watershed. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 2596–2614.
14. Desauettes J R., et Vigneron J. (1958). Etude pédologique au 1/50000^e de la Costière du Gard et de la Vistrenque. Extrait des annales Agronomique, livraison du N°6 de 1958 ; pages 749 à 789.
15. Durante, C., Baschieri, C., Bertacchini, L., Cocchi, M., Sighinolfi, S., Silvestri, M., Marchetti, A. (2013). Geographical traceability based on ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr indicator: A first approach for PDO Lambrusco wines from Modena. *Food Chemistry* 141: 2779–2787.
16. Faure, G. (1986), Principles of Isotope Geology. John Wiley and Sons, Inc. (2nd ed., p.589).
17. Fernández, J E., Moreno, F., Cabrera, F., Arrue, J L., & Martín-Aranda, J. (1991). Drip irrigation, soil characteristics and the root distribution and root activity of olive trees. *Plant and Soil*, 133, 239–251.

18. Genot, V., Colinet, G., Brahy, V., & Boc L. (2007). L'état de fertilité des terres agricoles et forestières en région wallonne. SOL 01 : Chapitre 11 les sols et l'environnement terrestre, p 453-467.
19. Gosz, J R., & Moore, D I. (1989). Strontium isotope studies of atmospheric inputs of forested watersheds in New Mexico. *Biogeochemistry* 8, 115-134.
20. Graustein, W C. (1988). $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios measure the sources and flow of strontium in terrestrial ecosystems. In Rundel, P.W., Ehleringer, J.R. and Nagy, K.A. eds *Stable Isotopes in Ecological Research*, 491-512. Springer-Verlag.
21. Hinsinger, P. (1998). How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Adv. Agron.* 64, 225e265.
22. Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. In: Gobran, G.R.
23. Juste, C., Chassin, P., Gomez, A., Linères, M., Mocquot, B., Feix, I., Wiart, J. (1995). Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines. *Angers Ademe*, 209 pp.
24. Ladouche, B., Luc, A., Nathalie, D. (2009). Chemical and isotopic investigation of rainwater in Southern France (1996–2002): Potential use as input signal for karst functioning investigation. *Journal of Hydrology* 367, 150–164.
25. Marschner, H. (1986). Mineral nutrition in higher plants. Wd Ltd. *The Greystone Press*, Antrim, Northern Ireland.
26. Medini, S., Janin, M., Techer I. (2014). Transfer of Sr in olive growing-tree and feasibility of geographical tracing of olive oil using Sr isotope composition. *food chemistry. submitted*

27. Medini, S., Janin, M., Techer, I. (2014). Sr isotopic characterization of Nimes PDO olive oils (France) and Moroccan olive oils_ Application for geographical traceability. *In prep*
28. Morel, J L., Bitton, G., Schwartz, C., Schiavon, M. (1996). Bioremediation of soils and waters contaminated by micropollutants: which role for plants? *In: Ecotoxicology: Responses, Biomarkers and Risk Assessment, Chapter 4, OECD Workshop. Zelikoff J.T. (ed.). SOS Publications, Fair Haven, NJ. USA. 37-74.*
29. Négrel, P., Dupré, P. (1993). Temporal variations of strontium isotopic ratios of the Oubangui river basin: implications for the sources of material. Colloques de l'ORSTOM, Grands Bassins Fluviaux, 22-24 novembre Paris. 1993.
30. Petrini R., Sansone L., Slejko, F F., Buccianti, a., Marcuzzo, P., & Tomasi, D. (2015). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ strontium isotopic systematics applied to Glera vineyards: a tracer for the geographical origin of the Prosecco. *Food Chemistry*, 170, 138–144. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.051.
31. Pin, C., Joannon, S., Bosq, C., Le Fèvre, B., Gauthier, P J. (2003). Precise determination of Rb, Sr, Ba and Pb in geological materials by isotope dilution and ICP-quadrupole mass spectrometry following selective separation of the analytes. *J. Anal. At. spectrom.*, 18, 135-141.
32. Poul, X., Bayer, F., Buard, C. (1975). Etude hydrogéologique de la Costière-vistrenque (Gard). 75 SGN 220 LRO.
33. Raiber, M., Webb, J A., Bennetts, D A. (2009). Strontium isotopes as tracers to delineate aquifer interactions and the influence of rainfall in the basalt plains of southeastern Australia, *J. Hydrol.*, 367,188–199.

34. Rich, S., Manning, S. W., Degryse, P., Vanhaecke, F., & Van Lerberghe, K. (2012). Strontium isotopic and tree-ring signatures of *Cedrus brevifolia* in Cyprus. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 27(5), 796. doi:10.1039/c2ja10345a.
35. Samuel, J., Rouault, R., Besnus, Y. (1985). Analyse multi-élémentaire standardisée des matériaux géologiques en spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif. *Analysis*, 13, 321-317.
36. Sassine, L., Khaska, M., Ressouche, S., Simler, R., Verdoux, P., Le Gal La Salle C. (2014). Using of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^2\text{H}$, chemical elements and pesticides to characterize water origins in a shallow alluvial aquifer: case of the Vistrenque catchment (Southern France). *Submitted*.
37. Semhi, K., Clauer, N., Chaudhuri, S. (2012). Variable element transfers from an illite-rich substrate to growing plants during a three-month experiment. *Applied Clay Science* 57; 17–24.
38. Simard, R R. (1993). Ammonium acetate – Extractable elements. In M. R. Carter (Ed.), Soil sampling and methods of analysis (pp. 39–42). *Canadian Society of Soil Science*, Lewis Publishers.
39. Soltner, D. (2001). Les bases de la production végétale, Tome III la plante et son amelioration, p 148
40. Stewart, B W., Capo, R C., & Chadwick, O A. (1998). A, Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods, *Geoderma* 82, page 197-225.
41. Takeda, A., Tsukada, H., Takaku, Y., Hisamatsu, S., Inaba, J., & Nanzyo, M. (2006). Extractability of major and trace elements from agricultural soils using chemical extraction methods: Application for phytoavailability assessment. *Soil Science and Plant Nutrition* 52, 406–417.

42. Takeda, A., Tsukada, H., Takaku, Y., Akata, N., Hisamatsu. (2008). Plant induced changes in concentrations of caesium, strontium and uranium in soil solution with reference to major ions and dissolved organic matter. *Journal of Environmental Radioactivity* 99 -900e911.
43. Techer, I., Lancelot, J., Descroix, F., Guyot, B. (2011). About Sr isotopes in coffee ‘Bourbon Pointu’ of the Réunion Island. *Food Chemistry*, 126, 718–724.
44. Van der Hoven, S., Quade, J. (2002). Tracing spatial and temporal variations in the source of calcium in pedogenic carbonates in a semiarid environment. *Geoderma* 108, 256-276.

Conclusion générale

La reconnaissance de l'authenticité des huiles d'olive est devenue une question importante en termes de lutte contre les fraudes économiques, ainsi que d'évaluation de risques sanitaires pour la population. Aussi, afin de protéger les consommateurs, différents labels ont été mis en place à l'échelle nationale (AOC « Appellation d'Origine Contrôlée ») et européenne (AOP « Appellation d'Origine Protégée » ; IGP « Indication Géographique Protégée »). Ces labels font l'objet de contrôles spécifiques en respect de cahiers des charges précis. Dans ce domaine, des outils de contrôle sont définis pour assurer une véritable traçabilité du producteur au consommateur, et assurer la qualité du produit formulé. Au sud de la France, plusieurs producteurs d'huiles d'olive ont obtenu le label AOP, plus particulièrement dans le département du Gard et de l'Hérault. Dix moulins sont aujourd'hui reconnus sur ce territoire comme producteurs d'huile d'olive de qualité supérieur dite 'AOP de Nîmes' (Annexe 1).

Plusieurs études ont été menées sur l'identification et la reconnaissance d'une huile d'olive à partir de ses caractéristiques en composés volatiles, de sa composition en acides gras et triglycérides, ou encore de sa teneur en éléments traces. Ces méthodes permettent de discriminer les huiles issues de variétés d'olives différentes, et de modes de culture différents. Cependant, elles ne permettent pas d'authentifier son origine géographique de production et de discriminer des huiles d'olive issues de la même variété. Ceci ne donne pas seulement lieu à un problème de fraude, mais aussi à un risque sanitaire lié aux usages de pesticides et à des méthodes de culture incontrôlées. Dans ce contexte, aucune des approches mentionnées ne certifie donc de manière précise l'origine géographique d'une huile d'olive. Des travaux récents ont montré, pour d'autres produits agro-alimentaires d'origine végétale (des céréales, des jus d'orange, des cafés ou des vins) que la signature en isotopie du strontium ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) pouvait permettre une discrimination de l'origine géographique entre deux variétés identiques

cultivées sur des terroirs différents. Les hypothèses scientifiques reliant le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des produits agro-alimentaires végétaux à celui des terroirs de culture laissent suggérer que cet outil pourrait se révéler être très pertinent dans l'identification des huiles d'olive et la certification de leur origine géographique. Cependant, la mesure élémentaire du Sr et la mesure isotopique n'ont jamais été appliquées sur une matrice visqueuse complexe comme l'huile d'olive. Cette dernière est riche en matière organique, avec une faible teneur en Sr due au caractère hydrophile de l'élément. Dans cette présente étude, un protocole d'extraction de Sr sur les huiles d'olive a, dans un premier temps, été développé et validé. Ce protocole a nécessité la mise au point de techniques de traitement de l'huile permettant notamment la manipulation d'une masse suffisante d'huile pour récupérer le Sr en quantité 'mesurable' en spectrométrie de masse et la non contamination de la matière. La procédure comprend un traitement de l'huile d'olive en deux étapes: (1) un prétraitement et une calcination pour éliminer la matière organique dans un four à moufle ; (2) la solubilisation du résidu sec issu de la calcination, suivie de l'extraction du Sr sur colonne spécifique Sr-resin (Pin *et al.*, 2003). La précision du protocole d'extraction est testée par rapport aux normes isotopiques, les valeurs obtenues sont identiques et en conformité avec les valeurs certifiées par le NIST. Cette cohérence démontre qu'aucune modification du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ n'est provoquée par les différentes étapes de traitement et d'extraction proposées.

Avant de discuter de la faisabilité de la méthode $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pour un traçage géographique des huiles d'olive AOP de Nîmes, il est nécessaire de contraindre les différents apports du Sr susceptibles d'influencer la signature en $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dans l'olivier. Dans cette étude, le transfert du Sr entre les réservoirs « Sol », « Plante » et « Huile d'olive » a été appréhendé grâce à une approche de terrain basée sur les parcelles d'un des moulins AOP du territoire, le moulin AOP des Costières. Ce travail a permis également d'évaluer l'influence des ajouts de culture sur ce transfert. La démonstration d'une origine majoritairement géologique du Sr dans les oliviers

et dans les huiles d'olive a été faite. Cette approche souligne également un transfert du Sr des sols vers le végétal sans fractionnement isotopique 'mesurable' à l'échelle des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, confirmant les travaux de Graustein (1988) et de Blum *et al.*, (2000). La composition isotopique ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) des différents organes de la plante peut être comparée à celle de son environnement de culture, l'absorption racinaire à partir du sol constituant la principale source de Sr dans l'olivier avec plus de 90% du Sr absorbé par la plante à partir des phases solubles du sol. Cependant, de faibles variations dans le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ sont constatées de manière ponctuelle. Ces variations sont expliquées par un apport de Sr en provenance des produits de culture (amendements, pesticides..). Néanmoins, ces variations demeurent suffisamment faibles pour ne pas être représentatives à l'échelle du moulin étudié. La CI des huiles produites par traitement des olives s'avère être directement reliée à celle du terroir de culture, identique à celle des olives et des autres parties de l'olivier, et donc non modifiée par les processus de fabrication. Cette étude démontre qu'il existe un lien étroit entre le réservoir géologique (phase soluble du sol), le réservoir biologique (différents compartiments de l'olivier), et enfin l'huile d'olive. Toutefois, pour être validée, ce lien doit être démontré à l'échelle de toutes les parcelles et tous les moulins AOP de Nîmes.

Une comparaison entre la signature isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des 10 huiles d'olives AOP de Nîmes et celle des formations géologiques qui constituent les parcelles de cultures de leur terroir de production (défini par le décret du 17/11/2004 détaillé en annexe 1) a été réalisé. Cette approche a permis d'identifier un domaine de composition isotopique spécifique des huiles d'olives AOP de Nîmes et distincts selon la géologie de la zone de culture des oliviers :

- 1/ Les huiles AOP produites par les moulins situés au sud de la faille de Nîmes (Moulin de Pierredon, moulin des Costières et la coopérative de Beaucaire) ont des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ compris entre $0,70775 \pm 2,50.10^{-5}$ et $0,7088 \pm 2,00.10^{-4}$, proches à identiques à ceux mesurés dans les formations d'âge plio-quaternaires qui constituent la majorité des affleurements de

cette région ; 2/Les huiles AOP produites par les moulins situés au Nord de la faille de Nîmes (moulin Pattus, moulin d'Uzès, moulin de Paradis, moulin de Catresse et moulin de Thomassot), ont des rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ plus élevés, compris entre $0,70941 \pm 7,00.10^{-5}$ et $0,71082 \pm 5,00.10^{-5}$. Ces valeurs isotopiques peuvent s'expliquer par un mélange de deux Sr issus des deux sources géologiques principales affleurant dans cette région, celle des formations d'âge Crétacé inférieur et moyen formant le plateau des garrigues, et celle des formations détritiques de l'Oligocène et du Miocène venant combler les formations les plus anciennes du Crétacé ; 3/ Les huiles de la coopérative de Villevieille produites par près de 1000 adhérents producteurs dont les parcelles de culture sont situées le long des Cévennes et de la Camargue. La composition isotopique en Sr de ces huiles est très significativement plus élevée, de $0,71269 \pm 1,40.10^{-4}$. La grande diversité de la géologie dans cette région rend très difficile la définition de l'origine exacte de cette composition, cependant, elle semble être liée à la grande représentativité de formations métamorphiques et magmatiques de cette région. Les corrélations entre les rapports $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des huiles d'olive AOP de Nîmes et ceux des formations géologiques des parcelles de culture, permet de limiter le domaine de composition de ces huiles AOP de Nîmes ; Toute huile d'olive dont la signature isotopique en Sr serait non comprise dans ce domaine ne serait pas produite sur le terroir des AOP de Nîmes, et ne serait donc pas une huile AOP de Nîmes. Une huile d'olive avec une CI dans le domaine défini précédemment serait quant à elle susceptible d'appartenir aux huiles d'olive AOP de Nîmes. Néanmoins, dans le cas où une huile aurait été produite sur une formation géologique proche des terrains du terroir AOP de Nîmes, celle-ci pourrait alors avoir une CI similaire aux CI des huiles d'olive AOP de Nîmes.

Afin de valider l'approche de l'identification géographique et dans un objectif de discrimination des huiles, deux échantillons d'huiles d'olive provenant du Maroc ont été analysés en isotopie du Sr. Leurs compositions ont été comparées à celles des huiles d'olive

AOP de Nîmes. Cette comparaison révèle une discrimination entre la majorité des huiles d'olive AOP de Nîmes et les huiles marocaines. Cette étude préliminaire est très prometteuse et devrait être poursuivie dans le but de définir la carte d'identité de toutes les huiles d'olive AOP du secteur méditerranéen, dans le but de faire une cartographie isotopique du secteur, et de lutter plus efficacement contre les contrefaçons.

Enfin, afin de mieux cerner le rôle de différents contextes de culture (variabilité des conditions d'irrigation, dans les ajouts de pesticides, d'engrais etc.) sur la biodisponibilité et sur la signature isotopique du Sr, des expérimentations en conditions contrôlées ont été réalisées sur une station régionale d'expérimentation (SERFEL). Ainsi, trois modes d'irrigation ont été suivis (non irrigué, moyennement irrigué et fortement irrigué), et deux types de pesticide (argile blanche et bouillie bordelaise) ont été appliqués sur la parcelle expérimentale. Les résultats du suivi des CI en Sr dans cet environnement soulignent l'influence de deux paramètres :

1/ Les ajouts des produits comme les pesticides, peuvent avoir une influence sur la composition isotopique du Sr des sols de culture. Cette influence est traduite par une augmentation du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en profondeur pour les sols irrigués, dus à l'infiltration du Sr du pesticide favorisé par l'apport de l'eau d'irrigation. Les pesticides peuvent avoir également une influence ponctuelle sur le rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ des feuilles d'olivier, via un transfert du Sr des produits déposés qui se retrouve dans la feuille.

2/ L'eau d'irrigation a une influence sur la biodisponibilité du Sr dans le sol. Dans le cas de sols irrigués, la fraction de Sr biodisponible serait liée à la fraction carbonatée des sols, alors que dans le cas de sols non irrigués, le Sr biodisponible se retrouve dans le réservoir dit 'des cations échangeables'. Tenant compte de ces effets, et comme démontré dans l'étude sur la parcelle du moulin des Costières, la composition isotopique des différents compartiments

de l'olivier, et celle mesurée dans les sols de cultures est identique à l'échelle environnementale (identique à la 4ème décimale).

Cette étude a montré la pertinence de l'outil Sr à une approche de reconnaissance de l'origine géographique des huiles d'olive. Cette approche peut être complémentaire de celles basées sur la caractérisation physico-chimique du produit et est fondamentale dans un contexte de besoin de discrimination de deux huiles formulées à partir d'une même variété d'olives. Toutefois, la nécessité d'une approche multi-proxy est soulignée, dans les contextes de régions productrices présentant des géologies identiques. Le couplage de la méthode $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ avec les isotopes de l'eau et du carbone ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$) peut être un bon moyen pour avoir une discrimination plus précise. En effet, les signatures en $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ diffèrent selon plusieurs paramètres comme l'altitude, la latitude, la température et l'irrigation et peuvent ainsi être des marqueurs d'un environnement de culture.

Références bibliographiques de l'ensemble du document

1. AFIDOL. (Novembre 2008). La réduction des doses de cuivre : une nécessité pour l'oléiculture de demain, *Infolea 2020*, n°6.
2. Al-Oudat, M., Asfary, A F., Mukhalalti, H., Al-Hamwi, A., Kanakri S. (2006). Transfer factors of ^{137}Cs and ^{90}Sr from soil to trees in arid regions. *Journal of Environmental Radioactivity* 90, 78-88.
3. Alexandra Paris-AFIDOL. (2011). Goutez l'origine...d'huiles d'olive s'exception.
4. Alonso-Salces, R M., Moreno-Rojas, J M., Holland, M V., Reniero, F., Guillou, C., Heberger, K. (2010). Virgin olive oil authentication by multivariate analyses of ^1H fingerprints and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 5586-5596.
5. Anania, G., Pupo D'Andra, M R. (2008). The global market for olive oil: actors, trends, policies, prospects and research needs. TRADEAG – Agricultural Trade Agreements – working papers.
6. Anderson, K A., Magnuson, B A., Tschirgi, M L., Smith, B. (1999). Determining the geographic origin of potatoes with trace metal analysis using statistical and neural network classifiers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1568-1575, doi: 10.1021/jf980677u.
7. Anderson, K A., Smith, B. (2005). Use of chemical profiling to differentiate geographic growing origin of raw pistachios. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 410-418, doi: 10.1021/jf048907u.

8. Angerosa, F., Basti, C., Vito, R. (1999). Virgin Olive Oil Volatile Compounds from Lipoxygenase Pathway and Characterization of Some Italian Cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 47 (3), pp 836–839, doi: 10.1021/jf980911g.
9. Aparicio, R., Morales, M. T., Alonso, M. V. (1996). Relationship between volatile compounds and sensory attributes of olive oils by the sensory wheel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 1253-1264.
10. Araghipour, N., Colineau, J., Kot, A., Akkermans, W., Rojas, J.M.M., Beauchamp, J., Wisthaler, A., Mark, T.D., Downey, G., Guillou, C., Mannina, L., Van Ruth, S. (2008). Geographical origin classification of olive oils by PTR-MS. *Food Chemistry*, 108, 374-383, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.10.056.
11. Aranda, F., Gomez-Alonso, S., Rivera del Alamo, R.M., Salvador, M.D., Fregapane, G. (2004). Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars. *Food Chemistry*, 86, 485-492.
12. Asfaha, D G, Quetel, C R, Thomas, F., Horacek, M., Wimmer, B., Heiss, G., et al. (2011). Combining isotopic signatures of $n(^{87}\text{Sr})/n(^{86}\text{Sr})$ and light stable element (C, N, O, S) with multi-elemental profiling for the authentication of provenance of European cereal samples. *Journal of Cereal Science*, 53, 170-177.
13. Barbaste, M., Robinson, K., Guilfoyle, S., Medina, B., Lobinsky, R. (2002). Precise determination of the strontium isotope ratios in wine by inductively coupled plasma sector field multicollection mass spectrometry (ICP-SF-MC-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 17, 135-137.
14. Barbour, M M., Hunt, J. E., Dungan, R J., Trunbull, M H., Brailsford, G. W., Farquhar, G D., & Whitehead, D. (2005). Variation in the degree of coupling between

$\delta^{13}\text{C}$ of phloem sap and ecosystem respiration in two mature *Nothofagus* forests. *New Phytologist*, 166, 497–512.

15. Barrière, J., et Toni, C. (1972). Les Costières du Gard. Données nouvelles et interprétation. *Bull. Soc. lang. géog.*, t.6, fasc.3, p.321-276.

16. Barrière, J., Bousquet, J C., et Toni, C. (1973). Données nouvelles sur la néotectonique des Costières du Gard. *C.R. Acad.Sci.*, Paris,t. 277, Sér. D, p.285-288.

17. Baxter, M J., Crews, H M., Dennis, M J., Goodall, I., Anderson, D. (1997). The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chemistry* 60, 443-450, doi:10.1016/S0308-8146(96)00365-2

18. Beaten, V., Meurens, M. (1996). Detection of virgin olive oil adulteration by Fourier Transform Raman spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2225-2230.

19. Beltrán, M., Sánchez-Astudillo, M., Aparicio, R., García-González, DL. (2015). Geographical traceability of virgin olive oils from south-western Spain by their multi-elemental composition. *Food Chem* 169:350–357. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.104.

20. Bendini, A., Cerretani, L., Di Virgilio, F., Belloni, P., Bonoli-Carbognin, M., Lercker, G. (2007). Preliminary evaluation of the application of the FTIR spectroscopy to control the geographic origin and quality of virgin oils. *Journal of Food Quality*, 30, 424-437. Doi: 10.1111/j.1745-4557.2007.00132.x

21. Benincasa, C., Lewis, J., Perri, E., Sindona, G., Tagarelli, A. (2007). Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta* 585, 366-370, doi: 10.1016/j.aca.2006.12.024.

22. Borovec, Z. (2000). Elements in size-fractionated bottom sediments of the Elbe River in its Czech part. *Aquat Sci*, 62:232-251.
23. Berthelin, J., & Bourelhier, P.H. (1998). Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Académie des sciences, rapport n° 42. TEC & DOC (Ed), Londres, Paris, New York. 440 pp.
24. Bortoleto, G G., Pataca, L C M., Bueno, M I M S. (2005). A new application of X-rau scattering using principal component analysis – classification of vegetable oils. *Analytica Chimica Acta*, 539, 283-287.
25. Bergeijk, K E., Noordijk, H., Lembrechts, J., Frissel, M J. (1992). Influence of pH, soil type and soil organic matter content on soil to plant transfer of radiocesium and strontium as analyzed by a non parametric method. *Journal of Environmental Radioactivity* 15, 265-276.
26. Betencourt, E. (2012). Interactions entre céréale et légumineuse en association et acquisition du phosphore du sol : processus rhizosphériques sous-jacents. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques (Montpellier Supagro), Thèse dirigée par Philippe Hinsinger.
27. Blum, J., Taliaferro, E., Weisse, M., Holmes, R. (2000). Changes in Sr/Ca, Ba/Ca and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios between trophic levels in two forest ecosystems in the northeastern U.S.A. *Biogeochemistry* 49: 87–101.
28. Buckland, G., Gonzalez, C. A. (2010). Trends in olive oil production, supply and consumption in Mediteranean countries from 1961 to present day. In V.R. Preedy & R. R. Watson (Eds). *Olives and olive oil in health and disease prevention* (pp. 689-698). London-MA-CA: Academic Press.

29. Cajka, T., Riddellova, K., Klimankova, E., Cerna, M., Pudil, F., Hajslova, J. (2010). Traceability of olive oil based on volatiles pattern and multivariate analysis. *Food Chemistry* 121, 282-289.
30. Calderone, G. (2005). Applications des techniques isotopiques modernes pour la caractérisation de produits alimentaires et de boissons. PhD dissertation, University of Nantes, France. pp252.
31. Cama, J., Metz, V., Ganor, J. (2008). The effect of pH and temperature on kaolinite dissolution rate under acidic conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 66, No. 22, pp. 3913–3926.
32. Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Bontempo, L., Bertoldi, D., Perini, M., Schlicht, C., Schellenberg, A., et al. (2010). Isotopic and elemental data for tracing the origin of European Olive oils. *J. Agric. Food chem.* 58, 570-577.
33. Camps, M., Rigol, A., Hillier, S., Vidal, M & Rauret, G. (2004). Quantitative assessment of the effects of agricultural practices designed to reduce ^{137}Cs and ^{90}Sr soil-plant transfer in meadows. *Sci Tot Environ*, 37:2820-2828.
34. Capo, R C, Stewart, B W, Chadwick, O.A. (1998). Strontium isotopes as tracers of ecosystem process: theory and methods. *Geoderma*, 82, 190-225.
35. Capote, F P., Jiménez, J R., & de Castro, M D. (2007). Sequential (step-by-step) detection, identification and quantitation of extra virgin olive oil adulteration by chemometric treatment of chromatographic profiles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 1859–1865.
36. Carini, F., & Bengtsson, G. (2001). Post-deposition transport of radionuclides in fruit. *Journal of Environmental Radioactivity* 52, 215-236
37. Carini, F., & Lombi, E. (1997). Foliar and soil uptake of ^{134}Cs and ^{85}Sr by grape vines. *The Science of Total Environment* 207, 157-164.

38. Carmen, C V, Bouzas, P R., Oliveras-López, M J. (2012) Determination of trace elements in extra virgin olive oils: A pilot study on the geographical characterization. *Food Chemistry* 134, 434-439.
39. Cavalli, J F., Fernandez, X., Lizzani-Cuvlier, L., Loiseau, A M. (2004). Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME : identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry* 88, 151-157.
40. Cerrato Oliveros, C., Boggia, R., Casale, M., Armanino, C., Forina, M. (2005). Optimization of a new headspace mass spectrometry instrument: discrimination of different geographical origin olive oils. *Journal of Chromatography A*, 1076, 7-75, doi:10.1016/j.chroma.2005.04.020.
41. Choi, S.-M., Lee, H.-S., Lee, G.-H., & Han, J.-K. (2008). Determination of the strontium isotope ratio by ICP-MS ginseng as a tracer of regional origin. *Food Chemistry*, 108, 1149–1154.
42. Christy, A A., Kasemsumran, S., Du, Y., Ozaki, Y. (2004). The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Analytical Science*, 20, 935-940.
43. Cimato, A., Dello Monaco, D., Distante, C., Epifani, M., Siciliano, P., Taurino, A M., Zuppa, M., Sani, G. (2006). Analysis of single-cultivar extra-virgin olive oils by means of an electronic nose and HS-SPME/GC/Ms methods. *Sensors and Actuators B*, 114, 674-680, doi: 10.1016/j.snb.2005.06.058.
44. Cole, T., Bidoglio, G., Soupioni, M., O'Gorman M., & Gibson N. (2000). Diffusion mechanisms of multiple strontium species in clay, *Geochim Cosmochim Acta*, 64(3):385-396.
45. Comerford, N B. (2005). Soil factors affecting nutrient bioavailability. *Ecological Studies*, 181, 1–14.

46. Cosio, M S., Ballabio, D., Benedetti, S., Gigliotti, C. (2006). Geographical origin and authentication of extra virgin olive oils by an electronic nose in combination with artificial neural networks. *Analytica Chimica Acta*, 567, 202-210.
47. Coughthrey, P J., & Thorne, M C. (1983). Strontium. In: Radionuclide distribution and transport in terrestrial and aquatic ecosystems: a critical review of data. *AA Balkema Rotterdam*, 93-219.
48. D'Imperio, M., Dugo, G., Alfa, M., Mannina, L., Segre, A L. (2007). Statistical analysis on Sicilian olive oils. *Food Chemistry*, 102, 956-965, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.03.003.
49. Dais, P., Hatzakis, E. (2013). Quality assessment and authentication of virgin olive oil by NMR spectroscopy: a critical review. *Analytica Chimica Acta*, 765, 1-27, doi: 10.1016/j.aca.2012.12.003
50. Damiani L. (1967). Notice explicative Carte géologique de FRANCE (1/50000), feuille Uzès (939). BRGM Ed, Orléans.
51. De Luca, M., Tarouzi, W, Ioele, G., Kzaiber, F., Oussama, A., Oliviero, F., Tauler, R., Ragno, G. (2011). Derivative FTIR spectroscopy for cluster analysis and classification of morocco olive oils. *Food Chemistry*, 124, 1113-1118, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.010
52. De Souza, G., Reynolds, B., Kiczka, M., Bourdon, B. (2010). Evidence for mass-dependent isotopic fractionation of strontium in a glaciated granitic watershed. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 2596–2614.
53. Del Signore, A., Di Giacomo, F., Giaccio, M. (2004). Determinating the regional origin of cheeses with trace metal analysis using statistical classifiers. *Journal of Commodity Science*, 43, 133-144.

54. Denneboug, S. (2002). Mise en évidence et caractérisation de la variabilité haute fréquence du rapport $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ du strontium océanique. Thèse Doct. “Dynamique et Ressources des Bassins Sédimentaires”, Ecole des Mines de Paris, soutenue le 19 déc. 2001 - Mém. Sc. de la Terre, ENSMP, Paris, 2002, 44, 202 p.
55. Desaunettes, J R., & Vigneron, J. (1958). Etude pédologique au 1/50000^e de la Costière du Gard et de la Vistrenque. Extrait des annales Agronomique, livraison du N°6 de 1958 ; pages 749 à 789.
56. Di Giacomo, F., del Signore, A., Giaccio, M. (2007). Determining the Geographic Origin of Potatoes Using Mineral and Trace Element Content. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55, 860-866, doi: 10.1021/jf062690h
57. Di Paola-Narajo, R D., Baroni, M V., Podio, N S., Rubinstein, H R., Fabani, M P., Badini, R G., Inga, M., Ostera, H A., Cagnoni, M., Gallegos, E., Gautier, E., Peral-Garcia, P., Hoogewerff, J., Wunderlin, W A. (2011). Fingerprints for main varieties of Argentinean wines: Terroir differentiation by inorganic, organic and stable isotopic analyses coupled to chemometrics. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 59, 7854-7865.
58. Durante, C., Baschieri, C., Bertacchini, L., Cocchi, M., Sighinolfi, S., Silvestri, M., Marchetti, A. (2013). Geographical traceability based on $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ indicator: A first approach for PDO Lambrusco wines from Modena. *Food Chemistry* 141: 2779–2787.
59. Escuderos, M E., Garcia, M., Jimenez, A., Horrillo, M C. (2013). Edible and non-edible olive oils discrimination by the application of a sensory olfactory system based on tin dioxide sensors. *Food Chemistry*, 136, 1154-1159, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.09.051.

60. European Commission Regulation. (1991). EEC No. 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis, and subsequent amendments. *Official Journal of European Community*, L248, 1–102.
61. European Commission Regulation. (1992). EEC No. 2081/92 on the protection of geographical indications and designations of origin for agriculture products and foodstuffs. *Official Journal of European Community*, L208.
62. European Commission Regulation. (2009). EEC No. 182/2009 on the marketing standards for olive oil. *Official Journal of European Community*, L63.
63. Farhan, F M., Rammati, H., Ghazi-Moghadam, G. (1988). Variation of trace metal content of edible oils and fats during refining processes. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 65, 1961–1962.
64. Faure, G. (1986). Principles of Isotope Geology. John Wiley and Sons, Inc. (2nd ed., p.589).
65. Feller, U. (1989). Transfer of Rubidium from the Xylem to the Phloem in Wheat Internodes. *Journal of Plant Physiology* Volume 133, Issue 6, Pages 764–767.
66. Fernández, J E., Moreno, F., Cabrera, F., Arrue, J L., & Martín-Aranda, J. (1991). Drip irrigation, soil characteristics and the root distribution and root activity of olive trees. *Plant and Soil*, 133, 239–251.
67. Fernández-Escobar, R., Moreno, R., García-Creus, M. (1999). Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia Horticulturae* 25–45.
68. Flath, R A., Forrey, R R., Guadagni, D G. (1973). Aroma components of olive oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 21, 948-952, doi: 10.1021/jf60190a030.

69. Fortunato, G., Memic, K., Wunderli, S., Pillonel, L., Bosset, J.O., Gremaud, G. (2004). Application of strontium isotope abundance ratios measured by MC-ICP-MS for food authentication. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19, 227-234.
70. Franke, B M., Koslitz, S., Micaux, F., Piantini, U., Maury, V., Pfammatter, E., Wunderli, S., Gremaud, G., Bosset, J O., Hadorn, R., Kreuzer, M. (2008). Tracing the geographic origin of poultry meat and dried beef with oxygen and strontium isotope ratios. *European Food Research and technology*, 226, 761-769.
71. Freytet. (1971). Les dépôts continentaux et marins du crétacé supérieur et des couches de passage à l'écène en Languedoc. Bulletin du B.R.G.M. (2), section I, n°4, 54p.
72. Galtier, O., Dupuy, N., Le Dreau, Y., Ollivier, D., Pinatel, C., Kister, J., Artaud, J. (2007). Geographic origins and compositions of virgin oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *Analytica Chimica Acta*, 595, 136-144, doi: 10.1016/j.aca.2007.02.033.
73. García, J M., Sella, S., & Pérez-Camino, M. C. (1996). Influence of fruit ripening on olive oil quality. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 3516–3520.
74. Genot, V., Colinet, G., Brahy, V., & Boc L. (2007). L'état de fertilité des terres agricoles et forestières en région wallonne. SOL 01 : Chapitre 11 les sols et l'environnement terrestre, p 453-467.
75. Giacomo, D., La Pera, L., Giuffrida, D., Salvo, F., Lo Turco, V. (2004). Influence of the olive variety and the zone of provenience on selenium content determined by cathodic stripping potentiometry (CSP) in virgin olive oils. *Food Chemistry*, 88, 135-140, doi: 10.1016/j.foodchem.2003.12.036.

76. Gimenez, C., Fereres, E., Ruz, C., Orgaz, F. (1997). Water relations and gas exchange of olive trees: diurnal and seasonal patterns of leaf water potential, photosynthesis and stomatal conductance. *Acta Hort.* 449, 411–415.
77. Gonzalez, A., Armenta, S., De La Guardia, M. (2009). Trace-element composition and stable isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin. *Trend in Analytical Chemistry*, 28, 1295-1311.
78. Gomez-Coca, R B., Moreda, W., Perez-Camino, M C. (2012). Fatty acid alkyl esters presence in olive oil vs. Organoleptic assessment. *Food Chemistry*, 135, 1205-1209, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.05.053.
79. Gosz, J R., & Moore, D I. (1989). Strontium isotope studies of atmospheric inputs of forested watersheds in New Mexico. *Biogeochemistry* 8, 115-134.
80. Gras, H. (1970). Notice explicative Carte géologique de FRANCE (1/50000), feuille Anduze (938). BRGM Ed, Orléans.
81. Graustein, W C. (1988). $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios measure the sources and flow of strontium in terrestrial ecosystems. In Rundel, P.W., Ehleringer, J.R. and Nagy, K.A. eds *Stable Isotopes in Ecological Research*, 491-512. Springer-Verlag.
82. Haddi, Z., Amari, A., Ould Ali., A., El Bari, N., Barhoumi, H., Maaref, A., Jaffrezic-Renault, N., Bouchikhi, B. (2011). Discrimination and identification of geographical origin virgin oil by an e-nose based on MOS sensors and pattern recognition techniques. *Procedia Engineering*, 25, 1137-1140.
83. Himour, S. (2010). Etude comparée de régénération de plants par voie végétative en culture in vitro. Université Mentouri-Constantine.
84. Hinsinger, P. (1998). How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Adv. Agron.* 64, 225e265.

85. Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. In: Gobran, G.R.
86. Horn, P., Schaaf, P., Holbach, B., Hoelxl, S., Eschnauer, H. (1993). ^{87}Sr and ^{86}Sr from rock and soil into vine and wine. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 196, 407-409.
87. International Olive Council (2011). Sensory analysis of olive oil. Method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. COI/T. 20/Doc. No 15/Rev. 4, 1–14.
88. Janin, M., Medini, S., Techer, I. (2014). Methods for PDO olive oils traceability: State of art and discussion about the possible contribution of Sr isotopic tool. *European food research and Technology*.
89. Jenkins, R. (1999). X-ray Fluorescence Spectrometry, 2nd ed., Wiley-Interscience, New-York.
90. Jimenez, M S., Velarte, R., Gomez, M T., Castillo, J R. (2004). Multi-element determination using on-line emulsion formation and ICP-MS/FAAS for the characterization of virgin oils by principal component analysis. *Atomic Spectrometry*, 25, 1-12.
91. Jones, C E., Jenkyns, H C., Coe, A L., Hesselbo, S P. (1994). Strontium isotopic variations in Jurassic and Cretaceous seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58, 3061-3074.
92. Joubert, A. (2008). Etude de l'effet de facteurs environnementaux sur les processus biogéochimiques de mobilisation de Pb, Zn, Cd, As ET Hg dans les sols. Université de Henri Poincaré, Nancy 1, faculté des sciences et techniques. UFR S.T.M.P école doctorale RP2E.

93. Juste, C., Chassin, P., Gomez, A., Linères, M., Mocquot, B., Feix, I., Wiart, J. (1995). Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduares des stations d'épuration urbaines. Angers Ademe, 209 pp.
94. Kalua, C M., Allen, M S., Bedgood, D R Jr., Bishop, A G., Prenzler, P D., Robards, K. (2007). Olive oil volatile compounds, flavor development and quality: A critical review. *Food Chemistry*, 100, 273-286, doi:10.1096/j.foodchem.2005.09.059.
95. Kawasaki, A., Oda, H., Hirata, T. (2002). Determination of strontium isotope ratio of brown rice for estimating its provenance. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48, 635-640.
96. Kelly, S., Baxter, M., Chapman, S., Rhodes, C., Dennis, J., Brereton, P. (2002). The application of isotopic and elemental analysis to determine the geographical origin of premium long grain rice. *European Food Research and technology*, 214, 72-78.
97. Kelly, S., Heaton, K., Hoogewerff, J. (2005). Tracing the geographical origin of food: the application of multi-element and multi-isotope analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 555-567.
98. Konstantinidou, V., Covas, M. I., Muñoz-Aguayo, D., Khymenets, O., de La Torre, R., Saez, G., *et al.* (2010). In vivo nutrigenomic effects of VOO polyphenols within the frame of the Mediterranean diet: A randomized trial. *FASEB Journal*, 24, 2546–2557.
99. Ladouche, B., Luc, A., Nathalie, D. (2009). Chemical and isotopic investigation of rainwater in Southern France (1996–2002): Potential use as input signal for karst functioning investigation. *Journal of Hydrology* 367, 150–164.

100. Lakanen, E., Paasikallio, A. (1970). Effects of soil factors on the uptake of radiostrontium by plants. Part 2. *Annales Agriculturae Fenniae e Seria: Agrogeologia, Chimica et Physica* 9, 133-138.
101. Lancelot, J., Herreiras, J., Verdoux, P., Lurton, L. (1999). The use of strontium isotopes geochemistry for a high resolution identification of wines from the Rhone Valley. *Fifth European Symposium of Food Authenticity*, La Baule, 9–11 June, 1999.
102. Lasko, A N. (1985). The effects of water stress on physiological processes in fruit crops. *Acta Hort.* 171, 275–290.
103. Lawless, H T. (1999). Descriptive analysis of complex odors : reality, model or illusion ? *Food Quality and Preferences*, 10, 325-332.
104. Le Coco, F., Ceccon, L., Ciraolo, L., Novelli, V. (2003) Determination of cadmium (II) and zinc (II) in olive oils by derivative potentiometric stripping analysis. *Food Control*, 14, 55-59.
105. Legeay P L. (2013). Parcours Hydrologie-Hydrogéologie Utilisation des isotopes du strontium pour caractériser les dynamiques de recharge et de transfert d'un aquifère karstique. Laboratoire hydrosience Montpellier.
106. Lerma-Garcia, M J., Ramis-Ramos, G., Herrero-Martinez, J M., Simo-Alfonso, E F. (2010). Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 118, 78-83, doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.092.
107. Lorenzo, I M., Perez Pavon J L., Fernandez Laespada, M E., Garcia Pinto, C., Moreno Cordero, B. (2002). Detection of adulterants in olive oil by headspace-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 945, 221-230, doi: 10.1016/S0021-9673(01)01502-3.
108. Longobardi, F., Ventrella, A., Napoli, C., Humpfer, E., Schutz, B., Schafer, M G., Kontominas, M G., Sacco, A. (2012). Classification of olive oils according to

geographical origin by using ^1H NMR fingerprinting combined with multivariate analysis. *Food Chemistry*, 130, 177-183.

109. Lopez-Feria, S., Cardenas, S., Garcia-Mesa, J A., Fernandez-Hernandez, A. Valcarcel, M. (2007). Quantification of the intensity of virgin olive oil sensory attributes by direct coupling headspace-mass spectrometry and multivariate calibration techniques. *Journal of Chromatography A*, 1147, 144-152, doi: 10.1016/j.chroma.2007.02.107.

110. Luchetti, F. (2000). Introduction. In J. Harwood & R. Aparicio (Eds.), *Handbook of olive oil – Analysis and properties* (pp. 1–16). Gaithersburg, Maryland: An Aspen Publication.

111. Lurton, L., Lancelot, J., Herreiras, J., & Verdoux, P. (1999). Authentification de vins de la Vallée du Rhône à l'aide du rapport $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de leur terroir d'origine. XXIVeme Congrès Mondial de la Vigne et du Vin. Mayence, 5–9 juillet, 1999.

112. Mahjoubi, R., Kamel, S., Noack, Y., Michard, A., Nachon, D., & Carruesco, C. (2005). Traçage isotopique $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dans un système paralique : cas des carbonates des sédiments superficiels de la lagune de Nador (Maroc nord oriental). *Bull. Soc. géol. Fr.* t. 176, no 4, pp. 373-380.

113. Maillard, R. (1975). L'olivier .Maison des agriculteurs .Ed .Invuflec . Paris, 147 P.

114. Malek, M., Hinton, T G., Webb, S B. (2002). A comparison of ^{90}Sr and ^{137}Cs uptake in plants via three pathways at two Chernobyl contaminated sites. *Environmental Radioactivity*. 58, 129–141.

115. Mannina, L., Patumi, M., Proietti, N., Bassi, D., Segre, A L. (2001). Geographical characterization of Italian virgin olive oil using high field ^1H NMR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2687-2696.

116. Marschner, H. (1986). Mineral nutrition in higher plants. Wd Ltd. *The Greystone Press*, Antrim, Northern Ireland.
117. Medini, S., Janin, M., Verdoux, P., & Techer, I. (2015). Methodological development for $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ measurement in olive oil and preliminary discussion of its use for geographical traceability of PDO Nîmes (France). *Food Chemistry*, 171, 78–83. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.121.
118. Medini S., Janin M., Techer I. (2014). Transfer of Sr in olive growing-tree and feasibility of geographical tracing of olive oil using Sr isotope composition. *Food chemistry. Submitted*.
119. Medini S., Janin M., Techer, I. (2014). Sr isotopic characterization of Nimes PDO olive oils (France) and Mococcan olive oils_ Application for geographical traceability. *In prep*.
120. Medini, S., Janin, M., Techer, I. (2014). Imprint of farming methods on the Sr bioavailability for olive trees; Implication on the traceability of olive oil using the Sr isotopic tool. *In prep*
121. Menillet F., & Paloc H., 1973- Notice de la carte géologique de Nîmes au 1/50 000. BRGM, XXIX-42, Orléans, 1973, 40 p.
122. Monaci, F., Bargagli, R., Focardi, S. (2003). Element concentrations in Chianti Classico appellation wines. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 17, 45-50.
123. Moore J C., Spink J, Lipp M. (2012). Development and application of database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. *Journal of Food Science* _ Vol. 77, Nr. 4.
124. Morales, M T., Luna, G., Aparicio, R. (2005). Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*. 91, 293-301.

125. Morel, J L., Bitton, G., Schwartz, C., Schiavon, M. (1996). Bioremediation of soils and waters contaminated by micropollutants : which role for plants ? *In* : Ecotoxicology : Responses, Biomarkers and Risk Assessment, Chapter 4, OECD Workshop. Zelikoff J.T. (ed.). SOS Publications, Fair Haven, NJ. USA. 37-74.
126. Moudjaoui L. (2013). Étude de la Géologie du Maroc et le lien avec la composition isotopique des huiles d'olives locales. Rapport stage Master 1. Université de Nîmes (Laboratoire GIS).
127. Moyen, C., Roblin, G. (2010). Uptake and translocation of strontium in hydroponically grown maize plants, and subsequent effects on tissue ion content, growth and chlorophyll a/b ratio: comparison with Ca effects. *Environmental and Experimental Botany* 68, 247–257.
128. Négrel, P, Dupré, P. (1993). Temporal variations of strontium isotopic ratios of the Oubangui river basin: implications for the sources of material. Colloques de l'ORSTOM, Grands Bassins Fluviaux, 22-24.
129. Nguyen D., Marchal J P. (novembre 2010). Potentiel géothermique des aquifères superficiels et de moyenne profondeur du département du Gard. BRGM/RP-58731-FR.
130. O’Leary, M H. (1993). Biochemical basis of carbon isotope fractionation. In J. R. Ehleringer, A. E. Hall, & G. D. Farquhar (Eds.), *Physiological ecology series: “Stable isotopes and plant carbon–water relations”* (pp. 19–28). San Diego, California, USA: Academic Press.
131. Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J P., Guerere, M. (2003). Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 5723-5731.

132. Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J P., Guerere, M. (2006). Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*. 97, 382-393.
133. Padin, P M., Pena, R M., Garcia, S., Iglesias, R., Barro, S., Herrero, C. (2001). Characterization of Galician (N.W. Spain) quality brand potatoes: a comparison study of several pattern recognition techniques. *The Analyst*, 126, 97-103, doi: 10.1039/b007720h.
134. Panagoua, E Z., Sahgal, N., Magan, N., Nychas, G J E. (2008). Table olives volatile fingerprints: potential of an electronic nose for quality discrimination. *Sensors and Actuators B*, 134, 902-907.
135. Parker, I G., Kelly, S D., Sharman, M., Dennis, M J., Howie, D. (1998). Investigation into the use of carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of Scotch whisky congeners to establish brand authenticity using gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry. *Food Chemistry*, 32, 423-428.
136. Pena, F., Cardenas, S., Gallego, M., Valcarcel, M. (2005). Direct olive oil authentication: detection of adulteration of olive oil with hazelnut oil by direct coupling of headspace and mass spectrometry, and multivariate regression techniques. *Journal of Chromatography A*, 1074, 215-221, doi: 10.1016/j.chroma.2005.03.081.
137. Pena, F., Cardenas, S., Gallego, M., Valcarcel, M. (2004). Direct screening of olive oil samples for residual benzene hydrocarbon compounds by headspace-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 526, 77-82, doi: 10.1016/j.aca.2004.07.073.
138. Perez-Camino, M C., Moreda, W., Mateos, R., Cert, A. (2002). Determination of esters of fatty acids with low molecular weight alcohols in olive oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 4721-4725.

139. Perri, E., Benincasa, C., Muzzalupo, I. (2012). Olive Oil Traceability, In: Olive Germplasm - The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy, <http://www.intechopen.com/download/get/type/pdfs/id/41344>.
140. Petrakis, P V., Agiomyrgianaki, A., Christophoridou, S., Spyros, A., Dais, P. (2008). Geographical characterization of greek virgin olive oils (cv. Koroneiki) using ^1H and ^{31}P NMR fingerprinting with canonical Discriminant analysis and classification binary trees. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 3200-3207.
141. Petrini R., Sansone L., Slejko, F. F., Buccianti, a., Marcuzzo, P., & Tomasi, D. (2015). The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ strontium isotopic systematics applied to Glera vineyards: a tracer for the geographical origin of the Prosecco. *Food Chemistry*, 170, 138–144. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.051.
142. Pin, C., Joannon, S., Bosq, C., Le Fèvre, B., Gauthier, P J. (2003). Precise determination of Rb, Sr, Ba and Pb in geological materials by isotope dilution and ICP-quadrupole mass spectrometry following selective separation of the analytes. *J. Anal. At. spectrom.* 18, 135-141.
143. Pizarro, C., Rodriguez-Tecedor, S., Perez-del-Notario, N., Esteban-Diez, I., Gonzalez-Saiz, J M. (2013). Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. *Food Chemistry*, 138, 915-922, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.087.
144. Poszwa, A., Ferry, B., Dambrine, E., Pollier, B., Wickman, T., Loubet, M., Bishop K. (2004). Variations of bioavailable Sr concentration and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio in boreal forest ecosystems. Role of biocycling, mineral weathering and depth of root uptake. *Biogeochemistry*, 67, 1–20.

145. Poul X, Bayer F, Buard C. (1975). Etude hydrogeologique de la Costière-vistrenque (Gard). 75 SGN 220 LRO.
146. Procida, G., Giomo, A., Cichelli, A., & Conte, L S. (2005). Study of volatile compounds of defective virgin olive oils and sensory evaluation: a chemometric approach. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 85, 2175–2183, doi: 10.1002/jsfa.2122.
147. Raiber M., Webb J A., Bennetts D A. (2009). Strontium isotopes as tracers to delineate aquifer interactions and the influence of rainfall in the basalt plains of southeastern Australia, *J. Hydrol.*, 367,188–199.
148. Rezzi, S., Axelson, D E., Heberger, K., Reniero, F., Mariani, C., Guillou, C. (2005). Classification of olive oils using high throughput flow ^1H NMR fingerprinting with principal component analysis, linear Discriminant analysis and classification probabilistic neural networks. *Analytica Chimica Acta*, 552, 13-24.
149. Rich, S., Manning, S. W., Degryse, P., Vanhaecke, F., & Van Lerberghe, K. (2012). Strontium isotopic and tree-ring signatures of *Cedrus brevifolia* in Cyprus. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 27(5), 796. doi:10.1039/c2ja10345a.
150. Roca, M C., Vallejo, V R. (1995). Effect of soil potassium and calcium on caesium and strontium uptake by plant roots. *J. Environ. Radioactiv.* 28, 141–159.
151. Rolley J P. (2007). Géologie du département du GARD Essai de synthèse géologique.
152. Rossmann, A., Haberhauer, G., Holzl, S., Horn, P., Pichlmayer, F., Voerkelius, S. (2000). The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. *European Food Research and Technology*, 211, 32-40.

153. Royer, A., Gerard, C., Naulet, N., Lees, M., Martin, G J. (1999). Stable isotope characterization of olive oils. I - compositional and carbon-13 profiles of fatty acids. *Journal of the American Oils Chemist Society*, 76, 357-363.
154. Rummel, S., Hoelzl, S., Horn, P., Rossmann, A., Schlicht, C. (2010). The combination of stable isotope abundance ratios of H, N and S with $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices. *Food Chemistry*, 118, 890-900, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.05.115.
155. Sabourdy, G. (1975). Apport de la géochimie à la connaissance de la pétrogenèse des granitoïdes des Cévennes méridionales, Massif Central Français. *Annales Scientifiques de l'Université de Clermont-Ferrand*. Vol. 52, 278p.
156. Sacchi, R. (2007). Extraction technology In L'Extravergine, a guide to the best certified quality olive oil in the world. *Oreggia*, M. Ed Cucina Vini. 82-103.
157. Sasmaz, A., & Sasmaz, M. (2009). The phytoremediation potential for strontium of indigenous plants growing in a mining area, *Environ. Exp. Bot.*, 67, 139–144.
158. Samuel, J., Rouault, R., Besnus, Y. (1985). Analyse multi-élémentaire standardisée des matériaux géologiques en spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif. *Analysis*, 13, 321-317.
159. Sassine, L., Khaska, M., Ressouche, S., Simler, R., Verdoux, P., Le Gal La Salle C. (2014). Using of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^2\text{H}$, chemical elements and pesticides to characterize water origins in a shallow alluvial aquifer: case of the Vistrenque catchment (Southern France). *Submitted. Applied geochemistry*.

160. Semhi, K., Clauer, N., Chaudhuri, S. (2012). Variable element transfers from an illite-rich substrate to growing plants during a three-month experiment. *Applied Clay Science* 57; 17–24.
161. Singhal, B B S., & Gupta, R P. (2010). Applied hydrogeology of fractured rocks: Second edition. *Applied Hydrogeology of Fractured Rocks: Second Edition* (pp. 1–408). doi:10.1007/978-90-481-8799-7.
162. Simard, R R. (1993). Ammonium acetate – Extractable elements. In M. R. Carter (Ed.), Soil sampling and methods of analysis (pp. 39–42). *Canadian Society of Soil Science*, Lewis Publishers.
163. Soltner, D. (2001). Les bases de la production vegetale, Tome III la plante et son amelioration, p 148.
164. Souto, U T C P., Pontes, M J C., Silva, E C., Galvao, R K H, Araujo, M C U., Sanches, F A C., Cunha, F A S., Oliveira, M S R. (2010). UV-visible spectrometric classification of coffees by SPA-LDA. *Food Chemistry*, 119, 368-371, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.05.078.
165. Sprovieri, M., Barbieri, M., Bellanca, A., & Neri, R. (2003). Astronomical tuning of the Tortonian $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ curve in the Mediterranean basin. *Terra Nova*, Vol 15, No. 1, 29–35.
166. Stewart, B W., Capo, R C., Chadwick, O A. (1998). Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods, *Geoderma* 82, page 197-225.
167. Takeda, A., Tsukada, H., Takaku, Y., Hisamatsu, S., Inaba, J., & Nanzyo M. (2006). Extractability of major and trace elements from agricultural soils using chemical extraction methods: Application for phytoavailability assessment. *Soil Science and Plant Nutrition* 52, 406–417.

168. Takeda, A., Tsukada, H., Takaku, Y., Akata, N., Hisamatsu. (2008). Plant induced changes in concentrations of caesium, strontium and uranium in soil solution with reference to major ions and dissolved organic matter. *Journal of Environmental Radioactivity* 99 -900e911.
169. Tapp, H S, Defernez, M., Kemsley, E K. (2003). FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6110-6115.
170. Techer, I., Lancelot, J., Descroix, F., Guyot, B. (2011). About Sr isotopes in coffee ‘Bourbon Pointu’ of the Réunion Island. *Food Chemistry*, 126, 718–724.
171. The Royal Society of Chemistry. (1988). The agrochemicals handbook, ^{2e} édition (première mise à jour-avril 1988). Nottingham, Angleterre.
172. Tsimidou, M., Karakostas, K. (1993). Geographical classification of Greek virgin olive oil by non-parametric multivariate evaluation of fatty acid composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62, 253-257, doi: 10.1002/jsfa.2740620308.
173. Urbano, M., Luque De Castro, M. D., Perez, P. M., Garcia-Olmo, J., Gomez-Nieto, M. A., (2006). Ultraviolet-visible spectroscopy and pattern recognition methods for differentiation and classifications of wines. *Food Chemistry*, 97, 166-175.
174. Van der Hoven, S., & Quade, J. (2002). Tracing spatial and temporal variations in the source of calcium in pedogenic carbonates in a semiarid environment. *Geoderma* 108, 256-276.
175. Veresoglou, D S., Tsialtas, J T., Barbayiannis, N., Zalidis, G C. (1995). Cesium and strontium uptake by two pasture plant species grown in organic and inorganic soils. *Agric. Ecosyst. Environ.* 56, 37–42.

176. Visioli, F. (2012). Olive oil phenolics: Where do we stand? Where should we go? *Journal of the Science and Food Agriculture*, 92, 2017–2019.
177. Vlahov, G., Del Re, P., Simone, N. (2003). Determination of geographical origin of olive oils using ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. I – Classification of olive oils of the Puglia region with denomination of protected origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51, 5612 – 5615.
178. Von Fircks, Y., Rosen, K., & Sennerby-Forsse, L. (2002). Uptake and distribution of ^{137}Cs and ^{90}Sr in *Salix viminalis* plants. *J Environ Radioactiv*, 63(1):1-14.
179. Weckerley, B., Richling, E., Heinrich, S., Schreier, P. (2002). Origin assessment of green coffee (*Coffea Arabica*) by multi-element stable isotope analysis of caffeine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, 1845-1850.
180. Willey, N., & Fawcett, K. (2006). A phylogenetic effect on strontium contents in angiosperms. *Environ. Exp. Bot.* 57, 258–269.
181. Yang, H., Irudayaraj, J., Paradkar, M M. (2005). Discriminant Analysis of edible oils and fats by TIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 93, 25-32, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.08.039.
182. Zeiner, M., Steffan, I., Cindric, I J. (2005). Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: a pilot study on the geographical characterization. *Microchemical Journal*, 81, 171-176, doi: 10.1016/j.microc.2004.12.002.
183. Zunin, P., Boggia, R., Lanteri, S., Leardi, R., De Andreis, R., Evangelisti, F. (2004). Direct thermal extraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of volatile compounds of extra-virgin olive oils. *Journal of Chromatography A*, 1023, 271–276.

ANNEXE 1

DECRET

Décret du 17 novembre 2004 relatif à l'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes »

NOR: AGRP0401705D

ELI: <http://www.legifrance.gouv.fr/eli/decret/2004/11/17/AGRP0401705D/jo/texte>

Le Premier ministre,

Sur le rapport du ministre d'Etat, ministre de l'économie, des finances et de l'industrie, et du ministre de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales,

Vu le règlement n° 2081/92/CEE modifié du Conseil du 14 juillet 1992 relatif à la protection des indications géographiques et des appellations d'origine des produits agricoles et des denrées alimentaires ;

Vu le code rural, notamment ses articles L. 641-2, L. 641-3, L. 641-5, L. 641-6 et R. 641-19 à R. 641-27 ;

Vu le code de la consommation, notamment ses articles L. 115-6 et L. 115-20 ;

Vu la proposition du comité national des produits agroalimentaires de l'Institut national des appellations d'origine en date du 17 juin 2004,

Décète :

Article 1

Seules ont droit à l'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes » les huiles qui répondent aux conditions définies par le présent décret.

Article 2

Les olives sont récoltées dans des vergers ayant fait l'objet d'une procédure d'identification et transformées dans l'aire géographique qui s'étend au territoire des communes suivantes :

Département du Gard

Communes retenues en totalité : Aigaliers ; Aigremont ; Aigues-Vives ; Alès ; Anduze ; Aramon ; Argilliers ; Arpaillargues-et-Aureillac ; Aspères ; Aubais ; Aubord ; Aubussargues ; Aujargues ; Bagard ; Baron ; Beauvoisin ; Belvezet ; Bernis ; Bezouce ; Blauzac ; Boisset-et-Gaujac ; Boissières ; Boucoiran-et-Nozières ; Bouillargues ; Bouquet ; Bourdic ; Bragassargues ; Brignon ; Brouzet-lès-Quissac ; Bruguière (La) ; Cabrières ; Cadière-et-Cambo (La) ; Caissargues ; Calmette (La) ; Calvisson ; Canaules-et-Argentières ; Cannes-et-Clairan ; Cardet ; Carnas ; Cassagnoles ; Castelnau-Valence ; Castillon-du-Gard ; Caveirac ; Clarensac ; Codognan ; Collias ; Collorgues ; Combas ; Comps ; Congénies ; Conqueyrac ; Corconne ; Crespian ; Cruviers-Lascours ; Deaux ; Dions ; Domazan ; Domessargues ; Durfort-et-Saint-Martin-de-Sossenac ; Estezargues ; Euzet ; Flaux ; Foissac ; Fons ; Fons-sur-Lussan ; Fontanès ; Fontarèches ; Fournes ; Gailhan ; Gajan ; Gallargues-le-Montueux ; Garons ; Garrigues-Sainte-Eulalie ; Générac ; Jonquières-Saint-Vincent ; Junas ; Langlade ; Lecques ; Lédénon ; Lédignan ; Lézan ; Liouc ; Logrian-Florian ; Lussan ; Manduel ; Marguerittes ; Martignargues ; Maruéjols-lès-Gardon ; Massanes ; Massillargues-Attuech ; Maressargues ; Méjannes-lès-Alès ; Meynes ; Milhaud ; Mons ; Montagnac ; Montaren-et-Saint-Médiers ; Monteils ; Montfrin ; Montignargues ; Montmirat ; Montpezat ; Moulezan ; Moussac ; Mus ; Nages-et-Solorgues ; Ners ; Nîmes ; Orthoux-Sérignac-Quilhan ; Parignargues ; Poulx ; Puechredon ; Quissac ; Redessan ; Remoulins ; Ribaute-les-Tavernes ; Rochefort-du-Gard ; Rodilhan ; Rouvière (La) ; Saint-Bauzely ; Saint-Bénézet ; Saint-Bonnet-du-Gard ; Saint-Césaire-de-Gauzignan ; Saint-Chartes ; Saint-Christol-lès-Alès ; Saint-Clément ; Saint-Come-et-Maruéjols ; Saint-Dézéry ; Saint-Dionisy ; Sainte-Anastasie ; Saint-Etienne-de-l'Olm ; Saint-Geniès-de-Malgoires ; Saint-Gervasy ; Saint-Hilaire-de-Brethmas ; Saint-Hilaire-d'Ozilhan ; Saint-Hippolyte-de-Caton ; Saint-Hippolyte-de-Montaigu ; Saint-Hippolyte-du-Fort ; Saint-Jean-de-Ceyrargues ; Saint-Jean-de-Crieulon ; Saint-Jean-de-Serres ; Saint-Just-et-Vacquières ; Saint-Laurent-la-Vernède ; Saint-Mamert-du-Gard ; Saint-Maurice-de-Cazevieille ; Saint-Maximin ; Saint-Nazaire-des-Gardies ; Saint-Privat-des-Vieux ; Saint-Quentin-la-Poterie ; Saint-Siffret ; Saint-Théodorit ; Saint-Victor-des-Oules ; Salinelles ; Sanilhac-Sagries ; Sardan ; Sauve ; Sauzet ; Savignargues ; Saze ; Sernhac ; Serviers-et-Labaume ; Seynes ; Sommières ; Souvignargues ; Théziers ; Tornac ; Uchaud ; Uzès ; Vallabrix ; Vallérargues ; Vergèze ; Vers-Pont-du-Gard ; Vestric-et-Candiac ;

Vézenobres ; Vic-le-Fesc ; Villevieille.

Communes retenues en partie : Allègre ; Beaucaire ; Bellegarde ; Goudargues ; Saint-Gilles ;
Vauvert ; Verfeuil.

Les limites de l'aire géographique sont reportées sur le cadastre des communes retenues en
partie.

Département de l'Hérault

Assas ; Baillargues ; Beaulieu ; Boisseron ; Buzinargues ; Campagne ; Castries ; Claret ;
Fontanès ; Galargues ; Garrigues ; Guzargues ; Lauret ; Lunel ; Lunel-Viel ; Matelles (Les) ;
Montaud ; Moulès-et-Baucels ; Restinclières ; Saint-Bauzille-de-Montmel ; Saint-Brès ;
Saint-Christol ; Sainte-Croix-de-Quintillargues ; Saint-Drézéry ; Saint-Geniès-des-Mourgues ;
Saint-Hilaire-de-Beauvoir ; Saint-Jean-de-Cornies ; Saint-Jean-de-Cuculles ; Saint-Mathieu-
de-Trévières ; Saint-Seriès ; Saint-Vincent-de-Barbeyrargues ; Saturargues ; Saussines ;
Sauteyrargues ; Sussargues ; Vacquières ; Valergues ; Valflaunès ; Vérargues ; Villetelle.

Article 3

L'identification des vergers est effectuée sur la base des critères relatifs à leur lieu
d'implantation, fixés par le comité national des produits agroalimentaires de l'Institut national
des appellations d'origine, ci-après le comité national en sa séance du 17 juin 2004, après avis
de la commission d'experts désignée à cet effet par ledit comité.

Tout producteur désirant faire identifier un verger en effectue la demande auprès des services
de l'Institut national des appellations d'origine (INAO) avant le 1er octobre de l'année qui
précède la première déclaration de récolte et s'engage à respecter les critères relatifs à leur lieu
d'implantation ainsi que les conditions de production définies dans le présent décret.

La demande est enregistrée par les services de l'INAO. L'enregistrement vaut identification de
la ou des parcelles tant qu'il n'est pas constaté de non-respect de l'engagement du producteur.
Tout verger pour lequel l'engagement visé ci-dessus n'est pas respecté est retiré de la liste des
vergers identifiés par les services de l'INAO après avis de la commission d'experts en ce qui
concerne les critères relatifs au lieu d'implantation.

Les listes des critères et des vergers identifiés sont consultables auprès des services de l'INAO
et du syndicat de défense intéressé.

Pour la première campagne suivant la parution du présent décret, la demande d'identification
des vergers peut être souscrite auprès des services de l'INAO au plus tard le mois précédant la
déclaration de récolte.

Article 4

Les huiles proviennent d'olives des variétés suivantes :

Variétés principales : picholine, négrette, noirette, ensemble dans la proportion minimum en nombre d'arbres de 85 % pour l'ensemble des vergers de l'exploitation produisant l'appellation d'origine contrôlée.

La proportion de variété picholine doit être au minimum de 70 % en nombre d'arbres pour l'ensemble des vergers de l'exploitation produisant l'appellation d'origine contrôlée. Toutefois, cette proportion peut être de 60 % pour l'ensemble des vergers de l'exploitation produisant de l'huile d'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes » jusqu'à l'année 2015 incluse.

Variétés secondaires : sauzen vert, rougette, olivastre, broutignan, vermillau, cul blanc, verdale de l'Hérault ou groussaldo, aglandau, amellau, pigalle, piquette, et autres variétés locales anciennes.

Au sein du présent article, on entend par variétés locales anciennes les variétés d'implantation au sein de l'aire de production antérieure au gel de 1956.

A l'intérieur de chaque verger, l'implantation d'oliviers de variétés pollinisatrices est admise lorsqu'ils sont disposés de façon harmonieuse et sans que leur nombre excède 5 % du nombre de pieds du verger considéré. L'utilisation d'olives issues de ces variétés pollinisatrices est admise pour la production d'huile d'appellation « huile d'olive de Nîmes », à condition que la proportion de ces olives n'excède pas 5 % de la masse d'olives mise en oeuvre.

Article 5

Les vergers sont conduits selon les dispositions suivantes :

Densité de plantation

Chaque arbre dispose d'une superficie minimale de 24 mètres carrés, cette superficie étant obtenue en multipliant les deux distances interrangs et espacement entre les arbres.

La distance entre les arbres doit être au moins égale à quatre mètres.

Culture intercalaire

Toute culture intercalaire est interdite.

Entretien des vergers

Les vergers doivent être entretenus soit par des façons culturales, soit enherbés et fauchés tous les ans.

Taille

Les oliviers doivent être taillés au moins une fois tous les deux ans.

Irrigation

L'irrigation pendant la période de végétation de l'olivier est autorisée jusqu'à la véraison.

Article 6

Ne peuvent prétendre à l'appellation « huile d'olive de Nîmes » que les huiles issues d'olives récoltées dans des vergers dont la production totale, quelle que soit sa destination, ne dépasse dix tonnes d'olives à l'hectare.

Pour une récolte déterminée, en cas de situation exceptionnelle, le rendement peut être diminué ou augmenté par arrêté du ministre chargé de l'économie et des finances et du ministre chargé de l'agriculture, pris sur proposition du comité national après avis du syndicat de défense de l'appellation d'origine contrôlée.

Toutefois, ce rendement ne peut en aucun cas dépasser douze tonnes d'olives à l'hectare. Le bénéfice de l'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes » ne peut être accordé qu'aux huiles élaborées à partir d'olives provenant d'arbres qui ont au minimum cinq ans.

Article 7

La date d'ouverture de la récolte est fixée par arrêté préfectoral sur proposition des services de l'INAO après avis du syndicat de défense de l'appellation d'origine contrôlée.

Toutefois, en cas de conditions climatiques exceptionnelles et sur demande individuelle, les services de l'INAO peuvent accorder des dérogations.

Article 8

Les huiles proviennent d'olives récoltées à maturité lorsque, au minimum, 25 % d'olives sont tournantes, à savoir lorsqu'elles sont passées du vert franc au jaune.

Les olives sont cueillies directement sur l'arbre ou récoltées par vibration, battage, aspiration ou par tout autre système ne détériorant pas l'aspect extérieur des olives avec réception des fruits sur des filets ou autres réceptacles sous l'arbre.

Les produits d'abscission sont interdits.

Il ne peut pas être élaboré d'huile d'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes » à partir d'olives ramassées à même le sol. Ces olives doivent être conservées séparément des lots d'olives pouvant prétendre à l'appellation d'origine contrôlée.

Les olives aptes à produire de l'huile d'appellation d'origine contrôlée sont stockées et transportées dans des caisses à claire-voie ou pallox. Elles sont ensuite livrées aux moulins, en bon état sanitaire.

Les olives doivent être livrées au moulin au maximum trois jours après leur récolte.

Article 9

Les olives mises en oeuvre doivent être saines. La durée de conservation entre la récolte et la mise en oeuvre ne peut excéder huit jours.

Le mélange d'olives de différentes variétés est autorisé avant broyage. Les olives de la variété picholine représentent au minimum 60 % de la masse des olives mises en oeuvre.

Le procédé d'extraction ne fait intervenir que des procédés mécaniques sans échauffement de la pâte d'olive au-delà d'une température maximale de 30 °C.

A l'exception de l'eau, l'emploi d'adjuvants pour faciliter l'extraction des huiles est interdit.

La teneur en acidité libre, exprimée en acide oléique de l'huile obtenue, est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes.

Article 10

Les huiles d'olive ne peuvent être commercialisées sous l'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes » sans l'obtention d'un certificat d'agrément délivré par l'INAO dans les conditions définies aux articles R. 641-19 à R. 641-27 du code rural relatifs à l'agrément des produits issus de l'oléiculture bénéficiant d'une appellation d'origine contrôlée.

Article 11

Outre les mentions obligatoires prévues par la réglementation relative à l'étiquetage et à la présentation des denrées alimentaires, l'étiquetage des huiles bénéficiant de l'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes » comporte les indications suivantes :

Le nom de l'appellation « huile d'olive de Nîmes » ;

La mention : « appellation d'origine contrôlée » ou « AOC ». Lorsque dans l'étiquetage figure, indépendamment de l'adresse, le nom d'une exploitation ou d'une marque, le nom de l'appellation est répété entre les mots « appellation » et « contrôlée ».

Ces indications sont regroupées dans le même champ visuel et sur la même étiquette.

Elles sont présentées dans des caractères apparents, lisibles, indélébiles et suffisamment grands qui ressortent bien du cadre sur lequel ils sont imprimés afin que ces indications se distinguent nettement de l'ensemble des autres indications écrites et dessins.

Article 12

L'emploi de toute indication ou de tout signe susceptible de faire croire à l'acheteur qu'une huile a droit à l'appellation d'origine contrôlée « huile d'olive de Nîmes », alors qu'elle ne

répond pas à toutes les conditions fixées par le présent décret, sera poursuivi conformément à la législation générale sur les fraudes et sur la protection des appellations d'origine.

Article 13

Le ministre d'Etat, ministre de l'économie, des finances et de l'industrie, le ministre de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales et le ministre délégué aux petites et moyennes entreprises, au commerce, à l'artisanat, aux professions libérales et à la consommation sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent décret, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 17 novembre 2004.

Jean-Pierre Raffarin

Par le Premier ministre :

Le ministre de l'agriculture, de l'alimentation,
de la pêche et des affaires rurales,

Hervé Gaymard

Le ministre d'Etat, ministre de l'économie,
des finances et de l'industrie,

Nicolas Sarkozy

Le ministre délégué
aux petites et moyennes entreprises,
au commerce, à l'artisanat,
aux professions libérales
et à la consommation,

Christian Jacob

ANNEXE 2

CHARTe STRATIGRAPHIQUE INTERNATIONALE

International Commission on Stratigraphy

Éon	Ère	Système	Série	Étage	GSSP	Âge (Ma)		Éon	Ère	Système	Série	Étage	GSSP	Âge (Ma)
Phanérozoïque	Cénozoïque	Quaternaire	Holocène			présent	✖	Phanérozoïque	Mésozoïque	Jurassique	Supérieur	Tithonien		145.0 ± 0.8
						0.0117						Kimméridgien		152.1 ± 0.9
			Pléistocène	Supérieur		0.126						Oxfordien		157.3 ± 1.0
				Moyen		0.781						Callovien		163.5 ± 1.0
				Calabrien		1.806					Bathonien		166.1 ± 1.2	
		Néogène	Pliocène	Gélasien		2.588					Bajocien		168.3 ± 1.3	
				Plaisancien		3.600					Aalénien		170.3 ± 1.4	
				Zancléen		5.333							174.1 ± 1.0	
			Miocène	Messinien		7.246					Toarcien		182.7 ± 0.7	
				Tortonien		11.62					Pliensbachien		190.8 ± 1.0	
				Serravallien		13.82				Sinemurien		199.3 ± 0.3		
				Langhien		15.97				Hettangien		201.3 ± 0.2		
				Burdigalien		20.44								
				Aquitanien		23.03								
				Paléogène	Oligocène	Chattien					28.1	Rhétien		~ 208.5
		Rupélien				33.9				Norien		~ 228		
		Éocène	Priabonien			38.0				Carnien		~ 235		
			Bartonien			41.3				Ladinien		~ 242		
			Lutétien			47.8				Anisien		247.2		
	Yprésien				56.0	Olénékien				251.2				
	Paléocène	Thanétien			59.2	Induen				252.2 ± 0.5				
		Sélandien			61.6	Changhsingien				254.2 ± 0.1				
		Danien			66.0	Wuchiapingien				259.9 ± 0.4				
						Capitanien				265.1 ± 0.4				
	Mésozoïque	Crétacé	Supérieur	Maastrichtien		72.1 ± 0.2			Guadalupien		Wordien		268.8 ± 0.5	
				Campanien		83.6 ± 0.2			Roadien		272.3 ± 0.5			
				Santonien		86.3 ± 0.5			Kungurien		279.3 ± 0.6			
				Coniacien		89.8 ± 0.3			Cisuralien		Artinskien		290.1 ± 0.1	
				Turonien		93.9			Sakmarien		295.5 ± 0.4			
				Cénomanien		100.5			Assélien		298.9 ± 0.2			
				Albien		~ 113.0			Gzhélien		303.7 ± 0.1			
				Aptien		~ 125.0			Kasimovien		307.0 ± 0.1			
			Inférieur	Barrémien		~ 129.4			Moscovien		315.2 ± 0.2			
				Hauterivien		~ 132.9			Bashkirien		323.2 ± 0.4			
				Valanginien		~ 139.8			Serpukhovien		330.9 ± 0.2			
Berriasien					~ 145.0	Viséen		346.7 ± 0.4						
						Tournaisien		358.9 ± 0.4						

