REQUASUD

La **spectrométrie** proche infrarouge

Une technologie rapide, précise et écologique pour déterminer la composition et la qualité des produits agricoles et alimentaires.

par
O. Minet
F. Ferber
L. Jacob
B. Lecler
R. Agneessens
T. Cugnon
V. Decruyenaere
V. Genot
S. Gofflot
E. Pitchugina
V. Planchon
M. Renneson
G. Sinnaeve
B. Wavreille
P. Dardenne
V. Baeten

Avec la collaboration des laboratoires de la Chaine Qualité alimentaire - Technique NIR et de la Cellule de coordination de l'ASBL **REQUASUD**.

Wallonie

Avant-propos

Les origines de **REQUASUD** remontent maintenant à près de 40 ans. L'histoire commence, en 1976, par l'arrivée à la Station de Haute Belgique du CRA-W à Libramont, d'un nouvel assistant de recherche dénommé Robert Biston. Celui-ci prend en charge le laboratoire de chimie analytique et y développe, à côté des analyses de pommes de terre déjà en place, les méthodes de caractérisation des fourrages : protéines, fibres, fractionnement de Van Soest et digestibilité in vivo. Dès 1977, il prend connaissance des travaux de Karl Norris [(1)] et John Shenk sur l'utilisation de la spectrométrie proche infrarouge (SPIR) pour déterminer ces constituants chimiques dans les fourrages. Deux ans plus tard, en 1979, le premier appareil proche infrarouge est installé dans le laboratoire de Libramont. C'est le démarrage de l'expertise du CRA-W en matière de spectrométrie dans le proche infrarouge. Cet appareil, construit aux USA est constitué de filtres tournants difficile à calibrer avec les moyens informatiques de l'époque. Suivant les développements technologiques de près, Robert Biston acquiert un second instrument en 1981 : il s'agit d'un monochromateur de recherche couvrant la gamme spectrale allant de 1100 à 2498 nm. C'est le 3ème exemplaire en Europe. Ce monochromateur est piloté par un Personnel Computer Data General de 32kb de mémoire centrale. Le stockage de « masse » est limité à 128 kb, soit un maximum de 200 spectres. Malgré ces limitations, les premiers étalonnages sur fourrage sont réalisés avec succès. C'est également en 1981 que j'ai rempli et scanné mes premières coupelles de fourrage avant de me consacrer à la programmation et aux traitements de données. En 1984, démarre, sous l'impulsion de Robert Biston et Jean Lambert, un projet commun appelé REQUASE pour le développement de la SPIR et l'analyse de fourrages à plus grande échelle. Dès 1987, le projet s'étend à la Wallonie avec l'installation dans chaque laboratoire provincial d'un appareil SPIR de routine. Pour nous mettre en route et standardiser correctement les instruments, le Professeur John Schenk, de l'université de Pennsylvanie à State College, intervient à plusieurs reprises. Nous garderons avec lui des contacts étroits et fructueux jusqu'à son décès inopiné en 2011. En 1994, le ministre Guy Lutgen signe la première convention-cadre accordée à l'ASBL **REQUASUD** (Réseau Qualité Sud) avec comme base l'utilisation de l'infrarouge pour

l'analyse des productions agricoles. Les appareils à filtres basculants sont remplacés par des monochromateurs qui resteront en service jusqu'en 2009. L'infrarouge a vraiment formé le socle fondateur de **REQUASUD** dont les actions ont été étendues à ce que l'on connaît aujourd'hui : une cellule de coordination, des laboratoires d'encadrement basés dans des institutions scientifiques (UCL, ULg-Gembloux-AgroBioTech et CRA-W) et des laboratoires de proximité.

La présente brochure a pour but de faire le point sur les acquis de 27 ans de collaboration afin de développer des techniques rapides et peu coûteuses permettant d'aider les agriculteurs à mieux gérer leur exploitation. Outre les applications historiques sur les céréales et les fourrages, **REQUASUD** a mis récemment en service l'analyse des sols par SPIR. En plus du support aux agriculteurs, **REQUASUD** peut aussi apporter un service au citoyen par l'analyse rapide des aliments. Le récent développement de bases de données sur les plats préparés en est un exemple.

Avant d'aborder la technique SPIR et de montrer les applications, je me dois de remercier la Wallonie, notamment la DGO3 (Direction Générale Agriculture, Ressources naturelles et Environnement) ainsi que les ministres qui se sont succédés, Mrs Guy Lutgen, José Happart, Benoît Lutgen, Carlo Di Antonio et René Collin, et qui tous ont fait confiance à **REQUASUD** et reconnu le travail effectué comme indispensable au monde agricole.

Je remercie également les membres du Conseil d'administration de **REQUASUD**, Mme Françoise Demeuse, les Professeurs Michel Van Koninckxloo, Gilles Colinet et Jacques Mahillon, Mrs Emile Piraux, Pierre Courtois et René Vansnick pour leur dévouement et la franche collaboration qu'ils apportent au développement des activités de l'ASBL.

Enfin je remercie tous les acteurs, la Cellule de coordination et les partenaires de **REQUASUD** qui apportent, chacun à leur niveau, leur pierre à l'édifice pour construire un monde meilleur. Pour **REQUASUD**, cela signifie des aliments régionaux de qualité, produits durablement et dans le respect de l'environnement.

Pierre Dardenne,
Président

[1] K.H Norris, R. F. Barnes, J.E Moore, J.S. Shenk5 - Predicting Forage Quality by Infrared Reflectance Spectroscopy. Journal of Animal Science, Vol.43, N°4 (1976).

Sommaire

Avant-propos 2

1/ Introduction 5

2/ L'infrarouge 6

Base et théorie 6

Instrumentation 8

Spectromètre PIR utilisé au sein du réseau REQUASUD 8

Contrôle des instruments PIR 9

Préparation des échantillons 10

Types de cellules de mesure et remplissage 11

Standardisation 12

Chimiométrie & statistiques 13

3/ Qualité des analyses au sein des laboratoires REQUASUD 16

Organisation d'essais interlaboratoires 16

4/ Principaux produits analysés au sein des laboratoires REQUASUD par méthode PIR 17

Froment et orge 17

Aliments composés 19

Fourrages 20

Produits alimentaires : plats préparés / fromages / viandes 22

Sols 24

Engrais de ferme 26

5/ Glossaire 29

Références bibliographiques 31

1. Introduction

Dans un contexte de qualité globale, l'analyse des produits agricoles et alimentaires revêt une importance de plus en plus grande, que ce soit au niveau de leur production, de leur transformation ou de leur consommation.

Déjà en amont de la chaine, il est indispensable pour l'agriculteur de connaitre les caractéristiques physico-chimiques de ses sols afin d'adapter au mieux leur gestion durable. Pour le sélectionneur également, il est nécessaire de connaitre le plus rapidement possible la qualité de ses nouvelles variétés. Dans certains cas même, une analyse non-destructive des semences est requise.

Confrontés aux lois des marchés actuels, généralement de dimensions internationales, les agriculteurs doivent avoir à leur disposition des outils leur permettant d'évaluer facilement la qualité de leurs productions afin de les valoriser au mieux, soit pour la vente, soit pour un usage propre.

Les industries de transformation ont un besoin évident de caractériser parfaitement les intrants et les produits finis afin de suivre et d'optimaliser leurs processus de fabrication.

Enfin, le consommateur exige de plus en plus d'informations relatives aux produits qu'il achète. C'est d'ailleurs devenu une obligation légale d'étiqueter correctement les produits vendus sur le marché.

La chimie analytique s'est enrichie depuis maintenant plus de 40 ans d'une technique rapide, la spectrométrie dans le proche infrarouge (Spectrométrie PIR ou SPIR, NIR en anglais), qui permet un dosage rapide, non destructif et simultané des constituants organiques majeurs des produits.

2. L'infrarouge

Base et théorie

Un peu d'histoire…

L'infrarouge fut découvert en 1800 lorsque l'astronome britannique William Herschel décomposa à l'aide d'un prisme la lumière blanche du soleil en ces différentes couleurs (figure 1). Ce dernier eu la brillante idée de placer des thermomètres aux emplacements des différentes couleurs qu'il pouvait observer, mais aussi au-delà ; et c'est là qu'il remarqua un échauffement.

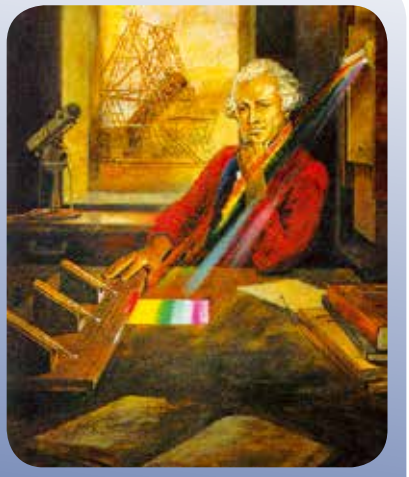

Figure 1 : William Herschel observant la décomposition de la lumière visible par un prisme (source : www.herschel.fr)

La spectrométrie proche infrarouge

Sachant que la lumière est notamment un phénomène ondulatoire, la longueur d'onde est la distance parcourue par l'onde pendant un cycle complet. Le rayonnement se déplaçant à la vitesse de la lumière c, la longueur d'onde λ est liée à la fréquence ν égale au nombre de cycles par seconde (exprimé en Hertz): $\lambda = c/\nu$. Dans la région de l'infrarouge, on utilise le micron ou micromètre (1 µm = 10^{-6} mètre) et dans le proche infrarouge le nanomètre (1 nm = 10^{-9} mètre). La spectrométrie dans l'infrarouge proche est une méthode d'analyse instrumentale basée sur l'absorption sélective par la matière d'une part de la radiation électromagnétique comprise entre 780 et 2500 nm. La loi permettant de relier l'absorbance à la concentration a été définie par Lambert-Beer sous la forme :

$$A = \log(1/R) = \log(I_0/I) = \log I_0 - \log I = K*C*P$$

Avec

A : absorbance ou densité optique

R : réflectance

I_0 : intensité de l'énergie incidente

I : intensité de l'énergie réfléchie

K : coefficient d'absorptivité $(L.mol^{-1}.cm^{-1})$

C : concentration (mol/L)

P : chemin optique (cm)

Dans la pratique K et P sont inconnus et dépendent de la longueur d'onde, de l'analyte et de la granulométrie de l'échantillon analysé. C'est pourquoi, l'étalonnage en spectrométrie infrarouge est empirique et sera basé sur la connaissance des concentrations déterminées par des méthodes de référence.

Il en déduit qu'il devait exister en plus de la lumière visible, des rayonnements invisibles capables de transporter de l'énergie. Il venait de découvrir un nouveau type de lumière que l'on a appelé rayonnement infrarouge.

La lumière visible (380-780 nm) que l'on peut observer sous différentes couleurs correspond à des ondes électromagnétiques auxquelles l'œil humain est sensible. Chaque onde peut être caractérisée par sa longueur ou par sa fréquence. C'est ainsi qu'une radiation de couleur violette est caractérisée par des longueurs d'onde se trouvant dans le voisinage des 400 nm (1 nanomètre = 10^{-9} mètre) alors qu'une

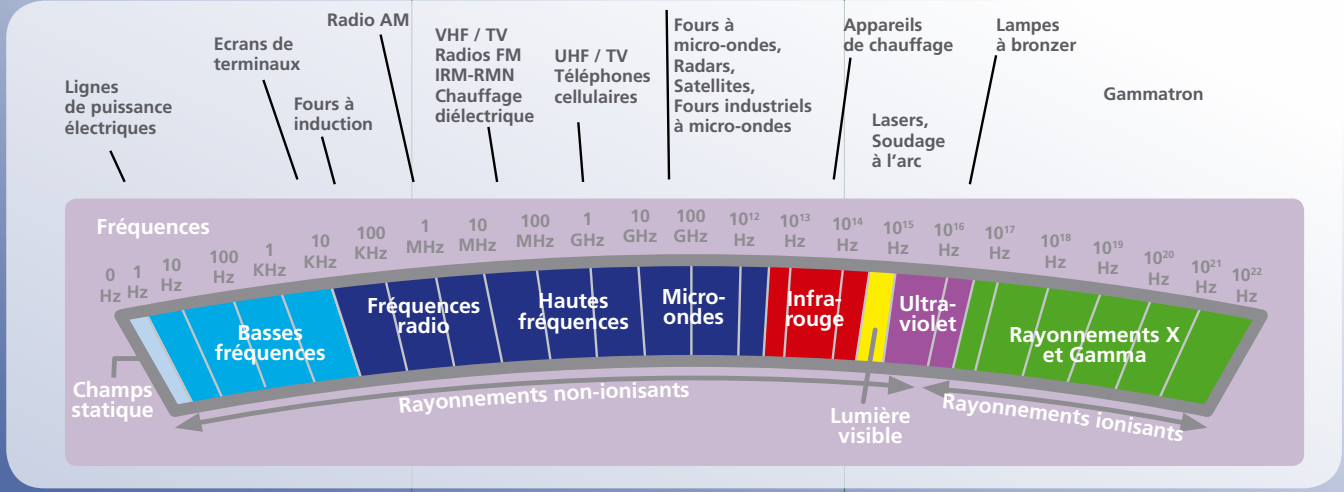

Figure 2: Différentes parties du spectre électromagnétique (source : http://metamateriau-utilite.tpe)

radiation de couleur rouge aura lieu aux environs de 750 nm.

Les rayonnements infrarouges sont du même type que les ondes visibles si ce n'est que la longueur de ces ondes est plus grande et invisible pour l'œil humain. Ils ne sont d'ailleurs pas les seuls que nous ne pouvons percevoir. Les rayons UV, X ou gamma sont également des ondes électromagnétiques invisibles.

Interaction entre la lumière et la matière

L'absorption de la lumière induit la vibration de certaines liaisons covalentes des molécules (N-H, O-H, C-H, S-H, ...). Lorsqu'une radiation infrarouge frappe une molécule, on constate, pour certaines longueurs d'onde, une absorption sélective de la lumière correspondant aux fréquences de vibrations caractéristiques des liaisons chimiques. Il existe deux types de vibrations moléculaires: les vibrations d'élongation et les vibrations de déformation. Une vibration d'élongation est une vibration au cours de laquelle deux atomes se rapprochent et s'éloignent périodiquement le long de leur axe commun. Dans une vibration de déformation, ce sont les angles entre liaisons qui sont modifiés. Ce sont les perturbations survenant dans la répartition des charges électriques à l'intérieur de la molécule, du fait des diverses vibrations, qui sont responsables de l'interaction se produisant entre cette molécule et le champ électromagnétique oscillant de la radiation infrarouge. D'une façon générale, une molécule non linéaire comprenant N atomes présente 3N-6 modes de vibrations fondamentales. Ce nombre théorique de modes de vibrations (et de fréquences d'absorption) ne correspond pas au nombre de bandes d'absorption du spectre. En effet, on observe des bandes supplémentaires correspondant à des fréquences harmoniques des fréquences fondamentales ou des bandes de combinaison dont la fréquence résultante est égale à la somme ou à la différence des fréquences de deux vibrations fondamentales. Si les groupements moléculaires se comportaient comme des oscillateurs harmoniques, ces bandes supplémentaires n'existeraient pas. Heureusement, les vibrations réelles ne sont pas exactement harmoniques. Les vibrations fondamentales sont observées dans le moyen infrarouge au-dessus de 2 500 nm. Les bandes de combinaison et les harmoniques sont observées dans le proche infrarouge.

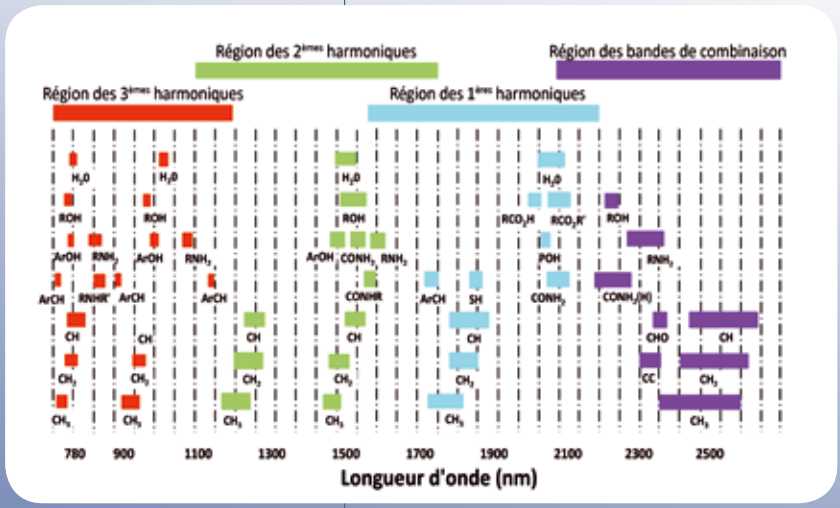

Figure 3 : Les différentes régions d'absorption des liaisons chimiques en fonction des longueurs d'onde en proche infrarouge (source : logiciel winisi@Foss)

L'axe des abscisses de la figure ci-dessus représente les longueurs d'onde (nm) du spectre électromagnétique relatives au proche infrarouge. En fonction de leurs constitutions, les molécules organiques absorbent les radiations PIR à des longueurs d'onde spécifiques.

En fonction de la longueur d'onde, différentes parties du spectre électromagnétique peuvent être définies (figure 2). En partant des fréquences les plus élevées (extrémité droite de la figure), on a successivement les rayons gamma, X, UV, visible, l'infrarouge, les micro-ondes, les ondes radios,...

La région infrarouge du spectre électromagnétique peut être subdivisée en 3 sous-régions :

- le proche infrarouge (780-2 500 nm),
- le moyen infrarouge (2 500-25 000 nm),
- l'infrarouge lointain (25 000 -1 000 000 nm).

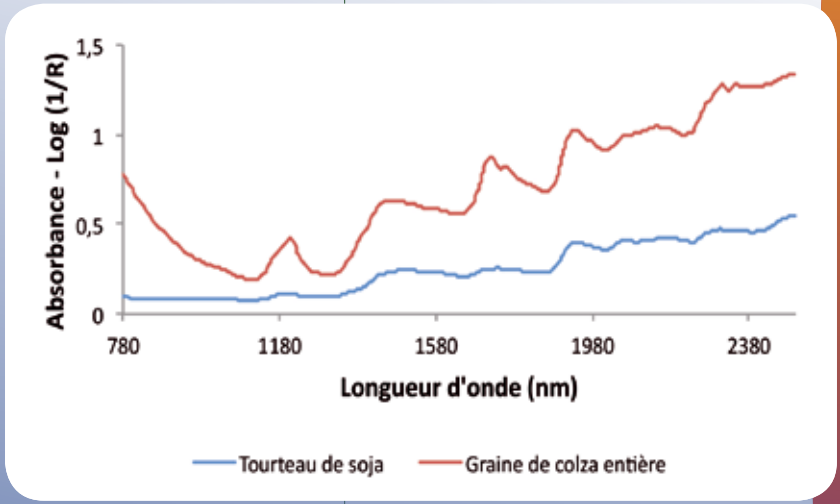

Figure 4 : Spectres proche infrarouge de 2 produits agricoles : tourteau de soja et graines de colza. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

La figure 4 représente les spectres dans le proche infrarouge de 2 produits agricoles courants (tourteau de soja broyé et graines de colza entières). L'axe des abscisses représente les longueurs d'ondes (nm) et l'axe des ordonnées les valeurs d'absorbance (Log 1/R). Le profil spectral de ces 2 produits agricoles est complètement différent dû d'une part à leur différence de composition chimique importante et d'autre part dû à leur état physique (le tourteau de soja a été broyé à 1 mm préalablement avant l'analyse et le colza a été analysé sous forme de graines entières).

Figure 5 : Cellules de mesure utilisées en spectrométrie infrarouge. La cellule de gauche contient l'échantillon de colza et celle de droite l'échantillon de tourteau de soja broyé.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

L'intérêt du rayonnement proche infrarouge est qu'il a la particularité de faire vibrer les liaisons chimiques des molécules organiques. C'est ainsi qu'il va y avoir une interaction plus ou moins forte entre le rayonnement proche infrarouge et les liaisons chimiques des molécules des protéines, des matières grasses, des glucides (p.e. ; sucres, amidon), de l'eau et de tout autre constituant. Chaque constituant ayant un spectre d'absorption spécifique dans le proche infrarouge (figure 3).

Un spectromètre proche infrarouge est un appareil permettant d'acquérir le profil spectral à différentes longueurs d'onde des échantillons mesurés. Un spectromètre est composé principalement d'une source lumineuse polychromatique qui est dispersée en lumière monochromatique via un réseau holographique (ou tout autre type de sélectionneur d'onde). Après interaction avec l'échantillon, la lumière réfléchie est mesurée par un détecteur approprié.

Il est donc possible de calculer le pourcentage d'énergie absorbée par l'échantillon et inversement le pourcentage d'énergie réfléchie (on parlera de réflectance) ou transmise (on parlera de transmittance) par l'échantillon à chaque longueur d'onde. Ce pourcentage est fonction de la nature et de la concentration des différents constituants ainsi que l'état physique de l'échantillon.

Le profil spectral d'un échantillon est représenté graphiquement sous la forme de ce qu'on appelle communément un spectre proche infrarouge. L'axe des abscisses correspond aux différentes longueurs d'ondes (exprimés en nm), et l'axe des ordonnées correspond à la mesure de l'absorbance, c'est-à-dire au logarithme de l'inverse de la réflectance (A = Log 1/R) ou de la transmittance (A= Log 1/T).

Chaque échantillon a un profil spectral qui lui est propre et qui intègre les absorptions élémentaires de chaque constituant auxquelles viennent s'ajouter des interférences liées aux caractéristiques physiques de l'échantillon.

Afin d'illustrer les différences spectrales observées entre différents types de produits agricoles, la figure 4 montre le spectre d'un tourteau de soja broyé très riche en protéines (≈ 45%) et celui d'un échantillon de graine de colza riche en matière grasse (≈ 43%). En raison de leur composition chimique et de leur granulométrie spécifique, des profils spectraux complètement différents sont observés. La figure 5 présente les cellules de mesure utilisées en spectrométrie infrarouge remplie des échantillons mesurés.

Instrumentation

Spectromètre PIR utilisé au sein du réseau REQUASUD

Les premiers instruments proche infrarouge dédicacés à l'analyse des produits agro-alimentaires sont apparus aux Etats-Unis au milieu des années 1970. Initialement conçus pour le dosage de l'humidité, ils ont beaucoup évolués et permettent aujourd'hui de déterminer un grand nombre de constituants organiques et de paramètres qualitatifs, spécialement dans les produits agricoles et alimentaires.

Figure 6 : Spectromètre NIRSystem 5000 installé dans le réseau REQUASUD de 1989 à 2008.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Figure 7 : Répartition des laboratoires du réseau REQUASUD constituant le réseau PIR en Wallonie et au Luxembourg.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

1 Laboratoire associé à l'ASBL CARAH à Ath
2 Laboratoire associé à l'ASBL Brabant Wallon Agro-qualité à La Hulpe
3 Laboratoire associé à l'ASBL Objectif qualité à Gembloux
4 Département Valorisation des Productions - CRA-W - Laboratoire d'Encadrement Référentiel à Gembloux
5 Laboratoire de la Province de Liège à Tinlot-Scry
6 Laboratoire associé à l'ASBL OPA-Qualité à Ciney
7 Laboratoire Comité du lait-Agrolab à Battice
8 Laboratoire d'étude de la qualité - Centre de Michamps – UCL à Michamps
9 Bâtiment de Haute-Belgique - CRA-W - Laboratoire d'Encadrement Référentiel à Libramont
10 Laboratoire ASTA (Administration des Services Techniques de l'Agriculture) à Ettelbruck (Luxembourg)

Figure 8 : Spectromètre XDS installé au sein du réseau REQUASUD depuis 2008.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Certains organismes comme le Canadian Grain Commission ou l'American Association of Cereal Chemists retenaient déjà cette technique dès les années 1980 comme méthode officielle pour l'évaluation de la teneur en protéines dans les céréales.

REQUASUD a été créé en 1989 à l'initiative de Robert Biston et a consisté en l'un des premiers réseaux de spectromètres au monde ! Il s'agissait à l'époque de NIRSystem 5000 (figure 6).

Le réseau PIR de **REQUASUD** (figure 7) compte en 2016 neuf laboratoires répartis sur l'ensemble de la Wallonie, et un dixième au Luxembourg (laboratoire adhérant au réseau). Le réseau est coordonné depuis ses débuts par le Laboratoire d'Encadrement Référentiel de la chaine Qualité alimentaire - Technique NIR basé au CRA-W.

Depuis 2008, les NIRSYstem 5000 ont été remplacés par des appareils plus modernes et plus performants. Il s'agit de XDS (figures 6 et 8).

Le système optique des appareils XDS est composé d'un monochromateur (sélecteur d'onde) qui décompose la lumière dans la gamme des longueurs d'onde allant de 400 à 2 500 nm (visible + proche infrarouge).

Contrôle des instruments PIR

Le logiciel ISIScan de chaque XDS permet de lancer des tests de diagnostics. Ces tests, que chaque laboratoire se doit de lancer chaque jour, permettent de contrôler que tous les composants du spectromètre (lampe, carte mère, détecteur, hardware, …) sont bien fonctionnels.

Chaque laboratoire est également tenu de mesurer quotidiennement une « check cell » et de réaliser une carte de contrôle (figure 9). Grâce à ce procédé, chaque laboratoire est en mesure de contrôler le bon état de fonctionnement et la stabilité de son instrument afin de produire des analyses constantes pour un même échantillon au cours du temps.

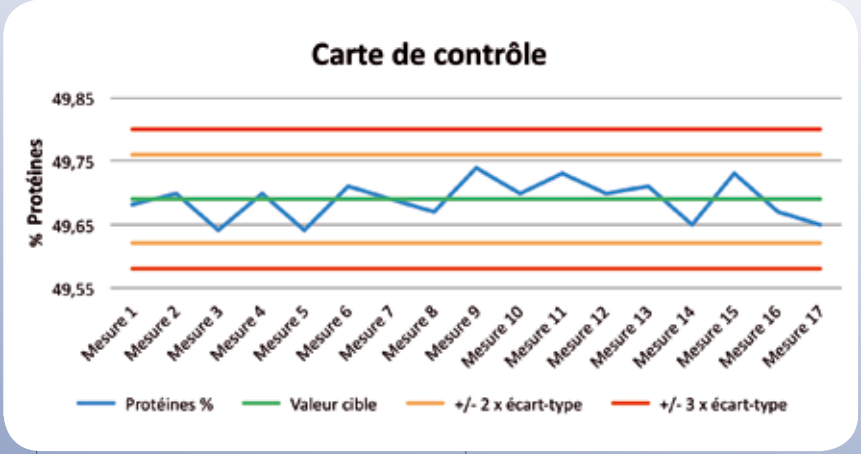

Figure 9 : Carte de contrôle du spectromètre XDS installé au Laboratoire d'Encadrement Référentiel à Gembloux. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Une carte de contrôle est un outil utilisé dans le domaine de la qualité afin de maîtriser et d'évaluer un processus. Son utilité est de pouvoir détecter rapidement le moment où une variation apparaît dans le processus et le cas échéant de prendre les actions correctives appropriées afin de retourner à la situation normale. Sans entrer dans le détail, une carte de contrôle SPIR s'élabore en mesurant une check-cell, qui est une cellule scellée contenant une poudre inerte, au minimum une trentaine de fois et dans des conditions de mesure qui sont pratiquées en routine. La valeur moyenne des prédictions (en général le paramètre "protéines") de cette cellule représente la valeur cible. Les limites de surveillance et d'action sont calculées sur base de l'écart-type de ces prédictions.
Les limites de surveillances sont situées à +/- 2 x l'écart-type, et les limites d'action +/- 3 x l'écart-type. En plus de ceci, il existe toute une série de règles amenant un signal de surveillance. Par exemple 9 points consécutifs supérieurs à la valeur cible mais inférieurs à 2 x l'écart-type.
Ce système de carte de contrôle permet d'assurer la qualité des analyses pour les laboratoires travaillant sous la norme ISO 17025. Le Laboratoire d'Encadrement Référentiel est accrédité ISO 17025 pour l'analyse PIR des aliments composés.

Figure 10 : Etuve destinée au séchage des fourrages et ensilages. L'opérateur veillera de disposer les échantillons en fine couche et de les retourner toutes les demi-journées afin d'obtenir un séchage homogène.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Préparation des échantillons

Contrairement aux analyses chimiques de référence, la préparation des échantillons est minimale en analyse par spectrométrie PIR.

Dans de nombreux cas, les échantillons peuvent directement être analysés tel quel (les graines de céréales et d'oléagineux, de l'ensilage en frais, du compost en frais, …).

Cependant, une préparation réduite de l'échantillon avant la mesure peut être requise. Cette préparation se limite généralement à un séchage et/ou à un broyage :

- *Le séchage de l'échantillon.* L'eau a la particularité d'absorber énormément en infrarouge. Cela se traduit au niveau spectral par la présence de 2 bandes d'absorption de l'eau qui peuvent masquer certaines informations particulièrement utiles pour le dosage des autres paramètres. C'est pourquoi, préalablement à l'analyse, certains types d'échantillons tels que les fourrages ou les fumiers sont séchés. Il est préférable de sécher à maximum 60 °C afin d'éviter les réactions de Maillard et jusqu'à poids constant, généralement 48 h (figure 10). Après ce passage à l'étuve, on parle de « matière sèche étuve ». Pour calculer la matière sèche analytique, il faut placer ensuite l'échantillon, qui aura été préalablement broyé, dans un four à 103 °C pendant 4 h.
- *Le broyage des échantillons :* la plupart des bases de données PIR contiennent des spectres d'échantillons qui ont été broyés finement à 1 mm. En effet, les analyses PIR sont sensibles à l'hétérogénéité et à la granulométrie des échantillons analysées. Si la taille des particules n'est pas fine et homogène, cela peut induire des interférences et des phénomènes physiques qui peuvent avoir pour effet de perturber les mesures PIR.

A l'exception des étapes de séchage et le broyage, les analyses PIR ne nécessitent aucun produit chimique et matériel d'extraction coûteux. De plus l'analyse étant non destructive, l'échantillon n'est ni contaminé ni souillé, et peut être utilisé pour d'autres analyses.

+/- 8 g d'échantillon	+/- 20 g d'échantillon	+/- 300 g d'échantillon
Poudres homogènes	Fourrages broyés et sols	Graines entières de céréales ou fourrage en frais

Figure 11 : Les cellules de mesure utilisées par le réseau REQUASUD pour les mesures PIR.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Figure 12 : Spatule à bord droit recommandé pour le remplissage des coupelles de mesure.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Figure 13 : Répartiteur à rifles utilisé pour partitionner de manière homogène les échantillons.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Figure 14 : Boite de standardisation contenant des échantillons standards utilisés par le Laboratoire d'Encadrement Référentiel pour rendre similaire la réponse spectrale des spectromètres du réseau **REQUASUD**.

Une boite de standardisation est constituée de 40 cellules scellées contenant des poudres de produits agricoles divers (froment, maïs, soja, café, …). La composition de ces poudres étant très différentes, les spectres PIR de ces mêmes échantillons sont par conséquent très différents également et couvrent la gamme spectrale de tous les produits que l'on peut retrouver dans les produits issus de l'agriculture. L'algorithme de standardisation est établi sur base de toutes ces cellules ce qui permet de standardiser en une seule opération tous les produits agricoles broyés.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Types de cellules de mesure et remplissage

Différents types de cellule de mesure sont disponibles pour les appareils du réseau (figure 11). Pour des poudres très homogènes, il n'est pas nécessaire d'utiliser une cellule de grande taille. Par contre pour des échantillons hétérogènes comme des graines entières de froment ou des échantillons d'ensilage en frais, il est recommandé d'utiliser une cellule la plus grande possible afin d'intégrer au maximum l'hétérogénéité du produit scanné. Pour obtenir des analyses encore plus précises, il est recommandé de mesurer plusieurs fois l'échantillon en vidant et en remplissant à nouveau la cellule de mesure.

En raison de la ségrégation de l'échantillon en fonction de la granulométrie de celui-ci, l'étape de remplissage des cellules de mesure est extrêmement importante en analyse PIR. En effet, les particules fines ont naturellement tendance à sédimenter et à se retrouver dans le fond du récipient. Or, un spectromètre PIR ne mesure que la fine couche inférieure de l'échantillon qui lui est présenté. Si l'échantillon est constitué de particules de dimensions variables, il faut être très précautionneux quant au remplissage de la cellule de mesure. La façon la plus appropriée consiste à mélanger lentement l'échantillon dans son récipient d'origine et à prélever à l'aide d'une spatule à bord droit (figure 12) plusieurs sous-échantillons que l'on dépose ensuite dans la cellule, tout en évitant de la secouer et de tasser l'échantillon lors de la manipulation de la cellule.

Il n'est pas toujours possible d'analyser l'entièreté de l'échantillon si la quantité est trop importante. Il existe des instruments comme le répartiteur à rifles qui permet de diviser l'échantillon de manière homogène (figure 13).

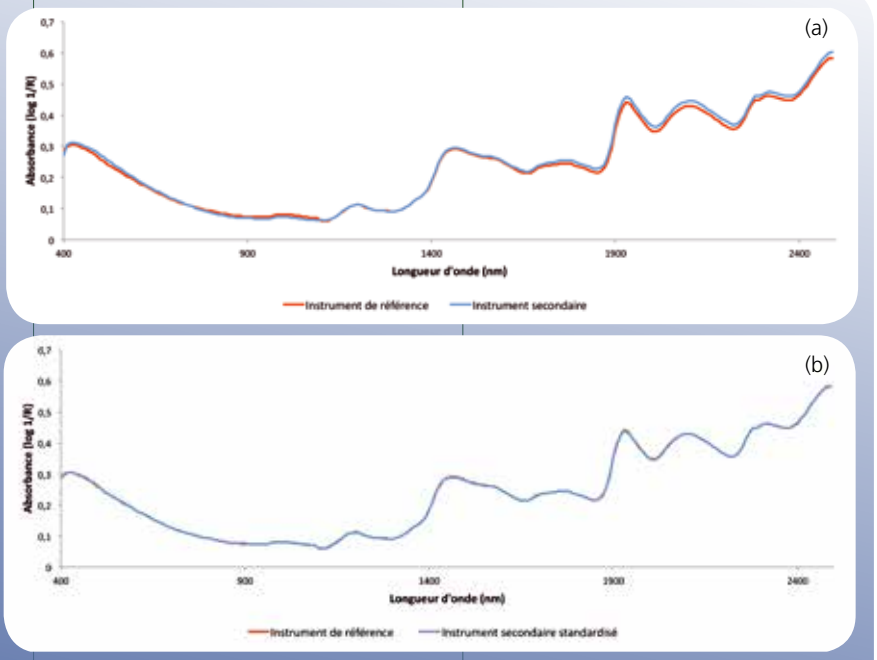

Figure 15 : Comparaison du spectre visible et proche infrarouge d'un même échantillon mesuré sur l'instrument de référence (en rouge) et sur un instrument du réseau (en bleu). Comparaison (a) avant et (b) après standardisation. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Tableau 1

Comparaison avant et après standardisation des prédictions pour la teneur en protéines entre le spectromètre de référence et un spectromètre du réseau (instrument secondaire).

Analyse des protéines (%) avant standardisation

	Instrument de référence	Instrument secondaire
Echantillon 1	12,07	12,57
Echantillon 2	11,83	12,11
Echantillon 3	12,02	12,62
Echantillon 4	12,93	13,54
Echantillon 5	11,59	11,99
Echantillon 6	8,00	8,64
Echantillon 7	9,94	10,66
Echantillon 8	13,86	14,45
Echantillon 9	14,66	15,10
Echantillon 10	13,23	13,74
	Biais	-0,53
	SED	0,54

Analyse des protéines (%) après standardisation

	Instrument de référence	Instrument secondaire Standardisé
Echantillon 1	12,07	12,15
Echantillon 2	11,83	11,79
Echantillon 3	12,02	12,12
Echantillon 4	12,93	13,10
Echantillon 5	11,59	11,68
Echantillon 6	8,00	8,14
Echantillon 7	9,94	10,11
Echantillon 8	13,86	13,96
Echantillon 9	14,66	14,64
Echantillon 10	13,23	13,28
	Biais	0,08
	SED	0,11

Standardisation

Chaque année, tous les spectromètres du réseau **REQUASUD** sont contrôlés et standardisés sur l'instrument de référence (c'est-à-dire le spectromètre installé au Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Cette standardisation est nécessaire afin d'assurer que tous les spectromètres donnent des réponses spectrales identiques et que les mêmes équations d'étalonnage puissent être utilisées par les partenaires du réseau. A cette fin, des échantillons standards constitués de poudres de différents produits agricoles sont mesurés sur chaque appareil du réseau. L'étape de standardisation permet d'assurer une équivalence entre les instruments du réseau et l'instrument de référence (figure 14).

L'application d'un algorithme mathématique complexe permet de rendre similaire la réponse spectrale de tous les instruments. Ainsi, les spectres des instruments « secondaires » sont équivalents à ceux de l'instrument de référence (figure 15).

Le tableau 1 présente les résultats d'analyse PIR du paramètre « protéines » pour 10 échantillons de froment. Les échantillons ont été analysés sur l'instrument de référence et sur l'instrument secondaire non standardisé et standardisé. Afin de mesurer les différences entre les mesures, le critère statistique SED est utilisé. Le SED (« Standard error of differences ») représente l'erreur quadratique moyenne entre les valeurs de prédictions PIR de l'instrument maitre et celles d'un instrument du réseau. On voit très clairement que le SED est cinq fois plus petit après standardisation et que le biais (figure 16) est devenu négligeable, en d'autres mots, que les performances de l'équation sont significativement améliorées.

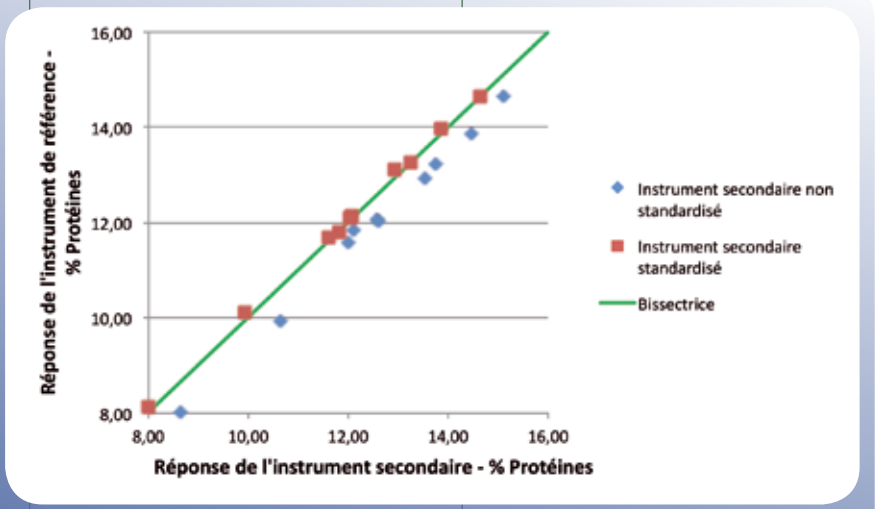

Figure 16 : Comparaison des analyses PIR avant et après standardisation.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Une standardisation spécifique pour les grains est également réalisée chaque année au niveau des laboratoires du réseau **REQUASUD** qui mesurent en routine ce type de produits.

Tous les spectromètres du réseau sont connectés à un serveur central. Le Laboratoire d'Encadrement Référentiel gère le serveur et paramètre à distance les instruments du réseau. Ceux-ci partagent les mêmes modèles de prédictions et chaque mise à jour est automatiquement prise en compte.

Chimiométrie & statistiques

L'intérêt d'un spectromètre proche infrarouge n'est pas, bien entendu, de mesurer uniquement le profil spectral d'un échantillon mais bien de déterminer les constituants majeurs de celui-ci. Pour cela, il est nécessaire de faire appel à la chimiométrie.

La chimiométrie

Elle concerne l'application de méthodes statistiques et mathématiques à des données analytiques et va nous permettre de construire des modèles prédictifs (= équation mathématique). Ces modèles prédictifs obtenus vont ensuite être utilisés pour déterminer le pourcentage des constituants majeurs à partir des absorbances.

Afin de générer les modèles prédictifs (encore appelés équation ou étalonnage), il est nécessaire de disposer d'une base de données représentative du produit à analyser. Cette base de données est constituée d'une librairie de spectres correspondant à des échantillons dont les constituants ont été déterminés par des méthodes chimiques (aussi appelées méthodes de référence).

Un modèle prédictif sera d'autant plus robuste qu'il compte dans sa base de données, des spectres représentatifs de l'ensemble de la population à analyser, et d'autant plus performant que les analyses de référence ont été réalisées avec précision.

Etant donné qu'il s'agit de produits agricoles dont la composition peut varier en fonction de multiples facteurs (variétés, conditions climatiques de l'année, pratiques culturales, conditions pédologiques…), il est nécessaire d'ajouter continuellement des spectres d'échantillons dans la base de données et de mettre à jour les modèles prédictifs afin d'intégrer toutes ces sources de variabilité.

La spectrométrie dans le proche infrarouge ne permet pas un dosage direct des constituants. Il s'agit d'une méthode indirecte qui se réfère à des étalonnages par rapport à des méthodes de référence. Un étalonnage doit être établi pour chaque produit et pour chaque constituant. Dès lors que les modèles prédictifs ont été construits, ils peuvent être utilisés en routine sur base des données optiques (= absorbance) pour analyser rapidement de grandes séries d'échantillons et pour une détermination simultanée de la composition de plusieurs paramètres.

La figure 17 illustre les résultats d'un modèle prédictif pour la détermination des protéines dans les graines de froment. Chaque point du graphique correspond à un échantillon. L'axe des ordonnées représente les teneurs en protéines obtenues par méthode de référence (= analyse chimique,

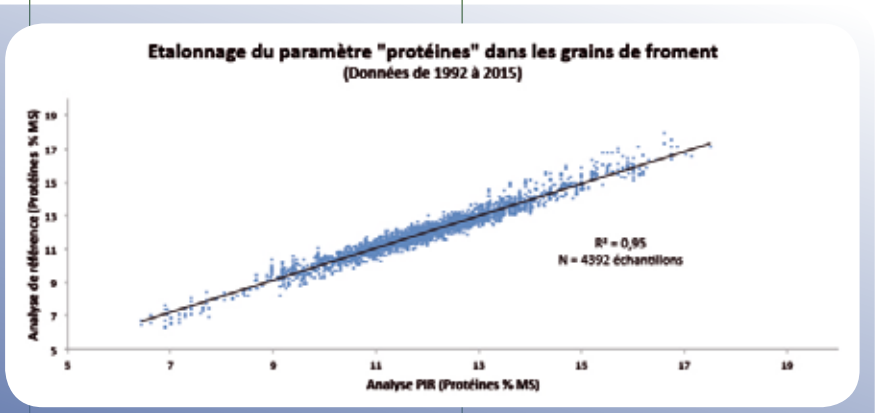

Figure 17 : Prédictions PIR versus valeurs de référence pour la détermination de la protéine dans les froments en grains. Le modèle prédictif a été construit à partir de la base de données de REQUASUD reprenant 4392 échantillons analysés sur la période allant de 1992 à 2015.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

méthode Kjeldhal) exprimées en % de matière sèche (MS). L'axe des abscisses représente les prédictions PIR données par le spectromètre en % MS également. En théorie, les points devraient se placer sur la bissectrice. Cependant, en raison de toutes les sources d'erreurs lors des analyses, les points se distribuent sous la forme d'un nuage de points. Ce nuage est d'autant plus resserré autour de la bissectrice que les erreurs sont faibles. Pour estimer les performances d'un modèle prédictif (dispersion, biais, étendue, … de ce nuage de points), différents paramètres statistiques peuvent être calculés :

- Le R^2 : coefficient de détermination.
- Le SEC : erreur standard d'étalonnage et qui correspond à l'écart-type des écarts entre les valeurs prédites et les valeurs de référence. 95% des points sont compris dans l'intervalle entre la bissectrice et les droites situées à +/- 2 x SEC.
- Le RPD : rapport entre l'écart-type des valeurs de référence de la base de données et le SEC.
- Le biais : erreur systématique entre les valeurs de référence et les valeurs prédites.

Un bon modèle prédictif a un R^2 proche de 1, un SEC le plus petit possible et proche de la reproductibilité de la méthode de référence (déterminée par des essais interlaboratoires), un RPD supérieur à 3 et un biais nul.

Lorsque l'on applique un modèle prédictif sur un set d'échantillons indépendants (à savoir un set externe dont le but est de contrôler les performances du modèle prédictif), qui n'est pas compris dans la base de données, utilisé pour construire celui-ci, on ne parle plus de SEC mais de SEP (erreur standard de prédiction). Le SEC et le SEP représentent tous deux la dispersion des points autour de la bissectrice. Ces deux grandeurs doivent être proches l'une de l'autre pour un même constituant et un même produit. Si ce n'est pas le cas, le modèle prédictif utilisé ne prédit pas correctement le type de produit en question et doit être amélioré.

Afin de contrôler que les analyses sont fiables, deux autres grandeurs mathématiques sont à considérer : le GH (Global H ou distance de Mahalanobis) et le NH (neighbour distance). Ces 2 grandeurs sont calculées sur base d'une analyse en composantes principales et permettent d'évaluer le degré de similitude entre le spectre de l'échantillon mesuré et ceux compris dans la base de données. Une bonne fiabilité est obtenue lorsque les valeurs du GH est inférieure à 3 et celle du NH inférieure à 1.

Dans la figure 18, chaque spectre est représenté par un point dans le nouvel espace des composantes principales. Le GH représente la distance entre le point (correspondant au spectre) de l'échantillon mesuré par rapport au centre de gravité des points (c-à-d. des spectres) de la base de données. Le NH représente la distance par rapport au plus proche voisin. Plus le point est proche du centre de gravité et entouré de voisins et plus l'analyse sera fiable.

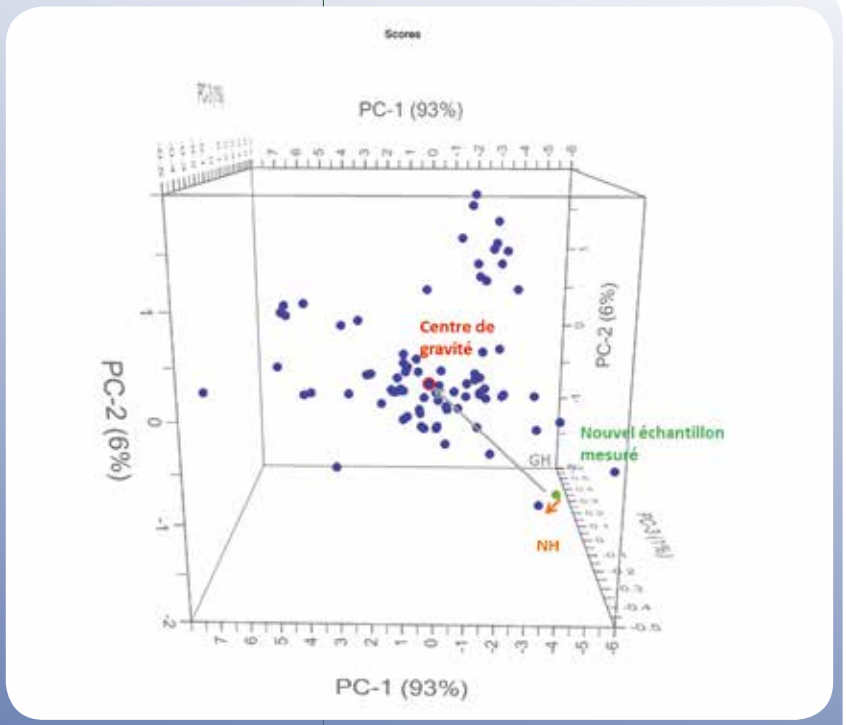

Figure 18 : Représentation d'une base de données PIR dans un nouvel espace obtenu par analyse en composantes principales.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

L'analyse en composante principale (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode de la statistique multivariée qui consiste à transformer des variables liées entre elles (dites "corrélées") en nouvelles variables orthogonales les unes des autres. Ces nouvelles variables sont nommées "composantes principales" et sont des combinaisons linéaires des variables d'origine. Elle permet de réduire le nombre de variables et de rendre l'information moins redondante.

Il s'agit d'une approche à la fois géométrique (les variables étant représentées dans un nouvel espace, selon des directions d'inertie maximale) et statistique.

Incertitude de mesure

Lorsqu'on donne le résultat d'une analyse (encore appelée grandeur d'une mesure), il faut savoir que ce n'est jamais la valeur exacte mais une valeur qui est +/- proche de la valeur vraie. En effet, lorsqu'un échantillon est analysé plusieurs fois (peu importe que ce soit par une méthode de référence ou indirecte), les résultats obtenus sont à chaque fois légèrement différents et la distribution des résultats d'analyse prend alors une allure gaussienne.

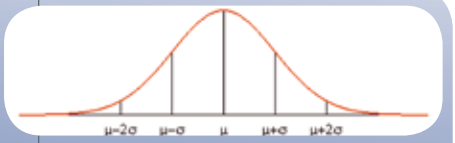

Figure 19 : Distribution Gaussienne.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Plus le nombre de répétitions est élevé, plus la valeur moyenne μ est proche de la valeur vraie.

En pratique, il n'est bien entendu pas possible d'analyser 10, 20 ou 50 fois chaque échantillon. En général, en analyse chimique classique, les analyses sont réalisées en double. La valeur attribuée est la moyenne des duplicats à condition que l'écart entre ceux-ci soit inférieur à certaines limites déterminées au préalable et qui sont fonction des produits et des paramètres analysés.

Qui dit détermination d'une grandeur, dit incertitude de mesure. Par conséquent, pour donner un résultat d'analyse complet, il faudrait mentionner systématiquement l'incertitude de mesure, c'est-à-dire l'intervalle dans lequel se trouve la valeur vraie pour une probabilité donnée. Une méthode ayant un écart de reproductibilité de σ (figure 19) a une incertitude de 2 x σ et la vraie valeur de la détermination de la moyenne μ est comprise dans l'intervalle μ + /-2 x σ pour une probabilité de 95 %.

Cette notion d'incertitude est parfois négligée ou même oubliée et il est répandu de croire que leurs résultats d'analyse correspondent exactement à la valeur vraie. Or, il n'en est rien. Il suffit pour cela d'analyser le même échantillon dans différents laboratoires pour se rendre compte de la variabilité qu'il peut y avoir.

Au vu de la taille des bases de données PIR utilisées dans le réseau **REQUASUD**, les erreurs SPIR pour les paramètres classiques (humidité, protéines, matières grasses, fibre, amidon) sont en général du même ordre de grandeur que les erreurs des analyses de référence.

Echantillonnage

Un facteur déterminant de l'erreur totale qui concerne toutes les analyses, qu'elles soient chimiques ou infrarouges, et qu'il ne faut surtout pas négliger, est l'échantillonnage (figure 20).

Les quantités analysées en PIR ne sont généralement que de quelques dizaines de grammes et pour les analyses chimiques cette quantité est souvent inférieure à 1 g, voire même moins de 100 mg.

Figure 20 : Illustration de la problématique de l'échantillonnage où les volumes des lots sont généralement très importants. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

L'échantillon analysé en laboratoire doit être représentatif de l'ensemble du lot à analyser. Ceci est d'autant plus difficile qu'en agriculture, les quantités produites peuvent être gigantesques, très hétérogènes, difficiles à manipuler et pas toujours facile d'accès. Un produit qui peut paraître homogène visuellement ne l'est jamais en réalité. De plus certains paramètres peuvent évoluer rapidement. Citons, par exemple, la matière sèche d'un produit ou l'état d'oxydation des matières grasses. Le propos de cette brochure n'est pas de donner ici des règles en matière d'échantillonnage tant cette matière est complexe et peut être différente en fonction des produits et des situations. Au sein des laboratoires **REQUASUD**, des formations spécifiques relatives à l'échantillonnage sont régulièrement organisées.

La façon dont sont stockés les échantillons avant le séchage et le broyage est également importante. L'idéal est généralement de les stocker dans des sachets hermétiques, opaques et à 4°C.

3. Qualité des analyses au sein des laboratoires REQUASUD

Organisation d'essais interlaboratoires

La qualité, la fiabilité et l'harmonisation des analyses effectuées au sein du réseau **REQUASUD** sont contrôlées par la réalisation d'essais interlaboratoires (EIL). Ceux-ci sont organisés par **REQUASUD** en collaboration avec les Laboratoires d'Encadrement Référentiel, considérés comme experts dans leur domaine respectif.

Un essai interlaboratoire est un essai qui compare les résultats de plusieurs laboratoires afin d'évaluer leur performance d'analyse sur un même échantillon stable et homogène.

En pratique, le Laboratoire d'Encadrement Référentiel adresse aux laboratoires du réseau des échantillons à analyser dont le contenu est connu de lui seul. Les laboratoires du réseau mettent en œuvre la méthode officielle et rendent leurs résultats au Laboratoire d'Encadrement Référentiel et à la Cellule de coordination de **REQUASUD** qui va ensuite comparer les résultats obtenus par chaque laboratoire afin de contrôler leurs performances.

Ces essais interlaboratoires, organisés suivant l'ISO 17043 s'inscrivent bien entendu dans la démarche qualité des laboratoires (ISO 17025) et permettent d'assurer la qualité des analyses.

Ces essais sont réalisés deux fois par an et par matrice au niveau de **REQUASUD** (tableau 2). Ils consistent en l'envoi de plusieurs échantillons répliqués. Cette procédure permet d'évaluer la répétabilité des analyses pour chaque laboratoire, ainsi que de calculer la reproductibilité interlaboratoire. D'autres tests statistiques (Test de Grubbs, test de Cochran, analyse des Z-scores) sont également réalisés par la cellule statistique de **REQUASUD** pour détecter les valeurs suspectes et aberrantes afin, *in fine*, d'évaluer le plus précisément possible l'aptitude des différents laboratoires (figure 21).

Les laboratoires d'encadrement référentiel participent quant à eux à des EIL internationaux comme par exemple le BIPEA (Bureau interprofessionnel d'études analytiques http://www.bipea.org).

Après chaque EIL, des Comités Techniques et Scientifiques (CTS) sont également organisés avec les participants afin de présenter les résultats obtenus et éventuellement de mettre en évidence certains problèmes et les actions correctives à mettre en œuvre.

Tableau 2

Paramètres analysés au cours des EIL pour chaque matrice

Paramètres	Froment	Produits de l'herbe	Produits du maïs	Denrées alimentaires	Engrais de ferme
Humidité	x			x	
Protéines	x	x	x	x	
Zélény	x				
Hagberg	x				
Poids à l'hectolitre	x				
Matière sèche analytique		x	X		x
Cellulose brute		x	x		
Cendres totales		x	x	x	
Digestibilité		x	x		
Amidon			x		
VEM		x	x		
Matière grasse totale				x	
Matière grasse libre				x	
Hydroxyproline				x	
Minéraux		x			x
Matière organique					x
Azote total					x
Azote ammoniacal					x

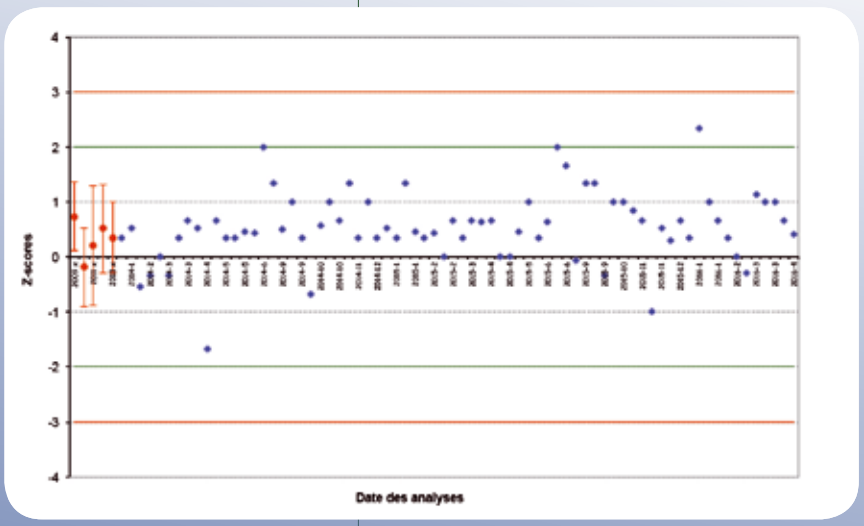

Figure 21 : Evolution des Z-scores des analyses de 2009 à 2015 pour le paramètre "matière sèche". (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Le Z-score est une mesure sans unité, calculé à partir du résultat du participant, de la valeur assignée et de l'écart-type pour l'évaluation de l'aptitude. Le Z-score est un indicateur de performance du laboratoire par rapport aux autres laboratoires.

Valeur du z-score	Signification
[0 —> 2]	analyse conforme
]2 —> 3]	analyse à surveiller
]3 —> ...[	analyse non conforme

4. Principaux produits analysés au sein des laboratoires REQUASUD par méthode PIR

Froment et orge

En Belgique, la production de froment d'hiver atteint annuellement environ 1 750 000 tonnes (http://statbel.fgov.be). Les filières de transformation sont nombreuses et répondent aux différents besoins des industries et des consommateurs. En fonction de la qualité intrinsèque des grains de froment, ceux-ci seront dirigés vers des applications en meunerie (boulangerie, pâtisserie, biscuiterie), en amidonnerie, en production de bioéthanol, ou seront tout simplement déclassés en fourrager si ceux-ci ne présentent pas les caractéristiques requises aux différents processus technologiques.

De manière générale, les barèmes Synagra (www.synagra.be) fixent les normes de réception des céréales, oléagineux et protéagineux livrés par les producteurs aux négoces-collecteurs. Ces barèmes sont revus chaque année. Dans l'édition de 2015, les critères relatifs au blé meunier (teneur en protéines, indice de Zélény et temps de chute de Hagberg) ont été supprimés de ce document et laissés à l'appréciation des acteurs de la filière lors de leurs transactions. Ils n'en demeurent pas moins des critères importants.

Dès la réception, la détermination de l'**humidité** constitue, un paramètre clé quant à la conservation optimale de cette matière première. En effet, si l'humidité est trop élevée, il est nécessaire de réaliser un séchage préalablement au stockage, ce qui induit des coûts supplémentaires supportés par le producteur. La détermination de l'humidité fixera également les bonifications ou réfactions éventuelles.

Afin de catégoriser plus finement les froments, 4 autres paramètres principaux sont également analysés. Il s'agit du poids à l'hectolitre, de la teneur en protéines, et pour des classifications plus précises, du temps de chute de Hagberg (relative à l'activité enzymatique) et de l'indice de sédimentation de Zélény (relatif à la qualité des protéines).

La **masse à l'hectolitre**, encore appelée poids à l'hectolitre ou poids spécifique, présente historiquement un intérêt commercial pour les céréales sous forme de grains. Elle ne peut pas être déterminée par spectrométrie PIR. Mais bien par des instruments spécifiques comme les Nilémalitres, les Tecator infratec ou les Dickey John qui permettent de la déterminer par méthode gravimétrique.

Figure 22 : Différents types d'instruments permettant de mesurer la masse à l'hectolitre. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Le Laboratoire d'Encadrement Référentiel s'est doté depuis 2015 d'un appareil permettant la détermination du poids spécifique sur 20 litres de céréales (figure 23), et non 1 litre ou moins comme les instruments de la figure 22, avec le gain de précision que cela implique. Une fois mis en service et raccordé à l'étalon international, celui-ci pourrait servir d'étalon de référence et constituer un outil précieux pour la filière.

Figure 23 : Instrument de référence du Laboratoire d'Encadrement Référentiel permettant de déterminer la masse à l'hectolitre des céréales sur base d'un contenant de 20 litres. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Les modèles prédictifs infrarouge permettant la détermination du taux de **protéines** sont établis sur bases d'analyses de références effectuées par méthodes normalisées (Kjeldahl ou Dumas), et sont régulièrement mises à jour afin de maintenir leurs performances. C'est ainsi que depuis plus de 30 ans maintenant, le Laboratoire d'Encadrement Référentiel a collecté les spectres de plus de 4 000 échantillons d'origines diverses qui ont été également analysés par méthode de référence, lesquels constituent la base de données PIR utilisées en routine pour l'estimation de ce paramètre.

La spectrométrie PIR permet également d'évaluer l'**indice de Zélény** (ou indice de sédimentation, exprimé en ml). Celui-ci permet d'apprécier de manière simple et rapide la force boulangère des blés tendres et de leurs farines, et dépend de la quantité et de la qualité du gluten (figure 24). Pour estimer rapidement l'indice de Zélény, 2 types d'équations de calibration PIR sont disponibles. La première est une équation générale, toutes variétés confondues, dont l'erreur de calibration est assez large (SEC=6.8 ml).

Figure 24 : Appareil de type Brabender utilisé pour la détermination du Zélény. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Le deuxième type correspond à des équations spécifiques par variété dont l'erreur de calibration est généralement comprise entre 2 et 3,5 ml. Afin de maintenir la qualité de leurs performances, ces équations sont mises à jour annuellement en cours de saison sur base des analyses de références effectuées en laboratoire.

La mise sur le marché continuelle de nouvelles variétés de froments, nécessite l'établissement de nouvelles équations au cours de chaque été. Bien entendu, il convient de connaitre préalablement la variété des échantillons de froment lorsque l'on veut utiliser ces calibrations spécifiques.

Le **temps de chute de Hagberg** (exprimé en secondes) permettant d'évaluer l'activité enzymatique présent dans les grains ne peut être déterminé par spectrométrie PIR. Ce paramètre est particulièrement important en meunerie, notamment, afin de pouvoir écarter des lots à trop forte activité alpha-amylasique (déclassés alors en fourrager), ou de combiner des lots afin d'obtenir l'activité enzymatique adéquate. En effet, en cas d'activité enzymatique trop intense, une grande partie de l'amidon sera transformée en sucres avec comme conséquence une pâte collante, un pain qui se déchire ou qui manque de tenue, une mie d'apparence grasse et une croute fortement colorée. A l'inverse, une activité enzymatique trop faible, aura comme conséquence une faible fermentation, un pain insuffisamment développé et une croûte pâle.

Via les analyses menées par méthodes de référence et l'implémentation constante des modèles PIR, le Laboratoire d'Encadrement Référentiel est donc en charge de contrôler et de mettre à jour les différentes calibrations PIR utilisées pour le dosage de l'humidité et des protéines dans les froments et les orges grains au sein des laboratoires du réseau **REQUASUD** (tableau 3).

Tableau 3

Performances des modèles prédictifs (équations) PIR pour les « froments et orge sous forme de grain »

Froment grain

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Humidité %	2218	9,72	18,54	13,61	1,11	0,95	0,23	4,8
Protéines % MS	4392	6,44	17,50	11,99	1,30	0,96	0,27	4,8
Zélény (ml)	4863	10	75	37,58	12,14	0,68	7	1,8

Orge grain

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Humidité %	915	9,90	18,23	13,16	1,24	0,96	0,21	6,0
Protéines % MS	1910	7,37	16,98	11,33	1,62	0,97	0,32	5,1

MS = Matière sèche, N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

L'adéquation des analyses de référence Zélény et Hagberg, réalisées dans les laboratoires du réseau, ainsi que la détermination du poids à l'hectolitre sont aussi évaluées chaque année grâce aux essais inter-laboratoires qui ont lieu 2 fois par an.

Les instruments de type Dickey John et les Nilémalitres dédiés à la mesure du poids à l'hectolitre sont également étalonnés annuellement par le Laboratoire d'Encadrement Référentiel.

Aliments composés

L'industrie du « feed », ou aliments composés pour animaux, est particulièrement bien développée en Belgique. Ce secteur emploie près de 3 500 personnes (Source : Association professionnelle des fabricants d'aliments composés pour animaux - 2013) qui fait de l'industrie belge, en matière d'alimentation composée pour animaux, l'une des principales branches de l'industrie agricole.

La production qui représente un chiffre d'affaire de 4,9 milliards d'euros, s'élève à environ 6,5 millions de tonnes par an et concerne principalement l'alimentation des porcs, des bovins et des volailles. Dans un contexte de marché international où les matières premières proviennent des 4 coins du globe et où les conditions climatiques, les variétés et les pratiques culturales sont complètement différentes, les transformateurs d'aliment doivent faire face aujourd'hui à une grande diversité dans la composition des matières premières qu'ils achètent.

De façon à contrôler la teneur des composants des matières premières qui arrivent à l'usine, et à optimaliser les procédés de transformation en accord avec les caractéristiques nutritives du produit fini, le tout en minimisant les coûts, il est important de connaitre précisément la composition des produits qui entrent en jeu tout le long du processus. Pour des raisons économiques et écologiques, on s'intéresse à l'heure actuelle, de plus en plus à des aliments pour bétail dont la formule a été rigoureusement calculée pour complémenter les rations de base diverses (souvent composées de fourrages) et ainsi couvrir les besoins réels des animaux.

La nutrition animale est, par conséquent, devenue très complexe et nécessite les compétences de personnes spécialisées dans le domaine et l'utilisation de logiciels spécifiques. C'est ainsi que par exemple, dans une exploitation laitière, les frais alimentaires interviennent pour plus de 50 % dans le prix de revient du lait.

Dans la grande majorité des cas, la ration de base est généralement constituée de four-

Tableau 4

Performances des modèles prédictifs PIR pour les aliments pour animaux

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Humidité %	24962	2,60	16,65	11,27	1,99	0,88	0,68	2,9
Protéines %	23734	7,10	62,10	20,91	8,66	0,97	1,39	6,2
Matière grasse %	8391	0,70	31,40	5,61	4,49	0,97	0,73	6,2
Cellulose %	5792	0,20	17,90	5,45	2,99	0,91	0,91	3,3
Cendres %	21678	1,30	33,00	7,54	3,49	0,79	1,59	2,2
Amidon %	961	3,30	59,20	30,77	10,86	0,96	2,10	5,2

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

rage et/ou d'ensilage mais comme la ration doit être équilibrée en énergie, en protéines, en éléments fibreux, en minéraux et en vitamines, la ration de base est complémentée avec d'autres matières complémentaires, généralement présentées sous forme de poudre, de pellets ou de flocons.

La spectrométrie PIR se prête très bien à l'analyse de ces aliments pour animaux et permet également les mesures directement dans la ligne de production (analyse in-line) afin de contrôler efficacement les processus de fabrication.

Les principaux constituants d'intérêt dans les aliments pour animaux sont (tableau 4) :

- La matière sèche qui joue principalement sur les propriétés physiques, la conservation et la capacité d'ingestion des aliments.
- Les protéines qui sont probablement le constituant principal en alimentation animale tant pour son intérêt nutritionnel (source d'acides aminés) que pour son coût de revient.
- Les lipides qui sont une source importante d'énergie.
- Les hydrates de carbones sous forme de sucre et d'amidon qui sont une source importante d'énergie.
- Les fibres qui sont nécessaires notamment pour le bon fonctionnement du système digestif (aspect encombrement) de l'animal.
- La digestibilité qui est un paramètre important, surtout pour les ruminants qui doivent recevoir une alimentation équilibrée (rapport protéine/énergie correct) afin d'éviter différents types de maladies.
- Les minéraux (cendres) qui lorsqu'ils sont en concentration trop importante peuvent indiquer une contamination accidentelle par de la terre.

Fourrages

Les productions fourragères représentent une part importante de la surface agricole utile (SAU) wallonne. En 2014, les fourrages produits sur les terres arables (maïs fourrager, prairie temporaire, betteraves fourragères) et la prairie permanente représentaient 55,5 % de la SAU wallonne (figure 25). La prairie permanente utilisée sous forme de pâturage l'été et pour la constitution des stocks de fourrages hivernaux y est majoritaire (43 % de la SAU wallonne).

Les fourrages sont principalement issus des prairies, essentiellement des graminées (ray-grass, dactyle, fléole, …) avec ou sans légumineuses (luzerne, trèfles blanc et/ou violet). De nombreuses autres espèces de plantes sont également cultivées en mélange multi-espèces pour l'alimentation des herbivores. C'est le cas, par exemple, des mélanges de type méteil (mélanges contenant par exemple des céréales, graminées, légumineuses, protéagineux récoltés sous forme d'ensilage). A côté de la prairie, le maïs fourrager récolté sous forme d'ensilage et les betteraves fourragères entrent également dans la catégorie des ressources fourragères de l'exploitation.

Du point de vue nutritif, la particularité de ces ressources fourragères est leur hétérogénéité. Certaines ressources comme les ensilages de maïs sont riches en énergie,

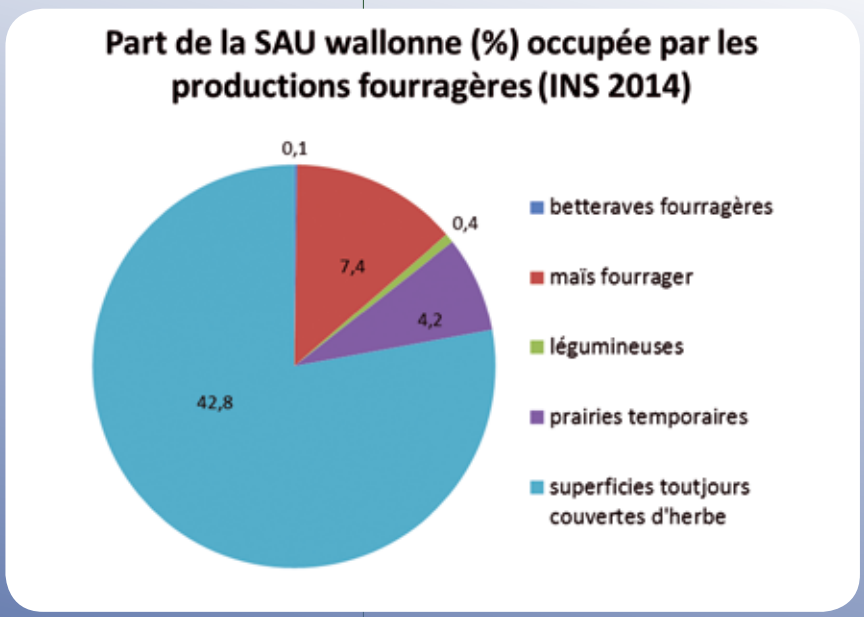

Figure 25 : Répartition des productions fourragères en Wallonie. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

d'autres comme les produits de l'herbe apportent des protéines et de la fibrosité aux rations. Au sein d'une même catégorie de fourrages, il existe également une forte variabilité. Dès lors, pour le producteur, déterminer la qualité des fourrages produits est essentielle.

Connaitre précisément la composition et la valeur nutritive des stocks fourragers permet aux éleveurs d'équilibrer au mieux les rations destinées aux différentes catégories animales présentes (vaches en production, génisses de remplacement, bétail à l'engrais, …).

Quatre grands types de fourrages peuvent être analysés par PIR:

- *les fourrages verts* : herbe, maïs en vert, céréales en vert, betterave fourragère, …
- *les fourrages ensilés* : ensilages d'herbe coupe directe ou préfané, ensilage de maïs plante entière ou épi broyés, …
- *les fourrages secs* : foin de prairies, de luzerne
- *les fourrages déshydratés artificiellement* : granulés de luzerne, …

Les fourrages sont constitués de 2 grandes fractions : l'eau et la matière sèche. La matière sèche est constituée d'une fraction organique (glucides, protéines, cellulose, amidon, …) et d'une partie minérale (cendres, obtenues par calcination des fourrages). La détermination de la composition chimique du fourrage et la connaissance de sa digestibilité permet d'estimer les valeurs énergétique et protéique pour les ruminants.

Les bases de données PIR fourrages développées au Laboratoire d'Encadrement Référentiel et utilisées dans le réseau **REQUASUD**, quel que soit leur type, contiennent des milliers de spectres d'échantillons analysés par méthodes chimiques. Ceux-ci ont été acquis au cours des 30 dernières années et représentent dès lors une large variabilité. La plupart des paramètres permettant d'estimer la valeur nutritive d'un fourrage pour l'agriculteur peuvent être dosés de manière précise par spectrométrie PIR (tableaux 5 et 6).

Tableau 5

Performances des modèles prédictifs PIR pour les fourrages d'herbe (graminées, légumineuses, mélanges prairial)

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Matière sèche analytique	1877	88,84	97,49	93,16	1,44	0,78	0,68	2,1
Protéines % MS	1877	4,45	31,26	15,49	5,26	0,98	0,76	6,9
Cellulose % MS	1465	11,27	41,10	26,18	4,97	0,95	1,11	4,5
Cendres totales % MS	1989	3,44	16,66	10,05	2,20	0,85	0,86	2,6
NDF % MS	806	26,00	70,18	48,09	7,36	0,95	1,61	4,6
ADF % MS	539	11,47	43,16	27,31	5,28	0,95	1,13	4,7
ADL % MS	530	0,00	5,88	2,76	1,04	0,87	0,37	2,8
Digestibilité de la matière sèche (De Boever) % MS	1156	50,19	108,28	79,23	9,68	0,96	1,89	5,1
Digestibilité de la matière organique (De Boever) % MS	1291	46,02	108,06	77,04	10,34	0,96	1,97	5,3
Sucres solubles totaux % MS	629	0,12	36,12	11,47	8,22	0,97	1,35	6,1

MS = Matière sèche, N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Tableau 6

Performances des modèles prédictifs PIR pour les fourrages de maïs

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Matière sèche analytique	7197	88,54	98,15	93,34	1,60	0,90	0,52	3,1
Protéines % MS	6514	3,75	11,77	7,76	1,34	0,90	0,42	3,2
Cellulose % MS	5749	8,86	32,68	20,77	3,97	0,95	0,93	4,3
Cendres totales % MS	7962	1,43	7,07	4,25	0,94	0,77	0,45	2,1
Amidon % MS	6586	0,00	58,39	28,07	10,10	0,98	1,60	6,3
NDF % MS	4751	22,60	62,97	42,78	6,73	0,95	1,58	4,3
ADF % MS	3645	9,65	38,35	24,00	4,78	0,95	1,04	4,6
ADL % MS	3326	0,40	4,91	2,66	0,75	0,81	0,34	2,2
Digestibilité de la matière sèche (De Boever) % MS	2217	53,89	92,55	73,22	6,44	0,92	1,83	3,5
Digestibilité de la matière organique (De Boever) % MS	2530	52,22	92,07	72,14	6,64	0,92	1,90	3,5
Digestibilité de la matière sèche (Aufrère) % MS	3941	49,86	86,54	68,20	6,11	0,90	1,92	3,2
Digestibilité de la matière organique (Aufrère) % MS	3547	47,57	87,76	67,67	6,70	0,90	2,10	3,2
Sucres solubles résiduels % MS	4693	0,00	16,87	5,48	3,80	0,95	0,84	4,5
Sucres solubles totaux % MS	3046	0,00	23,02	7,47	5,18	0,99	0,63	8,3

MS = Matière sèche, N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Produits alimentaires : plats préparés - fromages - viandes

Le mode de vie de la population a bien évolué au cours de ces dernières années, en particulier dans les pays développés, où pour bon nombre de personnes, chaque minute compte. Ceci a évidemment bouleversé nos habitudes alimentaires, avec comme conséquence, qu'une partie toujours plus importante de la population se tourne dorénavant vers la consommation de plats préparés.

Les plats préparés sont des plats complets prêts à être mangés, à réchauffer ou non. Ces plats sont traités en vue de leur conservation et sont généralement emballés et étiquetés pour la vente. Il en existe de différentes catégories, à savoir :

- Plats à base de légumes
- Plats à base de viande et d'abats
- Plats à base de poisson, de crustacés et de mollusques
- Plats à base de pâtes
- Petits pains garnis
- Soupes fraîches, en conserve ou surgelées
- Pizzas
- Lasagnes
- Autres plats préparés comme les plats de régime, les croquettes, plats préparés à base de pâtes, etc.

Le fait d'afficher les informations nutritionnelles sur l'emballage de chaque produit est la manière la plus simple d'informer efficacement les consommateurs sur ce qu'ils s'apprêtent à consommer.

Suite à la directive européenne (90/496/CEE) qui définit les règles en matière d'étiquetage, une nouvelle législation (UE 1169/2011) a vu le jour en 2011, ceci afin d'harmoniser en un document unique les textes réglementaires relatifs à l'étiquetage au sein de l'Union Européenne.

Tous les exploitants du secteur agroalimentaire sont concernés par ce règlement qui s'applique à toutes les étapes de la chaine alimentaire et à toutes les denrées destinées au consommateur final ou devant être livrées à des collectivités.

Le règlement demande que les étiquettes n'induisent pas en erreur le consommateur. Elles doivent être claires et compréhensibles afin d'aider le consommateur dans ses choix diététiques. L'étiquetage doit être présent directement sur l'emballage, ou attaché à la denrée pré-emballée.

Figure 26 : Mixolab utilisé pour broyer les échantillons. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Bien entendu, l'utilisation de la spectrométrie PIR est un outil qui peut être mis à la disposition des producteurs via les laboratoires de proximité mais aussi aux instances de contrôle qui doivent contrôler les étiquettes.

Avec l'aide du laboratoire du CARAH à Ath, le Laboratoire d'Encadrement Référentiel a développé des modèles prédictifs PIR pour les plats préparés afin de doser les principaux constituants à savoir, les protéines, la matière grasse totale et la matière sèche. Ces modèles sont toujours en phase de validation mais les résultats obtenus jusqu'à présents sont très encourageants. La base de données comprend déjà différents produits comme, par exemple, des plats à base de riz, des lazagnes, hamburger, quiches, pâtes, …

L'étape de préparation de l'échantillon est relativement simple. Il suffit de broyer l'échantillon et de mesurer le spectre PIR de la bouillie obtenue afin d'en obtenir directement la composition (figure 26).

La variabilité en terme de composition des produits est évidemment très importante

vu la grande diversité de plats préparés que l'on peut trouver sur le marché. Les modèles développés affichent des RPD supérieurs à 3 et démontrent ainsi leur capacité à doser relativement précisément les principaux paramètres. Les tableaux 7 à 9 reprennent les statistiques des modèles au mois de juillet 2015.

En plus des plats préparés, le Laboratoire d'Encadrement basé au CRA-W a développé des modèles prédictifs PIR pour le dosage des constituants (matière sèche, protéines, et matière grasse) dans :

- les fromages à pâte dure
- les viandes

Tableau 7

Performances des modèles prédictifs pour les plats préparés

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Humidité %	175	34,2	89,24	65,50	10,59	0,97	1,94	5,5
Matière grasse totale %	183	0,29	33,54	11,06	8,60	0,97	1,40	6,2
Protéines %	176	0,85	22,89	12,26	6,51	0,98	0,95	6,8
Cendres %	95	1,11	4,43	2,37	1,08	0,93	0,29	3,7

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Tableau 8

Performances des modèles prédictifs PIR pour les fromages à pâte dure

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Matière sèche %	163	43,12	74,70	58,63	5,26	0,97	0,89	5,9
Protéines %	163	15,72	36,08	25,48	3,39	0,96	0,70	4,9
Matière grasse %	163	8,98	45,65	27,26	6,11	0,99	0,67	9,1

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Tableau 9

Performances des modèles prédictifs PIR pour les viandes

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Humidité %	468	29,76	88,67	59,22	9,82	0,97	1,59	6,2
Matière grasse %	430	0,70	50,11	15,53	11,53	0,97	1,94	6,0
Protéines %	459	1,30	37,49	19,40	6,03	0,96	1,17	5,2
Collagène %	156	0,29	4,63	1,75	0,96	0,59	0,62	1,6
Cendres %	202	1,36	11,84	4,30	2,51	0,97	0,40	6,3

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Sols

De tout temps, les sols ont été la base de toute pratique agricole quel que soit l'endroit où l'on se trouve dans le monde. L'intérêt pour l'agriculteur, de connaitre précisément les caractéristiques physico-chimiques de ses sols est donc indéniable. En effet, c'est notamment en fonction de la nature de ses sols que l'agriculteur va allouer ses parcelles à telle ou telle finalité phytotechnique. De plus, une gestion raisonnée des intrants et notamment des engrais est primordial au vu des problèmes économiques (augmentation du prix des engrais, …) et environnementaux actuels (législation sur les nitrates, eutrophisation des eaux de surface, …). L'analyse de ses terres et l'interprétation de celles-ci vont l'aider dans ses choix culturaux et dans la gestion durable de ses parcelles.

Dès la création de **REQUASUD**, les analyses de terre ont pris une importance considérable puisqu'elles représentent environ 20 000 analyses de terre par an. C'est dire, après 25 années, à quel point la base de données est aujourd'hui conséquente (plus de 400 000 échantillons de sol). Ceci a d'ailleurs permis de cartographier précisément les sols wallons (Genot et al., 2012).

De plus, malgré leur importance pour un conseil pertinent, certaines propriétés du sol sont rarement analysées en routine en raison de leur coût, de la nocivité des extractifs ou du temps d'analyse qu'elles nécessitent. C'est notamment le cas de la capacité d'échange cationique (CEC) qui est un paramètre important dans l'interprétation de l'analyse et le conseil qui s'en suit. Au vu de ces considérations, des recherches ont été menées pour étudier la faisabilité d'une application en routine de la spectroscopie dans le domaine proche infrarouge pour déterminer ces paramètres (Genot et al., 2011 ; Genot et al., 2014). Ces recherches ont été menées en collaboration entre le Laboratoire d'Encadrement Référentiel de la chaine Qualité des sols (ULg – Gembloux Agro-Bio Tech), celui de la chaine Qualité alimentaire - Technique NIR et les laboratoires de proximité du réseau **REQUASUD**. L'infrarouge présente en effet l'avantage d'être rapide, de nécessiter peu de matériel, de permettre une formation minimale des manipulateurs, de ne pas consommer de sol et de ne pas générer de déchets.

De nombreux paramètres sont analysés dans les laboratoires d'analyse de sol, que ce soit dans un objectif agronomique (pH, carbone organique total, azote total, capacité d'échange cationique, éléments disponibles, …) ou environnemental (éléments-traces métalliques, …). Cependant, il n'est pas possible d'analyser par spectrométrie proche infrarouge l'ensemble de ces paramètres. Seules les analyses du COT (carbone organique total), la CEC (capacité d'échange cationique), l'azote total (NT), l'argile et l'humidité donnent des résultats satisfaisants actuellement.

Les laboratoires du réseau **REQUASUD** ont été dans les premiers dans le monde à utiliser l'infrarouge en routine pour estimer les propriétés physico-chimiques des sols à l'échelle de toute une région. Cependant, un travail important de mise au point a préalablement été nécessaire. Une première phase a consisté à mettre au point une procédure de préparation des échantillons afin que la méthodologie soit la plus robuste possible et indépendante de l'échantillon et de l'opérateur. Une seconde phase a consisté à créer un lot de calibrage sur base de la diversité des sols rencontrés sur l'ensemble de la Région wallonne. Ainsi, 1 300 échantillons de terre séchés et tamisés à 2 mm ont été analysés selon les méthodes de référence utilisées au laboratoire et passés à l'infrarouge. Cette base a ensuite été validée à l'aide d'un lot d'échantillons indépendants.

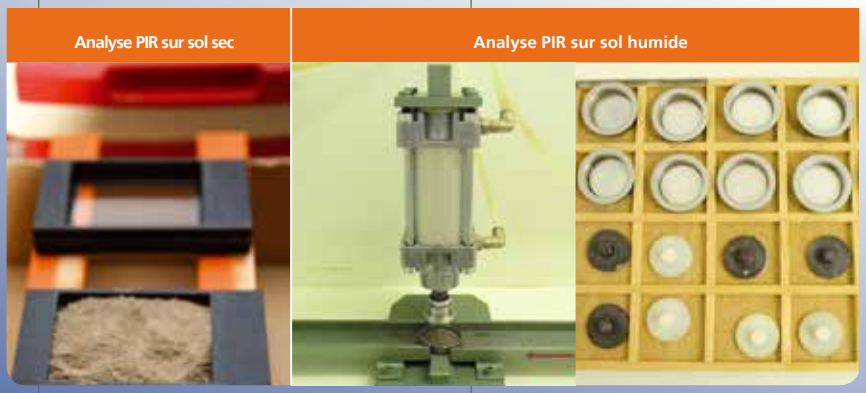

Figure 27 : Dispositifs permettant de préparer les coupelles de terre en vue de saisir leur spectre PIR. (Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

Outre la prédiction sur sol sec, une base de données a été constituée pour estimer les paramètres édaphiques sur sols humides. Contrairement aux sols secs, des coupelles rondes sont utilisées (figure 27). Cette base de données a pour but de pouvoir prédire le taux de carbone, le taux d'humidité et le taux d'argile pour les échantillons prélevés dans le cadre d'une analyse des nitrates et ne nécessitant pas d'étape de séchage et de tamisage. Bien que cette base de données soit moins fournie que celle sur sol sec, les résultats semblent encourageants.

A partir de 2011, le laboratoire provincial de Tinlot a commencé à utiliser la technique en routine. Actuellement, d'autres laboratoires du réseau ont suivis l'exemple et scannent chaque échantillon avant son analyse au laboratoire. En fonction des valeurs de GH ou NH obtenues (paramètres décrivant la qualité de la prédiction), le résultat prédit est accepté ou rejeté. Les valeurs analytiques obtenues pour les échantillons rejetés sont ensuite introduits dans la base de données spectrale avec les spectres associés. Cela permet d'implémenter la base de données et d'améliorer les prédictions au fil du temps.

Afin d'améliorer la prédiction, différents modèles de prédiction ont été comparés. Une approche en mode local, utilisant le principe de la régression selon les moindres carrés partiels (PLS) a été choisi. Elle permet d'améliorer les prédictions en comparant l'entièreté du spectre aux spectres les plus proches de la base de données. Une nouvelle équation est ainsi générée pour chaque échantillon. Actuellement, la qualité de la prédiction permet d'être comparable pour certains paramètres à la précision analytique au laboratoire.

Afin d'améliorer les performances des équations infrarouges qui peuvent varier selon le type de sol, la base de données relative aux sols secs a été scindée en 3 bases spécifiques (tableaux 10 et 11) :

- terres de prairie,
- terres de culture,
- terres de jardin potager.

Tableau 10

Performances des équations d'étalonnage PIR pour les sols de prairie

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Carbone organique total % MS	8849	0,01	14,91	3,64	1,49	0,91	0,49	3,4
Capacité échange cationique (me/g)	855	0,02	71,2	9,6	7,03	0,85	3,15	2,6
N_Kj (g/kg)	1077	0,2	6,92	3,18	1,25	0,82	0,59	2,4
Argile % MS	210	2,56	57,7	18,52	8,23	0,82	4,12	2,3

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Tableau 11

Performances des équations d'étalonnage PIR pour les sols de culture

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
Carbone organique total % MS	10139	0,05	7,66	1,54	0,69	0,93	0,21	3,8
Capacité échange cationique (me/g)	1228	0,48	44,3	12,01	4,3	0,81	2,47	2,3
N_Kj (g/kg)	3240	0,17	9,31	1,61	0,75	0,92	0,25	3,6
Argile % MS	575	1,9	72,65	19,92	8,41	0,84	4,08	2,5

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Engrais de ferme

Toute activité agricole en relation avec l'élevage entraine inévitablement la production de résidus organiques, plus communément appelés engrais de ferme et qui se présentent soit sous forme liquide (lisier) soit sous forme solide (fumier).

Une fois épandus sur les prairies ou les terres de cultures, ces engrais de ferme apportent une part non négligeable d'éléments fertilisants variés comme du phosphore et du potassium mais surtout de l'azote (figure 28).

Les fumiers de bovin et porcin améliorent également les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol grâce à leur matière organique stable (humus). Ils sont une source intéressante de fertilisants de fond et facilement disponible. On les considère à action lente, car l'azote qu'ils contiennent sous forme organique se minéralise lentement.

Les lisiers et fientes de volaille quant à eux, apportent peu de matière organique stable et sont dits « à action rapide » car l'azote apporté est plus rapidement utilisable par les plantes.

Au prix actuel des engrais minéraux, il est évident que l'utilisation raisonnée des

	N	Matière sèche (%)		Ntotal (% de MF)		$N\text{-}NH_4$ (%)		P_2O_5 (Kg/T)		K_2O (Kg/T)		CaO (Kg/T)		MgO (Kg/T)		MO (%)	
		Moy.	ET	Moy.	ET	Moy.	ET	Moy.	ET	Moy.	ET	Moy.	ET	Moy.	ET	Moy.	ET
Fumier de bovin	705	22.9	5.7	0.61	0.21	0.04	0.06	3.7	1.7	8.8	3.6	5.9	3.5	2.0	0.8	15.8	3
Lisier de bovin	224	6.8	2.4	0.34	0.12	0.16	0.07	1.3	0.6	3.7	1.4	1.7	0.8	0.8	0.4	4.8	1
Lisier de porcin	200	6.4	3.3	0.54	0.21	0.33	0.11	2.9	1.7	4.1	1.8	3.0	1.4	1.7	0.8	4.5	1
Fumier de volaille	82	49.1	13.2	2.20	0.95	0.33	0.22	14.9	8.3	15.1	7.5	28.8	28.1	7.8	6.5	35.8	8
Fientes de volaille	60	49.9	16.3	2.6	1.0	0.34	0.34	17.54	8.89	18.22	6.76	30.51	31.29	6.82	3.31	37.67	5.0

Figure 28 : Composition d'engrais de ferme (source : extraction de la base de données de **REQUASUD**)

engrais de ferme sur base de leur valeur fertilisante réelle permet aux agriculteurs de réaliser de sérieuses économies.

En cas de fumures mal adaptées, plusieurs problèmes peuvent survenir dont une diminution de la fertilité des sols (carence en éléments fertilisants), une pollution environnementale (lessivage de l'azote et/ou du phosphore) ainsi qu'une sous rentabilité (mauvaise valorisation des engrais de ferme et achats de minéraux inutiles).

Afin de gérer au mieux ses fumures, de maximiser son profit et d'assurer l'absence de risque pour l'environnement, il est impératif pour l'agriculteur d'analyser ses engrais de ferme afin de connaitre leur composition chimique réelle. En effet, pour un engrais de ferme donné, la composition peut varier énormément en fonction notamment de l'espèce animale, du type d'alimentation, du type de stabulation ou des conditions de stockage.

Compte tenu de la grande hétérogénéité des fumiers, la méthode d'échantillonnage est cruciale dans ce type de matrice afin de réaliser un échantillon représentatif du tas. La méthode validée par **REQUASUD** et d'application pour les partenaires du secteur, consiste à réaliser des carottages dans le tas à l'aide d'une tarière. Dix-huit carottages élémentaires comme le montre la figure 29 sont nécessaire afin de garantir une représentativité suffisante d'un tas n'excédant pas 50 mètres de long. Six carottages supplémentaires doivent être ajoutés tous les 15 mètres ensuite. L'ensemble de ces carottes doit être homogénéisé à l'aide d'un broyeur mécanique afin de garantir la représentativité du tas.

Figure 30 : Mesure infrarouge d'un bocal contenant du lisier.
(Source : Laboratoire d'Encadrement Référentiel).

La publication « L'analyse des engrais de ferme : comment réaliser un bon échantillon ? », de Lambert et Cugnon, 2015, détaille plus en profondeur cette thématique.

L'utilisation de la spectrométrie PIR pour les analyses d'engrais de ferme est en développement depuis quelques années seulement (figure 30 et tableaux 12 et 13). Les deux bases de données (de lisier et de fumier) doivent encore être étoffées et validées. Cette méthode permet de mesurer rapidement les différents paramètres suivant :

pH : les engrais de ferme étant généralement basiques, ils permettent de maintenir ou d'augmenter légèrement le pH des sols ce qui peut accroitre l'activité bactérienne et limité la phytotoxicité de certains éléments dissous à pH faible.

Matière organique : la matière organique représente une réserve du nutriment qui pourra être minéralisée et mise à disposition progressivement. Elle a également un pouvoir structurant du sol et permet d'améliorer l'activité biologique du sol.

Matière sèche : elle va permettre de définir et d'optimiser les conditions de stockage et de conservation des engrais de ferme solides et d'épandage des lisiers.

Azote total et ammoniacal : l'azote ammoniacal, s'il n'est pas perdu par évaporation, représente une part directement assimilable de l'azote des engrais de ferme. Il est particulièrement abondant dans les effluents de volaille et de porcin. L'azote total représente la quantité totale d'azote organique présent dans l'engrais de ferme qui pourra être minéralisé. La vitesse de cette minéralisation dépendant fortement du type d'engrais de ferme.

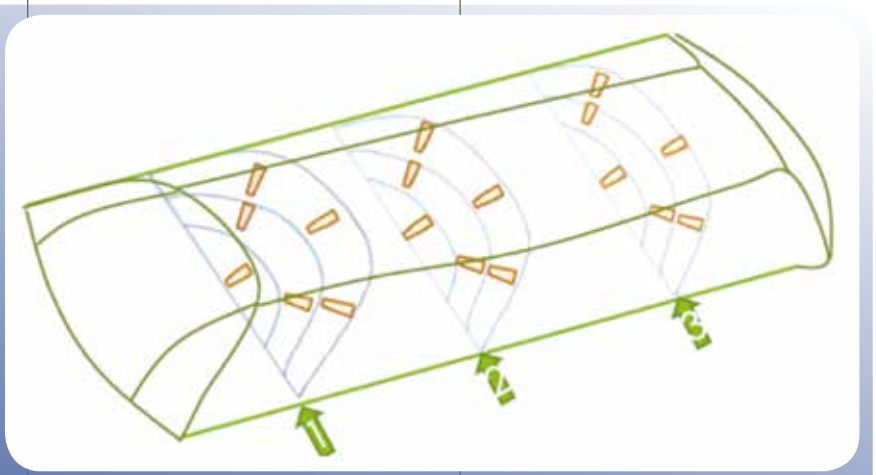

Figure 29 : Répartition des carottages individuels sur la longueur d'un tas de fumier.
(Source : Centre de Michamps).

Tableau 12

Performances des modèles prédictifs PIR pour les effluents

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
pH	409	6,67	8,97	7,59	0,40	0,58	0,25	1,6
Matière sèche	444	1,01	45,13	7,67	4,05	0,89	1,33	3,1
Matière organique par perte au feu % (frais)	425	0,54	36,89	5,81	3,26	0,91	1,01	3,2
Cendres totales % (frais)	380	0,36	8,88	2,08	1,05	0,74	0,54	2,0
Cendres insolubles % (frais)	368	0,04	2,26	0,50	0,33	0,50	0,24	1,4
N total kg/tonne (frais)	452	0,40	17,24	4,63	2,58	0,89	0,84	3,1
NH4 kg/tonne (frais)	433	0,23	8,19	2,11	1,29	0,81	0,56	2,3
K2O kg/tonne (frais)	369	0,64	13,26	4,19	1,56	0,71	0,84	1,9
P2O5 kg/tonne (frais)	368	0,12	14,73	1,81	1,51	0,84	0,60	2,5
Na2O kg/tonne (frais)	339	0,07	3,68	0,78	0,58	0,65	0,34	1,7
MgO kg/tonne (frais)	363	0,07	5,99	1,06	0,74	0,69	0,41	1,8
CaO kg/tonne (frais)	367	0,23	17,23	2,25	1,72	0,71	0,93	1,8

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Tableau 13

Performances des modèles prédictifs PIR pour les fumiers

Paramètres	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R^2	SEC	RPD
pH	397	6,26	9,12	8,03	0,50	0,42	0,39	1,3
Matière sèche	378	11,96	77,57	24,54	10,58	0,88	3,64	2,9
Matière organique par perte au feu % (frais)	372	8,35	57,22	18,82	8,14	0,88	2,84	2,9
Cendres totales % (frais)	387	1,46	34,09	5,45	3,76	0,63	2,30	1,6
Cendres insolubles % (frais)	372	0,16	8,49	1,96	1,47	0,57	0,97	1,5
N total kg/tonne (frais)	406	0,48	39,94	7,81	7,02	0,93	1,93	3,6
NH4 kg/tonne (frais)	395	0,03	5,04	0,80	0,79	0,67	0,46	1,7
K2O kg/tonne (frais)	384	1,69	26,82	8,26	3,98	0,75	2,03	2,0
P2O5 kg/tonne (frais)	388	0,88	23,51	3,37	3,18	0,84	1,30	2,5
Na2O kg/tonne (frais)	381	0,13	3,87	0,87	0,64	0,76	0,32	2,0
MgO kg/tonne (frais)	374	0,50	8,97	1,84	1,38	0,87	0,50	2,7
CaO kg/tonne (frais)	371	1,14	22,02	4,41	3,12	0,55	2,09	1,5

N = nombre de spectres dans la base de données, Min = valeur minimale dans la base de données, Max = valeur maximale dans la base de données, R^2 = coefficient de détermination, SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Rapport C/N : le rapport carbone sur azote donne notamment une information sur la rapidité de la minéralisation de l'azote organique de l'engrais de ferme considéré et sur la capacité d'un fumier à se composter efficacement.

Cendres : permet de valider le total des minéraux qui sont dosés et également de déterminer si des contaminations externes ou de terre ont eu lieu, ce qui pourrait induire une mauvaise information sur les teneurs exactes de l'engrais de ferme considéré.

Minéraux (P, K, Mg, Ca, Na) : les minéraux apportés par les engrais de ferme peuvent être considérés comme les minéraux apportées par les engrais sous forme minérale. Ces minéraux et leurs équilibres sont essentiels à la bonne croissance des plantes.

5. Glossaire

ADF : Acid Detergent Fibre selon la réaction de Van Soest qui correspond à la fraction de cellulose et de lignine

ADL : Acid Detergent Lignin selon la réaction de Van Soest qui correspond à la fraction de la lignine

Biais : erreur systématique moyenne entre les analyses par SPIR et les valeurs de référence

Base de données PIR : librairie de spectres NIR d'échantillons dont les constituants ont été déterminés par analyses physico-chimiques

Base de données REQUASUD : base de données inventoriant toutes les analyses réalisées par tous les laboratoires de proximité

Check cell : cellule de mesure scellée contenant un échantillon homogène et inerte mesurée quotidiennement et dont les prédictions permettent de réaliser une carte de contrôle afin de détecter les déviations éventuelles du spectromètre

Chimiométrie : discipline de la chimie qui utilise les mathématiques et les statistiques pour créer ou choisir des procédures expérimentales optimales, pour fournir un maximum d'informations chimiques pertinentes en analysant des données expérimentales et pour obtenir une connaissance des systèmes chimiques (D.L. Massart et al., 1997)

Coefficient de corrélation (R) : mesure de l'intensité de la liaison qui existe entre les prédictions PIR et les valeurs de référence. Le coefficient de détermination varie entre 0 et 1 et doit être idéalement proche de 1

Coefficient de détermination (R^2) : part de variance expliquée par rapport à la variance totale. Le coefficient de détermination varie entre 0 et 1. Lorsqu'il est proche de 0, le pouvoir prédictif du modèle est faible et lorsqu'il est proche de 1, le pouvoir prédictif du modèle est fort

CRA-W : Centre Wallon de Recherches agronomiques

Distance de Mahalanobis ou GH : distance mathématique virtuelle qui permet d'apprécier le degré de ressemblance entre le spectre PIR d'un échantillon et celui du spectre moyen de la base de données correspondante. Pour avoir des prédictions fiables, le GH doit être inférieur à 3

EIL : essai interlaboratoires : organisation, exécution et évaluation de mesurages ou d'essais sur la même entité ou sur des entités similaires par deux laboratoires ou plus selon des conditions prédéterminées

Feed : terme générique anglais désignant l'ensemble des aliments pour animaux

Hagberg (temps de chute) : indice qui a pour objet d'évaluer l'activité amylasique des blés

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

Méteil : en alimentation animale, le méteil est réalisé en associant plusieurs céréales telles que le blé, l'orge, l'avoine ou le tri ticale avec les légumineuses comme le pois fourrager, la vesce ou la féverole

Méthode de référence : méthode d'analyse physico-chimique ou biologique réalisée en laboratoire

Modèle prédictif ou étalonnage : équation mathématique qui permet de prédire les constituants d'un échantillon à partir de son spectre PIR

Monochromateur : dispositif utilisé en optique pour sélectionner une gamme la plus étroite possible de longueurs d'onde à partir d'un faisceau lumineux de gamme de longueurs d'onde plus large

Nanomètre (nm) : unité de mesure (généralement utilisé pour quantifier la longueur des ondes infrarouges) équivalent à un milliardième de mètre (1 nm = 10^{-9} m)

NDF : Neutral Detergent Fibre selon la réaction de Van Soest qui correspond à la fraction de l'hémicellulose, de la cellulose et de la lignine

Niléma-litre : dispositif permettant de mesurer la masse spécifique des grains de céréales

Proche infrarouge : région du spectre électromagnétique couvrant la gamme 800-2500 nm

Réactions de Maillard : réactions chimiques que l'on peut observer lors de la cuisson d'un aliment ; elles correspondent à l'action des sucres sur les protéines, et sont en particulier responsables du goût caractéristique des viandes rôties

Réflectance : rapport entre le flux lumineux réfléchi et le flux lumineux incident

RPD : ratio de l'écart-type des valeurs de référence de la base de données par le SEC. Le RPD permet d'apprécier la qualité prédictive d'une calibration. Plus le RPD est élevé et meilleure est la précision des prédictions PIR

SEC : erreur standard d'étalonnage et qui correspond à l'écart-type des écarts entre les valeurs prédites et les valeurs de référence. 95% des points sont compris dans l'intervalle entre la bissectrice et les droites situées à +/- 2 x SEC

SEP : erreur standard de prédiction qui correspond à la racine de la moyenne du carré des écarts entre les valeurs prédites et les valeurs de référence

SEPC : erreur standard de prédiction corrigée du biais

Spectromètre : Appareil destiné à la mesure de la répartition d'un rayonnement en fonction de la longueur d'onde ou de la fréquence

Synagra : Association professionnelle de négociants en céréales et autres produits agricoles

Standardisation : procédé qui permet de rendre des instruments PIR spectralement similaires grâce à un algorithme mathématique

Test de Grubbs : test statistique permettant de détecter les valeurs aberrantes en termes de dispersion des moyennes

Test de Cochran : test statistique permettant de détecter les valeurs aberrantes en termes de dispersion et qui est basé sur les écarts-types des mesures

Valeur assignée : valeur attribuée à une propriété particulière d'un objet soumis à l'essai interlaboratoire

Variance : mesure de dispersion qui est la somme des carrés des écarts des observations par rapport à leur moyenne divisée par un nombre égal au nombre d'observations moins un

XDS : modèle de spectromètre de la marque Foss qui permet d'acquérir les spectres d'échantillon dans la gamme 400-2 500 nm (visible + proche infrarouge)

Zélény : L'indice de Zeleny, exprimé en ml (ou indice de sédimentation) permet d'apprécier de manière simple et rapide la force boulangère des blés tendres et de leurs farines

Z-score : Le Z-score est une mesure sans unité, calculé à partir du résultat du participant, de la valeur assignée et de l'écart-type pour l'évaluation de l'aptitude. Le Z-score est un indicateur de performance du laboratoire par rapport aux autres laboratoires

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbas, O. , Dardenne, P. & Baeten, V. (2012). Near-Infrared, Mid-Infrared, and Raman Spectroscopy In: Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications, Pico Y. Burlington, Elsevier Science, 59-91.

Baeten V, Fernández Pierna J.A., Lecler B., Abbas O., Vincke D., Minet O., Vermeulen Ph. and Dardenne P. (2016) Near infrared spectroscopy for food and feed: a mature Technique. NIRS news, 27 (1), 4-6.

Baeten, V., Rogez, H., Fernández Pierna, J.A., Vermeulen, Ph., and Dardenne P. (2015). Vibrational Spectroscopy Methods for the Rapid Control of Agro- Food Products. In Handbook of Food Analysis (3rd Edition). (Eds. Toldra & Nollet). Volume II, Chapter 32, pp. 591-614.

Bertrand, D. & Baeten V. (2006). Instrumention. In La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, 2ème édition (Eds. Dominique Berttrand et Eric Dufour). Chapter 9, pp. 247-305.

Dardenne, P., Sinnaeve, G. & Baeten, V. (2000). Multivariate calibration and chemometrics for near infrared spectroscopy : which method? Journal of Near Infrared Spectroscopy, 8, 229-237.

Genot V., Colinet G., Bock L., Vanvyve D., Reusen Y. & Dardenne P. 2011. Near infrared reflectance spectroscopy for estimating soil characteristics valuable in the diagnosis of soil fertility. Journal of Near Infrared Spectroscopy. 19, 117-138.

Genot V., Bock L., Dardenne P. & Colinet G. 2014. L'intérêt de la spectroscopie proche infrarouge en analyse de terre (synthèse bibliographique). Biotechnology, Agronomy, Society and Environment. 18, 247-261.

Genot V., Renneson M., Colinet G., Gofaux M-J, Cugnon T., Toussaint B., Buffet D. & Oger B. 2012. Base de données sols de REQUASUD - 3ème synthèse. REQUASUD, 35p.

Pissard A., Fernández Pierna J. A., Baeten V., Sinnaeve G., Lognay G., Mouteau A., Dupont P., Rondia A. & Lateur M. (2013). Non-destructive measurement of vitamin C, total polyphenol and sugar content in apples using near-infrared spectroscopy (NIRS). Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(2), 238-244.

édité et distribué par :
ASBL **REQUASUD**
rue de Liroux, 9
B - 5030 Gembloux
Belgique

Dépôt légal : D/2016/8689/1

Conception graphique : **Benoît Toussaint / www.tobenotobe.be** *(by Filigrane)*

REQUASUD

Sept laboratoires à votre service

Laboratoire d'encadrement référentiel de la chaine Qualité alimentaire - Technique NIR

Département Valorisation des Productions (CRA-W)

Chaussée de Namur, 24
5030 GEMBLOUX
tél. +32(0)81/62 03 50
o.minet@cra.wallonie.be,
FoodFeedQuality@cra.wallonie.be

Laboratoire de proximité

CARAH

11, rue Paul Pastur
7800 ATH
tél. +32(0)68/26 46 90
labo.carah@hainaut.be
www.carah.be

Centre de Michamps

1, Horritine
6600 BASTOGNE (MICHAMPS)
tél. +32(0)61/21 08 20
centredemichamps@uclouvain.be
www.centredemichamps.be

Comité du lait

104, route de Herve
4651 BATTICE
tél. +32(0)87/69 26 05
mps@agrolab.be
www.comitedulait.be/agrolab.htm

Laboratoires de la Province de Liège

Rue de Dinant, 110
4557 TINLOT
tél. +32(0)85/24 38 00
Valérie.Genot@provincedeliege.be
www.provincedeliege.be/laboratoire

asbl Objectif Qualité

Passage des Déportés 2
B-5030 GEMBLOUX
tél. +32(0)81/62 22 61
atisa.gembloux@ulg.ac.be
www.gembloux.ulg.ac.be

asbl Brabant Wallon Agro-qualité

Rue St Nicolas, 17
1310 LA HULPE
tél. +32(0)2/656 09 70
agriculture@brabantwallon.be
www.brabantwallon.be/fr/Qualite-de-vie/agriculture/station-danalyse

asbl OPA-Qualité Ciney

Domaine St Quentin
Rue St Quentin, 14
5590 CINEY
tél. +32(0)81/77 68 16
Pierre.courtois@province.namur.be
www.opaciney.be

www.requasud.be

REQUASUD

Cellule de coordination

Rue de Liroux, 9
5030 Gembloux
tél. +32(0)81 62 65 91
requasud@cra.wallonie.be

TOBE NOTOBE