

## Remerciements

Au terme de la rédaction de ce mémoire, je tiens à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation.

Je souhaiterais adresser mes remerciements au Docteur Vincent Baeten, coordinateur de l'unité qualité des produits du CRA-W, pour m'avoir permis de réaliser mon stage au sein de son laboratoire de spectrométrie ;

Monsieur Philippe Vermeulen, mon maître de stage, qui s'est toujours montré disponible tout au long de mon stage et de la réalisation de ce mémoire ; ainsi que pour l'aide et le temps qu'il m'a consacré ;

Mes remerciements s'adressent également au Docteur Jean-Michel Romnée, à Jean-Michel Vaes et à Eric Fontaine pour leurs explications, le temps qu'ils m'ont consacré et leur aide précieuse, ainsi que tout le personnel pour leur accueil et leur soutien ;

Madame Doucet, professeur à l'Institut Supérieur Industriel de Huy et promotrice de ce mémoire, pour son implication, sa disponibilité et ses précieux conseils tout au long de la rédaction de ce travail ;

Et enfin, je tiens également à remercier ma famille, mes proches et Marion, pour leur contribution, leurs encouragements et leur soutien tout au long de l'année.

# Table des matières

## Glossaire

<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
------------------------------------	----------

<b>Partie théorique .....</b>	<b>3</b>
-------------------------------	----------

1	Le Blé.....	4
1.1	Définitions .....	4
1.2	Structure du grain .....	4
1.3	Les 2 grandes espèces de blé.....	6
1.3.1	Le Blé tendre : <i>triticum aestivum</i> .....	6
1.3.2	Le Blé dur : <i>triticum turgidum</i> .....	7
1.4	Les principaux constituants du grain de blé .....	8
1.4.1	L'amidon .....	9
1.4.1.1	Structure de l'amidon .....	10
1.4.1.2	Constituants de l'amidon .....	11
1.4.1.3	Les rôles de l'amidon .....	12
1.4.2	Les protéines .....	13
1.4.2.1	Les fonctions de la protéine au sein de la cellule .....	13
1.4.2.2	Classification des protéines .....	15
1.4.2.3	Les protéines dans le blé .....	16
1.4.3	Le pentosane.....	18
1.4.4	Les lipides .....	18
1.4.5	Les minéraux .....	18
1.5	Vitrosité et dureté du grain de blé .....	18
2	Les outils analytiques.....	19
2.1	Les analyses de référence .....	19
2.1.1	L'analyse du froment par méthode chimique .....	19
2.1.2	L'indice de Zélény .....	20
2.2	La spectrométrie proche infrarouge.....	20
2.2.1	Historique .....	20
2.2.2	Les ondes électromagnétiques .....	21
2.2.2.1	Propriétés des ondes électromagnétiques.....	21
2.2.2.2	Les propriétés corpusculaires d'un rayonnement.....	22
2.2.3	La Loi de Beer-Lambert .....	23
2.2.4	Les différentes régions infrarouges.....	24
2.2.5	Intérêt du rayonnement proche infrarouge .....	25
2.2.6	Montage et instrumentation .....	25
2.2.7	Absorbance et transmittance .....	26
2.2.8	Avantages et inconvénients : .....	26
2.2.9	Applications : .....	27
2.2.9.1	Les industries de transformation agro-alimentaire.....	28
2.2.9.2	Le domaine agricole .....	28
2.2.9.3	Intérêt du graine à graine : .....	30
2.3	Préparation de l'échantillon .....	30
2.3.1	L'échantillonnage.....	30
2.3.2	Le séchage des échantillons .....	31
2.3.3	Le broyage des échantillons.....	31
2.4	Le temps de chute de Hagberg .....	31

<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>33</b>
-----------------------------------	-----------

1	Introduction .....	34
2	Échantillons utilisés .....	35
3	Méthodes analytiques .....	37

3.1	Les spectromètres .....	37
3.1.1	Foss XDS.....	37
3.1.2	Caméra infrarouge .....	39
3.1.2.1	Description de la caméra .....	39
3.1.2.2	Description du fonctionnement de la caméra.....	40
3.1.3	ASD :.....	43
3.1.4	SCIO : .....	45
3.2	Protocoles d'analyse .....	48
3.2.1	Foss XDS.....	48
3.2.2	Caméra infrarouge .....	49
3.2.3	ASD.....	51
3.2.4	SCIO.....	52
3.3	Surface spectrale prise par les différents appareils.....	54
3.3.1	Foss XDS : .....	54
3.3.2	Caméra infrarouge : .....	55
3.3.3	ASD.....	55
3.3.4	SCIO.....	56
3.4	Comparaisons des différents appareils de mesure .....	56
3.5	Principe du Trumac : .....	56
3.5.1	Protocole .....	58
3.6	Méthodologie du traitement des données : les outils chimiométriques.....	60
3.6.1	Statistiques de base .....	60
3.6.2	Prétraitement des spectres .....	60
3.6.2.1	Aspect qualitatif .....	60
3.6.2.2	Aspect quantitatif .....	60
3.6.2.2.1	Le calibrage .....	61
3.6.2.2.2	Mode d'obtention de l'équation de calibrage .....	61
3.6.2.2.3	Paramètres d'appréciation du calibrage .....	62
3.6.2.2.4	La validation.....	65
3.7	Transformation des valeurs en protéines : .....	65
3.8	Choix des sets de calibration et de validation : .....	66

## **Résultats et Discussion..... 67**

1	Caractérisation de l'échantillon DQ150402 - 07 : .....	68
1.1	Distribution du taux de protéines analysé sur 21 sous échantillons de blés tendres en Bulk : 68	
1.2	Distribution de la valeur de référence en protéines analysée sur 195 grains de blés tendres : 69	
1.3	Commentaire général sur les figures 60 et 61: .....	69
2	Développement de modèles PLS en graine à graine.....	70
2.1	Spectres brutes de l'échantillon DQ150402-07 sur les 4 spectromètres.....	70
2.1.1	Foss XDS.....	71
2.1.2	Caméra infrarouge .....	72
2.1.3	ASD.....	73
2.1.4	SCIO.....	74
2.1.5	Commentaire général sur les spectres des ranges complets de chaque spectromètre.....	74
2.2	Prétraitement du set d'échantillon DQ150402 - 07 .....	75
2.2.1	Modèle PLS en calibration .....	76
2.2.2	Modèle PLS en cross validation leave one-out .....	77
2.3	Comparaisons des différents spectromètres avec tableau représentant des modèles de calibration et de cross validation leave one-out de l'échantillon DQ150402-07.....	78
3	Validation .....	81
3.1	Modèle PLS en validation.....	81
3.1.1	Comparaisons des différents spectromètres avec tableau représentant des modèles de validation de l'échantillon DQ150402-07 .....	82
4	Validation des équations en graine à graine sur d'autres sets d'échantillons.....	85
4.1	Comparaison de la valeur prédite moyenne des 96 graines avec la valeur prédite de la méthode Bulk.....	85
4.1.1	Valeur de la méthode Bulk.....	85

4.1.2	Valeur de la méthode en graine à graine.....	86
4.1.3	Commentaire général sur les deux échantillons et leurs méthodes d'analyse.....	87
5	Discrimination de lots de grains de blés durs et de blés tendres.....	88
5.1	Description de la discrimination .....	88
5.1.1	Distribution du taux de protéines analysé sur un échantillon de blé dur et un échantillon de blé tendre avec le Foss XDS.....	88
5.1.2	Distribution du taux de protéines analysé sur un échantillon de blé dur et un échantillon de blé tendre avec le système hyperspectrale proche infrarouge .....	90
5.1.3	Distribution du taux de protéines analysé sur un échantillon de blé dur et un échantillon de blé tendre avec l'ASD .....	92
5.1.4	Commentaire général sur les 2 échantillons et leurs méthodes d'analyse .....	94
<b>CONCLUSIONS .....</b>		<b>95</b>
<b>Bibliographie .....</b>		<b>99</b>
<b>Annexes.....</b>		<b>103</b>

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Distribution histologique des principaux constituants dans le grain de blé (Feillet, 2000) .....	8
Tableau 2 : Transport de substances chimiques dans le sang par les protéines.....	14
Tableau 3 : Composition du gluten (Feillet, 2000) .....	18
Tableau 4 : Indice de sédimentation « Zélény » (CRA-W unité 16, 2017) .....	20
Tableau 5 : Temps de chute de Hagberg (CRA-W unité 16, 2017).....	32
Tableau 6 : Description des échantillons utilisés.....	35
Tableau 7 : Spectromètres utilisés et leurs longueurs d'onde .....	37
Tableau 8 : Comparaison des quatre appareils de spectrométrie utilisés .....	56
Tableau 9 : récapitulatif du pourcentage de protéines pour l'échantillon DQ150402-07. .....	69
Tableau 10 : Tableau comparant les divers spectromètres sur des modèles de calibration et de cross validation .....	78
Tableau 11 : Légende du tableau 10 .....	78
Tableau 12 : Tableau comparant les divers spectromètres sur des modèles de validation .....	82
Tableau 13 : Légende du tableau 12 .....	82
Tableau 14 : Pourcentage de référence moyen mesuré en protéines d'un échantillon de blé dur et d'un échantillon de blé tendre .....	85
Tableau 15 : Pourcentage moyen d'un échantillon de blé dur et d'un échantillon de blé tendre avec la méthode Bulk.....	85
Tableau 16 : Données en protéines mesurées en graine à graine sur un échantillon de blé dur et de blé tendre avec le Foss XDS.....	86
Tableau 17 : Données en protéines mesurées en graine à graine sur un échantillon de blé dur et de blé tendre avec la caméra infrarouge.....	86
Tableau 18 : Données en protéines mesurées en graine à graine sur un échantillon de blé dur et de blé tendre avec l'ASD .....	87

## Liste des figures

Figure 1 : Différentes régions du grain de blé (Feillet, 2000) .....	4
Figure 2 : Différentes coupes d'un grain de blé (Feillet, 2000) .....	5
Figure 3: Représentation de blé tendre et de blé dur.....	7
Figure 4 : Formule chimique de l'amidon (Wikipédia, 2017) .....	9
Figure 5 : Représentation de l'amidon présent dans le grain (Feillet, 2000) .....	9
Figure 6 : Structure chimique de l'amylose (Horton & al., 1994) .....	11
Figure 7 : Structure chimique de l'amylopectine (Horton & al., 1994) .....	11
Figure 8 : Composition des protéines de la farine (Feillet, 2000) .....	16
Figure 9 : Schéma gliadine et gluténine (image issue d'internet) .....	17
Figure 10 : Les différentes bandes d'absorption dans le proche infrarouge (PowerPoint CRA-W) .....	22
Figure 11 : Schéma de la loi de Beer – Lambert (image issue d'internet) .....	23
Figure 12 : Les différentes zones du spectre lumineux (image issue d'internet).....	24
Figure 13 : Légende des différentes zones de spectres lumineux (image issue d'internet) .....	24
Figure 14 : Schéma d'un spectromètre en proche infrarouge (image issue d'internet)..	25
Figure 15 : Trieuse automatique de grains (PowerPoint CRA-W) .....	28
Figure 16 : Photo d'un spectromètre placé sur une moissonneuse (PowerPoint CRA-W) .....	29
Figure 17 : Image indiquant le taux de protéines calculé directement lors de la récolte (PowerPoint CRA-W) .....	29
Figure 18 : Spectromètres avec longueurs d'onde correspondantes (image modifiée du PowerPoint CRA-W) .....	34
Figure 19 : Photo personnelle d'un échantillon numéroté et classé .....	35
Figure 20 : Photo personnelle de sept échantillons numérotés et classés (CRA-W, unité 14, 2017) .....	36
Figure 21 : Photo personnel du Foss XDS fermé.....	37
Figure 22 : Photo personnelle du Foss XDS ouvert.....	37
Figure 23 : Photo personnelle d'un support de Ring Cup dans le Foss XDS (CRA-W, unité 14, 2017) .....	38
Figure 24 : Support Quarter cup dans le Foss XDS (CRA-W, unité 14, 2017) .....	38
Figure 25 : Photo personnelle d'un Quarter cup double rempli de blé (CRA-W, unité 14, 2017) .....	38
Figure 26 : Photo personnelle d'un Ring cup avec un grain de blé à l'intérieur (CRA-W, unité 14, 2017) .....	39
Figure 27 : Photo personnelle de la caméra infrarouge (CRA-W, unité 14, 2017) .....	39
Figure 28 : Ordinateur de la caméra infrarouge.....	41
Figure 29 : Dispositif de démarrage de la caméra infrarouge.....	41
Figure 30 : Dispositif d'allumage de l'éclairage .....	42
Figure 31: Photo personnelle de la caméra infrarouge (CRA-W, unité 14, 2017).....	42
Figure 32: Photo personnelle de l'ASD (CRA-W, unité 14, 2017) .....	43
Figure 33 : Panel de référence Figure 33 : Panel de référence (CRA-W, unité 14) .....	43
Figure 34: Sélection manuelle de grain de blé (CRA-W, unité 14) .....	44
Figure 35 : Pistol Grip (CRA-W, unité 14) .....	44
Figure 36: Cable de fibre optique (CRA-W, unité 14).....	44

Figure 37: Fiber Optic Illuminator (CRA-W, unité 14).....	45
Figure 38 : Photo personnelle du SCIO connecté au GSM (CRA-W, 2017) .....	45
Figure 39 : Photo personnelle du SCIO connecté au GSM + support (CRA-W 2017) .....	46
Figure 40 : Photo personnelle du boîtier du SCIO + SCIO (CRA-W, 2017) .....	46
Figure 41 : Photo personnelle du support utilisé pour le SCIO (CRA-W, unité 14, 2017).....	47
Figure 42: Photo personnelle de la face sillon et non sillon d'un grain de blé tendre (CRA-W, unité 14, 2017).....	48
Figure 43 : Photo personnelle du support Ring cup (CRA-W, unité 14, 2017).....	49
Figure 44 : Logo du logiciel d'acquisition d'image appelé HyperPro .....	49
Figure 45 : Photo personnelle d'un carrelage en céramique servant de calibrage (CRA-W, unité 14, 2017) .....	50
Figure 46 : Photo personnelle de l'ASD reliant l'ordinateur (CRA-W, unité 14, 2017) .....	51
Figure 47 : Photo personnelle pointant un grain de blé au Pistol Grip (CRA-W, unité 14, 2017) .....	51
Figure 48 : Photo personnelle du spectromètre SCIO (CRA-W, unité 14, 2017) .....	52
Figure 49 : Photo personnelle du boîtier du SCIO (CRA-W, unité 14, 2017).....	53
Figure 50 : Photo personnelle d'un grain de blé dans le support du SCIO avant le SCAN (CRA-W, unité 14, 2017).....	53
Figure 51 : Photo personnelle d'un grain de blé dans un Ring Cup (CRA-W, unité 14, 2017) .....	54
Figure 52: Photo personnelle d'un lot de grain de blé dans un Quarter Cup double (CRA-W, unité 14, 2017).....	54
Figure 53 : Photo personnelle de l'alignement des grains sur le tapis de la caméra infrarouge (CRA-W, unité 14, 2017) .....	55
Figure 54 : Photo personnelle de la surface du grain prise par la sonde ASD lors d'un scan (CRA-W, unité 14, 2017).....	55
Figure 55 : Photo personnelle de l'ordinateur reliant le Trumac et la balance (CRA-W, unité 14, 2017) .....	56
Figure 56 : Schéma de fonctionnement du Trumac (CRA-W, unité 14) .....	57
Figure 57 : Photo personnelle du tube primaire et secondaire + joints lèvres (CRA-W, unité 14, 2017) .....	58
Figure 58 : Photo personnelle de la mise en place de nacelle sur le carrousel du Trumac (CRA-W, unité 14, 2017).....	59
Figure 59 : Spectres avant et après application de la SNV .....	61
Figure 60 : Graphique indiquant la répartition du taux de protéines exprimé en % de 21 échantillons de blés tendres en analyse Bulk.....	68
Figure 61 : Graphique indiquant la répartition du taux de protéines exprimé en % de 195 échantillons de blés tendres en analyse graine à graine Trumac .....	69
Figure 62 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par le Foss XDS sur range complet.....	71
Figure 63 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par la caméra infrarouge sur range complet .....	72
Figure 64 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par l'ASD sur range complet..	73
Figure 65 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par le SCIO sur range complet .....	74
Figure 66 : Modèle PLS en calibration de l'échantillon DQ150402-07 .....	76
Figure 67 : Modèle PLS en cross validation leave one-out de l'échantillon DQ150402-07 .....	77
Figure 68 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 .....	81

Figure 69 : Graphique spectral d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec le Foss XDS .....	88
Figure 70 : Modèle PLS du Foss XDS sur un échantillon de 96 blés tendres et un échantillon de 96 blés durs.....	89
Figure 71 : Graphique en bâtonnets d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec le Foss XDS.....	89
Figure 72 : Graphique spectral d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec la caméra infrarouge .....	90
Figure 73 : Modèle PLS de la caméra infrarouge sur un échantillon de 96 blés tendres et un échantillon de 96 blés durs .....	91
Figure 74 : Graphique en bâtonnets d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec la caméra infrarouge.....	91
Figure 75 : Graphique spectral d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec l'ASD .....	92
Figure 76 : Modèle PLS de l'ASD sur un échantillon de 96 blés tendres et un échantillon de 96 blés durs .....	93
Figure 77 : Graphique en bâtonnets d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec la caméra infrarouge.....	93
Figure 78 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS ..	104
Figure 79 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS ..	105
Figure 80 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS ..	105
Figure 81 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS ..	106
Figure 82 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur la caméra infrarouge.....	106
Figure 83 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur l'ASD.....	107
Figure 84 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur l'ASD.....	107
Figure 85 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur l'ASD.....	108
Figure 86 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le SCIO .....	108

## Glossaire

ASD = Appareil portable de spectrométrie infrarouge ;

CRA - W = Centre Wallon de Recherches Agronomiques ;

DUMAS = Dosage du Carbone et de l'Azote Total ;

Foss XDS = Appareil de laboratoire pour la spectrométrie infrarouge ;

HSI = High Speed Interface ; Correspond au système hyperspectrale proche infrarouge ;

Méthode Bulk = Technique de spectrométrie proche infrarouge classique ;

NIR = Near InfraRed;

Nm = Nanomètre ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ );

PCA = Analyse en Composantes Principales ;

PLS = Partial Least Square ;

Quarter cup = Support permettant d'accueillir plusieurs grains ou farine afin de les analyser sous un spectromètre ;

$R^2$  = Coefficient de détermination ;

Ring cup = Support permettant d'accueillir un grain afin de l'analyser sous un spectromètre ;

SCIO = Appareil portable de spectrométrie infrarouge ;

SNV = Standard Normal Deviate ;

SPIR = Spectrométrie Proche Infrarouge.

## Résumé :

La spectrométrie proche infrarouge (SPIR) est une technique analytique utilisée pour le contrôle qualité des produits qui peut être qualitative et quantitative. Elle est basée sur l'absorption de radiations lumineuses par la matière dans la région du proche infrarouge comprise entre 780 nm et 2500 nm. Il s'agit d'un outil adéquat pour le contrôle de la qualité des produits dans les divers domaines agricoles et alimentaires.

L'objectif de ce mémoire est d'explorer le potentiel des méthodes analytiques SPIR appliquées en graine à graine pour déterminer le taux de protéines dans des échantillons de céréales, en particulier le blé tendre et le blé dur. En parallèle, le second objectif consiste à évaluer quatre instruments de spectrométrie proche infrarouge : deux appareils fixes de laboratoire, un instrument classique (Foss XDS) et un instrument d'imagerie (BurgerMetrics) ; ainsi que deux appareils portables permettant d'être utilisés directement sur le terrain, l'ASD et le SCIO.

L'étude menée a été réalisée selon cinq étapes. Tout d'abord, la caractérisation d'un échantillon de blé tendre (DQ150402 - 07) a été réalisée à l'aide de la technique SPIR classique en Bulk et l'analyse de référence de 200 graines individuelles (Trumac). En parallèle, ces 200 graines ont été analysées individuellement à l'aide des quatre instruments SPIR. Sur base des spectres et des valeurs de référence acquises en graine à graine, des modèles PLS ont pu être développés sur un set de calibration de 156 graines, pour différentes gammes de longueurs d'onde, afin de comparer les quatre instruments. Puis, la validation de ces modèles PLS sur le set de validation de 39 graines a pu être réalisée. Ces modèles ont ensuite été appliqués et validés sur deux sets de 96 graines d'une autre variété de blé tendre et d'une variété de blé dur. Enfin, le potentiel de l'analyse graine à graine a été évalué dans le cadre du tri de graines d'espèces différentes (blé dur et blé tendre).

Cette étude décrit la grande variabilité de la teneur en protéines des grains d'un même lot. Elle prouve également que le modèle graine à graine développé pour le Foss XDS est performant (RMSEP : 0,25,  $R^2$  : 0,92, RPD : 4,6) et permet de classer les graines en cinq groupes suivant leur teneur en protéines. Ces valeurs sont équivalentes à celles de l'équation utilisée en routine pour l'analyse de coupelles de graines (SECV : 0,304,  $R^2$  : 0,95, RPD : 4,3). La performance des modèles développés en imagerie proche infrarouge ou en utilisant l'ASD est plus faible avec un RPD de 3,3 et de 2,1 et une possibilité de classification en 3 ou 2 groupes. Enfin, les résultats obtenus lors de la réalisation des modèles PLS à partir du SCIO ne se sont pas avérés concluants.

MOTS-CLES : spectroscopie, proche infrarouge, graine à graine, blé, protéine.

## Introduction générale

Le blé peut être classé selon deux types de catégories : on parlera du blé meunier ou du blé fourrager.

Le blé meunier, destiné à la consommation humaine, est de bonne qualité, contrairement au blé fourrager, de moins bonne qualité, qui est destiné à l'alimentation animale. Riche en éléments nutritifs et notamment en protéines, le blé meunier est acheté plus cher à l'agriculteur.

Afin d'apprécier les caractéristiques de leur production, il est indispensable pour les agriculteurs d'avoir à leur disposition des outils leur permettant d'évaluer la qualité de leurs produits de façon à pouvoir les valoriser au mieux.

Il est de même pour les industries qui ont un besoin manifeste de caractériser les intrants de leurs produits. Il est nécessaire pour eux d'obtenir des informations concernant le type de céréales qu'ils collectent, le pourcentage de protéines contenu dans le blé, ou encore le taux d'humidité présent dans le grain.

Dans le but de contrôler la qualité des produits, il est nécessaire d'employer une méthode simple, peu coûteuse et rapide, permettant de déterminer la composition des produits.

La spectrométrie est une technique capable d'analyser les propriétés physiques et la composition d'un échantillon. Actuellement, l'utilisation de la spectrométrie infrarouge s'est énormément répandue dans l'industrie : les industries de transformation agro-alimentaire, industries pharmaceutiques, chimiques, etc.

Il existe diverses méthodes qui ont pour but de contrôler la teneur en protéines :

- La méthode de référence qui s'avère être une méthode destructive de l'échantillon analysé (DUMAS) ;
- La méthode d'analyse SPIR de la farine qui consiste en un broyage des grains. Cette méthode nécessite un temps de préparation important ;
- La méthode d'analyse SPIR d'une coupelle de grains qui est rapide et largement utilisée dans les organismes de collecte de céréales. Elle ne demande aucune préparation préalable à l'analyse ;

- La méthode d'analyse SPIR graine à graine qui permet d'évaluer l'hétérogénéité des graines.

Dans le cas de notre étude, la spectrométrie proche infrarouge sera employée dans le but de détecter le pourcentage de protéines présent dans le blé par analyse graine à graine.

Dès lors, l'objectif principal de ce travail est de comparer quatre instruments de spectrométrie pour l'analyse graine à graine à savoir, le Foss XDS, la caméra infrarouge, qui sont tous les deux des appareils de laboratoire et l'ASD et le SCIO qui sont des appareils pouvant être emmenés sur le terrain. L'objectif est également de définir leurs atouts afin de déterminer lequel est le plus précis en termes d'analyse de la protéine dans le grain entier.

La première partie de ce travail sera consacrée à la description du grain de blé et de ces constituants, notamment la protéine. Nous y aborderons également la spectrométrie proche infrarouge en y décrivant son fonctionnement et ses différents domaines d'application.

La seconde partie sera consacrée à la description du matériel employé et des méthodes analytiques utilisées.

Enfin, nous analyserons et discuterons les résultats obtenus lors des tests effectués à partir des différents appareils infrarouges.

En conclusion de ce travail, nous tenterons de décrire les atouts et les faiblesses des différents spectromètres employés dans une perspective de tri de grains sur base de la teneur en protéines.

# Partie théorique

# 1 Le Blé

## 1.1 Définitions

Selon Feillet (2000), le blé est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscant (se dit d'un fruit qui ne s'ouvre pas spontanément). Il est constitué d'une graine et de téguments. Le blé fait partie de la famille des *Gramineae* et appartient au genre *Triticum*. On dit du blé qu'il est une monocotylédone : cela signifie que chez les plantes supérieures, angiospermes et gymnospermes, l'embryon de la graine contient des feuilles rudimentaires appelées cotylédons. L'embryon de blé ne possède qu'un cotylédon. La graine est protégée par des téguments : le blé est une angiosperme et une monocotylédone.

Il existe de nombreuses espèces de blé. Les 2 les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) qui est hexaploïde et le blé dur (*Triticum durum*) qui est tétraploïde. Il existe plusieurs autres espèces qui sont différenciables par leur degré de ploïdie (nombre de jeux de chromosomes d'une cellule ou d'un organisme) et par leur nombre de chromosomes : *Triticum spelta* (épeautre) est un blé tendre qui est hexaploïde et *Triticum turgidum* (blé poulard) est un blé dur tétraploïde.

## 1.2 Structure du grain

Le grain de blé est composé de trois régions :

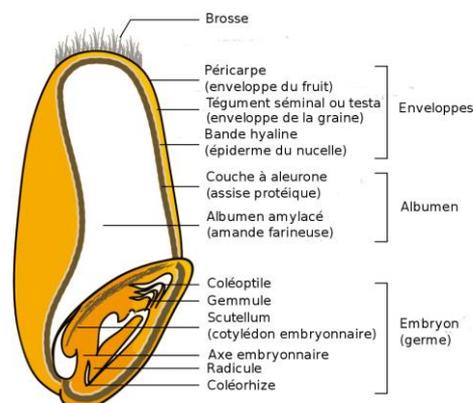


Figure 1 : Différentes régions du grain de blé (Feillet, 2000)

- **L'albumen** : il s'agit d'un tissu triploïde issu de la double fécondation du sac embryonnaire. Cette région est constituée de l'albumen amylicé, au sein duquel subsistent des cellules remplies d'amidon dispersées au milieu d'une couche à aleurone et dont les parois celluliques sont peu visibles ; et de la couche à aleurone, constituant environ 80 à 85 % du grain.
- **Les enveloppes de la graine et du fruit** : elles sont composées de 6 tissus différents. Bande hyaline (l'épiderme du nucelle), tégument séminal (l'enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules croisées, mésocarpe et épicarpe (l'enveloppe du fruit).
- **Le germe** : c'est un embryon possédant tous les futurs organes de la plante. Il est principalement composé de protéines et de lipides.

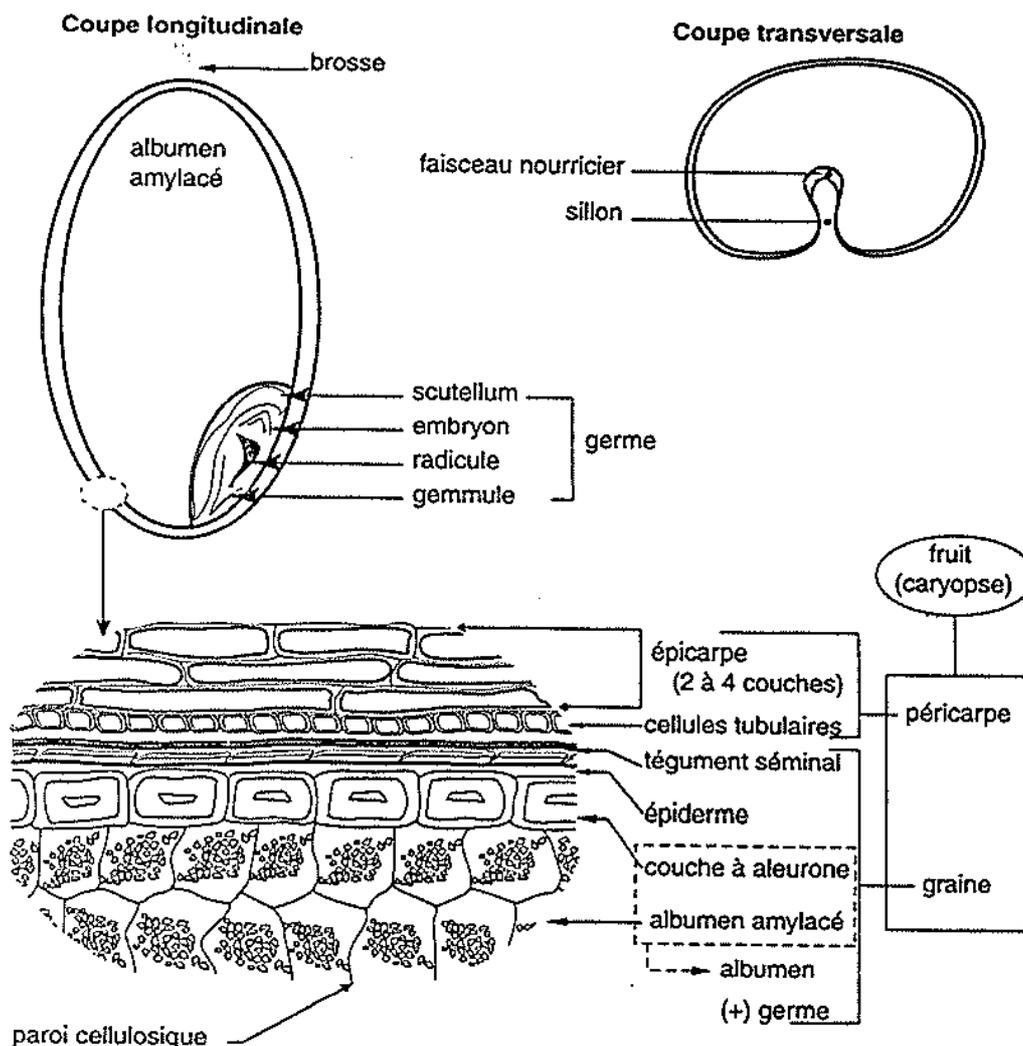


Figure 2 : Différentes coupes d'un grain de blé (Feillet, 2000)

## 1.3 Les 2 grandes espèces de blé

Le terme blé désigne certaines céréales appartenant au genre *Triticum*, dont le blé dur et le blé tendre.

### 1.3.1 Le Blé tendre : *triticum aestivum*

Le blé tendre est une espèce de blé ayant comme nom latin *Triticum aestivum* et est appelé plus communément « froment ». Le froment est l'espèce de blé la plus cultivée au monde notamment grâce aux facteurs suivants :

- Il est très résistant aux variations climatiques ;
- Son rendement est très bon ;
- Le froment est une céréale qui est très résistante aux maladies ;
- Son grain est riche en protéines ;
- C'est une céréale également riche en gluten. Elle permet d'avoir une large gamme au niveau des pâtes qui sont faites à partir du froment (pain, etc.).

Les pays les plus gros producteurs de froments sont la Chine suivie des Etats-Unis et ensuite de l'Europe.

Ce type de blé est essentiellement utilisé pour fabriquer de la farine qui sera ensuite employée à la production de pain : on parlera alors de « la panification ». Le blé tendre sera privilégié dans ce type d'utilisation car il contient du gluten adapté qui va lier les molécules d'amidon avec le CO<sub>2</sub> qui se forme lorsque la pâte à pain lève. Il existe également différents types de farine de blé tendre qui vont se différencier en fonction de la nature du gluten : un gluten extensible s'avère idéal pour la fabrication du pain, alors qu'un gluten moins résistant sera privilégié en pâtisserie.

Nous le retrouvons également en alimentation animale.

Et enfin, le blé tendre peut également être employé pour la fabrication du papier, des produits phytopharmaceutiques, des cosmétiques ainsi que pour produire du bioéthanol.

### 1.3.2 Le Blé dur : *triticum turgidum*

Le blé dur, *triticum turgidum* de son nom latin, est une variété de blé caractérisée par un grain dur et vitreux. Il se distingue du blé tendre par son grain à albumen vitreux et sa plus haute teneur en protéines. On retrouvera les cultures de blé dur principalement sous les climats secs, comme dans le sud de la France ou encore en Italie, car il est plus sensible au froid et plus résistant à la sécheresse.

Le blé dur possède des qualités nutritives particulièrement intéressantes : en effet, celui-ci est riche en protéines qui aident à la construction des tissus, mais il contient également des acides aminés indispensables à l'organisme.

De par sa dureté, le blé dur n'est pas consommé en état : il sera transformé en semoule qui sert à la production alimentaire. On en retrouvera dans les pâtes, dans le couscous, mais également en pâtisserie. La semoule de blé est particulièrement conseillée aux enfants, femmes enceintes ou encore aux sportifs, de par sa richesse en vitamines, sels minéraux et enzymes. De plus, la semoule de blé contient très peu de matière grasse et est de ce fait très utile aux personnes souffrant d'obésité.

L'ajout de substances chimiques à la semoule de blé dur est interdit par la législation.



Figure 3: Représentation de blé tendre et de blé dur

## 1.4 Les principaux constituants du grain de blé

Un grain de froment est composé essentiellement de cinq constituants :

1. L'amidon, présent à environ 70 % ;
2. Les protéines, présentes entre 10 et 15 % ;
3. Le pentosane, présent à environ 8 à 10 % ;
4. Les lipides, présents de 2 à 3 % ;
5. Les minéraux, présents de 1,5 à 2,5 %.

D'autres constituants sont présents, mais en très petites quantités, comme des sucres libres, de la cellulose ainsi que des vitamines.

L'ensemble de ces constituants est réparti de manière inégale au sein du grain. L'amidon est présent en totalité dans l'albumen, tandis que les protéines se retrouvent dans le germe et dans l'albumen au niveau de la couche d'aleurone.

Constituants du grain	Pourcentage des différents constituants présent dans le grain									
	Grain		Péricarpe		Aleurone		Albumen		Germe	
	% G	% T	% G	T %	% G	% T	% G	% T	% G	
Protéines	13,7	10	4,4	30	15,3	12	73,5	31	6,8	
Lipides	2,7	0	0	9	23,6	2	62,9	12	13,5	
Amidon	68,9	0	0	0	0	82	100	0	0	
Sucres réducteurs	2,4	0	0	0	0	1,8	62,7	30	37,3	
Pentosanes	7,4	43	35,1	46	43,8	1,6	18,3	7	2,9	
Cellulose	2,8	40	87,1	3	7,6	0,1	3,1	2	2,2	
Minéraux	1,9	7	22,6	12	43,6	0,5	22,6	6	9,7	

Tableau 1 : Distribution histologique des principaux constituants dans le grain de blé (Feillet, 2000)

### Légende :

% G = pourcentage du constituant dans le grain.

% T = pourcentage du constituant dans le tissu.

### 1.4.1 L'amidon

L'amidon a pour formule chimique :

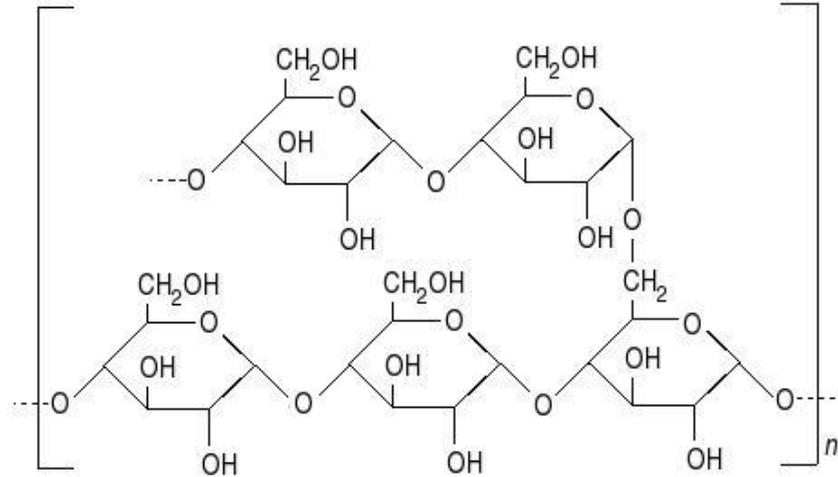


Figure 4 : Formule chimique de l'amidon (Wikipédia, 2017)

L'amidon se retrouve dans le grain sous la forme de granules. Il représente le principal polysaccharide de réserve des végétaux supérieurs qui le stocke et l'utilise comme source d'énergie pendant le stade de la germination et de la reproduction. (Feillet, 2000)

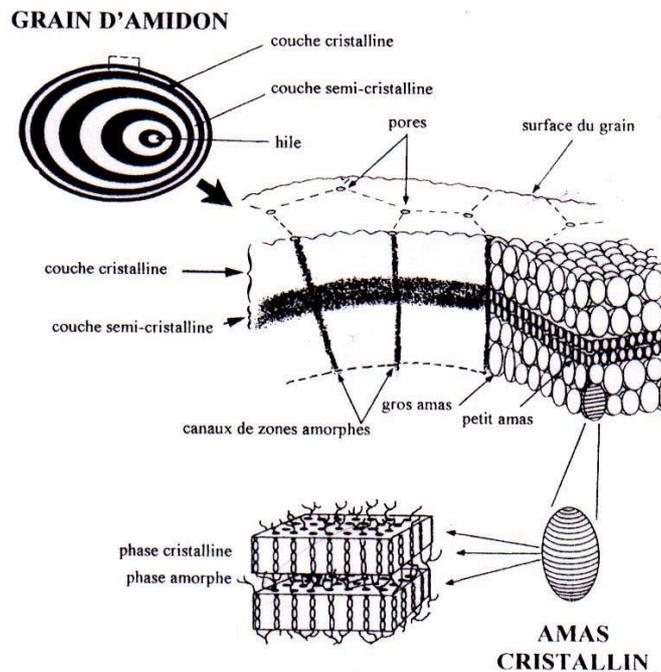


Figure 5 : Représentation de l'amidon présent dans le grain (Feillet, 2000)

#### 1.4.1.1 Structure de l'amidon

Le polysaccharide est composé d'une chaîne de molécules de D-Glucose, et lui-même constitué d'amylose et d'amylopectine.

L'amidon dans le blé est composé de 2 types de granules différents observables au microscope :

- La classe A représente 80 à 90 % du poids total de l'amidon. Ce sont des granules dont la taille varie de 20 à 25  $\mu\text{m}$ . Ils sont de forme incurvée et minoritaire en nombre ;
- La classe B représente les granules de 2 à 10  $\mu\text{m}$  de forme sphérique. Ces granules sont majoritaires en nombre.

La variation de la taille des grains influence les caractéristiques du grain en industrie :

- Les grains plus petits seront plus résistants aux stimuli externes. De ce fait, ces grains seront moins prédisposés aux transformations physico-chimiques ;
- Présentant des pores à leur surface, les gros grains facilitent l'entrée des enzymes.

Nous remarquons ainsi que la taille des grains aura une influence sur l'activité enzymatique mesurée par l'indice de chute de Hagberg. Le temps de chute de Hagberg sera diminué dans le cas où la farine contient des gros grains et que l'activité enzymatique augmente. Lors du processus de panification, le temps de chute ne doit pas descendre sous 250 secondes.

Le critère de la taille des granules influencera également les caractéristiques de la pâte : on obtiendra une pâte plus extensible dans le cas où la proportion de petits granules sera importante.

### 1.4.1.2 Constituants de l'amidon

Les grains d'amidon de blé sont formés de deux molécules :

- L'amylose

L'amylose est un polysaccharide qui représente 20 à 30 % de l'amidon.

Il est constitué d'une chaîne linéaire de glucoses assemblés en liaisons  $\alpha$ -(1,4) adoptant une forme hélicoïdale composée de 6 à 8 résidus de glucose par tour de spire.

Cette hélice possède des propriétés hydrophiles à l'extérieur et hydrophobes à l'intérieur.

L'amylose contient en moyenne 1000 à 2000 unités de glucose.

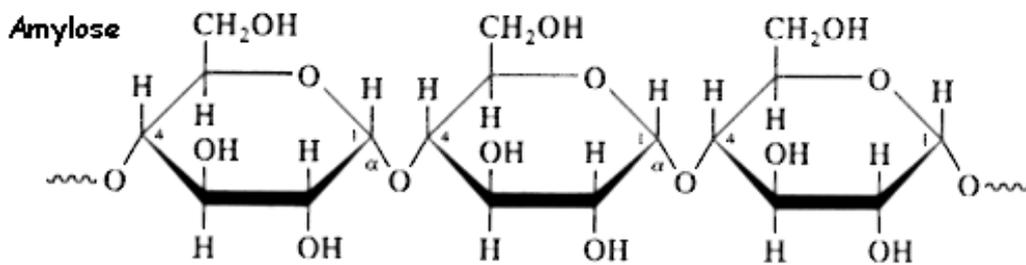


Figure 6 : Structure chimique de l'amylose (Horton & al., 1994)

- L'amylopectine

L'amylopectine est un polysaccharide qui représente environ 70 à 80 % de l'amidon.

Il s'agit d'une structure ramifiée qui est plus consistante que l'amylose.

L'amylopectine possède une structure arborescente due aux molécules de D-glucose qui sont reliées entre elles par des liaisons  $\alpha$ -(1,4) ainsi que par des liaisons  $\alpha$ -(1,6).

Elle est composée d'environ  $10^6$  unités de glucose.

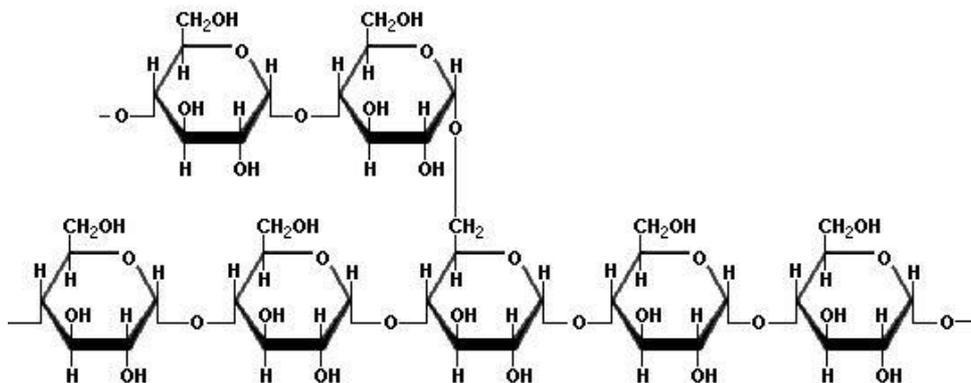


Figure 7 : Structure chimique de l'amylopectine (Horton & al., 1994)

### 1.4.1.3 Les rôles de l'amidon

L'amidon est un des polymères fonctionnels faisant partie des plus importants dans nos aliments grâce à ses différents rôles :

- **Absorption de l'eau**

L'amidon n'absorbe pas l'eau froide dans laquelle il se trouve. Lorsque l'on augmente progressivement la température de l'eau dans laquelle on a dilué l'amidon, nous pouvons remarquer que l'ensemble des couches composant le globule se gonfle en absorbant beaucoup d'eau. A température normale, l'amidon insoluble est capable de fixer jusqu'à 40% de son poids d'eau. Lorsque la température dépasse 55-60°C, les liaisons hydrogènes se séparent, entraînant la granule d'amidon à gonfler et à se déstructurer. Les constituants macromoléculaires vont alors s'éparpiller pour ensuite se solubiliser avant la formation d'un empois d'amidon. (Feillet, 2000)

- **Gélatinisation**

Lorsque la température de l'eau excède les 50°C, cela entraîne un gonflement irréversible des grains et conduit à leur solubilisation : pour une plage de température donnée, appelée plage de gélatinisation, le grain d'amidon va gonfler rapidement et perdre sa structure semi-cristalline, ce qui entraînera une absorption de l'eau (gonflement) qui produira l'éclatement des granules et ensuite solubilisera l'amylose. On obtient alors un empois : l'amidon est gélatinisé. Une fois que l'empois sera refroidi, il se transformera en gel.

La gélatinisation est un phénomène irrévocable qui entraîne une augmentation de la viscosité du milieu, mais également la gélification de l'amidon lorsque la température baisse.

Concernant les composants chimiques de l'amidon, l'amylose et l'amylopectine, subissent également des modifications : l'amylose se solubilise et forme un gel continu autour des granules lorsque la température augmente, entraînant alors une augmentation de la viscosité du milieu. Les granules s'enrichissent également en amylopectine.

Face au refroidissement, l'amylose s'associe par des liaisons hydrogènes et forme directement des gels ; contrairement à l'amylopectine, qui ne passera à l'état de gel qu'après une longue période de repos. (Feillet, 2000)

- **Rétrogradation**

La rétrogradation de l'amidon est l'association des molécules qui constitue l'amidon et ensuite la cristallisation de celles-ci. Pour finir, l'amidon formera un gel.

Ce phénomène s'observe lorsque l'amidon se trouve dans un état où il est amorphe et qu'il passe à un état cristallin. Autrement dit, les granules passent d'un état désordonné à un état ordonné. Ce phénomène est réversible : il se produit dans les deux sens. (Feillet, 2000)

#### 1.4.2 [Les protéines](#)

Les protéines sont des macromolécules présentes dans toutes les cellules vivantes. Elles sont formées d'une ou de plusieurs chaînes d'acides aminés. On parlera de protéine lorsqu'il y a plus de 100 acides aminés liés entre eux. La protéine est la seule source d'azote que l'homme peut utiliser. La protéine possède une multitude de fonctions au sein de la cellule.

##### 1.4.2.1 *Les fonctions de la protéine au sein de la cellule*

- **Rôle de structure**

Les protéines forment entre elles une structure de filaments qui se rassemblent afin de former des fibres très solides, plus résistantes que l'acier, et ayant une masse égale à celle de la protéine.

- **Rôle de mouvement**

L'interaction entre l'actine et la myosine est responsable de la présence de contraction des cellules musculaires. Dans les muscles, nous avons des cellules qui sont remplies de ces deux molécules. Cela signifie que lorsque l'on fait du sport, les fibres d'actine et de myosine vont augmenter au niveau des cellules. Le muscle va donc grossir sans augmenter le nombre de cellules qui le compose. En revanche, lorsque l'on mange des aliments riches en protéines, les quantités d'actine et de myosine augmentent, ayant également une influence sur nos muscles.

- **Rôle de transport de substances dans le sang**

Les protéines transportent certaines substances chimiques dans l'organisme tels que l'hémoglobine, la myoglobine ou encore l'albumine sérique.

<b>Protéines</b>	<b>Substances chimiques transportées</b>	<b>Lieu d'arrivée de la substance chimique</b>
L'hémoglobine	Oxygène	Sang
La myoglobine	Oxygène	Muscle
L'albumine sérique	Gras	Sang

Tableau 2 : Transport de substances chimiques dans le sang par les protéines

- **Transport de substances à travers la membrane des cellules**

Les membranes des cellules sont constituées de canaux protéiques par lesquels passent des substances chimiques. Les canaux peuvent s'ouvrir ou se fermer suivant les substances à laisser rentrer ou non dans la cellule.

- **Rôle d'hormones**

La plus grande partie des hormones sont des protéines. Nous pouvons y trouver l'insuline, qui est une hormone composée de deux chaînes d'acides aminés, qui sont reliées entre elles grâce à des ponts disulfures.

- **Rôle d'identification des cellules**

La membrane de toutes les cellules contient des glycoprotéines, qui sont des protéines associées à de courts polysaccharides. Leur rôle principal est de permettre au système immunitaire de reconnaître ses propres cellules (et donc de ne pas les attaquer). Ces glycoprotéines sont nombreuses et très variables. Il n'y a pas deux personnes qui possèdent les mêmes glycoprotéines. Le système immunitaire peut distinguer ses propres cellules des cellules étrangères par les glycoprotéines de la membrane.

- **Rôle de défense**

Les protéines sont également des anticorps qui vont défendre l'organisme face aux cellules étrangères. Les anticorps sont fabriqués par les globules blancs.

- **Rôle des enzymes**

Les enzymes, qui sont elles-mêmes des protéines, vont catalyser les réactions chimiques qui ont lieu dans la cellule.

#### *1.4.2.2 Classification des protéines*

Nous pouvons distinguer deux classes de protéines :

- **Les protéines d'origine animale**

Elles sont issues de la viande, de la charcuterie, du poisson, des produits laitiers ou encore des œufs.

Elles sont dites « complètes », car elles possèdent des teneurs très élevées en AAE (acides aminés essentiels).

Elles sont cependant très acidifiantes, car elles sont liées à des minéraux (chlore, soufre, phosphore) qui se transforment en acides forts (acide chlorhydrique, sulfurique, phosphorique) une fois dans le corps.

- **Les protéines d'origine végétale**

Les céréales, de même que les légumineuses, sont des aliments très riches en protéines.

Les protéines végétales contiennent peu de graisse. Elles sont constituées des mêmes acides aminés que les protéines animales. En revanche, les acides aminés possèdent une proportion différente en fonction du type de protéines. Les propriétés des peptides s'avèrent également différentes. C'est pour cette raison que l'assimilation des protéines différera en fonction de son origine animale ou végétale.

Les protéines végétales, dites « incomplètes », possèdent une déficience en acides aminés essentiels, qui sont en revanche présents dans les protéines animales.

Les personnes végétariennes et encore plus les personnes qui sont végétaliennes, vont devoir compenser ce manque d'acides aminés essentiels par d'autres plantes bien spécifiques comme la quinoa, la spiruline (algue d'eau douce), etc. car ces plantes sont riches en acides aminés essentiels.

### 1.4.2.3 Les protéines dans le blé

Les protéines sont présentes majoritairement dans l'albumen, le germe et la couche à aleurone pour la synthèse des enzymes. Les protéines représentent le second constituant en poids de la matière sèche du blé ; représentant environ 10 à 15 %.

Nous y retrouvons les albumines, les globulines, ainsi que les gliadines et gluténines. Les gliadines et gluténines forment le gluten du grain de blé, qui est le plus important pour la panification.

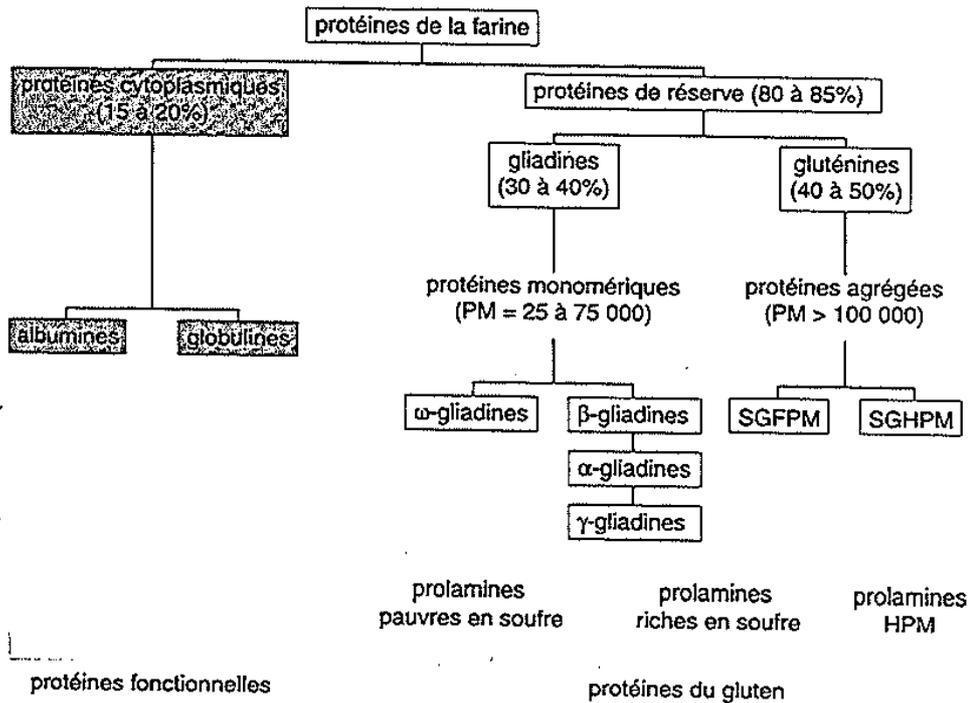


Figure 8 : Composition des protéines de la farine (Feillet, 2000)

Le gluten est un complexe protéique viscoélastique constitué de gliadines et de gluténines qui s'associent par des liaisons covalentes disulfures ou peptidiques et non-covalentes, tels que des ponts hydrogènes (pont H), des liaisons ioniques ainsi que des interactions hydrophobes.

### **Structure de la protéine de gluten :**

*Les gliadines* : les gliadines sont des protéines monomériques qui sont associées par des liaisons hydrogènes et hydrophobes qui contribuent à l'extensibilité et à la viscosité du gluten. Les gliadines sont solubles dans l'alcool, sont extensibles, faiblement élastiques, de même qu'elles sont solubles dans les acides, les bases, et les solvants à liaisons hydrogènes. La masse moléculaire des gliadines est comprise entre 30 000 et 100 000.

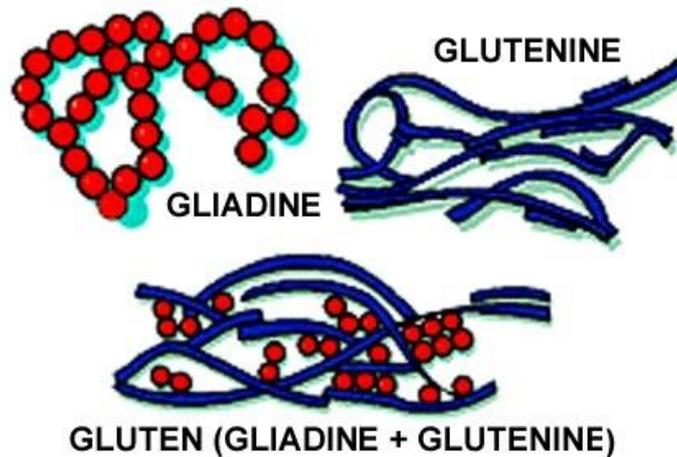


Figure 9 : Schéma gliadine et gluténine (image issue d'internet)

*Les gluténines* : les gluténines composent une famille hétérogène de polymères qui constitue 40 à 50 % des protéines totales de la farine. Elles sont composées d'unités de haut poids moléculaire (supérieures à 100 000 et pouvant aller jusqu'à plusieurs millions). Les gluténines sont faiblement extensibles et élastiques. Elles sont suspensibles dans les acides, dans les bases et les solvants à liaison hydrogène.

L'acide glutamique et la proline sont les acides aminés les plus présents dans le gluten.

### **Application et rôle de la protéine de gluten :**

La principale utilisation du gluten se retrouve dans la boulangerie, pour la fabrication du pain. En effet, les propriétés élastiques de la protéine permettent d'obtenir un pain de qualité lorsque la pâte est malaxée grâce à la viscoélasticité du gluten. On obtient le gluten à partir d'une pâte de blé tendre ou dur en la lavant à l'eau.

Le gluten peut également être utilisé en alimentation animale, en tant que matériau, comme par exemple en biofilm, ou encore comme émulsifiant.

### **Composition du gluten :**

<b>Composition du gluten</b>	
Protéines	75 à 85 % ms
Amidon	8 à 10 % ms
Sucres réducteurs	1 à 2 % ms
Lipides	5 à 10 % ms
Pentosanes	2 % ms
Matières minérales	1% ms

Tableau 3 : Composition du gluten (Feillet, 2000)

#### **1.4.3 Le pentosane**

Ce sont des polysaccharides non amylicés qui constituent des parois végétales. Les pentosanes représentent environ 8 à 10 % du grain de blé et constituent les parois cellulaires de l'albumen (70 à 80 %).

Ils sont divisés en deux groupes : les pentosanes solubles et insolubles. Ils sont classés suivant leur solubilité dans l'eau froide.

#### **1.4.4 Les lipides**

Les lipides sont issus de 20 à 30 % du germe et de la couche à aleurone. Les 70 à 80 % des lipides restant sont issus de l'albumen.

#### **1.4.5 Les minéraux**

Les matières minérales principalement présentes dans le blé sont le phosphore, le potassium et le magnésium. La majorité des minéraux se trouvent dans les enveloppes et le germe du grain.

### **1.5 Vitrosité et dureté du grain de blé**

La vitrosité d'un grain dépend des conditions dans lesquelles il a été cultivé. Au plus la vitrosité est élevée, au plus la teneur en protéines le sera également. Un blé qui possède une texture friable va donner des farines même si la vitrosité du grain est faible ou élevée. Au contraire, l'absence de friabilité et de vitrosité entrainera la présence de farine dans le grain.

Un grain étant en possession d'une marque d'amylacée sur lui sera appelé « grain non-vitreux ». Des grains vitreux possèdent une couleur qui reste naturelle et « translucide ». Ce signe nous indique la dureté du grain.

La dureté d'un grain fait référence à sa variété. La dureté va être évaluée à travers sa résistance lorsque l'on tente de le briser. (Feillet, 2000)

## 2 Les outils analytiques

### 2.1 Les analyses de référence

Il existe deux analyses de référence pour quantifier la teneur en azote dans un échantillon. La première méthode est celle de **Kjeldahl**, elle permet de déterminer le contenu en azote d'une substance organique (un échantillon).

Lorsque l'azote se trouve sous forme organique, on va minéraliser le composé afin d'obtenir de l'azote minéral. La molécule organique va être dissoute, car on l'oxyde à ébullition avec de l'acide sulfurique concentré. La réaction se fait à l'aide de catalyseur.

Le carbone s'élimine sous forme de dioxyde de carbone et l'hydrogène sous forme d'eau. Contrairement à l'azote qui va rester en solution sous forme d'ion ammonium.

Ensuite, les ions ammoniums sont dosés par titration.

La seconde méthode est **DUMAS** : elle consiste à analyser l'azote total qui se trouve dans un quelconque échantillon organique. La méthode DUMAS produit une combustion totale de l'échantillon en présence d'oxygène. Les gaz qui sont produits lors de la combustion seront ensuite réduits par du cuivre pour être ensuite desséchés (le CO<sub>2</sub> et l'eau vont être piégés). Un détecteur universel, un catharomètre, mesurera ensuite la teneur en azote présente dans l'échantillon.

#### 2.1.1 [L'analyse du froment par méthode chimique](#)

L'analyse chimique reste obligatoire, car elle permet d'obtenir des valeurs justes et précises. Elles sont appelées « valeur de référence » ou « standard », car ce sont sur ces valeurs que nous nous basons en analysant les résultats obtenus par l'analyse de la spectrométrie infrarouge.

Il s'agit de méthodes normalisées appelées Kjeldahl ou Dumas qui sont vérifiées fréquemment pour garder une valeur correcte en permanence.

### 2.1.2 L'indice de Zélény

Il s'agit d'un indice de sédimentation qui s'exprime en ml et qui permet de nous informer sur la qualité et la quantité des protéines présentes dans le grain. L'indice permet également d'attribuer une appréciation sur la qualité de la pâte.

La mesure de l'indice de Zélény consiste à observer la capacité des protéines de la farine à gonfler en milieu acide ou, au contraire, à ne pas gonfler.

Au plus l'indice de Zélény sera élevé, au plus les protéines seront de bonne qualité donc au plus elles absorbent l'eau, ce qui signifie que le volume de sédimentation est élevé.

Inversement, un indice de Zélény plus faible montre que les protéines sont de moins bonne qualité. Les protéines absorbent donc moins d'eau en milieu acide, ce qui se traduit par un volume de sédimentation faible. (Agneessens, Baeten, Dardenne, & al. s.d)

Indice de sédimentation "Zélény"	
Zélény < 20 ml	Mauvaise qualité
20 ml < Zélény < 30 ml	Panifiable courant
30 ml < Zélény < 40 ml	Bonne valeur boulangère
Zélény > 40 ml	Très bonne valeur boulangère

Tableau 4 : Indice de sédimentation « Zélény » (CRA-W unité 16, 2017)

## 2.2 La spectrométrie proche infrarouge

### 2.2.1 Historique

De nombreuses techniques instrumentales basées sur les propriétés physiques des échantillons, ont été développées, répondant à des demandes d'analyses rapides et peu onéreuses.

Mais K. Norris et ses collaborateurs ont été plus loin en orientant leurs travaux sur un dispositif capable d'analyser les propriétés physiques et la composition d'un échantillon ; résolvant ainsi bien des problèmes analytiques.

Depuis une trentaine d'années, l'utilisation de la spectrométrie infrarouge s'est énormément répandue dans l'industrie. En effet, cette technique permet des résultats rapides en laboratoire pour le contrôle de la qualité, mais son économie et sa fiabilité sont également des avantages à ne pas négliger. (Shenk & Westerhaus, 1993)

## 2.2.2 Les ondes électromagnétiques

### 2.2.2.1 *Propriétés des ondes électromagnétiques*

On considère que le rayonnement électromagnétique est représenté par un champ électrique et un champ magnétique oscillant orthogonalement l'un par rapport à l'autre selon une direction de propagation. La lumière est alors représentée par deux champs ondulatoires sinusoïdaux et orthogonaux sur des plans à angle droit.

Notons que la fréquence d'un faisceau de rayonnement reste inchangée et est déterminée par sa source. Cependant, la vitesse du rayonnement dépendra de la composition du milieu traversé. De même que la longueur d'onde du rayonnement dépend également du milieu traversé.

Dans tout milieu, la propagation du rayonnement sera ralentie par les interactions entre le champ électromagnétique du rayonnement et les électrons liés aux atomes ou aux molécules présentes. (Skoog, 2012)

En infrarouge, trois pics au niveau de l'absorbance sont visibles :

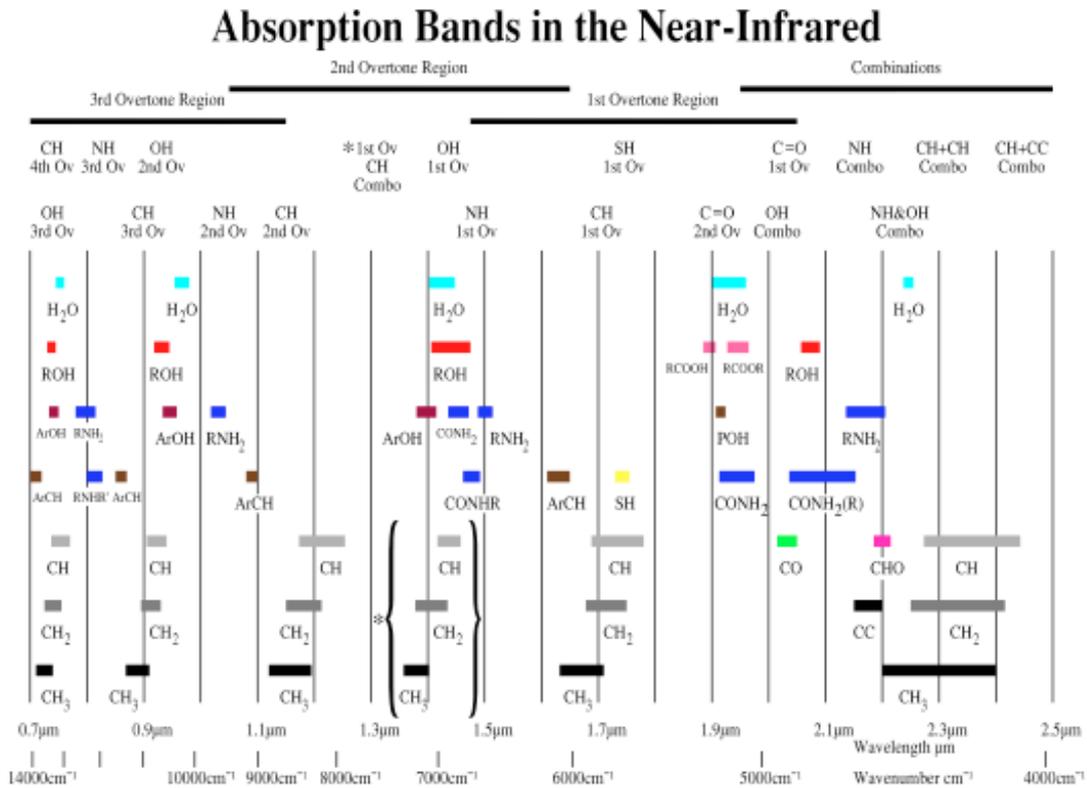


Figure 10 : Les différentes bandes d'absorption dans le proche infrarouge (PowerPoint CRA-W)

Nous pouvons voir sur la figure 10 qu'il y a différentes régions d'absorptions contenant chacune des éléments. Ces éléments ont des pics d'absorbance propre à chacun. Les pics d'absorbances se trouvent à diverses longueurs d'onde. Si nous prenons l'exemple de l'eau, nous avons des pics en absorbance à 700 et 1000 nm (3<sup>ème</sup> bande d'absorption), 1450 nm (2<sup>ème</sup> bande d'absorption), 1940 nm (1<sup>ère</sup> bande d'absorption) et enfin à 2200 nm, nous avons un pic d'absorbance au niveau de la bande de combinaison.

#### 2.2.2.2 Les propriétés corpusculaires d'un rayonnement

Afin de comprendre les interactions entre rayonnement et matière, il est important de savoir que le rayonnement électromagnétique est constitué de *photons*. L'énergie d'un photon est déterminée par la fréquence du rayonnement.

Nous observerons l'absorption d'un photon par un électron dans le cas où l'énergie du rayonnement est égale à la quantité d'énergie nécessaire pour faire passer une molécule d'un état fondamental à un état excité. (Skoog, 2012).

### 2.2.3 [La Loi de Beer-Lambert](#)

La loi de Beer-Lambert exprime la variation de l'intensité lumineuse en fonction de la distance parcourue dans un milieu transparent.

La loi permet de déterminer une proportionnalité entre la concentration d'une entité chimique en solution, l'absorbance de celle-ci et la longueur du trajet parcouru par la lumière dans le milieu considéré.

Certaines conditions sont nécessaires à la validité de la loi :

- La lumière doit être monochromatique,
- La concentration des solutions doit être faible (de l'ordre de  $10^{-4}\text{mol.L}^{-1}$ ),
- Les solutions doivent être homogènes,
- Le soluté ne doit pas réagir sous l'action de la lumière incidente.

Soit un rayonnement électromagnétique de longueur d'onde  $\lambda$  traversant un milieu. L'intensité du rayonnement subit une diminution exponentielle en fonction de la distance parcourue et de la densité des espèces absorbantes dans ce milieu. (Van Belleghem, 2003)

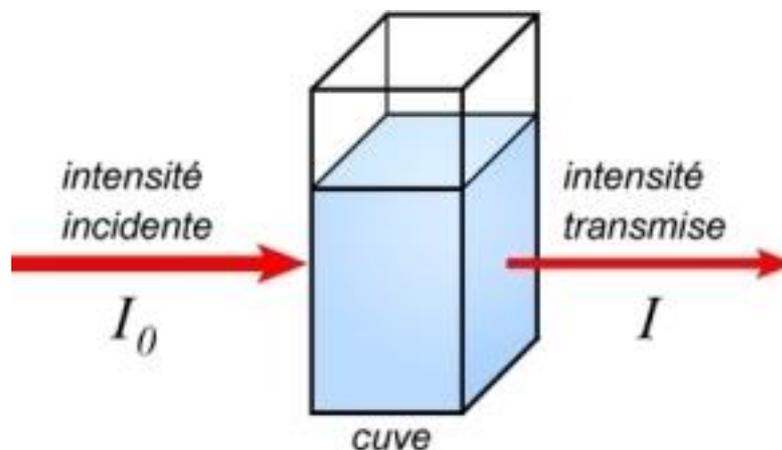


Figure 11 : Schéma de la loi de Beer - Lambert (image issue d'internet)

$$I(\lambda, X) = I_0(\lambda) \cdot e^{-\alpha X}$$

$I_0$  est l'intensité de la lumière incidente.

$I$  est l'intensité de la lumière sortante.

$\alpha$  est le coefficient d'absorption du matériel utilisé.

$X$  est la longueur du trajet optique (épaisseur de l'échantillon parcouru par la lumière).

### 2.2.4 Les différentes régions infrarouges

On peut diviser la région infrarouge du spectre électromagnétique en 3 sous-régions :

1. Le **proche infrarouge**, se situe dans une gamme de longueur d'onde comprise entre 780 et 2500 nm et représente la région la plus proche du spectre visible ;
2. Le **moyen infrarouge** ayant une longueur d'onde se situant entre 2500 et 25 000 nm ;
3. L'**infrarouge lointain** possédant une longueur d'onde variant de 25 000 à 1 000 000 de nm.

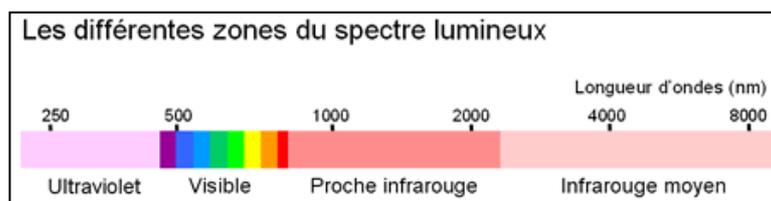


Figure 12 : Les différentes zones du spectre lumineux (image issue d'internet)

Désignation	Couleur	Longueur d'onde (nm)
Rouge		~ 625 - 740
Orange		~ 590 - 625
Jaune		~ 565 - 590
Vert		~ 520 - 565
Cyan		~ 500 - 520
Bleu		~ 450 - 500
Indigo		~ 430 - 450
Violet		~ 380 - 430

Figure 13 : Légende des différentes zones de spectres lumineux (image issue d'internet)

### 2.2.5 Intérêt du rayonnement proche infrarouge

Le rayonnement proche infrarouge va faire vibrer les liaisons chimiques des molécules organiques. La vibration de ces liaisons chimiques provoquera une interaction variée entre le rayonnement proche infrarouge ainsi que les liaisons chimiques des molécules des protéines, des glucides, des matières grasses, de l'eau et aussi d'autres composants.

### 2.2.6 Montage et instrumentation

Le spectromètre proche infrarouge est composé de différents éléments :

La **source lumineuse** : il s'agit d'une lumière monochromatique ;

Le **filtre proche infrarouge** : il a pour but de laisser passer les longueurs d'onde du proche infrarouge émises par la source lumineuse ;

Un **monochromateur** : cet appareil comprend un réseau (plan ou concave) permettant la dispersion des radiations électromagnétiques émises par la source. Le monochromateur permet de sélectionner une étroite bande du spectre d'émission de la source. Cette bande spectrale passante est fonction de la dispersion du réseau et de la largeur de la fente du monochromateur.

La **cuvette** : elle permettra l'analyse de l'échantillon. La cuvette est généralement en quartz ;

**L'échantillon** : il est caractérisé par une petite quantité d'un produit solide, liquide, semi-solide, en poudre ou autre, à analyser. L'échantillon sera alors bombardé par les différentes longueurs d'onde utilisées ;

Le **détecteur** : il a pour but d'analyser l'intensité de la radiation électromagnétique qui l'atteint et de la convertir en signal électrique ;

**L'ordinateur** : il s'agit d'un système informatique directement relié au spectromètre. Il possède 2 fonctions : dans un premier temps, le contrôle de l'instrument à partir des différents paramètres pour l'analyse de l'échantillon ; et dans un second temps, l'affichage des résultats obtenus.

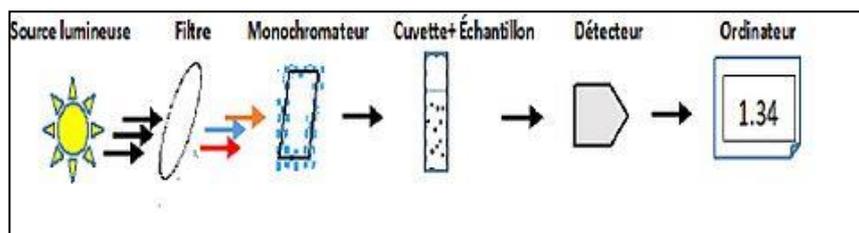


Figure 14 : Schéma d'un spectromètre en proche infrarouge (image issue d'internet)

### 2.2.7 Absorbance et transmittance

Le spectre d'absorption a comme objectif de décrire les propriétés absorbantes d'une espèce. Nous emploierons dans ce cas un graphique d'une fonction de l'atténuation d'un faisceau de rayonnement en fonction de la longueur d'onde, de la fréquence ou du nombre d'ondes.

Deux termes sont couramment employés afin de mesurer l'atténuation du faisceau : la transmittance et l'absorbance.

**La transmittance  $T$**  d'une solution est la fraction du rayonnement électromagnétique incident qui est transmise par un échantillon.

La transmittance est généralement exprimée sous forme d'un pourcentage et est définie par la relation (Skoog, 2012) :

$$T\% = \frac{P}{P_0} \times 100\%$$

$P_0$  : puissance avant le passage à travers l'échantillon

$P$  : puissance après le passage à travers l'échantillon

**L'absorbance  $A$**  d'une solution vaut  $\log(1/R)$  et mesure la capacité d'un milieu à absorber la lumière qui le traverse. Elle est définie par l'équation :

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P_0}{P}$$

Il est important de noter que, contrairement à la transmittance, l'absorbance d'une solution augmente lorsque l'atténuation du faisceau augmente. (Skoog, 2012)

### 2.2.8 Avantages et inconvénients :

Les avantages de la spectrométrie :

- Le temps de préparation de l'échantillon est très court contrairement aux méthodes chimiques ;
- Le spectromètre est un instrument facile à manipuler ;
- Le temps d'analyse de l'échantillon est très rapide ;

- La méthode d'analyse est non destructive et ne transforme pas l'échantillon à analyser ;
- La méthode n'est pas nocive pour l'environnement ;
- Plusieurs échantillons peuvent être mesurés en même temps ;
- Certaines méthodes infrarouges permettent d'analyser des produits alimentaires quand ils sont encore dans leur emballage, ce qui permet par après de pouvoir les consommer et donc de ne pas gaspiller ;
- L'analyse infrarouge ne coûte rien mis à part le matériel au départ ;
- Les coûts de fonctionnement sont réduits et l'investissement est rapidement amorti.

Les inconvénients de la spectrométrie:

- La gamme au niveau des spectres est restreinte ;
- La taille des particules ainsi que leur orientation peuvent changer les spectres ;
- Il faut appliquer un grand nombre de tests en méthode chimique avant d'avoir des valeurs fiables en spectrométrie ;
- Il est obligatoire d'employer une méthode chimique pour développer un modèle de calibration afin d'obtenir une valeur standard (de référence).

### 2.2.9 [Applications :](#)

De nombreux domaines utilisent actuellement la spectrométrie infrarouge ; celle-ci peut s'appliquer à n'importe quelle matière organique.

On retrouve la spectrométrie dans les industries de transformation agro-alimentaire où elle aura comme objectif de permettre le contrôle de la qualité et la détermination de la composition chimique des produits.

La spectrométrie infrarouge est également présente dans les industries pharmaceutiques, chimiques et dans de nombreux domaines de recherche.

La spectrométrie infrarouge représente une technique avantageuse pour de nombreuses industries qui cherchent à apprécier la qualité de leurs produits. (Dardenne, 1990)

### 2.2.9.1 Les industries de transformation agro-alimentaire

L'application du NIR dans le domaine agro-alimentaire permet l'analyse de l'humidité dans les aliments, la quantification de protéines, de gras, de sucres et d'hydrate de carbone.

### 2.2.9.2 Le domaine agricole

Il existe des systèmes capables d'extraire des spectres directement lors de la récolte d'une culture. Ces systèmes sont appelés *NIR embarqué*.

- **Sélection de variétés**

La spectrométrie infrarouge va permettre de différencier entre elles les variétés de céréales cultivées. Pour certains domaines, comme la boulangerie, nous utiliserons des blés tendres afin de fabriquer le pain ainsi que les pâtisseries. Dans d'autres domaines comme la fabrication de pâte, les blés durs seront privilégiés. Il est donc important de ne pas se tromper. La spectrométrie permet donc de faciliter la séparation de ces variétés entre elles, notamment grâce à un système de tri des grains.

- **Tri des grains contre la fraude**

La capacité de la spectrométrie à trier les grains entre eux va permettre de lutter contre tout genre de fraude. Prenons l'exemple de la production de pâtes, certains pays, comme l'Italie, exigent un taux de 95 % de blé dur. D'autres pays, comme la Belgique, n'exigent pas de taux précis. L'exportation de nos récoltes en Italie sera donc contrôlée via la spectrométrie infrarouge en triant les lots de grains contenant trop peu de blé dur. Ce système permet de contourner les producteurs ayant l'intention de frauder grâce à l'ajout de blé tendre dans les lots de blé dur.

Il existe également des trieuses automatiques composées d'un capteur infrarouge capable de trier les grains elles-mêmes. Le tri s'effectue donc plus rapidement.

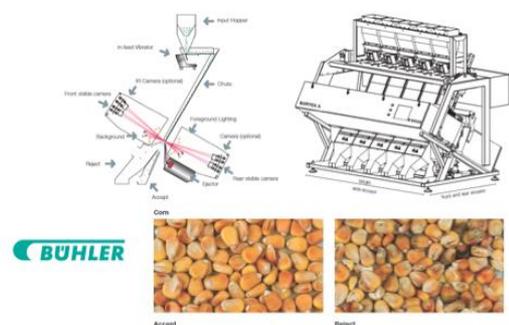


Figure 15 : Trieuse automatique de grains (PowerPoint CRA-W)

- **NIR embarqué**

Il existe des systèmes pouvant capter des spectres simultanément lors de la récolte d'une culture. Ce genre de système est appelé NIR embarqué. Il existe différents types d'appareils conçus pour cette méthode.

Le spectromètre se situe généralement dans la cabine de la machine qui récolte, la tête de mesure est en contact avec le produit à analyser.



Figure 16 : Photo d'un spectromètre placé sur une moissonneuse (PowerPoint CRA-W)

Les NIR embarqués sont capables de détailler les emplacements d'une parcelle les plus riches ou moins riches en protéines. Ils peuvent aussi indiquer la densité de la culture tout au long de la récolte mais aussi les endroits où les plantes sont atteintes d'une maladie, ou encore d'une carence en un tel ou tel élément.

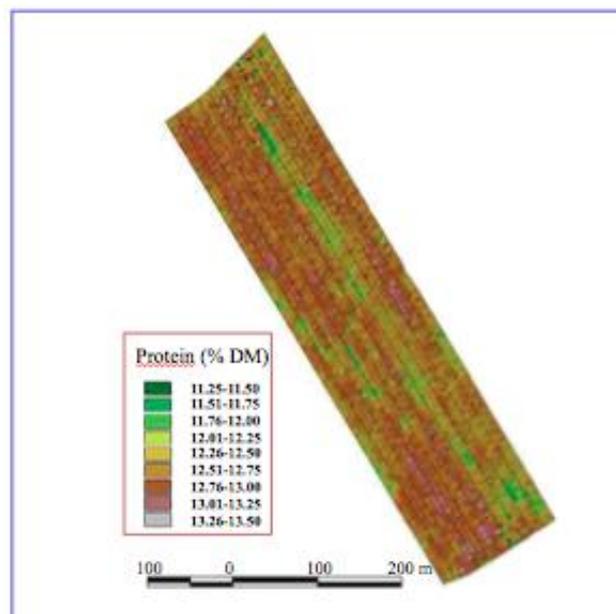


Figure 17 : Image indiquant le taux de protéines calculé directement lors de la récolte (PowerPoint CRA-W)

### 2.2.9.3 Intérêt du graine à graine :

L'intérêt principal de la méthode graine à graine réside dans le fait que la reconnaissance ne dépend pas de l'expertise de l'analyste. Soulignons également le fait qu'il est possible d'automatiser toutes les procédures et d'analyser un grand nombre d'échantillons.

La méthode rapide du graine à graine s'avère très utile pour les organismes de contrôle des semences.

La méthode d'analyse en graine à graine présente différents avantages :

- Elle permet d'améliorer la sécurité alimentaire,
- Elle permet également l'amélioration de la qualité des aliments en améliorant le blé et l'orge en fonction de leur teneur en protéines,
- Elle permet de trier directement les grains malades et donc d'obtenir des semences de bonnes qualités, ce qui engendre un meilleur rendement lors de la récolte,
- En triant des grains peu riches en protéines, le nombre de grains malades et immatures dans le lot se voit diminuer. Le fait de trier ces grains va également rendre les céréales plus résistantes aux maladies et plus résistantes lors de la conservation. (Baeten, Fernandez, Suman, Vermeulen, s.d.)

## 2.3 Préparation de l'échantillon

### 2.3.1 L'échantillonnage

L'échantillonnage représente une étape très importante lorsque l'on sélectionne un lot à analyser : celui-ci doit représenter l'ensemble d'une récolte. Même si la récolte paraît homogène visuellement, elle peut être très différente au niveau de sa composition.

Ceci est indispensable, car lors d'une analyse spectrométrique, les échantillons ne seront que de quelques dizaines de grammes, ou moins. De même pour une analyse chimique, la quantité sera de l'ordre d'un gramme, ou moins. (Agneessens, Baeten, Dardenne, & al. s.d)

La préparation des échantillons en spectrométrie infrarouge est beaucoup plus rapide qu'en analyse chimique. Les échantillons peuvent être analysés directement sans transformation.

Seules quelques petites préparations nécessaires peuvent être accomplies, comme le broyage du grain en farine ou le séchage du grain. (Agneessens, Baeten, Dardenne, & al. s.d.)

### [2.3.2 Le séchage des échantillons](#)

Le séchage de l'échantillon va permettre l'évacuation de l'eau contenue à l'intérieur de ce dernier, car en infrarouge les bandes d'eau peuvent cacher certaines informations qui peuvent être essentielles au dosage d'autres paramètres. En présence d'eau, une partie des informations obtenues sur le spectre vont être masquées par 2 bandes d'absorption de l'eau. C'est donc pour cette raison que certains échantillons seront séchés. Les échantillons sont séchés à une température maximale de 60°C pour empêcher les réactions de Maillard. L'échantillon est séché durant 48 heures. Afin de connaître sa quantité de matière sèche analytique, l'échantillon sera placé après son broyage dans un four à 103°C pour une durée de 4 heures. (Agneessens, Baeten, Dardenne, & al. s.d)

### [2.3.3 Le broyage des échantillons](#)

La plupart du temps, les échantillons sont broyés très finement (1mm) afin d'obtenir une précision correcte au niveau des spectres obtenus. En effet, les échantillons des mesures infrarouges doivent être homogènes afin d'éviter des interférences ainsi que des phénomènes physiques pouvant troubler les mesures infrarouges. (Agneessens, Baeten, Dardenne, & al. s.d)

## [2.4 Le temps de chute de Hagberg](#)

Le temps de chute de Hagberg mesure l'activité des amylases (les enzymes qui dégradent l'amidon).

Un grain germé, ou qui commence à germer, augmentera l'activité enzymatique. Les grains trop loin dans leur germination seront transformés en sucre et seront consacrés à une autre utilisation, comme le fourrage, pour les industries de cuisson.

Le temps de chute de Hagberg est exprimé en seconde. Au plus le temps de chute sera faible, au plus l'activité des enzymes sera élevée et inversement. (CRA-W, unité 16).

<b>Temps de chute de Hagberg</b>	
Hag > 250 sec	Activité insuffisante
$220 \leq \text{Hag} < 250 \text{ sec}$	Bonne activité
$180 \text{ sec} \leq \text{Hag} < 220 \text{ sec}$	Acceptable
$150 \text{ sec} \leq \text{Hag} < 180 \text{ sec}$	Difficulté de mise en œuvre
Hag < 150 sec	Inutilisable

Tableau 5 : Temps de chute de Hagberg (CRA-W unité 16, 2017)

# **Matériel et méthodes**

## 1 Introduction

Pour la réalisation de nos expériences, nous avons sélectionné quatre échantillons de blé tendre ainsi que trois échantillons de blé dur. Chacun des échantillons possède un taux de protéines variés. Les grains de blé dur ont de manière générale une plus grande teneur en protéines et les grains de blés tendres en contiennent moins. La différence entre ces taux nous a permis d'avoir une gamme de spectre élargi et donc de pouvoir comparer les différents spectromètres entre eux afin de distinguer les meilleurs des moins bons dans divers aspects.

Cette étude a pour objectif de comparer quatre appareils de spectrométrie infrarouge entre eux. Ceci a été réalisé en analysant la précision de chacun à détecter la protéine présente dans des grains de blé dur et de blé tendre en utilisant divers gammes de longueur d'onde. Nous avons également procédé à une méthode d'analyse chimique après avoir passé les échantillons sous les différents spectromètres. Cette méthode chimique nous a servi de méthode de référence afin d'avoir un repère en ayant les valeurs réelles de protéines des grains lors du traitement de données.

Nous aborderons la présentation des échantillons utilisés, la description des différents instruments employés et leurs fonctionnalités, ainsi que les protocoles d'analyse. Ensuite, les zones exactes du grain traversées par les spectres seront précisées. Nous dresserons un tableau comparatif de ces instruments. Nous présenterons le principe ainsi que le protocole du Trumac (méthode de référence). Enfin, la transformation des valeurs en protéines, le choix des sets de calibration et de validation ainsi que la méthodologie du traitement de données seront présentés.

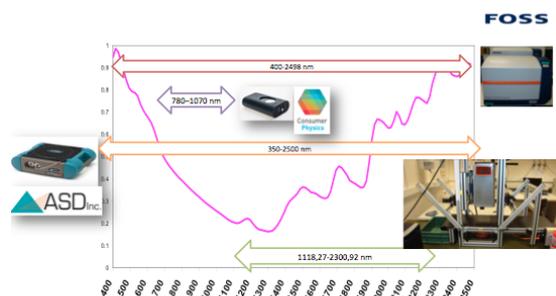


Figure 18 : Spectromètres avec longueurs d'onde correspondantes (image modifiée du PowerPoint CRA-W)

## 2 Échantillons utilisés

Les grains de blé ont été récoltés à partir de parcelles mises en place par le CRA-W. En premier lieu, nous avons fait une sélection manuelle à l'aide d'une pince. Cette sélection nous a permis de choisir des grains normaux, c'est-à-dire pas trop petits afin que la sonde de l'ASD puisse recouvrir tout le grain mais également des grains entiers et non cassés afin d'avoir des valeurs qui ne sont pas faussées.

Dans le cadre de cette étude, 7 échantillons de céréales ont été analysés.

Nous avons sélectionné 96 graines dans 6 échantillons et 200 dans un échantillon. Le tableau ci-dessous présente les différents échantillons.

Echantillons	Protéines (%)	Blé dur / Blé tendre	Nombre de grains analysés
DQ150290-06	14,7	BD	96
DQ150290-35	11,9	BD	96
DQ160552-10	15,7	BD	96
DQ150705-10	10,4	BT	96
DQ160552-30	12,1	BT	96
DQ160591-23	12,1	BT	96
DQ150402-07	10,3	BT	200

Tableau 6 : Description des échantillons utilisés

Les échantillons sélectionnés ont chacun été placés dans une petite fiole qui a été numérotée et placée dans une boîte servant de support pour éviter de les mélanger.



Figure 19 : Photo personnelle d'un échantillon numéroté et classé

Après la sélection de chaque grain, nous les avons passés sous chaque spectromètre afin d'obtenir des graphiques spectraux de chaque échantillon.

Les échantillons ont été sélectionnés sur base de l'espèce (blé tendre ou blé dur), ainsi que sur base des taux de protéines variés (10,4 % à 15,7 %).



Figure 20 : Photo personnelle de sept échantillons numérotés et classés (CRA-W, unité 14, 2017)

La figure 20 expose les 7 échantillons analysés. Le tableau 6 décrit les caractéristiques de ces échantillons.

### 3 Méthodes analytiques

#### 3.1 Les spectromètres

Les quatre spectromètres utilisés lors de cette étude, sont les suivants :

Spectromètres infrarouges	Foss XDS	Caméra infrarouge	ASD	SCIO
Longueurs d'onde	400 - 2498 nm	1118 - 2300 nm	350 - 2500 nm	740 - 1070 nm

Tableau 7 : Spectromètres utilisés et leurs longueurs d'onde

##### 3.1.1 Foss XDS

Il s'agit d'un instrument de laboratoire servant à la mesure NIR de précision. Ce type d'instrument va utiliser l'énergie spectrale du proche infrarouge afin d'éclairer l'échantillon. L'information chimique et la composition de l'échantillon vont être déterminées en mesurant l'énergie réfléchiée par l'échantillon (ou en mesurant l'énergie le traversant).

La longueur d'onde du Foss XDS se situe entre 400 nm et 2500 nm.

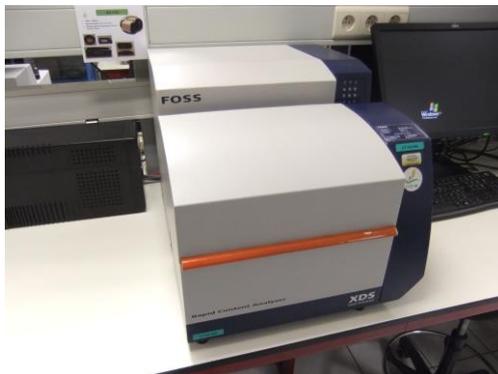


Figure 21 : Photo personnelle du Foss XDS fermé  
(CRA-W, unité 14, 2017)



Figure 22 : Photo personnelle du Foss XDS ouvert  
(CRA-W, unité 14, 2017)

Le Foss XDS peut accueillir différentes cellules de mesure contenant une forme ainsi qu'une taille qui varie.

Les mesures effectuées ont été prises pour une partie des échantillons à l'aide de Quarter cup double et pour l'autre partie on a utilisé des Ring cup.



Figure 23 : Photo personnelle d'un support de Ring Cup dans le Foss XDS (CRA-W, unité 14, 2017)

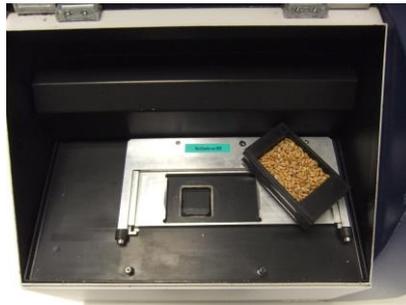


Figure 24 : Support Quarter cup dans le Foss XDS (CRA-W, unité 14, 2017)

Le Quarter cup double est un support qui permet de positionner plusieurs graines à la fois à l'intérieur. Tous les échantillons ont été mesurés sur 2 Quarter cup doubles sauf pour l'échantillon DQ150402-07 qui a été passé entièrement (21 Quarter cup double).



Figure 25 : Photo personnelle d'un Quarter cup double rempli de blé (CRA-W, unité 14, 2017)

Le Ring cup est un support ne permettant d'accueillir qu'une seule graine par mesure. Il a été utilisé uniquement sur l'échantillon DQ150402-07. Les 2 faces du grain (côté sillon et non sillon) ont été passées au spectromètre chacune à leur tour.



Figure 26 : Photo personnelle d'un Ring cup avec un grain de blé à l'intérieur (CRA-W, unité 14, 2017)

### 3.1.2 [Caméra infrarouge](#)



Figure 27 : Photo personnelle de la caméra infrarouge (CRA-W, unité 14, 2017)

#### 3.1.2.1 *Description de la caméra*

Ce système d'imagerie est un système pilote conçu par BurgerMetrics dans le but d'être utilisé pour une large gamme d'applications tout en ayant un maximum de flexibilité. Il s'agit d'un appareil de laboratoire.

Il est constitué d'une caméra dotée d'un détecteur conçu par Xénics ® et qui permet d'obtenir des images hyperspectrales. Il est également équipé d'un tapis roulant, et d'un système d'illumination (2 x 150 watts).

La caméra est capable de saisir des images hyperspectrales allant de 1100 à 2400 nanomètres (nm) par pas de 6.3 nm. Nous obtenons 209 points de mesure (2400 – 1100/6.3), cela signifie que la caméra enregistre les niveaux d'absorbances correspondant à 209 longueurs d'onde différentes qui constituent le spectre. Chaque spectre est la moyenne de 32 scans.

Une image correspond à l'acquisition d'une surface de 20 lignes.

- La longueur de la ligne (x) est de 320 pixels et la largeur (y) est de 200 pixels. Ce qui donne une surface égale à 64 000 pixels = 64 000 spectres (1 spectre/pixel) ;

- 1 pixel mesure 300µm x 300µm = 0.09 mm<sup>2</sup>.

La surface de captage représente environ 48 cm<sup>2</sup> (8.8 x 5.5 cm) par image. Le temps d'acquisition d'une image est de 10 sec/image.

### *3.1.2.2 Description du fonctionnement de la caméra*

Ce système permet de recueillir facilement les images lorsque le tapis roulant fonctionne et que l'échantillon bouge. La caméra linescan permet de ne pas changer de filtre : de ce fait, la vitesse d'acquisition des images n'est limitée que par la vitesse de la caméra. Les images hyperspectrales sont ensuite numérisées de façon à pouvoir être traitées à partir d'un ordinateur.

Ci-dessous, nous retrouvons les différents éléments constituant la caméra nécessaires à l'obtention des images hyperspectrales :

***L'ordinateur*** qui permet de traiter les images hyperspectrales :



Figure 28 : Ordinateur de la caméra infrarouge

***Le dispositif de démarrage de la caméra :***



Figure 29 : Dispositif de démarrage de la caméra infrarouge

***Le dispositif d'allumage de l'éclairage :***

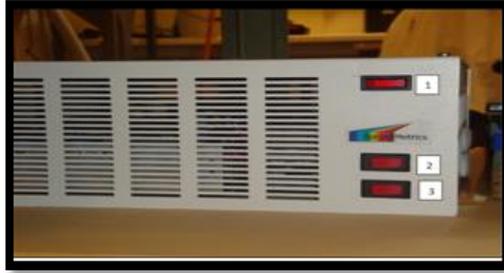


Figure 30 : Dispositif d'allumage de l'éclairage

***La caméra :***



Figure 31: Photo personnelle de la caméra infrarouge (CRA-W, unité 14, 2017)

### 3.1.3 ASD :

L'ASD est un appareil de spectrométrie infrarouge (NIR). Il permet de faire des analyses d'aliments dans une gamme de longueur d'onde NIR, donc entre 350 et 2500 nm. Il possède une batterie externe contenant une autonomie allant de 4 à 6 heures pour environ 5 heures de chargement (permettant des mesures en extérieur) et sur secteur pour les mesures en laboratoire. Trente minutes avant son utilisation, la lampe (Fiber Optic Illuminator) et l'ASD sont allumés, afin que l'appareil soit en condition optimale et que la lampe soit suffisamment chaude. Dès que l'appareil est calibré, les premières mesures peuvent être prises.



Figure 32: Photo personnelle de l'ASD (CRA-W, unité 14, 2017)

Avant chaque mesure d'un échantillon différent, il est impératif de faire une « Baseline » ; Ceci va permettre de calibrer l'appareil. On va effectuer cette Baseline sur une « Reference panels », qui est une matière inerte n'interagissant pas avec les mesures qui sont prises.

Les grains de froment ont été analysés une première fois sur la face A et une seconde fois sur la face B.

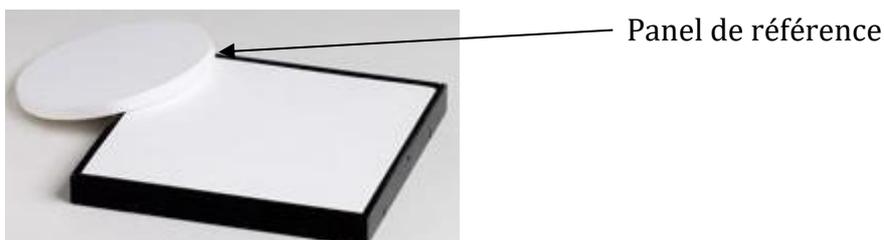


Figure 33 : Panel de référence (CRA-W, unité 14)

La sélection des grains de froment ne sera pas un fruit du hasard suite à la taille de notre sonde ASD qui est de 2 mm de diamètre.



Figure 34: Sélection manuelle de grain de blé (CRA-W, unité 14)

En effet, la taille doit être supérieure à 2 mm.

- **Pistol Grip**

C'est un système optique qui contient un manche ainsi qu'une fibre optique ASD. Ceci permet d'entrer en contact avec un échantillon donné ou bien de faire des mesures à distance mais uniquement dans certaines conditions.



Figure 35 : Pistol Grip (CRA-W, unité 14)

- **Fiber optic cables**

Fibre optique pour des applications et des mesures différentes.



Figure 36: Cable de fibre optique (CRA-W, unité 14)

- **RJ45**

Système de transmission de données informatiques par câble.

- **Fiber Optic Illuminator**

La source lumineuse provient du Fiber Optic Illuminator qui sera ensuite amenée par les « Fiber optic cables » jusqu'au Pistol Grip.



Figure 37: Fiber Optic Illuminator (CRA-W, unité 14)

- **Wifi**

Système de transmission de données informatiques par ondes hertziennes sans fil (Wireless Fidelity).

#### 3.1.4 [SCIO](#) :

Il s'agit d'un spectromètre NIR portable de poche travaillant dans un range réduit de longueurs d'onde (780 – 1070 nm). Il possède une batterie contenant une autonomie comprise entre 1 heure 30 et 3 heures, suivant la quantité de scans effectués. Le temps de charge de l'appareil est d'environ 2 heures.



Figure 38 : Photo personnelle du SCIO connecté au GSM (CRA-W, 2017)

Le SCIO est composé de trois parties :

La première partie est le **SCIO** en lui-même, il s'agit d'un spectromètre proche infrarouge qui fonctionne en connexion Bluetooth et du Wifi en lien avec un Smartphone ou un ordinateur. Le scan de l'objet déposé dans le support inerte dure environ 3 secondes. Après chaque scan, nous obtenons un spectre (Spectral Fingerprint). Ce spectre représente l'absorbance en fonction de la longueur d'onde.



Figure 39 : Photo personnelle du SCIO connecté au GSM + support (CRA-W 2017)

La seconde partie est un **boitier** servant à la fois à protéger le SCIO contre les poussières et les saletés ainsi que les chocs qui risqueraient d'endommager la cellule lorsqu'il n'est plus employé. Il sert essentiellement de dispositif de calibrage. Le capteur moléculaire du SCIO nécessite d'être calibré avant chaque analyse d'un nouvel échantillon pour créer des lectures qui soient toujours exactes. Le dispositif de calibrage se situe dans le fond du boitier.



Figure 40 : Photo personnelle du boitier du SCIO + SCIO (CRA-W, 2017)

Le calibrage se fait après chaque boîte contenant une variété de grain de froment différente.

Et enfin, la dernière partie est **le support** sur lequel l'appareil (spectromètre) va venir se poser. Le support utilisé est un support pour objet de petite taille. Ce support est aimanté et permet de ne pas appliquer directement le capteur sur l'échantillon. C'est celui-ci qui a été utilisé car il est adapté pour analyser en graine à graine les échantillons. Il existe un autre type de support, qui ne possède pas de fond, permettant de capter un échantillon contenant plusieurs grains ou d'autres matières. Ici, nous avons fonctionné en graine à graine afin d'avoir une courbe pour chaque grain, et d'être ainsi le plus précis possible. Le support a été adapté afin d'élever le grain de froment pour qu'il ne se trouve pas trop bas. Nous avons placé un fragment de matière inerte dans le fond du support. Ceci va permettre d'analyser l'entièreté du grain.



Figure 41 : Photo personnelle du support utilisé pour le SCIO (CRA-W, unité 14, 2017)

## 3.2 Protocoles d'analyse

Pour chacun des quatre instruments de spectrométrie, nous avons établi que la partie du grain contenant le sillon sera nommée A et la partie bombée située à 180° sera appelée B (non-sillon).

Remarque : il ne faut pas toucher les grains de froment avec les doigts afin d'éviter tout risque de contamination. On utilisera donc une pince pour manipuler les échantillons.

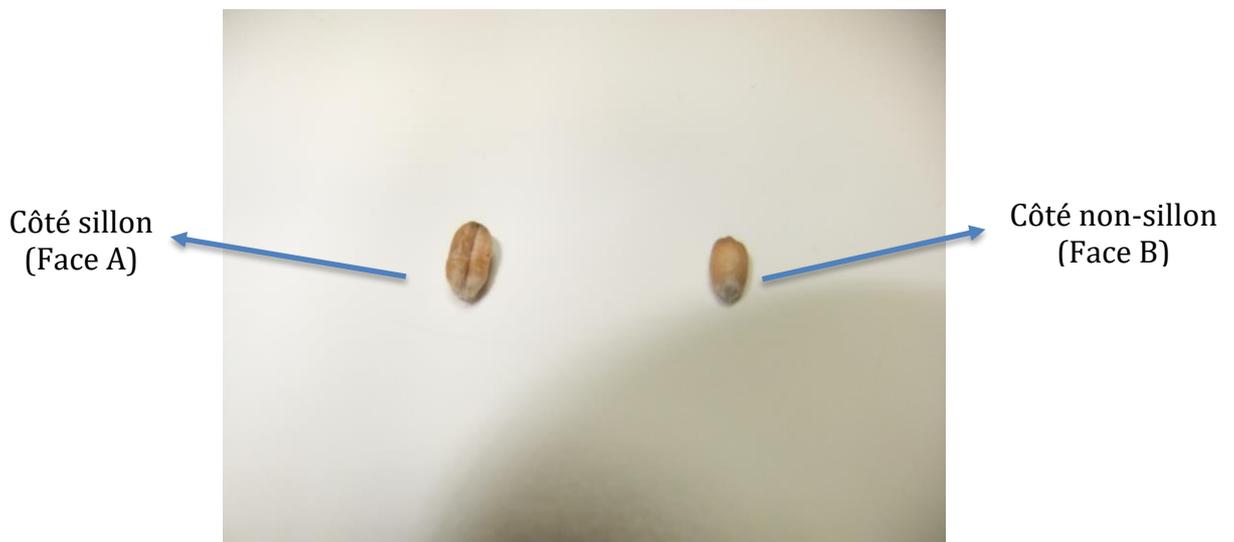


Figure 42: Photo personnelle de la face sillon et non sillon d'un grain de blé tendre (CRA-W, unité 14, 2017)

### 3.2.1 [Foss XDS](#)

- Ouverture du logiciel ISIScan sur l'ordinateur connecté au spectromètre Foss XDS.
- Mise en route des diagnostics afin de vérifier l'exactitude des longueurs d'onde et du bruit.
- Mise en place d'une cellule de contrôle ((Check Cell) farine riche en protéines) dans le Foss XDS afin de relever la protéine. La valeur obtenue est ensuite reportée sur une carte de contrôle. Cela permet de vérifier que le XDS est bien réglé en se basant sur la moyenne calculée auparavant.
- On place un grain dans le support du Ring cup de façon à voir le sillon / non sillon du grain (nommé côté A ou B) ;



Figure 43 : Photo personnelle du support Ring cup (CRA-W, unité 14, 2017)

- Un couvercle vitré vient se positionner au-dessus du support pour maintenir le grain en place face à la fenêtre d'analyse du spectromètre ;
- Le Ring cup est disposé sur la fenêtre d'analyse et le couvercle du spectromètre est fermé ;
- Le scan est ensuite réalisé à partir de l'ordinateur connecté au spectromètre ; la durée est d'environ 15 secondes ;
- La valeur prise sur le grain est enregistrée dans une base de données qui se trouve dans l'ordinateur ;

### 3.2.2 [Caméra infrarouge](#)

- Après la mise en route de la caméra, le temps d'attente est d'environ 1 heure avant l'utilisation afin que la lampe de la caméra et le système de refroidissement se stabilisent.
- Ouverture du logiciel d'acquisition d'images appelé HyperPro ;



Figure 44 : Logo du logiciel d'acquisition d'image appelé HyperPro

- Mise au point de l'image avant le passage d'un échantillon sur le tapis. La mise au point s'effectue en plaçant une latte sur le tapis. Afin de vérifier si le calibrage est correct, il est important de voir ce qui est écrit dessus. Cette manœuvre est à réaliser lors de chaque ouverture du logiciel d'acquisition d'images.
- Avant chaque prise de série, la caméra doit être calibrée. Le calibrage se fait en plaçant un carrelage blanc en céramique sous la caméra pour un réglage maximum.

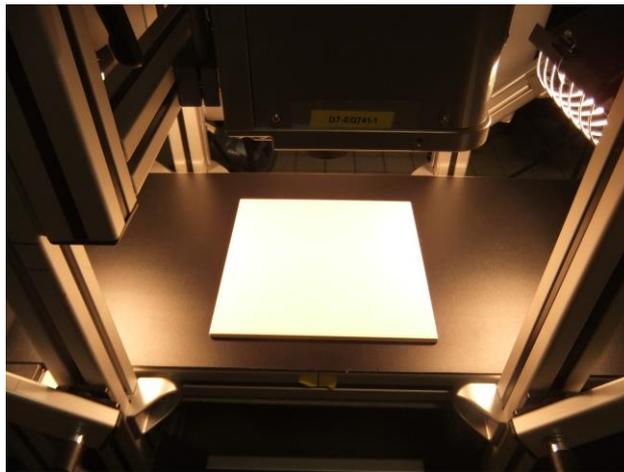


Figure 45 : Photo personnelle d'un carrelage en céramique servant de calibrage (CRA-W, unité 14, 2017)

- Ensuite, les séries d'échantillons peuvent être passées sous la caméra afin d'obtenir des images hyperspectrales. Il est indispensable de faire une photo RGB (Red, Green, Blue) de chaque série d'échantillons pour pouvoir comparer, entre elles, les images renvoyées par la caméra.

### 3.2.3 ASD

- Allumer l'ASD ainsi que la lumière du Fiber Optic Illuminator qui l'amène par le Fiber optic cables jusqu'au Pistol Grip et attendre 30 minutes ;
- Ensuite, l'ordinateur qui va de pair avec l'ASD, est allumé et relié grâce au câble RJ45 branché sur l'ASD. L'ordinateur est connecté à l'ASD.



Figure 46 : Photo personnelle de l'ASD reliant l'ordinateur (CRA-W, unité 14, 2017)

- Un nouveau projet est créé dans le logiciel IndicoPro dans lequel on va enregistrer nos données.
- Un panel de référence est pointé avec le Pistol et une calibration est mise en route (Baseline). Il faut maintenir la tête du Pistol Grip sur le panel de référence durant tout le temps de la calibration, d'une durée d'environ 5 secondes.



Figure 47 : Photo personnelle pointant un grain de blé au Pistol Grip (CRA-W, unité 14, 2017)

- Ensuite, un échantillon de blé est placé sur le panel de référence. Un grain est présenté une première fois du côté où se trouve le sillon (face A du grain) et la sonde du spectromètre vient se poser dessus. Une fois que la sonde est maintenue de manière stable sur l'échantillon de grain, le scan est mis en route pour une durée d'environ 15 secondes.
- Une Baseline est à nouveau réalisée, à chaque changement de la face du grain et à chaque changement d'échantillon.
- Un scan est reproduit avec le côté « non sillon » du grain (face B) ;
- Chaque scan de notre base de données est enregistré en notant le descriptif de la manipulation ;
- Les spectres obtenus sont vérifiés.

#### 3.2.4 [SCIO](#)

- Allumage du GSM et du SCIO ;
- Le wifi du GSM est connecté afin de le relier à l'ordinateur à proximité. Cela permet de visualiser avec davantage de précision les spectres s'affichant au fur et à mesure et permet également un enregistrement des données ;
- Le Bluetooth du GSM est enclenché et ensuite connecté au spectromètre SCIO ;
- Ouverture de l'application SCIOLab à partir du GSM ;
- Une nouvelle base de données est créée pour chaque nouvelle série d'échantillons à analyser ;
- Le SCIO est placé dans son boîtier en positionnant la partie avec les capteurs dans le fond du boîtier et une calibration est ensuite activée à partir du GSM. Cette démarche est à suivre avant chaque nouvelle série d'échantillons ou suivant la demande de l'appareil;



Figure 48 : Photo personnelle du spectromètre SCIO (CRA-W, unité 14, 2017)



Figure 49 : Photo personnelle du boitier du SCIO (CRA-W, unité 14, 2017)

- Un grain est positionné côté sillon (face A) dans le support où vient se poser le SCIO pour prendre le scan ;



Figure 50 : Photo personnelle d'un grain de blé dans le support du SCIO avant le SCAN (CRA-W, unité 14, 2017)

- Trois scans sont appliqués pour chacune des faces ;
- Les scans sont enregistrés dans la base de données et les spectres sont vérifiés;

### 3.3 Surface spectrale prise par les différents appareils

#### 3.3.1 Foss XDS:

La prise de spectre par cet appareil se fait en plaçant le(s) grain(s) à l'intérieur d'une Ring cup ou d'un Quarter cup double. Que ce soit une analyse avec un Ring cup ou bien avec un Quarter cup double, la totalité de la surface du grain se présentant face à la fenêtre d'analyse sera traversée par le spectre et donc prise en compte.



Figure 51 : Photo personnelle d'un grain de blé dans un Ring Cup (CRA-W, unité 14, 2017)



Figure 52: Photo personnelle d'un lot de grain de blé dans un Quarter Cup double (CRA-W, unité 14, 2017)

### 3.3.2 Caméra infrarouge :

La prise d'images infrarouges par la caméra s'effectue avec des grains disposés en lignes sans se toucher sur un tapis roulant. Ceci permet de prendre la totalité de la face qui est présentée à la fenêtre d'analyse dans le graphique spectral.



Figure 53 : Photo personnelle de l'alignement des grains sur le tapis de la caméra infrarouge (CRA-W, unité 14, 2017)

### 3.3.3 ASD

Lors de la prise du spectre avec l'ASD, nous avons posé la sonde du Pistol Grip directement en contact avec le grain. La sonde ne faisant que 2 mm de diamètre, nous n'avons pu prendre le spectre que de cette surface du grain.



Figure 54 : Photo personnelle de la surface du grain prise par la sonde ASD lors d'un scan (CRA-W, unité 14, 2017)

### 3.3.4 SCIO

Le spectromètre SCIO a été posé sur son support lors des analyses en graine à graine, ce qui a permis de laisser une distance de 0.5 cm entre la fenêtre d'analyse et le grain à analyser. Cette distance entre le capteur et le grain permet de prendre l'entièreté de celui-ci dans son champ spectral.

## 3.4 Comparaisons des différents appareils de mesure

	Foss XDS	Caméra infrarouge	ASD	SCIO
<b>Portable / Non portable</b>	Non portable	Non portable	Portable	Portable
<b>Prix</b>	70.000 €	160.000 €	80.000 €	1.050 €
<b>Longueur d'onde (Range)</b>	400 - 2498 nm	1118 - 2300 nm	350 - 2500 nm	740 - 1070 nm
<b>Temps d'une mesure</b>	30 secondes	20 minutes	30 secondes	30 secondes
<b>Capacité de mesure</b>	1 grain	100 grains	1 grain	1 grain
<b>Poids</b>	31250 g	8500 g	5440 g	300 g
<b>Dimension (mm)</b>	572 L x 457 l x 387 h	191 L x 170 l x 387 h	357 L x 290 l x 140 h	40 L x 15 l x 68 h

Tableau 8 : Comparaison des quatre appareils de spectrométrie utilisés

## 3.5 Principe du Trumac :

Il s'agit d'un appareil servant de méthode de référence lors de l'analyse de la protéine dans le grain.



Figure 55 : Photo personnelle de l'ordinateur reliant le Trumac et la balance (CRA-W, unité 14, 2017)



teneur en azote (en pourcentage). Toutes ces étapes sont automatisées dans le logiciel (Leco Trumac). En fonction de la matrice analysée, il est possible d'inclure, dans la feuille de calcul, le facteur de correction afin d'obtenir un résultat exprimé directement en pourcentage de protéines.

### 3.5.1 Protocole

- Changement des tubes primaires (composés de laine de pyrex et de laine de fer) et secondaire (composés de laine de pyrex) du Trumac CN et nettoyage des joints « lèvres ». Graissage de ces joints pour éviter que le système ne présente des fuites ;



Figure 57 : Photo personnelle du tube primaire et secondaire + joints lèvres (CRA-W, unité 14, 2017)

- Test de fuite afin de vérifier qu'aucun gaz ne s'échappe du circuit analytique ;
- Préparation des nacelles dans lesquelles les échantillons seront pesés
  - On normalise la nacelle vide ;
  - Tarage de la nacelle vide ;
  - Pesée de la prise d'essai dans la nacelle ;
  - Transfert de la masse de l'échantillon directement dans la feuille de pesée (logiciel Leco Trumac gérant le Trumac CN).

- Positionnement des nacelles sur le carrousel ;

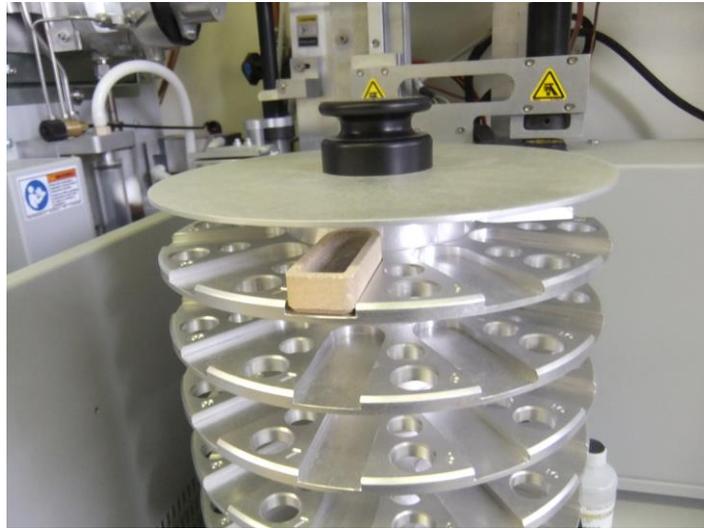


Figure 58 : Photo personnelle de la mise en place de nacelle sur le carrousel du Trumac (CRA-W, unité 14, 2017)

- Séquence d'analyses utilisée :
  - 3 « blancs rapides » afin de stabiliser le système au démarrage et de vérifier s'il n'y a pas de dysfonctionnement (analyse réalisée sans nacelle) ;
  - 3 « blancs », afin de vérifier l'absence de contamination du catharomètre (analyse de nacelles vides). Ces analyses permettent de décider si la séquence peut être lancée ;
  - 3 BIBT (blé tendre) pour stabiliser le catharomètre ;
  - 5 EDTA ((Ethylène-Dinitrilo)-Tetraacetic Acid) = échantillon de drift. Ces échantillons permettent de corriger une éventuelle dérive du système ;
  - 1 blanc (pour séparer les analyses proprement-dites des références) ;
  - 1 BIBT (pour encadrer la séquence, le BIPT est un échantillon de référence provenant de tests interlaboratoires organisés par le BIPEA) ;
  - grains de froment (1/nacelle) ;
  - 3 farines de froment (avant sa mise dans la nacelle, on le place 2 heures dans une étuve à 85°C pour enlever toute l'humidité et obtenir 100% de M.S.) appelé Wheat flour, il s'agit d'une farine de blé tendre certifiée LECO. Autrement dit, il s'agit d'une référence pour les céréales ;
  - 1 blanc (toujours pour vérifier s'il n'y a pas de contamination) ;

- Enregistrement des données sur l'ordinateur relié au Trumac.

## 3.6 Méthodologie du traitement des données : les outils chimiométriques

### 3.6.1 Statistiques de base

Selon **Plate-Forme Interrégionale (2017)** :

Le minimum est défini comme la plus petite valeur que l'on retrouve dans une population.

Le maximum est défini comme la plus grande valeur que l'on retrouve dans une population.

La moyenne représente une mesure (statistique) caractérisant les éléments d'un ensemble de quantités : elle exprime la grandeur qu'aurait chacun des membres de l'ensemble s'ils étaient tous identiques sans changer la dimension globale de l'ensemble.

La médiane est un nombre qui divise en 2 parties l'échantillon ou la population, tel que chaque partie contient le même nombre de valeurs.

L'écart-type représente la racine carrée de la variance.

### 3.6.2 Prétraitement des spectres

#### 3.6.2.1 *Aspect qualitatif*

L'Analyse en Composantes Principales (PCA)

Les travaux de Dardenne et al. (1986), et de Bertrand et al. (1987) décrivent la PCA comme une technique de réduction des données (principalement les absorbances) qui permet de décrire la variation de données multidimensionnelles par un nombre inférieur de variables non corrélées entre elles.

Elle permet de repérer les spectres aberrants, les différentes classes présentes classées en fonction de la composition des éléments. (Dardenne & al. 1986)

#### 3.6.2.2 *Aspect quantitatif*

La SPIR est une méthode empirique. Il s'agit également d'une méthode indirecte exigeant un étalonnage par rapport à une méthode de référence. Cet étalonnage est spécifique aux types d'échantillons qui ont servi à le réaliser. Il n'est valable que dans les marges de variabilités spectrales de la population utilisée pour l'établissement du modèle.

Dans le cas de la méthode d'analyse par SPIR, on distingue deux étapes :

- Le calibrage
- La validation

### 3.6.2.2.1 Le calibrage

Ce dernier consiste à établir une relation entre la variation des données spectrales obtenues à l'aide de l'infrarouge et des données de référence par méthodes chimiques classiques.

Nous remarquons que le calibrage est représentatif à chaque type d'échantillon. Un modèle de prédiction pourra alors être établi grâce à plusieurs échantillons et à une gamme de concentration importante.

Une fois le calibrage développé, il reste valable pour tout autre échantillon entrant dans la même marge de variabilité spectrale ayant servi à l'établissement du modèle.

### 3.6.2.2.2 Mode d'obtention de l'équation de calibrage

#### **Prétraitement :**

#### DéviatiN Normale Standardisée (SNV)

La SNV permet une diminution importante des variations d'intensité générale des spectres afin d'augmenter la corrélation entre eux.

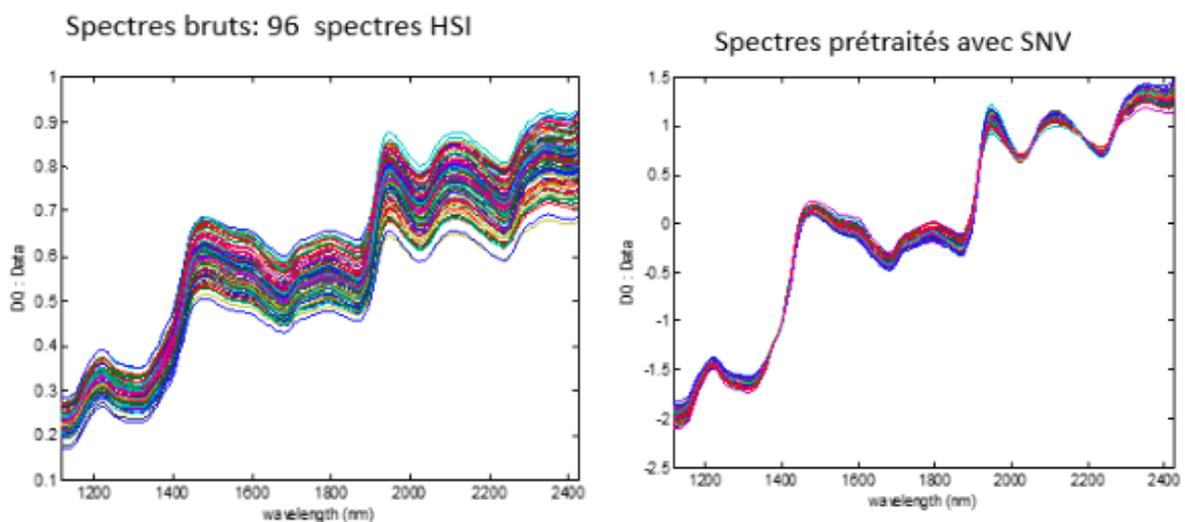


Figure 59 : Spectres avant et après application de la SNV

## Dérivée

La dérivée consiste en un prétraitement permettant la transformation des spectres dans le but de mettre en évidence les différences spectrales.

## **Traitement :**

### Régression par les moindres carrés partiels : PLS (Partial Least Square)

Cette méthode consiste à condenser des données spectrales en prenant en considération la variation des données analytiques de référence. Cette approche emploie donc l'ensemble des données spectrales disponibles pour le calibrage. (Bertrand & al. 2006)

#### *3.6.2.2.3 Paramètres d'appréciation du calibrage*

Il existe différents paramètres permettant d'évaluer la qualité des équations :

- L'erreur quadratique moyenne de calibration **RMSEC** (root mean square error of calibration).

Elle est obtenue à partir du set de calibration et est définie comme suit :

$$\text{RMSEC} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_c - p - 1}}$$

Où :

- $y_i$  représente la valeur mesurée par la méthode de référence pour l'échantillon  $i$ ,
- $\hat{y}_i$  représente la valeur prédite par la méthode de spectrométrie proche infrarouge,
- $n_c$  représente le nombre d'échantillons utilisés pour la calibration,
- $p$  représente le nombre de termes dans le modèle.

La RMSEC correspond à la différence entre les valeurs de référence et les valeurs en spectrométrie infrarouge du spectre de calibration.

Ce paramètre prend en compte le nombre de variables latentes incluses dans le modèle.

En effet, le RMSEC diminue lorsque le nombre de variables latentes augmente dans l'équation.

De même que, plus la RMSEC est faible, meilleure est l'équation de calibration. (Burns & Ciurczak, 2007).

- L'erreur quadratique moyenne de la validation croisée **RMSECV** (root mean square error of cross validation).

Elle est obtenue à partir du set de calibration et est mesurée comme suit :

$$\text{RMSECV} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_c - p - 1}}$$

La RMSECV correspond à la racine carrée de la moyenne des écarts entre la valeur de référence et la valeur prédite par la spectrométrie infrarouge pour le set de calibration.

- L'erreur quadratique moyenne de prédiction **RMSEP** (root mean error of prediction).

Celle-ci est obtenue à partir du set de validation de  $n_v$  échantillons et est définie comme suit :

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_v}}$$

La RMSEP représente la racine carrée de la moyenne des écarts entre la valeur de référence et la valeur prédite par la spectrométrie infrarouge pour un sous-ensemble d'échantillons présentant les mêmes caractéristiques que le set de calibration, mais n'ayant pas participé à la conception de l'équation de calibration. Un bon étalonnage résulte en un RMSEP proche du RMSEC. (Williams, 2014)

- Le coefficient de détermination ( $R^2$ ).

Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) énonce la part de la variation dans les données de références exprimées par l'équation de calibrage. La variation dans les données mesurées sera expliquée par l'équation dans le cas où le coefficient de détermination se rapproche de 1.

Le coefficient est déterminé comme suit :

$$R^2 = \frac{SDy^2 - SEC^2}{SDy^2} = 1 - \frac{SEC^2}{SDy^2}$$

Où :

$SDy^2$  représente la mesure de la dispersion des valeurs de référence par rapport à la valeur de la moyenne. En d'autres termes, il s'agit de la variance totale de la variable à expliquer.

SEC indique la moyenne quadratique des écarts de l'ensemble des points par rapport à la droite estimée. Nous parlerons de l'écart-type de calibrage.

Nous parlerons du coefficient de corrélation (R) en réalisant la racine carrée du coefficient de détermination. Le R est sans unité et permet la mesure de l'étroitesse entre les valeurs de référence et les valeurs prédites par l'équation de calibrage. Sa valeur est comprise entre 0 et 1. Nous obtiendrons une corrélation parfaite entre les données de référence et les données prédites par la SPIR dans le cas où R se rapproche de 1.

- Residual Predictive Deviation (RPD) :

Selon Fasbender (2010), il s'agit d'un rapport évaluant l'étalonnage en relativisant l'écart-type de la population. On considère que l'équation est bonne lorsque le rapport est le plus élevé possible et au moins supérieur à 3.

L'équation est la suivante :

$$RPD = \frac{SD}{RMSE}$$

Où :

- SD représente l'écart-type
- RMSE représente l'erreur standard moyen

#### 3.6.2.2.4 La validation

La validation réside en un test de la validité des équations de calibrage sur une série d'échantillons différents, que l'on nommera « set de validation », de ceux utilisés pour le calibrage. Ce test permet d'évaluer l'exactitude de la méthode et la robustesse de l'équation. La méthode de référence et la SPIR doivent alors mesurer le lot d'échantillons de validation. (Van Belleghem, 2003)

L'erreur de prédiction comprend une composante fortuite et une composante systématique appelée « le biais ».

Il est évalué selon l'équation suivante :

$$\text{Biais} = \frac{\sum (y - \hat{y})}{n} = y - \hat{y}$$

Où :

- $\hat{y}$  représente la valeur prédite par la méthode instrumentale ;
- $y$  représente la valeur mesurée par la méthode de référence.

Ce biais peut être la conséquence d'une modification de la méthode de référence ou à un changement de la réponse optique de l'instrument. Ce biais peut être éliminé par un ajustement de l'équation de calibrage. (Van Belleghem, 2003)

### 3.7 Transformation des valeurs en protéines :

En utilisant la technique de combustion DUMAS, le Trumac fournit un pourcentage d'azote pour un échantillon à 100 % de matière sèche. Pour calculer la teneur en protéines qui constituent le grain, deux transformations doivent être réalisées :

Pour convertir le pourcentage d'azote en pourcentage de protéines, il faut multiplier l'azote par 5,7 dans le cas du blé :

- $(N \text{ (azote)} \times 5,7) = \text{taux de protéines Dumas}$

Pour tenir compte de l'humidité de l'échantillon, une valeur moyenne de 13 % d'humidité a été retenue et appliquée dans la formule de conversion suivante :

- $\text{Protéine \% M.S.} = \text{Protéine Dumas} * 100 / (100 - \% \text{ Humidité})$

### 3.8 Choix des sets de calibration et de validation :

Pour la validation de nos données, nous avons sélectionné un grain sur quatre dans l'ordre où ils ont été analysés. La sélection des grains de validation a été choisie de cette façon pour la simple et bonne raison que si la méthode chimique, qui est réalisée afin d'avoir une valeur de référence, avait eu une légère instabilité sur une série de grains à la suite, on n'aurait pas eu une validation complètement faussée.

# **Résultats et Discussion**

## 1 Caractérisation de l'échantillon DQ150402 – 07 :

Cette partie est consacrée à l'analyse de l'échantillon DQ150402-07 (blé tendre) de 2 manières différentes :

- Analyse Bulk avec la prédiction de l'équation du CRA-W (Quarter cup double) ;
- Analyse graine à graine (Trumac).

L'analyse en Bulk s'est produite sur un total de 21 sous-échantillons afin de couvrir l'échantillon complet de 525 grammes. L'analyse en graine à graine s'est faite sur 195 grains. Le taux de protéines qui a été mesuré sur l'ensemble de la récolte avant de nous être remis est de 10,25 % pour cet échantillon.

### 1.1 Distribution du taux de protéines analysé sur 21 sous échantillons de blés tendres en Bulk :

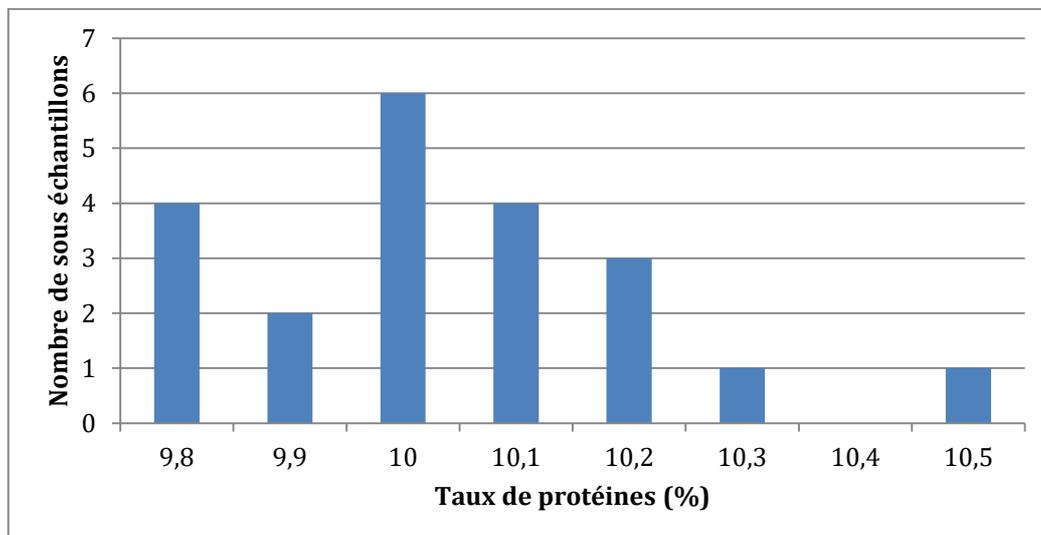


Figure 60 : Graphique indiquant la répartition du taux de protéines exprimé en % de 21 échantillons de blés tendres en analyse Bulk

La figure 60 nous donne une moyenne de 10,08 % de protéines. La valeur de l'analyse la moins élevée est de 9,81 % et la valeur maximum est de 10,56 % de protéines.

## 1.2 Distribution de la valeur de référence en protéines analysée sur 195 grains de blés tendres :

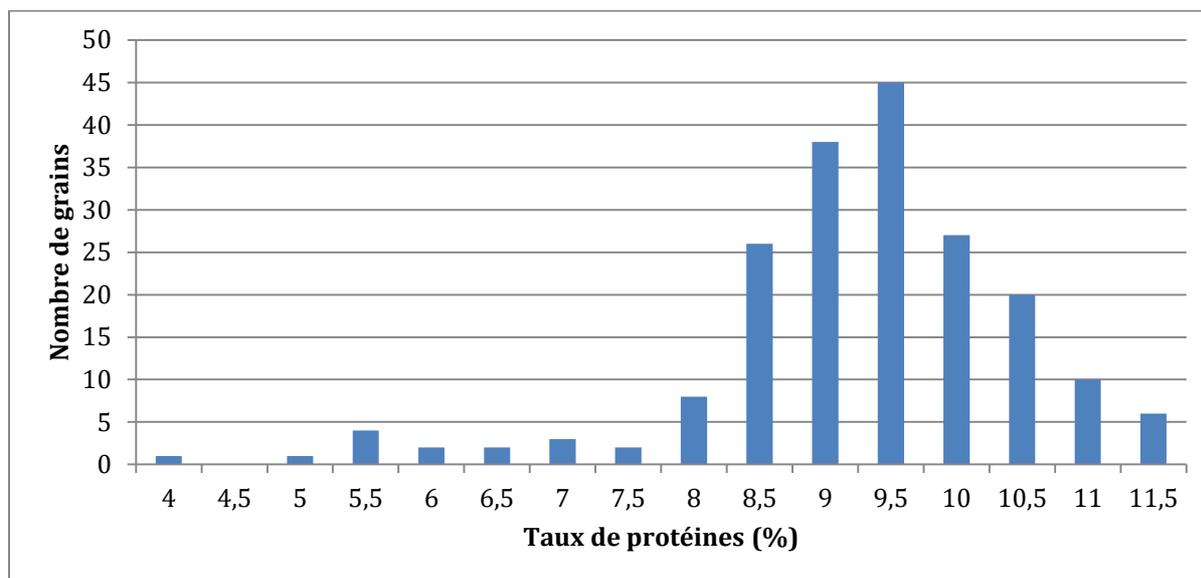


Figure 61 : Graphique indiquant la répartition du taux de protéines exprimé en % de 195 échantillons de blés tendres en analyse graine à graine Trumac

La figure 61 nous indique une moyenne se situant à 9,43 % de protéines. La valeur de l'analyse la moins élevée est de 3,54 % et la valeur maximum est de 11,87 % de protéines.

## 1.3 Commentaire général sur les figures 60 et 61:

Nous pouvons en conclure en observant ces deux figures que la méthode Bulk nous donne une précision plus proche de la valeur réelle en protéines. En revanche, nous ne pouvons conclure que la méthode graine à graine est moins précise car la moyenne des 195 grains sélectionnés préalablement possède certainement un taux de protéines plus faible que les autres.

Grâce à la méthode graine à graine, nous obtenons un écart de 0,82 % de la moyenne de départ et 0,17 % avec la méthode Bulk.

	Valeur de l'échantillon analysé à la récolte	21 sous-échantillons analysés en Bulk	195 grains analysés sur le Trumac
<b>Moyenne (%protéine)</b>	10,25	10,08	9,43
<b>Minimum (% protéine)</b>	/	9,81	3,54
<b>Maximum (% protéine)</b>	/	10,56	11,87
<b>Ecart type</b>	/	0,18	1,24

Tableau 9 : récapitulatif du pourcentage de protéines pour l'échantillon DQ150402-07.

## 2 Développement de modèles PLS en graine à graine

Cette partie est consacrée à la présentation des spectres avec les ranges complets de chaque spectromètre. Un commentaire général sera ensuite rédigé pour chacun des appareils. Ensuite, nous appliquerons un prétraitement du set d'échantillon DQ150402-07 en réalisant un modèle PLS en calibration suivit d'un modèle PLS en cross validation leave one-out. Un commentaire descriptif pour chaque modèle PLS sera rédigé également.

Une comparaison des différents spectromètres à l'aide d'un tableau récapitulatif reprenant les données des modèles PLS appliqués est ensuite réalisée en fin de chapitre.

### 2.1 Spectres brutes de l'échantillon DQ150402-07 sur les 4 spectromètres

Voici ci-dessous quatre graphiques représentant les spectres des grains analysés par les quatre spectromètres utilisés. Il s'agit de spectres créés à partir de l'échantillon DQ150402-07 et qui sont composés de 195 blés tendres. Nous pouvons observer pour les graphiques 1, 2 et 3 les bandes d'eau situées à 1190 nm, 1450 nm et 1940 nm (Bertrand et al, 2000). Nous observons aussi un pic autour de 1700 nm qui est caractéristique des lipides présents dans le grain de blé. Seul le graphique n°4 (figure 65), qui est celui du SCIO, ne contient pas de bande d'eau ni de pic aux alentours de 1700 nm montrant un pic de protéine, car le range de celui-ci est compris entre 740 et 1070 nm.

Pour chaque graphique, nous retrouverons sur l'axe des abscisses (x) la longueur d'onde exprimée en nm et sur l'axe des ordonnées (y) l'absorbance du grain exprimé par le log (1/R) (R = réflectance).

### 2.1.1 Foss XDS

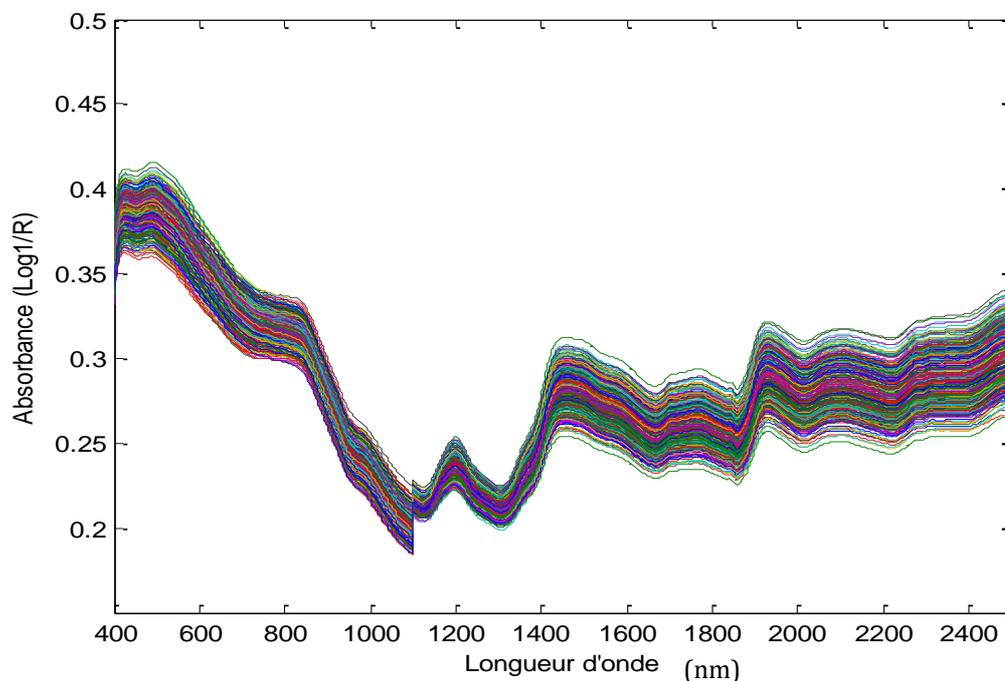


Figure 62 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par le Foss XDS sur range complet

Pour le graphique de la figure 62, nous avons mesuré les grains sur l'appareil Foss XDS. Nous pouvons observer l'absorbance mesurée pour la longueur d'onde allant de 400 à 2498 nm. Les spectres ne contiennent que très peu de bruit. Il y a une très bonne régularité des spectres et l'écart entre ceux-ci n'est pas excessif.

### 2.1.2 Caméra infrarouge

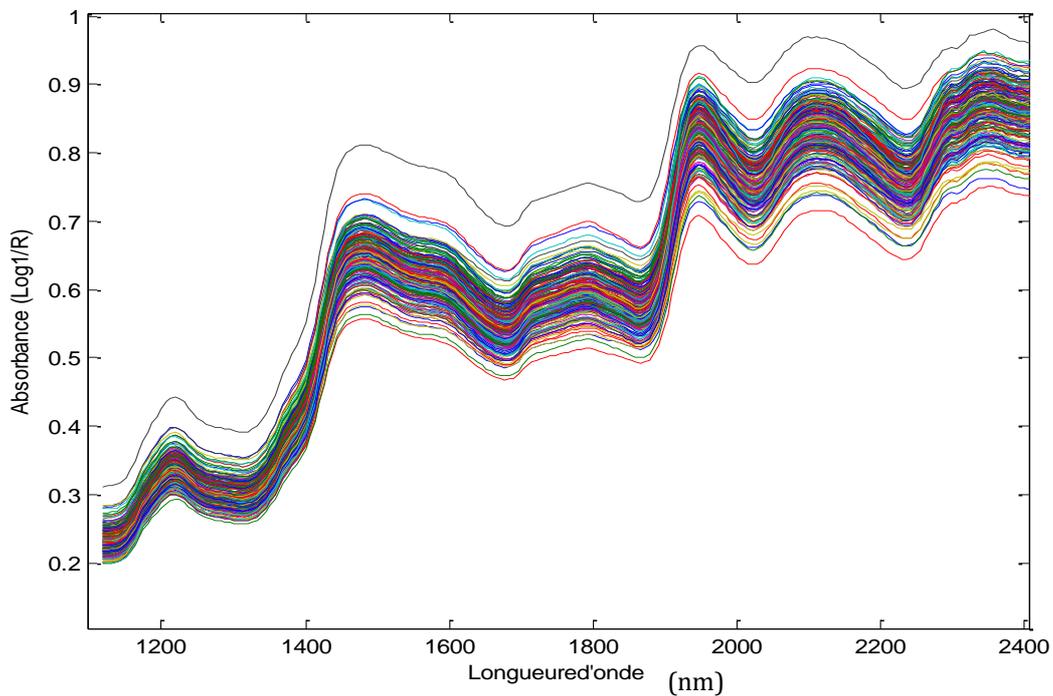


Figure 63 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par la caméra infrarouge sur range complet

La figure 63 représente les spectres obtenus par le système d'imagerie hyperspectrale proche infrarouge. Nous observons les absorbances des longueurs d'onde parcourant un range allant de 1118 nm à 2300 nm. Au-delà de 2300 nm sur le graphique, nous avons une faible zone de bruit, c'est-à-dire qu'il n'y a plus d'irrégularité dans nos spectres. L'écart entre les spectres présents sur cette figure est légèrement plus marqué que la figure 62 mais pour certains spectres uniquement. Cependant, nous gardons une bonne régularité dans les spectres obtenus.

### 2.1.3 ASD

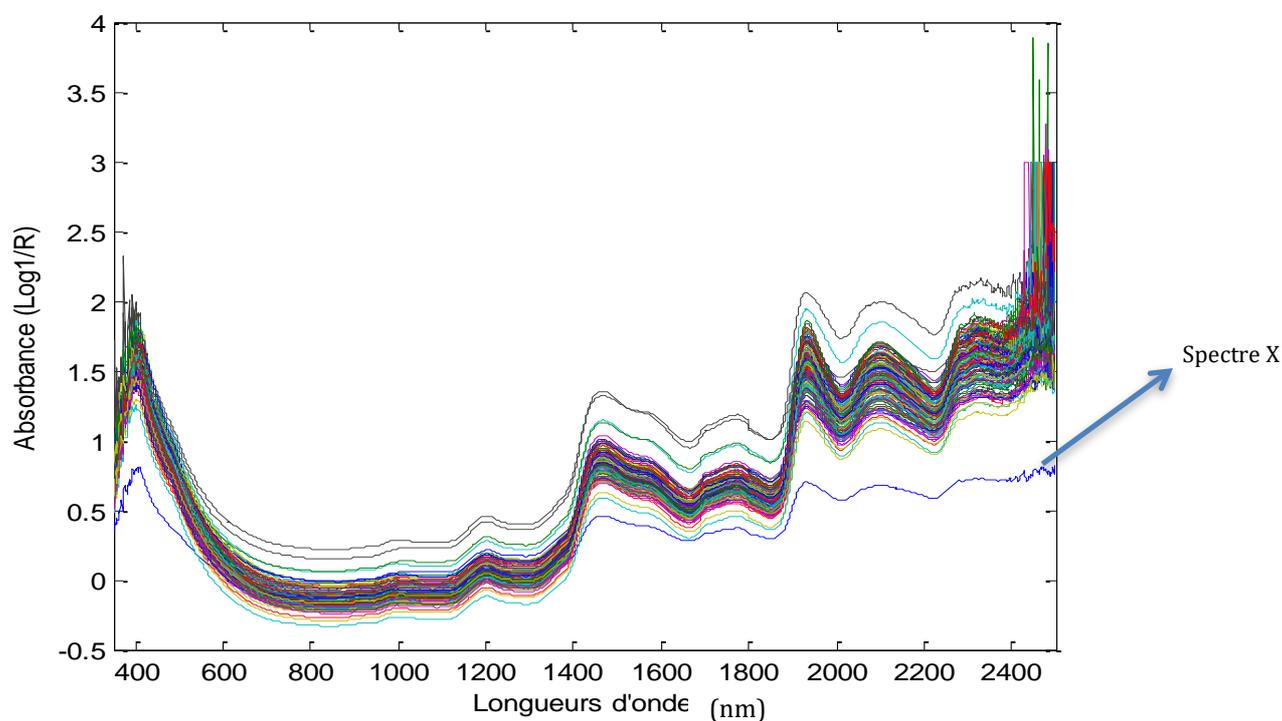


Figure 64 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par l'ASD sur range complet

Le graphique de la figure 64 présente les spectres de l'ASD ayant des longueurs d'onde parcourant un range de 350 à 2500 nm. Nous observons énormément de bruits sur un range de 350 à 500 nm ainsi que de 2300 à 2500 nm, qui sont d'origine instrumentale. L'écart entre les spectres varie légèrement pour certains, ce qui montre que l'absorbance est bonne au niveau du grain avec l'ASD. Par contre, on peut remarquer que le spectre X n'a pas la même régularité que les 194 autres. L'irrégularité du spectre X serait probablement la cause d'une mauvaise absorbance ou bien le grain de blé qui n'était pas totalement recouvert par la sonde de l'ASD au moment du scan de celui-ci.

#### 2.1.4 SCIO

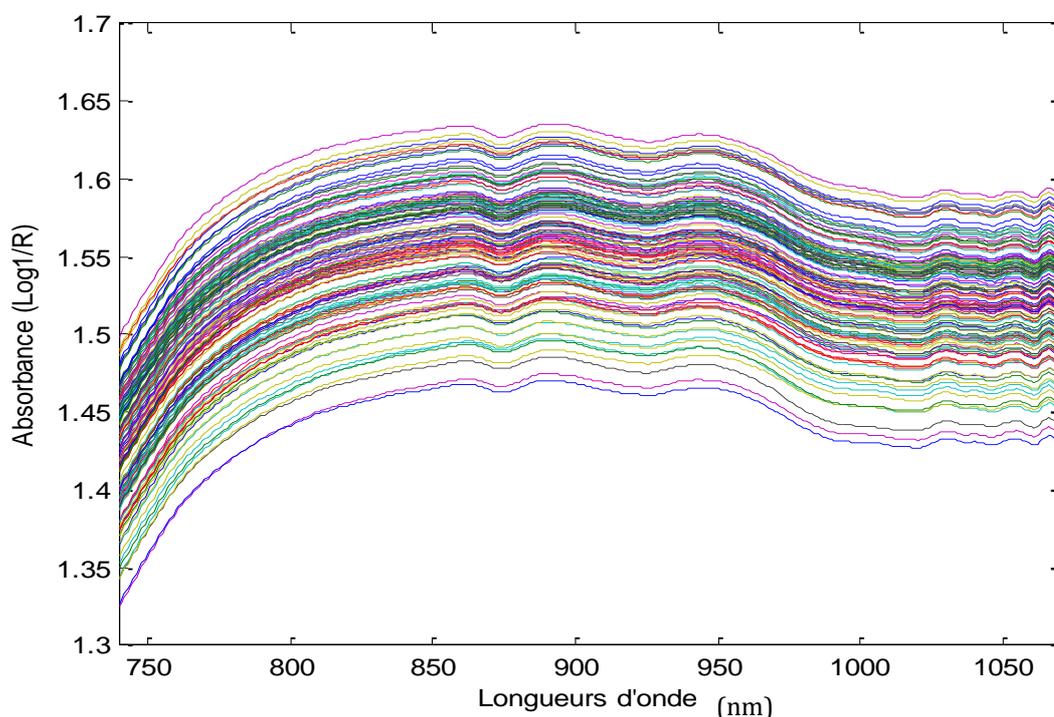


Figure 65 : Profil spectral des 195 grains de blé analysés par le SCIO sur range complet

La figure 65 indique les spectres ayant été captés par le spectromètre SCIO sur un range de longueur d'onde allant de 740 à 1070 nm. Le profil spectral est stable, on n'observe pas de zone de bruit au début ni à la fin du range. Cependant, l'écart entre les spectres est assez élevé, ce qui signifie qu'au niveau de l'absorbance, on obtient une grande variation d'un spectre à l'autre.

#### 2.1.5 [Commentaire général sur les spectres des ranges complets de chaque spectromètre](#)

D'un point de vue général au niveau des quatre graphiques représentant les spectres de l'échantillon DQ150402-07 nous pouvons en conclure que :

- Le Foss XDS, la caméra infrarouge et le SCIO sont supérieurs de l'ASD au niveau de la précision des spectres. De légères zones de bruits sont présentes au début et à la fin de chaque spectre, excepté pour le SCIO ;
- L'ASD a le plus long range de longueur d'onde, mais il contient des zones de bruit au début et à la fin de spectres ;

- Les spectres obtenus par le SCIO se trouvent sur un range de longueur d'onde fort court et donc ne nous informe pas assez. Cependant, aucune zone de bruit n'est présente sur les spectres.
- Pour chaque spectromètre, mis à part le SCIO, nous observons bien les bandes d'eau présentes sur les spectres.

## 2.2 Prétraitement du set d'échantillon DQ150402 - 07

Nous trouverons ci-dessous l'ensemble des modèles représentant les grains de blé de l'échantillon DQ150402-07 analysés par les divers spectromètres (Foss XDS, caméra infrarouge, ASD et SCIO). Les échantillons comparés concernent des grains de blé tendre. La longueur d'onde utilisée lors de l'analyse des grains a été modifiée suivant les quantités de bruits plus ou moins marqués que contenaient les spectres. Celle-ci a également été adaptée pour tous les spectromètres afin de faciliter la comparaison lors de l'analyse graphique.

Pour chaque appareil employé, nous avons réalisé un graphique en calibration, en cross validation leave one-out ainsi qu'un graphique pour la validation. Une explication descriptive du Foss XDS a été faite pour chaque modèle. Les commentaires des autres appareils se trouvent avec les tableaux récapitulatifs à la fin de cette partie.

Les trois premiers graphiques exposent la procédure exécutée pour chaque analyse d'échantillon à l'aide des différents spectromètres.

## 2.2.1 Modèle PLS en calibration

**Spectromètre :** Foss XDS

**Méthode :** Calibration

**Face du grain analysée :** Moyenne des 2 côtés du grain

**Longueur d'onde :** 400 – 2300 nm

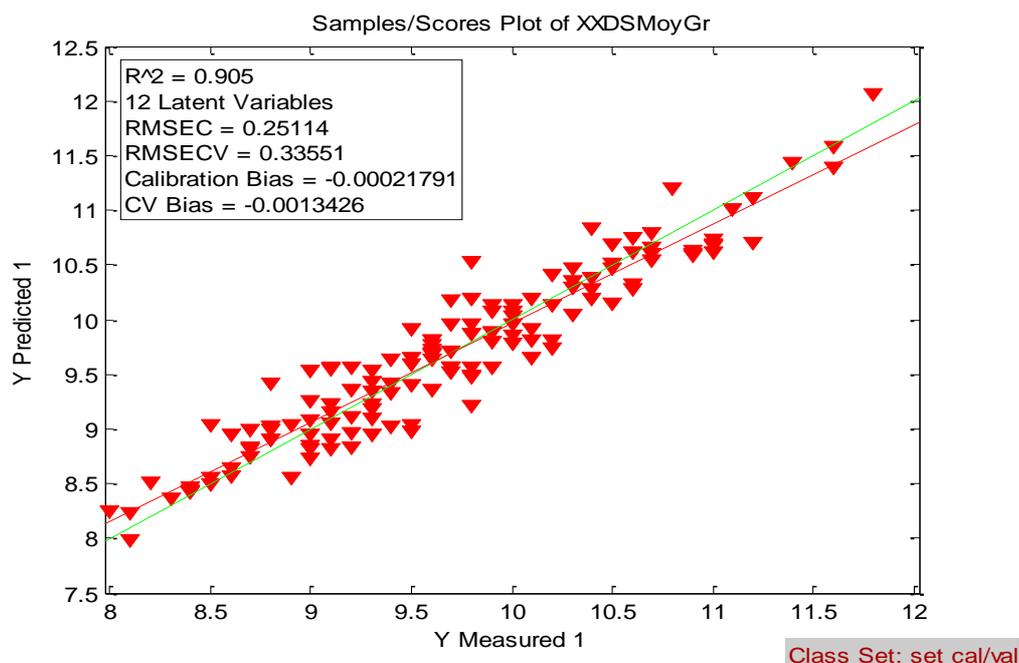


Figure 66 : Modèle PLS en calibration de l'échantillon DQ150402-07

La figure 66 présente les valeurs prédites du pourcentage de protéines sur le set de calibration de 156 graines. Nous avons appliqué le modèle PLS et développé celui-ci sur les spectres moyennés (face sillon + non sillon) acquis avec le Foss XDS et les valeurs de référence de protéines obtenues par analyse sur le Trumac en graine à graine.

Les spectres ont été prétraités (SNV + Dev 1 ; 2 ; 15) et les longueurs d'onde retenues sont comprises entre 400 et 2300 nm.

Nous avons enlevé 15 valeurs aberrantes lors du traitement de données afin de prédire au mieux le set de calibration.

Les performances du modèle sont définies par un  $R^2$  de 0,905 et un RMSEc de 0,25114. Le résultat du RMSEc montre la variabilité de la teneur en protéines d'un grain à l'autre pour un même lot de céréales (elle varie de 8 à 12 %). Il montre aussi la précision de la prédiction, la protéine qui équivaut à plus ou moins 2 RMSEC soit environ 2 fois 0,25114.

Nous avons également une très bonne corrélation entre les valeurs de références et les valeurs prédites ( $R^2 = 0,905$ ).

Le RPDc de 5 montre qu'on peut classer les grains en cinq lots en fonction de la teneur en protéines.

## 2.2.2 [Modèle PLS en cross validation leave one-out](#)

**Spectromètre :** Foss XDS

**Méthode :** Cross validation leave one-out

**Face du grain analysée :** Moyenne des 2 côtés du grain

**Longueur d'onde :** 400 – 2300 nm

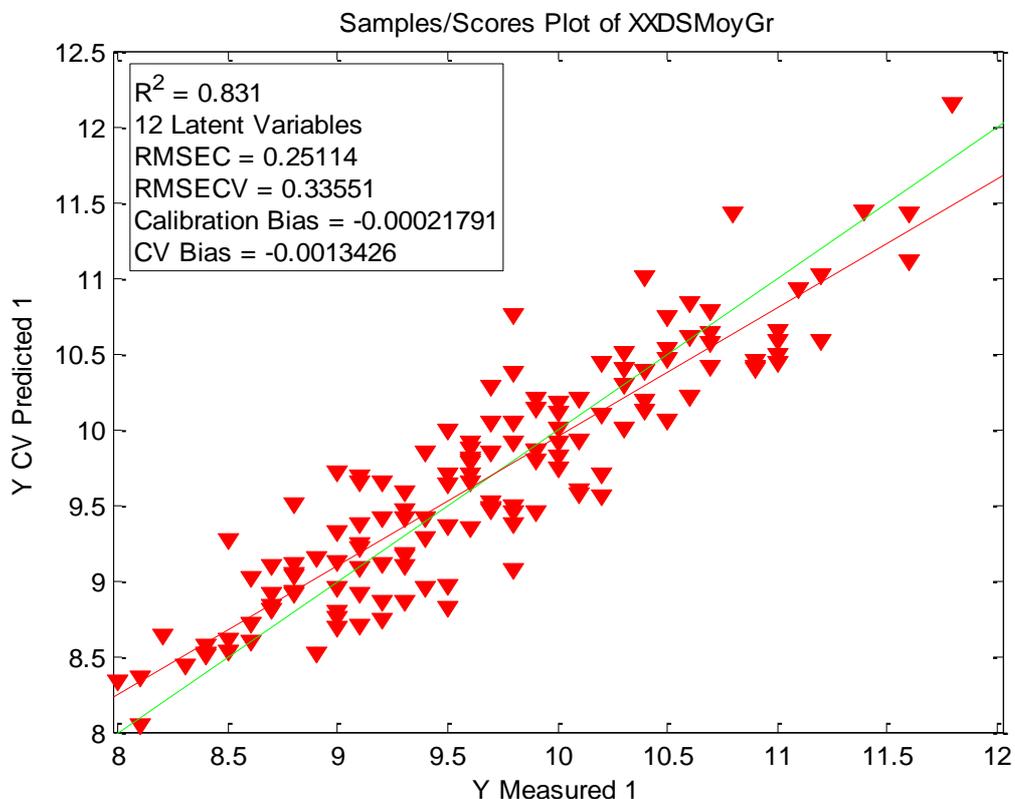


Figure 67 : Modèle PLS en cross validation leave one-out de l'échantillon DQ150402-07

La figure 67 présente les valeurs prédites du pourcentage de protéines obtenu en cross validation leave one-out en appliquant les paramètres du modèle précédent sur le même set de calibration.

Les performances du modèle sont définies par un  $R^2$  de 0,831 et un RMSEcv de 0,336. Le RMSEcv nous montre la variabilité de la teneur en protéines d'un grain à un autre avec un même lot de céréales variant de 8 à 12 % de protéines. La précision de la prédiction

de la protéine équivaut à plus ou moins 2 RMSEcv, ce qui vaut donc 2 fois 0,33551. La précision de la cross validation est légèrement moins bonne qu'en calibration. Cependant, nous gardons une bonne corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs prédites ( $R^2 = 0,831$ ).

Le RPDcv qui est de 3,8 nous montre qu'on peut faire quatre lots suivant la teneur en protéines.

## 2.3 Comparaisons des différents spectromètres avec tableau représentant des modèles de calibration et de cross validation leave one-out de l'échantillon DQ150402-07

Eq	Instrument	Range (nm)	preprocessing	Val référence		n	val aberrantes	min	max	moyenne	mediane	ecart-type	Lv	Calibration			Cross validation		
				Face										RMSEc	R <sup>2</sup> c	RPDc	RMSEcv	R <sup>2</sup> cv	RPDcv
pls4002300XDSMoyA195	XDS	400-2300	SNV, der 1 2 15	Face sillon-A	156	16	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	10	0,304	0,860	4,2	0,380	0,783	2,3	
pls4002300XDSMoyB195	XDS	400-2300	SNV, der 1 2 15	Face non sillon-B	156	16	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	13	0,267	0,892	4,7	0,360	0,805	2,5	
pls4002300XDSMoy195	XDS	400-2300	SNV, der 1 2 15	Moyenne 2 côtés	156	15	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	12	0,251	0,905	5,0	0,336	0,831	2,7	
pls11182300XDSMoy195	XDS	1118-2300	SNV, der 1 2 15	Moyenne 2 côtés	156	15	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	9	0,261	0,903	4,8	0,315	0,859	2,9	
pls7401070XDSMoy195	XDS	740-1070	SNV, der 1 2 15	Moyenne 2 côtés	156	13	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	10	0,469	0,709	2,7	0,538	0,622	1,3	
plsASDMoy195	ASD	400-2300	SNV, der 1 2 15	Moyenne 2 côtés	156	14	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	10	0,408	0,757	3,1	0,550	0,562	1,4	
pls11182300ASDMoy195	ASD	1118-2300	SNV, der 1 2 15	Moyenne 2 côtés	156	14	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	10	0,364	0,817	3,5	0,573	0,559	1,4	
pls7401070ASDMoy195	ASD	740-1070	SNV, der 1 2 15	Moyenne 2 côtés	156	13	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	7	0,500	0,642	2,5	0,621	0,460	1,0	
pls7401070SCIOMoy195	SCIO	740-1070	SNV, der 1 2 15	Moyenne 2 côtés	156	16	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	10	0,570	0,611	2,2	0,745	0,364	0,8	
pls11182299HSIMoy195	HSI	1118 - 2299	SNV, der 1 2 5	Moyenne 2 côtés	156	15	3,5	11,8	9,4	9,6	1,26	11	0,244	0,912	5,2	0,378	0,791	2,4	

Tableau 10 : Tableau comparant les divers spectromètres sur des modèles de calibration et de cross validation

### Légende :

RMSE < 0,3	Très bon
0,3 <= RMSE < 0,4	Bon
0,4 <= RMSE < 0,6	Moyen
RMSE > 0,6	Mauvais
R <sup>2</sup> > 0,9	Très bon
0,7 <= R <sup>2</sup> < 0,9	Bon
0,5 <= R <sup>2</sup> < 0,7	Moyen
R <sup>2</sup> < 0,5	Mauvais
RPD > 3	Très bon
2 <= RPD < 3	Bon
1 <= RPD < 2	Moyen
RPD < 1	Mauvais

Tableau 11 : Légende du tableau 10

### RMSEc :

Nous remarquons que le RMSEc et le RMSEcv du Foss XDS obtiennent fréquemment des résultats excellents. Nous observons cependant que les résultats sont légèrement supérieurs sans la partie visible.

Nous pouvons mettre en évidence un résultat légèrement moins bon du côté « face sillon ». Cette diminution peut s'expliquer par le fait que seules 10 variables latentes du côté « sillon » et 13 du côté « non-sillon » ont été employées. La quantité de points aberrants reste cependant inchangée.

Concernant la caméra infrarouge, le RMSEc de 0,244 est correct. Par contre, le RMSEcv est plus élevé (0,378) mais il reste convenable.

Du côté de l'ASD, nous retrouvons un meilleur RMSEc (0,364) pour un range supérieur à 1100 nm et un RMSEcv moyen (0,573). Cependant, nous retrouverons un RMSEc atteignant les 0,4 – 0,5 pour un range moindre ou complet et un RMSEcv allant même jusqu'à 0,621. Ceci peut s'expliquer par la précision générale de l'appareil, mais également par la façon de procéder à l'analyse des grains qui pourrait être à améliorer.

Avec le SCIO, nous n'obtenons pas de bon RMSEc (0,570) et RMSEcv (0,745). Ces résultats ne s'expliquent pas uniquement par le fait que son range soit court, car pour l'ASD et le Foss XDS, de meilleurs résultats sont obtenus pour un range équivalent. La qualité dans la précision de l'appareil pourrait être la cause de ces valeurs si élevées.

### R<sup>2</sup> c :

Pour le R<sup>2</sup> du Foss XDS, nous obtenons une faible variation des données mesurées, peu importe la dimension du range. Ce dernier ne descend jamais en-dessous de 0,7 en calibration. En cross validation, nous obtenons un R<sup>2</sup> (0,622) moyen avec un range de 740 à 1070 nm sans doute dû à la protéine moins détectable dans ce range de longueur d'onde.

Le R<sup>2</sup> de la caméra infrarouge est excellent. Pour un même nombre de points aberrants et moins de variables latentes que le Foss XDS, nous obtenons un résultat de 0,912 en calibration. Par contre en cross validation, pour un même range de longueur d'onde que

le Foss XDS, nous obtenons 0,791. Nous aurons donc une moins bonne corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs prédites qu'avec le Foss XDS.

Du côté de l'ASD, le  $R^2$  du range de longueur d'onde inférieur à 1100 nm est très mauvais en cross validation (0,460) et un peu moins mauvais en calibration (0,642). En calibration pour les deux autres ranges, les valeurs restent correctes avec des valeurs ne descendants pas en dessous de 0,75. Par contre, les valeurs obtenues en cross validation pour les deux autres ranges également trop faibles que pour conclure à une corrélation correcte entre les valeurs de référence et les valeurs prédites.

Le SCIO possède un  $R^2$  de 0,611 en calibration, représentant une valeur peu satisfaisante également. En cross validation, nous obtenons une valeur (0,364) ne montrant aucune corrélation possible entre les valeurs de référence et les valeurs prédites.

#### RPDc :

Concernant le Foss XDS, nous obtenons un RPDc très bon en calibration : en moyenne, la protéine peut être classée en quatre, ou cinq groupes. Nous obtenons des résultats légèrement inférieurs avec un range de 740 à 1070 nm. Pour la cross validation, nous pouvons classer la protéine en trois ou quatre groupes, suivant les différents ranges. Concernant la calibration, avec un range de 740 à 1070 nm, nous ne dépassons pas les deux groupes de protéines.

Le RPDc de la caméra est également excellent en calibration: la protéine peut être classée suivant au moins cinq groupes. En cross validation, on peut classer la protéine selon au moins trois groupes, ceci reste très bon également.

L'ASD nous fournit de très bonnes valeurs en calibration également, avec trois groupes de protéines ; excluant le range de 740 à 1070 nm. Le RPDcv nous donne des valeurs entre 2 et 2,3 avec les trois ranges différents qu'on a calculés.

Pour le SCIO, le RPDc en calibration est qualifié de satisfaisant : la protéine peut être classée en minimum deux groupes. Pour la cross validation, le RPDcv est moyen, car

nous formons très difficilement deux classes de protéines. Ceci n'est pas suffisamment précis.

### 3 Validation

#### 3.1 Modèle PLS en validation

**Spectromètre :** Foss XDS

**Méthode :** Validation

**Face du grain analysée :** Moyenne des 2 côtés du grain

**Longueur d'onde :** 400 – 2300 nm

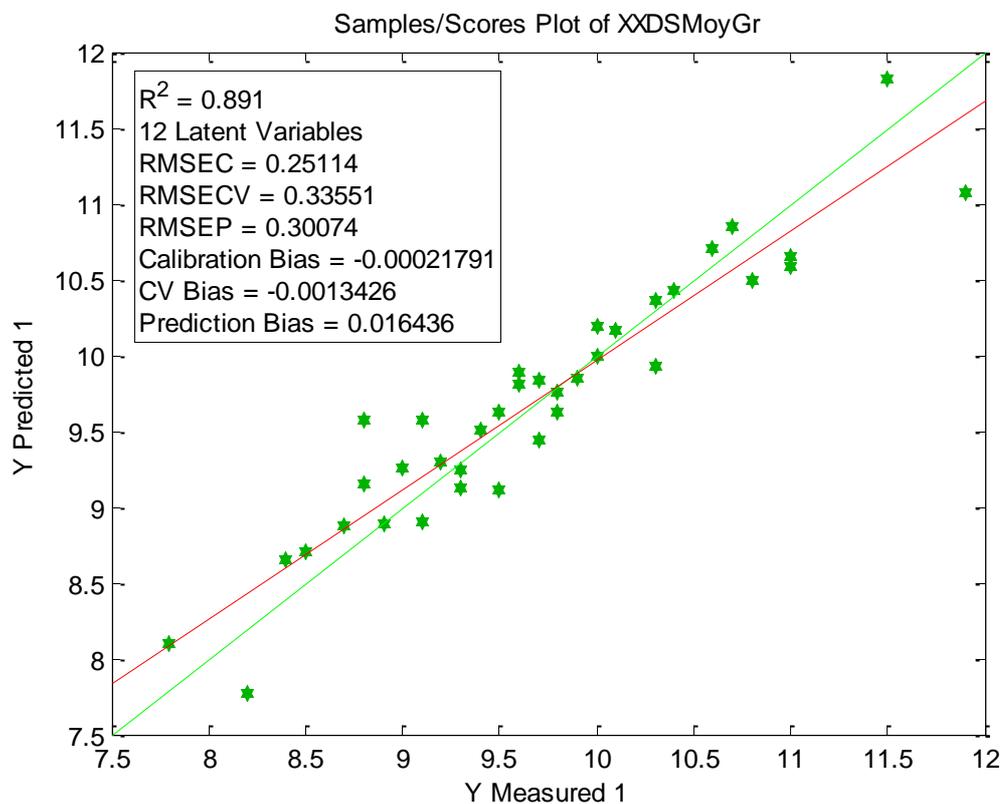


Figure 68 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07

La figure 68 présente les valeurs prédites du pourcentage de protéines obtenues en appliquant le modèle PLS sur un set de validation de 39 grains. Les spectres ont été prétraités (SNV + Dev 1 ; 2 ; 15) et les longueurs d'onde retenues sont comprises entre 400 et 2300 nm.

Nous avons enlevé deux valeurs aberrantes lors du traitement de données pour prédire le plus précisément possible la validation.

Les performances de la prédiction sont définies par un  $R^2$  de 0,891 et un RMSEp de 0,301. Le RMSEp de la validation varie entre 7,7 et 11,8 %, ce qui équivaut à la variabilité de la teneur en protéines d'un grain à un autre avec un même lot de céréales. Il nous informe aussi sur la précision de la prédiction qui est de plus ou moins 2 fois 0,30074. La corrélation au niveau des valeurs de références et de celles qui sont prédites n'est pas du tout mauvaise ( $R^2 = 0,891$ )

Le RPDp de 3,9 nous confirme bien qu'on peut faire 4 lots avec les grains suivant leur teneur en protéines.

### 3.1.1 [Comparaisons des différents spectromètres avec tableau représentant des modèles de validation de l'échantillon DQ150402-07](#)

Instrument	Range (nm)	Val référence							Lv	Validation		
		Face	val aberrantes	min	max	moyenne	mediane	ecart-type		RMSEp	R <sup>2</sup> p	RPDp
XDS	400-2300	Face sillon-A	2	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	10	0,407	0,803	2,9
XDS	400-2300	Face non sillon-B	2	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	13	0,353	0,862	3,3
XDS	400-2300	Moyenne 2 côtés	2	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	12	0,301	0,891	3,9
XDS	1118-2300	Moyenne 2 côtés	2	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	9	0,255	0,920	4,6
XDS	740-1070	Moyenne 2 côtés	1	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	10	0,614	0,638	1,9
ASD	400-2300	Moyenne 2 côtés	2	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	10	0,608	0,551	1,9
ASD	1118-2300	Moyenne 2 côtés	3	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	10	0,559	0,625	2,1
ASD	740-1070	Moyenne 2 côtés	2	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	7	0,600	0,565	2,0
SCIO	740-1070	Moyenne 2 côtés	1	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	10	1,040	0,200	1,1
HSI	1118 - 2299	Moyenne 2 côtés	2	5,8	11,9	9,5	9,6	1,17	11	0,356	0,852	3,3

Tableau 12 : Tableau comparant les divers spectromètres sur des modèles de validation

#### Légende :

RMSE < 0,3	Très bon
0,3 <= RMSE < 0,4	Bon
0,4 <= RMSE < 0,6	Moyen
RMSE > 0,6	Mauvais
R <sup>2</sup> > 0,9	Très bon
0,7 <= R <sup>2</sup> < 0,9	Bon
0,5 <= R <sup>2</sup> < 0,7	Moyen
R <sup>2</sup> < 0,5	Mauvais
RPD > 3	Très bon
2 <= RPD < 3	Bon
1 <= RPD < 2	Moyen
RPD < 1	Mauvais

Tableau 13 : Légende du tableau 12

### RMSEp :

En observant le tableau 12 pour le Foss XDS, nous confirmons un RMSEp plus élevé du côté du sillon du grain. Le nombre de valeurs aberrantes est pourtant identique qu'avec le côté non sillon.

Un range supérieur à 1100 nm, attribue un RMSEp très bon ; contrairement à un range inférieur à 1100 nm, qui octroie un RMSEp très mauvais.

Cependant, nous avons employé une seule variable latente en plus pour le range supérieur à 1100 nm. Nous pouvons donc conclure qu'un range inférieur à 1100 nm sera systématiquement moins bon qu'un range supérieur à cette valeur de départ.

Pour la caméra, le RMSEp est légèrement plus haut que pour la calibration. Il reste cependant satisfaisant.

L'ASD indique des RMSEp très mauvais, excepté pour un range au-delà de 1100 nm, où il est moyen.

Le SCIO nous signale un RMSEp très élevé. Ce chiffre de 1,04 n'est cependant pas représentatif. Une unique valeur aberrante a été enlevée car les autres formaient un nuage : pour obtenir une bonne validation, nous aurions dû toutes les extraire.

### R<sup>2</sup>p :

Le R<sup>2</sup> du Foss XDS est bon. Ce dernier est d'autant plus meilleur avec un range supérieur à 1100 nm. Il sera cependant moins bon avec un range inférieur à 1100 nm.

La caméra infrarouge nous indique un bon R<sup>2</sup>.

A l'aide de ce matériel, nous mesurons des valeurs proches des valeurs de référence : nous pouvons l'estimer fiable.

L'ASD n'attribue, de manière générale, pas de bonnes valeurs avec un R<sup>2</sup> entre 0,5 et 0,7 pour les différents ranges de longueurs d'onde utilisés.

Le SCIO possède un  $R^2$  très loin de 1 avec une valeur de 0,2. Celui-ci n'indique pas de valeurs proches de celles de référence.

RPDp:

Le RPDp du Foss XDS est très bon : nous pouvons faire au minimum trois groupes avec les protéines. Il est cependant moins bon avec un range de 740 à 1070 nm : seuls deux groupes sont possibles à réaliser.

La caméra infrarouge va classer les protéines suivant au moins trois groupements avec un RPDp de 3,3.

Concernant l'ASD, nous pouvons classer les protéines suivant deux groupes : son utilisation est approuvée.

Le SCIO ne nous permet pas d'obtenir deux groupements de protéines : son RPDp est trop faible (1,1). La protéine ne peut être classée : cet appareil est donc peu fiable.

## 4 Validation des équations en graine à graine sur d'autres sets d'échantillons

### 4.1 Comparaison de la valeur prédite moyenne des 96 graines avec la valeur prédite de la méthode Bulk

Valeur de référence :

<b>Echantillon</b>	<b>Moyenne de référence (% de protéine)</b>	<b>Blé tendre / Blé dur</b>
DQ150705-10	10,4	Blé tendre
DQ160552-10	15,7	Blé dur

Tableau 14 : Pourcentage de référence moyen mesuré en protéines d'un échantillon de blé dur et d'un échantillon de blé tendre

Nous pouvons observer ci-dessous les pourcentages de protéines obtenus pour deux échantillons de blé à l'aide de la méthode Bulk (DQ150705-10 = blé tendre et DQ160552-10 = blé dur). Une analyse en Bulk correspond à un Quarter cup double rempli de grains. Une comparaison des deux échantillons a également été réalisée à l'aide de 96 gaines de chacun d'eux afin de les analyser en graine à graine à l'aide du Foss XDS, de la caméra infrarouge et de l'ASD.

#### 4.1.1 Valeur de la méthode Bulk

<b>Echantillon</b>	<b>1ère analyse (% de protéine)</b>	<b>2ème analyse (% de protéine)</b>	<b>Moyenne (% de protéine)</b>
DQ150705-10	10,02	10,01	10,02
DQ160552-10	15,35	15,47	15,41

Tableau 15 : Pourcentage moyen d'un échantillon de blé dur et d'un échantillon de blé tendre avec la méthode Bulk

La moyenne de la méthode Bulk indique un écart de 0,38 % de protéines pour l'échantillon de blé tendre par rapport à la moyenne de référence ainsi qu'un écart de 0,29 % pour l'échantillon de blé dur.

#### 4.1.2 Valeur de la méthode en graine à graine

Les équations utilisées pour valider les modèles sur les deux sets d'échantillons blé dur et blé tendre correspondent aux équations développées pour le range 1118-2300 nm :

Foss XDS :

Echantillon	DQ150705-10	DQ160552-10
Nombre de grains	96	96
Minimum (% protéine)	8,63	12,01
Maximum (% protéine)	14,23	16,95
Moyenne (% protéine)	10,73	14,75
Médiane	10,64	14,80
Ecart-type	1,01	1,11

Tableau 16 : Données en protéines mesurées en graine à graine sur un échantillon de blé dur et de blé tendre avec le Foss XDS

Nous nous trouvons à 0,33 % d'écart avec la moyenne de référence pour l'échantillon de blé tendre et à 0,95 % d'écart pour l'échantillon de blé dur. Pour l'échantillon de blé dur, nous avons un écart plus grand par rapport à la méthode Bulk et donc par rapport à la moyenne de référence également. La moyenne de l'échantillon de blé tendre est quasiment la même que celle de la méthode Bulk.

HSI :

Echantillon	DQ150705-10	DQ160552-10
Nombre de grains	96	96
Minimum (% protéine)	8,55	12,29
Maximum (% protéine)	14,13	18,04
Moyenne (% protéine)	10,38	15,13
Médiane	10,32	15,05
Ecart type	0,98	1,03

Tableau 17 : Données en protéines mesurées en graine à graine sur un échantillon de blé dur et de blé tendre avec la caméra infrarouge

Les moyennes des deux échantillons sont aussi presque aussi précises que celles mesurées avec la méthode Bulk. Nous nous trouvons à 0,02 % d'écart avec la moyenne de référence pour l'échantillon de blé tendre et à 0,57 % d'écart pour l'échantillon de blé dur.

ASD :

<b>Echantillon</b>	<b>DQ150705-10</b>	<b>DQ160552-10</b>
<b>Nombre de grains</b>	96	96
<b>Minimum (% protéine)</b>	7,35	6,34
<b>Maximum (% protéine)</b>	12,08	15,41
<b>Moyenne (% protéine)</b>	9,36	11,02
<b>Médiane</b>	9,19	10,91
<b>Ecart type</b>	0,98	1,8

Tableau 18 : Données en protéines mesurées en graine à graine sur un échantillon de blé dur et de blé tendre avec l'ASD

Pour la moyenne de l'échantillon de blé tendre du tableau 18, nous sommes plus loin de celle de référence par rapport à celle du Foss XDS et de la caméra infrarouge avec 1,04 % de protéines en moins. Le résultat de la moyenne de l'échantillon de blé dur est fort éloigné de la moyenne de référence avec 4,68 % de protéines d'écart. Il y a une très grosse imprécision au niveau du pourcentage de protéines obtenu sur l'échantillon de blé dur qui a été mesuré.

#### 4.1.3 Commentaire général sur les deux échantillons et leurs méthodes d'analyse

La méthode Bulk appliquée sur le Foss XDS est une méthode qui reste précise et avec laquelle nous pouvons analyser des échantillons tout en étant certain des résultats obtenus.

Le Foss XDS est légèrement moins précis que la caméra infrarouge dans les moyennes analysées en graine à graine. Il reste cependant un appareil très fiable.

L'ASD n'est pas un appareil sur lequel nous pouvons nous fier en analyse graine à graine. Les résultats obtenus donnent des écarts trop importants avec la moyenne de référence, ceci ne nous permet donc pas de nous y fier.

## 5 Discrimination de lots de grains de blés durs et de blés tendres

Le tri en graine à graine peut s'appliquer dans le cadre de la discrimination de lots de grains de blé dur et de blé tendre.

### 5.1 Description de la discrimination

Dans cette analyse, nous avons comparé deux échantillons de 96 grains avec la méthode « graine à graine ». Il s'agit de l'échantillon DQ150705-10 (blé tendre) composé de 10,4 % de protéines de moyenne et l'échantillon DQ160552-10 (blé dur) composé de 15,7 % de protéines de moyenne. Ils ont été comparés avec trois spectromètres, le Foss XDS, la caméra infrarouge et l'ASD. Pour chaque appareil, nous avons effectué un graphique reprenant les spectres de chaque échantillon : un graphique représentant les prédictions pour les modèles PLS et un graphique en bâtonnets, afin de distinguer au mieux chaque échantillon.

#### 5.1.1 [Distribution du taux de protéines analysé sur un échantillon de blé dur et un échantillon de blé tendre avec le Foss XDS](#)

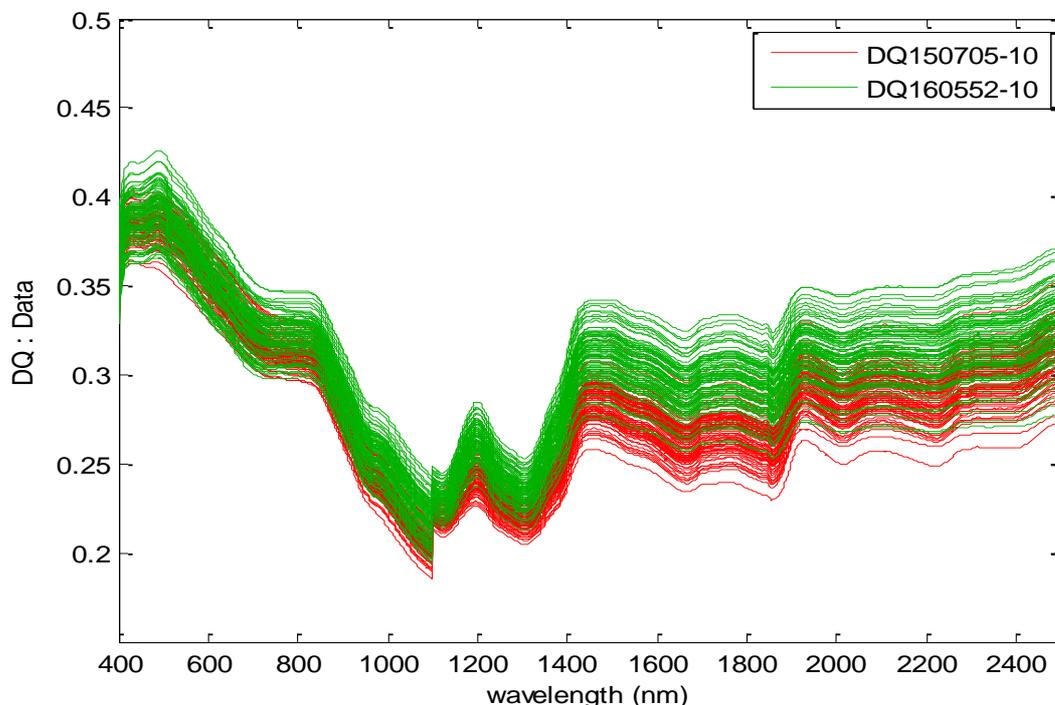


Figure 69 : Graphique spectral d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec le Foss XDS

Nous distinguons les spectres bruts du blé dur se trouvant au-dessus du blé tendre dans la figure 69. Nous n’observons pas de séparation bien marquée entre les spectres des 2 échantillons. Tous les spectres présents gardent les mêmes caractéristiques.

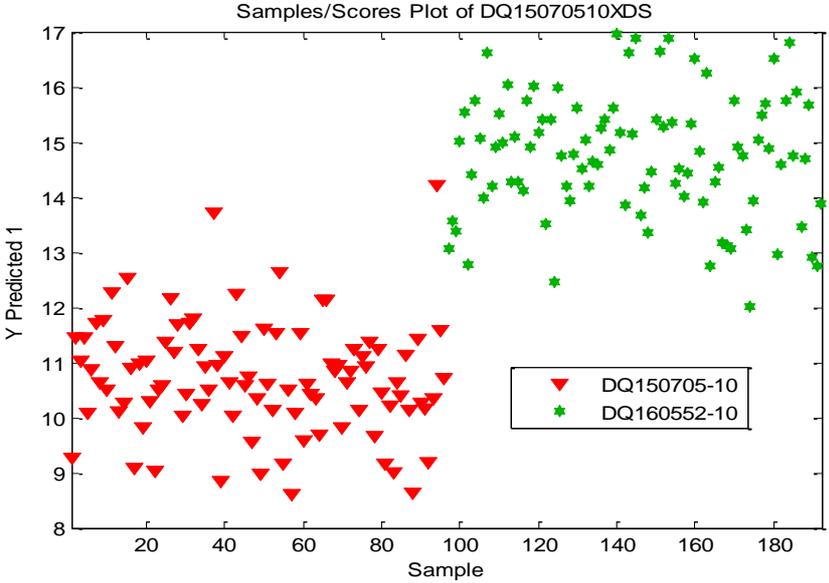


Figure 70 : Modèle PLS du Foss XDS sur un échantillon de 96 blés tendres et un échantillon de 96 blés durs

La figure 70 représente deux classes bien distinctes : d’une part, à gauche, nous distinguons les grains de blé tendre et d’autre part, à droite, les grains de blé dur. Sur les extrémités, seuls quelques grains restent présents, mais ceux-ci ne représentent pas la majorité des échantillons.

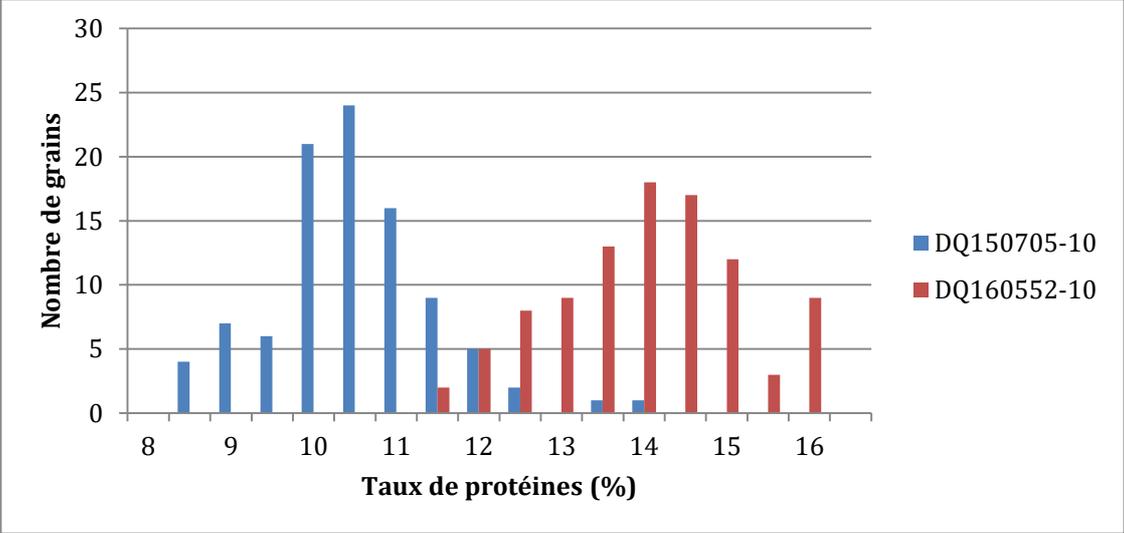


Figure 71 : Graphique en bâtonnets d’un échantillon de 96 blés durs et d’un échantillon de 96 blés tendres avec le Foss XDS

La figure 71 présente les classes de pourcentage des protéines obtenues pour les deux espèces de grains. Les deux classes sont bien distinctes l'une de l'autre, malgré une superposition des classes aux alentours de 12 % de protéines. Les pics en protéines sont présents aux endroits où la moyenne de référence a été mesurée.

### 5.1.2 [Distribution du taux de protéines analysé sur un échantillon de blé dur et un échantillon de blé tendre avec le système hyperspectrale proche infrarouge](#)

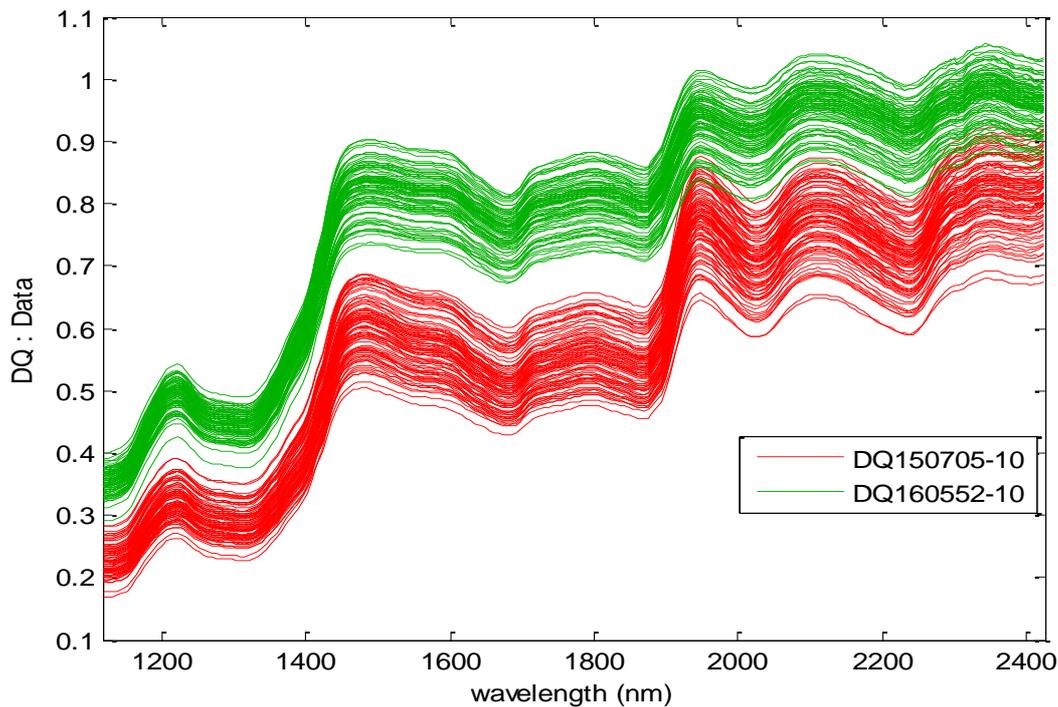


Figure 72 : Graphique spectral d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec la caméra infrarouge

Les deux spectres de la figure 72 sont bien distincts l'un de l'autre et restent réguliers. Nous avons une absorbance moins élevée pour le blé tendre.

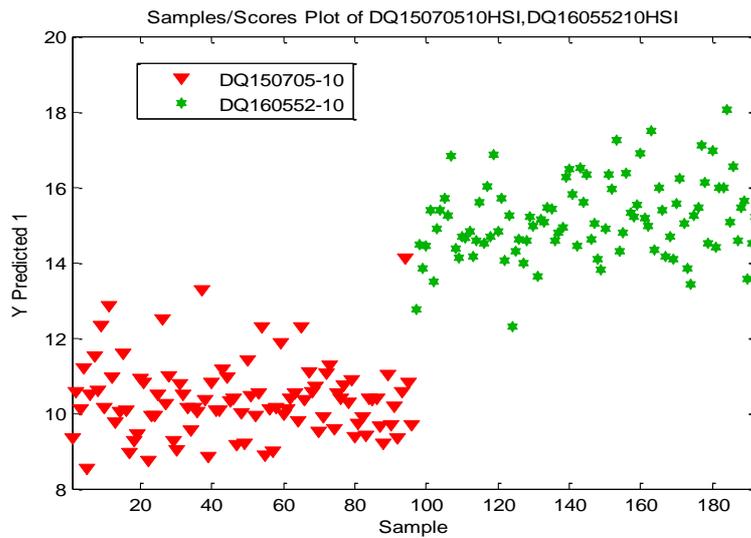


Figure 73 : Modèle PLS de la caméra infrarouge sur un échantillon de 96 blés tendres et un échantillon de 96 blés durs

La figure 73 montre de façon distincte deux groupes de grains sur le graphique. Les deux échantillons se situent dans la bonne moyenne du taux de protéines leur correspondant. Seuls quelques points se trouvent confondus aux alentours de 13 % de protéines, mais cela reste sans conséquence.

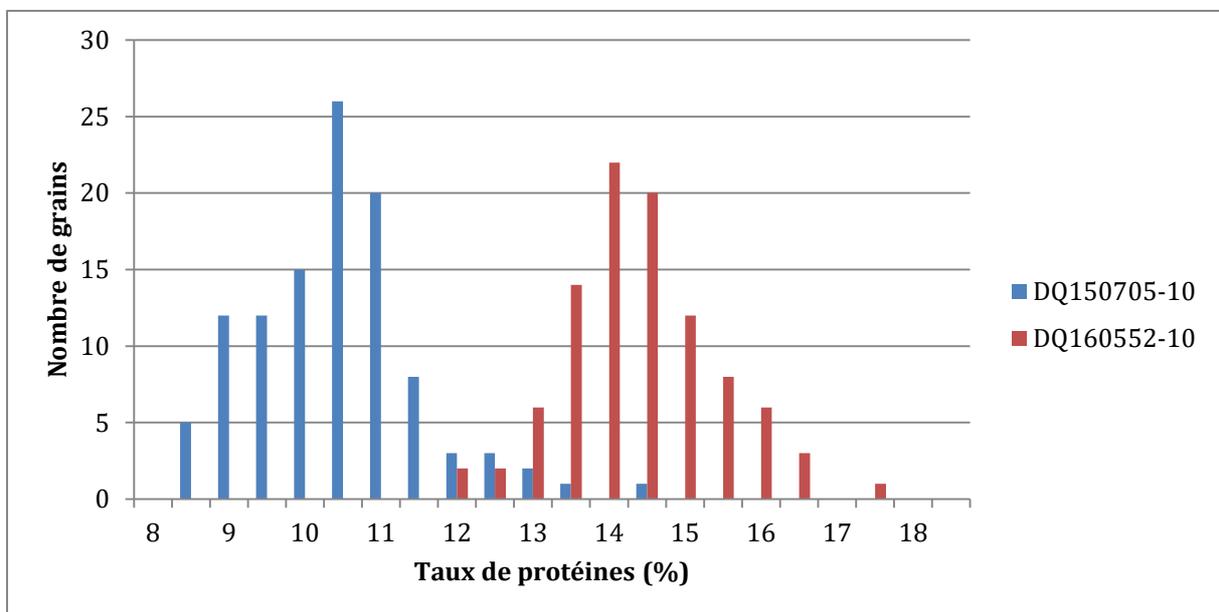


Figure 74 : Graphique en bâtonnets d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec la caméra infrarouge

Nous remarquons précisément dans la figure 74 le nombre de grain en fonction de leur taux de protéines. Entre 12 et 14 % de protéines, les deux espèces de grains se

confondent légèrement. Cela n'empêche pas la distinction entre les deux groupements de bâtonnets.

### 5.1.3 Distribution du taux de protéines analysé sur un échantillon de blé dur et un échantillon de blé tendre avec l'ASD

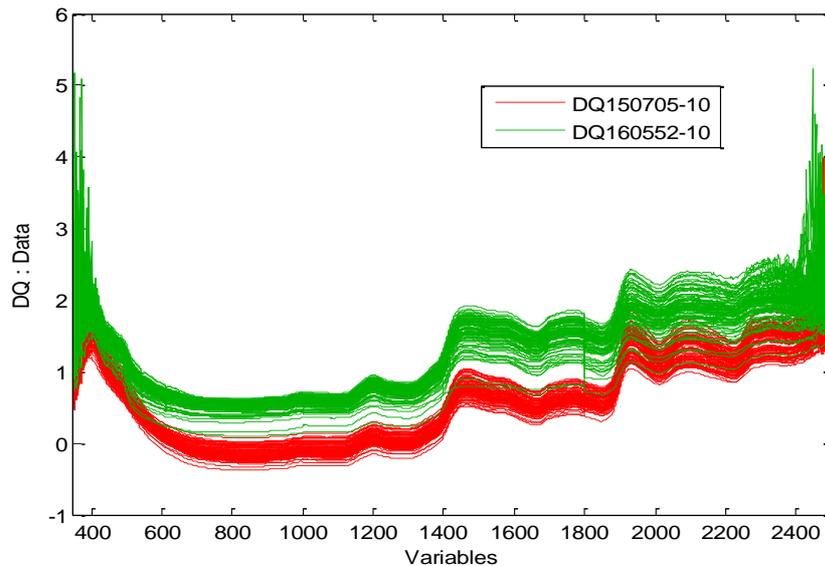


Figure 75 : Graphique spectral d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec l'ASD

Wavelength (nm)

La figure 75 indique que le blé tendre absorbe à nouveau moins de lumière que le blé dur. Nous distinguons clairement deux classes de spectres uniquement dans une longueur d'onde comprise entre 700 et 1800 nm. Au-delà, ou avant ce range de longueur d'onde, nous ne pouvons pas dire avec certitude qu'il s'agit de deux espèces de grains différentes.

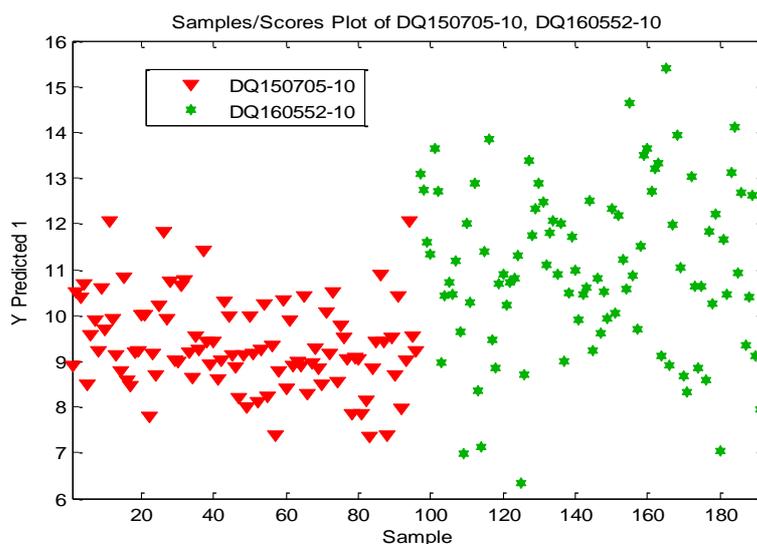


Figure 76 : Modèle PLS de l'ASD sur un échantillon de 96 blés tendres et un échantillon de 96 blés durs

La figure 76 ne nous permet pas de distinguer clairement les deux classes de grains. On observe une légère hausse du taux de protéine des blés durs au-delà de 12,5 %, mais ceci ne nous suffit pas à pouvoir dire qu'il y a deux groupes bien séparés en réalité.

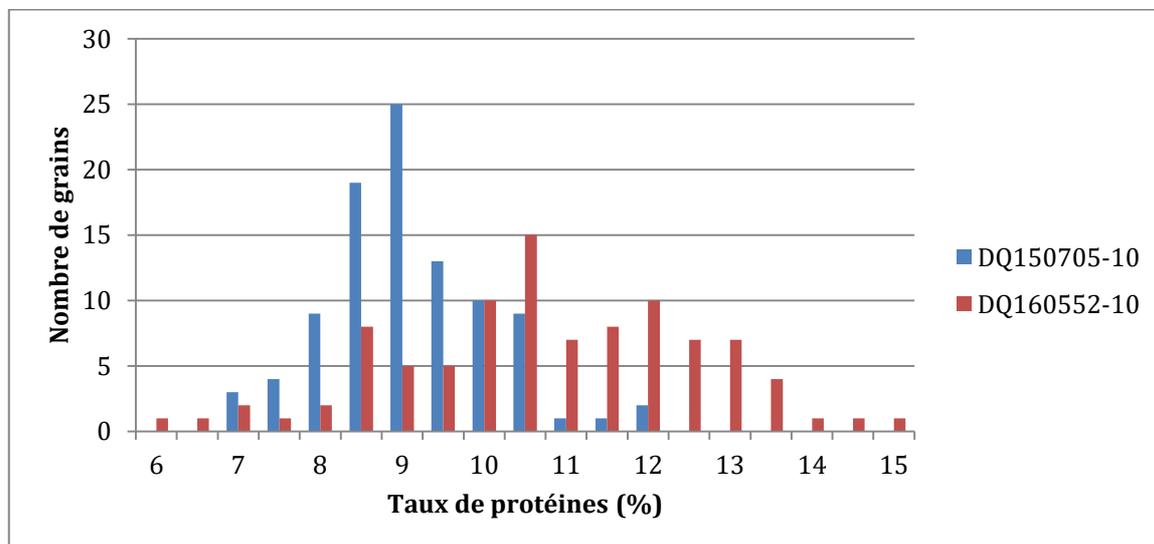


Figure 77 : Graphique en bâtonnets d'un échantillon de 96 blés durs et d'un échantillon de 96 blés tendres avec la caméra infrarouge

La figure 77 présente une uniformité des bâtonnets au niveau du taux de protéines. La protéine est la plus présente entre 8 et 12 %. Nous ne pouvons pas nous fier à ces données sachant les taux de base en protéines que contiennent les échantillons.

#### 5.1.4 [Commentaire général sur les 2 échantillons et leurs méthodes d'analyse](#)

Premièrement, les spectres bruts du Foss XDS n'indiquent aucune séparation distincte entre le blé tendre et le blé dur. Contrairement à la caméra infrarouge et à l'ASD où nous pouvons observer une véritable séparation entre ceux-ci.

Les zones de bruit sont présentes en masse pour l'ASD, ainsi qu'un peu au début des spectres pour le Foss XDS.

Pour chaque spectromètre, le blé tendre se trouve en-dessous du blé dur au niveau de l'absorbance.

Deuxièmement, les modèles PLS du Foss XDS et de la caméra infrarouge représentent très clairement les deux espèces de grains analysées. Sur le graphique, nous obtenons deux lots bien séparés chacun entre eux.

Pour l'ASD, le modèle PLS ne nous permettrait pas de pouvoir supposer qu'il y a deux espèces de grains différentes si ceux-ci avaient été mélangés entre eux lors de l'analyse.

Et troisièmement, les graphiques en bâtonnets pour le Foss XDS comme pour la caméra infrarouge sont très significatifs face aux deux espèces de grains sélectionnées. Ils indiquent deux classes de pourcentages en protéines bien séparées, d'un côté comme de l'autre. Grâce à ce graphique, nous pouvons affirmer avec certitude qu'il s'agit bien de deux espèces de grains différentes, ou du moins attester qu'il s'agit de deux lots ne contenant pas la même teneur en protéines.

L'ASD ne nous indique aucun groupe permettant de distinguer deux espèces de blé différentes. Il n'atteint même pas sur une seule analyse la moyenne de l'échantillon de blé dur qui est de 15,7 % de protéines.

# **CONCLUSIONS**

Les différentes expérimentations et traitements de données conduisent aux conclusions suivantes :

La caractérisation de l'échantillon de blé tendre DQ150402-07 réalisée en utilisant la technique SPIR classique en Bulk et l'analyse de référence de 195 graines individuelles (Trumac) nous a permis de tirer plusieurs conclusions :

- L'analyse Bulk nous permet d'obtenir une moyenne en protéine relativement proche de celle mesurée au départ lors de la récolte des grains : 10,08 % pour l'analyse Bulk contre 10,25 % de moyenne pour l'échantillon total.
- Les mesures avec le Trumac ont une moyenne inférieure à l'analyse en Bulk avec une moyenne de 9,43 %.

Ces résultats nous indiquent une variabilité importante du taux de protéines en analyse graine à graine d'une méthode à l'autre. Nous pouvons conclure que le choix des grains au départ pour la méthode en graine à graine (Trumac), avait une moyenne de protéine inférieure à celle du lot total.

La comparaison des quatre spectromètres nous a permis d'en déduire les observations suivantes :

- Le **Foss XDS** s'avère être un excellent appareil de laboratoire. D'une part, il permet une très bonne quantification de la protéine dans le blé en analyse graine à graine. D'autre part, il permet de très bons résultats via la méthode Bulk (0,17 % de protéine d'écart avec l'échantillon mesuré au départ). Les modèles graine à graine développés sont très performants (RMSEP = 0,25 ;  $R^2 = 0,92$  ; RPD = 4,6) et ont permis le classement de la protéine contenue dans le blé jusqu'à cinq classes. Ces valeurs sont les mêmes que celles de l'équation qui est utilisée d'habitude pour l'analyse des coupelles de graines. L'appareil s'avère être onéreux, mais également le plus sérieux en matière de précision des résultats.

- La **caméra infrarouge** s'avère également être un très bon appareil au niveau de la quantification de la protéine. Tout comme le Foss XDS, elle possède un coût important.

Grâce à son large tapis roulant permettant une disposition des grains plus aisée et plus rapide, la caméra infrarouge s'avère être une méthode fonctionnelle. Malgré le fait que la caméra infrarouge emploie le même range de longueur d'onde que le Foss XDS, cette dernière a permis la classification de la protéine dans le grain en trois groupes (RPD = 3,3) lors de la création des modèles en graine à graine. Nous pouvons donc conclure qu'elle permet des résultats moins précis que le Foss XDS en matière de détection de la protéine dans le grain en analyse graine à graine.

- L'**ASD** est un appareil de laboratoire qui s'est avéré moins précis que le Foss XDS et la caméra infrarouge. Nous avons obtenu un RPD de 2,1 lors de la création des modèles graine à graine en validation. Ceci nous permet la classification de la protéine en deux groupes. Nous pouvons conclure que l'ASD s'avère être un appareil non suffisamment précis pour la détection de protéines dans le grain en analyse graine en graine. Son prix fort élevé permet cependant sa manipulation sur le terrain également.
- Le **SCIO** est un appareil de laboratoire qui n'a pas fait ses preuves en matière de précision. En effet, les mesures en graine à graine concernant le taux de protéines présent dans les grains nous ont donné des modèles non performants (RMSEP = 1,04 ;  $R^2 = 0,2$  ; RPD = 1,1). Ces modèles obtenus en graine à graine ont permis de classer la protéine en un seul groupe uniquement. Le SCIO n'a pu aboutir à des résultats cohérents et n'a donc pas prouvé son efficacité. En effet, il s'agit d'un nouvel appareil de spectrométrie bon marché qui ne fournit pas un travail de qualité.

Pour le Foss XDS, la caméra infrarouge et l'ASD, nous avons pu observer que les résultats obtenus lors de la création des modèles se sont avérés être meilleurs lorsque la partie visible des spectres était enlevée.

L'analyse en graine à graine des modèles de deux sets d'échantillon (blé dur et blé tendre) de 96 graines en comparaison avec la méthode Bulk a montré que le Foss XDS ainsi que la caméra infrarouge obtiennent à quelques centièmes près, les mêmes résultats que la méthode Bulk. Nous obtenons 0,36 % de protéines d'écart pour le blé tendre avec la caméra infrarouge en comparant la méthode Bulk et 0,28 % pour le blé dur. Ceci signifie que la méthode SPIR en graine à graine s'avère être très précise. Elle se vérifie donc comme étant fonctionnelle pour le tri des semences, le tri des grains afin d'éviter les grains malades, etc.

L'ASD lors des mesures en graine à graine s'avère moins efficace : en effet, les écarts sont trop importants comparé à la moyenne de référence. Ceux-ci s'écartent jusqu'à 4,68 % de protéines.

La discrimination des lots de grains de blé dur et de blé tendre a montré des résultats concluants lors de l'utilisation des spectromètres Foss XDS et caméra infrarouge. Les graphiques obtenus permettent de distinguer clairement les deux espèces de blé. Contrairement à l'ASD qui ne permet pas la distinction, l'appareil ne permet donc pas l'exclusion avec certitude d'une présence de fraude.

Tous ces résultats ont vérifié la possibilité de détecter une qualité différente entre graines ou une fraude sur base de la teneur en protéines avec des performances analytiques variables suivant le type d'instrument choisi et le but recherché. Elle ouvre des perspectives pour la valorisation de lots de céréales hétérogènes par un tri des grains suivant une qualité différenciée.

# **Bibliographie**

- Abbas, O., Baeten, V., Fearn, T. & al. (2017). *Vibrational Spectroscopy and Chemometrics Training*. Formation présentée lors du 10<sup>ième</sup> anniversaire, CRA-W Gembloux, Belgique.
- Agbokannou, A., Kyoka Mukendi, N., Vinck, D. (2015). *Utilisation de camera line scan swir*. Centre wallon de Recherches agronomiques. Gembloux, Belgique.
- Agneessens, R., Baeten, V., Dardenne, P., & al. (s.d). *La spectrométrie proche infrarouge*. Gembloux, Belgique : ASBL REQUASUD.
- Anceau, C., Dardenne, P., Goffaux, M-J., & al. (s.d). *Qualité du Froment d'hiver en région wallonne*. Gembloux, Belgique : ASBL REQUASUD.
- Baeten, V., Fernandez, A., Suman, M., Vermeulen, P. (s.d). *Ensuring the Intergrity of the European food chain*. Centre wallon de Recherches agronomiques. Gembloux, Belgique.
- Bahrani, A. (2013). *Modification des propriétés physico-chimiques de l'amidon par procédés hydrothermiques : Contribution à l'étude des transferts couplés chaleur-masse*. [En ligne], <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00823904/file/2012Bahrani29921.pdf> (Page consultée le 19 mai 2017)
- Bertand, D., Dufour, E. (2000). *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Paris : Ed. Technique et documentation.
- Bertrand, D., Jaillais, B., Lancelot, E., Lullien-Pellerin, V. (2014). *Analyse en composantes principales d'images hyperspectrales proches infrarouge de grains de blé : étude de la dureté et de la vitrosité*, [En ligne]. <http://www.sfpt.fr/hyperspectral/wp-content/uploads/2014/06/Eloise-Lancelot-oral.pdf> (Page consultée le 29 mars 2017).
- Biochimie. (s.d.). *TP biochimie : Dosage de l'azote total : méthode de Kjeldahl*. Notes de cours non publiées. Gembloux, Belgique.
- Burns, D., Ciurczak, E. (2007). *Handbook of near-infrared analysis* (3ème ed.) CRC press : Boca Raton, Floride.
- Consumer Physics. (2017). *The Makers of SCiO*. (s.l.).
- CRA-W. (s.d.). *Trumac CN : schéma de fonctionnement*. Centre wallon de Recherches agronomiques. Gembloux, Belgique.
- Cuisine d'Aubery. (2017). *Les types de farine : quelle farine pour quel usage ?*, [En ligne]. <http://www.bing.com/images/search?view=detailV2&ccid=VJW4zaRu&id=77D1CF210EBBE409C34591F62C3157EAA0361ADA&q=bl%c3%a9+tendre+bl%c3%a9+dur&simid=607987398508020740&selectedIndex=10&ajaxhist=0> (Page consultée le 31 mars 2017).

Dardenne, P. (1990). *Contribution à l'utilisation de la spectrométrie dans le proche infrarouge pour l'étude de critères de qualité des céréales et des fourrages*. Thèse de doctorat. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques. Belgique.

El Hajji, A., Zaydoun, S. (s.d). *La spectroscopie infrarouge*, [En ligne].  
<http://www.fsr.ac.ma/cours/chimie/GUEDIRA/Master%20de%20Sciences%20AnalytiquesM9%20Spectr.%20UVvisible/PPT/Cours%20IR%20M9%20Sciences%20Analytiques.pdf> (Page consultée le 15 mars 2017).

El Hour, M. (2015). *Biochimie*. Notes de cours non éditées, Institut Supérieur Industriel, Huy, Belgique.

Evrard, N. (2017). *Protéines : à quoi servent-elles ?*, [En ligne].  
<http://www.onmeda.fr/dietetique/proteine.html> (Page consultée le 25 février 2017).

Famerée, L. (2012). *Détection de contaminants dans les céréales par imagerie hyperspectrale proche infrarouge*. Mémoire non publié, Institut Supérieur Industriel section agronomie, Huy, Belgique.

Feillet, P. (2000). *Le grain de blé, composition et utilisation*. Éd. INRA. Paris.

Fontaine, E. (2016). *Utilisation de l'ASD*. Centre wallon de Recherches agronomiques. Gembloux, Belgique.

Fontaine, E. (s.d). *Procédure pour utiliser le SCiO*. Centre wallon de Recherches agronomiques. Gembloux, Belgique.

Horton & al. (1994). *Principes de Biochimie*. Ed. DeBoeck Universités.

Les protéines. (s.d). *Les protéines et leurs fonctions*, [En ligne].  
<http://proteinenaturelle.com/fonctions-des-prot%C3%A9ines> (Page consultée le 25 février 2017).

Menez, P. (1987). La spectroscopie infrarouge. In *Notes Pedagogiques*, Analus n°10. Service Recherches analytiques du Centre de Recherches des Carrières, Rhône-Poulenc.

Passeport Santé. (2017). Le pouvoir des protéines, [en ligne].  
<http://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=pouvoir-proteines-plats-equilibres-en-proteines-> (Page consultée le 13 mars 2017).

Passion Céréales. (2017). *Les céréales dans le monde, en Europe et en France*, [En ligne].  
<https://www.passioncereales.fr/dossier-thematique/les-c%C3%A9r%C3%A9ales-dans-le-monde-en-europe-et-en-france> (Page consultée le 31 mars 2017).

Skenk, J., Westerhaus, M. (1993). *Monograph : analysis of agricultur and food products by near infrared reflectance spectroscopy*. Infrasoftware International, Port Matilda, U.S.A.

Skoog, D., Holler, J.F, West, D. (2012). *Chimie analytique* (7<sup>e</sup> éd.). Paris : De Boeck Université.

Spectroscopy and chemometrics training. (2014). *NIR/MIR Microscopy and NIR Imaging*. Centre wallon de Recherches agronomiques. Gembloux, Belgique.

Spectroscopy. (2013). *NIR Spectroscopy*. Herisau, Switzerland.

Tap, J. (s.d). *Les amidons*, [En ligne].

[http://julientap.free.fr/travail\\_fichiers/les\\_amidons.pdf](http://julientap.free.fr/travail_fichiers/les_amidons.pdf) (Page consultée le 22 mars 2017).

Van Belleghem, R. (2003). *Application de la spectrométrie dans le proche infrarouge pour le tri de textiles*. Mémoire non publié. Vrije Universiteit Brussel. Belgique.

Wikipédia. (2017). *Grain de blé*, [En ligne].

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Grain\\_de\\_bl%C3%A9](https://fr.wikipedia.org/wiki/Grain_de_bl%C3%A9) (Page consultée le 8 mars 2017).

Williams, P. (2014). *The RPD statistics: a tutorial note*. NIR News.

# **Annexes**

## Graphiques en validation des différents spectromètres et divers gammes de longueurs d'onde

**Spectromètre :** Foss XDS

**Méthode :** Validation

**Face du grain analysée :** Côté sillon (Face A)

**Longueur d'onde :** 400 – 2300 nm

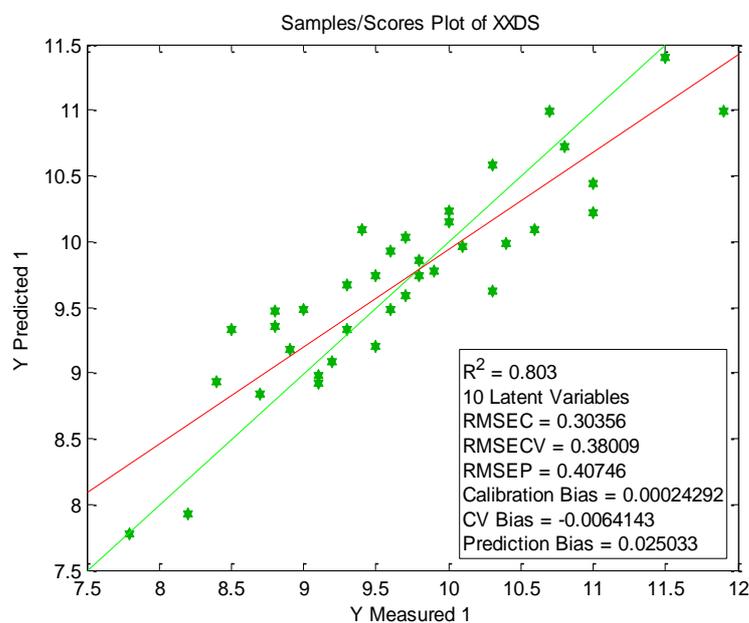


Figure 78 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS

**Spectromètre :** Foss XDS

**Méthode :** Validation

**Face du grain analysée :** Côté non sillon (Face B)

**Longueur d'onde :** 400 – 2300 nm

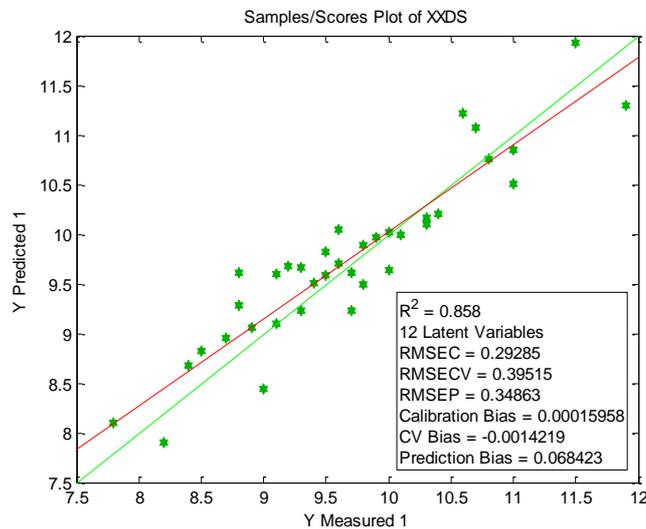


Figure 79 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS

**Spectromètre :** Foss XDS

**Méthode :** Validation

**Face du grain analysée :** Moyenne des 2 côtés du grain

**Longueur d'onde :** 1118 – 2300 nm

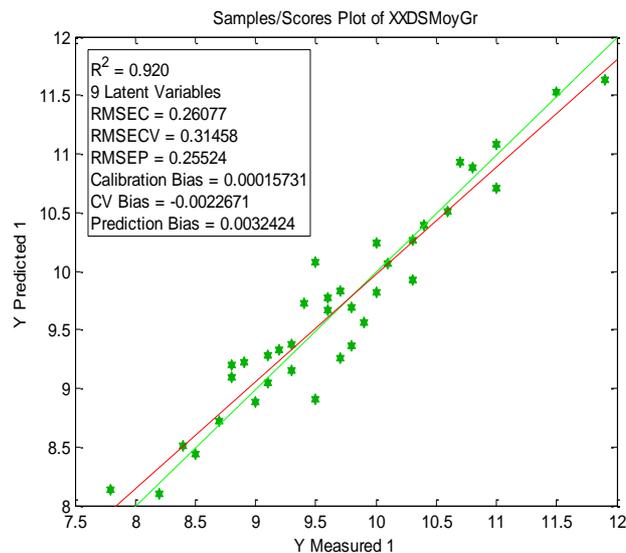


Figure 80 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS

**Spectromètre : Foss XDS**

**Méthode : Validation**

**Face du grain analysée : Moyenne des 2 côtés du grain**

**Longueur d'onde : 740 – 1070 nm**

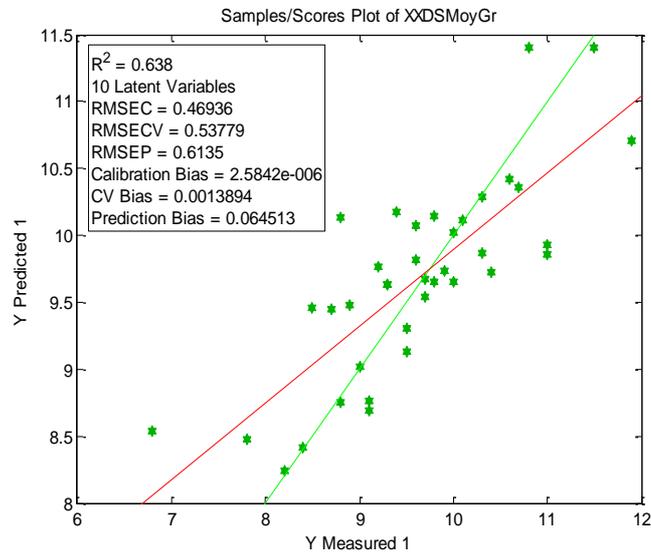


Figure 81 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le Foss XDS

**Spectromètre : Caméra infrarouge**

**Méthode : Validation**

**Face du grain analysée : Moyenne des 2 côtés du grain**

**Longueur d'onde : 1118 – 2999 nm**

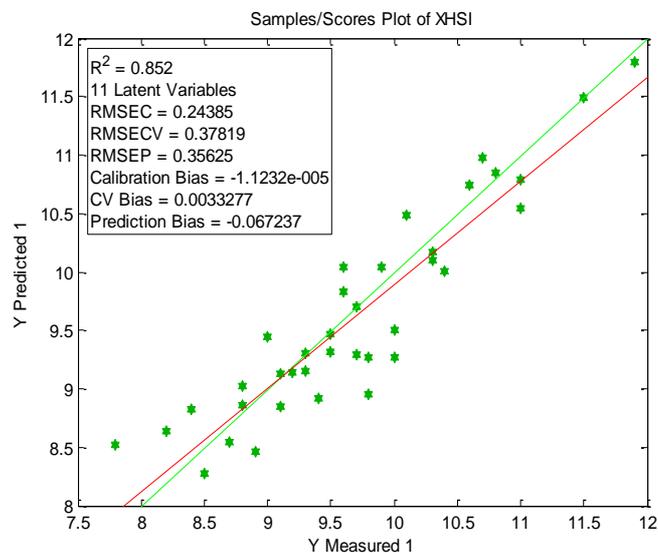


Figure 82 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur la caméra infrarouge

**Spectromètre : ASD**

**Méthode : Validation**

**Face du grain analysée : Moyenne des 2 côtés du grain**

**Longueur d'onde : 400 – 2300 nm**

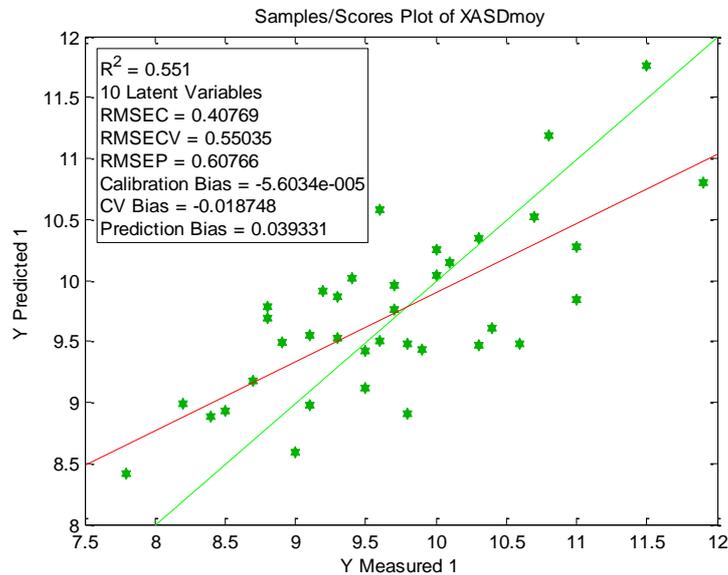


Figure 83 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur l'ASD

**Spectromètre : ASD**

**Méthode : Validation**

**Face du grain analysée : Moyenne des 2 côtés du grain**

**Longueur d'onde : 1118 – 2300 nm**

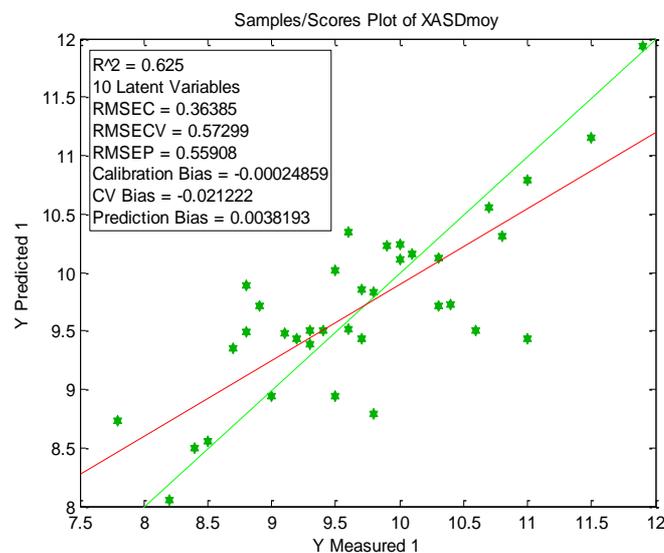


Figure 84 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur l'ASD

**Spectromètre : ASD**

**Méthode : Validation**

**Face du grain analysée : Moyenne des 2 côtés du grain**

**Longueur d'onde : 740 – 1070 nm**

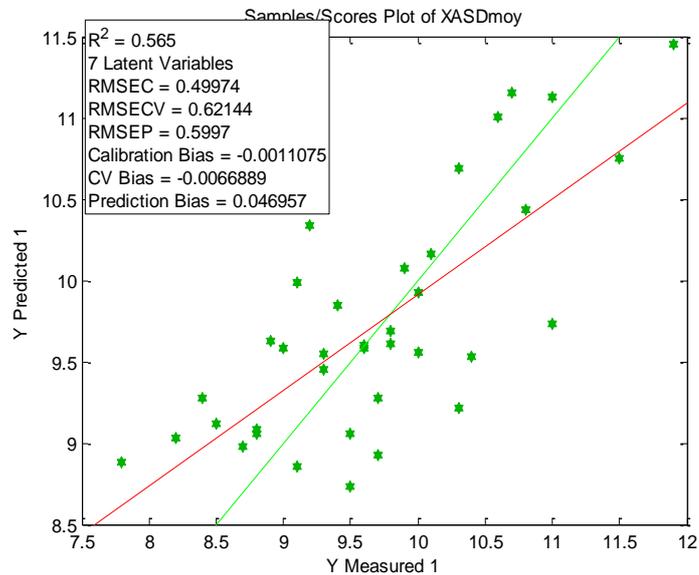


Figure 85 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur l'ASD

**Spectromètre : SCIO**

**Méthode : Validation**

**Face du grain analysée : Moyenne des 2 côtés du grain**

**Longueur d'onde : 740 – 1070 nm**

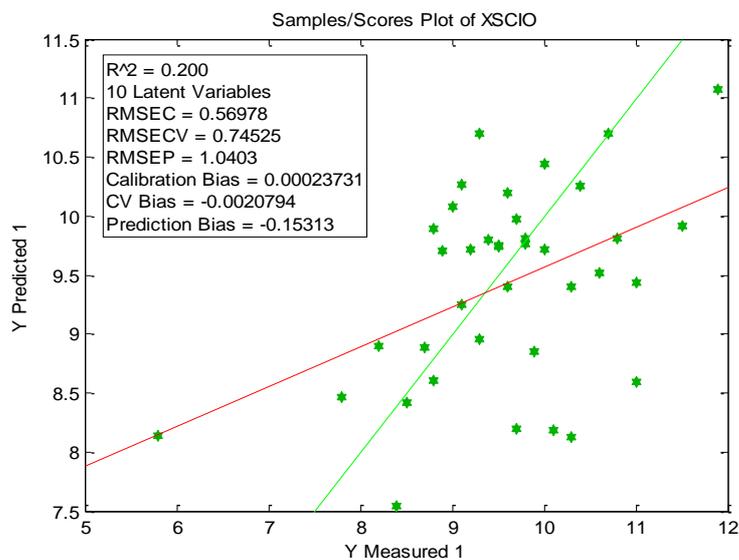


Figure 86 : Modèle PLS en validation de l'échantillon DQ150402-07 sur le SCIO