

Prédiction de la teneur en paroi végétale du Soja (*Glycine max.*) par spectrométrie infra rouge / J. Chamaa ; sous la direction du Dr M. Abi Antoun. — Extrait de : *Annales de recherche scientifique*. — N° 4 (2003), pp. 77-86.

Bibliographie. Figures. Tableaux.

I. Soja. II. Plantes — Paroi cellulaire.

Abi-Antoun, M.

PER L1049 / FA132414P

PRÉDICTION DE LA TENEUR EN PAROI VÉGÉTALE DU SOJA (GLYCINE max.) PAR SPECTROMÉTRIE INFRA ROUGE

J. CHAMAA

*Université Saint-Esprit de Kaslik,
Faculté des Sciences Agronomiques.*

*Sous la direction du Dr M. ABIANTOUN
Institut des Recherches Agronomiques Libanais, Fanar.*

RÉSUMÉ

Le soja est caractérisé essentiellement par une forte teneur en protéines végétales - assurant le bon fonctionnement de l'organisme - équivalente à celle des protéines animales. D'où la substitution de ces dernières à celles d'origine végétale qui se trouvent dans les parois cellulaires des végétaux. Pour parvenir à ce but, nous travaillons sur la détermination de la teneur en parois dans les tourteaux de soja en adoptant une méthode d'analyse biologique rapide (approximativement 10 mn.), fiable et non destructive appelée «la Spectrométrie dans la Proche Infra Rouge» - SPIR- en comparaison avec la méthode de référence (méthode dite Paroi de Carré). Cette dernière est une méthode de laboratoire dont la durée est plus longue (48 h), cette détermination permet une meilleure maîtrise de la composition de la ration alimentaire.

Les résultats obtenus ont subi des traitements statistiques et mathématiques de manière à obtenir une calibration, ensuite une validation rendant possible l'utilisation de l'Infra Rouge. Les analyses réalisées ont permis l'établissement d'une régression de 0,84, ce qui veut dire que les résultats obtenus par Infra Rouge peuvent varier plus ou moins de 16 % par rapport à la valeur réelle de l'échantillon. Les paramètres de régression n'ont pas indiqué une différence

significative entre les résultats. Ce qui nous amène à penser que l'utilisation de l'Infra Rouge pour la prédiction de la teneur en parois des tourteaux de soja semble être envisageable.

Mots clé: *Spectrométrie dans le proche Infrarouge (SPIR), Méthode de Référence (méthode Paroi de Carré), Paroi végétale, Soja, Calibration, Validation, Corrélation, Régression*

ABSTRACT

Soybeans are characterized by a high protein content in their grain. This protein has excellent food and feed value, almost equivalent to meat protein. The determination of digestible protein in soybean grain is based on enzymatic digestion. This process is time taking and costly. Near infra-red spectroscopy (NIRS) protein analysis, a rapid way of determination (10 min), was compared to the laboratory reference method (48 hrs). For this purpose, fifty-five soybean samples were used. Quick results allow for immediate preparation of feed rations more suitable in animal feeding. The collected data were subjected to mathematical and statistical analyses to validate a relative calibration between the two methods of analyses. Regression analysis resulted in a coefficient of determination of 0.84 indicating a variability of 16% in relation to reference method values. Differences between NIRS and the biological method were not statistically significant. These results are in favor of NIRS as a quick and inexpensive method of grain analysis.

Key Words: *Near Infra red Spectroscopy (NIRS), Soybean, Digestibility, Calibration, Regression.*

INTRODUCTION

Vu le fait que les farines de viande ont été interdites dans toute l'alimentation animale par décret 2000/7666/CE à cause de la maladie de la vache folle, le soja devient donc un remplaçant très important. Le soja (*Glycine max* ou *Glycine hispida*) est considéré comme une bonne source de protéines végétales équivalente aux protéines animales adaptées à l'alimentation animale (INRA, 1991).

Le soja contient une teneur plus ou moins élevée de paroi végétale insoluble dans l'eau, difficilement ou non dégradable par les enzymes digestives. La paroi végétale -étant un constituant des aliments - influe sur la digestibilité d'où la nécessité de pouvoir doser les constituants des parois afin d'en amoindrir les effets néfastes. Le dosage de ces constituants pariétaux (cellulose, hémicellulose, substances pectiques, lignine et protéines) permettra de prévoir la digestibilité de l'aliment et de le classer en lots.

Des analyses de contrôle de la qualité des produits (teneur en protéines, en paroi de carré...) dans des temps relativement brefs, et d'une façon efficace sont indispensables. Une des méthodes utilisées pour prédire la qualité des parois végétales insolubles dans l'eau est la méthode de référence d'après la norme XP V18-111, janvier 1998. Cette méthode est longue, et d'une durée de 48h. Une méthode alternative, plus rapide (résultats obtenus en une minute), fiable, moins coûteuse et non destructive, peut être appliquée à de nombreux produits. Le seul inconvénient est qu'elle exige une mise au point de régression entre les données spectrales et les données chimiques grâce à des méthodes statistiques. Selon Garcia, (1996), les traitements appliqués ont montré que cette technique peut être la solution.

L'objectif de cette étude est de remplacer la méthode de référence par celle de la SPIR et d'établir une équivalence ou une calibration entre les deux méthodes.

Ce travail propose la mise au point d'une calibration qui consiste à établir un modèle statistique liant les données spectrales d'un produit au paramètre «parois végétales» mesuré et par la suite de valider ce modèle.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La méthode de référence comme méthode de détermination de la teneur en parois a été utilisée afin de déterminer la teneur en parois. Elle consiste à reproduire les phénomènes se produisant au cours de la digestion d'un poulet. La méthode met en preuve deux attaques enzymatiques ayant pour but de rendre hydrosolubles les amidons d'une part et les protéines d'autre part. La masse insoluble restante correspond à la quantité de paroi végétale (ITCF, 1996). La deuxième méthode d'analyse utilisée est celle de la SPIR ou Spectrométrie Proche Infra Rouge (Garcia, 1996).

Un modèle de prédiction (équation de prédiction ou de calibration) est appliqué au spectre afin de déterminer la concentration d'un composé. Cette équation est obtenue après la phase de calibration correspondant à la mise en corrélation de l'ensemble de données spectrales d'un grand nombre d'échantillons dits de calibration et des valeurs de références respectives du composé que l'on cherche à calibrer. Par le biais de différentes méthodes statistiques (régression en composantes principales, régression multiple, PLS), une équation de prédiction est obtenue du type:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + \dots + b_nX_n$$

$Y =$ valeur prédite, $b_0 =$ Biais, $X_1 =$ longueur d'ondes.

Il suffit donc d'appliquer cette équation à tout nouveau spectre (échantillon à déterminer) pour obtenir la valeur prédite de l'échantillon. Les échantillons de calibration serviront à obtenir l'équation de prédiction tandis que les échantillons de validation serviront à la tester en comparant les résultats obtenus aux valeurs de référence. L'équation de prédiction sera appliquée au spectre brut pour obtenir les valeurs prédites sur cet échantillon.

Dans cette étude, nous avons utilisé des graines nettoyées et broyées (0,5 mm, 14000 tours/ mn). Selon Williams (1987) le broyage peut être la source de nombreux «artefacts». Dans ce but et afin de déterminer s'il existait un effet broyeur ou pas, deux broyages ont été effectués, l'un à l'institut technique des céréales et des fourrages (ITCF) et l'autre à la société Nutreco.

Pour l'établissement de la calibration, nous avons procédé à l'analyse de 55 échantillons de soja par la méthode de référence et par la SPIR. La gamme obtenue est comprise dans l'intervalle [169.2 - 251.85]. A partir de ces échantillons, une équation de calibration est établie. En deuxième lieu, 14 échantillons de validation sont choisis en fonction de leur teneur en parois afin de compléter la gamme. Ces échantillons serviront à valider l'équation et sont ensuite intégrés à la population initiale. Ensuite, les échantillons, sont analysés, et des traitements mathématiques et statistiques appropriés leur sont appliqués. Les échantillons inclus dans la calibration doivent représenter toute la variante existante dans une situation d'analyse réelle qui doivent être en nombre suffisant afin de pouvoir utiliser une partie pour la recherche du modèle de calibration et l'autre pour sa validation.

Avant d'exploiter statistiquement les spectres, ils peuvent être soumis à des traitements mathématiques. Selon Martens et Naes (1987) dans le traitement des spectres, les transformations utilisées sont la correction SNV (Standard Normal

Variant) qui effectue une normalisation des spectres; la DSNV (Detrend SNV) qui réalise à la fois une SNV et un calcul d'écart qui permet de supprimer la courbure linéaire et quadratique de chaque spectre due à une élévation de l'absorption (Barnes *et al.*, 1989).

Dans les traitements statistiques, différentes méthodes de régression sont appliquées (la régression linéaire multiple – STEP UP -; la régression orthogonalisée – PCR -; et la régression des moindres carrés partiels – PLS ou MPLS -) (Shenk et Westerhaus, 1991).

Lors de la validation d'un modèle - l'équation de calibration étant élaborée pour la prédiction – nous nous sommes limités à l'examen de l'écart type de calibration (SEC) appelé également erreur standard de calibration.

Pour la valeur prédictive du modèle, certains échantillons sont utilisés pour la calibration (n_c) et d'autres pour la validation (n_v). Si l'effectif total «n» ne permet pas de constituer un groupe de validation suffisant en nombre, un sous – échantillonnage pourra être utilisé pour la validation (Martens et Naes, 1987). On calcule un écart type d'erreur globale SECV (Standard Error of Cross Validation).

Le terme de calibration désigne la conversion de données d'absorption NIR (Near Infra Red) en données LRM (Laboratory Reference Method) . La qualité de cette conversion est estimée en fonction de SEC (Standard Error of Calibration) et SEP (Standard Error of Prédiction). La SEC et r^2 de chaque équation de calibration sont des critères dans la sélection d'équation.

Une fois les analyses des échantillons et les traitements des spectres faits ainsi que les traitements statistiques appliqués, les résultats obtenus permettront de décider si la calibration faite est robuste ou pas.

L'enregistrement des spectres et la réalisation des analyses statistiques sont effectués par le logiciel Winisi, FOSS NIR Systems / Tecator, Infrasoft international, LLC. Version 1.02.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus permettent d'établir une calibration entre les valeurs de laboratoire et celles obtenues par le spectromètre. Cette calibration facilite l'analyse des aliments et par suite le contrôle à la réception, le traitement et les diverses transformations.

**- Influence du broyage*

Les échantillons du soja broyés à l'ITCF ont une teneur en paroi sèche variant de 177,9 à 223,9 ainsi qu'une erreur variant entre 7,4 et 8,4.

Les échantillons du soja broyés à Nutreco ont une teneur en paroi sèche qui varie de 180 à 215,4 avec une erreur qui varie entre 7,6 et 8,4.

Le tableau 1 nous montre que le broyage n'a aucune influence sur la teneur en paroi du soja puisque la différence entre les valeurs de parois est inférieure à l'erreur.

Tableau 1 : Effet du broyage sur la teneur de la paroi végétale du soja (exprimé en g/ kg de MS) à l'ITCF et à Nutreco.

Sigle de l'échantillon	Paroi (g. / kg de matière sèche)	
	<i>ITCF</i>	<i>Nutreco</i>
302056	181,1	180,9
519060	219,9	214,75
Crête 4	183,95	179,2
ATL. ST 8	222,5	211,55

**- Teneur en paroi des grains de soja*

La figure 1 montre les teneurs en paroi sèche des échantillons de soja de calibration. Ces teneurs sont réparties sur la gamme et non centrées autour de la moyenne qui est de l'ordre 206,57.

La figure 2 indique les teneurs en paroi sèche des échantillons de soja de validation. La moyenne est de l'ordre de 193,23. Ces échantillons sont bien répartis sur la gamme. L'étude statistique révèle l'existence d'une variabilité concernant la teneur en parois au sein des échantillons. Pour avoir une bonne représentativité de cette gamme, l'écart de 89,4 points entre la valeur maximale et la valeur minimale de la paroi sèche posent le problème du choix des échantillons.

Cependant, lors du choix des échantillons à analyser, il faut essayer de varier le plus possible les placements des lieux de récolte afin d'avoir une bonne répartition de la valeur de parois sur toute la gamme. L'erreur limite de répétitivité moyenne pour toutes les valeurs est de 8 (d'après la norme du laboratoire de Nutreco). Ce qui signifie que 2 sojas distants de 8 points ne sont pas différenciables. Dans notre cas, les échantillons sont bien répartis sur la gamme.

La figure 3 montre l'existence d'une relation établie entre les teneurs en paroi des échantillons de calibration analysés par la méthode NIR et celles obtenues par la méthode de référence, ceci a permis l'établissement de l'équation de calibration; l'erreur de calibration ou SEC est égale à 6,22. Le coefficient de corrélation RSQ est égal à 0,897. Donc il existe une relation entre les valeurs de laboratoire et les valeurs calculées par infrarouge.

La figure 4 montre l'existence d'une relation établie entre les teneurs en paroi des échantillons de validation analysés par la méthode NIR et celles obtenues par la méthode de référence. Ceci a permis l'établissement de l'équation de validation; le coefficient de corrélation RSQ est égal à 0,739. Avec ce coefficient, la différence entre les points prédits et les valeurs de référence est plus ou moins faible.

L'erreur standard de calibration (SEC) et le coefficient de corrélation (r ou RSQ) de l'équation de calibration sont des critères utilisés dans la sélection d'équation. Au fur et à mesure de l'équation de longueurs d'onde à l'équation en monde de régression, SEC diminue. Avec un coefficient de corrélation RSQ de 0,844, la différence entre les points prédits et les valeurs de référence est plus ou moins faible. Ce modèle peut donc prédire la teneur en paroi. L'erreur de calibration SEC est de 6,559 ce qui correspond à l'erreur sur la mesure. La deuxième étape consiste à évaluer l'erreur standard de prédiction (SEP) de l'équation sur la base d'un ensemble d'échantillons non inclus dans la calibration. L'erreur de prédiction (SEP) exprime les performances de l'équation pour des échantillons indépendants.

Elle est de 5,119. Cette valeur est satisfaisante d'autant plus que le biais n'est quasiment nul et que la pente entre les valeurs de référence et les valeurs prédites est de 0,942.

Le RPD (Ratio of Performance to Deviation) correspond au rapport entre l'écart – type de la distribution du «Standard Deviation» (SD) du paramètre et de l'écart –type des erreurs de prédiction (RMSEP = Root Mean Square Error of Prediction) de la distribution.

$$RPD = SD/RMSEP = 20,238/7,988 = 2,53.$$

Une calibration est intéressante quand le RPD est supérieur à 3. Un RPD de 2,53 montre que la calibration n'est pas très discriminante. Elle pourrait être améliorée en ajoutant de nouveaux échantillons bien répartis sur la gamme des valeurs de référence dans la population de calibration qui est assez restreinte. En effet, réaliser des teneurs en parois par la méthode de référence est une manipulation relativement longue. Ainsi, le nombre d'échantillons mis à disposition pour élaborer la calibration est à peine suffisant. Il est possible de conclure que la méthode d'infrarouge pour prédire la teneur en paroi des tourteaux de soja semble être envisageable. Il est important de rendre la calibration plus robuste en complétant sa population.

La prédiction de la teneur en paroi permet à l'agriculteur d'utiliser des tourteaux de soja dont la teneur en paroi est relativement faible. Ceci empêchera la diminution de la quantité ingérée par les animaux et donc la perte économique.

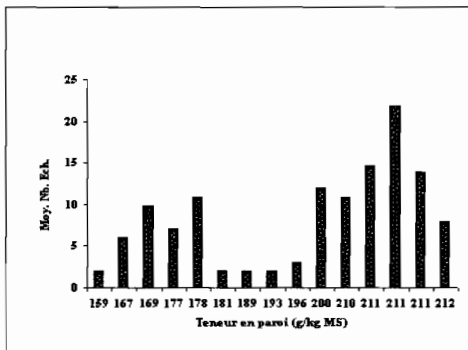


Figure 1: Teneur en paroi (g/kg de matière sèche) des échantillons de calibration de soja.

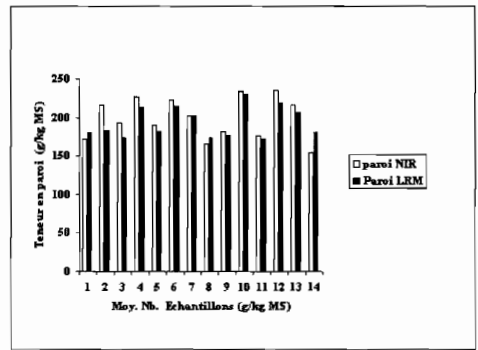


Figure 2: Teneur en paroi (g/kg de matière sèche) de différents échantillons de validation par NIR et LRM.

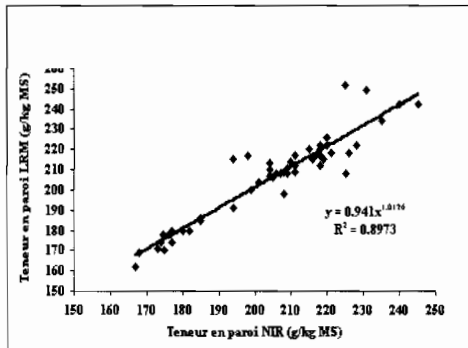


Figure 3: Relation entre la teneur en paroi (g/kg de matière sèche) obtenue par InfraRouge (NIR) et par la Méthode de Référence (LRM).

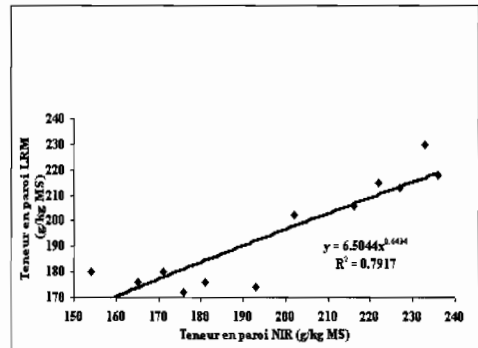


Figure 4: Relation entre la teneur en paroi (g/kg de matière sèche) obtenue par InfraRouge (NIR) et par la Méthode de Référence (LRM) des échantillons de validation.

CONCLUSION

Tout ce travail visait à maîtriser le contrôle de la teneur en paroi du soja. Une des difficultés concernait les outils d'analyse. La spectrométrie dans le proche infrarouge était parfaitement adaptée à la situation sans oublier de respecter les conditions de laboratoire dans lesquelles le «NIR- System» doit être utilisé. Il fallait aussi avoir l'échantillonnage nécessaire: la méthode de contrôle utilisée pour la gestion de la collecte (par un tri qualitatif) sera analysée par le SPIR. Cela affectera la qualité de la production vendue. Chaque entreprise achètera le soja dont la teneur en paroi lui est convenable. Du coup, la transformation sera facilitée et les pertes seront réduites.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARNES, R. J., DHANOA, M. S. et LISTER, S. J., 1998. Standard normal variate transformation and dettending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*, 43:772-777.
- GARCIA, F., 1996. Calibrations azote en spectrométrie proche Infra Rouge de grains et de feuilles de blé tendre. Université des sciences techniques du Languedoc, ITCF, Montpellier, Tome 1.,pp 100-110
- INRA, 1991. Alimentation des animaux monogastriques: porc, lapin, volailles, 2^{ème} édition. Paris, pp 10.
- ITCF, 1996. Procédure de dosage de la teneur en parois végétales insolubles dans l'eau brochure. Plan assurance qualité. Institut Technique des Céréaliers de France, pp 25.
- JARRIGE, P., 1980. Actualités scientifiques et agronomiques, Alimentation des ruminants, 2^{ème} édition, INRA (ed), Paris.pp 80 –95.
- MARTENS, H. et NAES, T., 1987. Multivariate calibration by data compression, in near- infrared technology in the agriculture and food industries. Norris, K.H. and Williams, P.C.,(eds) American Association of Cereal Chemists Inc., Minnesota, pp: 57-87.
- SHENK, J. S. et WESTERHAUS, M. O., 1991. Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sciences*, 31: 469- 471.
- WILLIAMS, P.C., 1987. Application of near-infrared reflectance spectroscopic analysis in near- infrared technology in the agriculture and food industries. By Norris, K.H. and Williams, P.C., (ed) American Association of Cereal Chemists Inc., Minnesota, pp 143-167.