



DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 1

Ecole Doctorale : Sciences Pour l'Ingénieur (SPI)

Discipline : Instrumentation et Analyses Avancées

Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimiométrie.

Y. ROGGO

Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman
(LASIR - CNRS UMR 8516)

Université des Sciences et Technologies de Lille
59655 Villeneuve d'Ascq cedex



Plan

- 1. Méthodes d'analyses**
 - a. Méthode chimique de référence**
 - b. Mesure spectrale**
- 2. Faisabilité du dosage du saccharose par SPIR dans un laboratoire de référence**
- 3. Gestion d'un réseau de spectromètres**
- 4. Automatisation de la mesure SPIR**

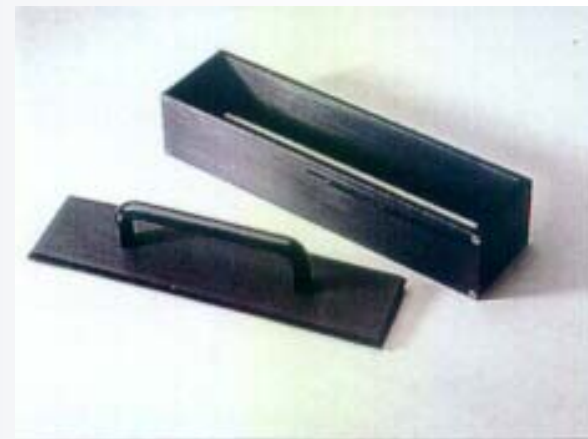
1.a Méthode chimique de référence

- L'échantillon de betterave est
 - ❖ Lavé,
 - ❖ Râpé avec un instrument normalisé,
 - ❖ Homogénéisé pendant 9 s.
- Ajout de 165 mL d'une solution acétate de plomb à 40 g d'échantillon.
- Agitation pendant 15 minutes.
- Filtration.
- Mesure polarimétrique sur un jus limpide.

D'après le Bulletin Officiel de la République Française (24 avril 1964).

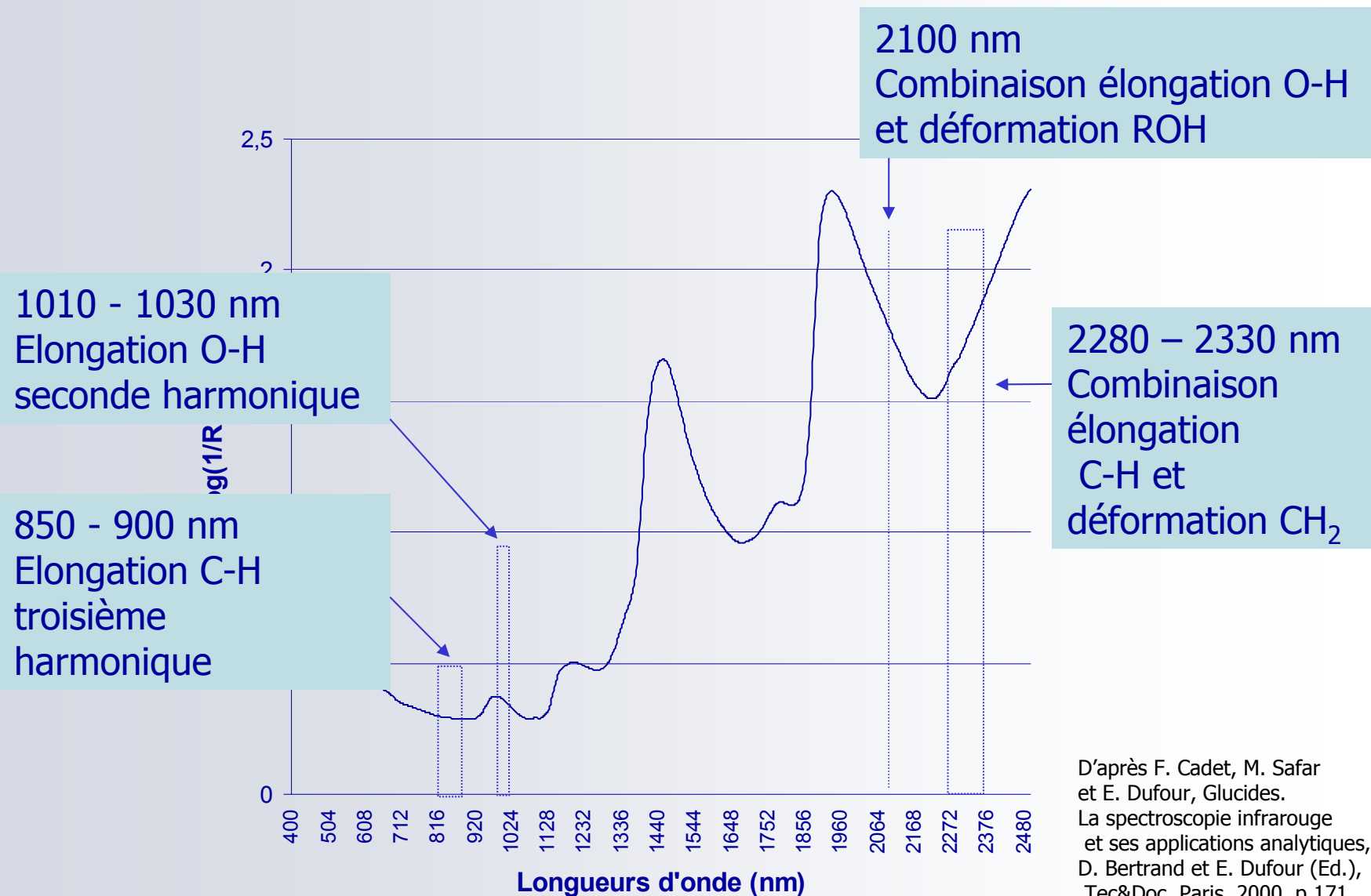
1.b Mesure spectrale

- FOSS NIRSystems modèle 6500.
- Mesure en réflectance.
- Gamme visible proche infrarouge
400 - 2498 nm.
- 25 spectres moyennés de
l'échantillon en 1 minute.



1.b Mesure spectrale

Spectre proche infrarouge de la betterave



D'après F. Cadet, M. Safar et E. Dufour, Glucides. La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, D. Bertrand et E. Dufour (Ed.), Tec&Doc, Paris, 2000, p 171.

1.b Mesure spectrale

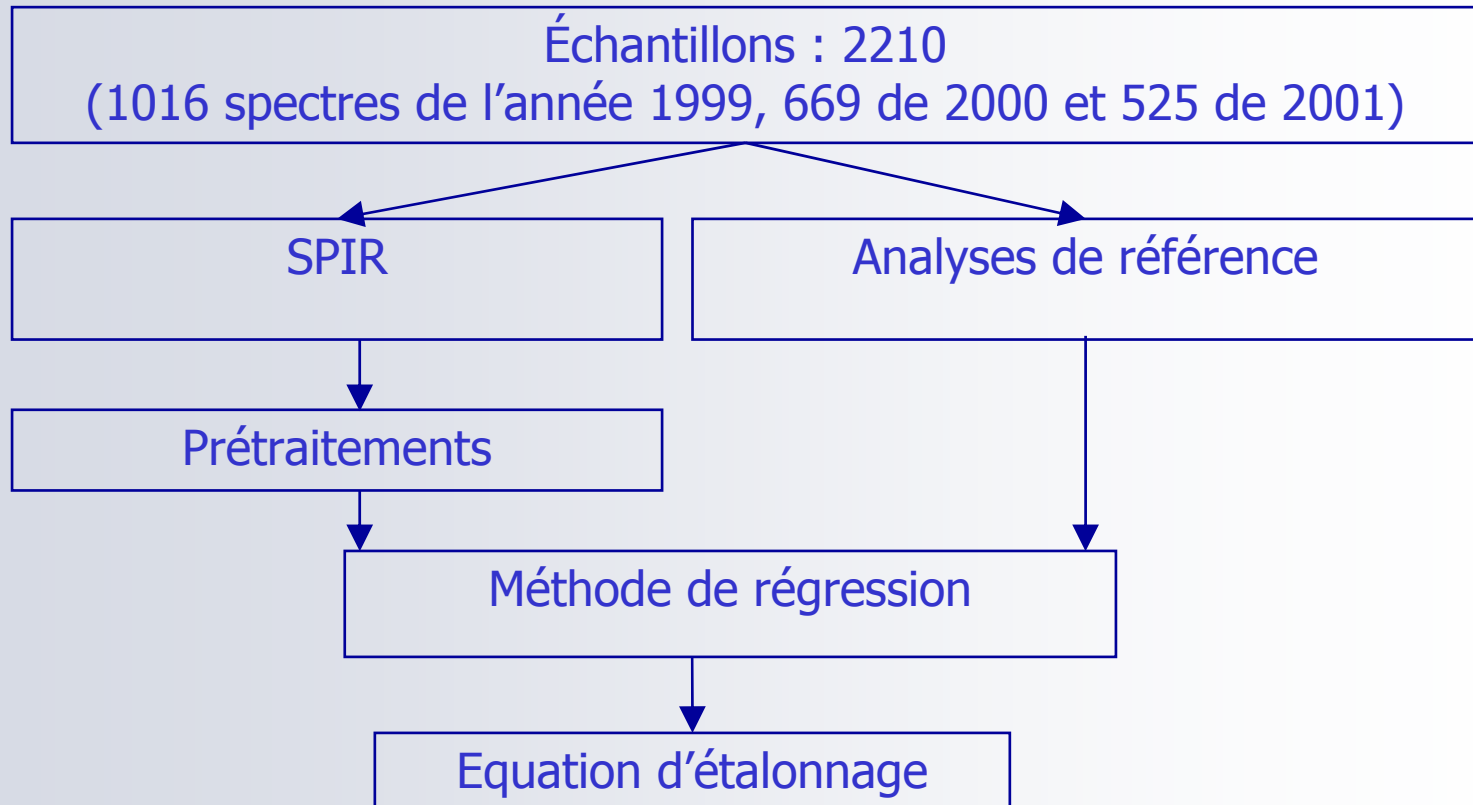
- Base de données représentative
 - ❖ Environ 4500 spectres
 - ❖ 4 récoltes de 1999 à 2002
 - ❖ Degrés de maturité différents
 - ❖ 8 régions de culture
 - ❖ 10 variétés identifiées

Plan

1. Méthodes d'analyse
- 2. Faisabilité du dosage du saccharose par SPIR dans un laboratoire de référence**
 - a. Principe de l'analyse quantitative**
 - b. Résultats de la validation**
 - c. Répétabilité de la méthode**
 - d. Stabilité des modèles**
 - e. Bilan**
3. Gestion d'un réseau de spectromètres
4. Automatisation de la mesure SPIR

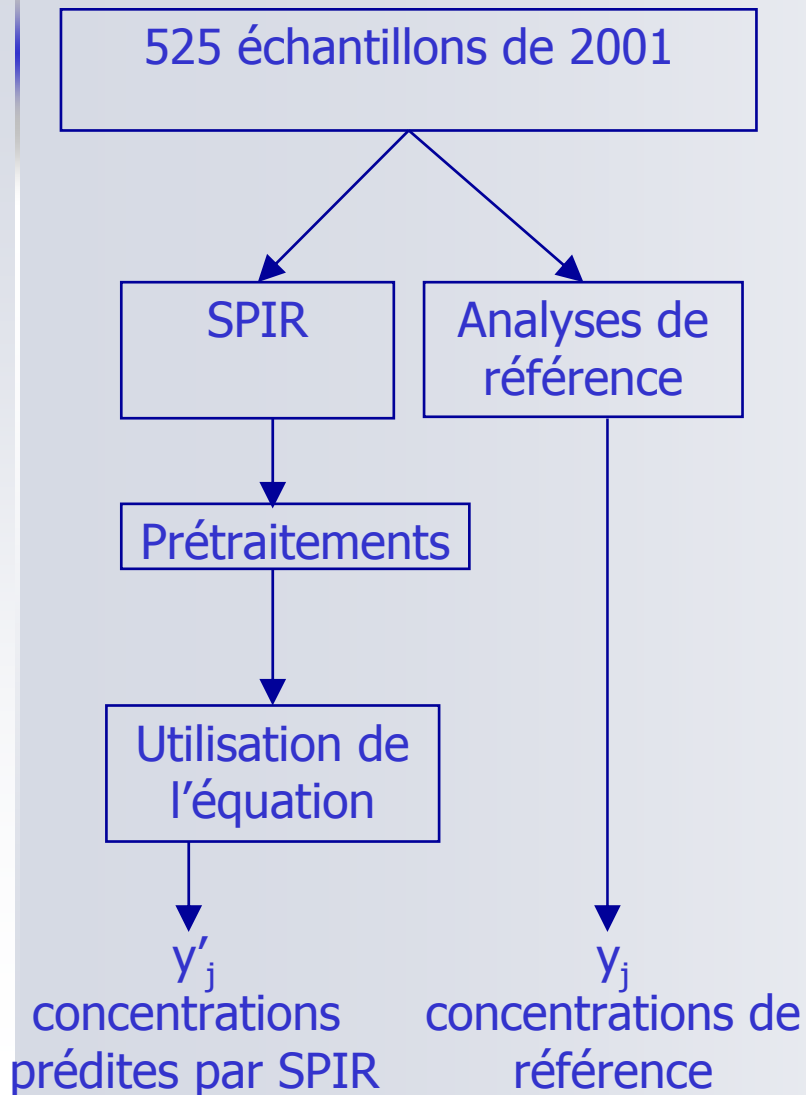
2.a Principes de l'analyse quantitative

Première étape: l'étalonnage



2.a Principes de l'analyse quantitative

Deuxième étape: la validation



■ Erreur Standard de Prédiction

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (y_j - y'_j)^2}{n}}$$

■ SEP corrigé du biais

$$SEP(C) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (y_j - y'_j - \text{biais})^2}{n-1}}$$

■ Biais

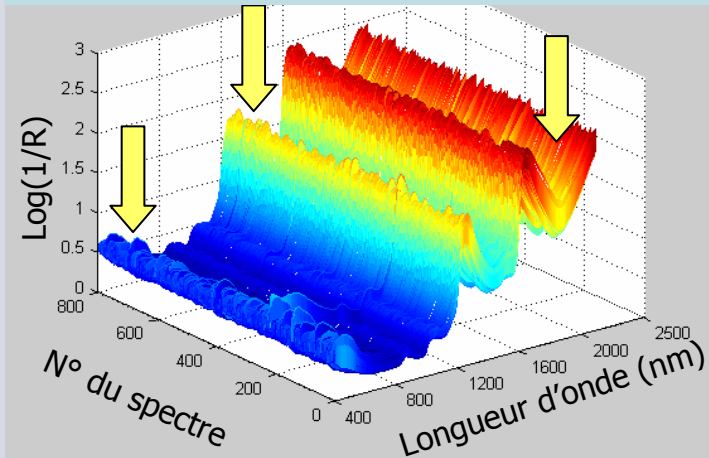
$$\frac{\sum_{j=1}^n (y_j - y'_j)}{n}$$

Avec n: nombre d'échantillons dans le lot de validation.

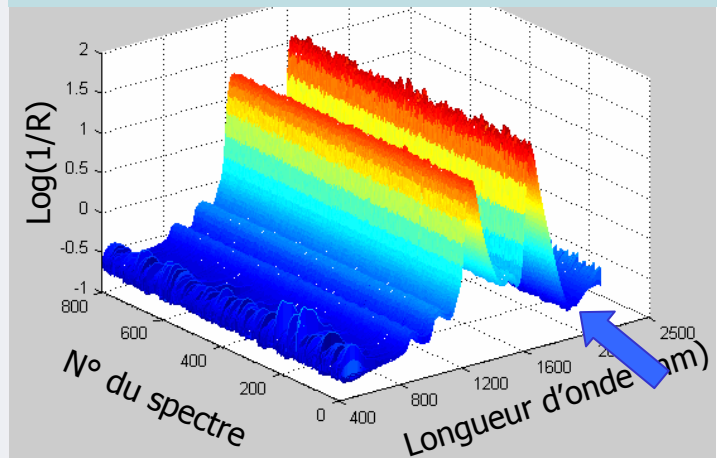
2.a Principes de l'analyse quantitative

Prétraitements spectraux

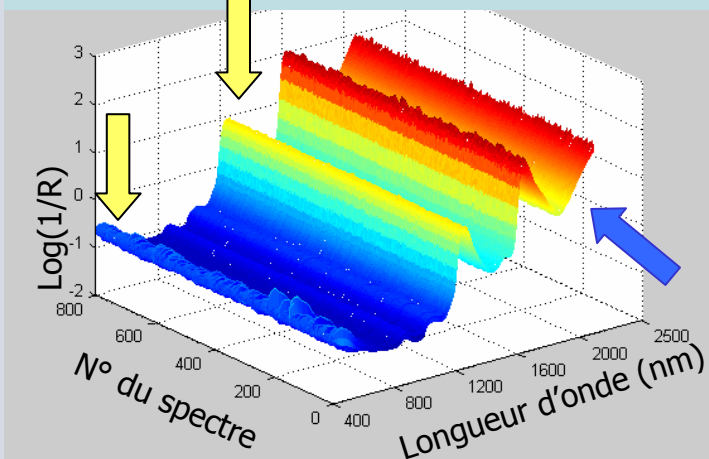
Spectres proche infrarouge



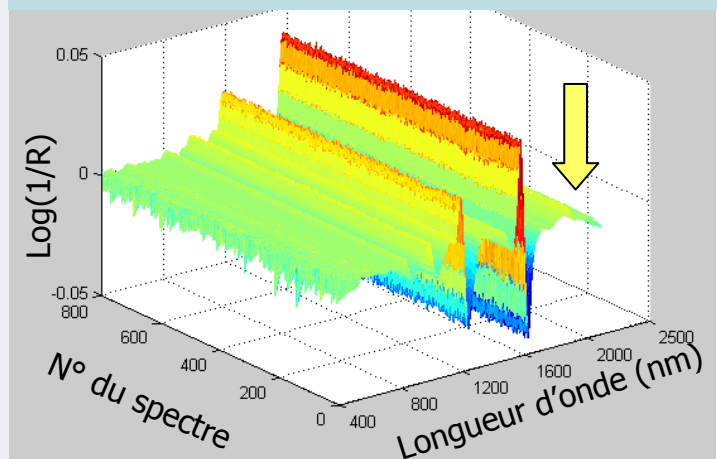
SNV + detrending (SNVD)



Standard Normal Variate (SNV)



SNVD + Dérivée d'ordre 2

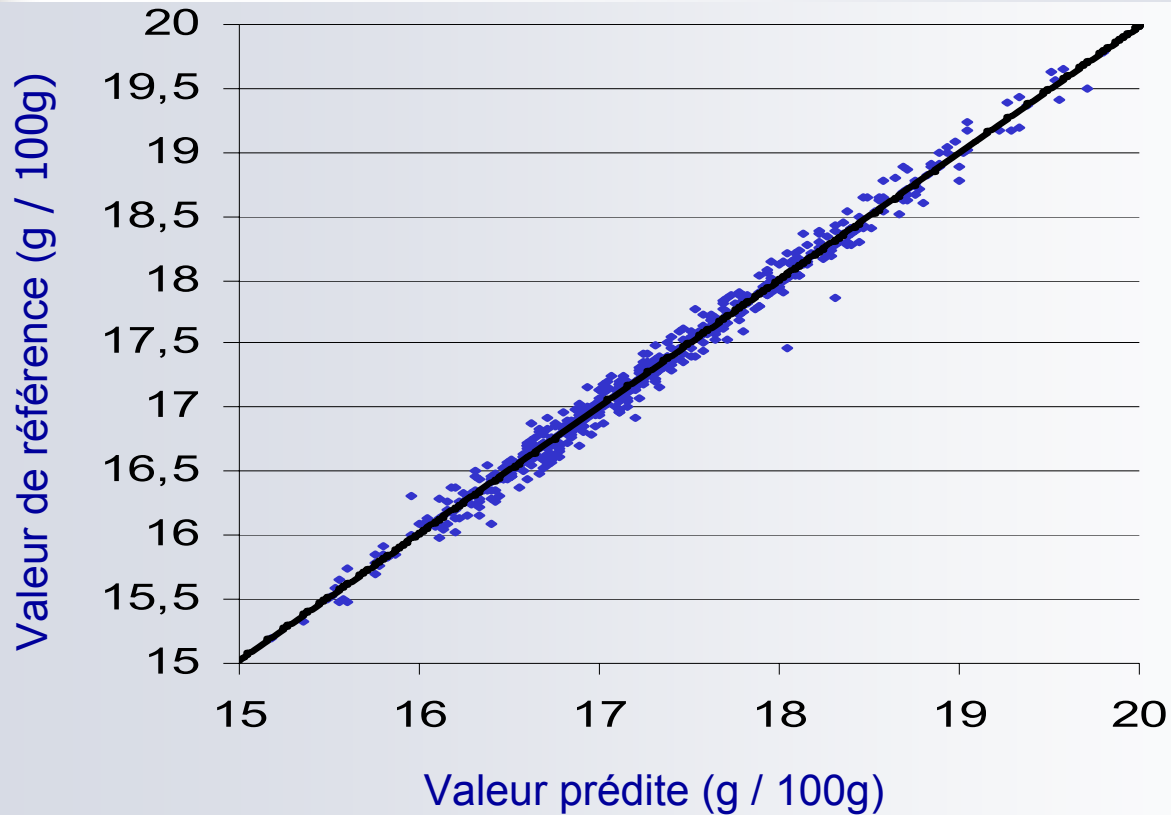


2.a Principes de l'analyse quantitative

Optimisation du modèle

- Domaine spectral : [1100 ; 2500 nm]
- Prétraitements : SNVD + Dérivée seconde
- Régression : MPLS
 - Régression multivariée PLS
 - Modification de Shenk

2.b Résultats de la validation sur 525 échantillons indépendants du lot d'étalonnage



SEP = 0,10 g de saccharose pour 100 g de betterave

Biais = 0,01 g / 100 g

SEP(C) = 0,10 g / 100 g

$R^2 = 0,99$

2.c Répétabilité de la méthode

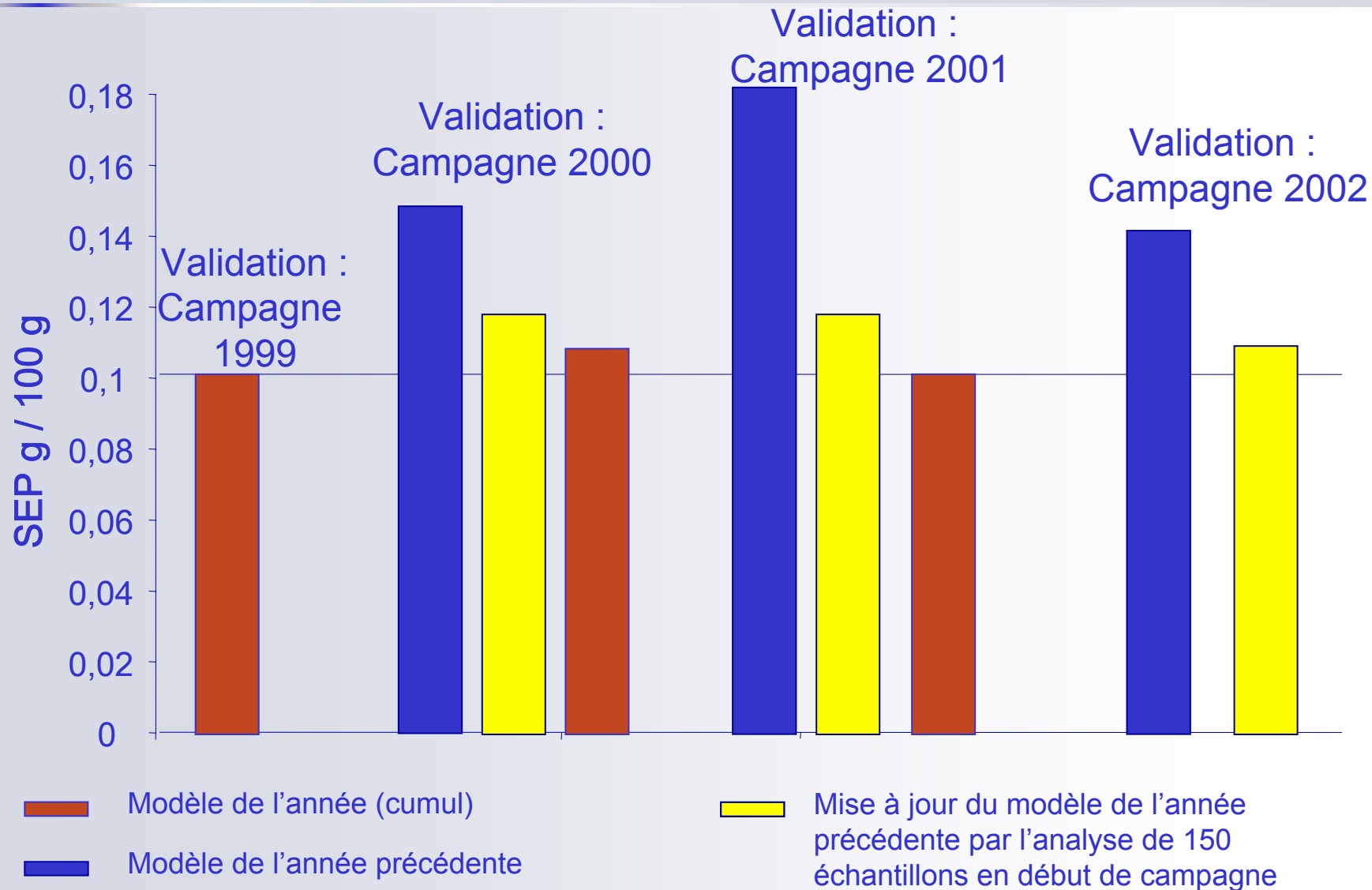
(30 échantillons analysés trois fois)

- Ecart type de répétabilité de la polarimétrie (r_{pol}) = 0,06 g / 100 g
- Ecart type de répétabilité de la SPIR (r_{SPIR}) = 0,07 g / 100 g

$$SEP^2 = r_{SPIR}^2 + r_{pol}^2 + (\text{erreur du modèle})^2 (*)$$

(*) D'après B. Osborne, T. Fearn et P. Hindle, Pratical NIR spectroscopy with application in food and beverage analysis. Prentice Hall, Harlow, 1993, p 227.

2.d Stabilité des modèles



2.e Bilan

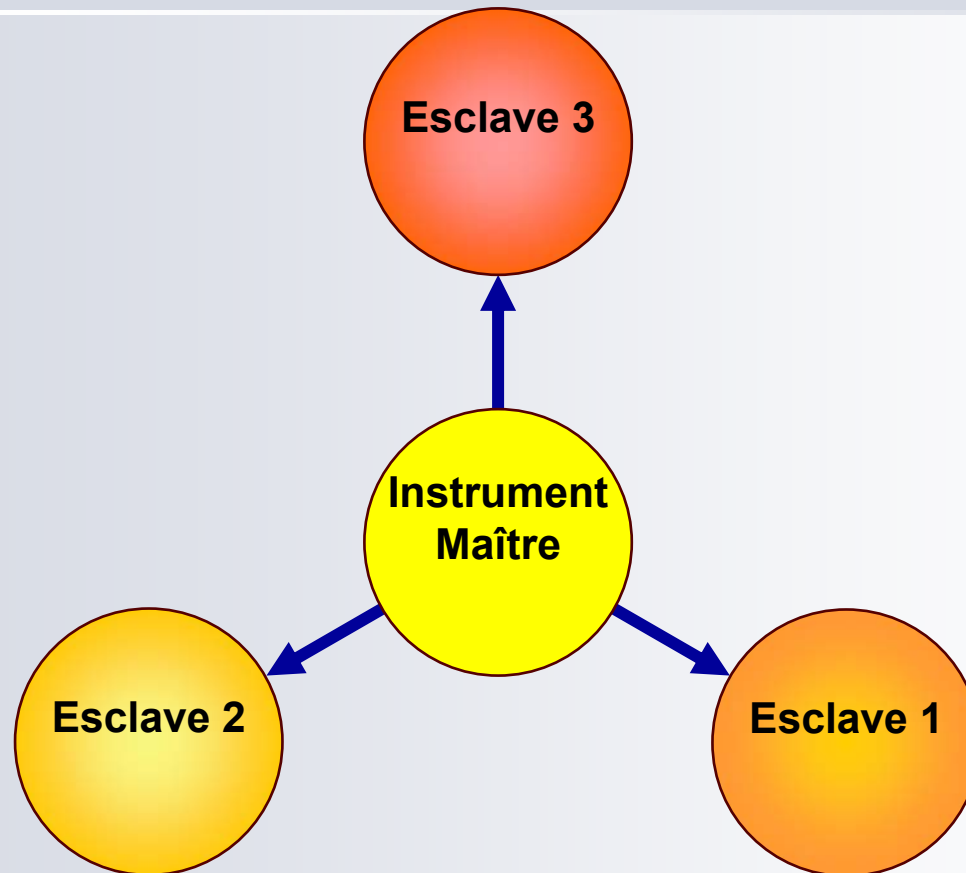
- Erreur standard de prédiction faible 0,10 g / 100 g sur une gamme de concentrations comprises entre 14 et 21 g de saccharose pour 100 g de betterave.
- Répétabilité de la SPIR comparable à celle de la méthode chimique de référence.
- Stabilité des résultats sur quatre années d'expérimentation.

Faisabilité du dosage du saccharose par SPIR sur un instrument de laboratoire.

Plan

1. Méthodes d'analyses
2. Faisabilité du dosage du saccharose par SPIR dans un laboratoire de référence
- 3. Gestion d'un réseau de spectromètres**
 - a. Problématique**
 - b. Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage**
 - c. Bilan**
4. Automatisation de la mesure SPIR

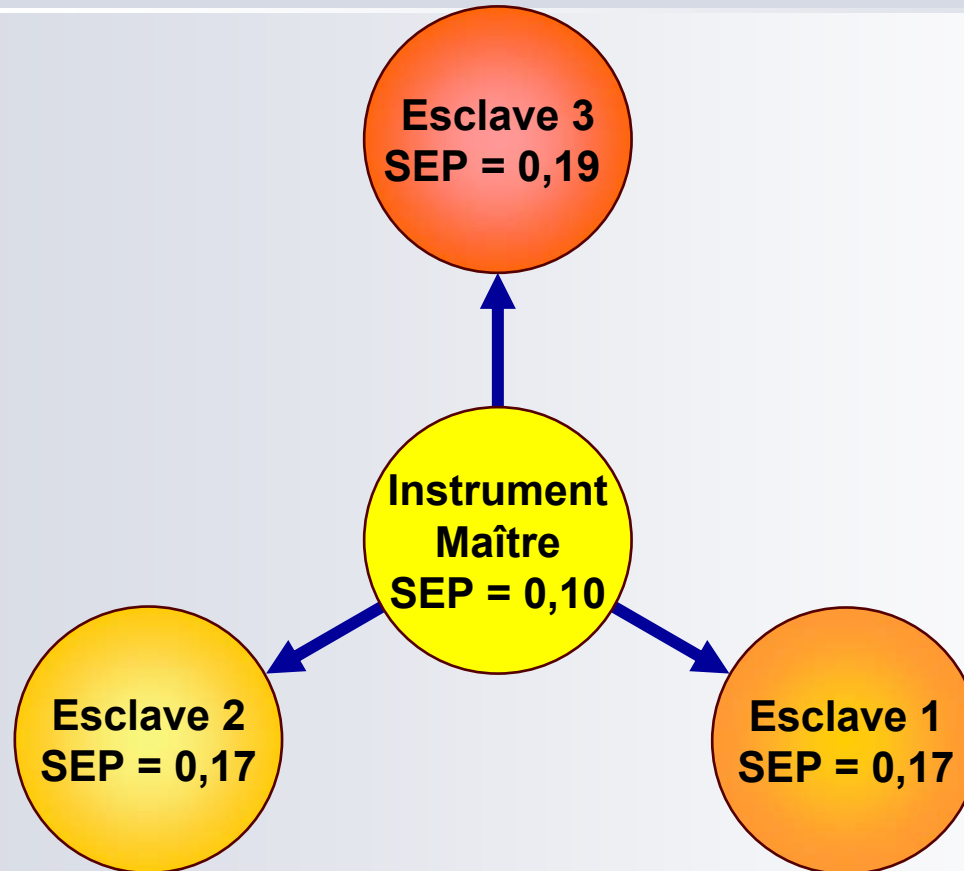
3.a Problématique



Utilisation du modèle sur plusieurs instruments

3.a Problématique

Unité g / 100 g



Dégradation du SEP sur les instruments esclaves

3.a Problématique

Utilisation du modèle de l'instrument maître sur les trois esclaves

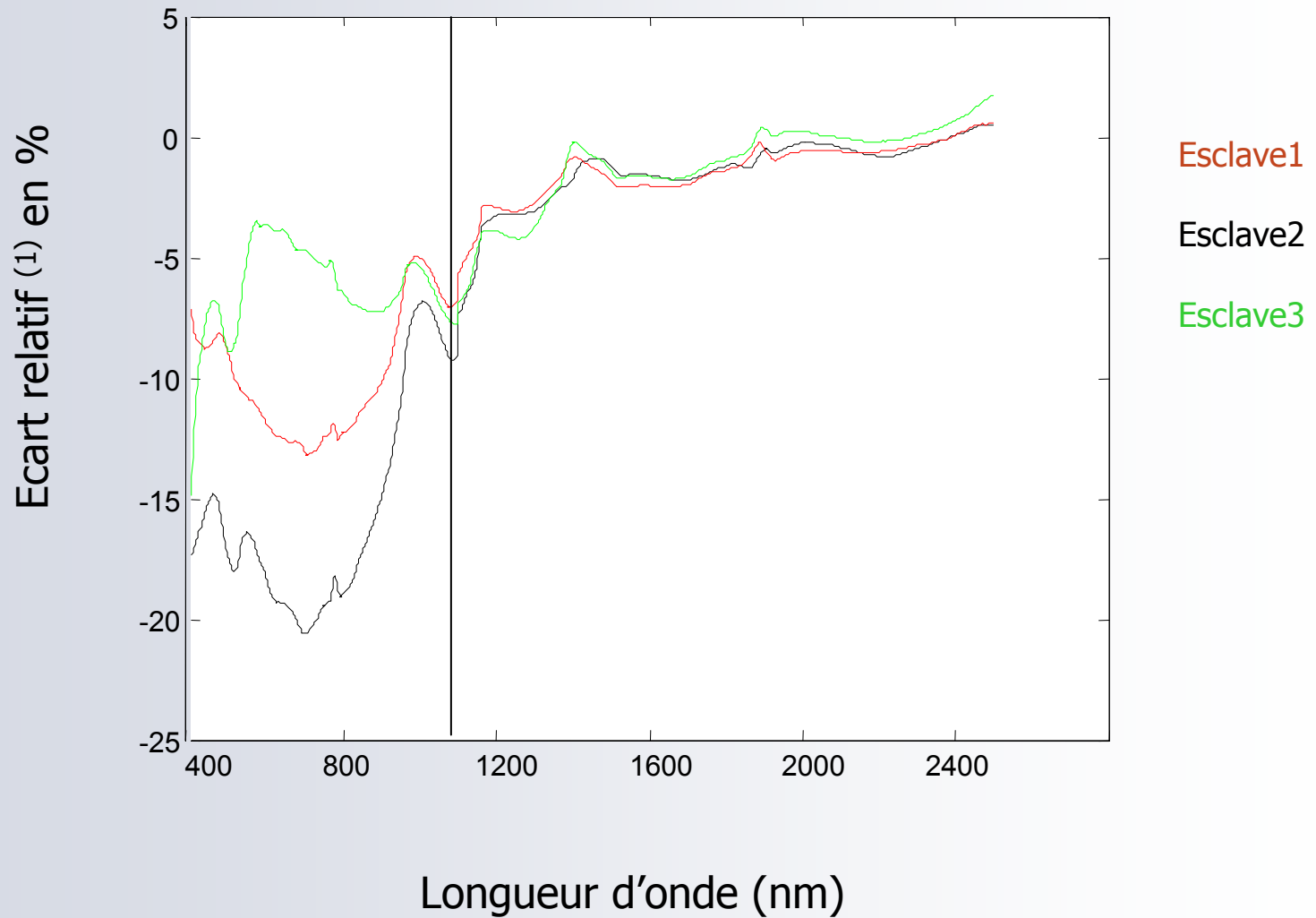
	Instrument Esclave 1	Instrument Esclave 2	Instrument Esclave 3
SEP	0,17	0,17	0,19
Biais	0,12	-0,14	-0,10
SEP(C)	0,09	0,12	0,10

Unité g / 100 g

Erreur systématique entre les instruments

3.a Problématique

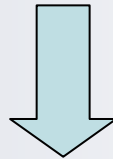
Comparaison des spectres moyens des instruments



(1) $(\log(1/R) \text{ maître} - \log(1/R) \text{ esclave}) / \log(1/R) \text{ maître} * 100$

3.a Problématique

Différences instrumentales.



Dégradation de la prédiction sur les instruments esclaves.

Développement d'une équation d'étalonnage impossible sur chaque spectromètre.

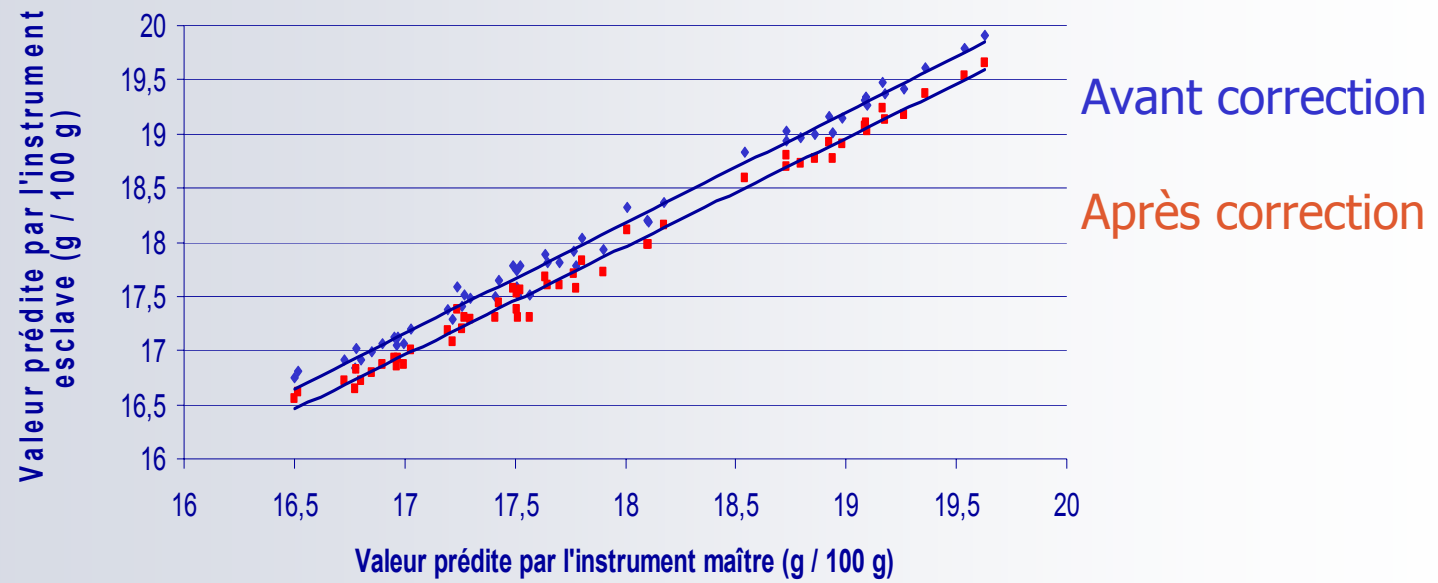
3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Première approche : Correction de biais

■ Méthode

1- Calcul le biais sur un lot d'étalonnage (instrument esclave N°2)

2- Utilisation de la correction sur des échantillons indépendants



3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Première approche : Correction de biais

■ Résultats

(unité g / 100 g)	Instrument Esclave 1	Instrument Esclave 2	Instrument Esclave 3
SEP avant correction	0,17	0,17	0,19
SEP après correction	0,12	0,10	0,14

■ Conclusion

Avantage :

Simple à mettre en œuvre.

Inconvénients :

Nécessité d'analyser des échantillons de betterave sur les instruments esclaves.

3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

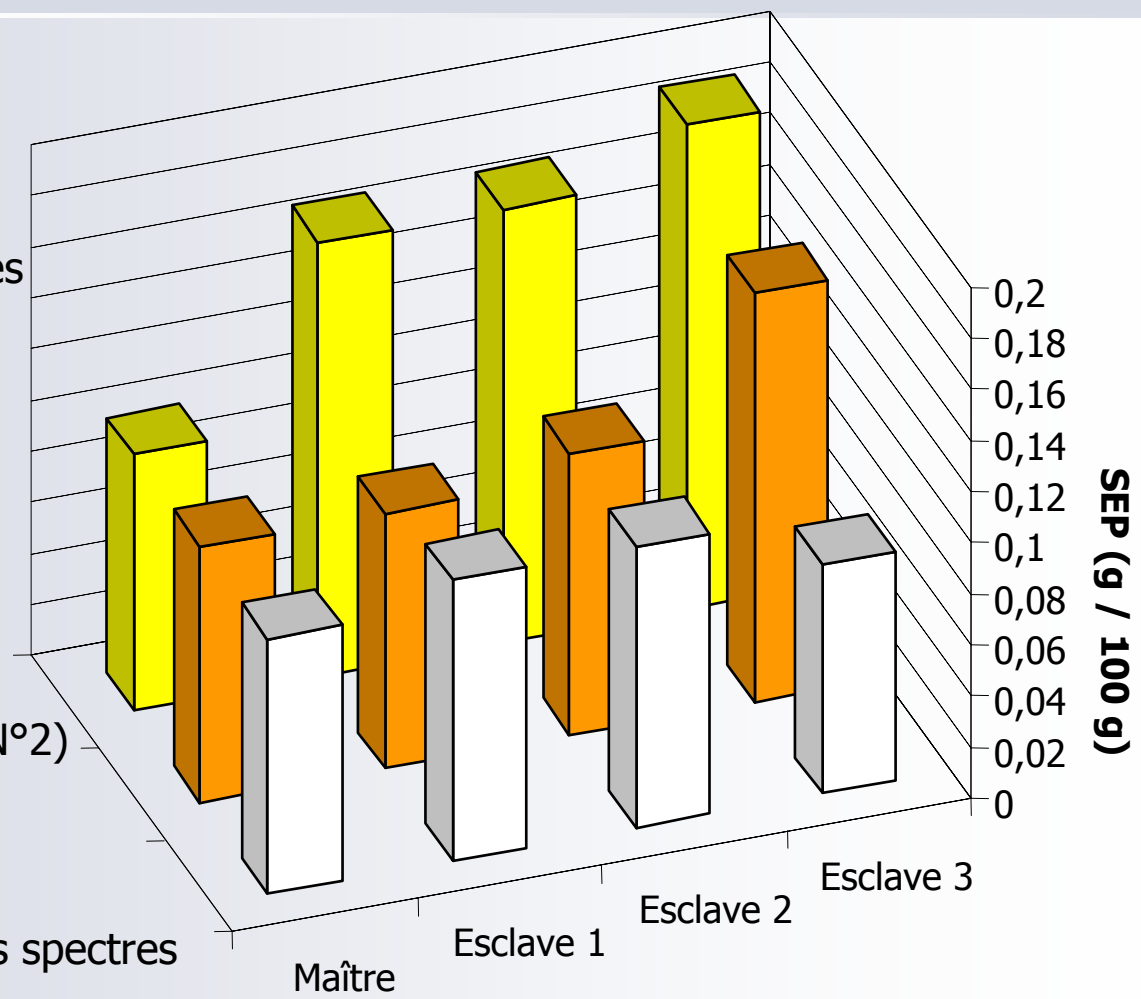
Deuxième approche : Modèle robuste aux changements d'instruments

Soutenance de thèse - 17 juillet 2003

Modèle développé avec des spectres de l'instrument maître

Modèle développé avec des spectres de l'instrument maître et deux esclaves (N°1 et N°2)

Modèle développé avec des spectres de l'instrument maître et des trois esclaves



Validation sur des échantillons indépendants

Y. ROGGO

3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage ²⁵

Deuxième approche : Modèle robuste aux changements d'instruments

■ **Avantage**

- ❖ Rapide : pas d'analyse pour réaliser le transfert.

■ **Inconvénients**

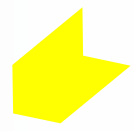
- ❖ Il faut des analyses avec tous les instruments du réseau.

3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

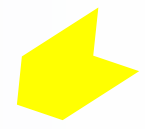
Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

- Principes

Analyse d'échantillons sur les instruments maître et esclaves



Mise en place d'une équation de transfert d'étalonnage



Validation du transfert :
analyse d'échantillons indépendants sur l'appareil esclave

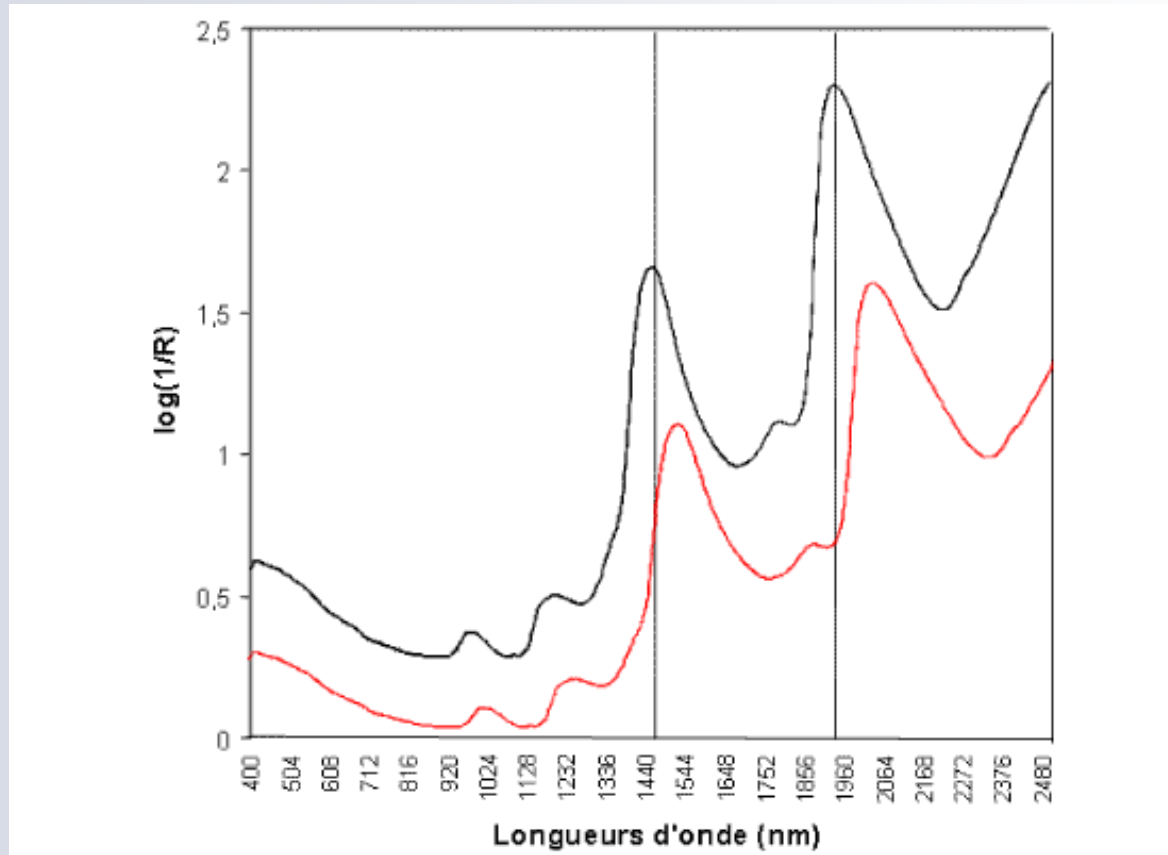
3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

■ Algorithmes

1 – Algorithme breveté par Shenk et Westerhaus

Ajustement des longueurs d'onde



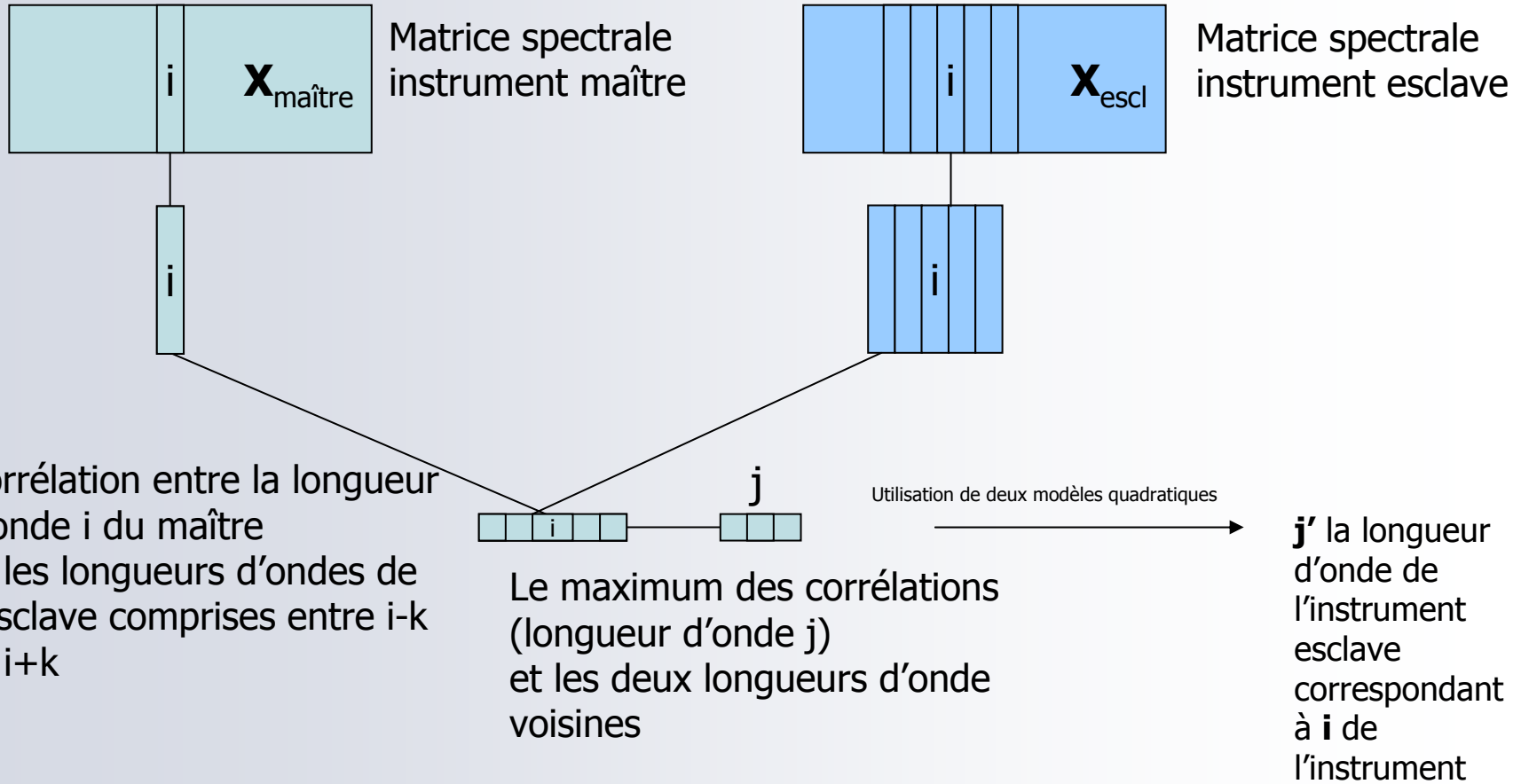
3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

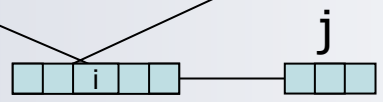
■ Algorithmes

1 – Algorithme breveté par Shenk et Westerhaus

Ajustement des longueurs d'onde



Corrélation entre la longueur d'onde i du maître et les longueurs d'ondes de l'esclave comprises entre $i-k$ et $i+k$



Le maximum des corrélations (longueur d'onde j) et les deux longueurs d'onde voisines

Utilisation de deux modèles quadratiques

j' la longueur d'onde de l'instrument esclave correspondant à i de l'instrument maître

D'après E. Bouveresse, D. Massart et P. Dardenne, Anal. Chim. Acta, 297 (1994) 405.

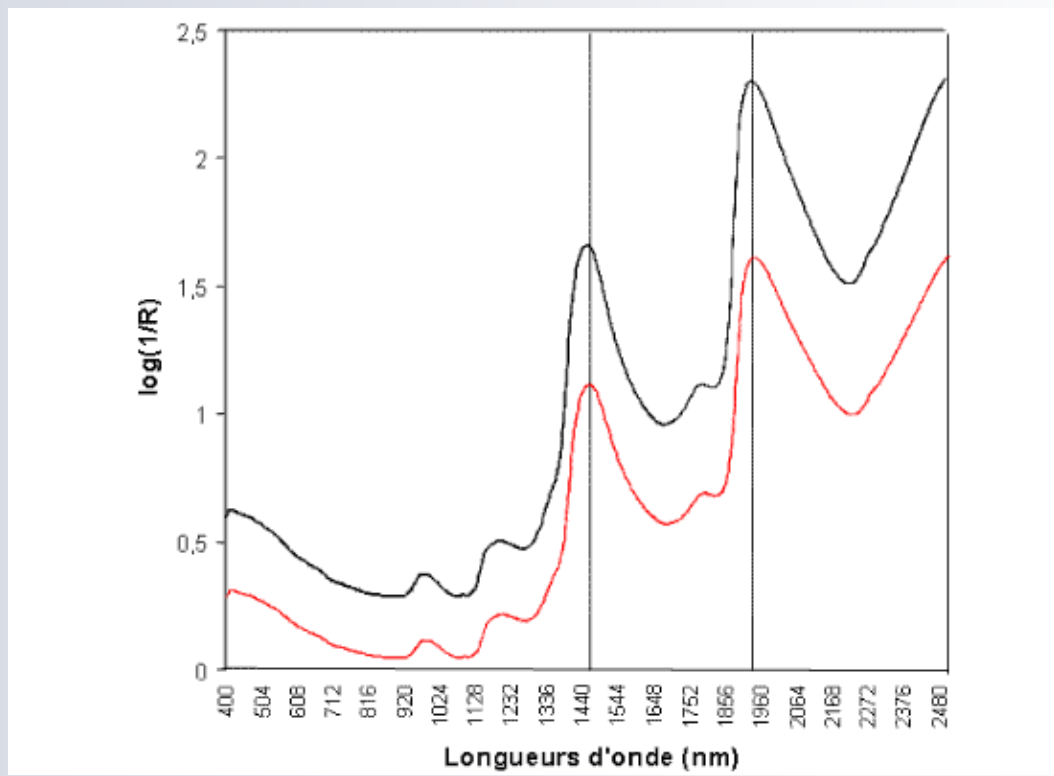
3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

- Algorithmes

1 – Algorithme breveté par Shenk et Westerhaus

Ajustement des absorbances



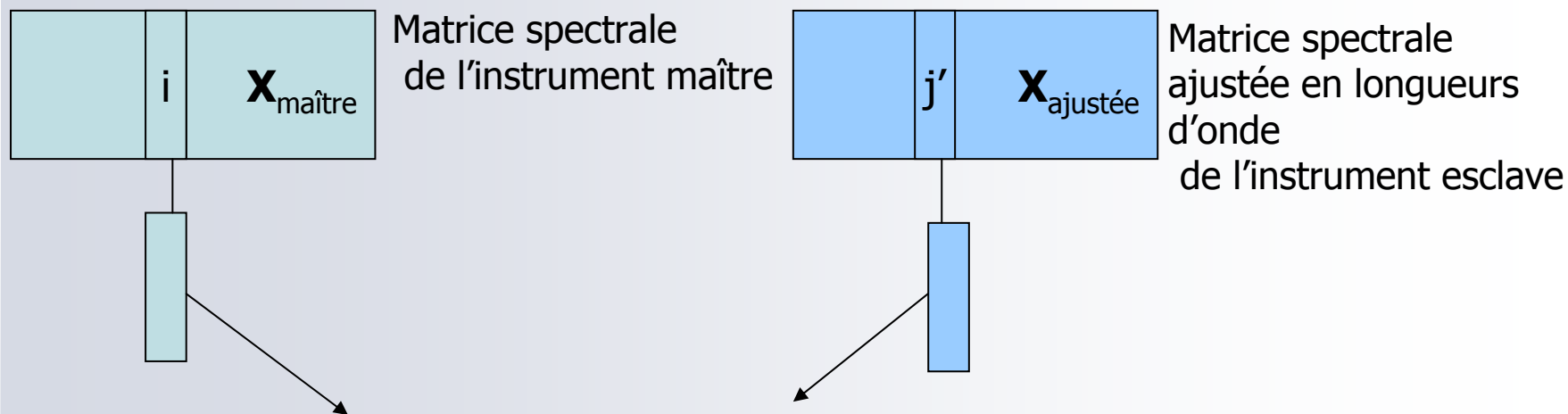
3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

■ Algorithmes

1 – Algorithme breveté par Shenk et Westerhaus

Ajustement des absorbances



Une régression linéaire simple entre l'absorbance $x_{i,\text{maître}}$ et $x_{i,\text{esclave}}$ est effectuée pour l'ensemble des longueurs d'onde du spectre.

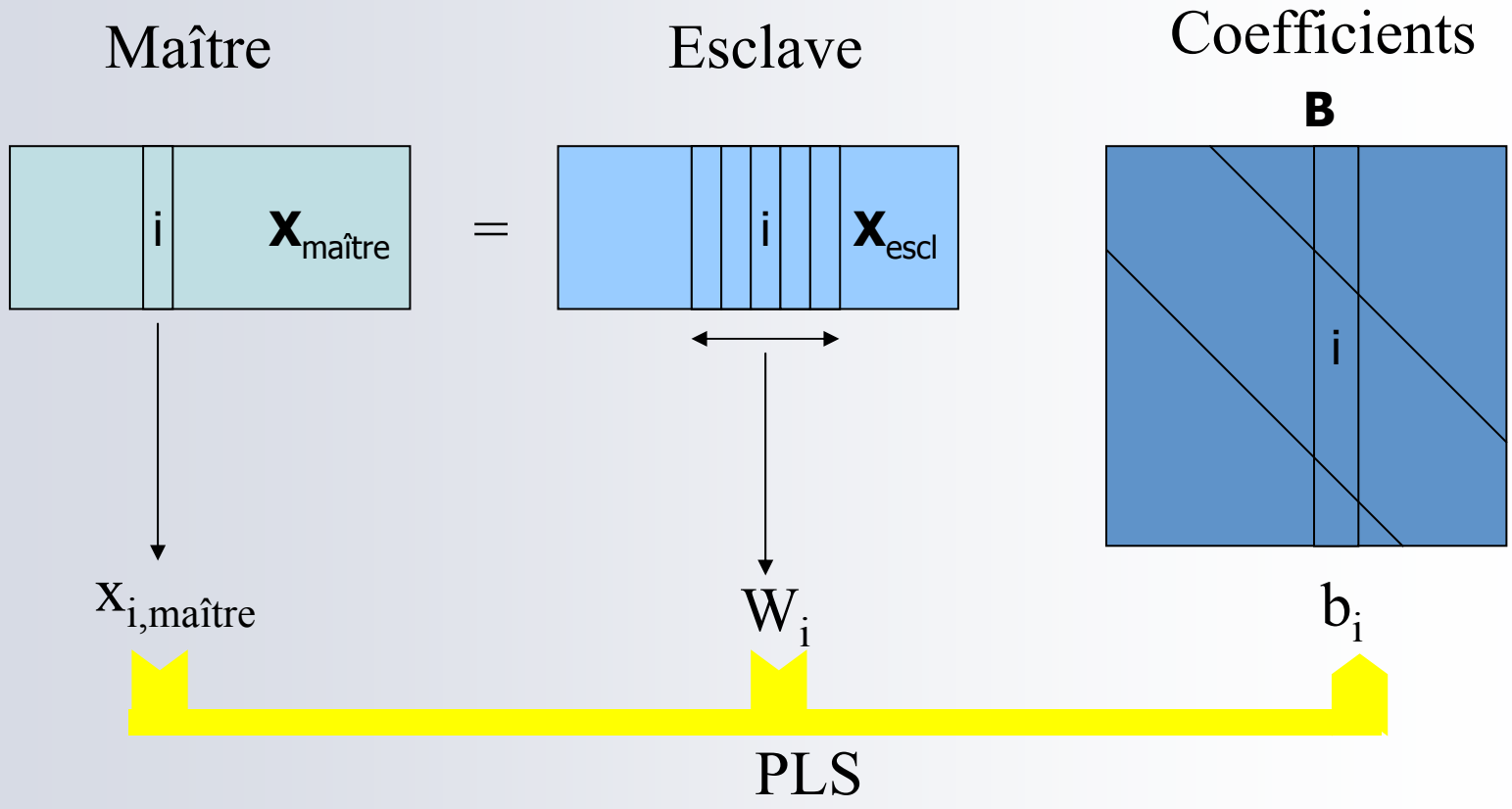
$$x_{i,\text{maître}} = a_i \cdot x_{i,\text{esclave}} + b_i \text{ avec } a_i \text{ et } b_i \text{ deux constantes}$$

3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

■ Algorithmes

2 – Piecewise Direct Standardisation (PDS)



D'après Y. Wang, D. Veltakamp et B. Kowalski, Anal. Chem., 63 (1991) 2750.

3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

- Choix de l'algorithme de transfert

Esclave 2	Esclave avant standardisation	30 Echantillons betteraves	
		Algorithme SW	PDS
Nombre d'échantillons	47	47	47
SEP (g / 100 g)	0,17	0,11	0,11
Biais (g / 100 g)	-0,14	-0,02	-0,01
SEP(C) (g / 100 g)	0,12	0,11	0,11

3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

- Choix des échantillons du transfert

Esclave 2	Maître	Esclave avant standardisation	Standardisation avec des échantillons stabilisés (FOSS[®])
SEP	0,10	0,17	0,11
biais	0,00	-0,14	-0,01
SEP(C)	0,10	0,12	0,11

SEP, biais, SEP(C) en g / 100 g

3.b Comparaison des méthodes de transfert d'étalonnage

Troisième approche : Modification des spectres des instruments esclaves

■ Bilan

❖ Avantages

Tous les instruments utilisent le même modèle.

❖ Inconvénients

Il faut trouver des échantillons stables, homogènes et représentatifs pour réaliser le transfert.

3.c Bilan

Comparaison des méthodes

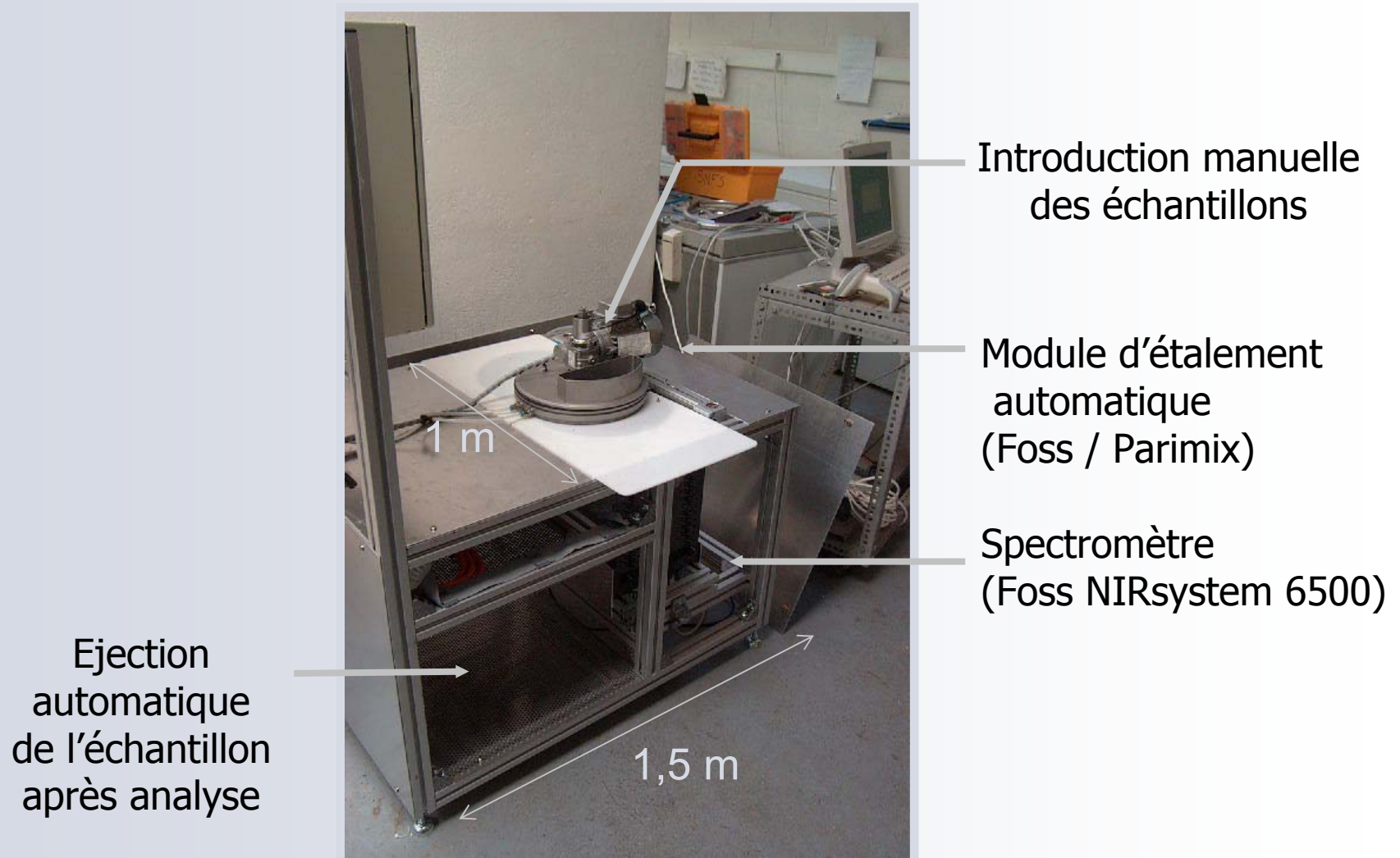
SEP en g / 100g	Instrument Esclave 1	Instrument Esclave 2	Instrument Esclave 3
Avant standardisation	0,17	0,17	0,19
Corrections des concentrations	0,12	0,11	0,14
Modèle robuste	0,11	0,11	0,09
Corrections spectrales	0,11	0,12	0,14

- Les trois approches limitent l'amplification du SEP sur les instruments esclaves.

Plan

1. Méthodes d'analyse
2. Faisabilité du dosage du saccharose par SPIR dans un laboratoire de référence
3. Gestion d'un réseau de spectromètres
- 4. Automatisation de la mesure SPIR**
 - a. Principe de l'automatisation**
 - b. Résultats des essais en conditions industriels**

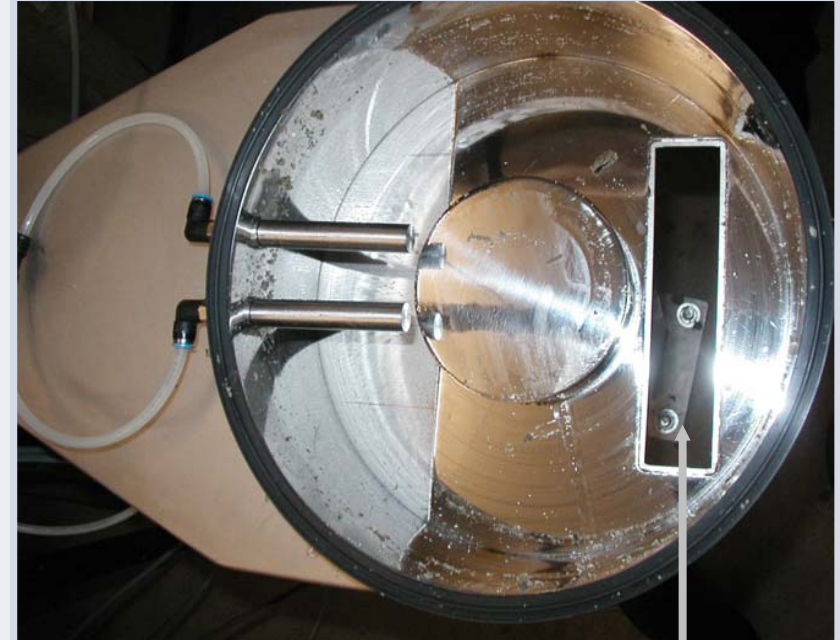
4.a Principe de l'automatisation



4.a Principe de l'automatisation



Echantillon
à étaler



Fenêtre de quartz

4.b Résultats des essais en conditions industriels

■ Transfert du modèle vers l'instrument automatique

Développement d'un modèle robuste

- 2360 échantillons de l'instrument de laboratoire
- 1046 échantillons analysés sur les quatre instruments automatiques

■ Résultats

	Instrument maître	Instrument 1	Instrument 2	Instrument 3
Nombre d'échantillons	662	686	352	404
Biais	-0,01	0,03	0,00	0,06
SEP(C)	0,12	0,11	0,13	0,13

Unité : g / 100g

Conclusions

Détermination de la teneur en saccharose de la betterave par spectroscopie proche infrarouge

- Dosage précis du saccharose de la betterave par SPIR dans un laboratoire de référence.
- Résultats stables sur quatre années d'expérimentation.
- Possibilité d'utiliser plusieurs spectromètres pour déterminer la teneur en saccharose de la betterave.
- Développement d'un instrument semi-automatique.

Perspectives

- Automatiser de façon complète la spectroscopie proche infrarouge.
- Tester le protocole pour la gestion du réseau d'instruments au cours d'une campagne sucrière.
- Utilisation de la SPIR pour déterminer d'autres critères de qualité.

Ecole Doctorale : Sciences Pour l'Ingénieur (SPI)

Discipline : Instrumentation et Analyses Avancées

**Détermination de la qualité de la
betterave sucrière par
spectroscopie proche infrarouge
et chimiométrie.**

