



**HAL**  
open science

# Etude comparative des mesures spectrales de spectrophotometres proche infrarouge pour le dosage rapide dans l'industrie. 2eme partie : etude des possibilites de transfert des equations d'etalonnage

I. Desaintdo, D. Bertrand

## ► To cite this version:

I. Desaintdo, D. Bertrand. Etude comparative des mesures spectrales de spectrophotometres proche infrarouge pour le dosage rapide dans l'industrie. 2eme partie : etude des possibilites de transfert des equations d'etalonnage. *Analisis*, 1990, 18, pp.157-161. hal-02710061

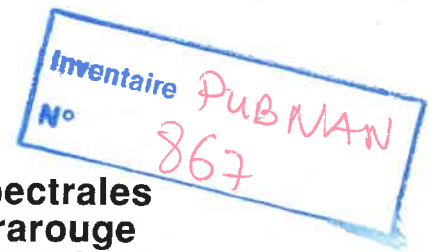
**HAL Id: hal-02710061**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02710061v1>**

Submitted on 1 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## Étude comparative des mesures spectrales de spectrophotomètres proche infrarouge pour le dosage rapide dans l'industrie

I Desaintdo<sup>1</sup>, D Bertrand<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centre Technique des Aliments pour Animaux, rue de la Géraudière, Boîte Postale 527, 44026 Nantes Cedex 03  
<sup>2</sup> Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Technologie Appliquée à la Nutrition, rue de la Géraudière, Boîte Postale 527, 44026 Nantes Cedex 03

(reçu le 12 décembre 1988; accepté le 8 novembre 1989)

### Première partie : étude de la réponse spectrale des appareils

La spectroscopie de réflexion dans le proche infrarouge est très utilisée comme méthode d'analyse dans les industries agroalimentaires. La précision de ces analyses rapides peut être limitée par la précision de la méthode analytique de référence et par la qualité de la réponse spectrale des appareils. La présente étude a pour objectif de caractériser la répétabilité et la reproductibilité de différents appareils utilisés en dosage de séries dans l'industrie. La première partie de ce travail est consacrée à la comparaison des mesures spectrales effectuées sur des échantillons de nature très différente. Dans la seconde partie, les possibilités de transferts des résultats d'un appareil à un autre sont étudiées.

Huit produits ont été envoyés à différents laboratoires participants (41 appareils), et les réponses spectrales ont fait l'objet d'une étude statistique. Les appareils diffèrent essentiellement par le facteur d'intensité générale des absorbances mesurées qui peut varier de 96 % à 107 % par rapport à un spectrophotomètre pris comme référence. L'écart-type des différences entre appareils est quelquefois élevé et peut atteindre 0,018 unité d'absorbance. Les filtres interférentiels correspondent bien à leur longueur d'onde nominative. La forme de la bande spectrale semble cependant varier d'un appareil à un autre. Les conséquences de ces imprécisions sur les analyses sont étudiées dans la deuxième partie.

spectroscopie / proche infrarouge / filtres interférentiels / chaîne d'analyse

### INTRODUCTION

Dans les industries agroalimentaires, le contrôle rapide des matières premières et de la production est une nécessité technique et économique. A l'heure actuelle, une grande partie du contrôle rapide est effectuée à l'aide de spectrophotomètres de réflexion diffuse dans le proche infrarouge. Ces appareils permettent d'analyser de nombreux constituants des produits agroalimentaires tels que l'eau, les protéines, les lipides, l'amidon, etc...

**Comparison of spectral responses of Near-Infrared spectrophotometers used for routine analyses. Part I : study of the spectral characteristics of the instruments.** Near Infrared reflectance spectroscopy is widely applied as analytical technique in food industries. The accuracy of the analyses may be limited by the precision of the reference analytical method and by the quality of the spectrophotometers. In the present work, spectral characteristics of various spectrophotometers have been compared. In the first part of the study, the spectral measurements obtained with various products have been investigated. Eight products have been sent to participating laboratories (41 spectrophotometers) and their spectral data have been evaluated by various statistical procedures. The general intensity of absorbances largely varied between devices, from 96 % to 107 % in comparison with a spectrophotometer chosen as a reference. Standard deviations between spectrophotometers were sometimes rather large (observed maximum : 0.018 absorbance units). The interference filters were correctly attributed to their nominal wavelengths. However the transmittance characteristics between spectrophotometers are different. The consequences of these imprecisions on the analytical results are studied in the second part of the study.

spectroscopy / Near-Infrared / interference filters / ring-test

Le principe des analyses par spectroscopie proche infrarouge (SPIR) est simple [1] : pour chaque échantillon analysé, des mesures spectrales à différents longueurs d'onde sont effectuées. A partir des absorbances enregistrées ( $\log 1/R$ ), on applique une équation de régression linéaire de la forme :

$$[C] = F_0 + F_1 A_{\lambda_1} + F_2 A_{\lambda_2} + \dots \quad (1)$$

où [C] est la concentration prédite,  $F_0$ ,  $F_1$ ,  $F_2$  sont les coefficients déterminés empiriquement par étalonnage,

$A_{\lambda_1}$ ,  $A_{\lambda_2}$  sont les absorbances enregistrées aux différentes longueurs d'onde  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  significatives.

La grande majorité des spectrophotomètres actuellement commercialisés en France sont les appareils à filtres tournants. L'échantillon est placé dans une cellule de mesure munie d'un couvercle transparent à la lumière infrarouge, il est éclairé successivement par différentes lumières monochromatiques sélectionnées par des filtres interférentiels. Ces filtres sont portés par un barillet tournant. Suivant la marque du spectrophotomètre et en fonction du type de produit analysé, le nombre de filtres peut varier entre 3 et 20.

Les constructeurs ont en général sélectionné un nombre limité de filtres, correspondant à des longueurs d'onde caractéristiques. Les valeurs des longueurs d'onde les plus couramment proposées sont données dans le tableau I.

**Tableau I.** Longueurs d'onde (nm) des filtres habituellement disponibles sur les spectrophotomètres proche infrarouge.

**Table I.** Central wavelengths of filters usually available on NIR instruments.

	1445	1680	1722	1734	1759	1778	1818
Longueurs d'onde	1940	1982	2050	2100	2139	2180	2190
	2208	2230	2270	2310	2336	2348	

La mise au point d'une analyse par SPIR représente un travail important pour l'utilisateur, il faut en effet établir une équation de prédiction de la forme (1) à partir d'une collection d'échantillons représentatifs et analysés par la méthode chimique de référence. Dans le domaine du blé, par exemple, l'établissement «d'équations de prédiction universelle» a été le fruit du travail de nombreux chercheurs [2] pendant plusieurs années. Malheureusement, les équations de prédiction obtenues dans un laboratoire avec un spectrophotomètre donné sont parfois difficiles à appliquer directement sur un autre appareil. Dans les cas les plus favorables, une simple correction linéaire permet d'adapter les équations [3]. Les résultats corrigés sont données par :

$$[C_1] = a_0 + a_1 [C_2] \quad (2)$$

où  $[C_1]$  est la concentration prédite corrigée,  
 $[C_2]$  la concentration prédite brute par application directe de l'équation de prédiction,  
 $a_0$  un coefficient de correction de biais,  
 $a_1$  un coefficient de correction de pente,

La nécessité de ce type de correction montre que la standardisation des analyses est loin d'être parfaite.

Les difficultés de transfert des équations peuvent avoir plusieurs causes :

— les dosages de référence peuvent être légèrement différents d'un laboratoire à un autre,

— les modes de préparation des échantillons ont également une influence importante sur la mesure spectrale. En particulier, les conditions de broyage jouent un rôle primordial,

— enfin, une partie des difficultés peut provenir des différences des mesures spectrales liées aux spectrophotomètres eux-mêmes.

Le présent travail a pour objectif de caractériser et de quantifier les seules causes d'erreurs provenant des appareils. Dans la première partie, la réponse spectrale de différents appareils est étudiée. Dans la deuxième partie, les essais portent sur l'étude des possibilités de transfert des équations d'étalonnage d'un appareil à un autre.

Un ensemble de produits ayant des spectres caractéristiques a été sélectionné. Ces échantillons ont été distribués à des utilisateurs possédant des appareils d'analyses. Les mesures spectrales obtenues par les différents participants ont été comparées.

## I. - MATERIELS ET METHODES

### I.1. Sélection et préparation des produits étudiés

Des spectres de nombreux produits ont été enregistrés sur un appareil à réseau holographique (Infraalyser 500 Technicon).

A partir de cette collection, 8 produits présentant des spectres caractéristiques ont été choisis pour l'étude. Les critères de choix ont porté sur la facilité de conservation et de conditionnement, la disponibilité en quantité importante, le faible coût.

Les 8 produits retenus ont été les suivants :

A : amidon de pomme de terre (Roquettes Frères)

B : caséine industrielle

C : gluten de froment (Roquettes Frères)

D : kaolinite argile

E : levure de bière (Vitalévor)

F : polyéthylène glycol 6000 (Merck 807491)

G : soufre purifié (Merck 7983)

H : sucre glace (Beghin Say)

Deux de ces produits initialement sous forme grossière (F et G), ont été broyés dans un broyeur de laboratoire Cyclotec avec une grille à trous de 0,5 mm.

Tous les produits ont été soigneusement homogénéisés dans un petit mélangeur et répartis dans des flacons hermétiques.

Les laboratoires participants ont reçu un lot de ces 8 échantillons pour chaque appareil disponible, avec la description du mode opératoire de la mesure spectrale. Les produits devaient être présentés dans l'appareil sans aucune préparation préalable.

### I.2. Organisation de la chaîne d'analyse

Dans une première étape, une lettre d'information a été diffusée dans les laboratoires de certaines industries agroalimentaires, en particulier dans le domaine de l'alimentation animale, des céréales et des produits laitiers. Les laboratoires ayant manifesté le désir de participer à la chaîne d'analyse ont ensuite reçu les échantillons et un formulaire pour recueillir les mesures spectrales, obtenues sous forme d'absorbances ( $\log 1/R$ ) dans la plupart des cas. Les études statistiques ont porté sur les données ainsi recueillies.

Un code a été attribué à chaque spectrophotomètre, comprenant un numéro désignant le laboratoire participant et une lettre identifiant l'appareil concerné (de nombreux participants disposaient en effet de plusieurs appareils).

### I.3. Exploitation statistique des données

#### I.3.1. Causes d'erreur dues aux appareils

A partir de l'ensemble des données spectrales disponibles, un appareil a été pris comme référence suivant une procédure détaillée dans la partie «résultats».

Les comparaisons de chaque spectrophotomètre à cette référence ont été effectuées à partir de régressions linéaires de la forme :

$$A_{ref} = C_0 + C_1 A_{test} \quad (3)$$

où  $A_{ref}$  est l'absorbance d'un produit à une longueur d'onde donnée pour l'appareil de référence,

$A_{test}$  est l'absorbance pour un même produit, à la même longueur d'onde, pour l'appareil testé,

$C_0$  est le coefficient qui caractérise l'écart systématique entre les deux appareils,

et  $C_1$  est la pente de la droite de régression.

Pour un appareil donnant le même résultat que le spectrophotomètre de référence;  $C_0$  est égal à 0 et  $C_1$  est égal à 1.

#### I.3.2. Attribution des longueurs d'onde des filtres interférentiels

Une procédure d'étude des bandes spectrales des filtres interférentiels des appareils testés a été mise au point.

Pour chaque appareil, les mesures spectrales de chacun des filtres disponibles ont été comparées aux 351 absorbances ( $\log(1/R)$ ) d'un appareil à réseau holographique Infraalyzer 500 de l'étude.

Les coefficients de corrélation entre les absorbances du filtre testé et celles de l'Infraalyzer 500 ont été calculés. Ce calcul a été répété pour chacune des 351 longueurs d'onde de l'appareil à réseau et pour chacun des filtres. A chaque filtre de chaque appareil correspondent ainsi 351 coefficients de corrélation.

Le graphe représentant ces coefficients de corrélation pour chacune des longueurs d'onde de l'appareil à réseau est appelé «corrélogramme». Un filtre non défectueux doit, en toute logique, présenter une valeur maximale du corrélogramme pour la longueur d'onde qui lui est attribuée.

Pour simplifier la présentation, on a étudié seulement les deux longueurs d'onde les mieux corrélées avec le filtre considéré. En cas d'attribution apparemment erronée, on a examiné le corrélogramme pour éviter les erreurs d'interprétation liées à la présence éventuelle d'un «plateau» autour de la longueur d'onde du filtre étudié.

## II. - RESULTATS

### II.1. Cause d'erreur dues aux appareils

#### II.1.1. Spectres des produits de référence

Les spectres des produits de référence sont donnés figure 1.

Le soufre est un modèle de produit absorbant peu dans le proche infrarouge.

Les autres produits présentent bien des pics caractéristiques qui permettent de repérer précisément les longueurs d'onde.

#### II.1.2. Participants

30 laboratoires regroupant 46 appareils ont accepté de participer à la chaîne d'analyse. Pour des raisons d'homogénéité de présentation des résultats, seulement 41 appareils ont pu être comparés.

Les types de spectrophotomètres se répartissent de la manière suivante :

- 25 Infraalyzer 400 Technicon (de 7 à 19 filtres)
- 5 Infraalyzer 450 Technicon (19 filtres)
- 4 Infraalyzer 500 Technicon (réseau holographique)
- 3 Percon Inframatic 8120 (20 filtres)
- 2 Instalab 800 Dickey-John (9 et 10 filtres)
- 2 Infraalyzer 300 Technicon (10 filtres)

Les longueurs d'onde des filtres de l'ensemble des appareils sont toutes parmi celles données dans le tableau I.

Pour des raisons d'homogénéité, seuls les résultats concernant le sous-ensemble des appareils infrarouge à 19 filtres seront présentés dans cet article.

#### II.1.3. Choix d'un appareil de référence

Pour faciliter les comparaisons, il est nécessaire de choisir, parmi tous les appareils, un spectrophotomètre pouvant servir de référence. Certains appareils présentant des mesures aberrantes, il n'est pas possible de retenir comme référence la moyenne des mesures spectrales de tous les appareils.

Le spectrophotomètre de référence a été choisi par comparaison de tous les appareils comportant au moins 19 filtres, pris deux à deux. Pour cela, le coefficient de corrélation entre les mesures spectrales de deux appareils a été calculé.

L'ensemble de ces coefficients de corrélation ( $R$ ) forme une matrice. Les valeurs des coefficients de corrélation observées se situent entre 0,983 et 1,000.

L'examen de cette matrice a permis de retenir un spectrophotomètre présentant les coefficients de corrélation les plus élevés avec l'ensemble des autres appareils.

Il a été vérifié que cet appareil ne présentait d'autre part pas d'erreur de décalage en longueur d'onde sur l'ensemble de ses filtres.

#### II.1.4. Comparaison des appareils

En fonction du nombre de filtres disponibles, plusieurs sous-ensembles ont été étudiés séparément et comparés à l'appareil pris comme référence.

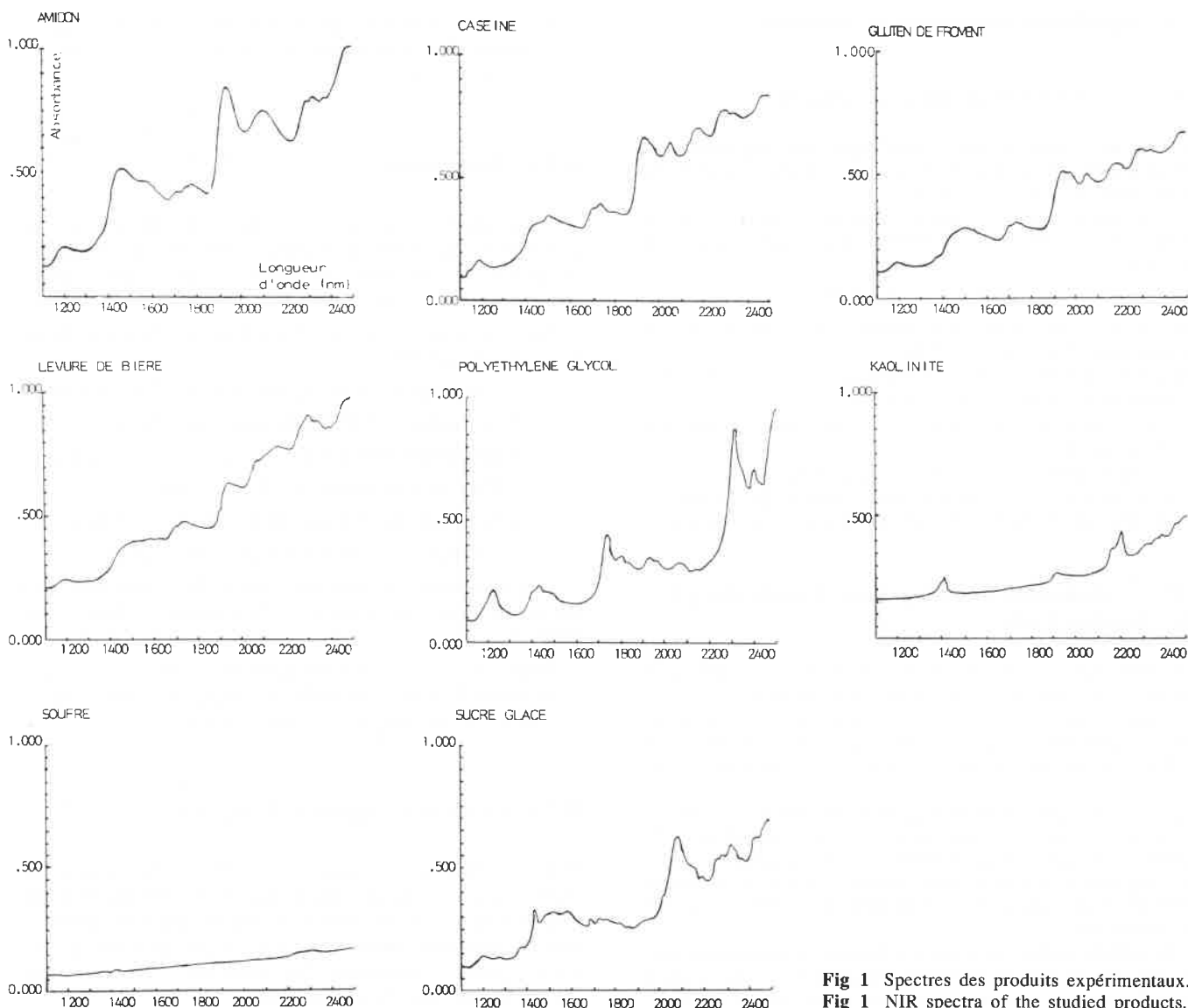


Fig 1 Spectres des produits expérimentaux.  
Fig 1 NIR spectra of the studied products.

**Tableau II.** Comparaison des appareils comportant 19 filtres avec le spectrophotomètre de référence. Paramètres de la régression linéaire établie entre les valeurs d'absorbances obtenues sur chaque appareil participant et le spectrophotomètre de référence (voir paragraphe 1.3.1) (exemples montrant les résultats obtenus avec quelques appareils représentatifs de l'ensemble)

**Table II.** Comparison between instruments fitted with 19 interference filters and the reference spectrophotometer. Linear regression assessed between absorbance values of each NIR instruments of the ring-test and absorbances values of the reference instrument (examples showing some typical results).

Code appareil	Type	Pente	Intersection à l'origine	Écart-type résiduel	Remarques
13a	Infraalyzer 400 Technicon	1,0289	0,0155	0,016	(1)E,(2)
14a		0,9979	0,0062	0,005	
18b		1,0749	-0,0428	0,014	(1)A,E
19a		1,0208	0,0004	0,016	(3),(4)
10b	Infraalyzer 450 Technicon	1,0134	-0,0228	0,017	(3),(4)
15a		0,9893	0,0015	0,006	
07a	Percon Inframatic 8120	0,9604	-0,0148	0,014	(1)F,H

**Remarques :**

(1) Difficultés de mesure de certains produits, codés par les lettres qui suivent.

(2) Une mesure manifestement erronée.

(3) Codage des filtres vraisemblablement erroné.

(4) Erreur résiduelle de la mesure spectrale élevée (égale ou supérieure à 0,008 unité d'absorbance) pour l'essai portant sur l'amidon seul.

II.1.4.1. A partir de l'ensemble des produits testés

Dans un premier essai, on a comparé les 8 produits sur les 19 mesures spectrales (soit 152 mesures par spectrophotomètre testé).

Dans le tableau II sont regroupés les paramètres permettant les comparaisons entre appareils suivant l'équation (3).

De l'examen de ces données, il ressort que :

— Les pentes des régressions linéaires des appareils testés par rapport au spectrophotomètre de référence se situent entre 0,9604 et 1,0749. Elles sont presque dans tous les cas significativement différentes de 1.

— De même, les valeurs des intersections à l'origine sont presque toujours significativement différentes de 0. Elles se situent entre - 0,0617 et + 0,0206.

Les ordres de grandeur des pentes et des intersections obtenus sont tels que le transfert d'équation d'un appareil à un autre, sans aucun ajustement de pente et de biais, est en général impossible.

— L'écart-type résiduel est une estimation de la non linéarité des appareils en comparaison avec la référence. Les valeurs obtenues paraissent extrêmement élevées : entre 0,006 et 0,018 unité d'absorbance. Ces erreurs sont presque 10 fois supérieures à l'écart-type observé pour des mesures spectrales faites sur une collection de produits mesurés sur le même appareil.

L'examen de chaque régression permet d'identifier certaines causes d'erreurs.

— En premier lieu, il semble que certains produits aient posé des problèmes de manipulation et de préparation de la coupelle de mesure. Ceci apparaît sur les courbes par la formation de strates correspondant à certains produits. Un exemple est donné figure 2.

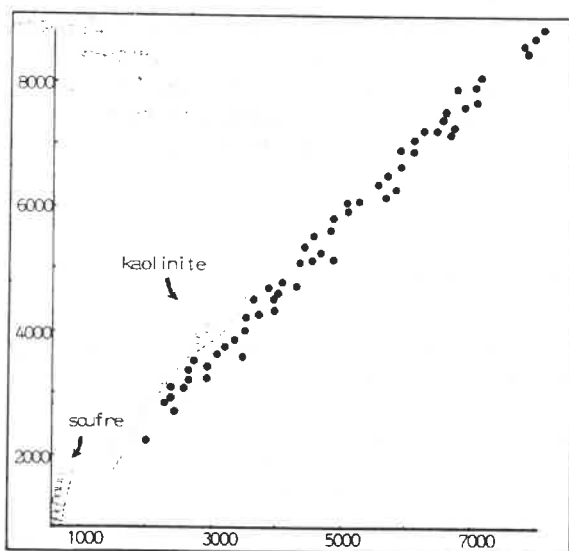


Fig 2. Exemple de produits ayant posé des problèmes de mesures spectrales :

— abscisse : log 1/R. 10000 de l'appareil de référence, — ordonnée : log 1/R. 10000 d'un autre appareil.

Fig 2. Example of products which posed problem for NIR measurements :

X-axis : log 1/R x 10000 (reference spectrophotometer), Y-axis : log 1/R x 10000 (studied instrument).

Les produits D (kaolinite) et E (levure de bière) en particulier ont été difficiles à placer dans la coupelle de mesure.

— D'autre part deux participants (19a, 10b) semblent avoir identifié incorrectement les longueurs d'onde de mesures de deux filtres (2139 et 2180 nm) (fig. 3). En rétablissant, les attributions supposées de ces deux filtres, l'erreur type de l'appareil 19a passe de 0,016 à 0,009 unité d'absorbance.

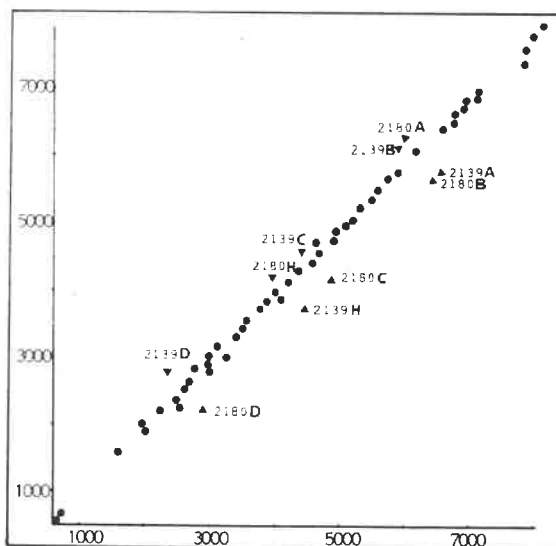


Fig 3. Filtres mal référencés (2139-2180 nm) :

— abscisse : log 1/R. 10000 de l'appareil de référence, — ordonnée : log 1/R. 10000 d'un autre appareil.

Fig 3. Error in the assignment of filters (2139-2180 nm) :

X-axis : log 1/R x 10000 (reference spectrophotometer), Y-axis : log 1/R x 10000 (studied instrument).

II.1.4.2. A partir de l'amidon

Afin de séparer plus nettement les causes d'erreurs, les régressions ont été de nouveau calculées avec les 19 mesures spectrales de l'amidon (produit A). Constituant banal des produits agroalimentaires, l'amidon a également l'avantage de ne pas présenter de pic très étroit et de se conserver sans modification spectrale pendant plusieurs mois. En ce qui concerne l'étude des pentes et des intersections à l'origine des droites de régression, les conclusions sont identiques à celles de l'essai précédent : les valeurs des constantes sont en général très voisines de celles précédemment obtenues. En revanche, l'erreur résiduelle est en général sensiblement réduite : elle se situe maintenant entre 0,004 et 0,009 unité d'absorbance.

Cette réduction est particulièrement sensible dans les cas où des problèmes de préparation de la coupelle de mesure avaient été rencontrés pour certains produits. Elle reste cependant élevée et interdit le transfert d'étalonnage par correction mathématique directe de la mesure spectrale.

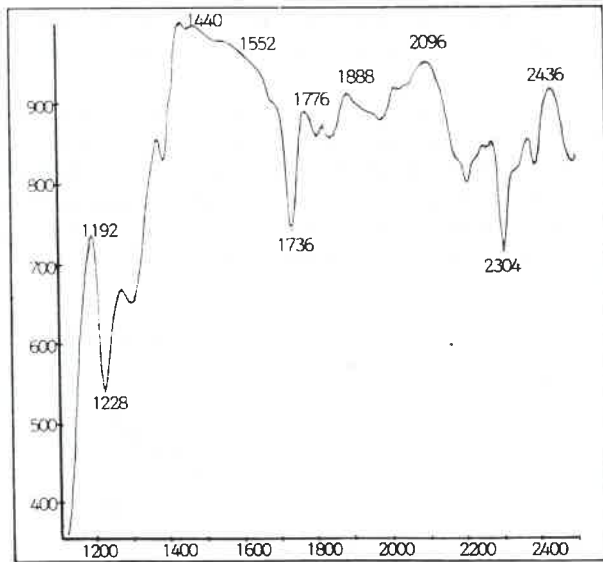


Fig 4. Exemple de corrélogramme entre le filtre interférentiel à 1445 nanomètres d'un appareil et toutes les longueurs d'onde de mesure de l'appareil à réseau :

— abscisse : longueur d'onde de l'appareil à réseau (nanomètres)  
— ordonnée : coefficient de corrélation X 1000 avec les absorbances du filtre interférentiel à 1445 nanomètres.

Fig 4. Example of correlogram between the interference filter at 1445 nanometers of a studied instrument and every wavelengths of the reference spectrophotometer :

X-axis : wavelengths of the reference spectrophotometer (nanometers),

Y-axis : correlation coefficient  $\times 1000$  with the absorbances of the filter at 1445 nanometers.

## II.2. Tentative d'attribution des bandes spectrales des filtres

La figure 4 montre un exemple de corrélogramme entre le filtre 1445 nm d'un appareil et toutes les longueurs d'onde de mesure de l'appareil à réseau. On constate que ce corrélogramme présente bien un maximum local pour une valeur très voisine de 1445 nm.

Dans l'ensemble, les filtres des appareils correspondent bien aux longueurs d'onde données par les constructeurs.

L'écart entre la valeur affichée et celle attribuée par la procédure décrite au paragraphe 1.3.2. ne dépasse pas, en général, 8 nm. Dans certains cas, cependant, les écarts semblent plus importants et dépassent 10 nanomètres. Une étude plus détaillée des corrélogrammes correspondants montre que cette erreur apparente résulte de la présence d'un plateau autour de la longueur d'onde du filtre considéré. C'est le cas, par exemple, du filtre à 1818 nm pour certains appareils (fig. 5). L'ambiguïté des attributions est liée, dans ce cas, à l'absence de pics bien marqués dans les spectres des 8 échantillons.

Les erreurs d'attribution liés aux inversions de filtres (c.f paragraphe 2.1.4.1) sont clairement mises en évidence par les corrélogrammes.

La procédure d'attribution proposée paraît donc efficace et donne un moyen simple et rapide de vérifier

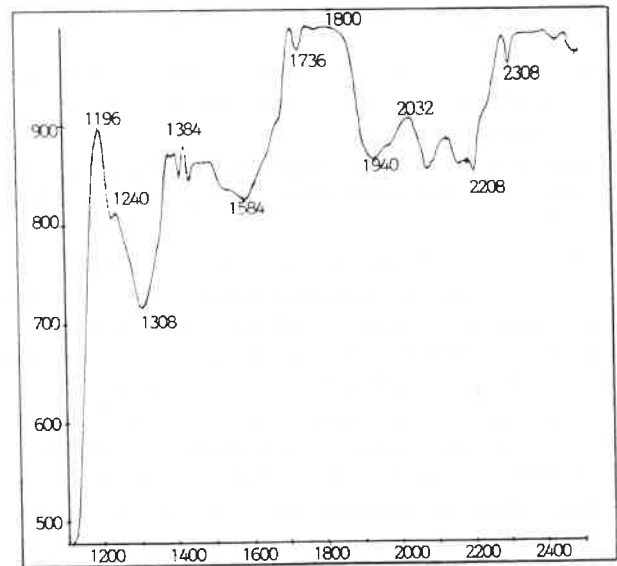


Fig 5. Exemple de corrélogramme montrant les difficultés d'attribution d'un filtre à 1818 nanomètres :

— abscisse : longueur d'onde de l'appareil à réseau (nanomètres),  
— ordonnée : coefficient de corrélation X 1000 avec les absorbances du filtre interférentiel à 1818 nanomètres.

Fig 5. Example of correlogram showing the problem of assigning the real central wavelength of a filter at 1818 nanometers :

X-axis : wavelengths of the reference spectrometer (nanometers),  
Y-axis : correlation coefficient  $\times 1000$  with the absorbances of the filter at 1818 nanometers.

la bande spectrale des filtres. Il serait cependant souhaitable, pour lever certaines ambiguïtés d'attribution, d'ajouter quelques échantillons à la collection-test afin de mieux couvrir les zones spectrales autour de 1818 et 2348 nm.

Les filtres ne présentant pas de défauts d'attribution marqués, les différences de réponses optiques entre appareils signalés précédemment ne semblent pas liées à une incertitude sur leur longueur d'onde, mais plutôt à des variations sur la forme de la bande spectrale.

## CONCLUSION

Les différences de mesures spectrales fournies par les appareils étudiés, paraissent élevées. La première cause d'erreur semble être le mode de remplissage des coupelles de mesure qui induit des différences importantes entre produits. Il est donc difficile de se faire une idée très précise de l'importance des erreurs provenant uniquement de la réponse optique des appareils. Cependant quelques causes d'erreurs proviennent directement de la mesure spectrale : les longueurs d'onde des filtres peuvent varier sensiblement d'un appareil à un autre et, dans quelques cas, les participants ont inversé les longueurs d'onde attribuées à deux filtres.

Les variations observées pour différents filtres travaillant à une même longueur d'onde étant non linéaires et complexes, il semble impossible de modéliser la ré-

ponse spectrale d'un appareil par rapport à une référence.

La méthode d'attribution des bandes spectrales proposée paraît efficace et offre un moyen simple de s'assurer de l'exactitude de la bande passante des filtres interférentiels. Les longueurs d'onde, sauf erreur de positionnement des filtres, correspondent aux indications des fabricants.

## REFERENCES

[1] Rosenthal RD 1977 *Annual meeting of American Association of Cereal Chemists* (1977) 1

[2] Osborne BG, Fearn T *J Fd Technol* (1983) 453

[3] Osborne BG, Fearn T *Near infrared spectroscopy in food analysis*, Longman Scientific Technical, New-York (1986) 170

### Adresses des firmes citées :

– Instalab (Dickey John) : Foss Electric (France) S.A, 80, rue Taitbout, 75009 Paris.

– Percon Inframatic : Scantec, 68, rue de Paris, 93804 Epinay/Seine Cedex.

– Infraalyzer : Technicon : Bran + Lubbe, Le Chêne Sorcier, Boîte Postale 8, 78340 Les Clayes-sous-Bois.

## Deuxième partie : étude des possibilités de transfert des équations d'étalonnage

L'objectif de cette deuxième partie est d'étudier les problèmes posés par le transfert d'équations d'étalonnage entre spectrophotomètres à filtres interférentiels. Douze échantillons de tourteaux de soja ont été envoyés aux laboratoires participants (44 appareils). Deux équations d'étalonnage portant sur le dosage des protéines ont été appliquées à l'ensemble des données spectrales recueillies. Les teneurs en protéines prédites ont fait l'objet d'une étude statistique. Les coefficients de corrélation entre les données analytiques prédites par les appareils pris deux à deux variaient entre 0,674 et 0,985. 43 % des coefficients de corrélation se trouvaient compris entre 0,90 et 0,95. Dans ces conditions, les transferts d'équations ne peuvent se faire sans une perte importante de précision. Une partie de l'imprécision de la mesure spectrale provient des conditions de présentation de l'échantillon dans la cellule de mesure.

**spectroscopie / proche infrarouge / filtres interférentiels / transfert d'étalonnage**

**Comparison of spectral response of Near-Infrared spectrometers used for routine analyses. Part II : study of the transfer of calibration between instruments.** *The goal of the second part was to study the condition of application of the prediction equation on different spectrophotometers. 12 samples of soya bean meals were sent to participating laboratories (44 spectrophotometers). Two prediction equations for protein analysis were applied on the collected spectral data. The results of these predictions were studied by various statistical procedures. The correlation coefficients between predicted values of each pair of spectrophotometers ranged from 0.674 to 0.985. 43 % of the correlation coefficients are in the range 0.90 - 0.95. The application of the prediction equation is therefore not possible without an important loss of precision. A part of the imprecision of the spectral measure is due to the conditions of presentation of samples in the measurement cell.*

**spectroscopy / Near-Infrared / interference filters / transfer of calibration**

## INTRODUCTION

Dans une première étape de ce travail, les différences de réponses spectrales de spectrophotomètres commerciaux ont été étudiées. Les essais portaient sur des produits présentant des pics caractéristiques dans le Proche Infrarouge, mais parfois peu représentatifs du domaine agroalimentaire.

Dans la présente étude, les essais ont été réalisés sur une matière première, importante pour l'alimentation animale, le tourteau de soja, dans le but d'identifier les problèmes posés par les transferts d'équation d'étalonnage entre appareils de dosage. D'après de nombreux auteurs [1, 2], les résultats analytiques obtenus sur deux spectrophotomètres différents sont reliés linéairement. Il est donc aisé, en principe, d'étalonner un appareil par rapport à un autre. Pour tester cette linéarité des données prédites, les mêmes équations d'étalonnage ont été appliquées à différents appareils. Le

paramètre analysé était la teneur en protéines. L'étude statistique a été effectuée sur les concentrations prédites.

## I. MATERIELS ET METHODES

### I.1. Préparation des échantillons de tourteaux de soja

Avec l'aide de l'Association pour le Contrôle de la Qualité des Matières Premières (QUALIMAT), 10 échantillons de tourteaux de soja représentatifs des produits commercialisés en France et de teneurs en protéines variées ont été sélectionnés.

Les échantillons ont été broyés en deux étapes consistant en un broyage grossier suivi d'un passage sur un broyeur de laboratoire Retsch équipé d'une grille à trous de 0,5 mm.



Les tourteaux ont été ensuite soigneusement homogénéisés et répartis en flacons hermétiques destinés aux différents participants.

Les échantillons ont été codés de A à L. Dans cette série, les échantillons B et K ainsi que G et L étaient identiques pour permettre des études de répétabilité de la mesure spectrale.

## I.2. Mesures spectrales

Comme dans la précédente série d'essais, les 12 échantillons codés ont été envoyés aux différents participants. Il était demandé d'enregistrer les mesures spectrales une seule fois sans aucune préparation de l'échantillon. Les résultats étaient reportés sur un formulaire.

Les mesures spectrales ont également été faites sur un appareil à réseau Infraalyzer 500 Technicon entre 1100 et 2500 nanomètres avec un pas de mesure de 4 nm (351 mesures par échantillon).

## I.3. Exploitation statistique des données

### I.3.1. Attribution des longueurs d'onde des filtres interférentiels

La procédure précédemment décrite [3] a été appliquée à l'ensemble des données spectrales (12 échantillons) indépendamment pour chaque appareil.

### I.3.2. Essais de répétabilité

Les essais de répétabilité des appareils ont été effectués sur les données provenant des 2 échantillons de tourteau enregistrés en double (produits codés B et K ainsi que G et L). Pour chaque couple et pour chaque appareil, la régression linéaire entre les données spectrales a été étudiée :

$$L(i,1) = aL(i,2) + b$$

avec

$L(i,1)$  = absorbance du filtre  $i$  pour le tourteau 1 (K ou L)

$L(i,2)$  = absorbance du filtre  $i$  pour le tourteau 2 (B ou G)

$a$  = pente de la droite de régression

$b$  = intersection à l'origine

La pente caractérise la proportionnalité des mesures obtenues entre chaque répétition. Elle est égale à 1 dans le cas où les mesures sont d'intensité générale identique d'un essai à l'autre. L'intersection à l'origine traduit les variations éventuelles de hauteur générale des spectres. Un autre paramètre a été étudié; l'écart-type résiduel de la régression, qui permet d'estimer les écarts à la droite. C'est une indication du «bruit aléatoire» provenant des incertitudes sur la mesure spectrale.

### I.3.3. Etude des possibilités de transfert des équations d'étalonnage

Sur les données spectrales fournies par les participants, deux équations d'étalonnage permettant le dosage des protéines dans le tourteau de soja ont été testées. Ces équations avaient été établies par deux laboratoires pour des dosages en série.

Pour chaque appareil et pour chaque équation testée, on dispose ainsi de 12 prédictions de la teneur en protéines. La linéarité des relations entre les prédictions des différents appareils est estimée en calculant les coefficients de corrélation entre ces valeurs prédites pour chaque couple d'appareils de l'étude. La matrice de corrélation ainsi obtenue a été étudiée.

## II. RESULTATS

### II.1. Participation à la deuxième série d'essais

La quasi-totalité des participants à la première partie a poursuivi l'étude, soit 28 laboratoires avec 44 appareils qui se répartissent de la manière suivante :

- 25 Infraalyzer 400 Technicon
- 6 Infraalyzer 450 Technicon
- 5 Infraalyzer 500 Technicon
- 4 Percon Inframatic 8120
- 2 Instalab 800 Dickey-John
- 2 Infraalyzer 300 Technicon

Tous les formulaires étaient correctement remplis et interprétables.

### II.2. Tentative d'attribution des bandes spectrales des filtres

L'application de la procédure d'attribution sur la collection de spectres de tourteaux de soja n'est pas aussi efficace que sur la collection des 8 spectres de la première partie.

Les spectres de ces tourteaux de soja sont en effet très semblables entre eux. La principale différence entre spectres est liée à une variation d'intensité générale (fig. 1) qui résulte des différences de taille de particules d'un échantillon à l'autre. La figure 2 montre, à titre d'exemple, le corrélogramme du filtre à 1445 nm d'un appareil donné. Les absorbances obtenues avec ce filtre sont hautement corrélées avec celles de toutes les

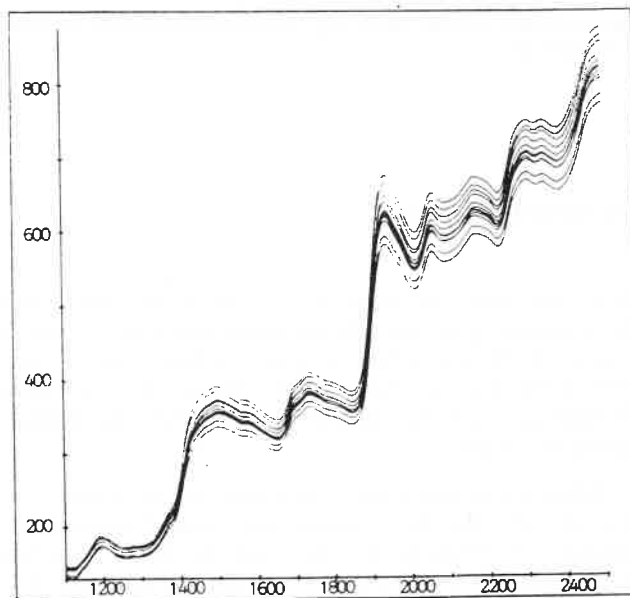
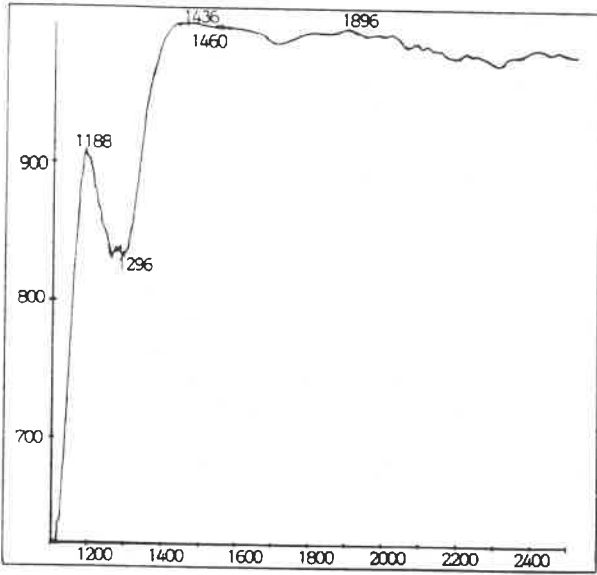


Fig 1. Spectres de réflexion dans le proche infrarouge des 12 échantillons de soja de l'étude :

Abscisse : Longueur d'onde de mesure (nanomètres),  
Ordonnée : Absorbance ( $\log(1/R) \times 1000$ ).

Fig 1. NIR reflection spectra of the 12 studied soybean samples :  
X-axis : wavelengths (nanometers),  
Y-axis : absorbances ( $\log 1/R \times 1000$ ).



**Fig 2.** Exemple de corrélogramme établi sur la collection de tourteaux de soja (12 produits) entre le filtre interférentiel à 1445 nanomètres d'un appareil et toutes les longueurs d'onde de mesure de l'appareil à réseau :

Abscisse : longueur d'onde de l'appareil à réseau,  
Ordonnée : coefficient de corrélation X 1000 avec les absorbances du filtre interférentiel à 1445 nanomètres.

**Fig 2.** Examples of correlogram assessed with the set of soyabean meal samples (12 products). Correlogram established between the absorbances of the filter at 1445 nanometers of a given instrument and every wavelength of the reference spectrophotometer :

X-axis : wavelengths of the reference spectrophotometer (nanometers),  
Y-axis : correlation coefficients x 1000 with the absorbances of the filter at 1445 nanometer.

longueurs d'onde comprises entre 1400 et 2500 nm. Ceci illustre bien la difficulté de l'établissement d'une équation d'étalonnage par simple régression multilinéaire pas à pas. Dans cet exemple, la première longueur d'onde introduite dans l'équation risque d'être assez arbitraire. De ce fait deux équations de prédictions du même paramètre, établies indépendamment, peuvent inclure des filtres très différents.

Afin de réduire les intercorrélations entre les longueurs d'onde, nous avons tenté de diminuer les écarts d'intensité générale observés entre spectres. Dans ce but, les données spectrales brutes ont été corrigées selon la formule

$$Dcor(i) = L(i)/norme$$

avec

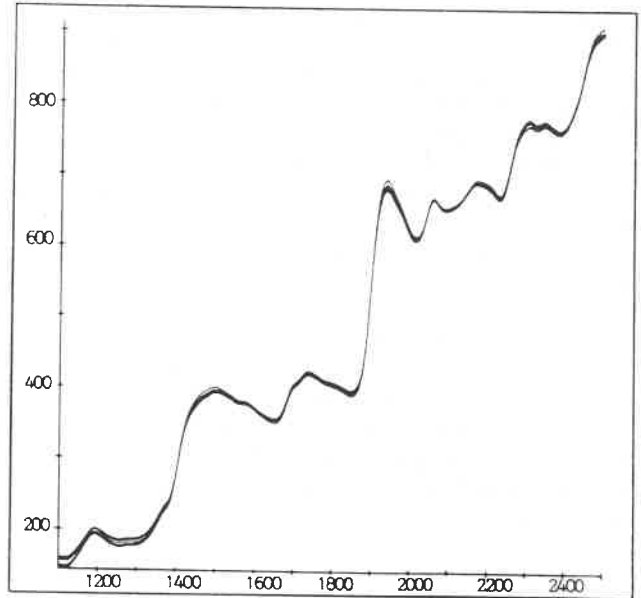
$Dcor(i)$  = donnée corrigée à la longueur d'onde  $i$  du spectre étudié

$L(i)$  = absorbance ( $\log(1/R)$ ) à la longueur d'onde  $i$  du même spectre

$$norme = \sqrt{\sum_{i=n}^{i=l} (L(i))^2}$$

avec  $n$  = nombre de longueurs d'onde du spectre

La norme ainsi calculée est représentative de l'intensité générale des spectres. Les spectres corrigés présentent des écarts beaucoup plus faibles (fig. 3). Cette correction a été appliquée indépendamment aux don-



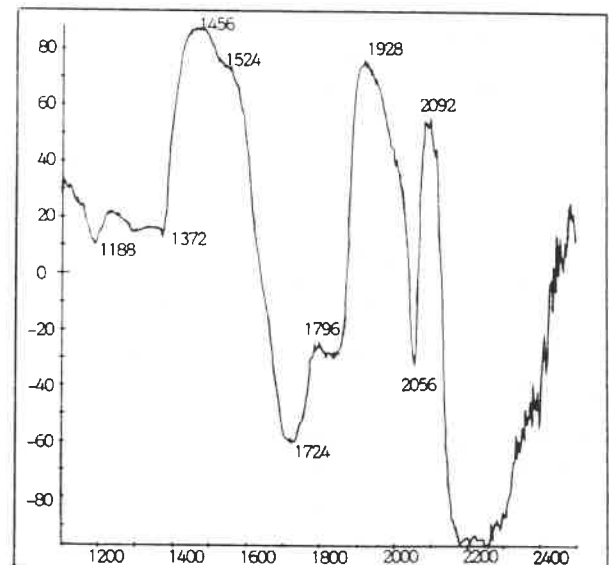
**Fig 3.** Correction des données spectrales par la méthode décrite au paragraphe 3.2.

Mêmes spectres que figure 1 :  
Abscisse : longueurs d'onde de mesure (nanomètres),  
Ordonnée : valeur de la donnée corrigée x 10000.

**Fig 3.** Spectral data corrected by the method described in the paragraph 3.2.

Same spectra as figure 1 :  
X-axis : wavelengths (nanometers),  
Y-axis : corrected data x 10000.

nées provenant de l'appareil à réseau et à toutes les mesures spectrales des appareils à filtres. Après cette correction, les corrélogrammes obtenus sont en général beaucoup plus pertinents. La figure 4 montre le corré-



**Fig 4.** Exemple de corrélogramme établi sur les données corrigées (collection des tourteaux de soja). A comparer à la figure 2. :

Abscisse : longueurs d'onde de mesure (nanomètres),  
Ordonnée : coefficient de corrélation x 100.

**Fig 4.** Example of correlogram assessed on corrected data. To be compared with figure 2 :

X-axis : wavelengths (nanometers),  
Y-axis : correlation coefficients x 100.

logramme du filtre à 1445 nm et met en évidence une nette amélioration des résultats, en comparaison avec la figure 2. La plage spectrale autour de 1445 nm est maintenant nettement contrastée. De plus, un pic autour de 1940 nm apparaît. Ceci est en accord avec les connaissances spectroscopiques, puisque ces deux bandes spectrales correspondent à l'eau. Malgré cette correction, les attributions de certains filtres restent ambiguës et moins claires que celles obtenues avec les échantillons de la première série. Les tourteaux de soja ne présentent en effet pas de pic marqué dans de nombreuses plages spectrales.

Bien que la correction des données proposée ait paru intéressante pour homogénéiser les réponses optiques des appareils, il n'a pas été possible de tester son efficacité pour la prédiction analytique et le transfert des équations d'étalonnage. Le nombre d'échantillons étudiés était en effet insuffisant.

### II.3. Etude des équations d'étalonnage

#### II.3.1. Répétabilité de la mesure spectrale

Les principaux résultats sont présentés sur le tableau I.

Les intersections à l'origine sont toujours très voisines de 0; il n'y a donc pas de défaut lié à des variations incontrôlées de la hauteur générale des spectres.

De même, le bruit de fond aléatoire, caractérisé par l'écart-type résiduel, est presque toujours très faible. Il est en général inférieur à 0,001 unité d'absorbance. On peut supposer que cette incertitude n'a pas de conséquence marquée sur les prédictions.

Les pentes des droites de régression sont, en revanche, assez variables. Elle varient, de manière aléatoire entre 0,91 et 1,07 soit d'environ 9 % autour de la valeur 1. Cette variation n'est pas liée à la qualité optique de l'appareil. Elle est vraisemblablement due aux problèmes que posent la préparation des coupelles de mesure et le compactage des échantillons. Il semble que même en travaillant très soigneusement, un opérateur ait des difficultés à standardiser ce conditionnement. Cette erreur a une influence marquée sur la répétabilité des prédictions. Par exemple, une variation de pente de 9 % engendre une différence des teneurs en protéines prédites d'environ 0,6 % de la matière sèche. Pour une pente de 1, la différence observée entre les valeurs prédites n'est plus que de 0,1 %.

#### II.3.2. Essai de transfert des équations d'étalonnage

Les paramètres des deux équations d'étalonnage testées sont donnés dans le tableau II. Ces équations sont très différentes, aussi bien par la nature des filtres choisis que par la valeur numérique des différents coefficients.

**Tableau I.** Essais de répétabilité des mesures spectrales (voir paragraphe 2.3.1).

Ligne : code de l'appareil. Colonne : écart type résiduel de la régression entre les mesures spectrales obtenues lors de deux passages indépendants du même échantillon (log (1/R)) : pente de la régression, intersection à l'origine de la régression. 3 premières colonnes : résultats obtenus avec les échantillons codés B et K. 3 dernières colonnes : résultats obtenus avec les échantillons codés G et L. (exemples montrant les résultats obtenus avec quelques appareils représentatifs de l'ensemble).

**Table I.** Repetability of spectral measurements. Row : code of the studied instrument. Column : residual standard deviation of the regression assessed with two independent spectral measurements of the same sample (log 1/R) : slope of the regression line, intercept of the regression line. 3 first columns : results obtained with samples coded B and K. 3 last columns : results obtained with samples coded G and L. (examples showing some typical results).

appareil	sojas B et K identiques			sojas G et L identiques		
	écart-type résiduel	pente	intersection à l'origine	écart-type résiduel	pente	intersection à l'origine
02a	0,000543	0,9856	0,0019	0,0018022	1,0385	-0,0007
07a	0,0002788	0,9852	0,0110	0,000703	1,0131	-0,0010
14a	0,0013852	1,051	0,0001	0,000335	1,0139	0,0014
15a	0,0006051	0,9954	-0,0007	0,0004238	1,0101	0,0007
17b	0,0001854	0,9845	-0,0004	0,0005451	0,9518	0,0029
18b	0,0015326	1,0024	0,0029	0,0003345	1,0035	0,0017

**Tableau II.** Équations d'étalonnage testées.

**Table II.** Studied prediction equations.

Equation n°1 :		Equation n°2 :	
longueurs d'onde des filtres utilisés	valeurs des coefficients	longueurs d'onde des filtres utilisés	valeurs des coefficients
constante	49,78	constante	47,360
2310	-403,90	2348	-1305,085
2230	-1344,00	2310	562,392
2208	1768,00	2270	878,271
1818	-501,50	2100	324,135
1722	522,50	1940	188,944
1445	-63,74		

**Fig 5.** Histogramme des corrélations entre les 12 teneurs en protéines prédites par les différents appareils de l'étude.

Résultats établis à l'aide de l'équation n° 1 (tableau 2) :

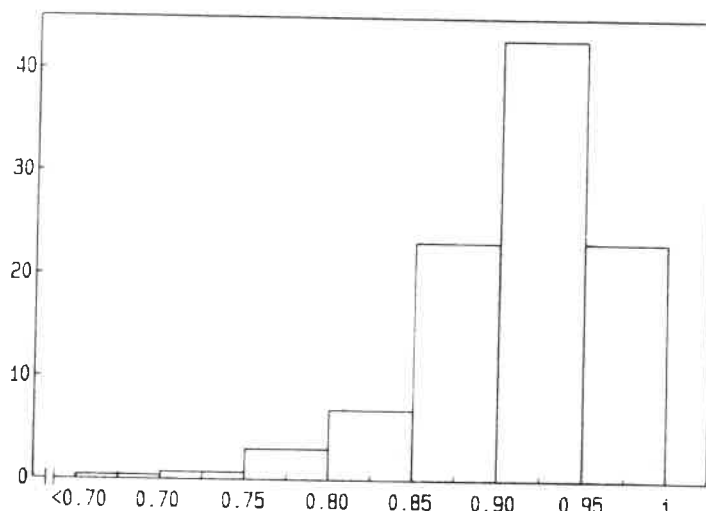
Abscisse : classes des coefficients de corrélation,  
Ordonnée : pourcentage de couples d'appareils appartenant à une classe.

**Fig 5.** Histogram of the correlation coefficient between the 12 values of protein content predicted by the instruments included in the ring-test.

Results assessed by using calibration equation 1 (table 1) :

X-axis : classes of correlation coefficient,

Y-axis : percentage of each pair of instruments belonging to each class.



Ceci est en accord avec les remarques du paragraphe 2.2.

Les coefficients de corrélation entre les 12 teneurs en protéines prédites par les appareils pris deux à deux regroupés sous forme d'histogramme dans la figure 5, sont compris entre 0,674 et 0,985. Le plus grand nombre (43 % des couples d'appareils) se trouve dans la classe ayant pour limites 0,9 et 0,95. Les résultats paraissent assez médiocres et très variables suivant les appareils considérés. Les meilleurs coefficients de corrélation, voisins de 0,97, correspondent à une erreur résiduelle de l'estimation de la teneur en protéines d'environ 0,3 % MS. Les plus bas descendent jusqu'à environ 0,70, avec une erreur (inacceptable) de 0,9 % MS.

Certains appareils donnent des corrélations basses avec presque tous les autres spectrophotomètres de l'étude. Cela ne signifie sans doute pas que ces appareils sont incorrects, mais plutôt que le mode de passage de l'échantillon peut varier de manière très significative d'un opérateur à un autre.

Seuls, les résultats de la première équation d'étalonnage sont présentés. L'étude de la deuxième équation conduit à des conclusions tout à fait similaires. Les équations étudiées ne sont vraisemblablement pas adaptées à cette collection de tourteaux : le conditionnement des étalons ayant servi à leur établissement est très différent de celui mis en oeuvre dans la présente étude. Cependant, les conclusions portant sur la non-linéarité des mesures spectrales et l'impossibilité du transfert des équations d'un appareil à l'autre paraissent justifiées.

## CONCLUSION GENERALE DE L'ETUDE

Les réponses optiques des appareils sont sensiblement différentes d'un appareil à un autre. Les filtres sont en général bien représentatifs de leur longueur d'onde no-

minale, mais la forme de leur bande passante semble plus variable. Cette variabilité peut être à l'origine de difficultés de transfert des équations d'étalonnage. Certains auteurs [4] ont proposé de caractériser la réponse optique de chaque appareil en prenant comme étalon un appareil à réseau de référence. Cette approche représente un progrès important vers la standardisation de la mesure spectrale dans le Proche Infrarouge.

Le bruit aléatoire de la mesure spectrale semble faible; en revanche, les conditions de compactage de l'échantillon dans la cellule de mesure sont à l'origine de déformations spectrales parfaitement linéaires. Ces déformations pourraient sans doute être corrigées en prenant comme référence une mesure spectrale effectuée à une longueur d'onde à laquelle le produit étudié ne présente pas d'absorption spécifique.

## REFERENCES

- [1] Osborne BG, Fearn T *Near Infrared in food analysis* Longman Scientific Technical, New-York (1986) 170
- [2] Williams PC *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries* (Williams PC, Norris K, eds) American Association of Cereal Chemists, St Paul, Minnesota (1987) 107-142
- [3] Desaintdo I, Bertrand D Première partie de l'étude, voir ci-avant, p. 151-157.
- [4] Shenk JS, Westerhaus MO *Forage Quality Analysis by Near Infrared Reflectance Spectroscopy*, Commission de la C.E.E., Bruxelles, document VI/3137/88-EN (1988) 117-122

\*  
\* \*

Cette étude a été financée par le Ministère de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur, dans le cadre de l'action «Aliment 2000».

