



N° d'ordre : 55/ 2014

UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques
Béni-Mellal

Centre d'Etudes Doctorales « Sciences et Techniques »

Formation Doctorale « Ressources Naturelles, Environnement et Santé »

THÈSE

Présentée par

El Mahfoud EL BASSBASI

Pour obtention du grade de

Docteur

Spécialité : Chimie Appliquée

Option : Chimie Analytique-Chimie

**APPLICATION DES METHODES CHIMIOMETRIQUES COUPLEES A
LA SPECTROSCOPIE IR-TF POUR LE CONTROLE QUALITE DU
LAIT ET DU BEURRE**

Soutenue publiquement le **10 septembre 2014** devant la commission d'examen :

Pr. Jilali HAJRI	Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal	Président
Pr. Khalifa EL HARFI,	Faculté Polydisciplinaire, Béni Mellal	Rapporteur
Pr. Abderrahim JAOUAD	Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech	Rapporteur
Pr. Ahmed GAMOUH	Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal	Rapporteur
Pr. Abdelkhalek OUSSAMA	Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal	Directeur de thèse
Pr. Abderrafia HAFID	Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal	Co-directeur de thèse

Fiche présentative de la thèse

- ❖ **Nom et prénom de l'auteur : EL BASSBASI El Mahfoud**
- ❖ **Intitulé de la thèse :** Application des méthodes chimiométriques couplées à la spectroscopie IR-TF pour le contrôle qualité du lait et du beurre.
- ❖ **Directeur de la thèse : Pr. OUSSAMA Abdelkhalek,** Professeur de l'Enseignement Supérieur.
- ❖ **Co-encadrant : Pr. HAFID Abderrafia,** Professeur de l'Enseignement Supérieur.
- ❖ **Intitulé et référence du CED Doctorat :** Ressources naturelles, santé et Environnement.
- ❖ **Directeur du CED : Pr. Abderrazzak El Harti**
- ❖ **Responsable de formation : Pr. Abdelmajid Ziad**
- ❖ **Lieu de réalisation des travaux :** Laboratoire de Spectrochimie Appliquée et Environnement (LSCAE), Faculté des Sciences et Technique Beni Mellal, Université Sultan Moulay Slimane
- ❖ **Collaborations :**
 - ❖ Université de Calabria, Italie.
 - ❖ Université de Barcelone, Espagne.
- ❖ **Période de réalisation des travaux :** 2009-2014
- ❖ **Mots clés :** MIR-FT, méthodes chimiométriques, contrôle de qualité du lait et du beurre

❖ Publications :

1. **Bassbasi M.**, Kzaiber F., Ragno G. and Oussama A. Classification of raw milk by infrared spectroscopy (FTIR) and chemometric. *Journal of Scientific Speculations and Research*, 1 (2010) 28-33.
2. **Bassbasi M.**, Hirri A., and Oussama A. Caractérisation physico chimique du lait cru dans la région de Tadla-Kelaa au Maroc : Application de l'analyse exploratoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2 (2013) 512-517.
3. **Bassbasi M.**, Hafid A., Platikanov S., Tauler R. and Oussama A. Study of motor oil adulteration by infrared spectroscopy and chemometrics methods. *Fuel*, 104 (2013) 798–804.
4. Hirri A., **Bassbasi M.** and Oussama A. Classification and quality control of lubricating oils by infrared spectroscopy and chemometric. *International Journal of Advanced Technology and Engineering Research*, 3 (2013) 59-62.
5. **Bassbasi M.**, Platikanov S., Tauler R. and Oussama A. FTIR-ATR Determination of Solid Non Fat (SNF) in raw milk using PLS and SVM chemometric methods. *Food Chemistry*, 146 (2014) 250-254.
6. **Bassbasi M.**, Ragno G., De Luca M., Loele G. and Oussama A. Classification of butter of different Morrocans regions by Infrared Spectroscopy (FTIR) and Chemometric. *Journal of composition and analysis*, 33 (2014) 210–215.
7. Hirri A., **Bassbasi M.**, Kzaiber F. and Oussama A. Prediction of oil content in olive fruit using Fourier transformed infrared spectroscopy FT-IR coupled with partial least squares regression. *International Food Research Journal*, 21 (2014) 723-727.
8. **Bassbasi M.**, Souhassou S., Hirri A., Berkani M., Kzaiber F., De Luca M., Ioele G., 2Ragno G., and 1Oussama A. Determination of milk adulteration by sucrose using FT-MIR spectroscopy and Chemometrics methods. *Agricultural Science Research Journal*, (2014) (accepted: ARJ-14-0018).

❖ Communications :

➤ Communications Orales :

1. **Bassbasi M.**, Hafid A. et Oussama A. La chimiometrie pour analyse et contrôle qualité des produits laitiers : analyse des protéines. *1ère rencontre nationale sur la valorisation des sous-produits agroalimentaires (RNVSPA'1)*, Beni Mellal, le 20,21 Novembre 2008.

2. **Bassbasi M.** and Oussama A. Application of spectrophotometry infrared Fourier Transform (FT-IR), coupled with chemometrics for discrimination and analysis of proteins in milk. *La 4^{ème} Rencontre Internationale sur l'analyse et la Chimiométrie (RENACQ-4)*, Beni Mellal, le 13,14 Mars 2010.

3. **Bassbasi M.** and Oussama A. Mathematical methods, tools and FT-IR for the classification and study of fraud in raw milk. *Rencontre Internationale de spectroscopie et d'optique (RISO)*, Er-Rachidia, le 15,16 Octobre 2010.

4. **Bassbasi M. and Oussama A.** Chemometric and FT-IR for the classification and study of fraud in raw milk. *Troisième édition du congrès internationale sur l'amélioration de la production agricole, (APA3)*, Settat, le 17,18 Mars 2011.

5. **Bassbasi M.**, Platikanov S., Tauler R. and Oussama A. Determination of Solid Non Fat (SNF) content in raw milk by fast infrared spectroscopy and PLS and SVM chemometrics methods. *2^{ème} Rencontre Internationale sur la Chimiométrie (RICH2)*, Marrakech, le 08,09 Octobre 2012.

6. **Bassbasi M. et** Oussama A. FTIR-ATR determination of Solid Non Fat (SNF) content in raw milk by fast infrared spectroscopy and PLS and SVM chemometrics methods. *2^{ème} Workshop sur la chimie moléculaire & perspective*, Beni Méllal le 28-29 Mai 2013.

➤ Communications par affiche :

1. **Bassbasi M.**, Rango G. and Oussama A. Classification of butter of different Moroccan regions by infrared spectroscopy (FT-IR) and chemometrics. *2^{ème} Rencontre Internationale sur la Chimiométrie (RICH-2)*, Marrakech, le 08,09 Octobre 2012.

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au sein du Laboratoire de Spectrochimie Appliquée et Environnement (LSCAE) de la Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal, en partenariat avec le département des sciences pharmaceutiques de l'Université de Calabria en Italie, et le conseil Supérieur des Recherches Scientifiques (CSIC) de l'Université de Barcelone en Espagne.

En premier lieu, je remercie vivement le professeur **A. OUSSAMA** pour son encadrement, sa confiance, sa disponibilité tout au long de ces années et son soutien au quotidien même dans les moments les plus difficiles.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur le professeur **A. HAFID**, pour son aide, sa disponibilité et ses précieux conseils tout au long de la thèse.

Je tiens à remercier tous **les membres du jury** pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail et l'honneur qu'ils m'ont fait pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie chaleureusement, le professeur **A. DE JUAN CAPDEVILA**, le professeur **R. TAULER** et Monsieur **S. PLATIKANOV** de l'Université de Barcelone, pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire lors de mon stage et de m'avoir consacré du temps afin de me faire profiter de leurs connaissances et de leurs expériences considérables en chimiométrie. Je les remercie pour avoir toujours réussi à éveiller ma curiosité scientifique par leur vision de la chimiométrie appliquée à la chimie analytique.

Un remerciement particulier est destiné à Monsieur le Professeur **G. RAGNO** et Monsieur **M. DE LUCA**, Maître de conférences à l'Université de Calabria en Italie pour leur disponibilité, leur aide et leurs précieux conseils tout au long de ce travail.

Mention spéciale à **A. MOUBARIK** qui m'a supporté et m'a permis de me lever motivé, le cœur léger et l'esprit tranquille depuis le début de ma thèse. Très humblement, je voudrais te dire merci pour tes soutiens pendant mes périodes de doutes et pour tes multiples encouragements répétés.

Mes plus vifs remerciements vont aussi au personnel du département de Chimie et Environnement de la F.S.T de Béni Mellal pour leurs qualités humaines.

Je remercie également tous **les doctorants de l'École Doctorale Sciences et Techniques** (EDST) pour leur bonne humeur, leur amitié et les captivantes discussions partagées. Et tout particulièrement mes collègues, **A. HIRRI, F. ELABADI** et **W. TEROUZI**. Merci pour votre soutien et votre aide, sans vous cette thèse ne serait pas aboutie.

Egalement, je remercie **les membres de ma famille** pour leur soutien moral, leur patience et leurs encouragements tout au long de cette thèse et plus généralement tout au long de ma vie éducative et professionnelle.

Enfin, que toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvera ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Merci,

Résumé

L'évaluation de la qualité nutritionnelle du lait s'avère nécessaire pour mettre en évidence la variabilité de la qualité nutritionnelle lors de la production du lait, cartographier la qualité du produit dans les régions et déterminer les facteurs influents, afin d'améliorer la production et la rentabilité. Cette qualité est mise en évidence à travers la détermination de trois principaux constituants du lait (matière grasse, taux protéique et extrait sec dégraissé) sur six coopératives et trois fermes, appartenant aux régions de Tadla Azilal et Kelaa des Sraghna, sur un suivi d'une année.

Ainsi, l'application des modèles de discrimination, obtenus à partir des données spectrales MIR et les méthodes chimiométriques, l'analyse discriminante au sens des moindres carrés partiels (PLS-DA) ont permis de classer les échantillons des laits et beurres selon leur origine géographique et de prédire leurs origines géographiques. Les meilleurs modèles discriminants entre les échantillons des laits et beurres, en fonction de leur authenticité, ont été choisis en se basant sur le taux de classification de chaque modèle estimé. Les résultats montrent que la technique infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) constitue une méthode rapide et directe pour identifier les laits et les beurres, ainsi que pour prédire leur origine.

L'étude quantitative faite sur la matière sèche dégraissée du lait, prouve la robustesse de la méthode de combinaison de la spectroscopie moyen infrarouge (SMIR) avec les méthodes chimiométriques (PLS et SVM), comme outil d'analyse alternative pour la détermination quantitative, non destructive et rapide d'extrait sec dégraissé (ESD) du lait cru. Les résultats de prédiction obtenus à l'aide des modèles de régression des moindres carrés partiels (PLS) et de régression des séparateurs à vaste marge (SVM) sont similaires et ont donné de bonnes estimations des teneurs d'extrait sec dégraissé du lait, avec de très faibles erreurs.

Dans le même objectif, une nouvelle procédure a été appliquée, en utilisant la FT-MIR couplée à la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) pour identifier des aspects de fraude du lait. Cette technique est appliquée pour la quantification de l'altération de lait par ajout du saccharose. Les résultats de la prédiction ont donné de bonnes estimations du taux de saccharose ajouté au lait, avec des erreurs relatives et une limite de détection, qui sont satisfaisantes.

Mots Clés : Spectroscopie infrarouge, authenticité, lait cru, beurre, origine géographique, extrait sec dégraissé, fraude du lait par ajout de saccharose, méthodes chimiométriques,

Abstract

In the present work, we worked on the development of technical quality milk and butter control, based on the coupling of infrared spectroscopy to chemometrics.

In the first time, evaluation of the nutritional parameters of milk is necessary to highlight the variability in the nutritional quality of milk, mapping in regions and identify influential factors, in order to improve production and profitability. This quality is demonstrated through the determination of three major components of milk (fat, protein and solid non fat) on six cooperatives and three farms belonging to those regions on a track one year (2011).

Models of discrimination, obtained from MIR spectral data and chemometrics methods and partial least squares discriminant (PLS -DA) has classify samples of milk and butter according to their geographical origin and predict the geographical origins of milk and butter.

The best models of discrimination between samples of milk and butter have been selected on the basic of classification rates, for each estimated model. The results show that infrared techniques Fourier transform (FT-IR) is a fast and direct method for identifying milk and butter, as well as to predict their origin.

A quantitative study demonstrates the potential of the combination method of using infrared spectroscopy (MIR) with chemometrics methods (PLS and SVM), as a non destructive and alternative analysis tool, for quantitative and quick determination of solids non fat (SNF) of raw milk. The prediction results obtained, using PLS and SVM regression techniques were similar and gave good estimates of the levels of solid non fat, with very low error (less than 0.5 %).

A new procedure has been implemented, using the FT-MIR coupled with the method of partial least squares regression (PLS) to identify fraud milk. FT -MIR coupled to the PLS as an easy, rapid, and accurate quantification is evaluated for alteration of milk by adding sucrose. The prediction results gave good estimates of the level of sucrose added to milk, with the relative error of 5.1 ± 0.6 g / L and a limit of detection of 1.31 ± 0.05 g / L.

Keywords: Infrared spectroscopy, authenticity, raw milk, butter, geographical origin, solid non fat, fraud by adding sucrose, chemometrics methods.

Liste des abréviations

IR	Infrarouge
SMIR	Spectroscopie moyen infrarouge
SPIR	Spectroscopie proche infrarouge
IRMA	Infrared Milk Analyser
MIR-TF	Spectroscopie moyen infrarouge a transformé de Fourier
ESD	Matière sèche dégraissée ou Extrait sec dégraissée
PLS	Régression des moindres carrés partiels (partial least square)
SVM	Séparateurs à vaste marge (Support vector machines)
PIB	Produit intérieur brut
ORMVA	Offices de mise en valeur agricole
Dh/j	Dirhams par jour
pH	Potentiel d'hydrogène
°D	Degré Dornic
°C	Degré Celsius
TB	Taux butyreux
MAT	Matières azotées totales
TP	Taux protéique
ANP	Azote non protéique
FT-IR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
SiC	Carbure de silicium
ATR	Réflexion totale atténuée
FMIR	Frustrated Multiple Internal Reflexion
MCT	Mercure Cadmium Tellure
dp	profondeur de pénétration
ACP	Analyses en composantes principales
R²	Coefficient de détermination
PLS	Partial Least Squares Regression (Régression au sens des moindres carrés partiels)
PLS-DA	Partial least square discriminante

SVM	Séparateurs à vaste marge
MSC	Correction Multiplicative de diffusion
SNV	Déviation Normale Standardisée
RMSEC	Erreur quadratique de l'étalonnage
RMSEC_v	Erreur quadratique de validation croisée
R²_p	Coefficient de détermination de prédiction
RMSEP	Erreur standard de prédiction
RE%	Erreur relatif de prédiction en pourcent
LOD	Limite de detection
CAMO	Computer Aided Modeling
LDA	linear discriminante analysis
CA	Analyse de cluster
FBS	Fkih Ben Saleh
Kss	Kssiba
Ka	Kelaa Sraghna
TP	Taux protéique
MG	matière grasse
ESD	matière sèche dégraissée
PC1	Composante principale 1
PC2	Composante principale 2
RMSEC	Erreur de calibration
RMSEC_v	Erreur de validation croisée
R²_c	Coefficient de détermination liée à l'étalonnage
R²_{c_v}	Coefficient de détermination de cross validation
R²	Coefficient de détermination
Predi.	Valeurs prédites
Ref.	Valeurs de référence
HCA	Classification hiérarchique
LVs	Variables latentes
ER%	Erreur relative de prédiction

Liste des Tableaux

Tableau I.I.1 : Caractéristiques physiques du lait.	12
Tableau I.I.2 : Composition chimique moyenne du lait de différentes espèces en g/L.	14
Tableau I.I.3 : Composition du lait de soja comparée au lait (données au litre).....	15
Tableau I.I.4 : Les principaux constituants du lait.	16
Tableau I.I.5 : Constituants lipidiques du lait et localisation.....	17
Tableau I.I.6 : Distribution des principaux acides gras du lait en %.	19
Tableau I.I.7 : Composition moyenne et distribution de la matière azoté du lait cru.	22
Tableau I.I.8 : Constituants majeurs des matières salines du lait (g/L).....	25
Tableau I.I.9 : Concentrations en vitamines du lait (mg/L).	27
Tableau II.I.1 : Les paramètres nutritionnels et les litrages dans les deux périodes étudiées (données en moyenne).	88
Tableau II.II.1 : Caractéristiques des zones sélectionnées comme points d'échantillonnage du lait et du beurre.....	105
Tableau II.II.2 : Pourcentage de variance pour chaque composante principale par la validation croisée totale.....	112
Tableau II.II.3 : Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA.	114
Tableau II.II.4 : Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA.	117
Tableau II.II.5 : Classification de nouveaux échantillons de lait (validation externe).	118
Tableau II.II.6 : La variance expliquée des composantes principales par validation croisée totale.	123
Tableau II.II.7 : Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA.	126
Tableau II.II.8 : Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA.	129

Tableau II.II.9 : Résultats de la validation externe de nouveaux échantillons de beurre.	129
Tableau II.III.1 : Paramètres statistiques obtenus par modélisations PLS et SVM lors de la calibration.....	140
Tableau II.III.2 : Paramètres statistiques obtenu par modélisations PLS et SVM lors de la validation externe.	142
Tableau II.III.3 : Comparaison des deux modèles (PLS et SVM) choisis.	146
Tableau II.III.4 : comparaison des valeurs de références vs prédites des modèles choisis. .	146
Tableau II.IV.1 : Paramètres statistiques obtenu par PLS modélisations lors de la calibration.	156
Tableau II.IV.2 : Paramètres statistiques obtenus par PLS modélisations du saccharose ajouté au lait, lors de la validation externe.....	158
Tableau II.IV.3 : Paramètres statistiques obtenus par modélisations PLS des données MIR dans la gamme spectrale de 1800 à 920 cm ⁻¹ avec la première dérivée de Savitsky Golay comme prétraitement.....	159
Tableau II.IV.4 : Comparaison des valeurs de références vs prédites des modèles de tests de validation externe.	162

Liste des Figures

Figure I.I.1 : Structure moléculaire du lactose.....	21
Figure I.I.2 : Schéma de micelle caséique.	23
Figure I.I.3 : Schéma de production du beurre.....	30
Figure I.I.4 : Schéma de production industrielle du beurre.....	31
Figure I.II.1 : Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique.....	39
Figure I.II.2 : Modes de vibrations moléculaires.....	42
Figure I.II.3 : Schéma d'un Spectromètre dispersif.....	45
Figure I.II.4 : Shéma d'un spectromètre avec interféromètre de Michelson.....	48
Figure I.II.5 : Principe de la réflexion totale atténuée (ATR) sur diamant.....	50
Figure I.II.6 : Exemples de bandes d'absorption dans le PIR.	52
Figure I.II.7 : Graphique d'un dendrogramme.....	58
Figure I.II.9 : Etape de développement d'une analyse analytique.	70
Figure II.I.1 : Représentation géographique des points de prélèvement des échantillons (cercles en rouge).....	82
Figure II.I.2 : Variation du litrage des coopératives et des fermes dans les deux périodes... ..	89
Figure II.I.3 : Variation d'extrait sec dégraissé (ESD) des coopératives et des fermes dans les deux périodes.....	91
Figure II.I.4 : Variation du taux protéique (TP) des coopératives et des fermes dans les deux périodes.....	92
Figure II.I.5 : Variation de la matière grasse des coopératives et des fermes dans les deux périodes.....	94
Figure II.I.6 : Plot de variances expliquées en fonction des composantes principales.	97
Figure II.I.7 : Biplot (PC1 vs PC2) d'analyses des paramètres nutritionnels des laits et leurs origines.....	97

Figure II.II.1 : Les zones d'étude en cercles rouges.	104
Figure II.II.2 : Spectres moyens infrarouge du lait cru de différentes régions.	108
Figure II.II.3 : Dendrogramme de la HCA des laits des régions étudiées.....	110
Figure II.II.4 : Plot des scores en trois dimensions.	111
Figure II.II.5 : Plot des loadings des X-variables des trois composantes.	112
Figure II.II.6 : Plot des scores (PC1vsPC2) de projection des échantillons de validation.	113
Figure II.II.7 : PLS-DA plot des scores en trois dimensions des laits de différentes régions.	114
Figure II.II.8 : Coefficients de régression pour chaque groupe.	115
Figure II.II.9 : Plot des scores, facteur 1 vs facteur 2 de la projection des échantillons.	116
Figure II.II.10 : Spectres moyens infrarouge du beurre des trois régions.	119
Figure II.II.11 : Dendrogramme de la HCA des beurres des trois régions étudiées.....	121
Figure II.II.12 : Plot des scores (PC1 vs PC2) d'analyses ACP des spectres MIR des beurres.	122
Figure II.II.13 : Plot des loading des X-variables selon les quatre CPs (CP1, CP2, CP3 et CP4)	124
Figure II.II.14 : Plot des scores PC1 vs PC2 de projection des échantillons de validation externe.	125
Figure II.II.15 : PLS-DA plot des scores des échantillons du beurre de différentes régions..	126
Figure II.II.16 : Coefficients de régression pour chaque groupe.	127
Figure II.II.17 : Plot des scores LV1 vs LV2 de projection des échantillons.	128
Figure II.III.1 : Spectres moyen infra rouge du lait cru dans la gamme spectrale 920-3000 cm ⁻¹	139
Figure II.III.2 : Valeur de référence vs prédites d'ESD dans l'étape de calibration (cercles noir) et dans l'étape de validation externe (triangles rouge) ; quand PLS est appliqué sur les données spectrales non traités dans la zone 1800-920 cm ⁻¹	144

Figure II.III.3 : valeurs de référence vs prédites d'ESD dans l'étape de calibration (cercles noirs) et dans l'étape de validation externe (triangles rouges) ; quand SVM est appliqué sur les données spectrales non traitées dans la zone 1800-920 cm^{-1}	145
Figure II.IV.1 : Spectres moyens infra rouge du lait cru pur (bleu) et du lait contaminé par le saccharose.	155
Figure II.IV.2 : valeurs de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de calibration (bleu) et dans l'étape de validation croisée (rouge) ; quand PLS est appliqué sur les données spectrales dérivée dans la zone 3100-920 cm^{-1}	157
Figure II.IV.3 : Valeurs de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de validation externe (Val 1).	160
Figure II.IV.4 : Valeurs de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de validation externe (Val 2).	160
Figure II.IV.5 : Valeurs de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de validation externe (Val 3).	161

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
Partie Bibliographique	
CHAPITRE I : LAIT ET BEURRE	6
I. INTRODUCTION	8
II. GENERALITES	9
II.1. APERÇU HISTORIQUE	9
II.2. FILIERE LAITIERE AU MAROC	9
II.3. POLITIQUE LAITIERE AU MAROC	10
II.4. EVOLUTION DE LA CONSOMMATION DU LAIT	12
III. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU LAIT	12
III.1. DEFINITION DU LAIT	12
III.2. ORGANOLEPTIQUE	13
III.3. PROPRIETES PHYSIQUES DU LAIT	13
III.3.1. <i>Densité</i>	13
III.3.2. <i>pH</i>	14
III.3.3. <i>Acidité titrable (Dornic)</i>	14
III.3.4. <i>Point de congélation</i>	14
IV. COMPOSITION DU LAIT	15
IV.1. COMPOSITION DU LAIT PAR RAPPORT AUX AUTRES ESPECES LAITIERES	15
IV.2. COMPOSITION PHYSICO-CHIMIQUE DU LAIT	16
IV.2.1. <i>Les lipides et matière grasse</i>	18
IV.2.2. <i>Variation de la teneur en matière grasse (variation du TB)</i>	21
IV.2.3. <i>Les glucides</i>	21
IV.2.4. <i>Matières azotées totales (MAT)</i>	22
IV.2.5. <i>Intérêt nutritionnel</i>	25
IV.2.6. <i>Variation de la teneur en matière protéique (TP)</i>	26
IV.2.7. <i>Minéraux et oligo-éléments</i>	26
IV.2.8. <i>Les vitamines</i>	27
IV.3. MICROBIOLOGIE DU LAIT	29
V. BEURRE	30
V.1. INTRODUCTION	30
V.2. PRODUCTION TRADITIONNELLE DU BEURRE	30
V.3. FABRICATION INDUSTRIELLE DU BEURRE	31
VI. REFERENCES	33

CHAPITRE II : LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE, LA CHIMIOMETRIE ET LEURS APPLICATIONS.....	36
I. INTRODUCTION	37
II. LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE	38
II.1. APERÇU HISTORIQUE	38
II.2. PRINCIPES DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE INFRA ROUGE	39
II.2.1. Natures et propriétés des radiations infrarouges	39
II.2.2. Fondements théoriques.....	40
II.2.3. Vibrations des molécules.....	42
II.3. ATTRIBUTION DES BANDES DANS LE MOYEN INFRA ROUGE.....	45
II.4. LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER (FT-IR).....	46
II.4.1. Spectromètre dispersif.....	46
II.4.2. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).....	47
II.4.3. Principe de la spectroscopie infrarouge	47
II.4.4. Réflexion totale atténuée (ATR).....	50
II.5. LA SPECTROSCOPIE PROCHE INFRAROUGE (PIR)	52
II.5.1. Bandes harmoniques et bandes de combinaison dans le proche infrarouge	52
II.5.2. Absorptions caractéristiques dans le Proche Infra Rouge (PIR).....	52
II.6. ANALYSE DES DONNEES INFRAROUGE	54
III. LA CHIMIOMETRIE	55
III.1. METHODES EXPLORATOIRES	55
III.1.1 Analyse en Composantes Principales : ACP	56
III.1.2. La classification hiérarchique (HCA) : Analyse de regroupement.....	57
III.2. METHODES PREDICTIVES.....	59
III.2.1. Régression des moindres carrés partiels (Partial Least Squares : PLS).....	60
III.2.2. Régression des moindres carrés partiels-discriminante (PLS-DA).....	61
III.2.3 Régression des séparateurs à vaste marge (SVM régression)	62
III.3. PRETRAITEMENTS DES DONNEES.....	63
III.3.1. Données centrées	64
III.3.2. Données centrées normées (ou centrées réduites)	64
III.3.3. Centrage par colonne.....	65
III.3.4. Centrage par ligne	65
III.3.5. Dérivation.....	65
III.3.6. Correction Multiplicative de diffusion (MSC)	66
III.3.7. Déviation Normale Standardisée « Standard Normal Variate : SNV »	67
III.4. PARAMETRES D'EVALUATION DE LA QUALITE DES MODELES.....	67
III.4.1. Modèle de calibration	67
III.4.2. Validation croisée totale	68
III.4.3. Validation externe	69
III.5. LOGICIELS DE TRAITEMENT DES DONNEES SPECTRALES.....	70
III.6. DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE D'ANALYSE	70
IV. LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE COMBINEE AUX METHODES CHIMIOMETRIQUES ET LEURS APPLICATIONS.....	72
V. REFERENCES.....	75

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : EXPLORATION DE LA QUALITE NUTRITIONNELLE DU LAIT CRU DANS LES REGIONS MAROCAINES : FKIH BEN SALAH, KSSIBA ET KELAA DES SRAGHNA..... 81

I. INTRODUCTION	82
II. MATERIELS ET METHODES.....	83
II.1. MATERIELS : SITES DE COLLECTE DES ECHANTILLONS.....	83
II.2. METHODES : ANALYSES PAR METHODES DE REFERENCES	85
II.3. METHODES CHIMIOMETRIQUES : ANALYSES EN COMPOSANTES PRINCIPALES.....	88
III. RESULTATS ET DISCUSSIONS	89
III.1. EVALUATION DES PARAMETRES NUTRITIONNELS DU LAIT DANS LES DEUX PERIODES.....	89
III.2. EXPLORATION DES PARAMETRES NUTRITIONNELS DU LAIT DANS LES DEUX PERIODES	98
IV. CONCLUSION	101
V. REFERENCES.....	102

CHAPITRE II : CLASSIFICATION DU LAIT CRU ET DU BEURRE PAR SPECTROSCOPIE MIR-FT ET PLS

.....	103
I. INTRODUCTION	104
II. MATERIELS ET METHODES.....	106
II.1. ECHANTILLONNAGE.....	106
II.1.1. Classification du lait cru.....	107
II.1.2. Classification du beurre.....	107
II.2. INSTRUMENTATION.....	107
II.3. METHODES CHIMIOMETRIQUE APPLIQUEES.....	108
III. RESULTATS ET DISCUSSION	109
III.1 CLASSIFICATION DU LAIT CRU DES QUATRE REGIONS	109
III.1.1 Acquisition des spectres MIR.....	109
III.1.2. Analyse exploratoire	111
III.1.3. Régression des moindres carrés partiels Discriminants (PLS-DA).....	115
III.1.2. Validation externe : Classification des nouveaux échantillons.....	118
III.2. CLASSIFICATION DU BEURRE DE TROIS REGIONS.....	121
III.2.1. Acquisition des spectres MIR.....	121
III.2.2. Analyses exploratoire	122
III.2.3. La régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA).....	127
III.2.4. Validation externe : Classification des nouveaux échantillons.....	130
IV. CONCLUSION	133
V. RÉFÉRENCES.....	134

CHAPITRE III : DETERMINATION DE LA MATIERE SECHE DEGRAISSEE (ESD) DU LAIT CRU PAR SPECTROSCOPIE IR-TF, PLS ET SVM	136
I. INTRODUCTION	137
II. MATERIELS ET METHODES	139
II.1. ECHANTILLONNAGE	139
II.2. ANALYSES EN MOYEN INFRA ROUGE (MIR).....	139
II.3. ANALYSES PAR METHODE DE REFERENCE	140
II.4. METHODES CHIMIOMETRIQUE APPLIQUEES.....	140
II.4.1. Régression des moindres carrés partiels (PLS).....	140
II.4.2 Séparateurs à vaste marge (SVM).....	140
II.5. LOGICIELS	141
III. RESULTATS ET DISCUSSION	141
III.1. ACQUISITION DES SPECTRES MIR.....	141
III.2. ANALYSES QUANTITATIF D'ESD DU LAIT CRU	142
IV. CONCLUSION	149
V. REFERENCES.....	150
CHAPITRE IV : DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE DE CONTROLE D'AUTHENTIFICATION DU LAIT APRES AJOUT DU SACCHAROSE EN UTILISANT LA SPECTROSCOPIE MIR-FT ET LA PLS.....	152
I- INTRODUCTION.....	153
II. MATERIELS ET METHODES.....	154
II.1. ECHANTILLONNAGE.....	154
II.2. ANALYSES EN MOYEN INFRA ROUGE (MIR).....	155
II.3. METHODES CHIMIOMETRIQUES.....	155
II.3.1 Régression des moindres carrés partiels (PLS).....	155
II.3.2. Paramètres statistiques.....	156
II.3.3. Logiciels.....	156
III. RESULTATS ET DISCUSSION	156
III.1. ACQUISITION DES SPECTRES MIR.....	156
III.2. ELABORATION DU MODELE DE CALIBRATION	158
III.3. VALIDATION EXTERNE	160
IV. CONCLUSION	165
V. REFERENCE	166
CONCLUSION GENERALE	167

INTRODUCTION GENERALE

La problématique d'adultération et de fraudes des produits agroalimentaires n'est pas nouvelle, elle a été signalée dans les sociétés Grecque et Romaine [1]. En général, la force qui pousse les gens à pratiquer les fraudes des produits alimentaires est purement économique, il s'agit d'engendrer des gains supérieurs avec des produits de moindre qualité. L'authentification d'un produit est la procédure qui permet de valider sa conformité par rapport à sa définition préétablie. De nombreux problèmes d'authenticité sont observés dans le cas des produits agroalimentaires : On peut citer, la conformité concernant l'espèce ou la variété du produit, ainsi que le contenu présumé. Il est à noter également, la conformité des produits par rapport à leurs origines naturelles ou artificielles, à leurs modes de production (sauvage ou élevé). Enfin, la conformité à l'origine géographique, ainsi que le millésime de production [2].

Pour protéger les consommateurs vis-à-vis des problèmes de fraudes et d'authenticité, la réglementation en industrie agroalimentaire évolue en continuité [3]. En général, les textes réglementaires viennent pour garantir aux consommateurs la sincérité de l'information en termes de la dénomination, des caractéristiques intrinsèques et de l'origine des produits. Les autorités chargées des droits des consommateurs utilisent en général, des méthodes de contrôle qui sont adaptées aux produits et aux paramètres à contrôler, pour prévoir et détecter toute sorte de fraudes.

Comme dans toutes les industries agroalimentaires, une grande partie du contrôle de la qualité du lait cru, lait au cours de la chaîne de fabrication et même les produits finis repose sur des analyses biochimiques et physiques. La détermination de la qualité et l'authentification du lait a souvent été analysée en employant des méthodes de dosages classiques, généralement très spécifiques dans l'industrie laitière (méthode de Gerber, Kjeldhal...). Ces méthodes de dosage classiques sont en général longues, nécessitent parfois l'utilisation de réactifs onéreux et polluants, et ne sont utilisables que par des opérateurs qualifiés [4].

En général, ces méthodes posent des problèmes de gestion des flux (analyses de routine), donc pour une bonne productivité, ces analyses doivent être réalisées d'une manière rapide, simple, fiable et moins chère. Ainsi, les méthodes rapides de contrôle, pour un nombre important de critères sur des produits à différents étapes de leur fabrication, constitueront un remède et généreront des gains en termes de temps et de coût.

Une méthode spectrale appropriée, telle que la spectroscopie infrarouge (SIR), rend possible la réalisation de ces contrôles en quelques minutes. La spectroscopie infrarouge est couramment utilisée dans l'industrie laitière pour les analyses de routine, ainsi, les appareils basés sur la spectroscopie moyenne infrarouge (SMIR) ou proche infrarouge (PIR) combinée à la chimiométrie, sont mis en œuvre pour le contrôle de la qualité du lait et ses dérivés [4].

Les teneurs en matière grasse, en protéine, en lactose et en urée ont été déterminées par des équipements spécifiques à l'analyse de routine du lait [5]. Ces paramètres, s'ils sont importants pour déterminer le prix du lait, sont aussi importants dans la gestion du troupeau laitier : les teneurs en protéines et en matière grasse sont des indicateurs non négligeables pour l'alimentation des vaches, la teneur en lactose est un indicateur de mammite [6]. Dans de récents développements, le placement de spectrophotomètres en ligne dans l'unité de traite permet de suivre la qualité du lait de chaque vache au moment de la traite [7].

Les instruments de mesure, dans toutes les disciplines, génèrent un nombre très important de données de nature différentes. Une évolution remarquable dans le temps, de la structure des données collectées a été remarquée. Dans les années soixante, une ou deux variables sont mesurées sur un échantillon, puis nous sommes passés à des données multivariées générant des tableaux de données de quelques dizaines d'échantillons et quelques dizaines de variables. L'évolution numérique est une réalité, puisque actuellement, nous travaillons sur des tableaux de données multi blocs constitués de centaines de milliers, voire plusieurs millions d'éléments pour des applications particulières. En conséquence, il y a une évolution de la masse de données à traiter. A partir des années soixante-dix, il devient très difficile de traiter des données multidimensionnelles sans recourir à de nouvelles méthodes de traitements pour extraire les informations pertinentes [8].

Les méthodes chimiométriques nous fournissent une grande capacité de manipulation des données multidimensionnelles. Elles sont généralement concernées par l'application de

méthodes mathématiques pour la sélection, la planification expérimentale et l'exploration des données.

La chimiométrie est appliquée pour résoudre les problèmes à la fois descriptifs et prédictifs en sciences de la vie expérimentale, en particulier dans la chimie. Dans les applications descriptives, les propriétés des systèmes chimiques sont modélisées avec l'intention d'apprendre les relations sous-jacentes et la structure du système (c'est à dire, la compréhension du modèle et l'identification). Dans les applications de prévision, les propriétés des systèmes chimiques sont modélisées avec l'intention de prédire de nouvelles propriétés ou le comportement d'intérêt. Dans les deux cas, les ensembles de données peuvent être petits, mais sont souvent très vastes et très complexes, impliquant des centaines de milliers de variables, et des centaines de milliers de cas ou d'observations.

L'application de la spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques ne concerne pas que la matière première, mais elle a pris une place considérable dans les systèmes de productions pour caractériser le produit fini ou pour analyser en ligne de sa production. Van de Voort et *al.* [9] ont exploité la spectroscopie moyenne infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques pour déterminer la teneur en humidité dans le beurre, en arrivant à des résultats comparables aux valeurs obtenus par les méthodes analytiques. Des études récentes ont montré que le couplage de la spectroscopie proche infrarouge (SPIR) ou la spectroscopie moyenne infrarouge (SMIR) avec la chimiométrie est très exploité dans l'industrie agro-alimentaire. Cette combinaison a été utilisée pour l'évaluation quantitative des fraudes des huiles d'olive vierges avec des huiles végétales de moindre qualité [10] ou l'adultération du beurre avec les margarines [11].

L'ensemble des travaux présentés dans cette thèse permettrait de développer d'autres applications de la spectroscopie moyenne infrarouge couplée à la chimiométrie dans le secteur laitier. La diversité des objectifs analytiques à atteindre et des structures de données complexes ont ainsi permis de développer, de modifier et d'appliquer de nombreuses méthodes chimiométriques. Dans le même sens, l'essentiel de notre travail consiste à étudier certains aspects du contrôle qualité du lait et ses dérivés par application de la spectroscopie moyenne infrarouge (SMIR) combinée aux méthodes chimiométriques, dans le but d'élaborer

des méthodes alternatives aux méthodes classiques qui sont coûteuses et demandent de grands niveaux de technicité.

Ce travail vise trois objectifs majeurs. Le premier consiste à étudier la variabilité du lait à partir de l'analyse physico-chimique. Le second, est de développer de nouvelles applications de la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (SMIR-TF) pour une qualification simple et rapide du lait et du beurre provenant de différentes origines géographiques du Maroc. Le troisième consiste à développer de nouvelles méthodes, basées sur la SMIR et la chimiométrie, pour étudier quantitativement la matière sèche du lait et la fraude du lait par ajout du saccharose.

Ce mémoire de thèse est divisé en deux parties :

- **La première partie** est consacrée à une étude bibliographique. **Le premier chapitre** de cette partie, présente quelques généralités sur le lait et le beurre. Dans **le deuxième chapitre**, nous rappelons d'une manière générale les principes de la spectroscopie infrarouge, la chimiométrie et leurs applications.
- **La seconde partie** est divisée en quatre chapitres et traite les résultats d'application de la méthode de combinaison de la spectroscopie MIR avec les méthodes chimiométriques pour le contrôle du lait et du beurre. **Le premier chapitre** détaille l'exploration de la qualité nutritionnelle du lait cru dans les régions de Fkih Ben Salah, Kssiba et Kelaa des Sraghna. **Le second chapitre** met en évidence l'utilité de combiner la SMIR et les méthodes chimiométriques pour la classification du lait cru et du beurre de différentes régions du Maroc. **Le troisième chapitre** traitera une autre application de la spectroscopie MIR avec les méthodes chimiométriques pour déterminer quantitativement la matière sèche dégraissée (ESD) du lait. La détermination quantitative de la fraude du lait par ajout du saccharose, par la SMIR et des méthodes chimiométriques (PLS et SVM) sera présentée dans **le quatrième chapitre**.

Références

- [1] Lees M. Food Authenticity : Issues and méthodologies, Eurofins Scientific Laboratoires, Nantes, (1999) 311.
- [2] Cuny M. Authenticité des produits agroalimentaires par spectroscopie RMN ^1H et outils chimiométriques : Application aux jus de fruit, yaourts et vinaigres. *These de doctorat*, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), 2008.
- [3] Décret n°2-12-389 du 11 Joumada II 1434 (22 avril 2013) fixant les conditions et les modalités d'étiquetage des produits alimentaires, *Bulletin officiel* n°6152 (2013).
- [4] Bertrand D. and Dufour E. *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, (TEC & DOC, Paris, (2006) 566-570.
- [5] Romnee M. Potentialités des tests microbiens et de la spectrométrie infra-rouge dans la recherche d'antibiotiques dans le lait. *Thèse de Doctorat*, Gembloux, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques (2009).
- [6] Tsenkova R., Atanassova S., Ito K., Ozaki Y. and Toyoda K. Near infrared spectroscopy for bio monitoring: cow milk composition measurement in a spectral region from 1100 to 2400 nanometers. *J. Anim. Sci*, 78 (2000) 515-522.
- [7] Kawamura S., Kawasaki M., Nakatsuji H. and Natsuga M. Near infrared spectroscopic sensing system for online monitoring of milk quality during milking. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 1 (2007) 37-43.
- [8] Duponchel L. Optimisation des méthodes chimiométriques pour la spectroscopie vibrationnelle. *These de doctorat*, Université de Lille I, France (2006).
- [9] Van de Voort., Sedman J., Emo G. and Ismail A. A Rapid FT-IR quality control method for fat and moisture determination in butter. *Food Research International*, 25 (1992) 193-198.
- [10] Gurdeniz G. and Ozen B. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chemistry*, 116 (2009) 519-525.
- [11] Koca N., Kocaoglu N. and Rodriguez S. Application of temperature-controlled attenuated total reflectance-mid-infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration. *Food Chemistry*, 121 (2010) 778-782.

Partie I : Partie Bibliographique

Chapitre I :
Lait et Beurre

I. Introduction

Le lait est un aliment de base par sa composition pour l'homme. Il est indispensable pour le nouveau-né et reconnu très bienfaisant pour l'adulte. Dans notre culture, le lait est apprécié comme un aliment de base dans de nombreux régimes alimentaires. Il fournit un milieu facilement accessible, riche en éléments nutritifs (minéraux, vitamines et protéines) qui sont facilement digérables. Ainsi, le lait est important à l'ensemble des fonctions du corps [1]. Les produits laitiers, les viandes, les céréales, les fruits et les légumes sont des aliments riches en éléments nutritifs, ils fournissent de nombreux nutriments à teneur relativement variable en énergie et indispensables à la santé humaine [2]. La consommation des produits laitiers est associée, en plus des effets positifs sur la santé, à leurs valeurs nutritionnelles [3].

Le lait et ses dérivées sont également considérés comme des apporteurs d'ingrédients alimentaires fonctionnels (phytostérols, acides gras et bactéries probiotiques) et de source riche pour l'innovation et la production d'une grande variété d'ingrédients novateurs de promotion de la santé qui sont présents sur le marché (comme des suppléments diététiques) [4]. Les protéines lactières sont intégrées d'une manière préférentielle dans la composition d'une nutrition spéciale comme la construction des tissus et la masse musculaire chez les nourrissons, les malades, les sportifs, et les personnes âgées. Les recommandations d'équilibre alimentaire éprouvent la contribution des produits laitiers à une alimentation saine. Pourtant il est souvent recommandé d'utiliser électivement la gamme des produits pauvres en matière grasse (produits écrémés et demi écrémés), grâce à la quantité d'acides gras saturés contenus dans le lait et leur impact direct sur le développement des maladies cardiovasculaires.

Au Maroc, le statut de la production laitière est très particulier dans les plans de développement du secteur agricole. Elle contribue à la création de revenus et d'opportunités de travail, comme elle contribue aussi à l'approvisionnement en éléments nutritifs des populations et dont les habitudes alimentaires évoluent vers davantage de produits de qualité [5].

Ainsi la qualité du lait et son contrôle constituent le souci des industriels. Pour assurer la qualité et la salubrité du lait et produits laitiers, il est essentiel de contrôler leurs qualité le long de la chaîne de production.

II. Généralités

II.1. Aperçu historique

Le lait a été utilisé par l'homme dans la préhistoire (Néolithique), dès qu'il a domestiqué des animaux (période de domestication). Les premiers indices d'élevage sont celle de la consommation du lait, et ils sont découverts au Proche-Orient, vers 8700 avant Jésus-Christ. Les traces archéologiques, les traces chimiques de résidus laitiers dans des contenants, étude des squelettes des animaux et les gravures rupestres représentant des scènes de traite prouvent la consommation et exploitation laitière par l'homme. Vers 2500 avant Jésus-Christ en Mésopotamie, des données scientifiques (traces archéologiques et écrites : plaquettes) révèle l'existence d'une laiterie. Les moyens de transport et la chaîne de froid ont été des facteurs déterminants dans la consommation du lait, en effet sa consommation, pendant longtemps, est réservée aux éleveurs et leurs voisinages.

Au début du 12^{ème} siècle, on trouve que le lait est mentionné comme un produit essentiel dans l'alimentation humaine. Il est utilisé aussi dans la galactothérapie (comme médicament) pour : les enfants, les malades et les plus âgés. Au 17^{ème} siècle, la consommation du lait est augmentée et déborde le cadre des zones rurales. Ainsi, les vaches sont présentes dans les zones urbaines. Plusieurs préparations introduisant le lait et beurre sont citées au 18^{ème} siècle. Au milieu du 18^{ème} siècle, la consommation de produits laitiers a été augmentée progressivement et celle du lait a été doublée [6].

II.2. Filière laitière au Maroc

L'élevage contribue dans l'économie du Maroc, de 30% au produit intérieur brut (PIB) agricole. Ce secteur est important, car il assure des emplois dans le milieu rural et satisfait les demandes de consommations des produits animales.

L'élevage laitier est caractérisé par deux systèmes de production [7] : Le premier est envisageable essentiellement dans les zones hydro-agricoles dirigées par les offices de mise en valeur agricole (ORMVA). Il est caractérisé par l'abondance fourragère, la disponibilité des races bovines sélectionnées dans la structure des troupeaux et l'intérêt du taux du lait commercialisé (60 % à 70 % de la production totale). Le deuxième est mixte (lait et viande). Il est basé sur l'utilisation des aliments concentrés et les sous-produits céréaliers. Il est très répandu dans les zones à pluviométrie favorable et autour des métropoles urbaines.

II.3. Politique laitière au Maroc

Le Maroc a entamé ses orientations stratégiques en termes de production laitière dans les années 1970, par l'intervention de l'Etat à travers le lancement des programmes en recherchant l'amélioration de la production et la consommation des produits laitiers. Dans le cadre de cette stratégie, un premier plan laitier a été appliqué, dont l'objectif était l'assurance de l'autosuffisance et l'amélioration du niveau de consommation des produits laitiers de 0,1 à 0,33 litre de lait par jour et par personne, entre 1975 et 2000 [5]. Pour arriver à ce but, l'État est intervenu à travers plusieurs axes [8] :

- L'amélioration de la génétique du cheptel bovin par l'insémination artificielle et le croisement avec des animaux de races améliorées.
- L'intensification des mesures destinées à améliorer la santé animale et le contrôle sanitaire des produits laitiers.
- L'amélioration des ressources fourragères et la constitution de stocks d'urgence pour l'alimentation animale.
- L'implantation de centres de collecte de lait à proximité des zones de production.
- L'incitation à l'investissement pour la mise en place et le développement d'unités de transformation du lait.

Ces interventions ont permis l'augmentation de la production laitière qui est passée de 580 millions de litres en 1975 à 1,1 milliard de litres en 1999. Néanmoins, la carence demeurant de la consommation des produits laitiers a poussé l'Etat à mettre en place, un second programme laitier pour la période de 2000 à 2020. Ce programme insiste sur la spécialisation des régions pour la rationalisation d'utilisation des ressources et pour augmenter la

productivité. Ses lignes directives s'articulent sur l'amélioration de l'environnement sanitaire des troupeaux laitiers, l'amélioration de la qualité du lait à chaque étape de la filière, le soutien des professionnelles et la consolidation de la politique de partenariat interprofessionnel.

Les mesures motivantes relatives aux interventions du ministère de l'agriculture à ce sujet (construction et équipement des centres de collecte) sont supportées par le fond de développement agricole [5]. Les performances enregistrées dans ce domaine sont déterminées par les conditions climatiques et les contraintes organisationnelles. La qualité du lait et ses dérivés au moment de consommation, ainsi que son disponibilité sur le marché sont affectés par les problèmes liés à la collecte, à la transformation et la distribution de ces produits. La politique de d'amélioration de la filière laitière prend en considération la totalité de ces contraintes dans le cadre du programme 2000-2020. L'objectif principal de ce programme est d'augmenter la production à un taux de 5,8% chaque année pour répondre aux besoins de consommation en produits laitiers [5].

Les importations annuelles moyennes du lait sont autour de 15,000 tonnes de la poudre. Elles sont l'équivalent de 151 millions de litres de lait reconstitué. La grande partie de la poudre importée est d'origine de l'Union Européenne (85 % des quantités importées) dont 30% provient de la France. Les tarifs de dédouanement appliqué à la poudre de lait écrémé peuvent aller à 60 % alors que celui de la poudre de lait entier s'élève à 112%. Ces droits de douane peuvent être abaissés pour motiver les importations pendant certaines périodes où la consommation est élevée (mois de Ramadan). Les preuves d'amélioration du secteur laitier par ce plan, sont multiples :

- Un triplement de la production en 30 ans avec une réponse aux 80% des besoins de consommation,
- Un bilan social positif : assurance de revenus stables (environ 50 Dh/j) pour 300.000 éleveurs.

En avril 2008, une nouvelle politique agricole adoptée par l'Etat. Le «Plan Maroc Vert» a déclenché une nouvelle stratégie pour développer le secteur agricole au Maroc. Il est basé sur une agriculture diversifiée, durable et ouverte sur les marchés extérieurs [9].

Ce plan prévoit l'amélioration de la filière laitière à travers trois axes :

- Approfondissement de l'intégration verticale vers l'amont des agrégateurs actuels.
- Développement de nouveaux projets en aval.
- Aménagement des conditions cadres de la filière.

II.4. Evolution de la consommation du lait

Au début des années 1980, la consommation du lait a chuté en raison de la sécheresse qu'a connue le pays et qui a des effets sur la production. En 1983, la consommation enregistrée est de 25 litres par personne et par an. Elle était même inférieure à celle enregistrée au début des années 1970 [7]. Malgré le triplement de la production entre 1969 et 2004, la consommation du lait et ses dérivés reste faible (38 litres/an). Cette faible consommation est expliquée par les habitudes alimentaires et par la faiblesse du pouvoir d'achat. De plus, le lait n'est pas accessible pour de nombreuses zones surtout en milieu rural [7].

La production laitière atteint près de 2.5 milliard de litres en 2012 [9] et la consommation en produits laitiers reste relativement faible avec près de 55 litres de lait par personne et par an contre 90 litres recommandés pour la ration nutritionnelle.

III. Caractéristiques physico-chimiques du lait

III.1. Définition du lait

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le Congrès International de la répression des fraudes comme suit : « le lait est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ». Le colostrum c'est le lait produit par la vache après la mise bas du nouveau-né. Il est de couleur jaunâtre, très riche en protéines et anticorps indispensables à l'immunisation du nouveau-né et pauvre en sucres. Le décret du 25 mars 1924 précise : « la dénomination « lait », sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache ». Tout lait provenant d'une femelle

laitière autre que la vache doit être désigné par la dénomination « lait » suivie de l'indication de l'espèce mammifère dont il provient ». Par exemple : lait de chèvre, lait de brebis ou encore lait de femme.

III.2. Organoleptique

Le lait est un liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en β carotènes. Il a une odeur plus marquée, mais caractéristique. Son goût, variable selon les espèces animales, est agréable et douceâtre.

III.3. Propriétés physiques du lait

Le lait est un système complexe. C'est une suspension colloïdale de particules dans une phase aqueuse dispersant, les particules sont d'une part, des globules de matière grasse, et d'autre part des micelles protéiques formées par l'interaction de la caséine, et d'autres protéines entre elles, et avec les sels minéraux présents dans la phase aqueuse. Le tableau I.I.1 présente les caractéristiques physiques du lait [10].

Tableau I.I.1 : Caractéristiques physiques du lait.

Densité	1,028 à 1,036
pH (à 20°C)	6,6 à 6,7
Acidité titrable (°D)	15 à 18
Température de congélation (°C)	-0,51 à -0,55

III.3.1. Densité

La densité du lait varie selon l'espèce [11]. Elle est corrélée à son teneur en matière sèche. La densité est faible pour le lait qui a moins de matière sèche, Elle est déterminée par la teneur en extrait sec dégraissé et en matière grasse. En comparaison avec d'autres espèces, la densité du lait de vache qui est de 1,030 à 1,035, est proche de celle du lait de chèvre (1.027 à 1.035), mais elle est inférieure à celle du lait de brebis (1,0377), et de dromadaire (1,0384).

III.3.2. pH

Le pH donne une idée sur l'état de fraîcheur du lait. Il renseigne sur l'activité des bactéries lactiques qui transforme une partie du lactose en acide lactique. Ceci entraîne une diminution du pH suite à l'augmentation de la concentration des ions hydronium $[H_3O^+]$ dans le lait. Le pH des laits des différentes espèces varie entre 6,5 et 6,8. Pour le lait des vache, Alais [11] a rapporté des valeurs allant de 6,6 à 6,7 (Tableau I.I.1). En effet, le pH est influencé par plusieurs facteurs. A titre d'exemple, le pH varie en fonction du stade de lactation : il diminue vers la fin du cycle suite à l'augmentation de la teneur en caséine et en phosphate.

III.3.3. Acidité titrable (Dornic)

La détermination de l'acidité du lait, est basée sur le dosage acido-basique. Elle consiste à neutraliser des composants acides du lait par la soude, en présence de phénolphtaléine [10]. Elle est exprimée en degrés Dornic ($1^\circ D$ correspond à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait). L'acidité étant relativement stable dans le lait, alors que son augmentation indique que le lait est suspecté. En effet, l'acidité Dornic mesure l'évolution de l'acide lactique du lait qui est sous l'action des microorganismes [12]. L'acidité Dornic d'un lait frais est comprise entre 15 et $18^\circ D$ (tableau I.I.1) [13]. Une acidité plus élevée, indique que le lait a été conservé dans de mauvaises conditions.

III.3.4. Point de congélation

La mesure du point de congélation (ou bien la température de congélation) du lait est une approche d'évaluation d'authentification du lait suite à un ajout d'eau [14]. Il est variable en fonction des conditions zootechniques, mais dans une plage limitée. Le point de congélation du lait selon Veisseyre (1979) est de $-0,55^\circ C$ à $-0,51^\circ C$ [15] (tableau I.I.1). Harding (1995) a signalé que le point de congélation d'un lait pur est de $-0,540^\circ C$, alors qu'il peut augmenter à $-0,486^\circ C$, après ajout de 10 % d'eau à ce lait [16].

IV. Composition du lait

IV.1. Composition du lait par rapport aux autres espèces laitières

Le lait est le produit le plus consommé et le plus étudié en nutrition humaine. En effet, La production mondiale du lait est assurée, en grande partie par les vaches (environ 90%) [17]. Les laits provenant des différentes mammifères, ont des caractéristiques communes et sont constitués des mêmes types de composants : eau, protéines, lactose, lipides et matières minérales. Cependant, les pourcentages de ces composants varient considérablement d'une espèce à l'autre. Le tableau I.I.2 représente la composition moyenne du lait des différentes espèces [18].

Tableau I.I.2 : Composition chimique moyenne du lait de différentes espèces en g/L.

	Matière sèche	Protéines	Lipides	Lactose	Calcium (Ca)	Phosphore (P)
Vache	132	35	38	50	1,25	0,95
Chèvre	115	34	35	45	1,35	1
Brebis	185	60	70	45	1,9	1,5
Jument	105	25	16	61	1	0,6
Femme	120	13	39	70	0,3	0,15

La composition des laits des espèces cités, varie fortement d'une espèce à l'autre. Cette variation peut être affectée par la nutrition, le stade de lactation, l'âge et la période de l'année. Le lactose, la matière grasse et les protéines sont très ré pondues chez toutes les espèces. Le lait de femme, est pauvre en calcium et en phosphore, alors que le lait de la vache est riche en ces éléments. Le lait de brebis est riche en lipides et en protéines, ce qui justifie son exploitation dans la production des fromages. En comparant à celle du Brebis, le lait de vache est composé de moins de lipides.

La composition du lait de Soja (ou bien jus de Soja) est très différente par rapport à celle du lait de vache. Le tableau I.I.3 représente la composition du lait de Soja, comparé à celle du lait [19].

Tableau I.I.3 : Composition du lait de soja comparée au lait (données au litre).

Composants	lait de soja	lait de vache
Eau (mL)	920	900
Matières protéiques (g)	37	35
Lipides (g)	21	38
Glucides (g)	14	50
Dont Lactose (g)	0	50
Calcium (g)	0	1 ,25

D'après ce tableau, le lactose est absent dans le lait de Soja. Par conséquent, ce dernier peut être consommé par les gens intolérant à ce composant. La teneur en matière grasse est relativement faible dans le lait de Soja, ce qui lui donne un intérêt supérieur dans l'alimentation équilibrée. Il est caractérisé par sa richesse en protéines et par l'absence du calcium [20].

IV.2. Composition physico-chimique du lait

Le lait est un milieu très complexe constitué de la matière azotée, des lipides, des sels, des glucides et des éléments à l'état de traces (majoritairement les vitamines et les enzymes). La variation de ces composants est en fonction de l'alimentation, de la race, de l'individu et du stade de lactation [21]. Le lait est une émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse. Il est constitué de nombreux éléments qui ont soit à l'état dissous, soit à l'état colloïdal. Le lait est constitué essentiellement de l'eau (87%) [20]. Le tableau I.I.4 représente les principaux constituants du lait.

Tableau I.I.4 : Les principaux constituants du lait

	Composition g/l	Etat physique des composants
Eau	900 à 910	Eau libre (solvant) + eau liée (3,7%)
Glucides	48 à 50	En solution
Lipides		
Matière grasse proprement dite	35 à 40	Emulsion des globules gras (3 à 5 microns)
Lécithine (phospholipides)	0,2 à 0,3	
Partie insaponifiable (stérols, carotènes tocophérols)	0,1 à 0,2	
Matière azotée		
Protéines	31 à 34	Suspension micellaire de phosphocaseinate de calcium (0,08 à 0,12 microns) solution (colloïdale)
caséine	26 à 29	
Protéines solubles (globulines, albumines)	3 à 6	
Urée	0,15 à 0,32	Forme colloïdal et cristalline
Sels	7 à 9,5	Solution ou état colloïdal (P et Ca) Sels de K, Ca, Na, Mg
<u>constituants divers</u> : (vitamines, enzymes, gaz dissous) ⇒ traces		

IV.2.1. Les lipides et matière grasse

La matière grasse est la fraction désignée par le terme de taux butyreux (TB). Elle est implicitement l'ensemble des substances lipidiques qui donnent des acides gras, par hydrolyse des esters. Alors que la matière grasse comprend des produits non lipidiques (entre 0,5 à 1 %) qui sont entraînés lors de l'élaboration du lait, grâce à leur liposolubilités. Donc le terme «matières grasses» n'est pas synonyme du terme «lipides». La matière grasse obtenue par des procédés mécaniques (écrémage par centrifugation) constitue le contenu des globules gras. De ce fait, elle contient des composés liposolubles qui ne sont pas de vrais lipides (substance lipoïde). Ils sont soit des hydrocarbures (comme le carotène), soit des alcools (le cholestérol et la vitamine E) et soit des vitamines liposolubles (A, D, K) [17]. La matière grasse est constituée de plus de 98% des lipides (partie saponifiable). Cette partie est constitué de deux entités : les phospholipides (lipides complexe) et les glycérides (lipides simples).

La méthode acido-butyrométrique de Gerber est la méthode classique pour déterminer la teneur en matière grasse [22]. Cette teneur est considérablement variée en fonction de l'alimentation, du génotype de la femelle laitière et du stade de lactation. Le tableau I.I.5 détaille à la fois la teneur (par 100 g de matière grasse) et la localisation principale des lipides du lait [17].

Tableau I.I.5 : Constituants lipidiques du lait et leurs localisations.

Constituants lipidiques	Proportions (g/100 g de MG)	Localisation
Triglycérides	96-98	Globule gras
Di glycérides	0,3-1,6	Globule gras
Mono glycérides	0-0,1	Globule gras
Phospholipides	0,2-1,0	Membrane du globule gras et lactosérum
Cérébrosides	0-0,08	Membrane du globule gras
Stéroïdes	0,2-0,4	Globule gras
Acides gras libres	0,1-0,4	Membrane du globule gras et lactosérum
Esters du cholestérol	Traces	Membrane du globule gras
Vitamines	0,1-0,2	Globule gras

La matière grasse est constituée de 96 à 98% des triglycérides. Les lipides sont dispersés dans le lait sous forme de globules gras. Ces derniers sont limités par une membrane constituée de polypeptides, de triglycérides et de lipides complexes. La stabilité des globules gras est assurée par cette membrane lipoprotéique qui est fragile et sa rupture peut avoir lieu, soit par agitation, soit par réfrigérations répétées et acidification. Comme elle peut subir une lipolyse sous l'action des lipases. Par conséquent, la matière grasse est libérée suite à une déstabilisation de l'émulsion.

IV.2.1.1. Les glycérides

Les glycérides constituent la majorité des matières grasses du lait et sont des esters d'acides de glycérol qui est un triol à triple fonction, capable d'estérifier trois acides gras. Il est préférable d'avoir une idée sur la structure et les caractéristiques relative à leur comportement au cours des traitements et aussi pour l'évaluation des propriétés nutritionnelles du lait et des produits laitiers. Les triglycérides peuvent être simples (acides gras sont identique) ou mixtes (un acide gras, deux ou les trois sont différents). La quantité et la nature de chaque acide gras dans les glycérides sont les facteurs qui affectent les propriétés des glycérides.

IV.2.1.2. Les acides gras

Les acides gras sont généralement des chaînes d'hydrocarbures qui se terminent par une fonction carboxylique. La composition du lait en acides gras est donnée par le tableau I.I.6 [23].

Tableau I.I.6 : Distribution des principaux acides gras du lait en %.

Acide gras	Nomenclature	Moyenne
Butyrique	C4:0	3,6
Caproïque	C6:0	2,3
Caprylique	C8:0	1,3
Caprique	C10:0	2,7
Laurique	C12:0	3,3
Myristique	C14:0	10,7
Pentadecanoïque	C15:0	1,2
Palmitique	C16:0	27,6
Stéarique	C18:0	10,1
Arachidique	C20:0	0,2
Mono insaturés		
Myristoléique	C14:1	1,4
Palmitoléique	C16:1	2,6
Oléique	C18:1	26
Polyinsaturés		
Non conjugués		
Linoléique	C18:2	2,5
Linoléique	C18:3	1,4
Arachidonique	C20:4	0,3
Conjugués		
Diène	C18:2	0,8
Polyènes	C18,20,22:3 et4	traces

IV.2.1.3. Les phospholipides

Les phospholipides sont des lipides complexes qui ont une double fonction hydrophile et lipophile qui les confère le caractère des agents émulsionnants efficaces, très sollicités dans l'industrie alimentaire. Ces composés contiennent, en plus d'un alcool et des acides gras, un acide phosphorique et une base azotée. Dans le lait, on distingue les lécithines, les céphalines et les sphingomyélines [23].

IV.2.2 Variation de la teneur en matière grasse (variation du TB)

Le taux butyreux (TB) varie considérablement [16] :

- en fonction de la race et de la génétique de la vache.
- en fonction du stade de lactation. Au cours d'une lactation, le TB varie en sens inverse de la quantité journalière de lait produit, et c'est au pic de lactation que le TB est le plus faible.
- Au cours de la traite, c'est pourquoi la définition légale du lait précise que le lait est le produit de la traite intégrale.
- En fonction de la photopériode. Le TB est plus faible en été lors des jours les plus longs et vis versa.
- Et enfin en fonction de l'alimentation ; tous les facteurs alimentaires qui peuvent conduire à une acidose ruminale (excès d'amidon, déficit en cellulose brute, défaut de fibrosité, défaut de transition alimentaire) peuvent provoquer une chute du taux butyreux. les aliments riches en sucres simples (betteraves, mélasse, lactosérum, et dans une moindre mesure l'ensilage de maïs) augmentent la production ruminale de butyrate, ce qui est très favorable à de bons TB, sauf si sont distribués en excès (ce qui conduit une acidose).

IV.2.3. Les glucides

Le lactose est un sucre caractéristique du lait. Il constitue essentiellement les glucides dans le lait, dont il est le plus abondant dans la matière sèche. Le lactose est un di-oside formé de galactose et du glucose (figure I.I.1). On peut le trouver sous l'une ou l'autre des formes isomériques α ou β . Ces deux isomères possèdent des propriétés différentes en termes de rotation, de cristallisation et de solubilité. Le glucose et le galactose peuvent être présents dans le lait en quantité négligeable (0,1g/L). Ces deux oligosaccharides proviennent de la dégradation du lactose.

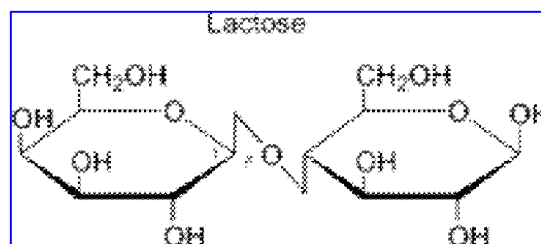


Figure I.I.1 : Structure moléculaire du lactose.

La teneur en lactose présente de faibles variations à la différence de la teneur en matière grasse. La glande mammaire est responsable de son synthèse à partir du glucose prélevé du sang. L'apport énergétique du lactose est faible (30%), alors que les recommandations théoriques préconisent un apport de 50 à 60% de calories glucidiques. Le lactose est un nutriment particulier, qui intervient également dans la fermentescibilité. Son pouvoir sucré est faible par rapport à celle du saccharose. Il est arbitrairement de 100% pour le saccharose, alors que celle du lactose atteint environ de 27 à 39%.

Le tube digestif du jeune animal, utilise seulement le lactose, car il ne possède que la lactase et pas de saccharase, ni maltase et pas d'amylase. Le lactose peut être difficilement digéré par certaines personnes suite à un problème d'activité de la lactase. Récemment, Certains industriels ont lancé un lait allégé en lactose dans le marché. Ce lait contient 90% de lactose en moins qu'un lait normale, ce qui permet aux consommateurs de continuer à boire du lait sans avoir des complexités liés à cette intolérance [19].

IV.2.4. Matières azotées totales (MAT)

Le taux protéique (TP) est un indicateur de la qualité du lait. Sa teneur et celle du taux butyreux déterminent la valeur marchande du lait. Ce dernier sera payé en fonction de sa teneur en TP. Le prix du lait sera important, si le TP est élevé. De même un TP élevé, améliore le rendement de transformation fromagère [25]. L'azote totale est constitué des protéines (taux protéique) et la matière azotée non protéique. L'azote protéique et non protéique sont incomparable, ni quantitativement ni qualitativement, ainsi que ces deux groupes d'azotes sont déterminées par la méthode de Kjeldahl [26,27]. La composition moyenne et la distribution de la matière azotée du lait cru est donnée par le tableau I.I.7

Tableau I.I.7 : Composition moyenne et distribution de la matière azoté du lait cru.

Protéines	Moyennes absolues (g/litre)	Moyennes relatives (%)
Matières azotées totales	34	100
Protéines	32	94
<i>Protéines non solubles ou caséine entière</i>	26	82
caséine α	12	46
caséine β	9	35
caséine k	3,5	13
caséine γ	1,5	6
<i>Protéines solubles</i>	6	18
α -lactoglobuline	2,7	45
β -lactalbumine	1,5	25
Sérum-albumine	0,3	5
Globulines immunes	0,7	12
Protéoses peptones	0,8	13
Substances azotées non protéiques	2	6

IV.2.4.1. Protéines du lait

La matière azotée d'origine protéique représente 94% de la matière azotée totale. Alors que les 6% restants comporte essentiellement de l'urée, de la créatinine, de l'acide urique, des acides aminés libres et des petits peptides. Les protéines sont composés soit d'enchaînement d'acides aminés (β -lactoglobuline, lactalbumine), soit d'acides aminés et d'acide phosphorique (caséines α et β) avec parfois une partie glucidique (caséine k).

La séquence d'enchaînement des acides aminés qui entrent dans la composition des protéines, leur donne à chaque protéine des propriétés intrinsèques.

Les protéines du lait forment un édifice complexe, comportant 80% de caséines et 20% de protéines solubles (lactalbumines, lactoglobulines, sérum albumines et immunoglobulines) [28].

Les origines de ces protéines sont différentes. Généralement, 10% des protéines du lait (lactalbumines, sérum albumines et immunoglobulines) viennent d'une manière directe du sang, alors que, 90% de ces constituants sont synthétisées par la mamelle. Les lactoglobulines sont des protéines sanguines modifiées au niveau de la mamelle, tandis que, les caséines sont synthétisées par la mamelle.

➤ Les protéines non solubles ou caséines

Les protéines non solubles sont présents dans le lait sous forme d'un complexe organique des caséines uni entre eux par des ponts de $(PO_4)_2Ca_3$. La micelle (figure I.I.2) se présente en suspension stable, grâce à l'effet des charges négatives et de groupements glucidiques hydrophiles. Les caséines (tableau I.I.7) sont les protéines du lait, qui ne sont pas chargées globalement. A pH 4.6, elles forment des floques se séparant de la phase aqueuse : c'est la coagulation acide. Par contre, le pH n'a aucun effet sur les protéines solubles. Ces derniers restent dans le lactosérum à l'état soluble à une valeur de 4,6 [29].

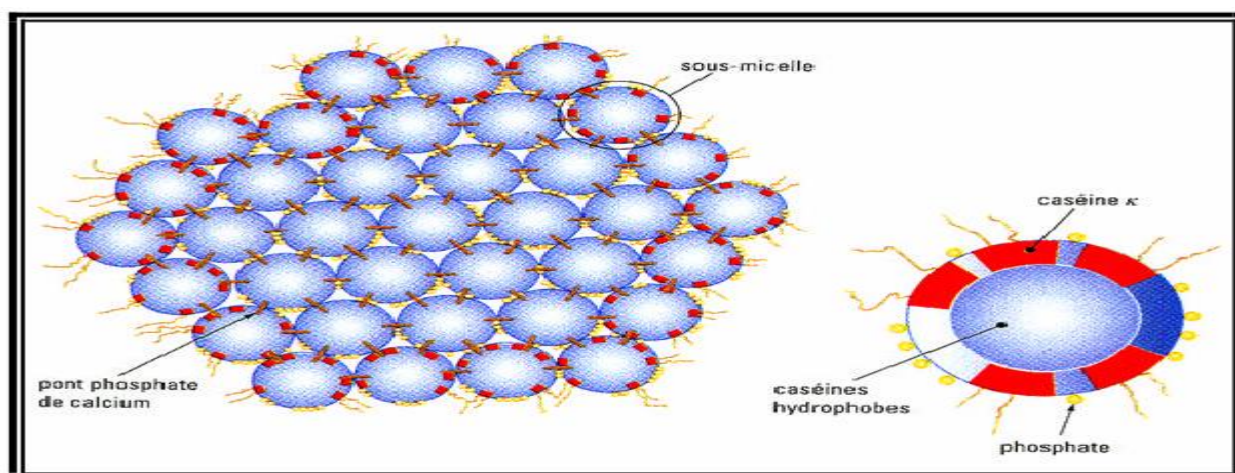


Figure I.I.2 : Schéma de micelle caséique

➤ Protéines solubles (Les protéines du sérum)

Si on élimine la caséine du lait par une méthode de précipitation sous l'effet, par exemple, d'un acide minéral, les protéines du lactosérum (protéines solubles) restent dans la solution. Elles ne sont pas dénaturées par la chaleur, elles ne s'agrègent pas à leurs points isoélectriques. Alors que, sous l'effet de polyélectrolytes, elles se précipitent.

Les techniques d'extraction des protéines du sérum nécessitent des substances spéciales ou une combinaison de chaleur et des conditions du pH [16].

Le chauffage du lait dénature certaines protéines du sérum. Par conséquent, ils forment des complexes avec la caséine, ce qui réduit l'effet de la présure sur la caséine, ainsi que sa capacité à lier le calcium. D'une manière générale, les protéines du sérum, et en particulier l' α -lactalbumine, ont des valeurs nutritionnelles très élevées. Leur composition en acides aminés est comparable à ce qui est considéré comme un optimum biologique. L'utilisation des dérivés des protéines du sérum de fromagerie est très répandue dans l'industrie alimentaire.

IV.2.4.2. Azote non protéique (ANP)

La teneur en azote non protéique (ANP) représente environ 6% de l'azote total. Elle reste faible dans le lait par rapport à celle du lait de chèvre [30]. L'azote non protéique comporte plusieurs composantes comme : des peptides, l'urée, des acides aminés libres, la créatine, la créatinine, l'acide urique, l'ammoniaque, des nucléotides, des polyamides, la carnitine, la choline et les amines hydroxylées [31].

IV.2.5. Intérêt nutritionnel

De point de vue qualité, les protéines de lait ont une valeur nutritionnelle élevée. Elles ont une bonne valeur biologique, autrement dit, un bon équilibre en aminoacides et une digestibilité très élevée (coefficient de digestibilité apparente est de l'ordre de 90 à 96%). Les protéines du lait sont indispensables et sont harmonisées à la croissance rapide, c'est le cas des très jeunes animaux. Les acides aminés soufrés sont de faible concentration dans les caséines, alors que ces derniers sont riches en acides aminés de la lactoglobuline et de la lactalbumine. Ces deux dernières protéines qui constituent la peau du lait sont éliminées, lorsqu'on chauffe et on filtre le lait. Le lait, comme tous les autres aliments d'origine animale, est riche en lysine.

IV.2.6. Variation de la teneur en matière protéique (TP)

Les protéines (TP) varient essentiellement :

- en fonction de la race.
- en fonction de la génétique.
- en fonction de la photopériode, le TP est plus faible en été lors des jours longs.
- en fonction de l'alimentation ; le principal facteur alimentaire est l'apport d'énergie.

Une diminution du taux protéique sera remarquée si les besoins énergétiques de l'animal ne sont pas respectés. Une sous-estimation d'alimentation totale provoque une chute du TP en plus d'une chute de la production laitière en termes de quantité, chez toutes les espèces. Chez la vache laitière, la richesse de la ration d'alimentation en énergie, stimule la synthèse protéique, par contre, une surdose d'apport en protéines alimentaires augmente le taux d'azote non protéique et n'augmente pas le TP.

IV.2.7. Minéraux et oligo-éléments

IV.2.7.1. Les minéraux

Les matières salines ou bien les minéraux [5] sont présents dans le lait à une concentration de 7 g/litre environ (Tableau I.I.8).

Tableau I.I.8 : Constituants majeurs des matières salines du lait (g/L).

Minéraux	concentration
Calcium	1,25
phosphore	1
Magnésium	0,12
Sodium	0.5
potassium	1,25
chlore	1
autres (soufre, citrate...)	1,8

Les plus réponsus en quantité différente, sont le calcium, le phosphore, le potassium et le chlore. Ces minéraux sont présents soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme colloïdale. Certains d'entre eux se trouvent seulement à l'état dissous sous forme d'ions : Sodium, Potassium et Chlore qui sont assimilés facilement par le corps. Alors que, les autres : Calcium, Phosphore, Magnésium et Soufre, sont présents sous les deux formes. Dans la partie soluble, sont présents soit, sous forme libre (les ions de calcium et magnésium), soit sous forme saline (phosphates et citrates), ou bien sous forme complexe (esters phosphoriques et phospholipides).

Dans la partie insoluble, les minéraux (calcium, phosphore, soufre et magnésium) sont liés à la caséine en formant des micelles.

IV.2.7.2. Les oligo-éléments

La concentration des oligo-éléments varie considérablement dans le lait. Au-delà de certaines limites, elle est un indicateur d'une contamination du lait. Ainsi qu'ils présentent un caractère toxique pour la santé et posent des problèmes en technologie laitière. Dans la littérature, la concentration en oligo-éléments du lait est seulement donnée à titre indicatif, car elle est influencée par divers facteurs. Les oligo-éléments sont présents sous forme inorganique. A l'exception du zinc et du fer, le cuivre et le manganèse sont de moindre biodisponibilité, du fait qu'ils sont très liés aux groupements phosphates de la caséine [32].

IV.2.8. Les vitamines

Les vitamines jouent un rôle essentiel dans la nutrition et sont présents en faible quantité [17]. D'une manière générale, les vitamines sont classées en deux grandes familles. Les vitamines B et C constituent le premier groupe. Ce dernier est nommée, vitamines hydrosolubles qui se trouvent essentiellement dans la phase aqueuse (lait écrémé, lactosérum). Le deuxième groupe comportant les vitamines A, D, E et K, est nommé vitamines liposolubles qui sont liées à la matière grasse (crème et beurre). La vitamine C, la vitamine A et la vitamine E sont les vitamines altérés pendant l'entreposage des produits laitiers. Alors que, la vitamine B2 est la plus sensible à la lumière (riboflavine). Sa destruction est rapide et peut être sévère dans le lait exposé directement au soleil intense, ainsi que les vitamines A, E, K, l'acide ascorbique et la

pyridoxine (B6) sont aussi affectés par la lumière. La couleur du lait et des produits laitiers est affecté par les carotènes (provitamine A) et la riboflavine (B2).

La liposolubilité de ces vitamines, les permet de passer lors du procédé d'écémage dans la crème et le beurre. Par conséquent, elles sont faiblement présentes dans les produits à base de lait écrémé. La concentration en vitamines du lait est donnée par le tableau I.I.9.

Certaines d'entre elles contribuent à la couleur du lait et des produits laitiers.

Tableau I.I.9 : Concentrations en vitamines du lait (mg/L).

Teneurs en vitamines	
Vitamines hydrosolubles :	
B1 (thiamine)	0,42
B2 (riboflavine)	1,72
B6 (pyridoxine)	0,48
B12 (cobalamine)	0,0045
Acide nicotinique (niacine)	0,92
Acide folique	0,053
Acide pantothénique	3,6
Biotine	0,036
C (acide ascorbique)	8
Vitamines Liposolubles :	
A	0,37
β -carotène	0,21
D (cholécalférol)	0,0008
E (tocophérol)	1,1
K	0,03

IV.3. Microbiologie du lait

Le lait contient normalement des microbes dès sa sortie de la mamelle, mais il est habituellement le siège de nombreuses contaminations intervenant au cours des manipulations qu'il doit nécessairement subir par la suite. Presque tous les germes peuvent proliférer très facilement dans le lait qui est un excellent milieu de culture. On peut classer la flore du lait en deux groupes :

- Flore d'intérêt technologique telle que : Bactéries lactiques : qui sont désirables et surtout dans la fabrication de yaourt et de fromage. (*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helvelus*).

- Flore d'intérêt hygiénique :

Flore pathogène : Elle peut proliférer dans le lait à la suite de contaminations provenant soit de l'homme soit de l'animal. Les premières sont responsables de la présence des *Salmonella typhi* et *Paratyphi*..., les secondes sont à l'origine de la présence de *mycobactérium tuberculosis*.

Flore d'origine fécale : Dans cette catégorie, on trouve les Entérobactéries qui sont du gram négatif, elles sont surtout représentées dans les produits laitiers par les bactéries dis coliformes, en raison de leur origine fécale, leur présence est un indicateur de pollution.

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont généralement Gram positives, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes, et ne possédant pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudocatalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) [33]. Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytique qui, en utilisant les glucides, elles peuvent produire soit de :

- L'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes).
- L'acide lactique et l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives).
- L'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et de CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes).

V. Beurre

V.1. Introduction

Le beurre est un aliment fabriqué à partir de la matière grasse du lait, sans additif dans les procédés traditionnels. Dans les climats tempérés, le beurre se trouve à l'état solide mou et jaunâtre qui fond sous l'effet de la chaleur. Le terme « beurre » est utilisé pour indiquer certaines matières grasses alimentaires, comme le beurre de cacao. Selon la réglementation [34], le beurre contient au moins 82% (p/p) de matière grasse et 16 à 18% d'eau, selon le salage (salé ou non). Le beurre contient aussi les vitamines A et D qui sont liposolubles. La couleur du beurre varie en fonction de la composition en caroténoïdes.

Les beurres sont généralement classés en deux catégories principales : beurre de crème douce et beurre de crème acide ou maturé, fabriquée à partir de crème acidifiée bactériologiquement.

V.2. Production traditionnelle du beurre

Le Beurre et Lben sont les résultats de la fermentation du lait. La préparation du beurre demeure très simple au stade traditionnel ou familial [35]. Le lait subit une fermentation spontanée après l'avoir abandonné jusqu'à sa coagulation. Cette opération est réalisée à température ambiante pendant 48 à 72 heures suivant la saison. Puis on procède au barattage, qui consiste à séparer la matière grasse du lait sous l'action du mouvement mécanique. Généralement après avoir fini le barattage, on ajoute un certain volume d'eau, chaude ou froide, suivant la saison, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau adéquat pour rassembler les grains de beurre [36]. La figure I.I.3 représente la production traditionnelle du beurre.

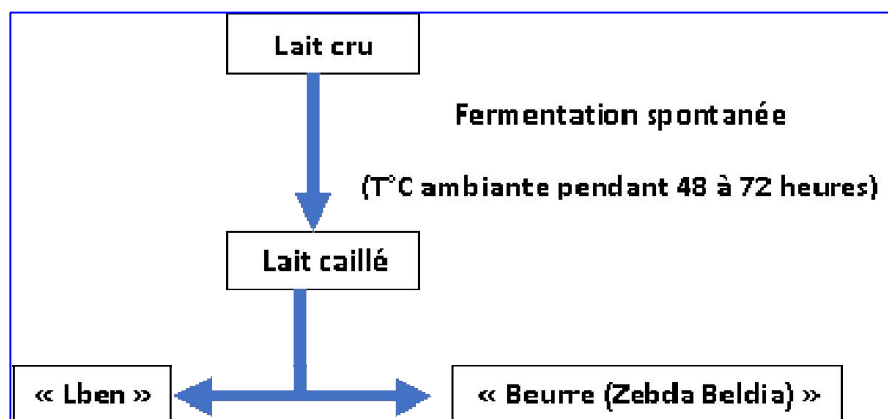


Figure I.I.3 : Schéma de procédé traditionnel du beurre

V.3. Fabrication industrielle du beurre

Généralement, le beurre est classé soit en fonction [37] :

- ❖ De la crème utilisée et on distingue deux catégories principales :
 - Beurre de crème douce
 - Beurre de crème acide ou mûré, fabriquée à partir de crème acidifiée bactériologiquement.
- ❖ Du salage et dans ce cas, le beurre est classé selon sa teneur en sel (non salé, salé et extra salé).

Le beurre a été produit à partir de crème acidifiée naturellement. Jusqu'au milieu du 19^{ème} siècle, le beurre est fabriqué d'une manière manuelle à l'aide des barattes.

Le développement des techniques du froid rend possible de séparer la crème avant qu'elle soit acide et de produire le beurre à partir de crème douce.

L'introduction du séparateur (en 1878) dans l'industrie laitière, a permis de séparer la crème du lait facilement et rapidement. La qualité du beurre et le rendement sont améliorés grâce à l'invention du pasteurisateur, l'utilisation de ferments purs et l'introduction de machines à la fin du 19^{ème} siècle.

Généralement, les procédés de fabrication industriels du beurre impliquent de nombreuses étapes. L'origine de la crème utilisée est soit un surplus de crème d'une laiterie fournissant du lait de consommation ou soit elle est séparée du lait entier à l'usine.

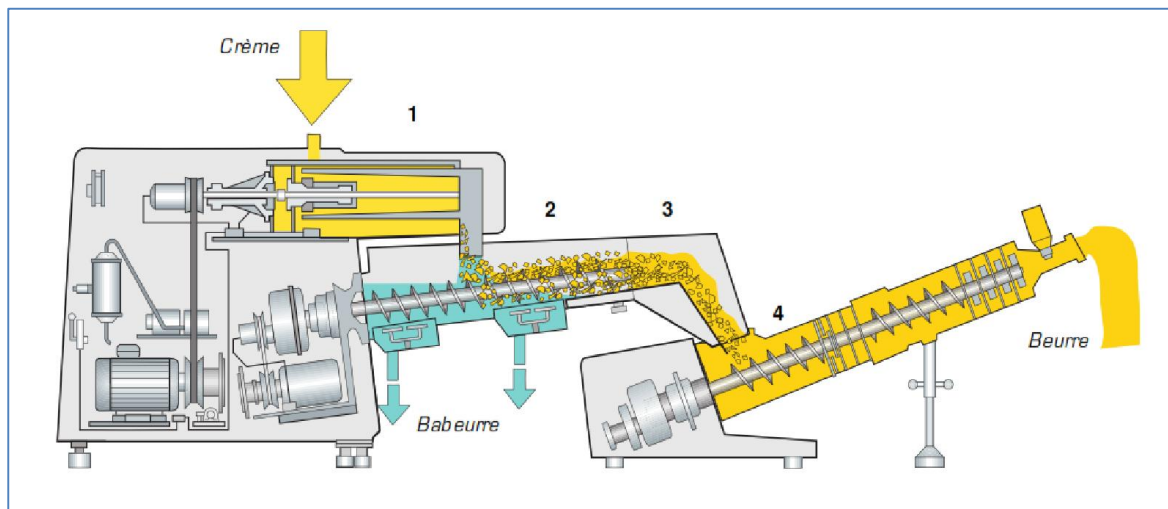


Figure I.I.4 : Schéma du procédé industriel du beurre.

La figure I.I.4 présente une vue en coupe d'un butyrateur. Au début, la crème est introduite dans un cylindre de barattage **(1)**, équipé de battes contrôlées par un variateur de vitesse. La transformation rapide est faite au niveau du cylindre. Ensuite, les grains de beurre et le babeurre sont transportés vers la zone de séparation **(2)** pour les séparer. Ensuite, le beurre traverse la zone de compression-séchage qui est un canal conique et une plaque perforée **(3)**, pour éliminer le babeurre restant. Enfin, Les grains de beurre passent dans la zone de malaxage **(4)**.

Il est possible d'instaurer à la sortie de la machine des capteurs d'humidité, de teneur en sel, de densité et de température. Les signaux engendrés peuvent servir à la surveillance de ces paramètres. Le beurre fini sort de la buse d'extrémité sous la forme d'un ruban continu qui passe dans le silo à beurre pour être conditionner.

VI. Références

- [1] Steijns M. Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix. *International Dairy Journal*, 18 (2008) 425–435.
- [2] Drewnowski A. Concept of a nutritious food: Towards a nutrient density score. *American Journal Clinical Nutrition*, 82 (2005) 721–732.
- [3] Takahiro M., Nobuhiko K. and Toshinao G. Milk consumption does not affect body mass index but may have an unfavorable effect on serum total cholesterol in Japanese adults. *Nutritional Res.*, 27 (2007) 395–399.
- [4] Steijns J.M. Milk ingredients as nutraceuticals. *International Journal of Dairy Technology*, 54 (2001) 81–88.
- [5] Sraïri M. Dairy cattle systems in Morocco as affected by structural adjustment policies. Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n°78, CIHEAM / CITA / CITA, 2 (2006) 149-154.
- [6] Courtet L.F. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras, voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France (2010).
- [7] Ait El Mekki A. La filière lait et les produits laitiers au Maroc, *Presses de Sciences Po, CIHEAM Mediterra*. Chapitre 11 (2007) 291-311.
- [8] Sraïri M. Typology of dairy cattle farming systems in Rabat-Salé Suburban region, Morocco. *Archivos de Zootecnia*. 52 (2003) 47 - 58.
- [9] Agence pour le développement agricole. L'agriculture marocaine en chiffres, (2012) 5-29.
- [10] Goursaud J. Composition et propriétés physicochimiques. In : Luquet, F.M : Laites et produits laitiers. *Ière éd. Paris, Technique et documentation Lavoisier*, 1 (1985) 1- 90.
- [11] Alais C. Science du lait- principes des techniques laitières. Paris, *Editions Sepaic*. 4c éd. (1984) 1-814.
- [12] Nickerson S. Milk production: factors affecting milk composition. In: Milk Quality (ed. F. Harding), *Blackie Academic and Professional*, London, (1995) 3-24.
- [13] Hamama A. Préparation du fromage frais à partir du lait recombinaé. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)*, 15 (1995) 21- 26.
- [14] Parcuel P., Corrot G. and Sauvee O. Variations du point de congélation et principales causes du mouillage du lait de vache. *Renc. Rech. Ruminants*, 1 (1994) 129 -132

- [15] Veisseyre R. La technologie du fromage, 3^{ème} Edition, la maison Rustique, Paris, (1979) 714.
- [16] Afif A. Caractérisation de la qualité du lait cru de la région de Tadla : Approches physico-chimiques. *These de doctorat*, Université Sultan Moulay Slimane ; FST Beni Mellal, Maroc (2008).
- [17] Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, *Collection FAO: Alimentation et nutrition*, n° 28 (1998) ISBN 92-5-20534-6.
- [18] Leymarios F. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras, voies d'amélioration par l'alimentation. *Thèse de doctorat*, école nationale vétérinaire d'Alfort (2010).
- [19] Chouraqui P. et Darmaun D. Utilisation des préparations à base de protéines de soja chez le nourrisson et l'enfant, *Médecine & enfance, CAHI*, n°8, 25 (2005) 491-494.
- [20] Grappin R. et Lefier D. La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques : *Chapitre 21 : Analyses du lait et des produits laitiers. TEC & DOC, New York*, (2000) 501-535.
- [21] Amiot J., Fournier F., Lebeuf Y., Paquin P. et Simpson R. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait : Science et technologie du lait. *Presses internationales Polytechnique, Montréal*, 164 (2002) 1- 73.
- [22] ISO 488:2008 (IDF 105:2008) Lait -- Détermination de la teneur en matière grasse -- Butyromètres Gerber, (2008).
- [23] Lemens P. Propriétés physicochimiques, nutritionnelles et chimiques. In: Lait et produit laitiers: Vache, brebis, chèvre. *Ed. Luquet F.M., Tech et Doc. (Lavoisier) Paris- France* (1985) 354-367.
- [24] Yang S.T. and Silva E.M. Novel Products and New Technologies for Use of a Familiar Carbohydrate, Milk Lactose. *Journal of Dairy Science*, Volume 78, Issue 11, (1995) 2541-2562.
- [25] Barbano D.M. and Sherbon J.W. Cheddar cheese yields in New York. *Journal of Dairy Science*, 67 (1984) 1873- 1883.

- [26] ISO 8968-3:2004 (IDF 20-3: 2004) Lait -- Détermination de la teneur en azote -- Partie 3: Méthode de minéralisation en bloc (Méthode de routine semi-micro rapide), (2004).
- [27] De Lourdes F. and Martins G. Is it possible to screen for milk or whey protein adulteration with melamine, urea and ammonium sulphate, combining Kjeldahl and classical spectrophotometric methods? *Food Chemistry*, 141 (2013) 3649-3655.
- [28] Ian Mather H. A Review and Proposed Nomenclature for Major Proteins of the Milk-Fat Globule Membrane. *Journal of Dairy Science*, 83 (2000) 203-247.
- [29] Dalgleish D.G. Casein micelles as colloids: surface structures and stabilities. *J. Dairy Science*, 81 (1998) 3013- 3018.
- [30] Olalla M., Ruiz-López D. and Miguel N . Nitrogen fractions of Andalusian goat milk compared to similar types of commercial milk. *Food Chemistry*, 113 (2009) 835-838.
- [31] Atkinson S., Schnurr M., Donovan M. and Lonnerdal B. Protein and non protein nitrogen in human milk. *Eds Atkinson S.A., Lonnerdal B., CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA*, (1989) 117- 133.
- [32] Khan N., In Seon J., Hwang M., Kim S., Sung H., Y Choi., Su Park K., Su Kim K., and Yeong N. Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chemistry*, 147 (2014) 220-224.
- [33] Hermier J., Lenoir J. et Weber F. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Edition CEPIL, Paris (1992).
- [34] Décret n° 2 - 13 du 19 Rejeb 1416 (12 décembre 1995) relatif à la vente des beurres, saindoux et matières grasses alimentaires (B.O. N° 4338 du 20 .12. 1995).
- [35] Ouadghiri M. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine. *Thèse de doctorat*, Université Mohammed V–Agdal Faculté des sciences, Rabat, Maroc (2009).
- [36] Benkerroum N. and Tamime A.Y. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Lben, Jben, and Smen) to small industrial scale. *Food Microbiol.* 21 (2004) 399–314.
- [37] Lapointe C.V. Science et technologie du lait: transformation du lait, Ecole polytechnique Montréal, Ed.2002.

Chapitre II :

**La spectroscopie infrarouge, la
chimométrie et leurs applications**

I. Introduction

Le principe de base de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est fondé sur l'absorption par le matériau à analyser, d'un rayonnement infrarouge. Elle permet par la mise en évidence des vibrations spécifiques aux liaisons chimiques, de renseigner sur les groupements fonctionnels présents dans la matière. En général, les méthodes spectroscopiques sont basées sur des aspects physiques pour caractériser la matière. La spectroscopie vibrationnelle s'intéresse à l'étude de l'interaction des ondes électromagnétiques excitateurs et des molécules constituant la matière dans le domaine d'ultraviolet, du visible et d'infrarouge [1]. Le développement des instruments de mesure a évolué l'exploitation des spectres infrarouge. L'usage de la spectroscopie infrarouge et son évolution sont fortement liés au développement instrumental [2]. Ce développement a permis de mieux détecter ce rayonnement et d'obtenir une réponse d'une manière de plus en plus rapide. Dans les années 1900, Coblentz et après avoir enregistré la transmittance de très nombreuses molécules chimiques, a prononcé des hypothèses sur les groupements fonctionnels qui entrent dans la structure moléculaire [3]. Le développement des équipements de la détection et la mesure de la lumière infrarouge a lieu au 20^{ème} siècle. La spectroscopie infrarouge renseigne sur les groupements fonctionnels, mais elle peut être avantageusement combinée aux méthodes chimiométriques pour extraire de l'information cachée dans les spectres infrarouge.

La chimiométrie peut être définie comme la discipline qui exploite l'application des méthodes mathématiques et statistiques pour traiter de l'information expérimentale. La mise en application de ces méthodes est devenue possible grâce au développement des outils informatiques.

Les objectifs de cette discipline sont multiples : La description et l'exploration des données, la classification, la modélisation et l'optimisation des conditions expérimentales. Les méthodes exploratoires ont pour objectif, la description des données. Elle est basée sur des méthodes élémentaires (la moyenne et l'écart type) ou des méthodes multidimensionnelles (analyse en composantes principales). Le but des méthodes de régression, en premier temps, est d'élaborer un modèle pour décrire la relation entre des variables explicatives (Exemple de données spectrales) et des variables à expliquer (exemple de vecteur de concentrations) et à la

fin de prédire à partir des données explicatives, les valeurs de la variable à expliquer pour de nouveaux échantillons. L'élaboration des modèles permet de remplacer la méthode classique dite de référence.

La nomination « chimiométrie » est d'origine anglaise « chemometrics », jeune discipline reliant au départ, analyse de données dans la chimie analytique. Actuellement, il recouvre l'application des méthodes statistiques et de l'informatique à l'ensemble des données, soit de la chimie, de la physique, des sciences de la vie et de l'économie.

Il est préférable souvent d'utiliser le terme « d'analyse multi variées » pour recouvrir l'ensemble des données des différents domaines qui peuvent être sujettes d'application. Ce terme est moins restrictif que la chimiométrie. En général, les données (données spectrales) brutes acquises, n'ont pas la forme adéquate pour appliquer des traitements ultérieurs. Dans la plupart des cas, un prétraitement des données doit être appliqué avant l'application des méthodes chimiométriques.

II. La Spectroscopie Infrarouge

II.1. Aperçu historique

En revenant sur les 300 dernières années, nous remarquons que le rayonnement infrarouge lui-même est resté inconnu jusqu'à 1800, quand l'expérience de Herschel avec thermomètre et prisme a été signalée. Sir W. Herschel a fait une importante découverte de la lumière infrarouge, le 11 Février 1800. Il a étudié la diffraction du spectre de la lumière du soleil avec un prisme. Herschel a construit un monochromateur brut qui a utilisé un thermomètre comme un détecteur, afin qu'il puisse étudier la diffraction de la lumière du soleil. Il a constaté que la température la plus élevée était en dessous du rouge, ce que nous appelons maintenant l'infrarouge. La mise au point d'instruments de détection du rayonnement infrarouge par H. Rubens, professeur à l'université de Berlin, est très considérablement apprécié pour la caractérisation de ce rayonnement. Le développement relatif à la lumière était parallèle avec des études qui s'intéressent par l'interaction de la matière avec des ondes électromagnétiques : c'est le début de la spectroscopie [4].

Ces études s'articulent autour de l'émission et l'absorption atomique et en 1885, la caractérisation du spectre de l'atome d'hydrogène par Balmer qui a observé quatre raies lumineuses. En 1913, le physicien Niels Bohr a été le premier à postuler une théorie décrivant les spectres de raies observées dans la lumière émises d'une lampe à décharge de l'hydrogène. Il est basé sur ces observations pour suggérer que les atomes perdent ou gagnent de l'énergie sous la forme de « quanta ». Les théories relatives à la lumière ont connus une très forte évolution dans les années 1900, avec le concept du corps noir, élaboré par Planck. Il a supposé qu'un oscillateur de fréquence naturelle ν ne pouvait donner ou recevoir de l'énergie que par paquet d'amplitude E . L'hypothèse de quantification de l'énergie est confortée par l'étude de l'effet photoélectrique (l'énergie cinétique d'électrons émis) à partir d'une surface métallique soumise à une lumière visible ou ultra-violet, est proportionnelle à la fréquence de la lumière et non à son intensité. Albert Einstein a expliqué ce phénomène en 1905, en postulant que l'énergie d'un faisceau lumineux est liée à son fréquence selon l'équation (1) :

$$\text{Equation (1) : } E = h.\nu$$

Avec : h est la constante de Planck et ν est la fréquence de la lumière.

II.2. Principes de base de la spectroscopie Infra Rouge

II.2.1. Natures et propriétés des radiations infrarouges

La radiation électromagnétique comporte le caractère de dualité onde-corpuscule. La fréquence (ν) de vibration est la caractéristique ondulatoire du rayonnement. La longueur d'onde λ est la distance parcourue pendant une période de vibration de la source. Le concept quantique (corpuscule) permet de décrire les interactions énergétiques de la lumière avec la matière au niveau moléculaire. Une radiation lumineuse a des comportements des corpuscules appelés photons. Ces photons ont la capacité de transporter une quantité d'énergie finie en fonction de la fréquence de la radiation [5].

Le spectre électromagnétique [6] comporte différentes régions de rayonnement : les rayons gamma, les rayons X, l'ultraviolet, le visible, l'infrarouge, les micro-ondes et les ondes radios fréquences. De manière générale, les ondes électromagnétiques sont caractérisées par quatre grandeurs : la période, la fréquence, la longueur d'onde et le nombre d'onde.

La lumière infrarouge est un rayonnement électromagnétique comportant toutes les caractéristiques fondamentales de la lumière (propagation, réflexion, réfraction, interférences, diffraction, diffusion et polarisation). Les transitions d'énergie observées dans le domaine infrarouge sont de type vibrationnel. Par définition, la spectroscopie infrarouge s'intéresse aux vibrations des molécules lorsqu'elles sont soumises à une onde électromagnétique.

Le domaine infrarouge est sous divisé en trois régions selon la fréquence (Figure I.II.1) : Le proche infrarouge (PIR) (0,8 à 2,5 μm soit 12500-4000 cm^{-1}), le moyen infrarouge (MIR) (2,5 à 25 μm soit 4000-400 cm^{-1}) et le lointain infrarouge (25 à 1000 μm soit 400-10 cm^{-1}).

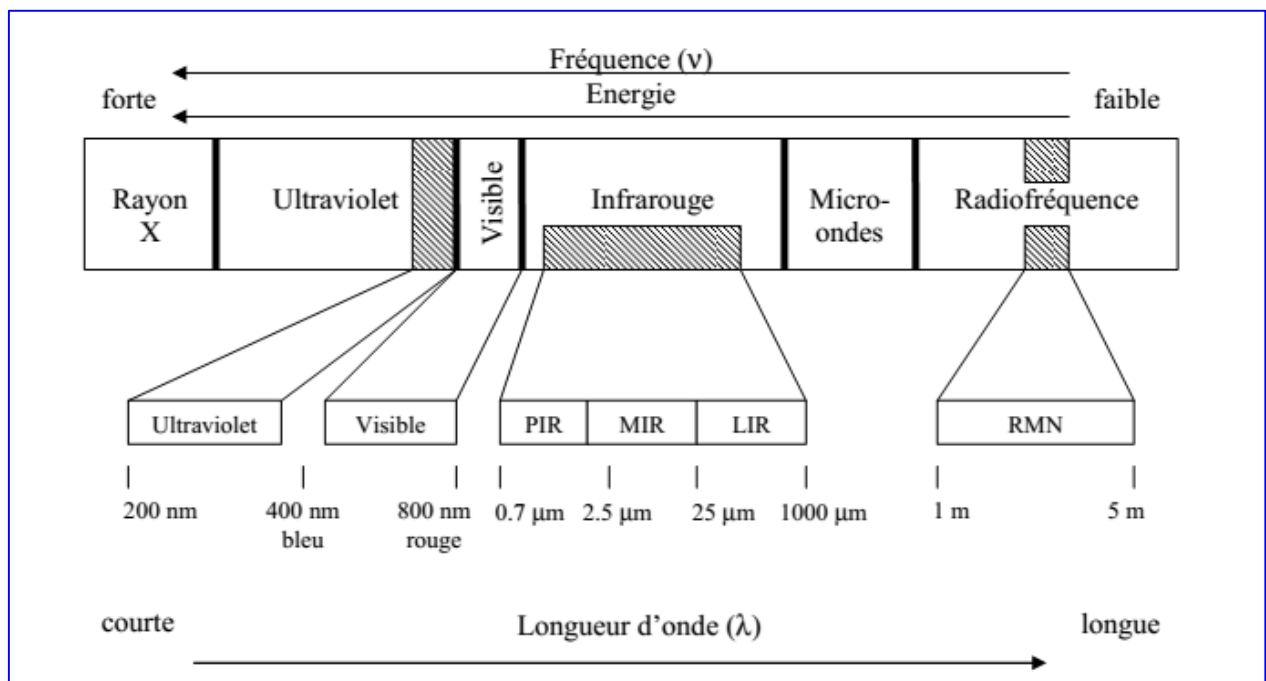


Figure I.II.1: Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique.

II.2.2. Fondements théoriques

La première formule reliant la vitesse de lumière c , la longueur d'onde λ et la fréquence ν d'un rayonnement en mouvement dans le vide, est donnée par l'équation (2) :

$$\text{Equation (2) : } \lambda = \frac{c}{\nu}$$

Les énergies qui constituent l'énergie interne d'une molécule (l'énergie éventuelle de translation, l'énergie de rotation, l'énergie de vibration et l'énergie électromagnétique) sont quantifiées. Elles ne prennent que des valeurs discrètes, et le photon émis sera absorbé par le matériau, s'il permet à la molécule constituant ce matériau de passer de l'état initial (E_1) à un état excité supérieur (E_2). Le photon apporte l'énergie $h\nu$ qui est exactement égale à la différence d'énergie (E_2-E_1) entre les deux états. Cette énergie est donnée par l'équation (3) :

$$\text{Equation (3) : } \Delta E = E_2 - E_1 = h\nu$$

Le rayonnement émis d'une manière continue, sera diminué à la fréquence (ν), et donc il est absorbé (apparition d'une bande d'absorption).

L'analyse en spectroscopie infrarouge est basée sur l'absorption d'une lumière émise par le matériau à analyser. Il en résulte une absorption d'énergie au niveau des différentes liaisons moléculaire. L'intensité de la lumière absorbée ou transmise suit la loi de Bér-Lambert, selon l'équation (4) :

$$\text{Equation (4) : } A = \text{Log}\left(\frac{1}{T}\right) = K.P.C$$

Avec : $T = \left(\frac{I}{I_0}\right)$; A : absorbance ou densité optique ; T : transmittance ; P : épaisseur ou trajet optique ; K : constante fonction de l'analyte (extinction molaire) et C : concentration de la matière absorbante.

Dans la phase des analyses, la mesure de l'intensité (I) se fait soit par rapport à l'air soit par rapport aux constituants de la matrice, excepté l'élément recherché. Dans ces conditions, l'absorbance est donnée par l'équation (5):

$$\text{Equation (5) : } A = \text{Log}\left(\frac{1}{T_{\text{éch}}}\right) - \text{Log}\left(\frac{1}{T_{\text{std}}}\right) = \text{Log}\left(\frac{T_{\text{std}}}{T_{\text{éch}}}\right)$$

Avec : T_{std} : Transmittance dans l'air ou le blanc (référence) et $T_{\text{éch}}$: transmittance dans l'échantillon

II.2.3. Vibrations des molécules

D'après Banwell, la spectroscopie vibrationnelle étudie la réponse de la matière lorsqu'elle est irradiée par des ondes électromagnétiques [7] dans le domaine d'ultraviolet, du visible et d'infrarouge. Lorsqu'une molécule est irradiée par la lumière, elle va absorber de l'énergie pour passer d'un état d'énergie dite initial à un état d'énergie excité dite supérieur. Les transitions qui sont observés au cours du phénomène d'absorption : une transition électronique caractérisé par le passage d'un électron à une orbite supérieure, une transition vibrationnelle où il y'a une augmentation de l'amplitude de vibration entre les atomes et une transition rotationnelle dont une modification de la vitesse de rotation des molécules sur elles-mêmes.

Les types de bandes de vibrations sont soit : des bandes fondamentales qui sont enregistrées dans le moyen infrarouge. Elles résultent du passage d'un niveau initial au premier niveau excité. Les bandes harmoniques se retrouvent dans le proche infrarouge. Elles correspondent au passage de l'état initial aux niveaux énergétiques supérieurs [8]. Les bandes de combinaison sont le troisième type et sont présents aussi dans le proche infra-rouge. Elles résultent soit de la somme ou de la différence de deux vibrations fondamentales.

La condition principale pour qu'une molécule interagisse avec un rayonnement infrarouge (IR) est que la molécule forme un dipôle. Ce dernier a lieu si la molécule comporte des atomes de charges différentes. Si c'est le cas, la molécule forme un dipôle continu et la liaison chimique est dite polaire. Le moment dipolaire μ est donné par l'équation (6) :

$$\text{Equation (6) : } \vec{\mu} = q \cdot \vec{d}$$

Avec : q est la charge absolue portée par chacun des deux atomes et d est la distance entre les atomes.

La molécule est qualifiée active en infrarouge s'il y a un changement du moment dipolaire. Les charges électriques des molécules homonucléaires (constituées de deux atomes identiques) sont les mêmes. Les centres de gravité des charges sont superposés. Dans ce cas, le moment dipolaire est égal à zéro même si la molécule est en vibration. Donc, la molécule est inactive en infrarouge.

Les bandes d'absorption sont apparus suite à la diminution de l'énergie de la lumière infrarouge, après avoir interagit avec la matière. Le MIR comporte la majorité des bandes d'absorptions. Les fréquences de vibration [9] sont en fonction de la masse réduite de la molécule (μ) et la constante de force de liaison (k), ainsi que d'autres facteurs à savoir, la conformation des molécules, l'électronégativité des atomes environnants, les liaisons d'hydrogène et les effets stériques. La figure I.II.2 représente les modes de vibrations moléculaires.

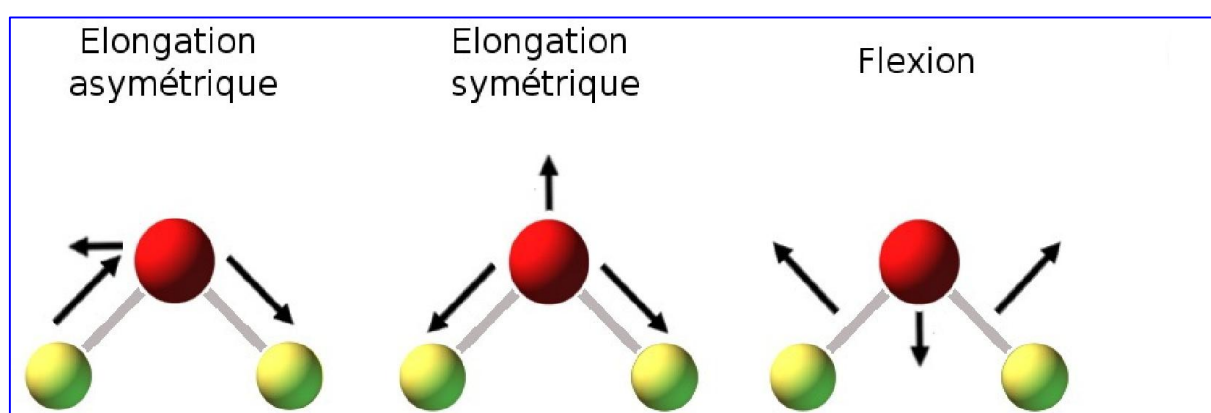


Figure I.II.2 : Modes de vibrations moléculaires.

Les variations vibrationnelles et rotationnelles sont les formes d'absorption des rayonnements infrarouge, au sein de la molécule. En général, deux types de vibrations peuvent être mis en œuvre :

- L'élongation où deux atomes s'éloignent l'un de l'autre.
- La déformation (flexion) provoque une modification des angles de liaison et qui comporte le cisaillement, le balancement, la rotation plane et la torsion.

Généralement, les élongations sont situées dans une gamme de nombres d'onde supérieure à celle des déformations [6]. Pour simplifier la présentation de la théorie vibrationnelle, on va voir en premier temps, le modèle le plus simple qui considère une molécule diatomique en vibration et ensuite d'étudier le modèle poly-atomique.

II.2.3.1. Le modèle diatomique

Le modèle diatomique se modélise par deux masses m_A et m_B constituant la liaison moléculaire. Dans ce cas, une élongation de la molécule est le seul mode de vibration possible. L'énergie de transition entre les niveaux de vibration peut prendre la valeur E donnée par l'équation (7) :

$$\text{Equation (7) : } E = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \left(N + \frac{1}{2}\right)$$

Avec : N est le nombre quantique de vibration ($N= 0, 1, 2, \dots$), k la constante de force de la liaison (en $N.m^{-1}$) et μ est la masse réduite exprimée en Kg, est donnée par l'équation (8) :

$$\text{Equation (8) : } \mu = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B}$$

Avec : m_A et m_B les masses des deux atomes de la liaison.

Il est admis que, les liaisons sont parfaitement élastiques dans ce modèle. Alors que, si l'amplitude des vibrations devient importante, ces liaisons peuvent se briser [6]. Par conséquent, la forme d'énergie E est donc sera plus compliquée que celle donnée par l'équation (7).

II.2.3.2. Le modèle poly-atomique

Dans le modèle poly-atomique, plusieurs modes de vibrations sont permis : L'élongation des liaisons, déformation des angles et la déformation hors plan.

Une molécule contenant N atomes a $3N-6$ degrés de liberté de vibration et $3N-5$ pour les molécules linéaires. Généralement, les liaisons moléculaires n'absorbent pas l'énergie lumineuse infrarouge, même si la fréquence de la lumière incidente correspond à la fréquence propre de la liaison. Seulement, les liaisons qui présentent un moment électrique dipolaire non nul sont actives dans l'infrarouge.

II.3. Attribution des bandes dans le moyen infra rouge

Généralement, le spectre MIR est constitué de bandes d'absorption qui provient des modes de vibration des groupements fonctionnels fondamentaux. L'interprétation des spectres est faite d'une façon empirique, autrement dit, elle consiste le plus souvent, à comparer les résultats obtenus avec ceux cités dans la bibliographie. Cette dernière est fondée essentiellement sur l'analyse des molécules isolées par spectroscopie MIR. La position des bandes est en fonction de la nature de liaison (vibrateur) et son environnement.

Les liaisons entre atomes plus lourds vibrent à plus basse fréquence, alors que les liaisons entre atomes légers vibrent à plus haute fréquence. Selon la loi de Hook (Equation (9)), la fréquence ν et la masse réduite μ sont inversement proportionnelle.

$$\text{Equation (9) : } \nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

L'intensité de la bande d'absorption est variable en fonction de la concentration, de la nature et de la polarité de la liaison. La fréquence de vibration est influencé par nombreux facteurs externes ou internes à la molécule : Taille et électronégativité des atomes environnants, liaisons hydrogène, effet stérique et conformation. Ces facteurs sont considérés comme un avantage, parce qu'ils permettent une forte sélectivité et par conséquent, facilitent l'analyse et l'identification spectrale.

D'une manière indépendante de leurs environnements, des groupements fonctionnels absorbent habituellement, la lumière infrarouge dans la même région. Ainsi, les vibrations d'élongation caractéristiques de la liaison C-H apparaissent presque toujours entre 3200 et 2800 cm^{-1} , les vibrations d'élongation du carbonyle (C=O) entre 1800 et 1600 cm^{-1} , alors que les bandes des cycles aromatiques apparaissent au-dessous de 1000 cm^{-1} .

En général, le spectre moyen infrarouge est divisé en quatre régions [10] :

- La région qui s'étend de 3700 à 2500 cm^{-1} est nommée région d'élongation d'hydrogène parce que les vibrations d'élongation des liaisons C-H, O-H, et N-H apparaissent à ces nombres d'onde.

- La région d'élongation des doubles liaisons allant de 2000 à 1600 cm^{-1} et on y trouve les bandes des liaisons C=C, C=O, et C=N.
- La région s'étalant de 1600 à 1000 cm^{-1} est la région d'empreinte digitale. Cette région est très complexe et difficile à interpréter à cause du grand nombre de bandes d'infrarouge qui se trouvent dans cette région (les vibrations d'élongation des liaisons simples C-O, C-C et C-N, vibrations de déformation de la liaison C-H, et quelques bandes relatives aux cycles de benzène). L'utilité de ce dernier est que les nombreuses bandes peuvent servir comme une empreinte digitale pour des molécules.
- La région allant de 1000 à 400 cm^{-1} , est appelé parfois la région aromatique, car les bandes intenses caractéristiques des cycles de benzène sont présentes dans cette région.

II.4. la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)

II.4.1. Spectromètre dispersif

Le spectromètre infrarouge de dispersion remonte aux années 1940 [11]. Cette conception a contribué à répondre à l'utilisation de la spectroscopie infrarouge comme une technique d'analyse pour caractériser les composés organiques dans les laboratoires. La figure I.II.3 représente le principe de fonctionnement des spectromètres dispersifs

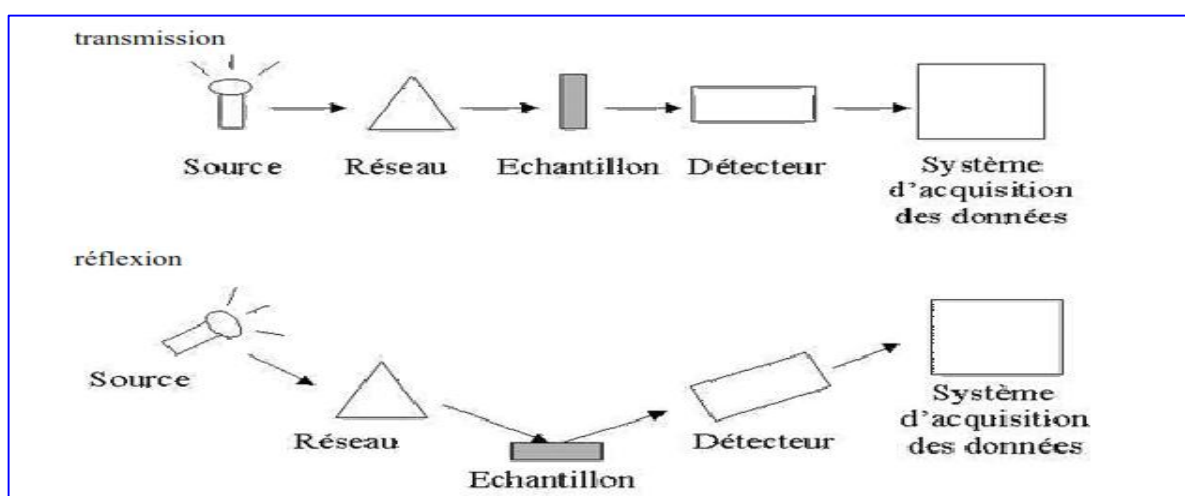


Figure I.II.3 : Schéma d'un spectromètre dispersif.

Dans un spectrophotomètre dispersif, le faisceau lumineux incident passe par un disperseur, qui forme le spectre de cette lumière, pour irradier l'échantillon à analyser. Après l'interaction de la lumière et l'échantillon, deux modes sont possibles : La réflexion totale ou atténuée, dans le cas où le faisceau incident se réfléchit et la transmission quant la lumière traverse l'échantillon. Les faisceaux transmis ou réfléchis sont capturés par des capteurs, qui vont les convertir en signal pour obtenir le spectre IR.

II.4.2. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

L'évolution de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a renouvelé l'importance de la spectroscopie MIR-TF dans l'analyse des produits alimentaires. En effet, Les spectrophotomètres IR-TF apportent une plus grande énergie à l'échantillon grâce à l'interféromètre. Ils peuvent enregistrer et amasser les spectres d'une manière plus rapide à partir des échantillons transmettant faiblement, avec des rapports signal/bruit satisfaisant.

Le MIR-TF offre des avantages significatifs pour l'acquisition spectrale, la résolution, et la simplicité de la quantification. Ainsi, cette méthode ne nécessite pas de travailler avec les grands nombres des échantillons d'étalonnage, qui sont habituellement imposés pour l'analyse en proche infrarouge (PIR). Un autre avantage important est que les spectres MIR peuvent produire des informations sur les états physiques et chimiques de différents composants (par exemple, la cristallinité, l'oxydation, la phase), qui sont utiles pour étudier les changements causés par le traitement ou le stockage [11].

II.4.3. Principe de la spectroscopie infrarouge

II.4.3.1. Description d'un spectromètre FT-IR

Un spectrophotomètre comporte quatre parties essentielles [12] :

- Une source lumineuse : pour notre cas, le Global est utilisé pour le moyen IR. Il est constitué d'un bâtonnet en carbure de silicium (SiC) et fonctionne à des températures de l'ordre de 1500°C.
- Un dispositif permettant de générer les interférences : l'interféromètre de Michelson pour l'IR-TF.

- Un système de présentation de l'échantillon : ce système dépend de la technique spectroscopique employée. Pour l'étude, des accessoires de transmission et de réflexion totale atténuée (ATR) ont été utilisés.
- Un ou plusieurs capteurs photosensibles : le spectromètre utilisé comporte un détecteur MCT. Il est constitué d'un monocristal en alliage de mercure cadmium tellure déposé sur un support inerte. Pour une plus grande sensibilité, ce détecteur est maintenu à la température de l'azote liquide (77 K).

II.4.3.2. Principe d'un spectromètre IR-TF

Le principe de fonctionnement est basé sur l'interaction rayonnement- matière. Sous l'effet d'un rayonnement incident, une molécule absorbe de la lumière pour passer d'un niveau d'énergie initial E_1 à un niveau supérieur E_2 . On parle de spectroscopie infrarouge lorsqu'il y a seulement, une modification des énergies vibrationnelles et rotationnelles des molécules.

La figure I.II.4 représente une vue générale d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier [13,14]. Le principe de ce dernier, est basé sur une transformée de Fourier. Une source fournit un faisceau lumineux infrarouge (étape 1) qui passe par l'interféromètre de Michelson classique (étape 2). Le faisceau interagit ensuite avec l'échantillon (étape 3) et est analysé par un détecteur (étape 4). Un traitement informatique (étape 5) basé sur une transformée de Fourier pour convertir le signal obtenu par le détecteur en un spectre infrarouge (étape 6) de l'échantillon correspondant.

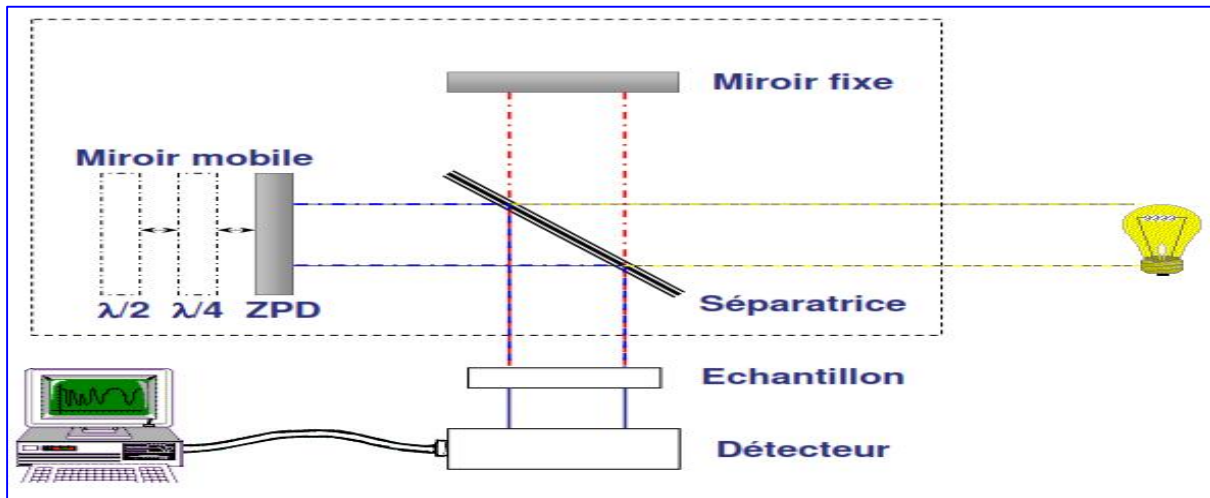


Figure I.II.4 : Schéma d'un spectromètre avec interféromètre de Michelson [15].

L'interféromètre de Michelson est composé de deux surfaces (miroirs) perpendiculaires, avec l'un est mobile et l'autre fixe. Une séparatrice semi-réfléchissante est localisée au centre et inclinée à 45° par rapport au faisceau infrarouge incident. Celle-ci divise le faisceau incident en deux parties :

- Un rayon traverse la séparatrice, se réfléchit par le miroir mobile, puis à nouveau sur la séparatrice
- Un rayon se réfléchit sur la séparatrice, puis sur le miroir fixe, puis retransverse la séparatrice.

Ces deux signaux peuvent être en phase ou déphasés selon la position δ du miroir mobile, mais sont de mêmes amplitudes. Ainsi, le signal obtenu est nommé interférogramme ($V(\delta)$) [16,17]. L'écriture de ce signal est faite selon le type de source utilisé. Comme dans le cas présent la source est infrarouge continue d'où l'équation (10) :

$$\text{Equation (10) : } V(\delta) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\bar{\nu}) \cos(2\pi\bar{\nu}\delta) d\bar{\nu}$$

La transformée de Fourier intervient pour obtenir le spectre $I(\nu)$, variation de l'intensité en fonction du nombre d'onde, à partir de $V(\delta)$. La transformée de $V(\delta)$ donne alors par l'équation (11) :

$$\text{Equation (11)} : I(\bar{\nu}) = \int_{-\infty}^{+\infty} V(\delta) \cos(2\pi\bar{\nu}\delta) d\delta$$

L'élaboration du spectre de transmission est faite en plusieurs étapes. En premier temps, Il faut enregistrer le signal de la référence, c'est à dire sans échantillon (S_0), puis il faut enregistrer le signal avec l'échantillon (S_1). Et par la suite, le spectre de transmission est enregistré point par point en calculant le rapport S_1/S_0 .

La transmittance et l'absorbance peuvent être utilisée pour exprimer la réponse d'interaction de la matière et la lumière incidente. La transmittance est l'aptitude d'un milieu à transmettre une énergie incidente. Alors que, l'absorbance est la capacité d'un milieu à absorber l'intensité d'un faisceau lumineux incident. L'absorbance (A) s'exprime en fonction de la transmittance (T) par la formule donnée par l'équation (12) :

$$\text{Equation (12)} : A = -\log T$$

Avec : T est la transmittance exprimée par le rapport S_1/S_0 .

II.4.4. Réflexion totale atténuée (ATR)

La technique d'ATR est connue sous différents noms. Les plus fréquents sont ATR (Attenuated Total Reflectance), FMIR (Frustrated Multiple Internal Reflexion) et MIR (Multiple Internal Reflectance). La technique d'ATR a été introduite par Harrick en 1967 [18]. Lorsque la lumière pénètre d'un milieu M_1 vers un Milieu M_2 , celle-ci est diffractée selon la loi des sinus. Si M_1 est plus réfringent que M_2 , alors il existe un angle θ_c dit angle critique, au-delà duquel la lumière n'est plus réfractée, mais subie une réflexion totale. Le principe de l'ATR est détaillé sur la figure I.II.5.

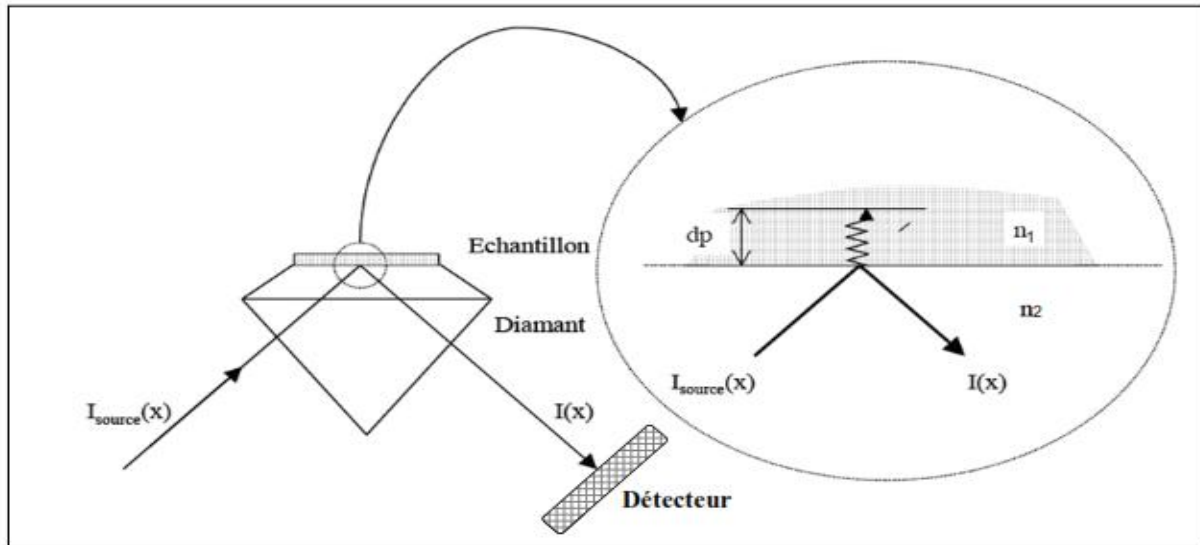


Figure I.II.5 : Principe de la réflexion totale atténuée (ATR) sur diamant.

L'échantillon est mis sur un cristal transparent en infrarouge, mais avec un indice de réfraction élevé (ZnSe, Diamant, Germanium) appelé élément à réflexion interne. $I_{source}(x)$ est l'intensité globale diffusé par la source en fonction du retard. Alors que, $I(x)$ est l'intensité après réflexion sur l'échantillon.

Le cristal est caractérisé par sa haute résistance et par l'indice de réfraction qui est généralement élevé ($n_2=2,43$ pour le diamant par exemple), ainsi que dans la majorité des cas il est supérieur par rapport à celle de l'échantillon (n_1). En première approche, d'après la loi de Descartes, le lumière IR initial traverse le cristal (diamant dans l'exemple) et subit une réflexion totale à l'interface cristal-échantillon puis est orienté vers le détecteur [15]. En réalité, l'existence d'une onde progressive appelée évanescente peut perturbe ce phénomène. En effet, la lumière pénètre de quelques micromètres dans l'échantillon qui est en contact direct avec le cristal. Par conséquent, une partie de l'énergie lumineuse est retenue et la réflexion totale est dite atténuée [19].

La profondeur de pénétration (dp) des ondes évanescente dans l'échantillon est en fonction de la longueur d'onde λ , de l'angle α d'incidence du faisceau par rapport à la normale à l'intérieur du cristal et des indices de réfraction du cristal et de l'échantillon nommés respectivement n_2 et n_1 . La profondeur de pénétration est donnée par la formule de Harrick, par l'équation (13) :

$$\text{Equation (13) : } dp = \left(\frac{\lambda}{2\pi n_2 \sqrt{\sin^2 2\alpha - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \right)$$

La profondeur de pénétration est la même pour des échantillons ayant le même indice de réfraction, ce qui permet de comparer aisément des matériaux de même nature.

II.5. La spectroscopie proche infrarouge (PIR)

II.5.1. Bandes harmoniques et bandes de combinaison dans le proche infrarouge

Les premiers spectres en proche infrarouge sont enregistrés en 1881, mais sa découverte peut être attribuée à William Herschel pour son travail présenté en avril 1800 "Experiments on the Refrangibility of the invisible Rays of the sun". Les domaines de longueur d'onde de rayonnement en proche IR s'étendent de 4000 à 12000 cm^{-1} . Les vibrations des liaisons interatomiques moléculaires n'obéissent pas exactement les lois décrites par le modèle harmonique. La liaison interatomiques qui vibre généralement à plusieurs fréquences (fondamentales, harmoniques), est important résultat de l'anharmonicité. La localisation des bandes harmoniques est en général légèrement inférieure à un multiple entier de la fréquence fondamentale.

En plus des bandes harmoniques, il résulte une absorption due l'interaction de deux ou plusieurs modes de vibration pour un même groupement fonctionnel : les bandes de combinaison. Dans ces transitions, la lumière excite deux ou plusieurs vibrations simultanément et induira donc une transition à une fréquence presque égale à la somme des fréquences de ces transitions [20].

II.5.2. Absorptions caractéristiques dans le Proche Infra Rouge (PIR)

Les groupements chimiques présentant une absorption dans la région du PIR sont principalement de la forme X-H, avec X correspond aux atomes de carbone, d'oxygène, de soufre ou d'azote et H correspond à l'atome d'hydrogène (figure I.II.6).

Les bandes d'absorption en PIR sont caractérisés par des pics larges et sont souvent exprimés en nanomètres. Par conséquent, une petite variation dans l'échelle des longueurs d'onde ne changerait pas fortement l'intensité du rayonnement absorbée. Ce qui constitue un avantage pour les applications analytiques qui sont basées sur la mesure de la lumière absorbée en fonctions des longueurs d'onde.

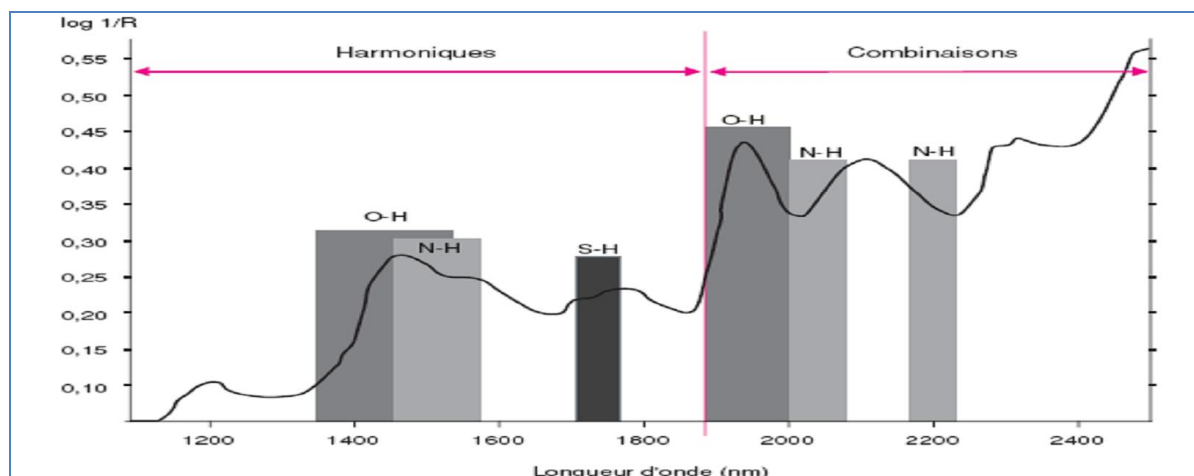


Figure I.II.6 : Exemples de bandes d'absorption dans le PIR.

Les bandes de combinaisons et les bandes harmoniques constituent le cœur de la SPIR, alors que l'anharmonicité détermine la fréquence et l'intensité des bandes. Les liaisons interatomiques ayant l'anharmonicité la plus grande, sont celles qui mettent en jeu l'atome d'hydrogène. Les vibrations de ces liaisons sont caractérisées par une énergie élevée et une large amplitude [21,22].

La spectroscopie proche infrarouge (PIR) a été abandonnée par beaucoup de spectroscopistes "classiques". Ils travaillent avec les bandes d'absorption fondamentales qui se trouvent dans la région du moyen infrarouge (MIR), les chercheurs pensaient que les bandes d'harmoniques et de combinaisons observées dans le PIR (entre 700 et 2500 nm ou bien entre 14300 et 4000 cm^{-1}) étaient sans importance. Dans les années 1950, Karl Norris [23] a développé les instruments nécessaires pour étudier les propriétés de la spectroscopie PIR des matériaux biologiques intacts. Norris, est le premier qui a montré les intérêts de la régression multilinéaire pour extraire l'information utiles à partir des spectres PIR, dans le but de déterminer la composition d'un échantillon [23]. Généralement, en spectroscopie PIR, les pics

sont plus larges et donc leurs résolution est moins bonne. Il est donc impossible de quantifier un composé en fonction de l'intensité d'un pic et par conséquent, on fait souvent appel à la chimiométrie pour développer des modèles plus complexes [23].

II.6. Analyse des données Infrarouge

Les spectres IR sont riches en informations utiles qui expliquent les caractéristiques chimiques, physiques et biochimiques des échantillons analysés, néanmoins ces informations peuvent être parfois difficilement à extraire. L'utilisation des méthodes mathématiques, informatiques et d'analyse statistique multivariée constitue un outil, permettant l'extraction et l'exploitation de l'information cachée dans les spectres infrarouge.

Les méthodes spectroscopiques sont très employées pour l'analyse qualitative et quantitative des constituants de produits agroalimentaires [24]. En général, quand les spectres sont bien clairs et non superposés, on peut calculer une concentration à partir de l'intensité du signal. Par contre, lors de l'analyse de matrices complexes, les signaux ne sont pas toujours bien définis. Par conséquent, il n'est pas facile d'identifier et de quantifier les différents constituants.

Pour rester dans l'objectif de l'analyse spectrale, qui est d'avoir des résultats d'analyse d'une manière rapide sur différents composants, il est alors nécessaire d'utiliser les méthodes chimométriques pour extraire de l'information pertinente.

III. La chimiométrie

La chimiométrie est la discipline de la chimie analytique qui utilise les méthodes mathématiques, statistiques et les outils informatiques pour extraire de l'information utile contenue dans les données de mesures expérimentales [25]. Cette discipline a trois objectifs principaux [26] :

- Le premier est la planification et l'organisation des expériences [27] pour avoir le maximum d'information avec le minimum des essais : plans d'expériences.
- Le second objectif est la description et l'exploration des données sous forme synthétique : l'analyse en composantes principales (ACP) est l'une des méthodes descriptives exploratoires [28].
- Enfin, son dernier objectif est la prédiction, soit de valeurs continues comme avec les méthodes de régression comme la PLS [29], soit de classer avec une analyse discriminante comme la PLS-DA [30].

Le point commun des méthodes chimiométriques (ou bien analyses multivariées) est que les échantillons sont considérés comme étant des points dans un espace défini par des variables (les coordonnées d'un individu sont données par ses valeurs propres pour chacune de ces variables). Généralement, les modèles chimiométriques sont soit supervisés ou non supervisés selon la méthode de construction du modèle qui sera soit linéaire, soit non linéaire. Les modèles linéaires sont basés sur l'hypothèse, que l'extraction de l'information pertinente est réalisée à partir de combinaisons linéaires des variables de départ (exemple : la régression linéaire) [31]. Alors que, les modèles non-linéaires sont basés sur des modèles prédictifs qui sont sous la forme d'un réseau d'unités connectées entre-elles [32].

III.1. Méthodes exploratoires

L'objectif principale des méthodes exploratoires est de décrire les données, sans introduire des connaissances a priori sur la collection des échantillons. Ces méthodes sont des moyens statistiques qui permettent de contrôler la validité de la mesure spectrale lors de l'analyse en

séries. Elles permettent aussi de s'assurer que les échantillons inconnus à analyser sont de même nature que ceux qui sont utilisés dans l'élaboration du modèle.

III.1.1 Analyse en Composantes Principales : ACP

L'analyse en composantes principales (ACP) [33, 25, 34] est la base de nombreuses méthodes de l'analyse multivariée. C'est une méthode qui tente à trouver les directions de plus grande variabilité des individus dans l'espace des composantes principales. Le fondement de cette méthode, est que les directions les plus intéressantes sont les directions de plus grande dispersion. Dans le cas où, les variables ne contiennent que du bruit, la dispersion des individus sera faite d'une façon homogène et uniforme dans toutes les directions. Afin d'atteindre l'objectif de l'analyse qui est la simplification, il faut choisir la dimension de l'espace de représentation. Par conséquent, un compromis doit être effectué : choisir un espace de faibles dimensions en conservant une variance expliquée maximale. En général, un maximum de 3 à 4 composantes principales (CPs) est suffisant pour expliquer la variabilité intéressante des données originales. Cependant, le nombre de CPs peut être choisi par différentes méthodes, notamment la validation croisée.

L'ACP est une méthode non-supervisée, où aucune hypothèse n'est proposée concernant des relations possibles entre les individus et entre les variables. Mais elle fait simplement l'hypothèse raisonnable, que les directions (composantes principales) de plus grandes dispersions des échantillons correspondent à l'information pertinente. Les composantes principales doivent toutes être orthogonales, pour éviter d'avoir une redondance d'information « même information » dans plusieurs composantes principales. La première composante choisie doit donc être la combinaison linéaire des variables d'origine décrivant la droite d'allongement maximum du nuage, alors que la deuxième doit être orthogonale sur la première.

Mathématiquement, l'ACP consiste à calculer des combinaisons linéaires des variables de départ donnant de nouvelles composantes, appelées composantes principales qui contiennent la plus grande partie de la variabilité de la matrice de données originales [34]. L'ACP projette les données (données spectrales) dans un espace de représentation de faibles dimensions [35]. Quand les données de départ sont des spectres tels que les spectres infrarouges, les vecteurs

propres associés aux composantes principales sont équivalents à des spectres de produits purs, et les coordonnées factorielles sont analogues à des concentrations [26].

La décomposition matricielle de l'ACP permet d'obtenir des matrices des coordonnées factorielles (ou «scores») et des contributions factorielles (ou «loadings»), selon l'équation (14) :

$$\text{Equation (14) : } \mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{P}^T + \mathbf{E}$$

Avec : \mathbf{X} (n, p) est la matrice de données originale, \mathbf{T} (n, k) sont les coordonnées factorielles des individus sur les composantes principales et \mathbf{P}^T (k, p) sont les contributions factorielles des variables originaux aux composantes principales.

Le calcul des composantes principales (CPs), n'est qu'une approximation de la matrice de données originales \mathbf{X} où \mathbf{E} (n, p) est la matrice des écarts entre les valeurs des données originales et cette approximation. Les coordonnées \mathbf{T} et les contributions factorielles \mathbf{P} contiennent toute l'information importante relative aux variables et aux objets, respectivement. Les écarts \mathbf{E} portent l'information sur la dispersion résiduelle, qui n'est pas important pour décrire le comportement des échantillons.

D'un point de vue géométrique, l'ACP peut être plus facilement comprise comme une méthode de rotation des données pour que l'observateur soit le mieux placé pour comprendre les relations relatives entre les individus, entre les variables et de même entre individus et variables. Les coordonnées factorielles sont des représentations des individus sur des plans construits à partir des composantes principales, où l'on peut détecter des répartitions structurées des objets, la formation de groupes ou la présence d'individus aberrants.

III.1.2. La classification hiérarchique (HCA) : Analyse de regroupement

Classifier, c'est regrouper des objets similaires selon certaines critères. Les diverses techniques de classification dont, l'analyse en clusters (HCA), vise à dispatcher n individus, caractérisés par p variables X_1, X_2, \dots, X_p en un certain nombre m de sous-groupes aussi homogènes que possible.

L'analyse de classification est connue sous le nom de « cluster analysis » qui est un terme générique utilisé pour désigner une variété de techniques d'analyses statistiques [36]. Ces méthodes sont généralement utilisées pour assembler des objets, des personnes ou des concepts dans des groupes homogènes sur la base de leur similarité. Ces techniques de classification sont spécialement utiles dans le cadre d'exploration des données, afin de déduire des tendances générales au sein des données et de proposer des pistes de futures analyses [37]. La majorité des utilisations appliquées dans l'analyse de classification, implique l'analyse de classification hiérarchique [38,39]. C'est une méthode qui divise un ensemble d'individus en groupes de façon à ce que les individus similaires font partie d'un même groupe. Le principe de cette méthode est qu'en premiers temps, chaque entité est considérée comme une sous-classe contenant un seul individu, et compare alors les distances séparant chacun de ces groupes. Ces derniers sont ensuite classés sur la base de leur similarité, jusqu'à ce chaque entité sera une partie d'un groupe [36]. Ensuite, et à nouveau une étape de comparaison des distances accompagnés par la combinaison des deux groupes les plus proches. La procédure est répétée jusqu'à obtenir un seul groupe.

Cette méthode est un outil utilisé pour la reconnaissance de forme qui met en évidence les similitudes entre les individus en fonction de la distance qui les sépare. La distance choisie est habituellement de type euclidien (Equation 15).

$$\text{Equation (15) : } d(I_i, I_j) = \sqrt{\sum_k (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

Puisque ces méthodes hiérarchiques associent les groupes à des degrés décroissants de ressemblance, donc il est normal de représenter les résultats de la classification sous forme d'une structure arborescente que l'on appelle Dendrogramme (Figure I.II.7).

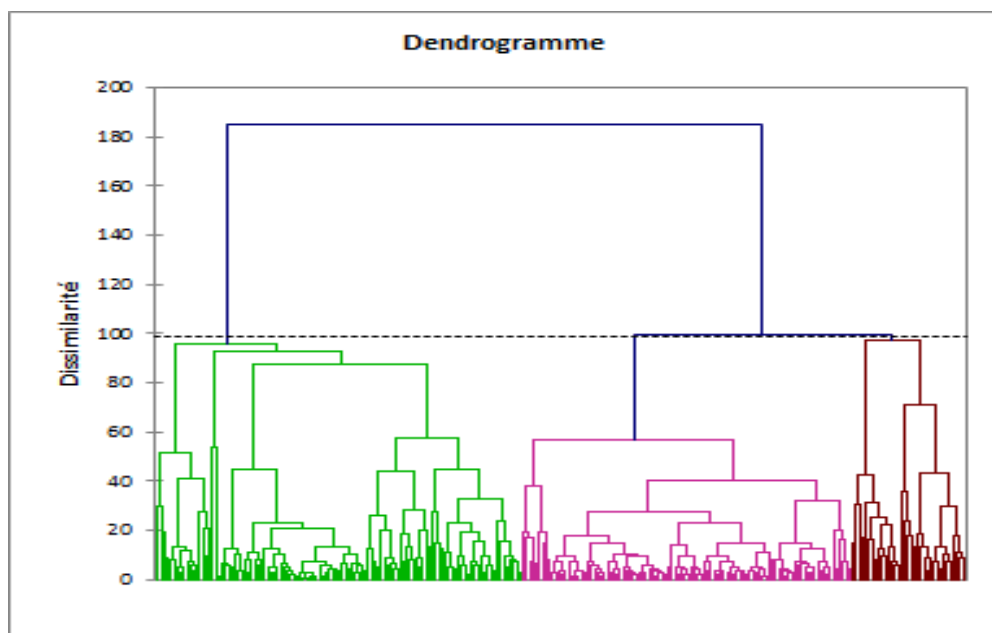


Figure I.II.7 : Graphique d'un dendrogramme.

III.2. Méthodes prédictives

Les méthodes prédictives sont des méthodes qui construisent, à partir de données (données spectrales), un modèle d'étalonnage et par la suite, ce modèle est utilisé pour prédire des échantillons inconnus. Ces méthodes sont des méthodes de régression ou de discrimination. Généralement, il existe deux différentes familles de méthodes de régressions linéaires : les régressions linéaires simples (uni variées), et les régressions linéaires multiples (multivariées). La régression est utilisée pour analyser la relation entre deux variables : variables dépendantes et autres indépendantes. Cependant, la régression est mieux adaptée pour l'étude des dépendances fonctionnelles entre ces variables. La dépendance fonctionnelle implique que X (variables explicatives) explique Y (variable à expliquer). Par exemple, il existe une fonction de dépendance entre l'absorbance et de la concentration.

En pratique, nous disposons des valeurs d'absorbances spectrales pour différentes longueurs d'ondes et seront utilisés pour prédire une variable Y en tenant compte de toute l'information cachée. L'objectif est de prédire une variable Y à partir des variables X (x_1, x_2, \dots, x_p) qui sont des variables spectrales prises à différentes longueurs d'ondes. Le modèle est donné par l'équation de régression (16) :

$$\text{Equation (16)} : Y_i = a_0 + a_1 X_{i1} + a_2 X_{i2} + \dots + a_p X_{ip} + e_i$$

Cette équation décrit la généralisation de la régression linéaire simple pour p variables explicatives. e_i correspondant à l'erreur du modèle exprime ou résume l'information manquante dans l'explication linéaire des valeurs de y_i à partir des x_{i1}, \dots, x_{ip} . La qualité du modèle de la régression linéaire multiple peut être mesurée à l'aide du coefficient de détermination R^2 [40].

Dans cette étude, nous avons eu recours à une seule méthode, la régression PLS (Partial Least Squares Regression), ou bien la "régression au sens des moindres carrés partiels". Cette méthode est une méthode qui peut remplacer la régression linéaire multiple classique. Elle peut être utilisée comme méthode de régression et méthode de discrimination.

III.2.1. Régression des moindres carrés partiels (Partial Least Squares : PLS)

La régression PLS, ou régression au sens des moindres carrés partielles est l'outil standard pour faire des étalonnages prédictifs en chimométrie. Cette méthode remonte à l'année 1975 avec Wold H. [41]. Elle a été étudiée et développée par plusieurs autres auteurs, comme Martens et Naes Tenenhaus [42]. La méthode de régression PLS est actuellement la méthode la plus utilisée dans nombreux domaines [43]. Comme pour l'ACP, la PLS est basée sur la construction de facteurs à partir des données (données spectrales) de départ. Le but de cette méthode est de réduire la taille de données de départ et d'éviter ainsi les problèmes de redondance sans éliminer les informations pertinentes.

Le principe de base de la PLS consiste à une décomposition de la matrice des X et celle des Y . La décomposition des X et des Y est faite selon les équations (17) et (18), respectivement.

$$\text{Equation (17)} : X = TP^T + E$$

$$\text{Equation (18)} : Y = UQ^T + E'$$

Avec : E et E' sont les matrices des écarts.

Les composantes ou variables de la nouvelle base vectorielle, appelés variables latentes, sont des combinaisons linéaires des variables. Mais à la différence avec l'ACP, la PLS construit ses facteurs en tenant compte de la corrélation entre les variables prédictives X et les variables prédites Y [44]. Par conséquent, la détermination de ces variables est faite suivant les directions les plus pertinentes en termes de prédiction des variables Y [45]. Il faut mettre la différence entre le cas où il y a plusieurs variables Y à prédire et celle où il y en a une seule variable. Dans le premier cas, on parle de régression PLS multivariée (PLS2) et dans le second cas de régression PLS uni variée (PLS1) [44]. Comme l'ACP, la régression au sens des moindres carrés partiels permet de réduire les dimensions du système par rapport à la matrice des données de départ [45].

III.2.2. Régression des moindres carrés partiels-discriminante (PLS-DA)

En général, les méthodes de discrimination ont comme objectif de mettre en relation une variable qualitative indiquant l'appartenance des objets à des classes et un ensemble de variables quantitatives. Elles sont appelées aussi méthodes d'apprentissage supervisé. La méthode de régression au sens des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA) est une méthode de classification supervisée, qui est maintenant très utilisée dans le domaine de l'agroalimentaire [46]. La connaissance a priori de l'appartenance des objets aux différentes classes est utilisée pour définir une règle d'affectation.

L'objectif principal de la méthode est de séparer des groupes d'individus d'une manière concrète. Son principe fondamental est basé sur la création de nouvelles variables Y , formées par les indicateurs des groupes et d'appliquer la régression PLS2 sur ces nouvelles variables. Considérons, un individu i appartenant à un groupe k , donc la ligne i du variable Y est un vecteur dont tous les éléments prennent la valeur de 0 , à l'exception de l'élément en position k , qui prend la valeur de 1 . Les composantes discriminantes de la PLS-DA [47] peuvent être représentées sous forme de cartes factorielles. La qualité du modèle élaboré est influencée directement par le nombre de variables latentes choisies. Ce choix du nombre de variables latentes est choisi en fonction de l'erreur de prédiction du modèle d'étalonnage pré-établi.

Dans un modèle établi avec un faible nombre de dimensions, il y a le risque de donner une erreur résiduelle assez élevée, mais le modèle sera fiable. Par contre, un modèle avec un trop

grand nombre de dimensions, il sera plus précis mais introduira des informations associées à des phénomènes liés au bruit. Un pourcentage de bonne classification par rapport à la mauvaise, peut être calculé, pour évaluer la bonne prédiction de l'appartenance d'un objet à un groupe qualitatif.

III.2.3 Régression des séparateurs à vaste marge (SVM régression)

Les séparateurs à vaste marge ont été développés dans les années 1990 à partir des considérations théoriques de Vladimir Vapnik [49] sur le développement d'une théorie statistique de l'apprentissage, appelée théorie de Vapnik-Chervonenkis. Les séparateurs à vaste marge (SVM) [48,49] est une méthode d'apprentissage supervisé destinées à résoudre des problèmes de discrimination et de régression. La SVM sont considérés comme une généralisation des classifieurs linéaires. Cette méthode été adoptée d'une manière rapide, grâce à sa capacité à travailler avec des données de grande taille.

III.2.3.1 Généralités sur les hyperplans séparateurs

La méthode des SVM est un cas particulier des classifieurs par hyperplan. Ce dernier permet de classer des objets présentés sous forme de vecteurs dans un espace prédéfini. Dans le cas, où on cherche à séparer un nombre de points en deux groupes, la formule de l'hyperplan séparateur est donné par l'équation (19) :

$$\text{Equation (19) : } h(x) = \langle \vec{w}, \vec{x} \rangle + b = 0$$

Avec : w est le vecteur poids de dimension d perpendiculaire au séparateur et b est un scalaire.

III.2.3.2 Séparateurs à Vastes Marges (SVM)

Dans le cas de deux groupes d'individus linéairement séparables, il existe une infinité d'hyperplan capable de séparer parfaitement ces deux groupes. L'équation (20) donne toutes les formes x_i de classe y_i de la base d'apprentissage.

$$\text{Equation (20) : } \begin{cases} \langle \vec{w}, \vec{x} \rangle + b \geq 0; s_i y_i = 1 \\ \langle \vec{w}, \vec{x} \rangle + b \leq 0; s_i y_i = -1 \end{cases}$$

Le principe des SVM est de choisir celui qui va maximiser la «marge» entre l'hyperplan et les points de la base d'apprentissage.

La plus grande marge possible entre l'hyperplan et les vecteurs de support est obtenue, en minimisant $\|\vec{w}\|$ sous les contraintes $y_i (\langle \vec{w}, \vec{x} \rangle + b) \geq 1$ et la distance d'un point x à l'hyperplan est donnée par : $\frac{H(x)}{\|\vec{w}\|}$.

D'une manière générale, une marge plus large assure plus de sécurité lorsque l'on classe un nouvel exemple. De même, si on cherche le classificateur adéquat pour des données d'apprentissage, il est évident qu'il sera celui qui permettra de classer clairement les nouveaux individus. Suite à ces performances, de nombreuses variantes de la méthode des SVM ont été développées pour traiter différents type de problèmes. L'utilisation des noyaux pour "transformer" le SVM en un algorithme non-linéaire pouvant être appliqué sur des données variées, ce qui peut justifier l'utilisation et la performance de la méthode des SVM.

L'utilisation des SVM pour la régression consiste à utiliser l'hyperplan séparateur optimal pour prédire la variable y qui est un nombre réel, selon l'équation (21) :

$$\text{Equation (21) : } y = f(x) = hw, x_i + b$$

En général, toutes les méthodes chimiométriques : ACP, PLS ou SVM sont toujours accompagnés par des prétraitements des données pour améliorer la qualité prédictive des modèles.

III.3. Prétraitements des données

Les étapes de prétraitement interviennent avant l'établissement du modèle prédictif. Les prétraitements ont deux objectifs principaux : l'amélioration du signal, et la condensation des données pour extraire de l'information pertinente. Les prétraitements visant à améliorer le

signal sont évidemment en relation avec le mode ultérieur d'exploitation des données spectrales et incluent :

- La réduction du bruit dans les spectres.
- L'élimination de l'effet des déformations de la ligne de base.
- L'affinage de la position des bandes d'absorption.
- L'élimination des variations d'intensité globale sans intérêt.

La condensation des données spectrales peut se réaliser par des méthodes basées sur le choix des variables ou des observations jugées pertinentes et utiles pour le problème considéré ou par des méthodes fondées sur une décomposition spectrale en variables latente.

D'une manière générale, la qualité de l'échantillon [50] et les variations du chemin optique affectent considérablement les spectres infrarouges. Donc des prétraitements mathématiques sont appliqués aux spectres, pour éliminer ou diminuer ces interférences.

III.3.1. Données centrées

Ce prétraitement consiste à soustraire à chaque élément de la matrice la valeur moyenne.

$$XC(n, m) = \begin{pmatrix} X_{11} - \bar{X}_1 & X_{12} - \bar{X}_2 & \dots & X_{1m} - \bar{X}_m \\ X_{21} - \bar{X}_1 & X_{22} - \bar{X}_2 & & X_{2m} - \bar{X}_m \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ X_{n1} - \bar{X}_1 & X_{n2} - \bar{X}_2 & \dots & X_{nm} - \bar{X}_m \end{pmatrix}$$

Avec : n est le noml

Avec ce type de traitement, on élimine les différences entre variables attribuées à la magnitude de l'échelle.

III.3.2. Données centrées normées (ou centrées réduites)

Ce prétraitement consiste à soustraire à chaque élément de la matrice la valeur moyenne de sa valeur et on divise le résultat par l'écart-type de la variable.

- La moyenne de toutes les variables d'une matrice centrée normée est 0.

- L'écart-type de toutes les variables est 1.

Avec ce type de traitement, on élimine les différences entre variables attribuées à la magnitude et l'amplitude de l'échelle.

III.3.3. Centrage par colonne

Le centrage par colonne est un prétraitement, qui est presque toujours appliqué sur des données spectrales. Généralement, dans une matrice, chaque longueur d'onde est représentée par une colonne. Le centrage par colonne est une opération qui consiste à soustraire la valeur moyenne pour chaque colonne, pour chaque longueur d'onde [50].

III.3.4. Centrage par ligne

Dans une matrice et par convention, chaque ligne est représentée par un échantillon. Ce prétraitement consiste à soustraire les moyennes des lignes de la matrice \mathbf{X} de données originales pour réduire les fluctuations de ligne de base dans les spectres. Chaque spectre est traité séparément. Cette méthode est habituellement appliquée quand il y a des difficultés dans la reproductivité des conditions d'acquisition [51].

III.3.5. Dérivation

La méthode de dérivation consiste à corriger les effets de la ligne de base [52] dans les spectres et par conséquent, éliminer les effets non chimiques et à créer des modèles d'étalonnage robustes. La dérivation peut également aider à résoudre des bandes superposées qui peuvent fournir une meilleure compréhension des données, mettant l'accent sur les petites variations spectrales dans les données brutes.

Mathématiquement, un dérivé est la pente de la courbe. Si le bruit purement additif (comme dans les courbes ci-dessus) est présent, c'est une constante. Par conséquent, dans la dérivation, la constante réduit à zéro, ce qui signifie que tous les spectres doit avoir une moyenne de zéro et les profils spectraux doit être changé pour les pentes des courbes.

Elle a été historiquement le premier prétraitement utilisée. Il existe différentes méthodes pour calculer la dérivée :

➤ La dérivée par intervalle « gap dérivative » calcule la dérivée sur un intervalle de points fixés par l'utilisateur.

➤ La dérivée basée sur la technique de convolution de Savitsky Golay [52]. Deux étapes sont nécessaires pour calculer la dérivée en un point i : tout d'abord, un polynôme de degré k est ajusté sur au moins $k+1$ points du spectre autour du point i . Ensuite, la dérivée du polynôme en ce point est calculée.

III.3.6. Correction Multiplicative de diffusion (MSC)

Correction de Scatter multiplicatif (MSC) [50] est une méthode de transformation utilisée pour compenser additif et/ou effets multiplicateurs dans les données spectrales. MSC est également connu sous le nom de correction de signal multiplicatif. Elle a été conçue à l'origine pour faire face à la diffusion multiplicative dans la spectroscopie de réflectance.

L'idée derrière MSC est que les deux effets, l'amplification (multiplicative, diffusion) et le décalage (additif chimique), doivent être retirés de la table de données afin d'éviter qu'ils perturbent l'information (signal) dans le tableau de données. Les coefficients de correction sont calculés à partir d'une régression de chaque spectre individuel sur le spectre moyen qui est utilisé par défaut comme un spectre de référence. Le coefficient \mathbf{a} , est l'ordonnée à l'origine (offset) de la droite de régression, le coefficient \mathbf{b} , est la pente. Un modèle linéaire est établi entre le spectre et le spectre de référence selon l'équation (22) :

$$\text{Equation (22)} : X_i = a + b\bar{X}_i + e_i$$

Avec: \mathbf{a} et \mathbf{b} sont les coefficients du modèle et $\mathbf{e_i}$ c'est l'erreur à la longueur d'onde \mathbf{i} . La valeur corrigée est ensuite calculée par l'équation (23) :

$$\text{Equation (23)} : X_{MSC,i} = (X_i - a) / b$$

III.3.7. Déviation Normale Standardisée « Standard Normal Variate : SNV »

SNV est une transformation habituellement appliqué aux données spectroscopiques, pour éliminer les effets de dispersion par centrage et mise à l'échelle de chaque spectre individuel

[50] (c'est à dire une normalisation axée sur échantillon). La méthode SNV consiste à retrancher de chaque mesure la moyenne du spectre et à la diviser par son écart-type. Cette transformation ne peut pas être appliquée à des données non-numériques.

Comme MSC, le résultat pratique de la SNV est qu'il supprime les interférences de multiplication de dispersion et la taille des particules des effets à partir des données spectrales. Ces transformations pour des corrections de dispersion sont généralement utilisées avec des données de réflectance diffuse. Le prétraitement SNV (Standard Normal Variates) réduit très fortement les variations d'intensité générale des spectres [51]. Les données spectrales sont centrées et réduites selon l'équation (24) :

$$\text{Equation (24) : } X_{SNV,i} = \frac{x_i - \bar{x}_i}{SDev(x)}$$

Avec : x_i est la valeur brute à corriger ; \bar{x}_i est la valeur moyenne ; $X_{SNV,i}$ est la valeur corrigée à la longueur d'onde i et $SDev(x)$ est l'écart type.

III.4. Paramètres d'évaluation de la qualité des modèles

III.4.1. Modèle de calibration

Différents critères statistiques permettent d'évaluer la qualité des modèles d'étalonnage et de validation. Tout d'abord, deux paramètres permettent de vérifier les performances d'étalonnage : Il s'agit de l'erreur quadratique de d'étalonnage (RMSEC) et du coefficient de détermination R^2 qui correspond au carré du coefficient de corrélation R . Le RMSEC mesure les écarts entre la valeur prédite par spectroscopie moyen infrarouge et la valeur de référence. Le RMSEC est donné par l'équation (25) et le coefficient de corrélation R est donné par l'équation (26) [54].

$$\text{Equation (25) : } RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_j)^2}{n}}$$

Avec :

y_j : la concentration de référence pour l'échantillon j ,

\hat{y}_j : la concentration prédite pour l'échantillon j ,
 n : nombre d'échantillons dans le lot d'étalonnage,

$$\text{Equation (26) : } R = \frac{\text{COV}(y', y)}{\sigma_{y'} \cdot \sigma_y}$$

Avec :

$\text{cov}(y', y)$ est la covariance de y' et de y

$\sigma_{y'}$, σ_y sont les écarts-types respectifs de y' et y .

III.4.2. Validation croisée totale

La validation d'un modèle est basée sur la vérification à quel point le modèle se produira sur de nouvelles données de même nature que celles ont été utilisées dans l'élaboration du modèle d'étalonnage. La validation d'un modèle estime l'incertitude des prévisions futures qui peuvent être faites avec le modèle. Si l'incertitude est relativement faible, le modèle peut être considéré comme valide.

Bien que l'objectif, est d'avoir suffisamment d'échantillons dans l'ensemble de test, cela n'est pas toujours possible en raison, par exemple, pour le coût des échantillons ou des essais de référence. La meilleure alternative à un test indépendant pour la validation est d'appliquer la validation croisée.

Avec validation croisée totale, les mêmes échantillons sont utilisés à la fois pour l'élaboration et les tests du modèle [55]. Quelques échantillons sont enlevés de l'ensemble de données d'étalonnage et le modèle d'étalonnage est élaboré à partir des de données restants. Ensuite, les valeurs pour les échantillons enlevés sont prédites et les erreurs de prédiction sont calculées. Le processus est répété avec un autre sous ensemble de l'ensemble d'étalonnage, et ainsi de suite jusqu'à ce que tous les objets sont testés, puis tous les résidus de prédiction sont combinés pour calculer les erreurs résiduelles.

Pour évaluer la qualité du modèle, l'erreur quadratique de validation croisée, noté RMSEC_V (Root Mean Square Error of Cross Validation) et le coefficient de détermination R^2_{cv} sont calculés. La formule de RMSEC_V est donnée par l'équation (27) :

$$\text{Equation (27) : } RMSECv = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - y_i)^2}{n}}$$

Avec : y_i est la concentration observée.

\hat{y}_{icv} est la concentration prédite par validation pour l'échantillon retiré.

n est le nombre d'échantillons testés (nombre d'échantillon dans le jeu d'étalonnage).

Le coefficient de détermination R^2_{cv} qui correspond au carré du coefficient de corrélation R étant donné par l'équation (28) :

$$\text{Equation (28) : } R^2_{cv} = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

Avec : \bar{y} est la moyenne des concentrations observées.

III.4.3. Validation externe

L'étape de validation externe permet de tester le modèle d'étalonnage [56,57] sur un groupe d'échantillons externe qui ne sont pas contribués dans l'élaboration du modèle d'étalonnage. Les valeurs de Y prédites sont ensuite comparées aux valeurs de Y observées, ce qui donne un résidu de prédiction pouvant être utilisée pour calculer une variance résiduelle de validation. Au cours de cette étape, différents indicateurs statistiques sont calculés : le coefficient de détermination de prédiction (R^2_p), l'erreur standard de prédiction (Root Mean Square Error of Prédiction : RMSEP), l'erreur relatif de prédiction en pourcent (RE %) et la limite de détection (LOD) qui sont donnés par les équations (29), (30), (31) et (32) respectivement.

$$\text{Equation (29) : } R^2_p = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

$$\text{Equation (30) : } RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m (y_j - y'_j)^2}{n}}$$

$$\text{Equation (31) : RE \%} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i)^2}} \times 100;$$

$$\text{Equation (32) : LOD} = 3 * \text{RMSEP}$$

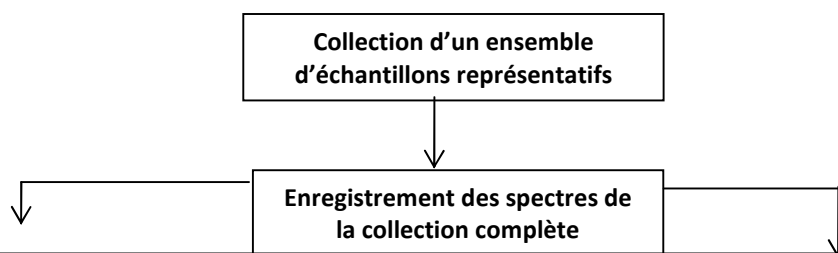
III.5. Logiciels de traitement des données spectrales

De nombreux logiciels de statistiques peuvent être utilisés pour traiter des données spectrales. Ils doivent permettre de tenir compte des spécificités de ces données, en termes de volume et leur nature. Ils doivent également fournir des outils de manipulations et de représentations graphiques des données. En effet, il existe plusieurs logiciels, parmi lesquels on peut citer : Simca-P, SPSS, Matlab et the Unscrambler.

Dans notre cas, tous les calculs ont été réalisés en utilisant les trois logiciels, Unscrambler de CAMO (Computer Aided Modeling, Trondheim, Norway), PLS Toolbox 5.8 et Matlab 7.11.

III.6. Développement d'une méthode d'analyse

Le développement d'une méthode d'analyse se déroule en plusieurs étapes [58]. Principalement on procède à la collection d'un ensemble des échantillons représentatifs des composés à analyser. Les étapes de la mise en application analytique sont résumées dans la figure I.II.8.



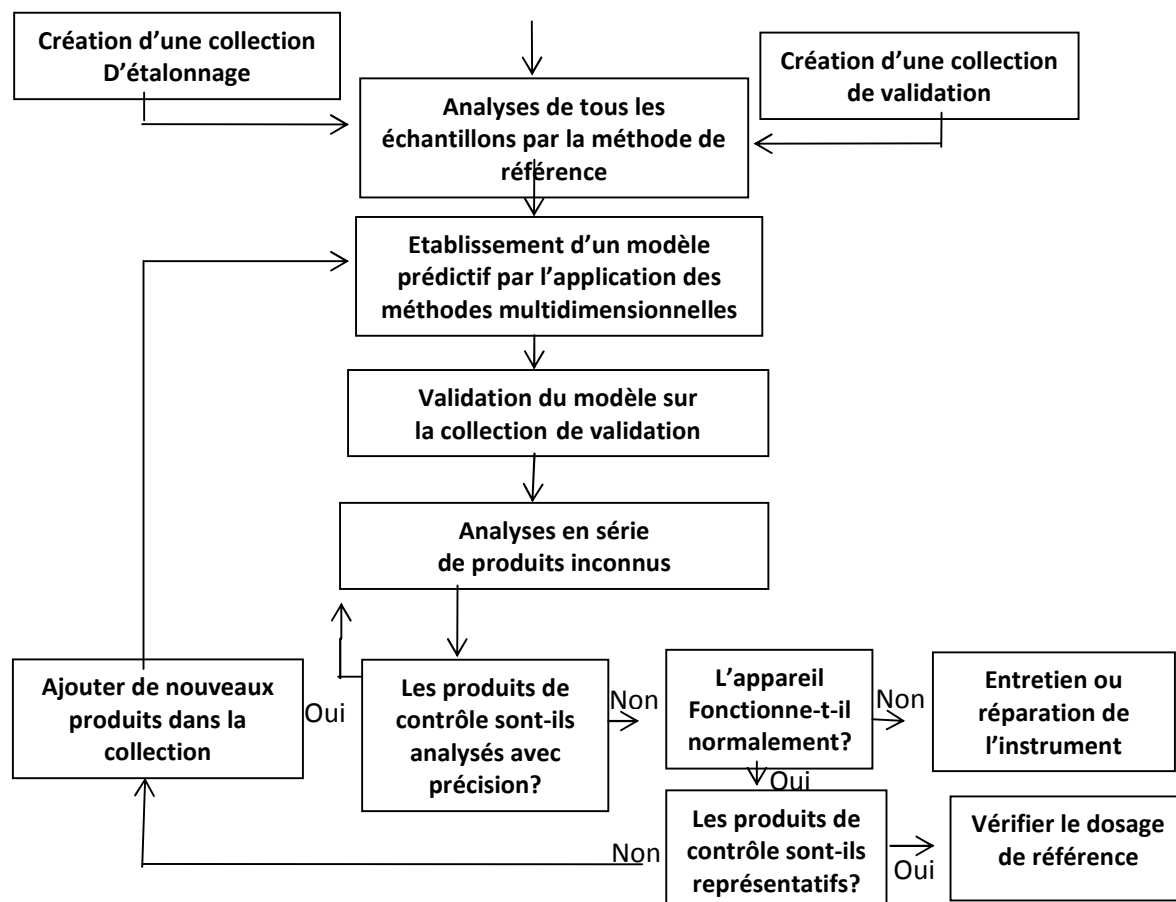


Figure I.II.8 : Etapes de développement d'une analyse analytique.

Sur l'ensemble de ces échantillons, on effectue, d'une part les analyses spectroscopiques et d'autre part, l'analyse par méthode de référence. Dans une seconde étape, et après création d'une collection d'étalonnage (de calibration) et une autre de validation, on établit un modèle prédictif par l'application de méthodes chimiométriques. Enfin, une étape de validation externe, qui se fait par l'application du modèle sur un ensemble d'échantillons inconnus. Cette étape sert à vérifier la méthode pour s'assurer de sa fiabilité.

Une fois le modèle préétabli est jugé satisfaisant, on peut l'appliquer en analyse de routine pour doser des produits dont la valeur de référence est inconnue.

IV. La spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques et leurs applications

Le développement des applications du moyen infrarouge en agroalimentaire est récemment connu, suite au développement d'appareils basés sur la transformée de Fourier et de nouveaux dispositifs de présentation des échantillons beaucoup plus pratiques [59]. Ainsi qu'elle a été appliquée dans plusieurs domaines : l'adultération du café torréfié [60], l'adultération d'huile d'Avoca [61] et la discrimination des Saucisses de jambon chinois [62]. Ainsi que le domaine d'huilerie et d'industrie laitière.

Dans le domaine des huiles, plusieurs travaux ont été entamés. D'une part, l'application de la spectroscopie infrarouge couplée à la PLS a permis la classification des huiles d'olive de selon les origines géographiques [63] ou bien selon les variétés [64]. Dans ces travaux, une procédure statistique multivariée basée sur la régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA), a été élaboré, en fournissant une méthode de classification efficace. La procédure PLS-DA a ensuite été appliquée pour classer de nouveaux échantillons. La méthode proposée a fourni des résultats robustes dans la classification des huiles d'olive.

D'autre part, l'analyse sensorielle a sa part d'application de la spectroscopie infrarouge et méthodes chimiométriques. Une analyse sensorielle d'huile d'olive vierge a été effectuée par un jury de dégustation entièrement formé [65]. Les échantillons ont également été analysés par PIR-TF et spectroscopie MIR-TF et traitées par des méthodes de classification (LDA). Les résultats ont montré que la spectroscopie PIR et MIR couplée avec des méthodes statistiques sont des techniques intéressantes par rapport à l'évaluation sensorielle traditionnelle de classification des échantillons d'huile d'olive sur la base de l'attribut fruité.

Ainsi, l'adultération d'huile d'Argan par d'autres huiles végétales (des huiles de tournesol et de soja.) a été étudiée par la spectroscopie infrarouge et la chimiométrie [66]. Cette étude se concentre sur la détection et la quantification des adultérants d'huile d'argan en utilisant la spectroscopie moyenne infrarouge couplée à la PLS. Un modèle de PLS a été élaboré, à partir des données spectrales pour prédire la concentration d'huile de soja et l'huile de tournesol dans de l'huile d'argan avec de bonnes performances de prédiction.

Les huiles moteurs ont aussi été étudiées par la spectroscopie infrarouge et la chimiométrie [67]. Des auteurs ont utilisés cette technique pour étudier la qualité des huiles moteurs de haute qualité avec des huiles de qualité inférieure et les huiles usagées. Les résultats ont montré que la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) est une méthode appropriée pour prédire l'altération des huiles moteur de haute qualité dans la gamme de concentration entre 0% à 36% (p/p), avec des erreurs de prédiction inférieure à 3 % (p/p). La méthode proposée peut être utilisée pour la surveillance, le contrôle et le dépistage rapide des huiles moteur.

Dans le domaine du lait et ses dérivés, des problèmes d'authentications ont été étudiés par ce type de méthode [68]. Cette étude propose l'utilisation des données spectroscopiques (proche infrarouge et moyen infrarouge), pour la détection de mélamine dans le lait. Différentes méthodes chimiométriques sont exploitées pour l'analyse spectrale à savoir, la PLS, réseau de neurones artificiels (ANN) et support vector machines régression (SVM). Les résultats de ce travail montrent que le couplage de la spectroscopie infrarouge et les méthodes chimiométrique est un outil efficace pour détecter la mélamine dans les produits laitiers.

Ainsi, une autre étude s'est intéressée à la détermination de la concentration de protéines dans le lait cru [69]. Elle examine la possibilité d'utiliser la spectroscopie moyenne infrarouge (MIR) avec la réflexion totale atténuée pour déterminer la concentration de protéines dans le lait cru de vache. Dans cette étude, La détermination de la concentration de la protéine est basée sur l'absorbance caractéristique des protéines du lait. La méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) et la méthode des réseaux de neurones ont été appliquées sur les spectres MIR. La méthode PLS a donné lieu à des erreurs de prédiction de l'ordre de 0,22% de protéines.

Un autre travail, publié par Moros et De la Guardia [70] présente l'estimation des paramètres nutritionnels, tels que, la teneur en hydrates et la valeur énergétique dans les jus de fruits. Les analyses ont été réalisés par réflexion totale atténuée et spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FT-IR) en utilisant la PLS comme approche d'étalonnage. Une autre étude, concernant l'application de la spectroscopie infrarouge pour une mesure rapide de la teneur en protéines du lait en poudre sur la base Séparateurs à Vaste Marge (SVM) [71] pour l'élaboration du modèle de prédiction des protéines a partir des spectres infra- rouge.

La méthode de couplage de la spectroscopie MIR et la PLS est appliquée aussi, pour déterminer le profil des acides gras dans le lait [72]. Elle est très utile et très puissante pour déterminer la composition du lait en acides gras à partir des spectres moyens infrarouge, ainsi que les résultats sont très satisfaisants. Egalement, cette méthode a été appliquée pour prédire de la qualité sensorielle des fromages en cours d'affinage [73].

Les résultats de ces travaux montrent que la méthode de la spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques, peut être utilisée comme une méthode rapide, sensible, robuste et à faible coût pour analyse.

Dans le même sens, notre étude vise à développer d'autres applications de la spectroscopie infrarouge combinée à la chimiométrie pour le contrôle qualité du lait et du beurre.

V. Références

- [1] Bertrand D. et Dufour D. *La spectroscopie et ses applications analytiques*. Ed. *Technique & Documentation, Paris*, (2000) 31-74.
- [2] Rogalski A. Infrared detectors: an overview. *Infrared Physics and Technology*, 43 (2002) 187-210.
- [3] Elmi Rayaleh W. Extraction des connaissances en imagerie micro spectrométrique par analyse chimométrique : Application à la caractérisation des constituants d'un calcul urinaire. *Thèse de doctorat*, Université des Sciences et Technologies de Lille, France (2006).
- [4] Rogalski A. History of infrared detectors. *Opto-electronics review*, 20 (2012) 279–308.
- [5] Lachenal G. Introduction à la spectroscopie infrarouge. In D. Bertrand et E. Dufour, *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, (2Ed), Tec & Doc, Paris : Lavoisier, (2006) 31-75.
- [6] Dalibart M. et Servant S. Spectroscopie dans l'infrarouge. *Techniques de l'ingénieur*, 2845 (2000) 1-26.
- [7] Banwell C. Fundamentals of molecular spectroscopy. *Mc Graw Hill, Londres*, (1983) 338-345.
- [8] Workman J. NIR spectroscopy calibration basics, in Handbook of near infrared analysis. Eds by D.A. Burns and E.W. Ciurczak, *Marcel Dekker, New York*, (1992) 247-280.
- [9] Essendoubi M. Identification et typage par micro spectroscopie IRTF des levures du genre *Candida* d'origine clinique. *Thèse de doctorat*, Université de Reims Champagne-Ardenne (2007).
- [10] Smith B. Infrared spectral interpretation: A systematic approach, *CRC Press, Washington, DC*, (1999) 1-29.
- [11] Wilson, R.H. Spectroscopic techniques for food analysis, Ed, *New York: VCH*, (1994) 246.
- [12] Bellon-Maurel V. Application de la spectroscopie proche infrarouge au contrôle en ligne de la qualité des fruits. *Thèse Doctorat*, Institut National Polytechnique de Toulouse (1992).
- [13] Griffiths P. and Haseth J. Fourier transform infrared spectroscopy in chemical analysis: a series of monographs on analytical chemistry and its applications, John Wiley, Hoboken, N. J. 83 (1986) 38.
- [14] Duhamel P. and Vetterli M. Fast Fourier Transforms: A tutorial review and a state of the art. *Signal Processing*, 19 (1990) 259-299.
- [15] Mc Clure W. Near infrared spectroscopy: Spectroscopic techniques for Food Analysis, Ed. R.H. Wilson, *VCH Publisher* (1994) 13-57.
- [16] Kloos G. Design of a Michelson interferometer for the measurement of electrostrictive strains. *Optics & Laser Technology*, 28 (1996) 481–484.

- [17] Zhang J., Xu J.Q., Gao Y. And Sh Ch. Modified Michelson interferometer for probing refractive index of birefringent crystal CSBN50. *Optics and Lasers in Engineering*, 47 (2009) 1212-1215.
- [18] Harrick N.J. *Internal Reflection Spectroscopy*. Ed, John Wiley & Sons New York (1967).
- [19] Snieder M. and Hansen W. Crystal effect on penetration depth in Attenuated total reflectance Fourier transformed study on human skin. *Microchim Acta*, 14 (1997) 677-678.
- [20] Cohen T.C., Diu B. et Laloe F. *Mécanique quantique, tome1*, Hermann, Paris, (1996) 480.
- [21] Roman M. and Smirnov S. Melamine detection by mid- and near-infrared (MIR/NIR) spectroscopy: A quick and sensitive method for dairy products analysis including liquid milk, infant formula, and milk powder. *Talanta*, 85 (2011) 562–568.
- [22] Etzion Y. and Linker R. Determination of protein concentration in raw milk by mid infrared Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance Spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 87 (2004) 2779–2788.
- [23] Roggo Y. Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimométrie. *Thèse de Doctorat*, université des Sciences et Technologies de Lille, France (2003).
- [24] Bertrand D. et Dufour E. La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, *TEC&DOC*, Paris, (2006) 479-566.
- [25] Massart D., Vandeginste B. and Buydens L. Handbook of chemometrics and Qualimetrics: Part A. *Elsevier science Ed; Amsterdam*, 20A (1997).
- [26] Bertrand D. Les méthodes d'analyse rapides dans les industries agroalimentaires, in: D. Bertrand, E. Dufour (Eds.), *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, Lavoisier, Paris, France, (2006) 4-28.
- [27] Goupy J. La méthode des plans d'expériences. Ed, Dunod, Paris, (1999).
- [28] Joliffe T. Principal component analysis. *Springer-Verlag, New York*, (1986) 271.
- [29] Tenenhaus, M. L'approche PLS. *Revue de Statistique Appliquée*, 47(1999) 2-55.
- [30] Bardos M. Analyse Discriminante. Ed, Dunod, Paris, (2001) 223.
- [31] Daudin J., Robin S. and Vuillet C. Statistique inférentielle. *Presses universitaires de Rennes, Rennes*, (1999) 185.
- [32] Haykin S. Neural networks : A comprehensive foundation. *Prentice Hall, New Jersey*, (1998) 842.
- [33] Otto M. Chemometrics: statistics and computer application in analytical chemistry. *Wiley-VCH, Weinheim* (1999).

- [34] Eriksson L., Johansson E., Kettaneh N. and Wold S. Multi- and Megavariate Data Analysis. Part I- Basic principles and applications. *Umetrics AB, Umea, Sweden* (2001) 1-527.
- [35] Danzart M. Statistique descriptive. Inb: SSHA and ISHA, Analyse sensorielle. *Manuel méthodologique, Tec&Doc, Paris*, (1990) 209.
- [36] Blashfield R.K., and Aldenderfer M.S. The methods and problems of cluster analysis. Dans J.R. Nesselroad (Éd.), *Handbook of multivariate experimental psychology*, 2nd ed, (1988). (447-473). New York : Plenum.
- [37] Kos A.J. and Psenicka C. Measuring similarity across methods. *Psychological reports*, 86 (2000) 858-862.
- [38] Miller J.N. Multivariate analysis. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry/ed. Par J.N. Miller, J.C. Miller.4th Ed. Harlow: Prentice Hall, (2000) 214-238.
- [39] Massart D.L., Vandeginste B.G.M, Buydens L.M.C and Semeyers V.J. Cluster Analysis, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B/ed. 1st Ed. Amsterdam: Elsevier*, (1997) 57-86.
- [40] Cudeck R. Exploratory factor analysis in Handbook of applied multivariate statistics and multivariate modelling. *Eds., Academic press, San Diego* (2000) 265 – 295.
- [41] Wold S. Sjostrom M. and Eriksson L. PLS regression: a basic tool for chemometrics, *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 58 (2001) 109-130.
- [42] Wold S., Trygg J., Berglund A. and Antti H. Some recent developments in PLS modelling. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 58 (2001) 131-150.
- [43] Vigneau E. and Qannari M. Clustering of variables around latent components. *Communications in Statistics-Simulation and Computation*, 32 (2003) 1131-1150.
- [44] Agnar H. PLS regression methods. *Journal of Chemometrics*, 2 (1988) 211-228.
- [45] Geladi P., Wold S. and Esbensen K. Image analysis and chemical information in images. *Analytica Chimica Acta*, 191 (1986) 473-480.
- [46] Pizarro C., Rodríguez-Tecedor S., Pérez-del-Notario N., Esteban-Díez I. and González-Sáiz J.M. Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors. *Food Chemistry*, 138 (2013) 915–922
- [47] Fraley C., Raftery AE. Model-Based Clustering, Discriminant Analysis and Density Estimation. *Journal of the American Statistical Association*, 97 (2002) 611–612.
- [48] Mohamadally H. and Fomani B. SVM : Machines à Vecteurs de Support ou Séparateurs à Vastes Marges, *BD Web, ISTY3, Versailles St Quentin, France* (2006).
- [49] Langeron Y., Doussot M., Hewson D.J. and Duchene J. Classifying NIR spectra of textile products with kernel methods. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 20 (2007) 415-427.

- [50] Dhanoa M., Lister S. et Sanderson R. The link between Multiplicative Scatter Correction (MSC) and Standard Normal Variate (SNV) Transformations of NIR spectra. *J. Near Infrared Spectrosc*, 2 (1994) 43-47.
- [51] Igne B., Roger J.M., Roussel J.M., Bellon-Maurel S., Hurburgh C.R. Improving the transfer of near infrared prediction models by orthogonal methods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 99 (2009) 57-65.
- [52] Savitzky A. and Golay M.J.E. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Anal. Chem*, 36 (1964) 1627-1639.
- [53] Barnes R., Dhanoa M. Lister S. Standard normal variate transformation and detrending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*, 45 (1989) 772-777.
- [54] Martens H. and Naes T. Multivariate calibration, Wiley & Sons, Chichester, (1989) 419. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 46 (1990) 1541.
- [55] Davies A.M.C. Cross validation, do we love it too much? *Spectroscopy Europe*, 18 (1998) 2.
- [56] Golbraikh A. and Tropsha A. Beware of q^2 . *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20 (2002) 269–276.
- [57] Tropsha A. and Golbraikh A. Predictive QSAR modeling workflow, model applicability domains and virtual screening. *Current Pharmaceutical Design*, 13 (2007) 3494-3504.
- [58] Dekker M., Workman J.J., Burns D.A. and Ciurczak E.W. NIR spectroscopy calibration basics in: Handbook of Near Infrared Analysis. Ed, New York, (1992) 247-280.
- [59] Cuny M. Authenticité des produits agroalimentaires par spectroscopie RMN 1H et outils chimiométriques. Thèse de doctorat, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech (2008).
- [60] Reis N. Quantitative evaluation of multiple adulterants in roasted coffee by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and chemometrics. *Talanta*, 115 (2013) 563–568.
- [61] Quiñones-Islas N. Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. *Food Research International*, 51 (2013) 148–154.
- [62] Xu L. Rapid discrimination of pork in Halal and non-Halal Chinese ham sausages by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and chemometrics. *Meat Science*, 92 (2012) 506–510.
- [63] De Luca M. and Terrouzi W. Derivative FT-IR spectroscopy for cluster analysis and classification of morocco olive oils. *Food Chemistry*, 124 (2011) 1113–1118.
- [64] Terrouzi W. and De Luca M. A discriminant method for classification of Moroccan olive varieties by using direct FT-IR analysis of the mesocarp section. *Vibrational Spectroscopy* 56 (2011) 123–128.

- [65] Nicoletta S., Cerretani L. Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. *Food Research International*, 43 (2010) 369–375.
- [66] Elabadi F. Analysis of Argan Oil Adulteration Using Infrared Spectroscopy. *Spectroscopy Letters*, 45 (2012) 458–463.
- [67] Bassbasi M., Hafid A., Platikanov S., Tauler R. and Oussama A. Study of motor oil adulteration by infrared spectroscopy and chemometrics methods. *Fuel*, 104 (2013) 798–804.
- [68] Jawaid S., Talpur F., Sherazi T.H., Nizamani S.M. and Khaskheli A. Rapid detection of melamine adulteration in dairy milk by SB-ATR–Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 141 (2013) 3066–3071.
- [69] Etzion Y., Linker R., Cogan U. and Shmulevich I. Determination of Protein Concentration in Raw Milk by Mid-Infrared Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance Spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 87 (2004) 2779–2788.
- [70] Moros J., Iñón F., Garrigues S. and De la Guardia M. Determination of the energetic value of fruit and milk-based beverages through partial-least-squares attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 538 (2005) 181–193.
- [71] Wu D., He Y., Feng S. and Da-Wen S. Study on infrared spectroscopy technique for fast measurement of protein content in milk powder based on LS-SVM. *Journal of Food Engineering*, 84 (2008) 124–131.
- [72] Ferrand M. Determination of fatty acid profile in cow's milk using mid-infrared spectrometry: Interest of applying a variable selection by genetic algorithms before a PLS regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 106 (2011) 183–189.
- [73] Kraggerud F. Prediction of sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. *International Dairy Journal*, 34 (2014) 6–18.

Partie II :
Etude expérimentale

Chapitre I :

**Exploration de la qualité nutritionnelle
du lait cru dans les régions
Marocaines : Fkih Ben Salah, Kssiba et
Kelaa des Sraghna**

I. Introduction

Au niveau mondial, l'industrie laitière a son poids socio-économique, car le lait est un élément essentiel dans la nutrition humaine et est un produit de grande consommation. Le lait est produit pour être consommé directement ou vendu aux industriels comme matière première, ou bien pour la fabrication d'une grande variété de dérivés.

Au Maroc, la production laitière a été fortement encouragée par l'Etat depuis les années soixante-dix sous l'effet d'une demande croissante du lait [1], suite à une croissance démographique de plus en plus importante. Afin de garantir les besoins en lait et ses dérivées, le Maroc a adopté une stratégie favorisant l'évolution de la production laitière nationale, ainsi que le développement du secteur laitier. En plus de la promotion de l'élevage (des vaches laitières de race sélectionnée) l'un des éléments fondamentaux de la politique laitière nationale a été la mise à niveau et l'organisation de la chaîne de commercialisation du lait, par l'instauration des coopératives laitières. Le développement des coopératives et des fermes a contribué fortement à augmenter la quantité de lait produit, mais il a posé des problèmes de la qualité. Le marché du lait exige des livraisons de lait régulières sur toute l'année. Pour pouvoir atteindre cet équilibre, il faudrait combiner les productions de lait mensuelles des coopératives avec celle des fermes.

Plusieurs travaux sur la qualité du lait ont été menés au niveau Maroc [2, 3]. Une étude a été faite au niveau national sur la biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine [2]. Une autre a été faite sur la caractérisation physico-chimique du lait de chèvre comparée à celles du lait de vache et de dromadaire et son aptitude fromagère [3].

L'importance socio-économique du secteur laitier dans les deux régions : la région de Kalaa des Sraghna et la région de Tadla Azilal n'est plus à démontrer. Elle se traduit à travers sa qualité et la contribution de ces deux régions de plus de 20% de la production laitière nationale et pourtant peu de travaux ont été réalisés sur la qualité du lait dans ces deux régions. Cependant, une étude est faite pour évaluer les facteurs déterminant la qualité microbiologique du lait produit dans la région de Tadla [4].

De ce fait, l'évaluation de la qualité nutritionnelle du lait s'avère nécessaire dans ces deux régions pour mettre en évidence la variabilité de la qualité nutritionnelle lors de la production du lait, cartographier la qualité du produit dans les régions et déterminer les facteurs influents, afin d'améliorer la production et la rentabilité. Cette qualité est mise en évidence à travers la détermination de trois principaux constituants du lait dans six coopératives et trois fermes, appartenant à ces deux régions durant l'année 2011. Ces constituants sont la matière grasse (MG), le taux protéique (TP) et l'extrait sec dégraissé (ESD).

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériels : sites de collecte des échantillons

Six coopératives laitières et trois fermes, dans la région de Fkih Ben Saleh (FBS), la région de Kssiba (Kss) et la région de Kelaa Sraghna (Ka) ont été retenues pour cette étude. Cette dernière a été réalisée sur des échantillons provenant des centres de collecte (coopératives) et des fermes. Le choix de ces coopératives et ces fermes a été basé sur la variabilité de type d'alimentation, la situation géographique et le mode d'élevage. La figure II.I.1 montre la représentation géographique des points de prélèvement des échantillons.

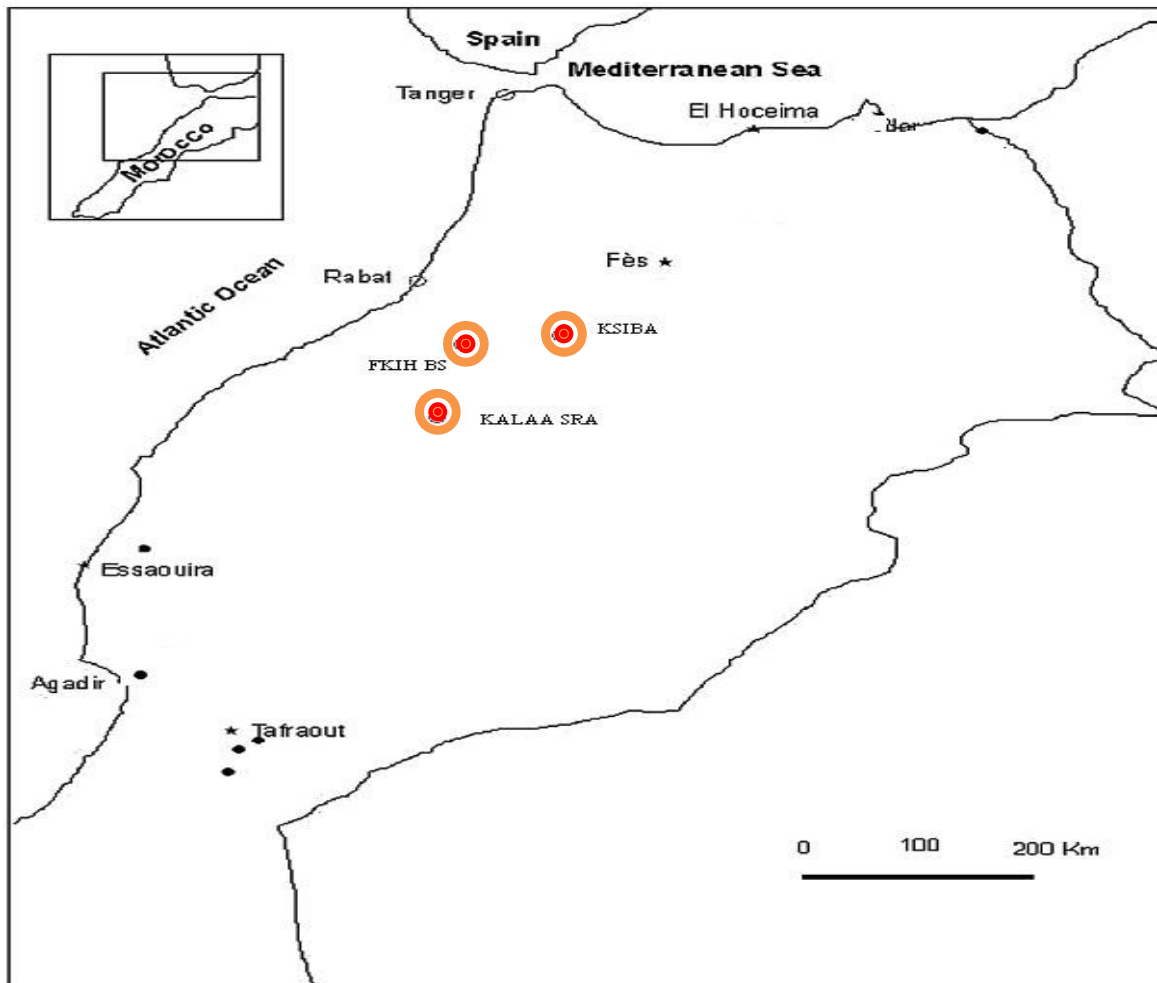


Figure II.I.1 : Représentation géographique des points de prélèvement des échantillons (cercles en rouge).

Les échantillons sont prélevés à partir des coopératives et des fermes, dans des flacons stériles. L'acheminement des échantillons au laboratoire a été fait directement dans une glacière à une température de 4 ± 2 °C. Le temps maximal entre le prélèvement et l'analyse des échantillons ne dépassait pas les trois heures. Le prélèvement des échantillons a été effectué pendant deux périodes (la haute lactation et la basse lactation) durant l'année 2011. La première période s'étale entre Février-Mars et Avril et la deuxième durant les trois mois de Septembre, Octobre et Novembre.

II.2. Méthodes : Analyses par méthodes de références

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux principaux constituants du lait qui entrent dans la détermination de son coût. Les paramètres étudiés sont : le taux protéique (TP), la matière grasse (MG) et la matière sèche dégraissée (ESD). Ces paramètres sont déterminés par des méthodes de dosage classique dites de référence.

II.2.1. Méthode de dosage de la matière grasse (méthode de Gerber)

Les lipides sont présents sous forme de globules de matière grasse en émulsion. Ces globules sont entourés par des membranes protectrices.

La matière grasse est déterminée selon la méthode acido-butyrométrique dite méthode de Gerber [5]. Cette méthode se base sur la séparation complète des lipides. Ceci est effectué à l'aide d'acide sulfurique concentré (91% ou acide sulfurique Gerber) qui oxyde et hydrolyse les parties organiques de la membrane des globules gras, les fractions de protéines et le lactose. Les oxydants colorent la solution en brun. Les lipides libérés sont ensuite séparés par centrifugation.

Le principe de cette méthode est basé sur l'introduction de l'acide sulfurique Gerber (10 mL pour libérer la matière grasse) dans un butyromètre à lait, puis ajout de 11 millilitres du lait et 1 millilitre d'alcool iso-amylque (pour mieux séparer les deux phases). Après agitation du butyromètre, on procède à une centrifugation pendant 5 min pour séparer les deux phases.

Les résultats sont obtenus par une lecture de la hauteur de la phase supérieure (phase grasse). Les résultats sont exprimés en g/L.

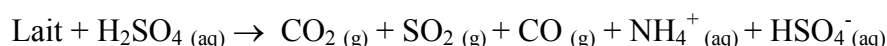
II.2.2. Méthode de dosage des protéines (méthode de Kjeldahl)

L'azote total présent dans le lait est de deux origines : azote protéique et azote non protéique. Le taux protéique est déterminé selon la méthode de référence dite méthode de Kjeldahl qui est la plus courante pour le dosage de l'azote organique [6]. Le principe de cette méthode est basé sur la détermination de l'azote total, l'azote non protéique. Ensuite, le taux protéique est calculé à partir de ces deux azotes. Cette méthode qui est basée sur le titrage acido-basique, se déroule en trois étapes : la minéralisation, la distillation et le dosage.

Azote total

➤ Minéralisation ou digestion

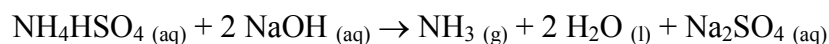
Au cours de cette étape, l'échantillon du lait se décompose dans l'excès d'acide sulfurique concentré à une température de 420 °C, pour transformer l'azote présent dans le lait en ion ammonium. La réaction conduit à la formation de NH_4^+ (aq) selon la réaction :



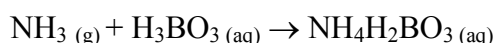
L'azote total est donc transformé sous la forme minérale en NH_4^+ (ion ammonium).

➤ Distillation

Les ions NH_4^+ du minéralisat, se trouvant dans un excès d'acide sulfurique, ne sont pas dosés directement. Cette étape de distillation permet de déplacer et de transformer les ions NH_4^+ du minéralisat sous forme de NH_3 (ammoniac). Après l'ajout d'un excès d'hydroxyde de sodium 40% et la distillation, l'ammoniac (NH_3) est produit selon la réaction suivante :

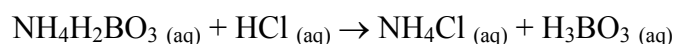


L'ammoniac produit est ensuite acheminé par une canalisation pour être piégé dans une solution d'acide borique (H_3BO_3). Il en résulte une réaction acide-base et l'ammoniac est transformé en borate d'ammonium selon la réaction suivante :



➤ Dosage et expression des résultats

L'azote présent dans le lait est totalement récupéré sous forme de borate d'ammonium et peut être déterminé par un dosage acido-basique. En effet, le borate d'ammonium est un sel amphotère qui, en présence d'acide chlorhydrique, se comporte comme une base dans un rapport stœchiométrique de 1 : 1. La réaction de dosage est la suivante :



Les résultats sont exprimés selon l'équation suivante :

$$AT = \frac{0.1 \times 14.007 \times (V_a - V_b)}{m}$$

Avec :

AT : azote total en g/kg.

V_a : volume versé d'acide sulfurique pour le dosage de l'échantillon en ml.

V_b : volume versé d'acide sulfurique pour le dosage de l'essai à blanc en ml.

m : masse de la prise d'échantillon.

Azote non protéique

L'azote non protéique (ANP) et l'azote total (AT) sont dosés de la même manière. La particularité dans le cas d'azote non protéique, c'est qu'il faut éliminer les protéines par précipitation sous l'action d'acide trichloracétique et filtrer le mélange pour récupérer le filtrat. L'opération de minéralisation s'effectue alors sur le filtrat obtenu.

Ensuite on procède de la même façon que la détermination de l'azote total. Les résultats sont donnés par l'équation suivante :

$$ANP = \frac{1/25 \times 14.007 \times (V_a - V_b) \times [(m_1 + m) - (m \times u)]}{m \times mf}$$

Avec :

ANP : azote non protéique en g/kg.

V_a : volume versé d'acide sulfurique (1/25N) pour le dosage de l'échantillon en ml.

V_b : volume versé d'acide sulfurique (1/25N) pour le dosage de l'essai à blanc en ml.

m_1 : masse de l'acide trichloracétique en (g).

m : masse de la prise d'essai en (g).

mf : masse du filtrat

u : Facteur de correction égal :

- 0,06 pour le lait entier
- 0,03 pour le lait écrémé

Calcul du taux protéique

Le calcul de la teneur en protéines se fait selon l'équation :

$$TP = (AT - ANP) \times 6,38 \text{ en g/kg}$$

Avec :

AT : azote total en g/kg.

ANP : azote non protéique

6,38 : facteur de conversion d'azote

II.2.3. Méthode de dosage de la matière sèche

La matière sèche dégraissée est déterminée par la méthode d'étuvage [7]. Après évaporation d'eau sur un bain marie bouillant pendant une demi-heure, l'échantillon du lait est incubé pendant trois heures à une température de 102 °C. La teneur en extrait sec total (EST) est donnée par l'équation suivante :

$$\text{EST (g/kg)} = \frac{M_1 - M_0}{P} \times 1000$$

Avec :

M_0 : le poids de la capsule vide

M_1 : le poids de capsules après étuvage

P : pesé du produit

Ensuite, l'extrait sec dégraissé (ESD) est calculé à partir de l'EST selon l'équation suivante :

$$\text{ESD (g/l)} = \frac{\text{EST (g/kg)} \times d - \text{MG (g/l)}}{1 - [\text{MG (g/l)} / 920]}$$

Avec :

- ESD : Extrait sec dégraissé.
- EST : Extrait sec total.
- MG : Matière grasse.
- d : Densité = 1,03 pour lait cru entier.

II.3. Méthodes chimiométriques : Analyses en composantes principales

La méthode chimiométrique appliquée dans cette étude est l'analyse en composantes principales (ACP). Cette méthode multidimensionnelle d'analyse des données, consiste à transformer des données originales corrélées entre eux en nouvelles variables réduites décorréliées les unes des autres, nommées "composantes principales".

Il s'agit d'une approche à la fois statistique, par ce qu'elle permet la recherche de composantes indépendantes afin d'expliquer au mieux la variabilité des données et permet la représentation des données dans un espace géométrique, en fonction des directions d'inertie maximale [8].

Aucune hypothèse n'est faite concernant des corrélations entre les individus et entre les variables. L'ACP fait une hypothèse simple, mais raisonnable, à savoir, l'information pertinente correspond à la variabilité associée avec les directions de plus grandes dispersions des échantillons. Les composantes principales doivent toutes être orthogonales, pour éviter la redondance d'information.

Dans cette étude, la matrice utilisée est constituée par les échantillons de lait en lignes et les paramètres étudiés en colonnes (Tableau II.I.1). L'ACP consiste à la décomposition de la matrice des données originales pour obtenir des scores qui sont des matrices des coordonnées factorielles et loadings qui sont des contributions factorielles [9]. La visualisation des scores et des loadings constitue la base d'interprétation des résultats obtenus par analyse en composantes principales.

Le logiciel Unscrambler version X.2 (Camo, Norway), spécialisé dans l'application des méthodes chimiométriques, a été utilisé dans cette étude.

III. Résultats et discussions

III.1. Evaluation des paramètres nutritionnels du lait dans les deux périodes

Dans ce travail, les paramètres étudiés afin d'évaluer la qualité du lait, sont la matière grasse (MG), le taux protéique (TP) et l'extrait sec dégraissé (ESD), en tenant compte de l'effet de la période sur le laitage. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau II.I.1.

Tableau II.I.1 : Les paramètres nutritionnels et les litrages dans les deux périodes étudiées (données en moyenne).

Origines	Période I (mois Février-Mars et Avril)				Période II (mois Septembre-Octobre et Novembre)			
	Litrage (x 1000 litres)	MG (g/l)	TP (g/kg)	ESD (g/l)	Litrage (x 1000 litres)	MG (g/l)	TP (g/kg)	ESD (g/l)
FBS 1	184,88	36,50	30,96	90,96	174,218	37,67	31,15	92,15
FBS 2	254,361	36,92	30,82	90,89	186,031	37,11	31,24	91,78
Kss 1	185,713	37,85	30,41	90,72	108,055	38,61	30,92	91,02
Kss 2	117,558	37,21	30,61	90,52	97,442	39,32	31,29	91,66
Ka 1	177,532	32,30	29,56	89,92	58,865	33,19	30,12	90,56
Ka 2	204,814	33,68	29,76	89,88	90,351	34,60	30,45	90,74
FBS F	93,423	41,05	33,78	96,81	93,921	41,84	33,87	97,01
Kss F	83,068	41,16	33,02	96,67	83,621	41,40	33,09	96,73
Ka F	82,508	38,28	32,94	95,36	82,136	38,97	33,02	95,48

Avec :

FBS 1 et FBS 2 : coopératives de la région Fkih Ben Saleh ;

Kss 1 et Kss 2 : coopératives de la région de Kssiba ;

Ka 1 et Ka 2 : coopératives de la région Kelaa ;

FBS F : Ferme de la région Fkih Ben Saleh ;

Kss F : Ferme de la région de Kssiba ;

Ka F : Ferme de la région Kelaa ;

MG : Matière grasse ;

TP : Taux protéique ;

ESD : Extrait Sec Dégraissé ;

Pour bien exploiter les données du tableau II.I.1, nous les avons représentées sous forme d'histogrammes. Les résultats sont présentés par les figures II.I.2, II.I.3, II.I.4 et II.I.5.

Le premier paramètre étudié est le litrage. La figure II.I.2 représente la variation du litrage des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

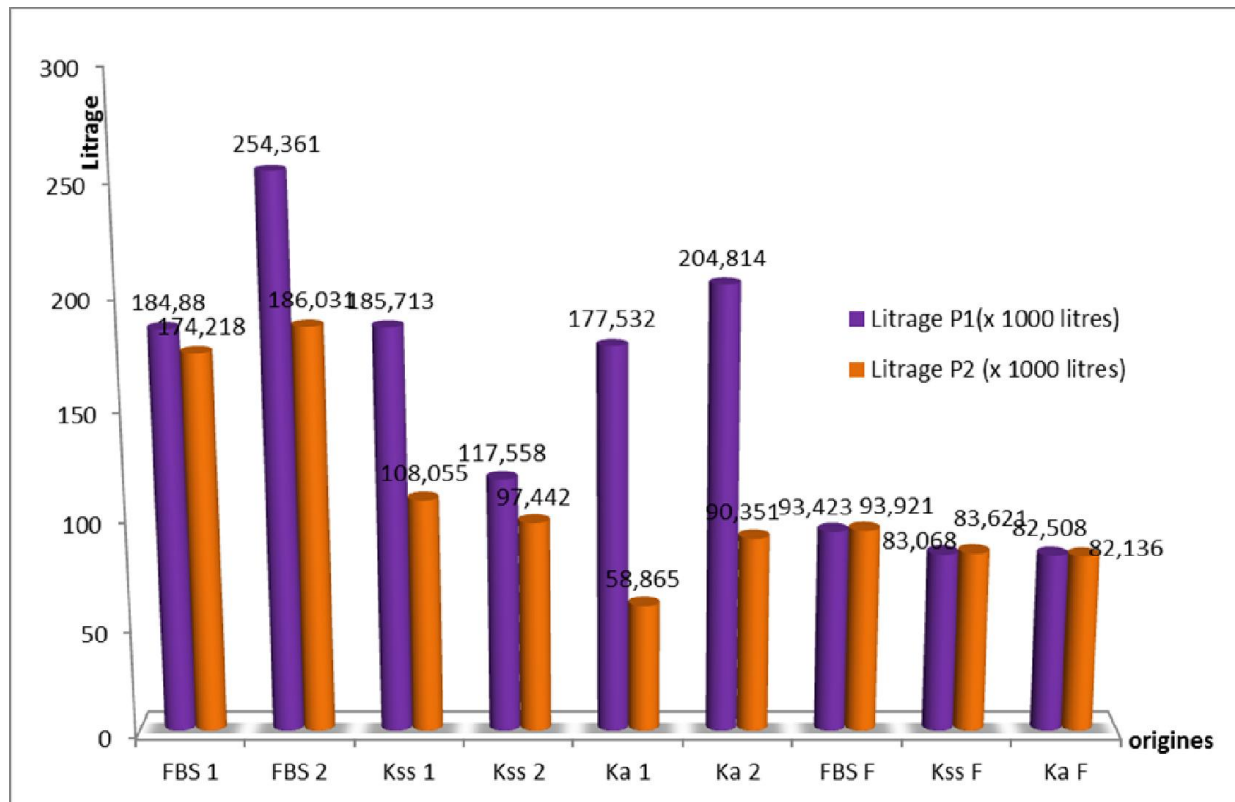


Figure II.I.2 : Variation du litrage des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

Avec :

Litrage P1 (en 1000 litres) : litrage produit au cours de la période I ;

Litrage P2 (en 1000 litres) : litrage produit au cours de la période II ;

Les résultats de cette étude, montrent une différence au niveau du litrage entre les différentes coopératives, entre les différentes fermes, et aussi entre les fermes et les coopératives.

Concernant les coopératives, nous remarquons que le litrage varie considérablement dans la même période. Cette variation se traduit comme suit :

Dans la période I : le litrage est très important dans les coopératives de la région de FBS, suivi par celles de la région Ka et à la fin celles de Kss. Dans cette période, le litrage du lait produit varie entre 117.558 et 254.361 litres.

Dans la période II : le litrage est élevé dans les coopératives de la région de FBS, suivi par celles de la région de Kss et à la fin celles de la région Ka. Dans cette deuxième période, le litrage varie de 58.865 à 186.031 litres.

En passant de la période I à la période II : on note une diminution remarquable du litrage. La moyenne du lait produit par les coopératives est de 178.476 litres dans la première période, alors que cette moyenne est de 119.160 litres dans la deuxième.

Concernant les fermes (FBS F, Kss F et Ka F), le litrage ne varie pas d'une manière significative dans la même période et aussi, en passant de la période I à la période II.

Dans la première période, il varie de 82.508 à 93.423 litres. Alors qu'il varie de 82.136 à 93.921 litres dans la période II. La moyenne du litrage est presque constante dans les deux périodes et elle est de l'ordre de 86.400 litres.

En comparant les litrage entre les différentes coopératives et les fermes, à l'exception de la coopérative (Ka 1) dans la deuxième période, le litrage au niveau des coopératives est élevé par rapport à celui des fermes.

La partie suivante sera consacrée à l'évaluation de la qualité nutritionnelle des laits étudiés. Pour cela nous allons déterminer les trois principaux paramètres : la matière grasse, le taux protéique et la matière grasse. La figure II.I.3 représente la variation d'extrait sec dégraissé des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

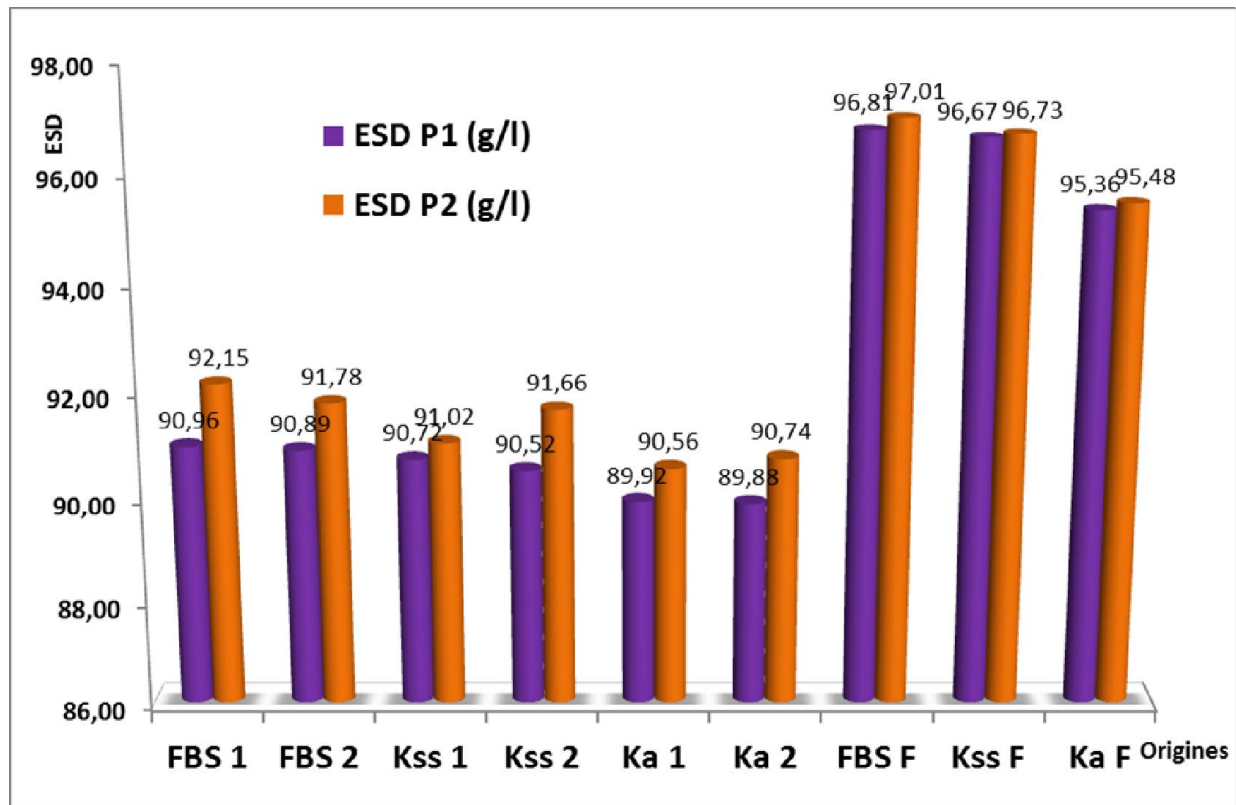


Figure II.I.3 : Variation d'extrait sec dégraissé (ESD) des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

Avec :

ESD P1 (g/l) : Extrait sec dégraissé dans la période I ;

ESD P2 (g/l) : Extrait sec dégraissé dans la période II;

L'histogramme ci-dessus, montre la variation de l'ESD au sein des coopératives, au sein des fermes, et aussi entre les fermes et les coopératives.

Au niveau des coopératives, on note que la variation de l'extrait sec est remarquable, soit dans la même période ou bien lorsqu'on passe de la période I à la période II. On note également, une faible teneur en ESD des coopératives de la zone Kelaa Sraghna (Ka 1 et Ka 2) par rapport à celles des deux autres régions.

Dans la première période, le paramètre ESD varie entre 89,88 et 90,96 g/l, alors que dans la deuxième, il varie de 90,56 à 92,14 g/l. Généralement, l'ESD augmente de la période I à la

période II. La moyenne d'ESD du lait est de 90,48 g/l dans la première période et de 91,31 g/l dans la deuxième.

Les fermes sont caractérisées par une faible variation de l'ESD par rapport aux coopératives. D'une manière générale, il y a une légère augmentation d'ESD en passant de la période I à la période II. Chez les fermes et dans la première période, l'ESD varie de 95,35 à 96,80 g/l, alors que dans la deuxième il varie de 95,48 à 97,01 g/l. De la période I à la période II, la teneur en ESD est presque constante dans les deux périodes (96,28 g/L dans la période I et 96,41 g/L dans la période II).

On note également, une faible teneur en ESD dans la ferme et les coopératives de la zone Kelaa Sraghna (Ka F, Ka 1 et Ka 2) par rapport aux deux autres régions. Et que, les fermes ont plus d'ESD par rapport aux coopératives.

Le deuxième paramètre étudié dans ce travail est le taux protéique (TP). La figure II.I.4 représente la variation du TP des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

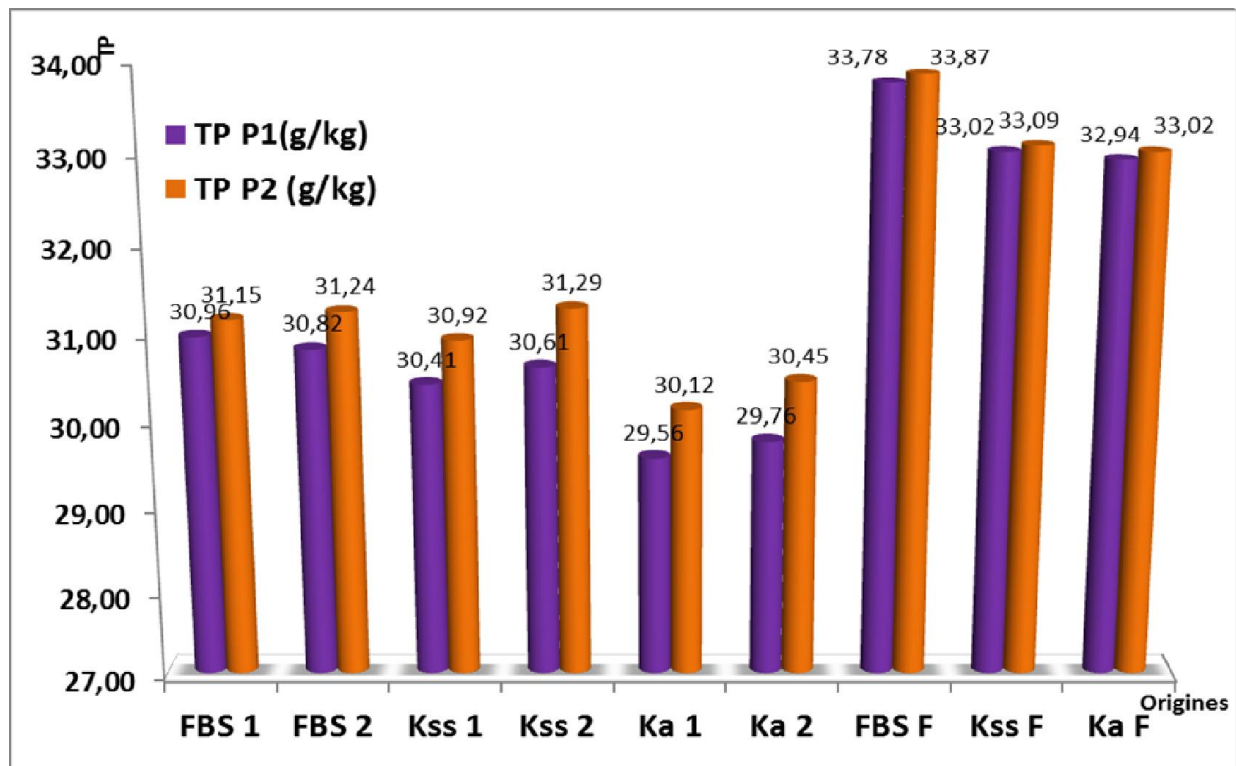


Figure II.I.4 : Variation du taux protéique (TP) des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

Avec : TP P1 (g/kg) est le taux protéique dans la période I et TP P2 (g/kg) est le taux protéique dans la période II.

L'histogramme ci-dessus, montre la variation du TP entre coopératives, entre fermes, et aussi entre fermes et coopératives.

Dans la même période, le TP des laits produits par les coopératives varie considérablement. Dans la première période, le TP des laits produit par les coopératives varie de 29,56 à 30,95 g/kg, alors qu'il varie de 30,12 à 31,28 g/kg dans la deuxième. De la période I à la période II, le TP des laits chez les coopératives a augmenté. La moyenne de TP des laits est de 30,35 g/kg dans la première période et de 30,86 g/kg dans la deuxième.

Concernant les fermes, la variation du TP est légèrement marquée. Dans la première période, le TP des laits varie de 32,93 à 33,78 g/kg et varie de 33,02 à 33,87 g/kg dans la deuxième période. De la période I à la période II, la moyenne de TP des laits des fermes, est presque constante dans les deux périodes (33,24 g/kg dans la période I et 33,33 g/kg dans la période II).

En comparant les TP des fermes et celui des coopératives, on note que, le TP des fermes et des coopératives de la zone de Fkih Ben Salah et Kssiba est supérieur à celui de la région de Kelaa Sraghna. Ainsi que, les fermes ont un TP supérieur à celui des coopératives.

Le dernier paramètre étudié dans ce travail est la matière grasse (MG). La figure II.I.5 représente la variation de MG des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

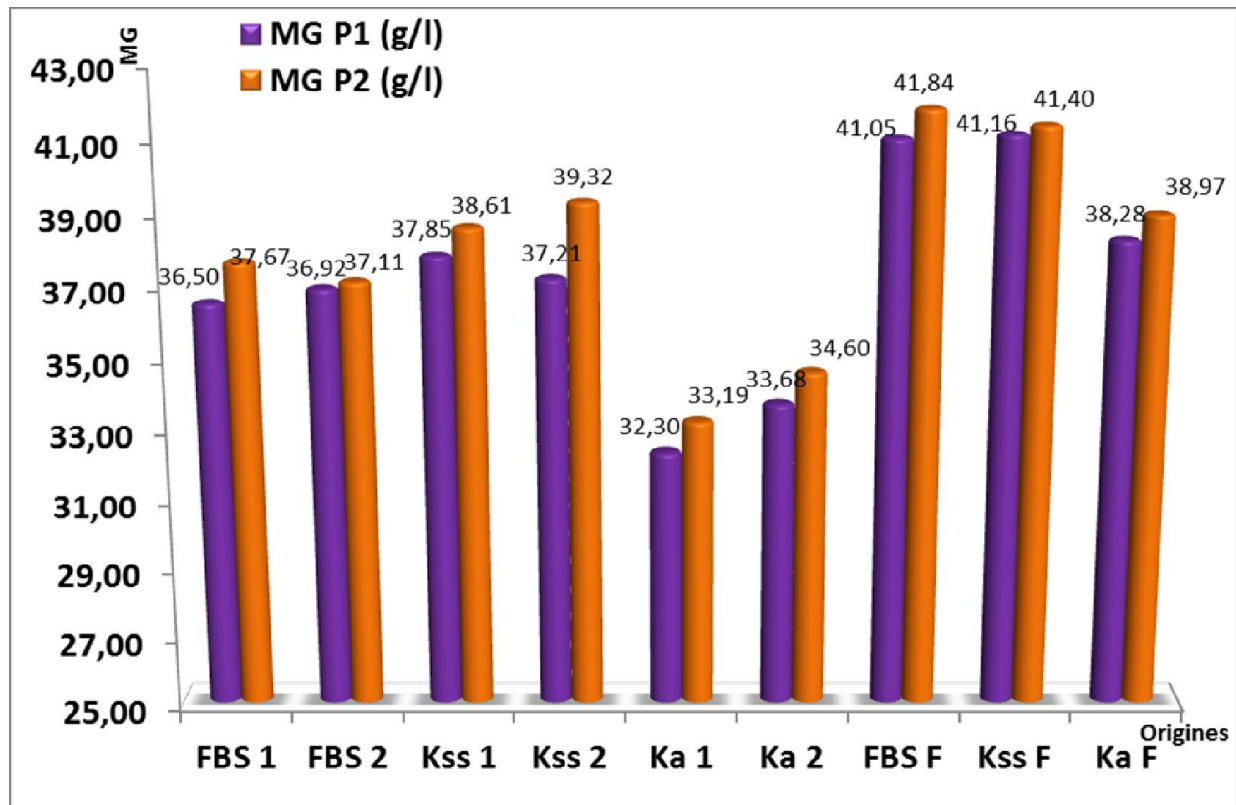


Figure II.1.5 : Variation de la matière grasse des coopératives et des fermes dans les deux périodes.

Avec :

MG P1 (g/l) : Matière grasse dans la période I.

MG P2 (g/l) : Matière grasse dans la période II.

La figure ci-dessus montre la variation de la MG entre les différentes coopératives, et entre les différentes fermes dans les deux périodes (I et II).

En comparant dans la même période, on distingue une différence remarquable de la MG chez les coopératives. Dans la première période, la MG des laits varie entre 32,30 et 37,85 g/l, alors que dans la deuxième période, la MG varie de 33,19 à 39,32 g/l. On note également, une faible teneur en MG des coopératives de la zone Kelaa Sraghna (Ka 1 et Ka 2) par rapport aux deux autres régions.

La teneur en MG des laits des coopératives a augmenté, en passant de la période I à la période II. La moyenne de la MG est de 35,74 g/l dans la première période et de 36,75 g/l dans la deuxième.

En comparant les teneurs en MG des fermes dans la même période, on distingue une différence remarquable. Dans la première période, la teneur en MG des laits varie de 38,28 à 41,16 g/l, alors qu'elle varie dans l'intervalle de 38,97 à 41,84 g/l dans la deuxième période.

La teneur en MG des fermes, a légèrement évolué à la hausse, de la période I à la période II. La moyenne de la MG du lait est égale à 40,16 g/l, alors qu'elle atteint 40,73 g/l dans la deuxième période. On note également, une faible teneur en MG de la ferme de la zone Kelaa Sraghna (Ka F) par rapport aux deux autres régions (région FBS et Kssiba). Et que, les fermes ont plus de teneur en MG par rapport aux coopératives.

➤ Synthèse :

D'après les différents paramètres étudiés, les résultats montrent une variabilité de la qualité nutritionnelle des laits entre les différentes coopératives, entre les différentes fermes et aussi par comparaison des fermes et des coopératives.

Concernant les coopératives, durant la même période : les résultats montrent qu'il existe une différence significative des paramètres nutritionnels (ESD, MG et TP). D'une manière générale, les paramètres étudiés chez les coopératives de la région de Fkih Ben Salah sont importants comparés à ceux de la région de Kssiba, suivies par ceux de la région de Kalaa Sraghna.

A propos des fermes et dans la même période : on note également une différence au niveau des paramètres nutritionnels, avec la même tendance que chez les coopératives, c-à-d, les paramètres nutritionnels dans la région de Fkih Ben Salah sont plus importants, par rapport aux deux autres régions.

En comparant les résultats relatifs aux fermes et aux coopératives dans la même période : la teneur des paramètres nutritionnels (ESD, MG et TP) des fermes est beaucoup plus importante par rapport à celle des coopératives.

Cette variation marquée chez les coopératives et les fermes, est due probablement à la différence des origines géographiques, des conditions climatiques et l'alimentation des vaches. Ces deux derniers facteurs influent directement sur la composition du lait.

En passant de la période I à la période II, la teneur des paramètres nutritionnels du lait des coopératives augmente considérablement, alors que le litrage diminue. Par contre, chez les fermes, les paramètres nutritionnels et le litrage varie légèrement dans la même tendance, que celle des coopératives. On note également, que l'évolution de la quantité du lait produite et sa qualité nutritionnelle sont inversement proportionnelles.

Ces différences entre les deux périodes sont liées fortement au climat et aux conditions pluviométriques [10, 11]. Le Maroc est confronté durant le printemps (période I) à un net excédent de lait dû à une grande disponibilité des aliments riches en eau, ce qui affecte les teneurs en matière grasse, en protéines et en extrait sec dégraissé. Ces trois paramètres diminuent suite à un effet de dilution de ces matières dans le lait. En revanche, ils baissent pendant la période d'été (période II) à cause de la sécheresse et l'utilisation des aliments secs.

La particularité des fermes est due aux techniques d'élevages adoptées qui permettent une répartition de la production laitière, de plus en plus homogène sur toute l'année [12].

III.2. Exploration des paramètres nutritionnels du lait dans les deux périodes

L'Analyse en composantes principales (ACP) avec validation croisée a été appliquée pour explorer les données acquises. Dans cette étude, l'ACP a été utilisé pour étudier les grandes tendances des paramètres nutritionnels (MG, TP et ESD).

Les résultats sont résumés sur les figures II.1.6 et II.1.7. La première figure représente la variance expliquée en fonction des composantes principales.

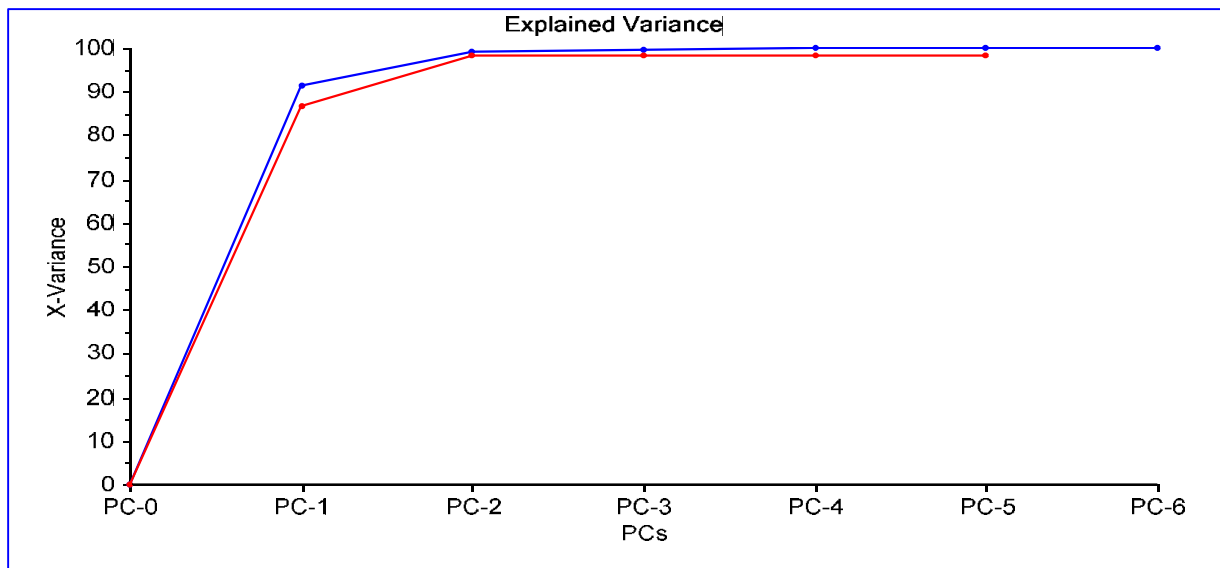


Figure II.I.6 : Plot de variances expliquées en fonction des composantes principales

Le modèle ACP avec deux composantes explique 99% de la variance totale des données. PC1 et PC2 expliquent respectivement, 91% et 8% de la variance totale.

La figure II.I.7 représente la PC2 en fonction de PC1 du Biplot. On distingue deux grands ensembles d'échantillons ; les paramètres en (rouge) et l'origine de production (bleu).

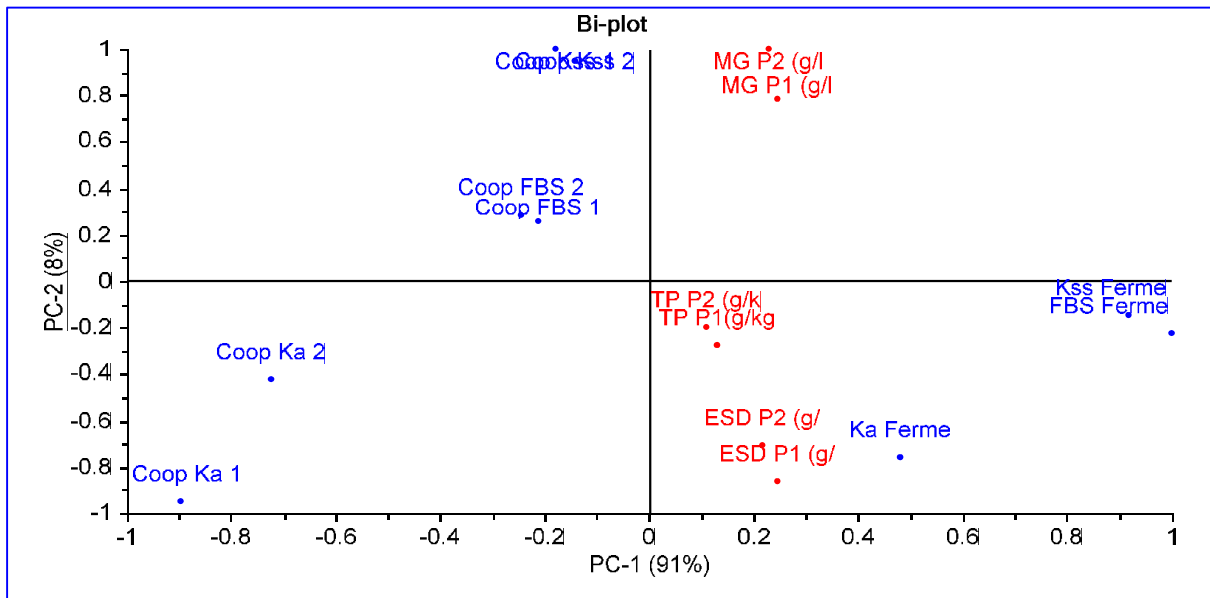


Figure II.I.7 : Biplot (PC1 vs PC2) d'analyse des paramètres nutritionnels des laits et leurs origines.

D'une manière générale, l'application de cette technique a permis la séparation de deux groupes (fermes et coopératives), on note aussi l'importance des paramètres MG et ESD par rapport au TP.

Sur le Biplot, les paramètres MG et ESD ont un poids très important. Donc la MG et l'ESD sont ceux qui font la différence entre les coopératives et les fermes.

La diminution de la qualité du lait est dans le sens, du positif au négatif score sur le PC1, en accord avec les fermes à droite et le groupe des coopératives dans la partie des scores négatifs. Par conséquent, la première composante principale (PC1) met en évidence la différence entre les échantillons du lait selon leur origine géographique et la nature du producteur (coopératives ou fermes).

En exploitant les loadings de PC1 et PC2, sur la figure II.I.7 (sur le Biplot), on remarque que PC1 explique la qualité du lait, puisque tous les paramètres sont de signe positif. La PC2 établit une distinction entre différents niveaux de concentration des paramètres. Par conséquent, elle explique le facteur temps (périodes). En effet, les valeurs des paramètres nutritionnels relatifs à la deuxième période de lactation sont relativement supérieures à celles de la première période.

IV. Conclusion

D'une manière générale, la qualité nutritionnelle et le litrage du lait cru varient, d'une coopérative à l'autre, d'une ferme à l'autre et également d'une ferme à une coopérative.

L'évolution de la qualité nutritionnelle, allant de la période I (mois février-Mars et Avril) à la période II (Septembre-Octobre et Novembre), est inversement proportionnelle avec le litrage. La variation des paramètres étudiés (Matière grasse, Taux protéique, Extrait sec dégraissé et Litrage) est considérablement constatée chez les coopératives, par contre chez les fermes, elle est légèrement marquée. Les laits des fermes sont de qualité supérieure (en comparant ESD, MG et TP) par rapport aux coopératives, notamment dans la région de Fkih Ben Salah.

L'analyse en composantes principales (ACP) a permis d'explorer la variabilité des laits de différentes régions, ainsi que les facteurs influents sur la teneur du lait en MG, ESD et TP. La méthode ACP a démontré la différence entre les régions en se basant sur les facteurs influant sur la teneur des paramètres nutritionnelles. Elle a montré également, que la MG et ESD sont les facteurs les plus influant sur la qualité du lait. Un effet période (temps) est également observé. Ce facteur a été le plus marqué avec des taux de contributions les plus élevés. L'autre paramètre restant, la nature du producteur (coopérative ou ferme) influence d'une manière concrète sur la qualité nutritionnelle du lait.

V. References

- [1] Araba A., Benjelloun S., Hamama A., Hamimaz R. et Zahar M. Organisation de la filière laitière au Maroc. *CIHEAM Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches*, 32 (2001) 47-62.
- [2] Ouadghiri M. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine, *thèse de doctorat*, université Mohammed v – Agdal faculté des sciences Rabat (2009).
- [3] Kouniba A. Caractérisation physico-chimique du lait de chèvre comparée à celles du lait de vache et de dromadaire et étude de son aptitude fromagère. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, avril (2007).
- [4] Afif A., Faid M. et Najimi M. Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology, BioAlliance Canada-Morocco*, 7 (2008) 2-7.
- [5] ISO 488:2008 (IDF 105:2008) Lait -- Détermination de la teneur en matière grasse -- Butyromètres Gerber, (2008).
- [6] ISO 8968-3:2004 (IDF 20-3: 2004) Lait -- Détermination de la teneur en azote -- Partie 3: Méthode de minéralisation en bloc (Méthode de routine semi-micro rapide), (2004).
- [7] ISO 6731:2010 (IDF 21:2010). Lait, crème et lait concentré non sucré --Détermination de la matière sèche, méthode de référence, (2010).
- [8] Jolliffe T. *Principal Component Analysis*. New York, NY: Springer; 1986.
- [9] Lebart L., Morineau A. et Pirlou M. L'analyse en composantes principales in : *Statistiques exploratoires multidimensionnelles*, Ed. Dunod, Bordas, Paris, (1997) 32.
- [10] Pierre-Yves G., Kuper M., Charles-Henri M., Puillet L. et Sraïri M. Dispositifs de coordination entre industriel, éleveurs et périmètre irrigué dans un bassin de collecte laitier au Maroc. *Cahiers Agricultures*, 16 (2007) 265-271.
- [11] Bousselmi k., Djemali m., Bedhiaf S. and Hamrouni A. The Factors affecting milk fat and protein of dairy cattle in Tunisia. *Renc. Rech. Ruminants*, 17 (2010) 399.
- [12] Labioui H., Elmoualdi L., Benzakour A., Yachioui M., Berny H. et Ouhssin M. Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148 (2009) 7-16.

Chapitre II :
**Classification du lait cru et du beurre
par spectroscopie MIR-FT et PLS**

I. Introduction

Les facteurs socioculturels et les ressources naturelles locales disponibles d'une société, déterminent les habitudes de consommation alimentaire. Ces relations entre les habitudes d'alimentation et les régions sont perdues avec le temps par divers facteurs. Ceux-ci comportent le développement des modes de transport, l'évolution dans les technologies de la production alimentaire, les expériences non-locales des consommateurs à travers les voyages et les moyens de médias. Une étude Suisse [1] a relevé que l'origine des produits alimentaires est importante pour la préférence d'achat de 82% des consommateurs.

La traçabilité est devenue une nécessité primordiale pour l'exportation et/ou l'importation de tous les produits alimentaires, elle constitue ainsi un enjeu économique considérable pour l'industrie agroalimentaire. Par conséquent, les pays doivent établir et appliquer la réglementation relative à la traçabilité et les producteurs, transformateurs, industriels et distributeurs doivent la respecter [2].

Les problèmes d'authenticité et de fraude dans la filière agroalimentaire sont multiples dans le secteur laitier. Le lait et ses dérivées ont la particularité d'être produits chaque jour [3], partout, et d'avoir une composition chimique qui varie en fonction de nombreux facteurs zootechniques et d'élevage : la race, l'espèce, stade de lactation et l'alimentation.

Les consommateurs doivent être informés sur la nature des produits et la méthode dont ils sont manipulés à l'aide d'une étiquette appropriée, ainsi que des méthodes simples, rapides et pertinentes doivent être mises en place pour garantir la conformité à l'étiquetage. Vue ses applications multiples dans l'industrie agro-alimentaire [4, 5, 6], la spectroscopie moyen infrarouge (MIR) combinée à la chimiométrie demeure très utile pour répondre à cette problématique. Cette méthode de combinaison permet la quantification des résultats (méthodes prédictives) à l'aide des méthodes de régression comme la PLS et PLS-DA dans le cas des analyses qualitatives. De même, elle permet la discrimination ou la classification dans des groupes selon les données.

Les méthodes de classification sont l'ensemble de méthodes qui tentent à rassembler les "cas" selon la similitude et/ou la différence de leurs réponses à un certain nombre de variables. Ceci

permet l'identification ou la validation, des cas échéants dans ce processus. Ces méthodes sont appelées méthodes supervisées, suite à l'utilisation d'adhésions de classe avant la manipulation des données [7].

Les techniques de discrimination recherchent à mieux séparer les différents groupes d'individus à partir des données préétablis. Les groupes peuvent se séparer en fonction de multiples raisons : les variations de la préparation des échantillons, les différences de type de composés chimiques et/ou des variations dans le processus de fabrication. Ces techniques sont appelées méthodes non supervisées. Elles visent à identifier des groupes ou des classes sans introduire la notion de classe. Dans le cas de la spectroscopie, des méthodes ont été développées pour classer les échantillons en fonction des réponses mesurées de quelques techniques spectroscopiques.

L'objectif de ce travail, est de classer le lait et le beurre de différentes régions du Maroc selon leurs origines géographiques, en utilisant la spectroscopie moyenne infrarouge (MIR) couplée aux méthodes chimiométriques. L'analyse en composantes principales (ACP) et la régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA) seront utilisés pour élaborer des modèles spécifiques et par conséquent, prédire de nouveaux échantillons.

II. Matériels et méthodes

II.1. Echantillonnage

Les échantillons sont prélevés de différentes régions du Maroc. La figure II.II.1 présente la cartographie des prélèvements.

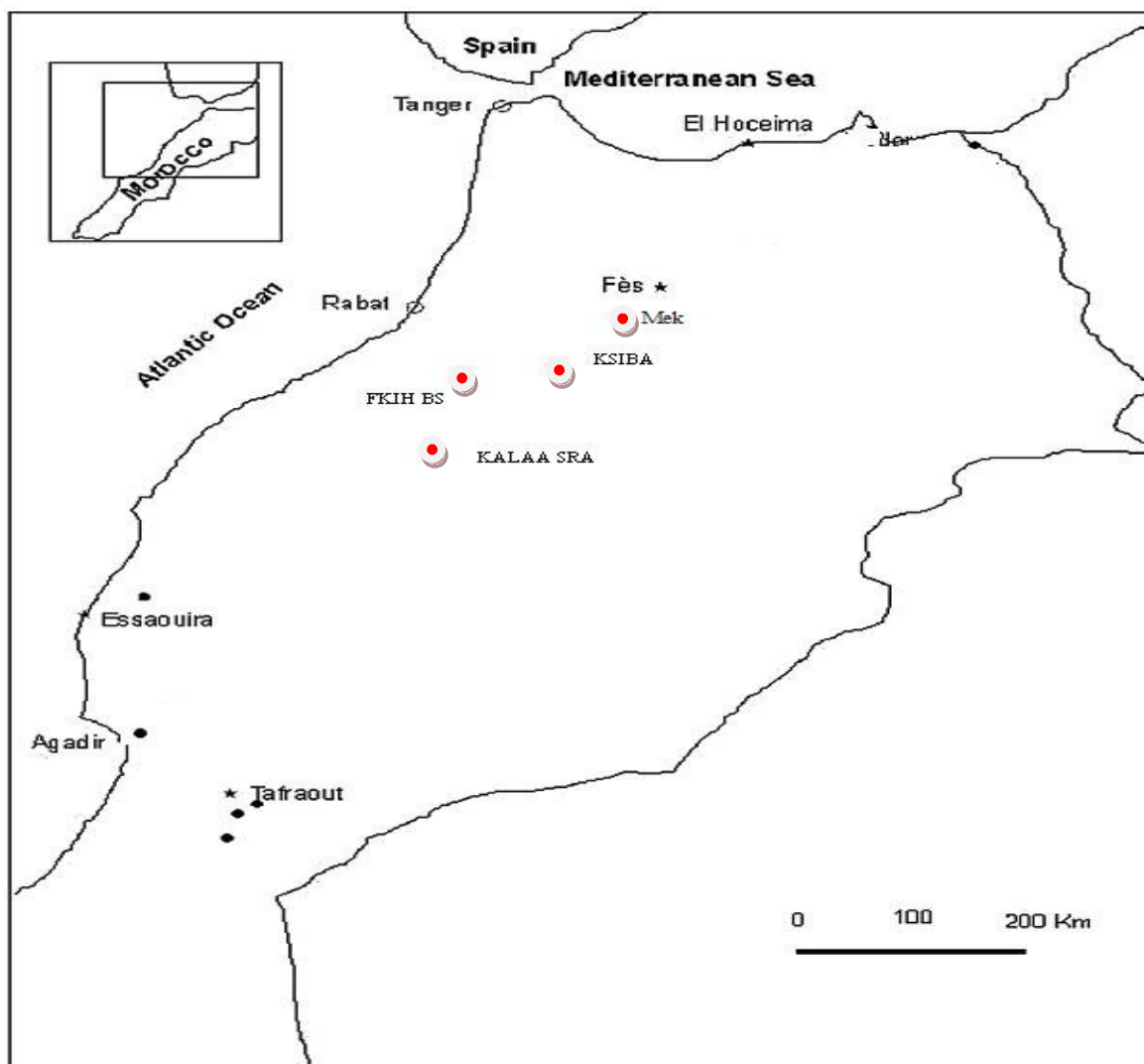


Figure II.II.1 : Les zones d'étude en cercles rouges.

Les régions étudiées, sont différentes en terme géographique et climatique. Le tableau II.II.1 présente les caractéristiques des zones sélectionnées comme points d'échantillonnage du lait et du beurre [8].

Tableau II.II.1 : Caractéristiques des zones sélectionnées comme points d'échantillonnage du lait et du beurre.

Paramètres	Meknes (Mek)	Kalaa Sra (Ka)	Kssiba (Kss)	Fkih Ben Salah (FBS)
Altitude (m)	800	465	1050	530
Taux de précipitation (mm/an)	500	340	750	523
Minimum température °C	3/7	5/9	-4/2	3/7
Maximum température °C	29/34	40/45	21/30	25/48

II.1.1. Classification du lait cru

Les échantillons du lait cru ont été prélevés à partir des coopératives de quatre régions du Maroc (figure II.II.1) : la région de Kssiba (Kss), la région de Kelaa des Sraghna (Ka), la région de Fkih Ben Salah (FBS), la région de Meknès (Mek) et deux autres échantillons de l'extérieur des régions citées (notés X1 et X2). Au total, **51** échantillons ont été prélevés. La totalité des échantillons est partagés en deux groupes, dont le premier constitué de **37** échantillons qui servira pour le développement du modèle de calibration et le deuxième ensemble de **14** échantillons servira pour la validation externe du modèle de calibration pré-établi.

II.1.2. Classification du beurre

Les échantillons du beurre ont été prélevés à partir de trois régions du Maroc (figure II.II.1) : la région de Kssiba (Kss : **20** échantillons), la région de Kelaa des Sraghna (Ka : **18** échantillons) et la région de Fkih Ben Salah (FBS : **16** échantillons). Au total, **54** échantillons ont été prélevés pour réaliser cette étude. Comme dans le cas du lait, la totalité des échantillons du beurre est divisées en deux groupes : le premier de **45** échantillons servira pour le développement du modèle de calibration et le deuxième de **9** échantillons (**3** échantillons par région) servira pour la validation externe du modèle de calibration préétablit.

II.2. Instrumentation

Un spectrophotomètre Bruker Vector 22, instrument équipé d'un détecteur DTGS, une source Globar (IR) et un séparateur KBr Germanium, a été utilisé pour enregistrer les spectres MIR

du lait et du beurre. Les échantillons ont été scannés 96 fois dans la gamme 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} à une résolution de 4 cm^{-1} . Le spectrophotomètre est piloté par le logiciel OPUS 5.5 de la société Bruker.

Une à deux gouttes du lait ou du beurre est (sont) déposée(s) sur la surface centrale du diamant à l'aide d'un compte gouttes. Les mesures sont effectuées à température ambiante. Le nettoyage de la cellule après chaque mesure est effectué avec de l'éthanol. Chaque spectre est le résultat d'absorption due à la composition de l'échantillon. Le spectre de l'échantillon étudié est obtenu par soustraction du « spectre du bruit de fond » appelé Background. Par conséquent, un spectre de référence «Background » est réalisé avant chaque mesure de spectre d'échantillon de façon à tenir compte des petites variations atmosphériques qui pourraient survenir au cours d'analyse.

II.3. Méthodes chimiométrique appliquées

Des méthodes chimiométriques ou bien des méthodes d'analyses multidimensionnelles, sont utilisés pour faciliter l'interprétation et l'exploitation des données de grands tableaux. Ces derniers contiennent un nombre important de variables mesurées pour un nombre d'individus élevé. Ces méthodes chimiométriques appliquées sont :

➤ des méthodes descriptives (analyse qualitative ou exploratoire), comme l'analyse hiérarchique (HCA) et l'analyse en composantes principales (ACP) qui met en évidence les relations existant entre les variables et les échantillons.

➤ des méthodes prédictives (classification), permettant d'estimer l'appartenance à un groupe caractéristique d'un échantillon à partir du spectre MIR effectué sur le même échantillon. La méthode appliquée dans ce travail, est la régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA).

Toutes ces méthodes d'exploitation statistiques sont détaillées dans le deuxième chapitre de la partie bibliographie. C'est pourquoi, dans le présent chapitre, les principes de ces techniques ne seront que cités brièvement à chaque fois qu'elles seront utilisées.

La méthode de régression des moindres carrés partiels est très utilisée [9, 10]. La méthode PLS-DA a été appliquée dans le mode standard : Y-matrice a été construite à partir des variables de regroupement composé de zéros et de uns. La matrice contient autant de colonnes qu'il y a de classes et une observation à la valeur un pour la classe à qui elle appartient et zéro pour le reste. Les valeurs négatives prédites ont été attribuées à zéro, les plus grandes valeurs positives ont été affectées à la classe donnée.

L'analyse hiérarchique est une méthode non supervisée qui consiste à regrouper de façon séquentielle les spectres des laits en classes ou clusters emboîtés en fonction de leur similarité par une procédure cyclique en se basant sur les distances respectives. Les résultats sont obtenus, en prenant comme règle d'agrégation : la distance moyenne « the average paired distance ». La distance Euclidienne au carré est utilisée pour mesurer la similarité entre les clusters, elle est utile dans les cas où une certaine caractéristique (variable) peut dominer les distances entre les groupes [13].

Toutes les données acquises ont été élaborées par le logiciel Unscrambler version 10.2 (CAMO) pour l'application de la HCA, l'ACP et la PLS-DA.

III. Résultats et discussion

III.1 Classification du lait cru des quatre régions

III.1.1 Acquisition des spectres MIR

Tous les spectres sont caractérisés par plusieurs bandes caractéristiques de l'interaction du rayonnement infra rouge avec les différents composants du lait. La figure II.II.2 représente les spectres moyens infrarouges des échantillons du lait cru.

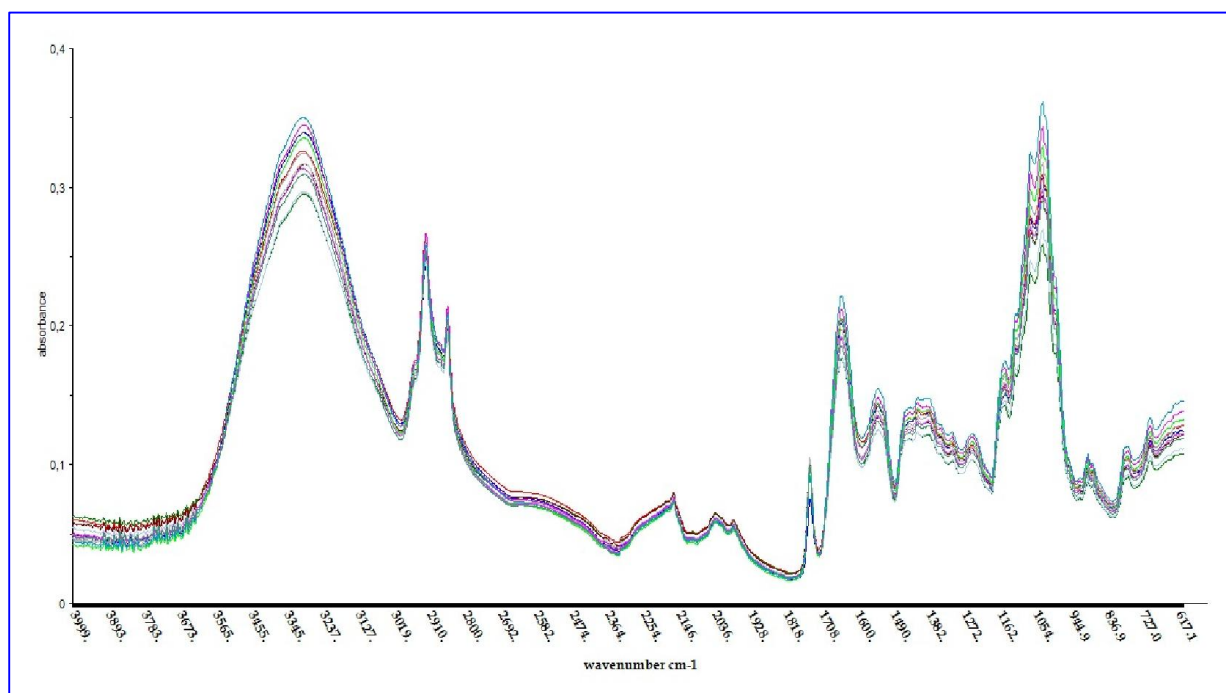


Figure II.II.2 : Spectres moyens infrarouge du lait cru de différentes régions.

Dans la première partie du spectre, il est possible de discerner les vibrations d'élongation, qui sont asymétriques à 2955 cm^{-1} et 2925 cm^{-1} et symétriques à 2872 cm^{-1} et 2854 cm^{-1} . Ces vibrations qui sont caractéristiques de la matière grasse, sont attribuées aux liaisons C-H des groupements méthyle ($-\text{CH}_3$) et méthylène ($-\text{CH}_2$).

La bande spectrale à 1746 cm^{-1} est dominée par la réactivité de la liaison C=O de la fonction ester présente dans la fraction grasse (triglycérides) et aussi, mais dans une moindre contribution, de la fonction carbonyle des acides carboxyliques et des protéines.

Les deux bandes, situées aux environs de 1650 cm^{-1} et 1545 cm^{-1} , sont en particulier caractéristiques des fonctions amides des protéines. La première bande caractéristique de la fonction amide I, concerne les vibrations d'élongation de la liaison C=O conjuguée aux vibrations de déformation de liaison N-H. Alors que la seconde bande, qui concerne les vibrations d'élongation de la liaison C-N conjuguées aux vibrations de déformation de liaison N-H, est caractéristique de la fonction amide II des protéines. Les bandes à environ 1112 cm^{-1} et 1050 cm^{-1} sont dominées par les vibrations d'élongation de la liaison C-O [11, 12].

En général, les spectres MIR renferment des informations qui présentent un intérêt analytique. Néanmoins, l'extraction de ces informations pertinentes reste un problème, suite à l'interférence des données spectrales et exige presque toujours un traitement mathématique assez compliqué. De plus, l'information utile est localisée à plusieurs endroits du spectre. Par conséquent, il demeure nécessaire de traiter les données spectrales par des méthodes d'analyse statistiques multidimensionnelles, appelées aussi méthodes chimiométriques.

III.1.2. Analyse exploratoire

III.1.2.1. Classification hiérarchique (HCA)

Cette méthode a été appliquée pour regrouper des données issues des spectres de différents échantillons du lait des origines géographiques étudiés, en fonction de leurs caractéristiques communes sans prédéfinir les classes. Les résultats obtenus sont présentés sous forme d'un arbre hiérarchique ou dendrogramme (Figure II.II.3).

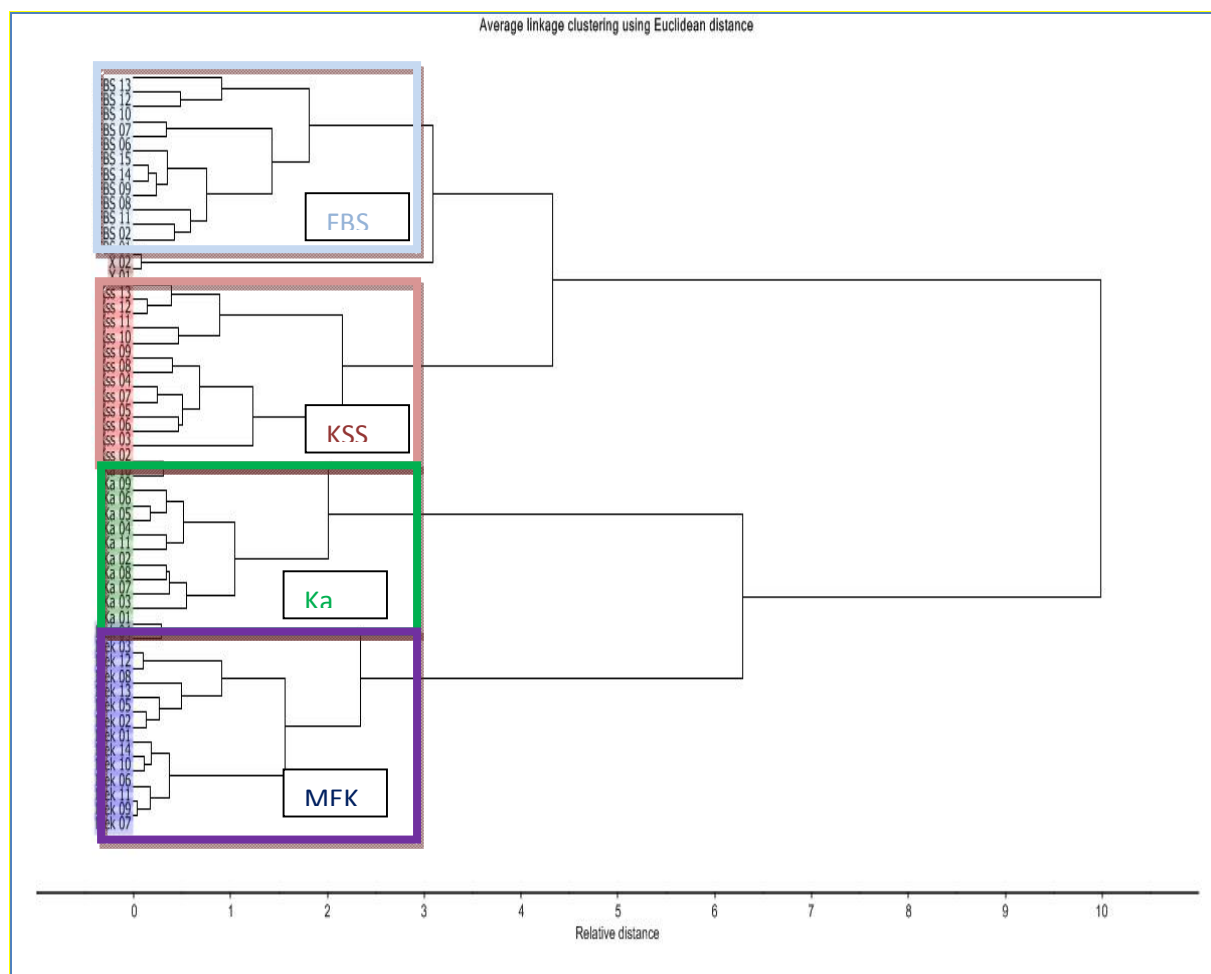


Figure II.II.3 : Dendrogramme de la HCA des laits des régions étudiées.

D'après le dendrogramme (Figure II.II.3), nous pouvons différencier les échantillons des laits selon l'origine géographique étudiée sur la base de leurs spectres MIR : cinq groupes distincts ont été définis.

Du haut en bas, le premier groupe se compose des échantillons localisés dans la région de FBS. Le deuxième groupe se compose de deux échantillons (X1 et X2) de l'extérieur des quatre territoires étudiés. Le troisième groupe se compose des échantillons, tous localisés dans le territoire de Kss. Le quatrième groupe contient les échantillons de la région de Ka. Et le dernier groupe contient les échantillons prélevés de la région de MEK.

III.1.2.2. Analyse en composantes principales (ACP)

III.1.2.2.1. Elaboration du modèle ACP

Après acquisition des spectres des échantillons du lait, les données spectrales ont subi plusieurs prétraitements avant d'être exploités. En plus des prétraitements, un séquençage du spectre entier a été réalisé avant d'appliquer l'analyse en composantes principales (ACP) avec validation croisée totale. Cette méthode a été appliquée à la gamme spectrale complète et à diverses zones spectrales. La normalisation des données spectrales dans la zone $1900-900\text{cm}^{-1}$ a donné des résultats satisfaisants. La figure II.II.4 représente le plot des scores en trois dimensions.

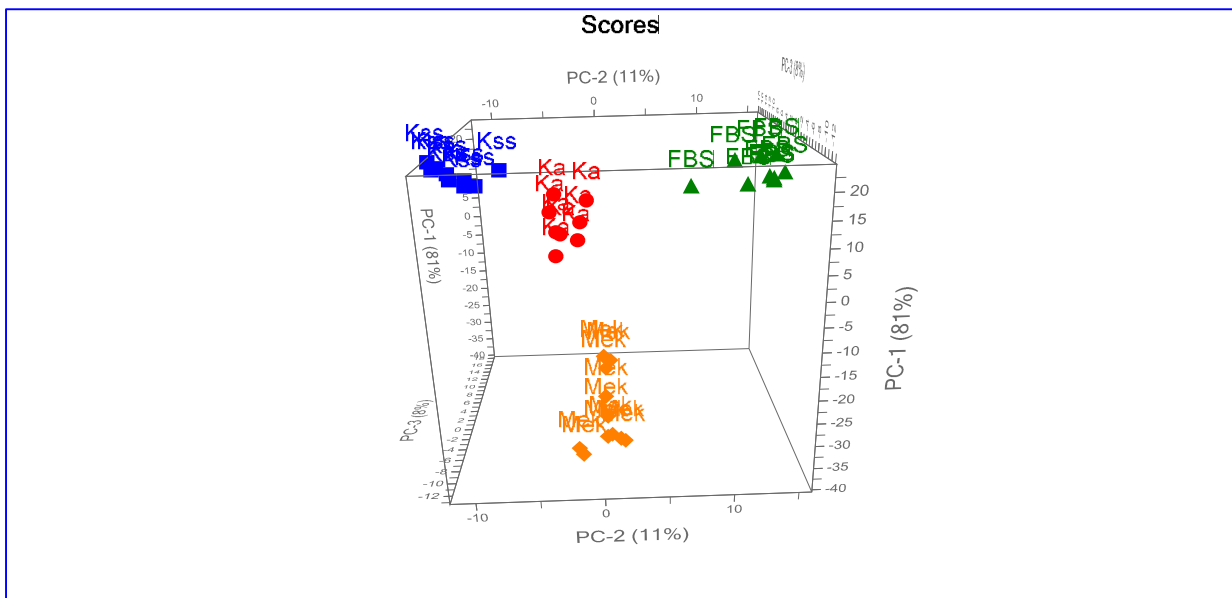


Figure II.II.4 : Plot des scores en trois dimensions.

D'après le plot des scores (Figure II.II.4), nous pouvons différencier quatre groupes clairement séparés (FBS en vert, Ka en rouge, Mek en orange et Kss en bleu), des échantillons des laits selon l'origine géographique, sur la base de leurs spectres MIR.

Au sein de chaque groupe, les échantillons sont peu superposables et ceci reflète la variabilité spectrale au sein d'une même zone géographique. La spectroscopie FT-MIR possède donc non seulement le pouvoir de discrimination au niveau de la région mais aussi au niveau des laits appartenant à une même origine géographique.

La différenciation entre les laits des quatre régions est correcte à 100% en utilisant les trois premiers composants principaux : CP1, CP2 et CP3. Ces trois CPs expliquent 99,6% de la variance totale des données. Le tableau II.II.2 présente la variance expliquée par composante principale.

Tableau II.II.2 : Pourcentage de variance expliquée pour chaque composante principale par la validation croisée totale.

CPs	% Cumule variance expliquée
1	81,0
2	92,0
3	99,6

D'après le tableau II.II.2, les trois premières composantes principales (CP1, CP2 et CP3) qui définissent le modèle ACP, présentent respectivement 81%, 11%, et 7.6% de la variance expliquée totale.

L'examen des loadings qui sont des représentations des variables dans l'espace des composantes principales, nous renseigne sur les variables les plus importantes. La figure II.II.5 présente les loadings des trois premières composantes principales.

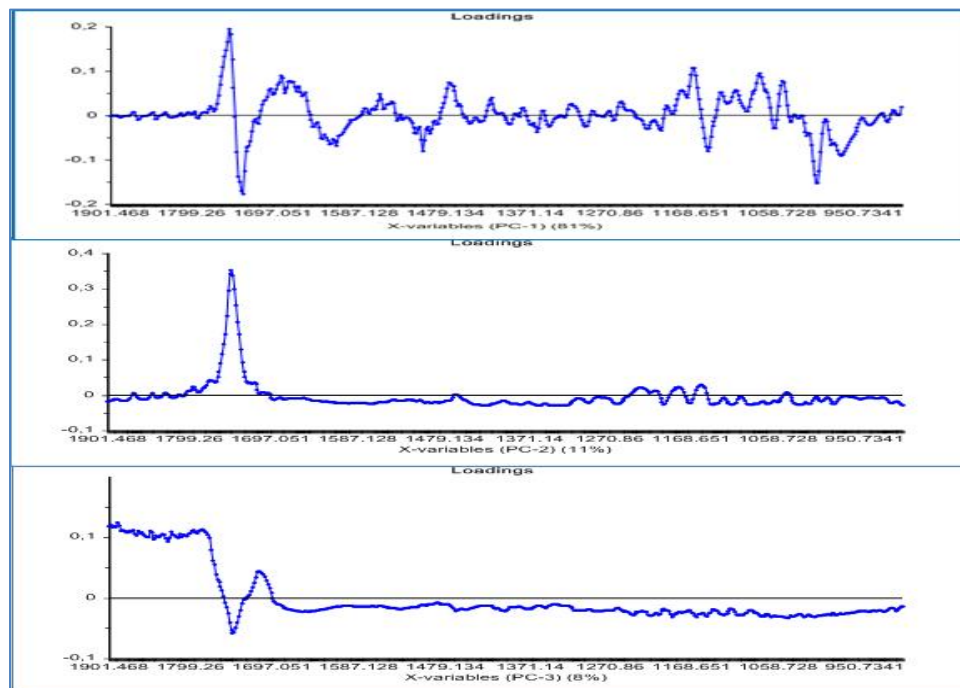


Figure II.II.5 : Plot des loadings des X-variables des trois composantes.

Les variables les plus importantes qui interviennent dans la distinction entre les laits de différentes régions sont exprimées par la première composante principale (CP1) (1749 cm^{-1} , 1733 cm^{-1} , 1683 cm^{-1} , 1467 cm^{-1} , 1166 cm^{-1} , 1066 cm^{-1} et 1006 cm^{-1}).

III.1.2.2 Validation externe : Projection de nouveaux échantillons sur le modèle ACP

Après élaboration du modèle ACP, on procède à une projection des échantillons du groupe de validation externe sur le modèle pré-établi pour étudier le comportement de ces échantillons. La figure II.II.6 montre les résultats obtenus après cette démarche.

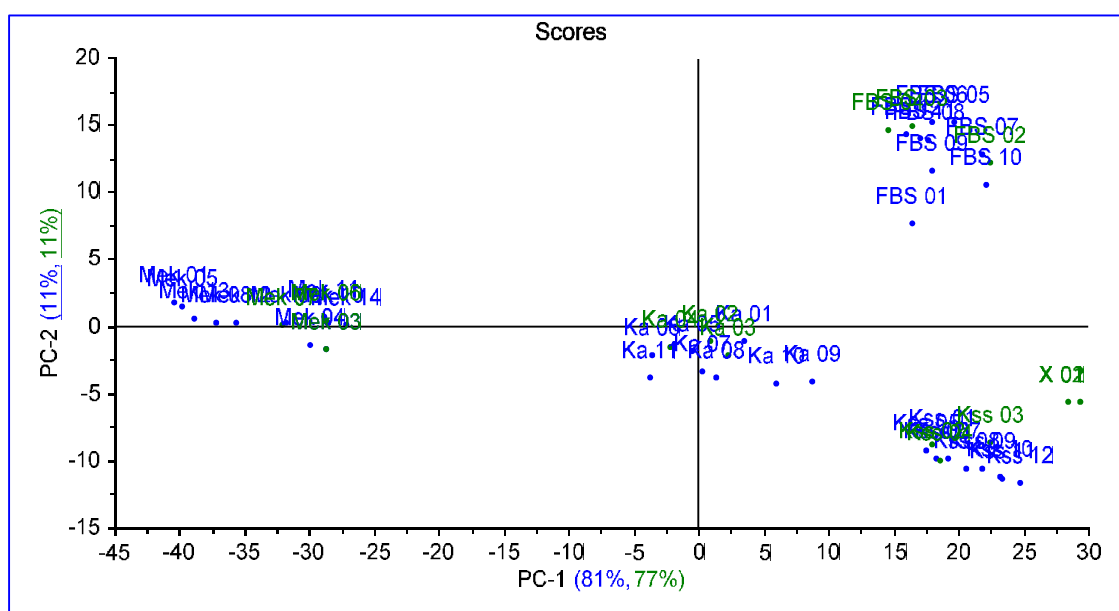


Figure II.II.6 : Plot des scores (PC1 vs PC2) de projection des échantillons de validation.

Le résultat du plot des scores (figure II.II.6) a montré que les échantillons sont bien projetés dans leurs groupes d'origine (échantillons en vert). Les deux échantillons X1 et X2 qui sont de l'extérieur des quatre groupes cités, sont projetés hors de ces quatre groupes.

III.1.3. Régression des moindres carrés partiels Discriminants (PLS-DA)

Après exploration des données par application de l'ACP, on procède à une discrimination des groupes, ainsi que la prédiction des origines des laits par application de la régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA). La figure II.II.7, présente le plot des scores du factor 1 en fonction du factor 2 du modèle PLS-DA des échantillons du lait.

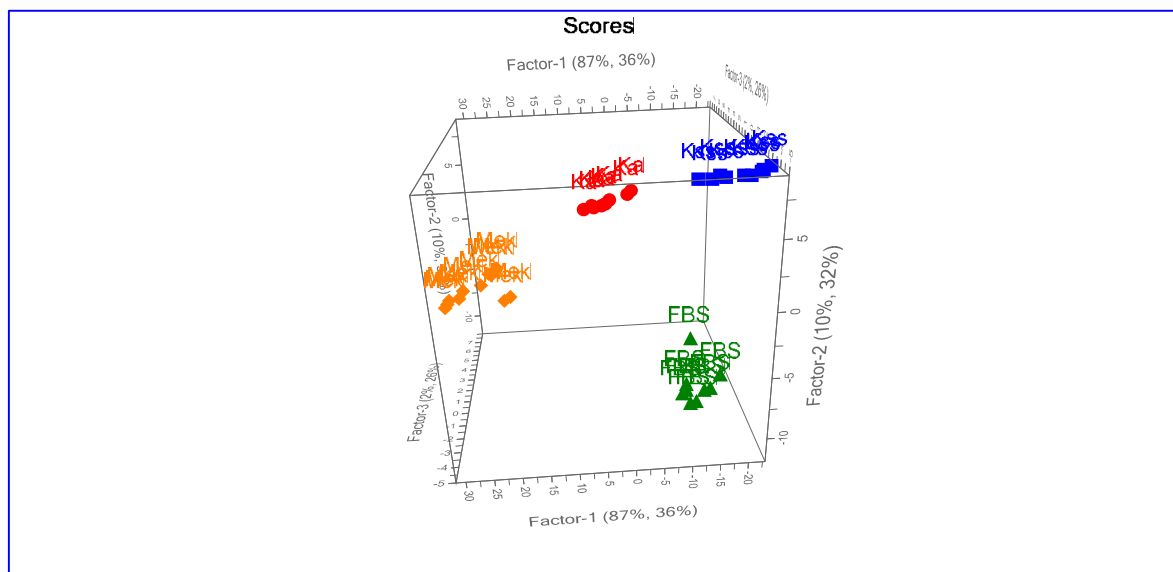


Figure II.II.7 : PLS-DA plot des scores en trois dimensions des laits de différentes régions.

Ce modèle est obtenu en utilisant, la normalisation comme un prétraitement adéquat dans la zone spectrale de 1900 à 600 cm^{-1} . Cette combinaison (prétraitement et zone spectrale) a fourni une erreur de calibration (RMSEC) et une de validation croisée (RMSEC_v) les plus faibles et des coefficients de détermination qui sont proches de 1 : R^2_c est le coefficient de détermination liée à la calibration et $R^2_{c_v}$ est le coefficient de détermination liée au modèle prédit par validation croisée. Les résultats sont résumés dans le tableau II.II.3.

Tableau II.II.3 : Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA.

Paramètres	Classes			
	FBS	Ka	Kss	Mek
R^2_c	0,989	0,942	0,967	0,986
RMSEC	0,04	0,09	0,07	0,05
$R^2_{c_v}$	0,983	0,93	0,962	0,979
RMSEC _v	0,056	0,11	0,008	0,069

D'après le tableau ci-dessus, les valeurs de R^2_c des quatre groupes sont supérieures à 0.94 et celles de RMSEC sont inférieures à 0,1. Ainsi que le $R^2_{c_v}$ varie 0,93 à 0,98 et RMSEC_v varie de 0,008 à 0,11.

Une valeur faible de R^2_{cv} pour l'ensemble d'apprentissage peut servir comme un indicateur d'une faible capacité prédictive d'un modèle, mais la haute valeur de R^2_{cv} n'implique pas automatiquement une grande capacité de prédiction du modèle. Un facteur de détermination R^2 élevé est une condition nécessaire pour qu'un modèle soit de haut pouvoir prédictif, mais ce n'est pas suffisant [14,15, 16]. La seule façon d'estimer la véritable puissance prédictive d'un modèle est de le tester sur une collection des échantillons d'un ensemble de test externe (validation externe) [17-18].

Les informations les plus utiles ont été sélectionnées par examen des coefficients de régression et en même temps par l'application de l'incertitude de Martens [19], qui a été effectuée sur les signaux spectraux $1900-600\text{ cm}^{-1}$. Cette incertitude sert, d'une part, à focaliser le sous-intervalle de fréquence couvrant la meilleure information et, d'autre part, à annuler les fréquences de vibration affectées par le bruit [20]. La figure II.II.8 représente les coefficients de régression des quatre groupes.

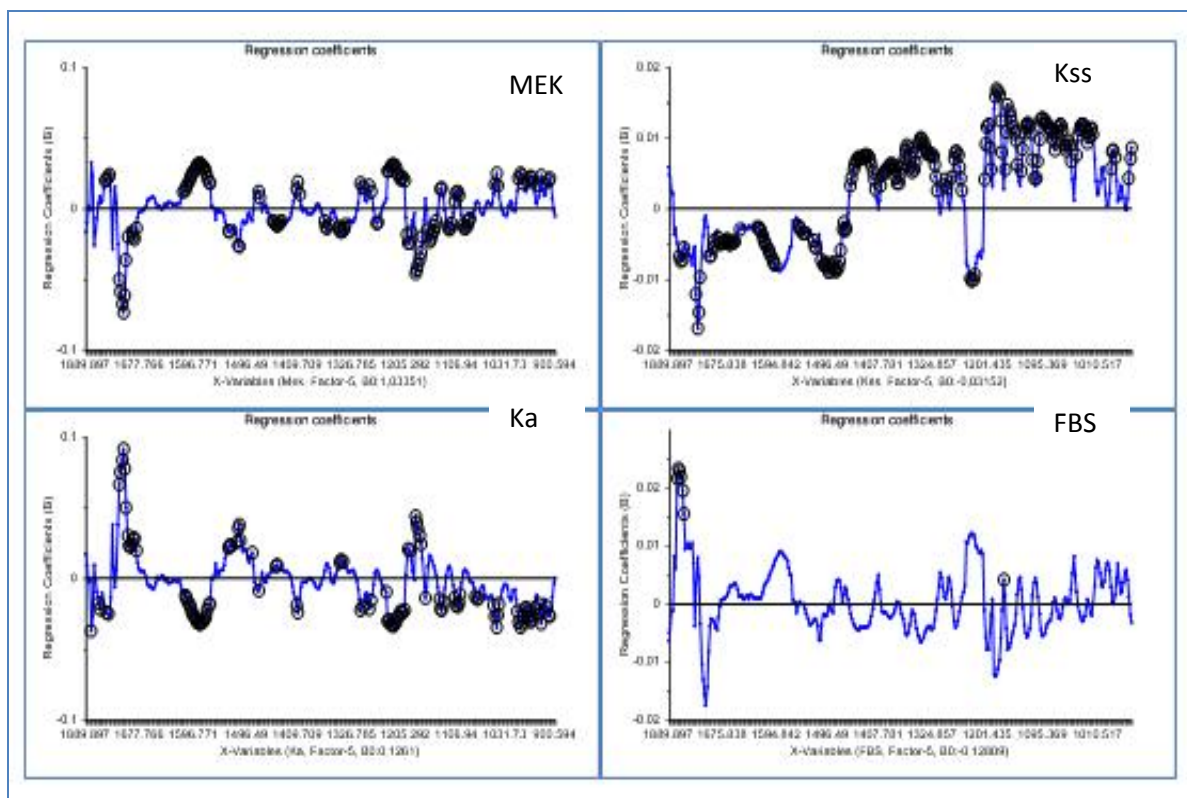


Figure II.II.8 : Coefficients de régression pour chaque groupe.

L'examen des coefficients de régression, met en évidence les variables (absorbance MIR) les plus utiles pour discriminer entre les laits. L'idée principale de cette étape, est d'extraire, à partir des spectres MIR, les informations permettant la classification et la discrimination la plus possible des laits. D'après la figure II.II.8, Il est évident que l'incertitude de Martens a permis l'identification des nombres d'ondes (cercles noir) utiles qui caractérisent les échantillons à quatre classes. Le nombre des variables X (absorbance en MIR) peut être réduit d'une valeur initiale à une valeur optimale. En fait, cette incertitude a défini les longueurs d'onde responsables de la discrimination et la différenciation entre les échantillons des laits selon l'origine. Ces longueurs d'ondes sont principalement ceux caractéristiques de la composition du lait.

III.1.2. Validation externe : Classification des nouveaux échantillons

III.1.2.1. Projection de nouveaux échantillons sur le modèle PLS-DA

La tendance du comportement des échantillons du groupe de validation externe est testé par la projection des données spectrales de ces échantillons sur le modèle PLS-DA pré-établi. La figure II.II.9 montre les résultats de cette démarche.

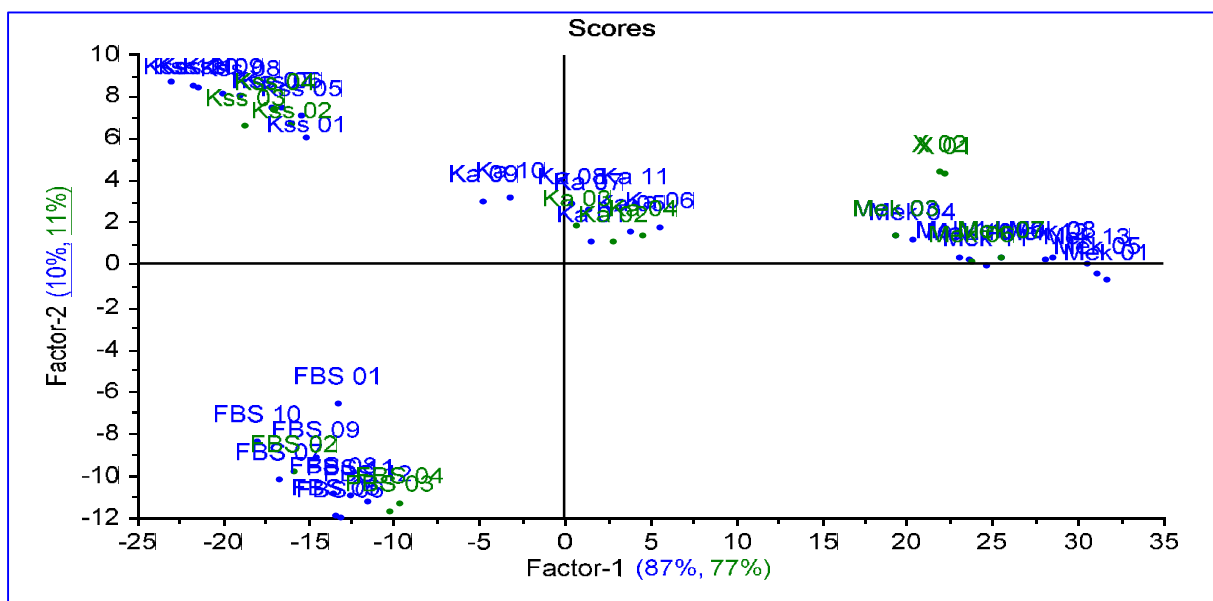


Figure II.II.9 : Plot des scores, facteur 1 vs facteur 2 de la projection des échantillons.

Le résultat du plot score (figure II.II.9), montre que les échantillons externes sont bien projetés dans leurs groupes d'origine (échantillons en vert). Ainsi que les deux échantillons X1 et X2 sont projetés à l'extérieur des quatre groupes étudiés.

III.1.2.2. Validation externe : Prédictions d'appartenance de nouveaux échantillons

Les résultats de calibration et de projection sont insuffisants pour juger la qualité de prédiction du modèle pré-établi. La validation externe est la technique la plus robuste pour s'assurer du pouvoir prédictif des modèles. Les résultats d'application de la validation externe sur les données MIR, de 14 nouveaux échantillons du lait sont donnés dans les tableaux II.II.4 et II.II.5.

Tableau II.II.4 : Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA.

Paramètres	Classes			
	FBS	Ka	Kss	Mek
R^2_p	0,947	0,8745	0,971	0,9643
RMSEP	0,1463	0,2736	0,1462	0,1085

Le pouvoir prédictif du pré-établi est vérifié par la validation externe. Les résultats fournis sont satisfaisants : L'erreur de prédiction (RMSEP) est faible (de 0,1085 à 0,2736) et le coefficient de détermination de prédiction (R^2_p) est proche de 1 (de 0,875 à 0,971).

Tableau II.II.5 : Classification de nouveaux échantillons de lait (validation externe).

Echantillons	Classes							
	FBS		Ka		Kss		Mek	
	<i>Predi.</i>	<i>Ref.</i>	<i>Predi.</i>	<i>Ref.</i>	<i>Predi.</i>	<i>Ref.</i>	<i>Predi.</i>	<i>Ref.</i>
Kss 02	0,0118	0	0,2644	0	0,77	1	-0,0462	0
Kss 03	0,0285	0	0,2791	0	0,8181	1	-0,1258	0
Kss 04	-0,01	0	0,2373	0	0,81	1	-0,0374	0
Ka 02	0,0276	0	1,0368	1	-0,0342	0	-0,0303	0
Ka 03	0,0064	0	0,9692	1	0,0956	0	-0,0713	0
Ka 04	0,0164	0	0,9112	1	-0,0018	0	0,0742	0
Mek 03	0,0659	0	0,05	0	-0,0623	0	0,9464	1
Mek 06	0,019	0	0,0842	0	-0,0197	0	0,9165	1
Mek 07	-0,0051	0	0,0179	0	0,0271	0	0,9165	1
X 01	0,3799	0	0,4674	0	-0,0197	0	0,2497	0
X 02	0,3849	0	0,4075	0	-0,2224	0	0,23	0
FBS 02	0,9809	1	0,2373	0	-0,1536	0	-0,0647	0
FBS 03	0,9981	1	0,2599	0	-0,2013	0	-0,0567	0
FBS 04	0,989	1	0,0951	0	-0,0978	0	0,0138	0

La comparaison des valeurs prédites (*Predi.*) à celles de références (*Ref.*) montre que les valeurs prédites des Y de référence des échantillons sont proches de un. Tous les échantillons (trois pour chaque classe) sont parfaitement classés dans les quatre groupes (tableau II.II.5). Les valeurs de Y prédites pour les deux autres, de l'extérieur des groupes cités sont proches de zéro.

Le modèle pré-établi permet de mettre la différence entre les laits selon l'origine géographique. Ces résultats prouvent que le modèle PLS-DA développé à base des spectres MIR du lait, est robuste.

La spectroscopie moyenne infrarouge couplée à la PLS-DA, a mis en évidence, la différence entre les échantillons des laits de différentes régions. En effet, des caractéristiques spécifiques liés à ces régions, mettre en évidence la différence des absorbances en moyen infrarouge des échantillons étudiés.

Cette différence entre les échantillons du lait, est probablement liée à la différence entre les régions (irriguées, bourres ou montagneuses). En effet, les facteurs géographiques et climatiques (tableau II.II.1) des zones étudiées, agissent directement sur l'alimentation et la culture d'élevage [25].

III.2. Classification du beurre de trois régions

III.2.1. Acquisition des spectres MIR

Les échantillons recueillis sont analysés par spectrométrie infrarouge. La figure II.II.10 présente les spectres MIR des échantillons du beurre des trois régions.

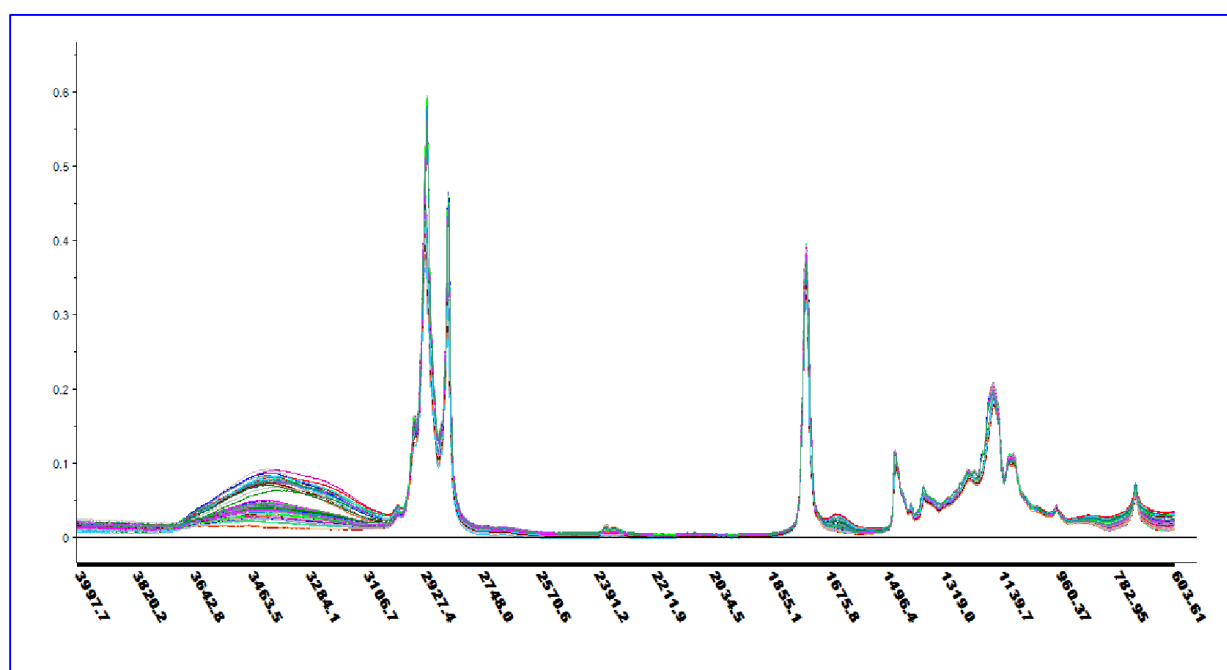


Figure II.II.10 : Spectres moyen infrarouge du beurre des trois régions.

Tous les spectres sont dominés par de nombreux groupes de bandes spectrales. Des pics d'absorption d'eau, correspondant aux vibrations des groupements O-H, sont localisés dans la

région de 3700-3000 cm^{-1} . L'eau absorbe aussi, dans la région de 1600-1500 cm^{-1} , ce qui peut affecter l'absorption caractéristique de l'amide I, qui est à environ 1650 cm^{-1} [21].

En accord avec Koca *et al.* [22], des fortes absorptions ont été observées à 2900 et 2800 cm^{-1} , respectivement, correspondant à des vibrations d'élongation de la liaison C-H des groupements CH_2 et CH_3 . D'autre part, un faible signal à 3000 cm^{-1} associé à des vibrations d'élongation du groupement C=C-H cis insaturation a été observé.

Une autre bande à environ 1745 cm^{-1} , est associée à la vibration d'élongation du groupement -C=O des acides et des esters [21]. La bande vers 1460 cm^{-1} , caractérise la vibration de déformation de N-H des amides I et II des protéines [23].

Dans la région de 1300 cm^{-1} à 1000 cm^{-1} , les bandes sont attribuées à des vibrations d'élongation de la liaison -C-O des esters et des vibrations de déformation du groupe méthylène [21]. Le pic vers 966 cm^{-1} , est associé à des vibrations de déformation hors-plan du groupement -C=CH, qui est déjà déclaré comme une bande de marqueur pour la détermination des acides gras Trans [24].

Une simplification des données spectrales a été réalisée de sorte à trouver l'information pertinente. Pour cette raison, il est nécessaire de prétraiter les spectres par les méthodes chimiométriques.

III.2.2. Analyses exploratoire

III.2.2.1. Classification hiérarchique (HCA)

La méthode HCA consiste à regrouper de façon séquentielle les spectres des beurres en classes ou clusters emboîtés en fonction de leur similarité, en se basant sur les distances calculées. Les résultats obtenus sont présentés sous forme d'un arbre hiérarchique ou dendrogramme. La figure II.II.11 présente le résultat d'application de l'analyse hiérarchique sur les spectres MIR des beurres.

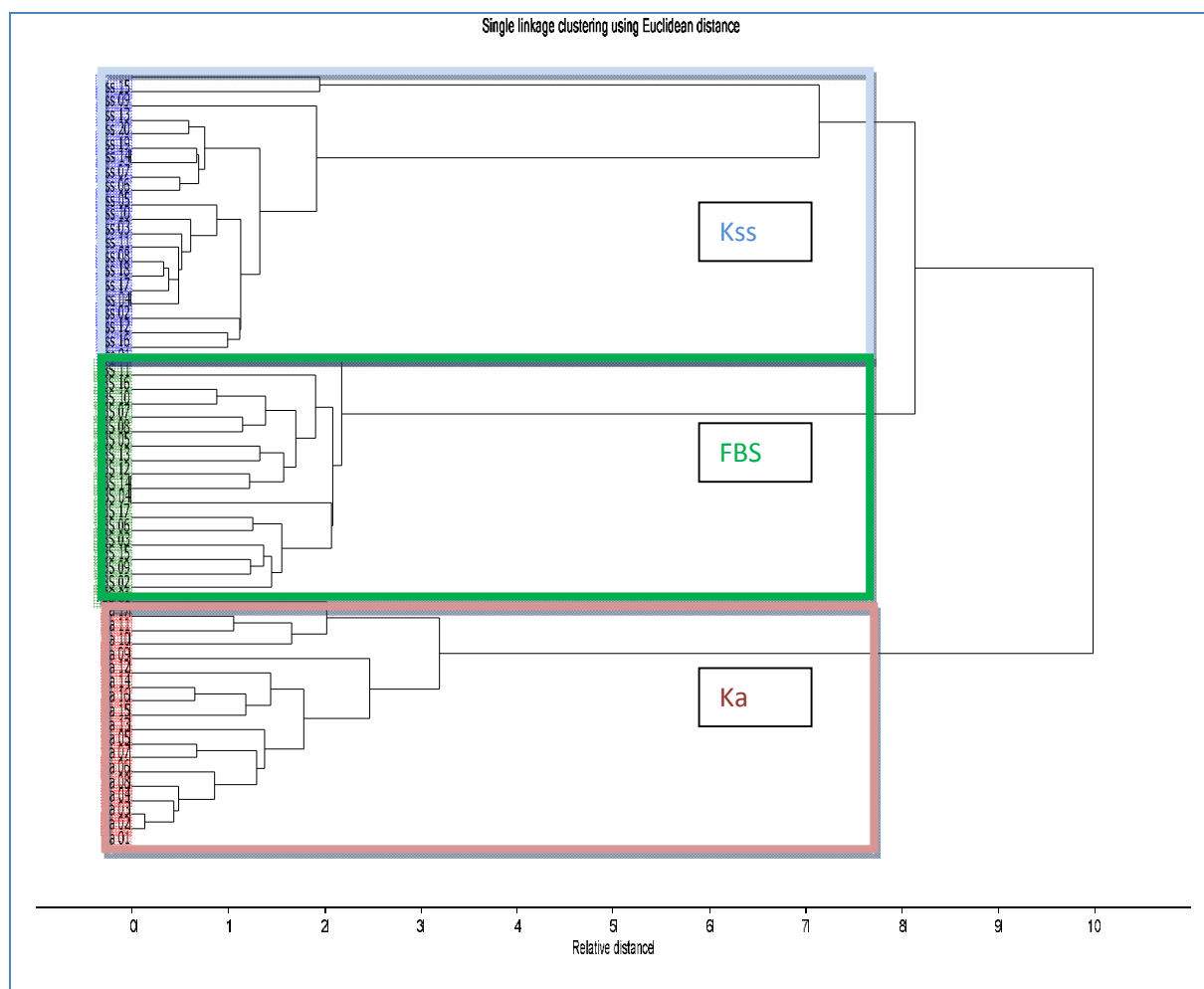


Figure II.II.11 : Dendrogramme de la HCA des beurres des trois régions étudiées.

D'après le dendrogramme ci-dessus, nous pouvons différencier trois clusters des échantillons des beurres selon l'origine géographique étudiée. Ces groupes sont séparés sur la base de leurs spectres MIR.

Ces trois groupes sont classés, de haut en bas : Le premier groupe est composé des échantillons d'origine de la région de Kss, le second rassemble des échantillons provenant du territoire de FBS et le dernier, contient les échantillons prélevés de la région de Ka.

III.2.2.2. Analyse en composantes principales (ACP)

III.2.2.2.1. Elaboration du modèle ACP

L'ACP a été utilisée comme un outil exploratoire pour, étudier les tendances des données spectrales collectées à partir des beurres. Plusieurs prétraitements des données ont été testés, comme la première et la deuxième dérivée ou correction de dispersion multiplicative. La méthode de centrage moyenne a finalement été choisie pour être celle qui donne les meilleurs résultats et elle a été ensuite appliquée comme une technique de prétraitement avant la modélisation par ACP.

Ensuite, une analyse ACP avec validation croisée totale a été appliquée à l'ensemble des 45 échantillons de calibration, ainsi qu'à la gamme spectrale complète et à diverses zones spectrales. Le prétraitement « centrage moyen » des données dans la zone $3000-600\text{ cm}^{-1}$ a donné des résultats satisfaisants. La figure II.II.12, représente le plot des scores (PC1 en fonction de PC2) des spectres.

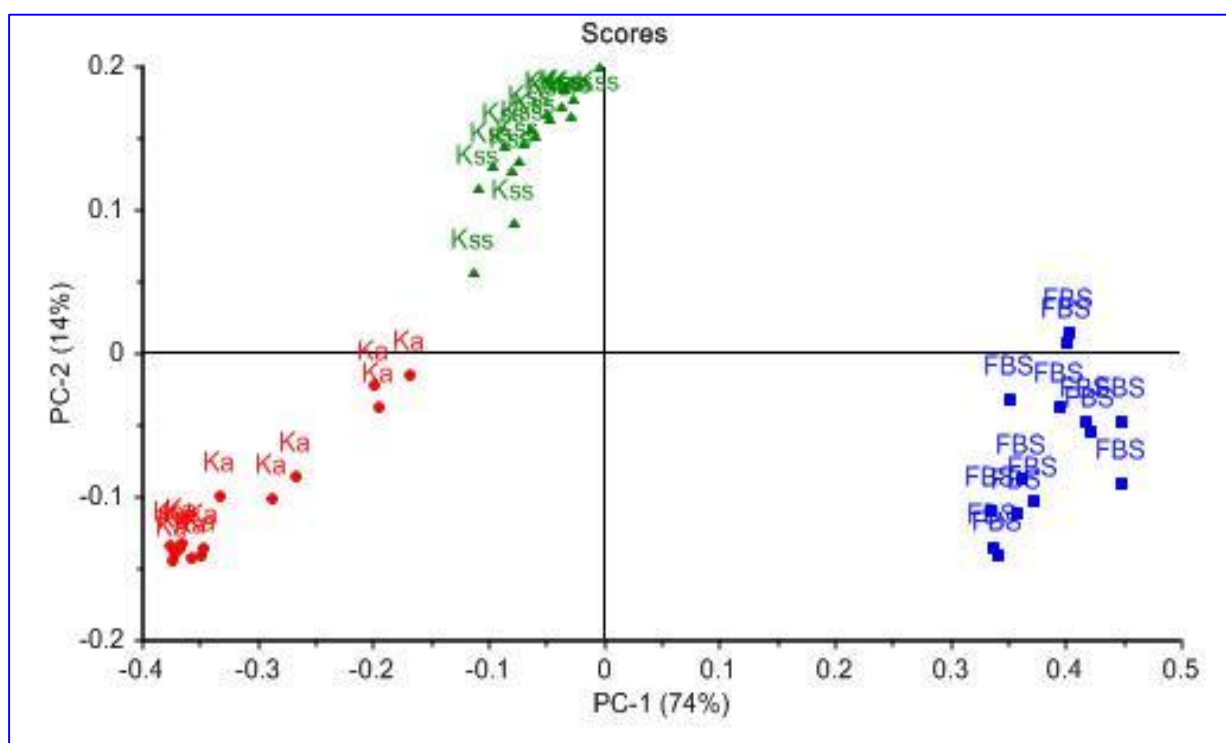


Figure II.II.12 : Plot des scores (PC1 vs PC2) d'analyses ACP des spectres MIR des beurres.

Sur le plot des scores (Figure II.II.12), nous pouvons différencier les échantillons des beurres selon l'origine géographique sur la base de leurs spectres MIR. On distingue trois groupes d'échantillons : Kss en vert, Ka en rouge et FBS en bleu.

En effet, on constate une nette séparation entre les groupes incluant chacun les spectres d'un seul territoire. Mais au sein de chaque groupe des échantillons les points sont peu superposables et ceci reflète ; comme dans le cas des échantillons des laits, la variabilité spectrale au sein d'une même zone géographique. La spectroscopie FT-MIR couplée à l'ACP possède donc non seulement le pouvoir de discrimination au niveau de la région mais aussi au niveau des beurres, appartenant à une même origine géographique.

La différenciation entre beurre de trois régions est correcte à 100% en utilisant les quatre premières composantes principales : PC1, PC2, PC3 et PC4 qui expliquent 98 % de la variance totale des données. Le tableau II.II.6 présente la variance expliquée par chaque composante principale.

Tableau II.II.6 : La variance expliquée des composantes principales par validation croisée totale.

CPs	% Cumule de la variance expliquée
1	74
2	14
3	8
4	2

Selon le tableau ci-dessus, les quatre premières composantes principales (PCs) qui définissent le modèle ACP, présentent 98% de la variance totale des échantillons des trois régions (CP1 : 74%, CP2 : 14%, CP3 : 8% et CP4 explique 2%).

Les loadings sont une représentation des variables dans l'espace des composantes principales. L'examen de ces Loadings, selon les premières composantes principales nous renseigne sur les variables les plus importants. La figure II.II.13, représente les plots des loadings des X-variables selon les quatre CPs (CP1, CP2, CP3 et CP4).

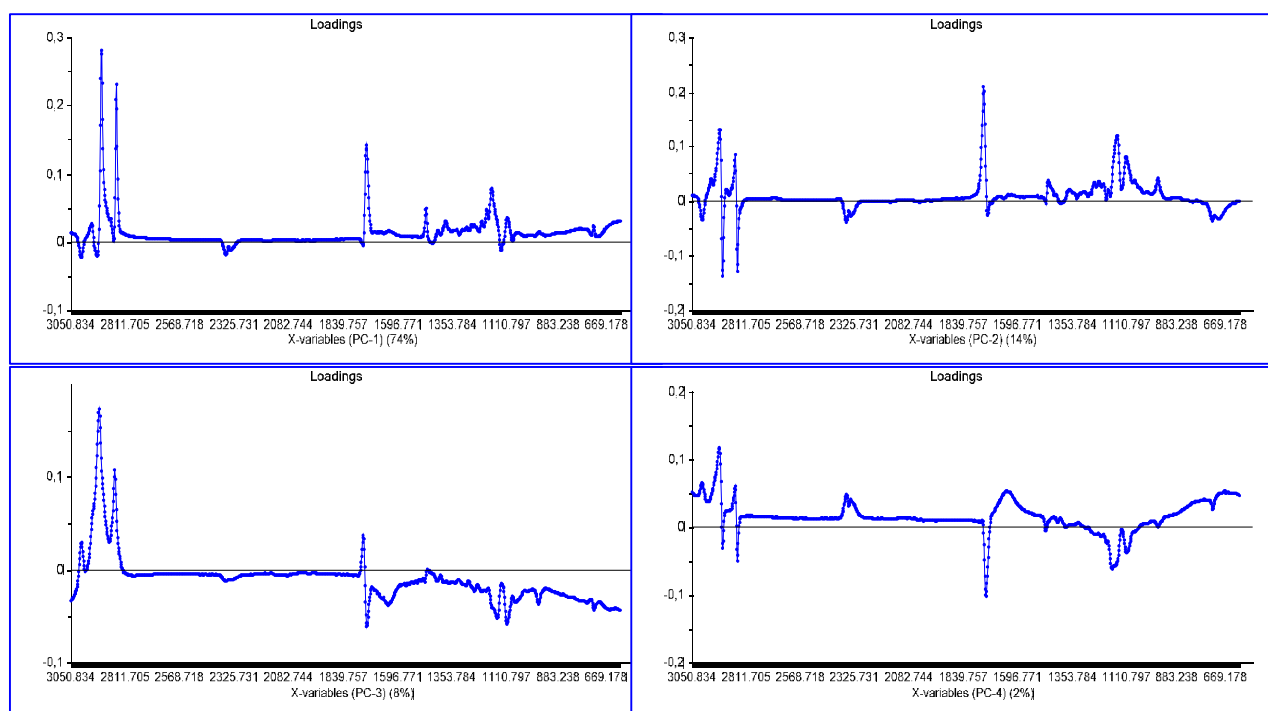


Figure II.II.13 : Plot des loading des X-variables selon les quatre CPs (CP1, CP2, CP3 et CP4)

Selon la figure ci-dessus, les variables les plus importants qui interviennent dans la distinction entre les beurres des différentes régions :

- Selon CP1 : les pics à 2915 cm^{-1} , à 2848 cm^{-1} , à 1737 cm^{-1} , à 1465 cm^{-1} et à 1182 cm^{-1} ;
- Selon CP2 : Les pics à 2927 cm^{-1} , à 2856 cm^{-1} , à 1750 cm^{-1} , à 1450 cm^{-1} à 1160 cm^{-1} et à 964 cm^{-1} ;
- selon la CP3 : les pics à 2920 cm^{-1} , à 2850 cm^{-1} et à 1743 cm^{-1} ;
- et selon la CP4 : les pics à 2996 cm^{-1} , à 1745 cm^{-1} , à 1621 cm^{-1} ;

III.2.2.2. Validation externe : Projection de nouveaux échantillons sur le modèle ACP

Le comportement des échantillons externe est testé par une projection sur le modèle ACP préétabli. Les résultats de cette démarche sont représentés sur la figure II.II.14.

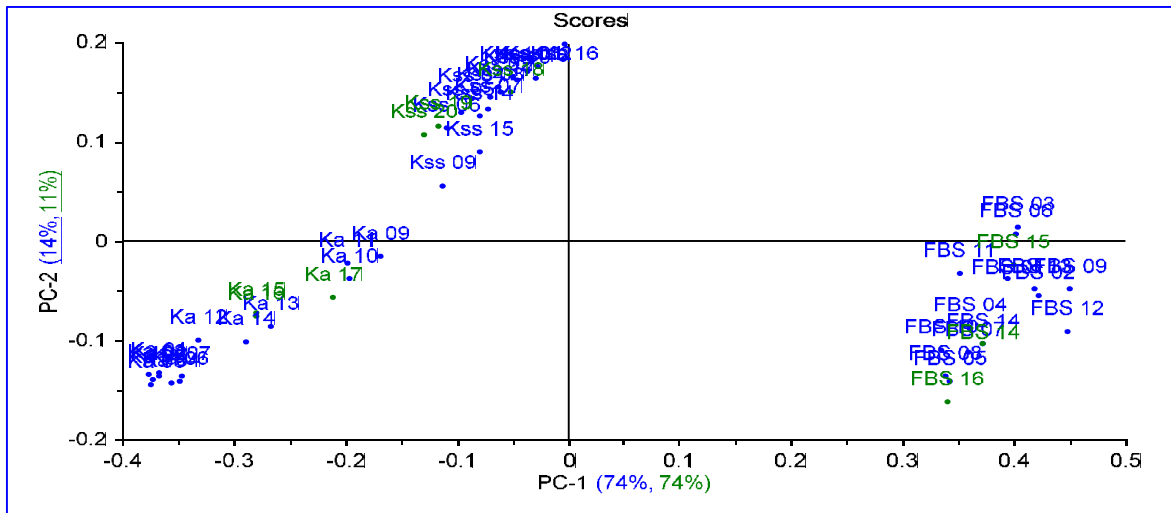


Figure II.II.14 : Plot des scores PC1 vs PC2 de projection des échantillons de validation externe.

Le résultat présenté par le plot des scores montre que les échantillons externes (échantillons en vert) sont bien projetés dans leurs groupes d'origine (échantillons en bleu). Ce résultat confirme la capacité exploratoire du modèle ACP pré-établi.

III.2.3. La régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA)

Après exploration des données par application de l'analyse en composantes principales, nous avons procédé à une classification des groupes par application de la régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA). Les résultats sont présentés par la figure II.II.15 (plot des scores : factor 1 vs factor 2, des échantillons du beurre).

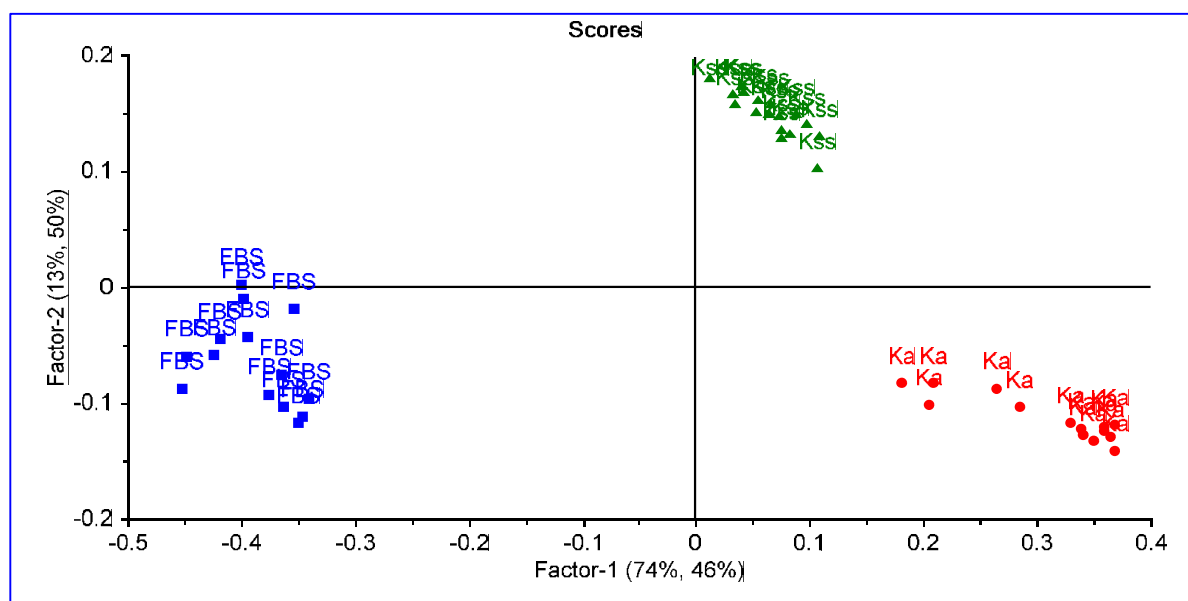


Figure II.II.15 : PLS-DA plot des scores des échantillons du beurre de différentes régions.

Sur le plot des scores, on distingue trois groupes bien séparés (Kss en vert, Ka en rouge et FBS en bleu).

Ce modèle est obtenu, en utilisant la normalisation comme prétraitement dans la zone spectrale 3000-600 cm^{-1} . Le modèle pré-établi a fourni une erreur de calibration (RMSEC) et une de validation croisée (RMSEC_v) plus faible et des coefficients de détermination proches de 1 (R^2_{cv} et R^2_c). Les données sont résumées dans le tableau II.II.7.

Tableau II.II.7 : Paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA.

Classes	Paramètres statistiques				
	LVs	R^2_c	R^2_{cv}	RMSEC	RMSEC _v
FBS	3	0,991	0,988	0,043	0,053
Kss	3	0,973	0,964	0,078	0,096
Ka	3	0,984	0,982	0,056	0,063

Le tableau II.II.7 donne les paramètres statistiques obtenus par application du PLS-DA sur les spectres MIR des trois types de beurres (FBS, Kss and Ka). Pour les trois groupes, les paramètres statistiques sont donnés par introduction de trois variables latentes (LVs). Ces paramètres obtenus sont satisfaisants : Le R^2_c et le R^2_{cv} varient de 0,973 à 0,991 et de 0,964 à

0,988 respectivement. Les erreurs RMSEC et RMSECV varient de 0,043 à 0,078 et 0,053 à 0,096 respectivement.

L'analyse du coefficient de régression, met en évidence les variables les plus utiles pour discriminer entre échantillons de beurres. La figure II.II.16 présente les coefficients de régression des trois groupes.

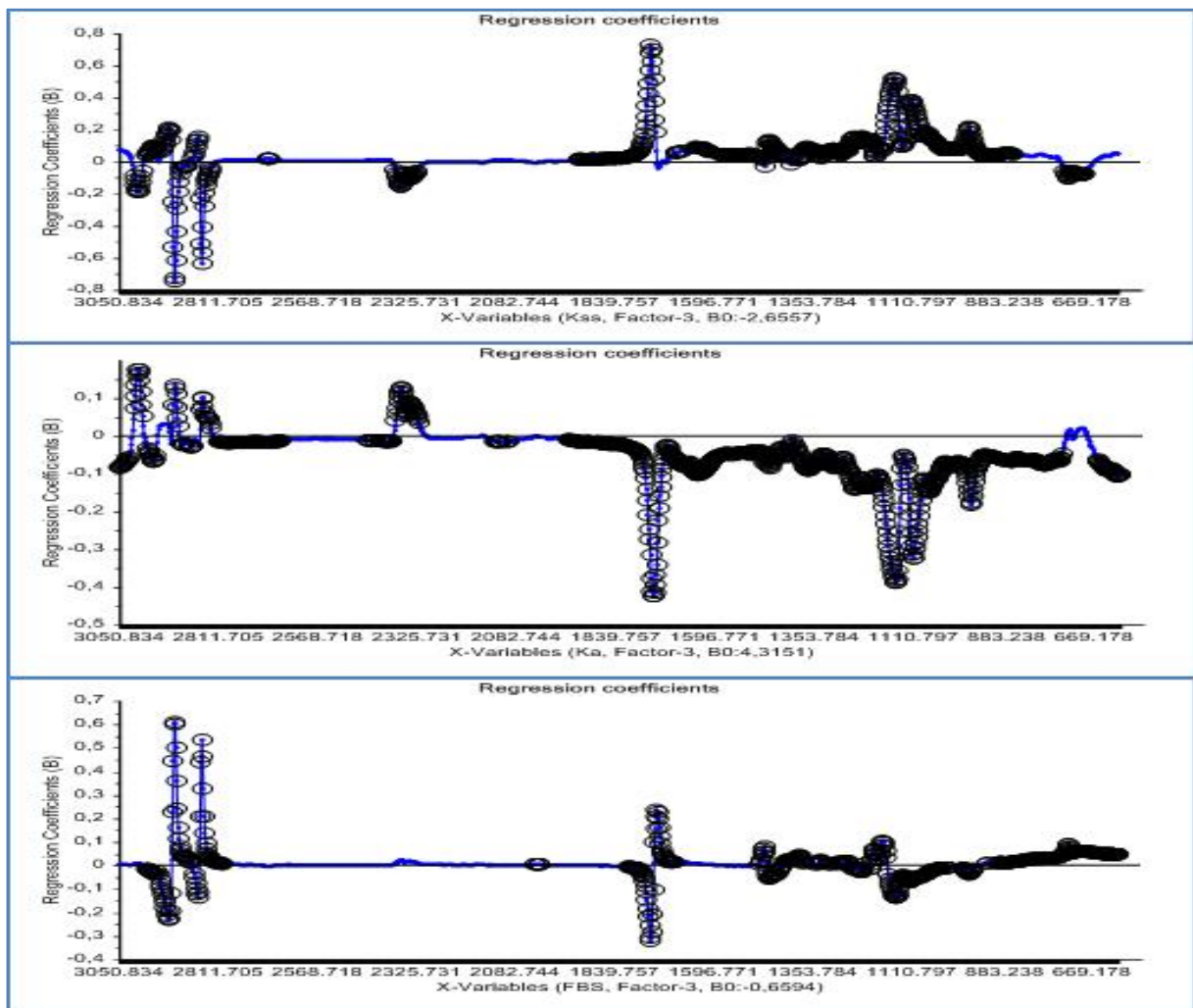


Figure II.II.16 : Coefficients de régression pour chaque groupe.

D'après la figure ci-dessus, Il est évident que l'incertitude de Martens a permis l'identification des nombres d'ondes (cercles noir) utiles qui caractérisent les échantillons des trois classes. Le nombre des variables X (absorbance en MIR) peut être réduit d'une valeur initiale à une valeur optimale. En fait, cette incertitude a défini les longueurs d'onde responsables de la

discrimination et la différenciation entre les échantillons des laits selon l'origine. Ces longueurs d'ondes sont principalement ceux caractéristiques de la composition du beurre.

III.2.4. Validation externe : Classification des nouveaux échantillons

La validation externe est une façon sûre de vérifier la robustesse du modèle préétabli. Cette démarche consiste à tester le modèle de calibration avec une collection des échantillons à partir d'un ensemble de test externe [14-15]. Une valeur de R^2_{cv} est proche de 1, n'implique pas automatiquement une forte capacité prédictive du modèle.

III.2.4.1. Projection de nouveaux échantillons sur le modèle PLS-DA

Dans un premier temps nous tentons d'avoir une idée sur le comportement des échantillons constituant le groupe de validation externe. Afin d'atteindre ce but, la projection des données spectrales de ces échantillons sur le modèle PLS-DA pré-établi, a été appliquée. Les résultats de cette démarche sont schématisés sur la figure II.II.17.

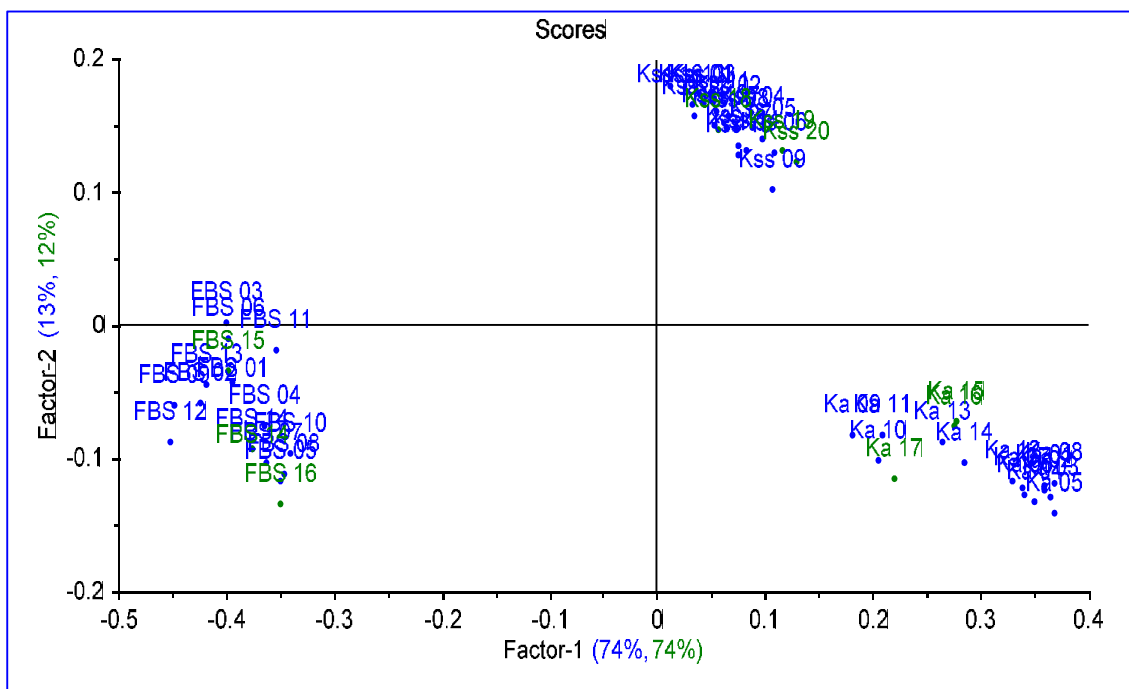


Figure II.II.17 : Plot des scores LV1 vs LV2 de projection des échantillons.

Le résultat du plot des scores (figure II.II.17) montre que les échantillons sont bien projetés dans leurs groupes d'origine (échantillons en vert). Ceci peut être une indication sur la forte

capacité prédictive du modèle de calibration, qui sera vérifiée par la suite, par la prédiction d'appartenance des échantillons, par la validation externe.

III.2.4.2. Prédiction d'appartenance de nouveaux échantillons

L'application de la validation externe sur les données FT-MIR de 9 nouveaux échantillons de beurre a été appliquée dans le but de vérifier la robustesse du modèle de calibration. Les résultats sont présentés dans les tableaux II.II.8 et II.II.9.

Tableau II.II.8 : Paramètres statistiques obtenus par validation externe du modèle PLS-DA.

Paramètres	Classes		
	FBS	Ka	Kss
R ² p	0,993	0,947	0,9281
RMSEP	0,039	0,1084	0,1263

Sur le tableau ci-dessus, l'erreur de prediction (RMSEP) est faible : varie de 0,039 à 0,1263 selon les groupes et le coefficient de détermination (R²p) est proche de 1 : varie de 0,9281 à 0,993 selon les groupes.

Tableau II.II.9 : Résultats de la validation externe de nouveaux échantillons de beurre.

Echantillons	Classes					
	FBS		Kss		Ka	
	Pred.	Ref.	Pred.	Ref.	Pred.	Ref.
FBS 14	1,0256	1	-0,0759	0	0,0502	0
FBS 15	0,9421	1	0,0926	0	-0,0347	0
FBS 16	1,0759	1	-0,1869	0	0,111	0
Kss 18	0,0119	0	0,957	1	0,0311	0
Kss 19	-0,0233	0	0,9635	1	0,0598	0
Kss 20	-0,0292	0	0,9425	1	0,0868	0
ka 15	0,0005	0	0,01866	0	0,813	1
ka 16	0,0077	0	0,171	0	0,8213	1
ka 17	0,0502	0	-0,545	0	1,1043	1

Dans cette étape, un échantillon a été considéré appartenant à une classe lorsque la variable Y fixée pour chaque classe a été comprise entre 0,5 et 1,5.

Le tableau II.II.9 montre que, les valeurs de Y prédites, par le modèle PLS-DA sont proches de 1. Les neuf échantillons de validation externe (trois pour chaque classe) sont parfaitement classés dans les trois groupes. Une classification correcte de 100% a été atteinte, c'est à dire que tous les spectres de beurre de l'ensemble de données de cette validation ont été correctement classés dans les classes correspondantes. Ces résultats confirment la robustesse du modèle PLS-DA (Ce modèle est obtenu, en utilisant la normalisation comme prétraitement dans la zone spectrale 3000-600 cm^{-1}) développée à base des spectres MIR du beurre.

La méthode de combinaison de la spectroscopie MIR à La PLS-DA, a mis en évidence, la différence entre beurres de différentes régions. En effet, des caractéristiques spécifiques liés à ces régions, mettre en évidence la différence dans l'absorbance en MIR des échantillons étudiés.

Cette différence entre les beurres, est probablement liée à la différence entre les régions (irrigués, bourre ou montagnaise) [25].

IV. Conclusion

Dans ce travail, deux séries des échantillons provenant de différentes régions du Maroc ont été séparées en quatre classes dans le cas des laits et en trois classes dans le cas des beurres.

La possibilité de regrouper les échantillons des laits et des beurres selon l'origine géographique est atteinte grâce aux méthodes chimiométriques. Mais avant d'appliquer ces techniques, des prétraitements et un séquençage du spectre entier sont proposés dans cette étude, pour trouver la zone spectrale qui porte l'information pertinente. Les prétraitements adéquats et le choix de la zone spectrale spécifique ont permis d'obtenir une meilleure classification.

La méthode d'analyses hiérarchiques et d'analyses en composantes principales, sont appliquées sur les données spectrales dans le but exploratoire des données. Ces méthodes ont permis le regroupement des échantillons selon l'origine. Ce résultat est confirmé par une autre approche d'analyse des données. La régression des moindres carrés partiels discriminants (PLS-DA) a été appliquée pour élaborer les modèles de calibration. Ces modèles sont ensuite, utilisés pour prédire l'origine de nouveaux échantillons (validation externe). Cette méthode a permis de classer les échantillons, en quatre groupes dans le cas du lait et en trois groupes dans le cas du beurre.

Les modèles préétablis ont donné des résultats satisfaisants en comparant les coefficients de détermination de calibration (R^2c et R^2cv) et les erreurs de calibration (RMSEC et RMSECv). Le modèle de classification est ensuite utilisé pour prédire l'origine géographique des nouveaux échantillons des laits et des beurres. Les caractéristiques statistiques des modèles de prédiction sont acceptables en examinant les coefficients de détermination de prédiction (R^2p) et les erreurs de prédiction (RMSEP).

Dans cette étude un procédé simple pour classer les laits et les beurres de différentes régions, sans aucune séparation chimique est proposé, basée sur l'utilisation des données MIR combinée aux méthodes chimiométriques (PLS-DA). Les résultats de cette technique de classification confirment son utilité pour élaborer un modèle de reconnaissance des échantillons de laits et de beurres. Cette méthode est un outil important pour la traçabilité et le contrôle qualité du lait et du beurre pour les industriels et pour les consommateurs.

V. Références

- [1] Dion M., Saskia M. and Van Ruth. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, 107 (2008) 897–911.
- [2] Décret n°2-12-389 du 11 Joumada II 1434 (22 avril 2013) fixant les conditions et les modalités d'étiquetage des produits alimentaires, *Bulletin officiel n°6152* (2013) 1936.
- [3] Grappin D., Lefier G. and Mazerolles G. Spectroscopie infra rouge et ses applications analytiques, 2^e Éd, 21 (1998) 498-535.
- [4] Dupuy N., Galtier O., LeDreau Y. and Artaud J. Chemometric analysis of combined NIR and MIR spectra to characterize French olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112 (2010) 463-475.
- [5] Terouzi W., De Luca M., Ioelea G., Kzaiber F., Tauler R., Oussama A. and Ragno G. Derivate infrared spectroscopy for cluster analysis and classification of Morocco olive oil. *Food chemistry*, 124 (2011) 1113-1118.
- [6] Maâmouri O., Rouissi H., Dridi S., Kammoun M., and Karaoui R. Mid infrared attenuated total reflexion spectroscopy as a rapid tool to assess the quality of Sicilo-Sarde ewe's milk during the lactation period after replacing soybean meal with scotch bean in the feed ration. *Food Chemistry*, 106 (2008) 361-368.
- [7] Verdun S., Cariou V. et Qannari M. Classification en référence à une matrice stochastique, 41^{ème} Journées de Statistique, SFDS, Bordeaux, (2009) 25-29.
- [8] Haute commissariat au plan, Monographie Régionale, Maroc, Septembre 2010.
- [9] Geladi P. and Kowalski B. Partial least-squares regression: a tutorial, *Anal. Chim. Acta*, 185, (1986) 1-17.
- [10] Vandeginste M., Massart L., Buydens C., Jong J. and Lewi J. Partial least squares regression, in : Handbook of Chemometrics and Qualimetrics : Part B, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 35 (1998) 329-342.
- [11] Iñón F., Garrigues S. and De la Guardia M. Nutritional parameters of commercially available milk samples by FTIR and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta*, 513 (2004) 401-412.
- [12] Reynolds CK., Cannon VL., and Loerch SC. Effects of forage source and supplementation with soybean and marine algal oil on milk fatty acid composition of ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 131 (2006) 333-357.
- [13] Tapp H.S., Defernez M. and Kemsley E.K. FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2003) 6110–6115.

- [14] Paradkar MM., Sivakesava S. and Irudayaraj J. Discrimination and classification of adulterants in maple syrup with the use of infrared spectroscopic techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83 (2003) 714-721.
- [15] Golbraikh A. and Tropsha A. Beware of q². *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20 (2002) 269-276.
- [16] Austel A. Experimental design in synthesis planning and structure-property correlations, in: H. van de Waterbeemd (Ed.): *Chemometrics Methods in Molecular Design*, VCH, Weinheim, 49 (1995) 62.
- [17] Novellino E., Fattorusso C. and Greco G. Use of comparative molecular field analysis and cluster analysis in series design. *Pharm. Acta Helv*, 70 (1995) 149-154.
- [18] Kubinyi H., Hamprecht A. and Mietzner F. Three-dimensional quantitative similarity-activity relationships (3D QSAR) from SEAL similarity matrices. *J. Med. Chem*, 41 (1998) 2553-2564.
- [19] Martens H. and Martens M. Modified jack-knife estimation of parameter uncertainty in bilinear modeling by partial least square regression (PLSR). *Food Quality Prefer*, 11(2000) 5-16.
- [20] Esbensen, K. H. Multivariate data analysis – In practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental design. Oslo: CAMO Process, 2002.
- [21] Karoui R. and Baerdemaeker J. A review of the analytical methods coupled with chemometric tools for the determination of the quality and identity of dairy products. *Food Chemistry*, 102 (2007) 621–640.
- [22] Koca N., Kocaoglu A., Harper W. and Rodriguez S. Application of temperature-controlled attenuated total reflectance-mid-infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration. *Food Chem*, 121 (2010) 778–82.
- [23] García M., Gori A., Cerretani L., Simó-Alfonso F. and Caboni F. Classification of Pecorino cheeses produced in Italy according to their ripening time and manufacturing technique using Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 93 (2010) 4490–4496.
- [24] Christy A., Kasemsumran S., Du Y. and Ozaki Y. The detection and quantification of adulteration in olive oil by near infrared spectroscopy and chemometrics. *Anal Science*, 20 (2004) 935 -940.
- [25] Oussama A. and Ragno F. Classification of Raw Milk by Infrared Spectroscopy (FTIR) and Chemometric. *Journal of Scientific Speculations and Research*, 1 (2010) 28 – 33.

Chapitre III :

**Détermination de la matière sèche
dégraissée (ESD) du lait cru par
spectroscopie IR-TF, PLS et SVM**

I. Introduction

Le lait est un aliment nutritionnel populaire, qui a un intérêt particulier en raison de son importance en tant que produit alimentaire et sa consommation a considérablement augmenté ces dernières années [1].

Au Maroc, les coopératives de collecte de lait sont la principale source d'approvisionnement en lait pour les industriels. Elles ont cependant souvent un problème lié à la qualité du lait livré par leurs adhérents. Ceux-ci écrèment parfois le lait ou ajoutent de l'eau avant de le livrer dans le bac collectif de la coopérative avec des conséquences négatives sur la qualité du lait. L'industrie laitière exige que le lait cru, livré par les producteurs agricoles aux industriels, soit qualifié en termes de sa teneur en matières grasses, de protéines et de matières sèches (extrait sec total ou extrait sec dégraissé). De même, il est à noter que, le prix du lait varie en fonction de sa teneur en matière grasse, en protéines et en extrait sec dégraissé (ESD).

L'extrait sec total (EST) est le résidu après évaporation complète de l'eau du lait et l'ESD est le résultat de la soustraction de la teneur de la matière grasse de l'extrait sec total. La teneur en ESD affecte considérablement la qualité du lait. L'ESD du lait cru est l'un des paramètres à analyser pour l'assurance de la qualité du lait. Il est déterminé par la méthode gravimétrique décrite par la méthode de référence [2]. Bien que celle-ci soit la méthode de référence standard officielle, elle a quelques inconvénients, elle demande du temps, n'est pas facilement manipulable et susceptible d'être exposée au risque de pollution de l'environnement. Pour déterminer la teneur en ESD du lait cru, une méthode rapide, non destructive et précise, est nécessaire.

Moros *et al.* [3], ont mis au point des méthodes de quantification des glucides, lipides, protéines et calcium dans des échantillons de yaourt, basées sur la spectroscopie FT-MIR couplée à la chimométrie. D'autres études récentes, ont mis le point sur d'autres paramètres nutritionnels comme l'extrait sec total et la matière grasse du lait, le lait de coco et autres produits en utilisant la chimométrie et la spectroscopie moyen infra rouge (MIR) [4]. La FT-MIR a été appliquée pour détecter des différences de composition entre échantillons de

pomme sur la base des vibrations de divers groupements chimiques aux longueurs d'onde spécifiques [5].

La SMIR fournit plus d'informations sur les fréquences et les intensités qui sont riches en informations et elle a déjà été utilisée pour la détermination de la caséine [6], les protéines et le lactose dans le lait [7], pour prédire la qualité sensorielle du fromage [8] et dans les cas d'adultération avec de la graisse [9] et le cas de lactosérum dans la poudre de lait écrémé [10].

La régression des moindres carrés partiels (PLS) [11] est l'une des méthodes d'étalonnage la plus couramment utilisée. Elle est basée sur un modèle bilinéaire, où une relation linéaire existe entre les spectres mesurés expérimentalement et le paramètre cible à déterminer (concentration, par exemple). Cependant, la PLS n'est pas toujours la meilleure méthode, surtout dans les situations où un modèle non-linéaire complexe est nécessaire pour modéliser la relation entre les spectres mesurés et la propriété à déterminer. La méthode des séparateurs à vaste marge ou en anglais « support vector machines » (SVM) [12,13] a été également proposée comme une excellente alternative pour résoudre les problèmes de classification et de régression non linéaire qui sont complexes.

Notre objectif est de développer une méthode en utilisant la spectroscopie moyen infra rouge (SMIR) couplée à la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) ou bien à la méthode des séparateurs à vaste marge (SVM), capable de remplacer la méthode de dosage classique, pour une détermination quantitative et rapide d'extrait sec dégraissé (ESD) du lait cru.

II. Matériels et méthodes

II.1. Echantillonnage

Les échantillons doivent être suffisants en nombre puisque ce dernier dépend de la méthode utilisée. En principe, une règle empirique conseille d'avoir au moins une dizaine d'échantillons dans la base de données pour certaines méthodes. Par contre, pour d'autres, le nombre d'échantillons doit être beaucoup plus important (de l'ordre de 1000). Mais d'une manière générale, La plage de variation de la valeur de référence doit être suffisamment large pour couvrir l'ensemble des valeurs [14].

Dans ce travail, cinquante-six échantillons de lait cru ont été quantitativement étudiés. Tous les échantillons ont été prélevés de la région de Tadla Azilal (Maroc). La gamme de concentrations des ESD étudiées varie entre 79 et 100 g / L. Les échantillons sont analysés par spectroscopie moyen infrarouge et par la méthode de référence de dosage de l'extrait sec dégraissé. Ensuite, ces échantillons ont été divisés au hasard, en deux groupes : un groupe de quarante-trois échantillons pour développer le modèle d'étalonnage et un autre groupe de treize échantillons pour la validation externe du modèle préétabli.

II.2. Analyses en moyen infra rouge (MIR)

Un spectrophotomètre Bruker « Vector 22 » équipé d'un détecteur DTGS, d'une Source Globalar (IR) et d'un séparateur KBr Germanium, a été utilisé pour enregistrer les spectres MIR du lait. Les échantillons ont été scannés 96 fois dans la zone spectrale de 3000 cm^{-1} à 920 cm^{-1} à une résolution de 4 cm^{-1} . Le spectrophotomètre est piloté par le logiciel OPUS 5.5 de la société Bruker. La référence est mesurée avant chaque analyse d'échantillon. Les échantillons du lait sont déposés sur la surface centrale du diamant à l'aide d'un compte-gouttes. Les mesures sont effectuées à température ambiante (25°C).

Deux zones spectrales ont également été étudiées pour élaborer les modèles chimiométriques. La zone $3000\text{-}920\text{ cm}^{-1}$ est utilisée comme point de départ pour investigation. La gamme spectrale réduite de $1800\text{ à }920\text{ cm}^{-1}$ a été utilisée comme a été décrit dans la littérature par De la Guardia [3], pour présenter les bandes spectrales les plus caractéristiques de l'ESD (Protéines, lactose et la matière minérale).

II.3. Analyses par méthode de référence

La teneur en ESD du lait cru a été déterminée par la méthode gravimétrique décrite par la méthode de référence [2]. L'ESD des échantillons sont déterminés par trois passages successifs et ensuite leurs moyennes seront utilisées pour élaborer le modèle de calibration.

II.4. Méthodes chimiométrique appliquées

II.4.1. Régression des moindres carrés partiels (PLS)

La PLS [15] tente à maximiser la covariance entre deux blocs de données \mathbf{X} et \mathbf{Y} . Une nouvelle matrice de poids (reflétant la structure de covariance entre les variables explicatives \mathbf{X} et les variables de réponse \mathbf{Y}) est calculée. Cette matrice fournit des interprétations des facteurs et des informations pour chaque variable latente indépendamment.

Dans cette étude, les spectres MIR recueillis seront utilisés comme matrice \mathbf{X} , et les concentrations des ESD des différents échantillons, estimés par la méthode gravimétrique, seront utilisées comme vecteur de y .

II.4.2 Séparateurs à vaste marge (SVM)

La méthode SVM [13] a été utilisée dans cette étude dans le but de construire un modèle de régression en utilisant une fonction de noyau non linéaire qui joue le rôle fonctionnel d'évaluation et permet de transformer les données d'entrée (données spectrales) à un espace de caractéristiques hyperdimensionnelles où la solution devient linéaire. La fonction de base radiale (RBF) a été utilisée dans cette étude comme une fonction de mappage.

Dans la PLS et la SVM, le nombre optimal de composantes (variables latentes et des vecteurs de support) a été obtenus par validation croisée totale. Ensuite, les résultats obtenus avec la méthode SVM sont comparés à ceux obtenus par la méthode PLS, en examinant les paramètres statistiques obtenus, comme le coefficient de détermination des modèles obtenus, l'erreur quadratique moyenne de calibration et de prédiction (RMSEC et RMSEP) et l'erreur de prédiction relatives (Rel. error in %) des concentrations en pourcentage.

En outre, différentes régions spectrales du MIR ont été étudiées afin de déterminer la gamme spectrale optimale pour les meilleures prédictions.

II.5. Logiciels

Tous les spectres acquis ont été élaborés par les logiciels PLS Toolbox 5.8 et Matlab 7.11 pour l'application de la PLS et SVM.

III. Résultats et discussion

III.1. Acquisition des spectres MIR

Les spectres obtenus, sont caractérisés par de nombreux pics caractéristiques de l'interaction du rayonnement infrarouge avec les différents composants du lait. La figure II.III.1 représente les spectres MIR d'absorption des échantillons du lait cru dans la gamme spectrale 920-3000 cm^{-1} .

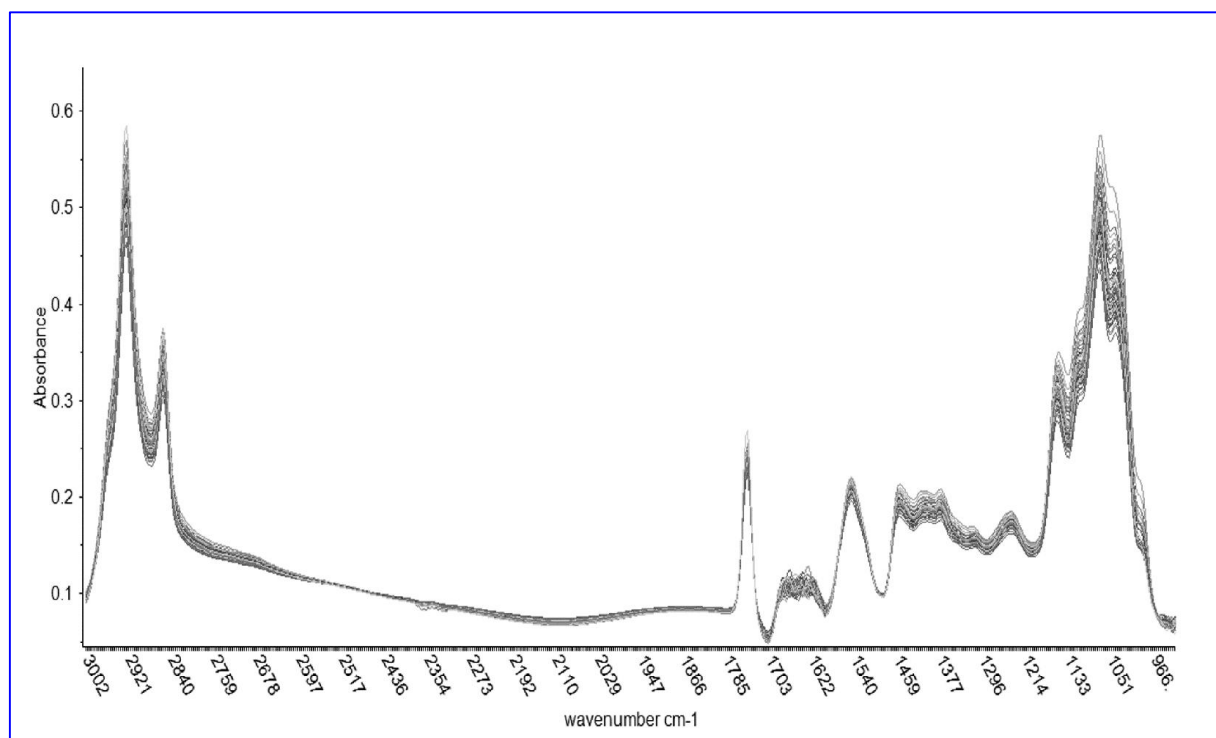


Figure II.III.1 : Spectre moyen infra rouge du lait cru dans la gamme spectrale 920-3000 cm^{-1} .

D'après la figure II.III.1, les vibrations d'élongation asymétriques caractéristiques des liaisons C-H des groupements méthyle ($-\text{CH}_3$) et méthylène ($-\text{CH}_2$) de la matière grasse,

probablement, se localisent à 2960 cm^{-1} alors que les vibrations d'élongation symétriques se localisent à 2860 cm^{-1} . La bande spectrale à environ 1750 cm^{-1} est dominée par la réactivité de la liaison C=O de la fonction ester présente dans la fraction grasse (triglycérides) et aussi de la fonction carbonyle des acides carboxyliques et des protéines.

Les deux zones spectrales suivantes, situées aux environs de 1650 cm^{-1} et de 1550 cm^{-1} , sont en particulier caractéristiques des fonctions amides des protéines. Les bandes à 1112 cm^{-1} et 1050 cm^{-1} sont dominées par les vibrations d'élongation de la liaison C-O. Les domaines spectraux entre 1450 et 1200 cm^{-1} sont plus complexes à interpréter car elles ne correspondent pas à un type particulier de liaison interatomique et donc ils peuvent impliquer une large gamme de composants du lait [16, 17].

III.2. Analyse quantitatif d'ESD du lait cru

III.2.1. Elaboration des modèles de calibration

Vingt-quatre modèles différents ont été élaborés pour le lot d'échantillons, constitué de 43 échantillons. Ces derniers sont analysés par la spectroscopie MIR et par la méthode de référence. Le tableau II.III.1 présente les résultats obtenus lors du traitement des données après analyses par la méthode SVM ou par la méthode PLS.

Tableau II.III.1 : Paramètres statistiques obtenu par PLS et SVM modélisations lors de la calibration.

Prétraitement	Nombre d'onde (cm^{-1})	PLS avec validation croisée totale				SVM avec validation croisée totale			
		Nbr de LVs	R^2_c	R^2_{cv}	RMSE C	Nbr de SVs	R^2_c	R^2_{cv}	RMSEC
Brut	3000-920 ^a	2	0,9906	0,9896	0,4275	42	0,9977	0,9961	0,2111
	1800-920 ^a	3	0,9891	0,9834	0,4599	30	0,9982	0,9935	0,1835
Normalisation	3000-920 ^a	2	0,9942	0,9943	0,3338	40	0,9971	0,9951	0,2493
	1800-920 ^a	3	0,9896	0,986	0,4485	30	0,9977	0,9878	0,2117
Centrée	3000-920 ^a	2	0,9962	0,9954	0,2712	42	0,9977	0,9965	0,2111
	1800-920 ^a	3	0,9979	0,9956	0,2015	41	0,9965	0,9947	0,261
SNV	3000-920 ^a	7	0,9887	0,9289	0,4689	38	0,9943	0,8889	0,341
	1800-920 ^a	6	0,9698	0,8408	0,7662	43	0,9639	0,8618	0,8477
S.Golay 1 st Dérivative	3000-920 ^a	6	0,9664	0,908	0,8082	36	0,9971	0,9903	0,3508
	1800-920 ^a	6	0,9507	0,856	0,979	34	0,9949	0,9943	0,5456

LVs est le nombre de variables latentes ; SVs est le nombre des supports vectors ; R^2_c et R^2_{cv} sont les coefficients de détermination de calibration et de validation croisée respectivement ; RMSEC est l'erreur de calibration ;

^a zone spectrale exploitée ;

Les modèles PLS et SVM ont été établis sur le même ensemble de données. La validation croisée a été utilisée pour déterminer le nombre optimal de variables latentes et des supports vecteurs.

Sur le tableau II.III.1, les modèles préétablis ont donné des RMSEC qui varient de 0,2015 à 0,979 g/ L dans le cas de modélisation par PLS et ils varient de 0,1835 à 1,317 g/ L dans le cas de modélisation par SVM. Les R^2_c et R^2_{cv} sont significativement variables avec les méthodes et les prétraitements. Par application de la PLS, les R^2_c sont compris entre 0,9507 et 0,9979, alors que, la méthode SVM a généré R^2_c compris entre 0,9155 et 0,9982. Les R^2_{cv} varient de 0,8408 à 0,9956 dans le cas de la PLS et de 0,7784 à 0,9965 dans le cas de la SVM.

La PLS et la SVM ont donné presque les mêmes résultats en termes de RMSEC, R^2_c et R^2_{cv} . Pour ces deux méthodes (PLS et SVM), il n'y a pas de grande différence entre les modèles construits avec les deux gammes spectrales.

Les résultats des prétraitements, montrent que pour la méthode SVM, l'utilisation des prétraitements n'améliore pas la qualité de la calibration. Alors que l'utilisation du centrage permet de réduire l'erreur de calibration de façon significative pour la méthode PLS. En effet, le centrage exalte les informations spectrales par élimination d'effet de magnitude d'échelle.

En général, La zone spectrale comprise entre 1800 à 920 cm^{-1} a donné un RMSEC supérieur à celui donné par la zone 3000-920 cm^{-1} , excepté le cas où les données sont centrées avec la méthode PLS et les deux cas où la SVM est appliquée sur les données brutes et les données normalisées.

Il n'est pas possible de savoir a priori lequel des modèles donneront les meilleurs résultats de prédiction. D'où, La solution est de tester de manière systématique les différents modèles sur un lot des échantillons externe de teneurs connus en extrait sec dégraissé (ESD) et de sélectionner celui donnant l'erreur de prédiction la plus faible : c'est la validation externe.

III.2.2. Validation externe

Les modèles de calibration obtenus, ont été appliqués à l'ensemble de données de validation externe, composé de 13 échantillons. Les résultats sont présentés sur le tableau II.III.2.

Tableau II.III.2 : Paramètres statistiques obtenus par PLS et SVM modélisations lors de la validation externe.

		Validation externe avec PLS				Validation externe avec SVM			
		ESD (79 g/l à 100 g/l)							
Prétraitement	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nbr de LVs	R ² p	RMSEP	ER%	Nbr de SVs	R ² p	RMSEP	ER%
Brute	3000-920 ^a	2	0,9903	0,4722	0,533	42	0,9967	0,2914	0,329
	1800-920 ^a	3	0,9892	0,5062	0,5715	30	0,9970	0,2544	0,2872
Normalisation	3000-920 ^a	2	0,994	0,3712	0,4185	40	0,9955	0,3233	0,365
	1800-920 ^a	3	0,99	0,4862	0,5484	30	0,9941	0,3736	0,4218
Centrée	3000-920 ^a	2	0,9968	0,2842	0,3209	42	0,9967	0,2914	0,329
	1800-920 ^a	3	0,9980	0,2361	0,267	41	0,9954	0,261	0,3788
SNV	3000-920 ^a	7	0,9796	0,7545	0,8516	38	0,9652	0,8984	1,0141
	1800-920 ^a	6	0,9578	1,0933	1,2358	43	0,9394	1,5631	1,4096
S.Golay 1 st Dérivative	3000-920 ^a	6	0,9382	1,5075	1,7016	36	0,997	0,3992	0,4507
	1800-920 ^a	6	0,9489	1,4102	1,5919	34	0,9962	0,5522	4,7541

RMSEP est l'erreur lié à la prédiction (validation externe); R²p est le coefficient de détermination de prédiction (validation externe); RE% est l'erreur relative de prédiction en % ;

^a zone spectrale exploitée ;

Les mêmes échantillons sont utilisés par les modèles PLS et SVM préétablis pour vérifier leur pouvoir à prédire des valeurs inconnues sur le même ensemble de données : c'est la validation externe.

D'une manière générale, les R²p, les ER% et les RMSEP sont considérablement variables entre les méthodes et selon les prétraitements appliqués.

La modélisation des spectres MIR par la méthode PLS a donné des valeurs d'erreurs de prédiction (RMSEP) qui varient de 0,2361 à 1,5075 g/ L, des erreurs relatives de prédiction

(ER %) varient de 0,2670 à 1,7016 et des coefficients de prédiction (R^2_p) compris entre 0,9382 et 0,998.

Ainsi, la modélisation par la méthode SVM a donné des erreurs de prédiction (RMSEP) variant de 0,2544 à 1,748 g/ L, des erreurs relatives de prédiction (ER %) comprises entre 0,2872 et 4,7541 et des coefficients de prédiction (R^2_p) sont compris entre 0,8721 et 0,997.

Les prétraitements appliqués, avec la méthode SVM n'améliorent pas la prédiction. Alors que, l'utilisation du centrage comme prétraitement a permis de réduire l'erreur de prédiction de façon significative pour la méthode PLS.

Le même séquençage des spectres MIR appliqué pour l'élaboration des modèles de calibration est appliqué aussi pour élaborer les modèles de prédiction. En comparant les deux zones spectrales exploitées : La zone 1800-920 cm^{-1} a donné une erreur de prédiction (RMSEP) supérieure à celle donnée par exploitation de la zone 3000-920 cm^{-1} , excepté le cas où la SVM est appliquée sur les données non traités où les données centrées sont utilisées avec la méthode PLS.

Les deux méthodes ont donné des résultats presque similaires en termes de RMSEP, ER% et R^2_p . A l'exception des modèles construits sur la base des données qui ont subis une dérivation, il n'y a pas de différence significative entre les modèles développés (PLS et SVM) sur la base des deux gammes spectrales,

Plusieurs modèles ont donné des erreurs presque similaires. En examinant les ER%, les RMSEP et les R^2_p ; le meilleur modèle PLS est celui élaboré dans le domaine 1800-920 cm^{-1} et qui utilise le centrage des données spectrale comme prétraitement. Une ER% qui est de 0,267, un RMSEP qui est de 0,2361 et un R^2_p qui est de 0,998 sont les caractéristiques du modèle PLS.

Alors que, le meilleur modèle SVM est celui élaboré dans le domaine 1800-920 cm^{-1} sur la base des données brutes (sans prétraitement). Ce modèle a fourni une erreur relative ER% de 0,2872, un RMSEP de 0,2544 et un R^2_p de 0,997.

Dans les modèles choisis, les coefficients de détermination sont proches de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs d'ESD prédites à partir des données moyen infrarouge. La figure II.III.2 représente les valeurs prédites par le modèle PLS en fonction des valeurs de référence. Alors que, La figure II.III.3 représente les valeurs prédites par le modèle SVM en fonction des valeurs de référence.

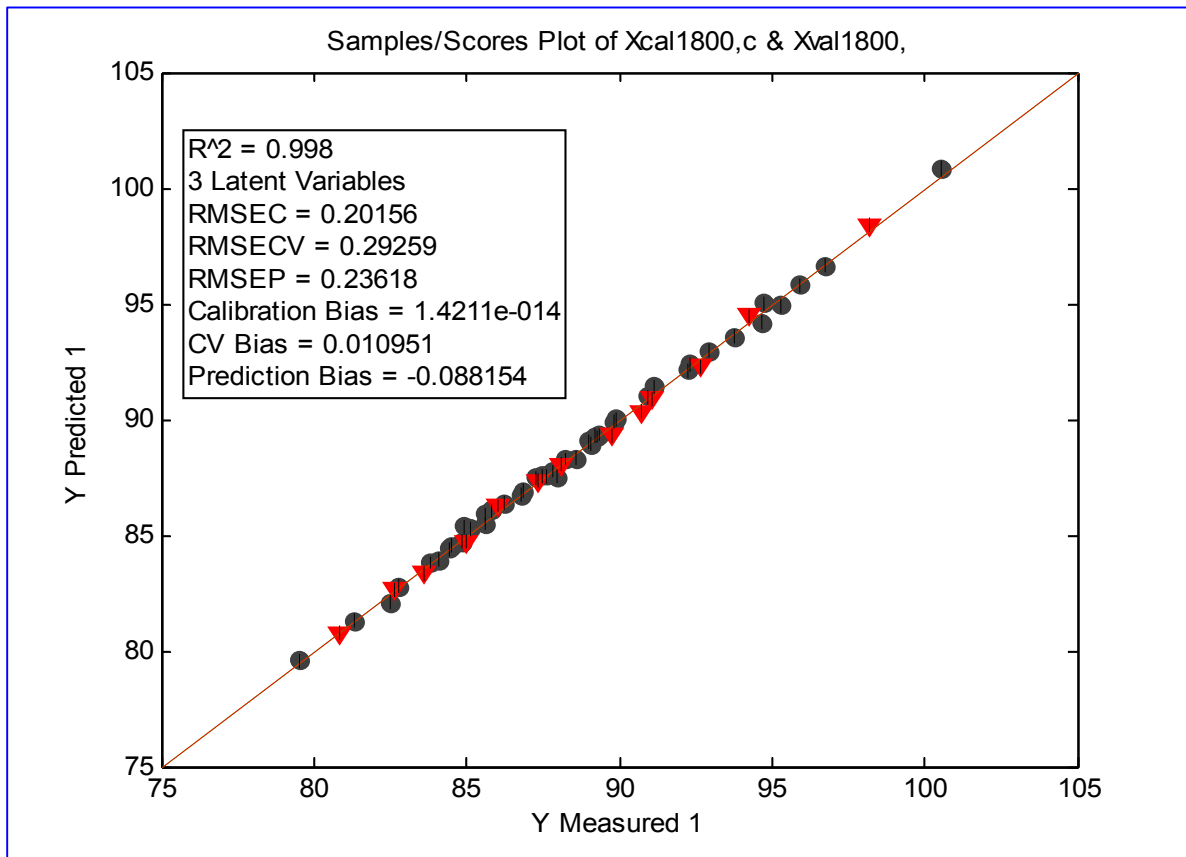


Figure II.III.2 : valeur de référence vs prédites d'ESD dans l'étape de calibration (cercles noirs) et dans l'étape de validation externe (triangles rouges) ; quand PLS est appliquée sur les données spectrales non traitées dans la zone 1800-920 cm^{-1} .

La linéarité du modèle PLS est bien vérifiée (Figure ci-dessus). On constate que le biais est non significatif c'est-à-dire qu'il n'y a donc pas d'erreur systématique entre les valeurs prédites par la méthode de couplage de la SMIR et PLS et la méthode de référence.

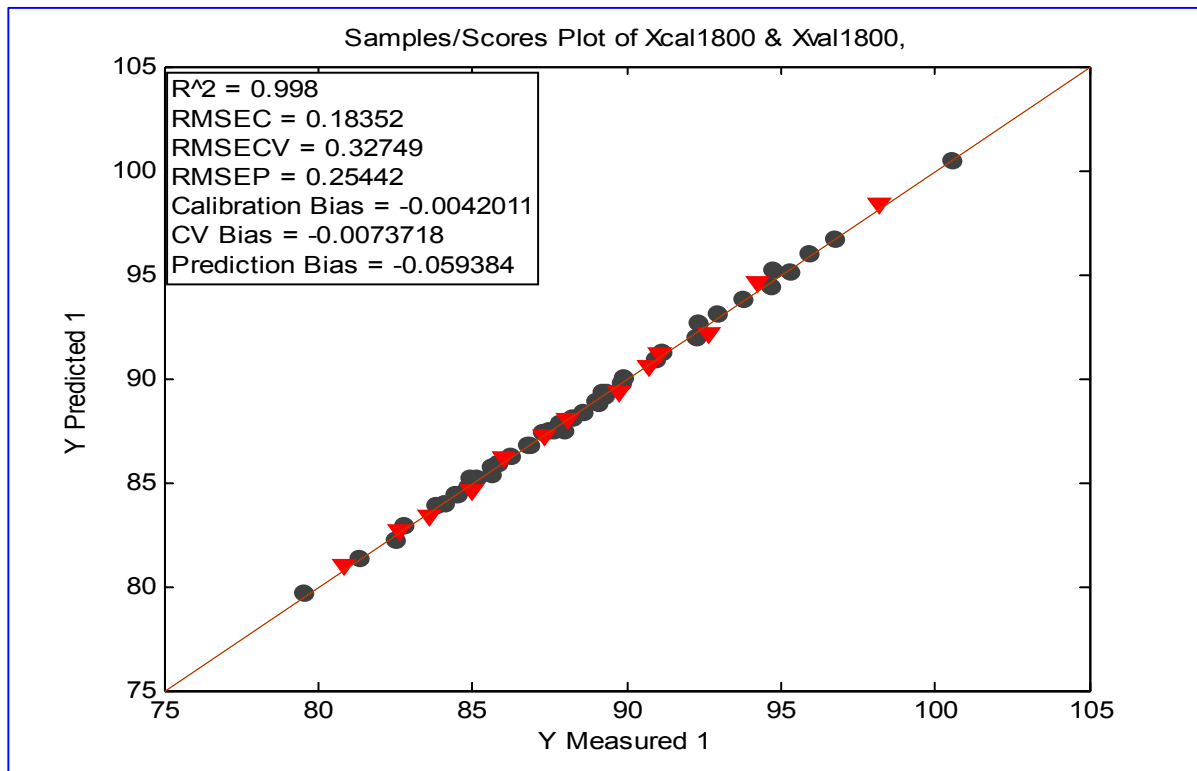


Figure II.III.3 : valeurs de référence vs prédites d'ESD dans l'étape de calibration (cercles noirs) et dans l'étape de validation externe (triangles rouges) ; quand SVM est appliqué sur les données spectrales non traitées dans la zone 1800-920 cm^{-1} .

La linéarité du modèle SVM est bien vérifiée (ci-dessus). On constate que le biais est non significatif c'est-à-dire qu'il n'y a donc pas d'erreur systématique entre les valeurs prédites d'ESD à partir des données SMIR et celles de la méthode de référence.

Les deux modèles d'étalonnage (PLS et SVM) sont très similaires, avec tous les échantillons qui sont localisés le long de la ligne de calibration (Etalonnage et validation externe). En comparant les deux modèles choisis, les paramètres statistiques mettent clairement en évidence le fait qu'ils ont une performance presque similaire. Le tableau II.III.3 représente les paramètres statistiques des deux modèles (PLS et SVM) choisis.

Tableau II.III.3 : Comparaison des deux modèles (PLS et SVM) choisis.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Validation externe avec PLS				Validation externe avec SVM			
	ESD (79 g/l à 100 g/l)							
	Nbr de LVs	R ² p	RMSE P	ER %	Nbr de SVs	R ² p	RMSE P	ER%
1800-920	3	0,9980	0,2361	0,267	30	0,997	0,2544	0,2872

Pour ces deux méthodes (PLS et SVM), il n'y a pas de grande différence entre les modèles construits en termes de R²p. En comparant les ER% et RMSEP ; le modèle PLS a fourni un ER% et RMSEP plus bas que ceux du modèle SVM. Le tableau II.III.4 représente la comparaison des valeurs de références vs valeur prédites des modèles choisis.

Tableau II.III.4 : Comparaison des valeurs de références vs prédites des modèles choisis.

Echantillons	ESD de référence	ESD prédite		Ecart		Ecart absolu	
		SVM	PLS	SVM	PLS	SVM	PLS
E01	92,65	92,12	92,32	-0,53	0,20	0,53	0,20
E02	89,73	89,29	89,32	-0,44	0,03	0,44	0,03
E03	87,35	87,04	87,35	-0,31	0,31	0,31	0,31
E04	88,07	87,95	88,04	-0,12	0,08	0,12	0,08
E05	86,01	86,17	86,27	0,16	0,10	0,16	0,10
E06	84,99	84,53	84,73	-0,46	0,20	0,46	0,20
E07	83,58	83,54	83,37	-0,04	-0,17	0,04	0,17
E08	82,66	82,72	82,67	0,06	-0,05	0,06	0,05
E09	80,83	80,95	80,77	0,12	-0,18	0,12	0,18
E10	98,22	98,11	98,40	-0,11	0,30	0,11	0,30
E11	94,23	94,66	94,49	0,43	-0,17	0,43	0,17
E12	91,1	91,16	90,89	0,06	-0,28	0,06	0,28
E13	90,7	90,44	90,35	-0,26	-0,09	0,26	0,09

Sur le tableau II.III.4, l'écart entre la valeur prédite et la valeur de référence pour le modèle SVM varie de -0,53 à 0,43 alors que, cet écart varie de -0,28 à 0,31 pour le modèle PLS pré-établi. Le modèle SVM a fourni des écarts en valeur absolue variant de 0,04 à 0,53, alors que, le modèle PLS a fourni des écarts absolus qui varient de 0,03 à 0,31.

La comparaison des valeurs de références vs prédites des modèles choisis, montre que les écarts obtenus sont acceptables par rapport aux écarts de la méthode officielle pour les deux méthodes chimiométriques (PLS et SVM).

IV. Conclusion

La méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) et la méthode de séparateurs des vastes marges (SVM) ont été utilisées pour modéliser et prédire la teneur en extrait sec dégraissé (ESD), en se basant sur les données spectrales (spectres FT-MIR) du lait cru.

Les résultats de prédiction obtenus à l'aide de la PLS et la SVM étaient presque similaires et ont donné de bonnes estimations des teneurs d'ESD du lait, avec de très faibles erreurs (moins de 0,5%) sur tout le domaine spectral de la spectroscopie MIR ou dans le domaine spectral 1800 et 920 cm^{-1} .

La spectroscopie FT-MIR couplée aux méthodes chimiométriques (PLS et SVM) ont été appliquées pour développer une méthode d'analyse rapide et non destructive pour être éventuellement une alternative de la méthode de référence.

La technique développée est adéquate pour la quantification d'ESD dans le lait cru, sans prétraitement, sans aucune manipulation destructrice de l'échantillon, moins coûteuse et non polluante.

La mise en place d'une analyse quantitative est possible pour le dosage d'ESD du lait. Dans l'industrie, la méthode spectrale donne des résultats comparables à la méthode chimique de référence, sa prédiction est acceptable et constituera une avancée importante dans les techniques de contrôle de ce paramètre (ESD) qui met en jeu une valeur économique importante.

V. Références

- [1] Wu D., and He Y. Study on infrared spectroscopy technique for fast measurement of protein content in milk powder based on LS-SVM. *Journal of Food Engineering*, 84 (2008) 124–131.
- [2] ISO 6731 : 2010 (IDF 21:2010). Lait, crème et lait concentré non sucré --Détermination de la matière sèche, méthode de référence, (2010).
- [3] Moros J., Iñón A., Khanmohammadi M., Garrigues S., and De la Guardia M. Evaluation of the application of attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrometry (ATR-FTIR) and chemometrics to the determination of nutritional parameters of yogurt samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385 (2006) 708-715.
- [4] Iñón A. Nutritional parameters of commercially available milk samples by FTIR and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta*, 513 (2004) 401–412.
- [5] Reid M., Woodcock T., O'Donnell C., Kelly J. and Downey G. Differentiation of apple juice samples on the basis of heat treatment and variety using chemometric analysis of MIR and NIR data. *Food Research International*, 38 (2005) 1109–1115.
- [6] Sorensen L., Lund M. and Juul B. Accuracy of Fourier transform infrared spectrometry in determination of casein in dairy cows' milk. *Journal of Dairy Research*, 70 (2003) 445-452.
- [7] Šašić S. and Ozaki Y. Short-Wave Near-Infrared Spectroscopy of Biological Fluids: Quantitative Analysis of Fat, Protein, and Lactose in Raw Milk by Partial Least-Squares Regression and Band Assignment. *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 64-71.
- [8] Kraggerud F. Prediction of sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. *International Dairy Journal*, 34 (2014) 6-18.
- [9] Sato T., Kawano S. and Iwamoto M. Detection of Foreign Fat Adulteration of Milk Fat by Near Infrared Spectroscopic Method. *Journal of Dairy Science*, 73 (1990) 3408-3413.
- [10] Mendenhall V. and Brown R. Fourier Transform Infrared Determination of Whey Powder in Nonfat Dry Milk. *Journal of Dairy Science*, 74 (1991) 2896-2900.
- [11] Martens H. and Naes T. Multivariate calibration, *Wiley, New York*, 1989.
- [12] Vapnik V. The support vector method of function estimation. In J. Suykens , & J. Vandewalle (Eds.), *Nonlinear Modeling: advanced black-box techniques*, Boston: Kluwer Academic Publishers (1998) 55-85.
- [13] Smola A.J. and Scholkopf B. A tutorial on support vector regression. *Statistics and Computing*, 14 (2004) 199-222.
- [14] ROGGO Y. Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimiométrie. *These de doctorat*, Université des Sciences et Technologies de Lille (2003).

-
- [15] Geladi P. and Kowalski B. Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185 (1986) 1–17.
- [16] Grappin R., Lefier D. and Mazerolles G. Analyse du lait et des produits laitiers. In D. Bertrand, & E Dufour (Eds.), *La Spectroscopie Infrarouge et ses Applications Analytiques*, Chapter 21 (2000) 497-540.
- [17] Lakshanasom N., Danudol A. and Ningnoi T. Method performance study for total solids and total fat in coconut milk and products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24 (2011) 650–655.

Chapitre IV :

Développement d'une méthode de contrôle d'authentification du lait après ajout du saccharose en utilisant la spectroscopie MIR-FT et la PLS

I- Introduction

L'histoire des fraudes et d'authentification du lait remonte à des siècles, c'est juste les modalités et les pratiques qui changent. En France, en 1902 [3] les journaux attiraient l'attention du public sur les dangers qui peuvent toucher la population suite à la mauvaise qualité du lait fourni aux grandes villes. Ils ont également signalé, que parmi les fraudes couramment pratiquées, l'écémage couplé à l'addition d'eau, permettant d'augmenter le volume du lait livré. Ainsi, d'augmenter les profits commerciaux et que certaines usines produisent illégalement du lait à faible teneur en éléments nutritifs.

Les pratiques de fraudes ont évolué au fil de temps pour donner naissance à d'autres pratiques comme l'ajout de la mélamine et du saccharose, qui sont aujourd'hui très pratiqués par les fraudeurs. En 2008, des milliers d'enfants chinois ont connu des problèmes rénaux, y compris plusieurs cas mortels, en raison de la présence de mélamine dans le lait infantile. Cette falsification est produite par une grande entreprise laitière chinoise, conduisant à un rappel de 700 tonnes du produit [1]. L'adultération du lait a créé des problèmes importants pour l'industrie laitière.

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) a été utilisée pour la détection et la quantification des pourcentages du lait des espèces bovines, des espèces ovines et caprines dans les fromages Portugais à dénomination protégées [2]. Bien que celle-ci est la méthode standard de référence, elle a quelques inconvénients, comme la demande de plus de temps, polluante et demande un haut niveau de technicité. Ainsi, elle n'est pas adaptée pour l'analyse de routine d'un très grand nombre d'échantillons.

Le développement d'une méthode rapide et non destructive, de détection des adultérants et /ou de contaminants, qui peut être effectuée rapidement et à moindre coût, est une nécessité de plus en plus importante pour la sécurité alimentaire, la santé publique et aussi pour les aspects économiques des industriels. Une méthode alternative des méthodes classiques, est proposée en utilisant la spectroscopie FT-MIR couplée à la méthode de régression des moindres carrés partiels. Cette méthode est basée sur la spécificité des bandes infrarouges pour identifier les composants chimiques du lait cru sans préparation de l'échantillon.

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-MIR) couplée aux méthodes chimiométriques a plusieurs applications dans l'agroalimentaire. Cette méthode a été appliquée pour différencier la composition entre les échantillons de jus de pomme sur la base des vibrations en moyen infrarouge de divers groupes chimiques [4]. Elle est utilisée aussi, pour déterminer les paramètres nutritionnels de yaourt [5]. D'autres travaux de N. Koca *et al.*, pour estimer la falsification de beurre [6] et de N. Rodríguez *et al.*, pour la détection des falsifications dans les mélanges laitiers et fromages [7] ; ont été cités pour souligner l'utilité de la méthode de couplage de la FT-MIR et les méthodes chimiométriques.

Afin de continuer à améliorer et à accroître les connaissances existantes sur les techniques d'authentification de lait, qui est un facteur clé dans l'identification des falsifications de lait, l'objectif de ce travail est de développer une nouvelle technique d'analyse pour déterminer la teneur du saccharose ajouté au lait, en se basant sur la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (FT-MIR) couplée à la méthode de régression des moindres carrés partielle (PLS).

Cette procédure proposée, se révèle être en mesure de remplacer les méthodes traditionnelles dites de références. En particulier, la spectroscopie FT-MIR couplée à la PLS, est utilisée pour la quantification d'une éventuelle altération de lait par du saccharose comme une technique facile, rapide et précise.

II. Matériels et méthodes

II.1. Echantillonnage

Dans ce travail, 87 échantillons de lait avec ajout de différentes quantités du saccharose ont été préparés. Tous les échantillons étudiés ont été prélevés de la région de Tadla Azilal (Maroc). La concentration du saccharose ajouté varie de 0,01 à 19 g / L. Au début, 60 échantillons du lait fraudé, ont été préparés et sont analysés par spectroscopie moyen infrarouge. A

Pour appliquer la méthode PLS sur les données spectrales, ces échantillons sont ensuite séparés en deux groupes. Le premier groupe est constitué de 50 échantillons servira pour la

calibration (noté : Cal) et le deuxième groupe est constitué de 10 échantillons servira pour la validation externe du modèle de calibration pré-établi (noté : Val 1).

Dans deux autres expériences séparées dans le temps, deux nouveaux ensembles (notés : Val 2 et Val 3) de 13 et 14 échantillons respectivement, ont été préparés pour évaluer la reproductibilité du modèle.

II.2. Analyses en moyen infra rouge (MIR)

Les spectres FT-MIR ont été obtenus par spectrophotomètre Bruker vecteur 22 équipé d'une réflexion totale atténuée (ATR) (Pike Miracle, Pike Technologies, Madison, Etats-Unis) et avec un détecteur DTGS, une source Globar et un séparateur KBr, avec une résolution de 4 cm^{-1} . En moyenne 98 scans par spectre ont été enregistrés, en mode absorbance dans le domaine 3100-920 cm^{-1} . Les mesures ont été effectuées à la température ambiante et un spectre de référence a été recueilli avant toutes les mesures des échantillons. Deux plages spectrales différentes (3100-920 cm^{-1} et 1800-920 cm^{-1}) ont également été étudiées.

II.3. Méthodes chimiométriques

III.3.1 Régression des moindres carrés partiels (PLS)

Dans ce travail la seule méthode chimiométrique utilisée est la régression des moindres carrés partiels. La PLS [8] consiste à maximiser la covariance entre la matrice des \mathbf{X} et des \mathbf{Y} et une nouvelle matrice de pondération ; reflétant la structure de covariance entre les variables explicatives (\mathbf{X}) et les variables de réponse (\mathbf{y}) ; celle-ci est calculée pour en déduire des interprétations et de l'information pour chaque variable latente indépendamment.

Etant donné que les données spectrales FT-MIR (la matrice des \mathbf{X}) contiennent des informations quantitatives qui sont pertinentes ; un modèle de calibration adéquat peut être utilisé pour extraire ces informations et pour prévoir le pourcentage de variable de réponse y (saccharose ajouté au lait).

Dans ce travail, les spectres FT-MIR recueillis seront utilisés comme matrice des \mathbf{X} , et les concentrations de saccharose ajouté aux différents échantillons du lait cru, seront utilisées

comme vecteur des y . Le choix du nombre optimal de variables latentes se fait en utilisant la méthode de validation croisée totale.

II.3.2. Paramètres statistiques

L'évaluation de la qualité des modèles obtenus a été discutée en comparant différents paramètres obtenus comme la limite de détection (LOD) [9], le coefficient de détermination, l'erreur quadratique moyenne de calibration ou de prédiction (RMSEC et RMSEP). Dans ce travail, le calcul des erreurs de prédiction relatives en pourcentage (ER%) des concentrations est également proposé.

II.3.3. Logiciels

Tous les spectres moyen infrarouge acquis ont été élaborés par le logiciel Unscrambler (version 10.2, CAMO, Norvège) pour l'application de la PLS.

III. Résultats et discussion

III.1. Acquisition des spectres MIR

Les spectres obtenus, sont caractérisés par de nombreuses bandes caractéristiques de l'interaction du rayonnement infrarouge avec les différents composants du lait. La figure II.IV.1 représente les spectres MIR des échantillons de lait cru pur et le lait fraudé par le saccharose dans la gamme spectrale de 920 à 3100 cm^{-1} .

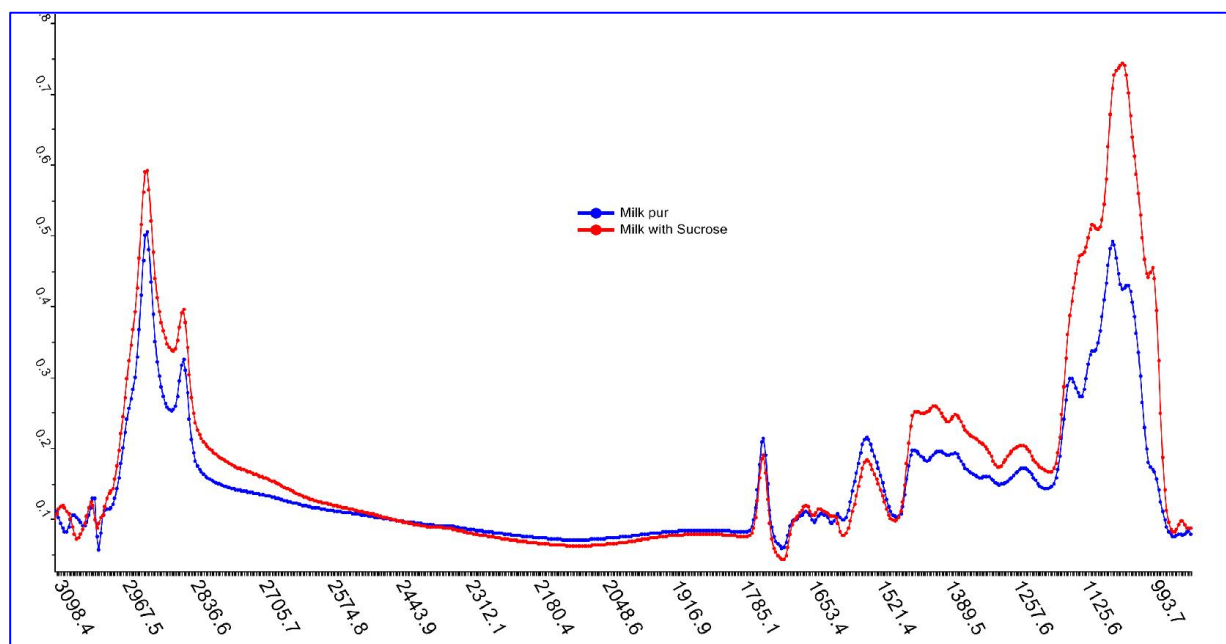


Figure II.IV.1 : Spectres moyen infrarouge du lait cru sans ajout du saccharose (bleu) et du lait avec ajout du saccharose.

De nombreux pics correspondant aux différentes liaisons moléculaires des composants du lait qui interagissent avec le rayonnement moyen infrarouge sont mis en évidence sur les spectres MIR.

En général, les pics caractéristiques de la matière grasse sont des vibrations d'élongation asymétriques à 2960 cm^{-1} et symétriques à 2860 cm^{-1} qui sont des vibrations caractéristiques des liaisons C-H des groupements méthyle ($-\text{CH}_3$) et méthylène ($-\text{CH}_2$). Aussi, la bande spectrale à 1750 cm^{-1} est dominée par la vibration de la liaison C=O de la fonction ester présente dans la fraction grasse (triglycérides). Les deux zones spectrales suivantes, situées aux environs de 1650 cm^{-1} et 1520 cm^{-1} , sont en particulier caractéristiques des fonctions amides des protéines. Les bandes à 1112 cm^{-1} et 1050 cm^{-1} sont dominées par les vibrations d'élongation de la liaison C-O [10].

Sur les deux spectres, il y a une différence entre le spectre de lait pur (en bleu) et celle du lait fraudé par ajout du saccharose (en rouge).

III.2. Elaboration du modèle de calibration

Les caractéristiques spectrales dans le MIR de différentes concentrations de saccharose ajouté au lait, ont été étudiées ; d'abord la région comprise entre 3100 et 920 cm^{-1} et ensuite la région comprise entre 1800 et 920 cm^{-1} du spectre complet ont été utilisées pour construire les modèles PLS de calibration. Le tableau II.IV.1 représente les résultats obtenus lorsque les données sont traitées et analysées par la PLS.

Tableau II.IV.1 : Paramètres statistiques obtenu par PLS modélisations lors de la calibration.

		PLS avec validation croisée totale				
		Saccharose ajouté (0 à 19 g/l)				
Prétraitement	Nombre d'onde (cm^{-1})	Nbr de LVs	R^2_c	RMSEC	R^2_{cv}	RMSECv
Brut	3100-920 ^a	2	0,994	0,4201	0,9942	0,4427
	1800-920 ^a	2	0,99	0,5468	0,99	0,5737
S.Golay 1st Dérivative	3100-920 ^a	2	0,9959	0,3642	0,9948	0,4317
	1800-920 ^a	2	0,9981	0,4542	0,9978	0,4729

LVs est nombre de Latentes ; R^2_c et R^2_{cv} sont les coefficients de détermination de calibration et de validation croisée respectivement ; RMSEC et RMSECv sont l'erreur de calibration et de validation croisée respectivement ;
^a zone spectrale exploitée ;

Sur le tableau ci-dessus, on constate que les erreurs de calibration et de validation croisée varient considérablement. Les RMSEC varient de 0,3642 à 0,5468 g/ L alors que, les RMSECv varient de 0,4317 à 0,5737 g/L.

Ainsi, les R^2_c et R^2_{cv} sont significativement variables en fonction des prétraitements et la zone spectrale exploitée. Par application de la PLS, les R^2_c sont compris entre 0,99 et 0,9981 et les R^2_{cv} varient de 0,99 à 0,9978.

Le nombre optimal de variables latentes (LVs) a été choisi selon la méthode de validation croisée totale se basant sur l'erreur minimale de RMSECv. Il n'est pas possible de savoir a

priori lequel des prétraitements et de la zone spectrale donneront les meilleurs résultats. Par conséquent, la solution est de tester de manière systématique les différents prétraitements et de sélectionner celui donnant l'erreur standard la plus faible. En général, la zone 3100-920 cm^{-1} a donné la valeur de RMSEC inférieure à celle donnée par la zone 1800-920 cm^{-1} .

Les meilleurs résultats de coefficient de détermination de calibration R^2_c (0,99), de RMSEC (0,364), de R^2_{cv} (0,9978) et de RMSEC_v (0,4317) ont été obtenus avec un prétraitement de la première dérivée de Savitsky Golay dans la région de 3100 à 920 cm^{-1} .

Les coefficients de détermination ; les R^2_c et les R^2_{cv} sont proches de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs prédites du saccharose ajouté au lait. La figure II.IV.2 représente les valeurs prédites par le modèle PLS en fonction des valeurs de référence.

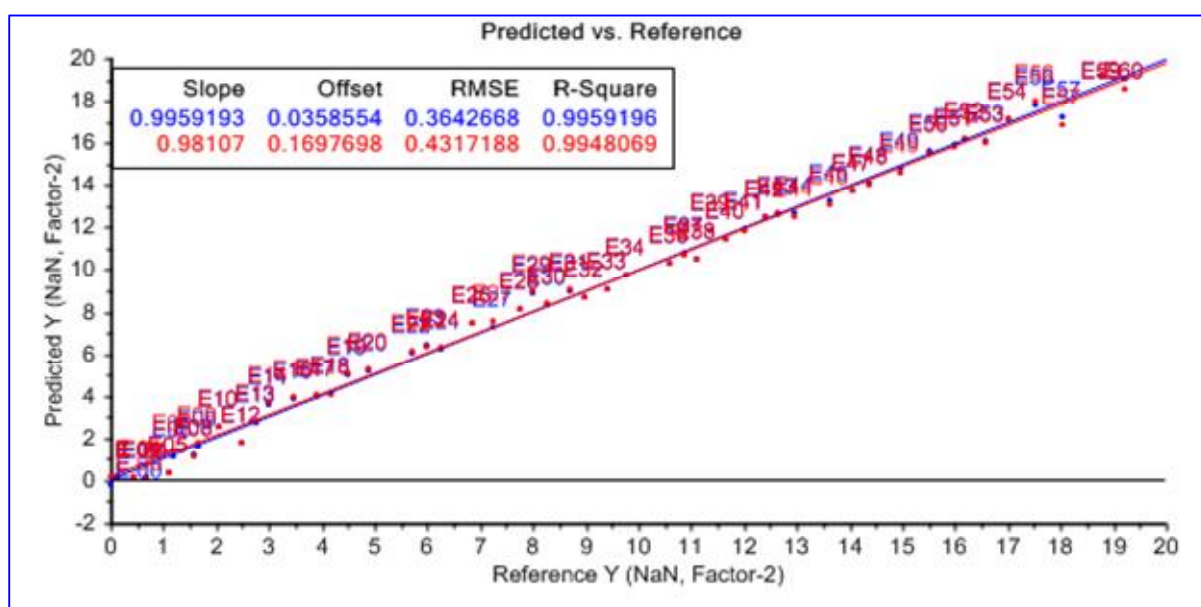


Figure II.IV.2 : valeur de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de calibration (bleu) et dans l'étape de validation croisée (rouge) ; quand PLS est appliqué sur les données spectrales dérivée dans la zone 3100-920 cm^{-1} .

La linéarité du modèle PLS est bien vérifiée (Figure II.IV.2). Tous les échantillons sont (calibration et validation croisée totale) localisés le long de la ligne de calibration.

Une faible valeur de R^2_c dans l'étape de calibration va servir comme indicateur d'une faible capacité prédictive d'un modèle, alors qu'une valeur proche de 1 de R^2_c n'implique pas

automatiquement une forte capacité prédictive du modèle. Un coefficient de détermination (R^2_c et R^2_p) proche de 1, est une condition nécessaire mais pas suffisante [11-12].

Il n'est pas possible de savoir a priori lequel des modèles donneront les meilleurs résultats de prédiction et robustesse. La solution est de tester de manière systématique les différents modèles sur un lot d'échantillons externe (validation externe) et de sélectionner celui donnant l'erreur de prédiction la plus faible.

III.3. Validation externe

Les modèles de calibration obtenus ont été appliqués sur trois groupes d'échantillons de validation externe. Ces trois groupes sont composés de 10, 13 et 14 échantillons respectivement. Les résultats de la validation externe sont résumés dans le tableau II.IV.2.

Tableau II.IV.2 : Paramètres statistiques obtenus par PLS modélisations du saccharose ajouté au lait, lors de la validation externe.

Validation externe du saccharose ajouté au lait par PLS							
Modèle	LVs	R^2_p	RMSEP (g/L)	RE%	LOD (g/L)	Zone spectrale	Prétraitement
Val 1	2	0,998	0,50	5,0	1,51	3100-920 ^a	S.Golay 1 st
	2	0,998	0,45	4,5	1,34	1800-920 ^a	Dérivée
Val 2	2	0,997	0,57	7,3	1,70	3100-920 ^a	S.Golay 1 st
	2	0,997	0,42	5,4	1,25	1800-920 ^a	Dérivée
Val 3	2	0,995	0,45	7,8	1,34	3100-920 ^a	S.Golay 1 st
	2	0,997	0,45	5,6	1,34	1800-920 ^a	Dérivée
Moyen de trois validations	2	0,997±0,001	0,506±0,059	6,712±1,499	1,52±0,177	3100-920 ^a	S.Golay 1 st
	2	0,997±0,001	0,438±0,018	5,144±0,605	1,31±0,053	1800-920 ^a	Dérivée

RMSEP est l'erreur lié à la prédiction (validation externe); R^2_p est le coefficient de détermination de prédiction (validation externe); RE% est l'erreur relative de prédiction en % ; LOD est la limite de détection en g/l ;

^a zone spectrale exploitée ;

Les modèles PLS ont été testés sur trois ensembles externes de données. Sur le tableau ci-dessus, les R^2_p , ER%, LOD et RMSEP sont variables en fonction des prétraitements utilisés et de la zone spectrale utilisée.

Dans les trois tests de validations, les erreurs de prédiction (RMSEP) varient de 0,417 à 0,566 g/L et les erreurs relatives de prédiction (ER%) varient de 4,46 à 7,849. Ainsi, les coefficients de détermination (R^2_p) sont compris entre 0,995 et 0,998, alors que les limites de détection (LOD) sont comprises entre 1,25 et 1,70 g/L.

Le meilleur modèle PLS (avec ER en%, LOD les plus faibles), a été établi avec les données spectrales MIR dans la zone de 1800 à 920 cm^{-1} (tableau II.IV.3) avec la première dérivée de Savitsky Golay comme prétraitement.

Tableau II.IV.3 : Paramètres statistiques obtenu par PLS modélisations données MIR dans la gamme spectrale de 1800 à 920 cm^{-1} avec la première dérivée de Savitsky Golay comme prétraitement.

Validation externe du saccharose ajouté au lait par PLS					
Modèles	LVs	R^2_p	RMSEP	RE%	LOD
Val 1	2	0,998	0,45	4,5	1,34
Val 2	2	0,997	0,42	5,4	1,25
Val 3	2	0,997	0,45	5,6	1,34
Moyen de trois validations	2	0,997±0.001	0,440±0,017	5,167±0,586	1,310±0,052

Sur le tableau ci-dessus, la première validation externe (Val 1) a donné un coefficient de détermination (R^2_p) de l'ordre de 0,998, une erreur de prédiction (RMSEP) de l'ordre de 0,45 g/l, une erreur relative de prédiction (RE%) égale à 4,5% et une limite de détection (LOD) égale à 1,34 g/l. La seconde validation (Val 2) a donné un R^2_p de l'ordre de 0,997, un RMSEP est égale à 0,42 g/l, une RE% de l'ordre de 5,4% et une LOD est égale à 1,25 g/l. Ainsi que, la troisième validation (Val 3) a donné un R^2_p de 0,997, RMSEP de l'ordre de 0,45 g/l, une RE% égale à 5,6% et la LOD est égale à 1,34 g/l.

La moyenne de ces trois validations en terme de R^2_p est égale à 0,997±0.001, en terme de RMSEP est égale à 0,440±0,017, le RE% est égale à 5,167±0,586, et la LOD est égale à 1,310±0,052 g/l.

Les coefficients de détermination de prédiction sont proches de 1, ce qui indique une forte corrélation entre les valeurs de référence et les valeurs du saccharose ajouté au lait prédites

par SMIR. Ainsi que, la linéarité du modèle PLS préétabli est bien vérifiée. Les figures II.IV.3, II.IV.4 et II.IV.5 représentent les valeurs prédites par le modèle PLS en fonction des valeurs de référence dans l'étape de validation externe.

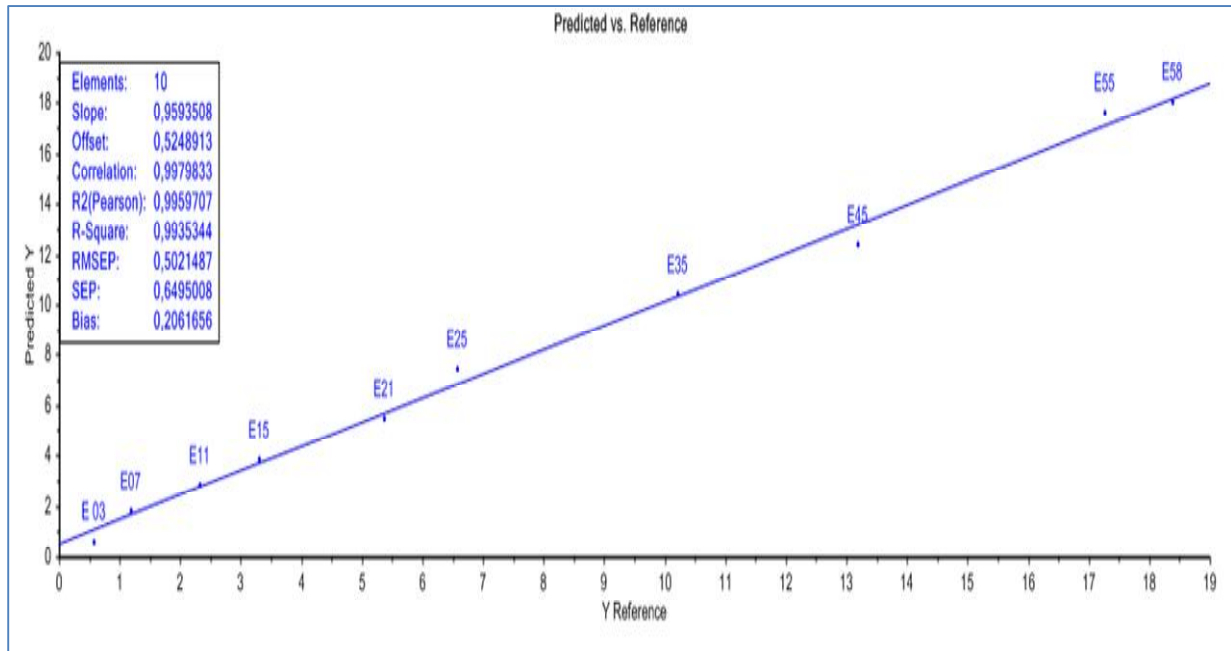


Figure II.IV.3 : Valeurs de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de validation externe (Val 1).

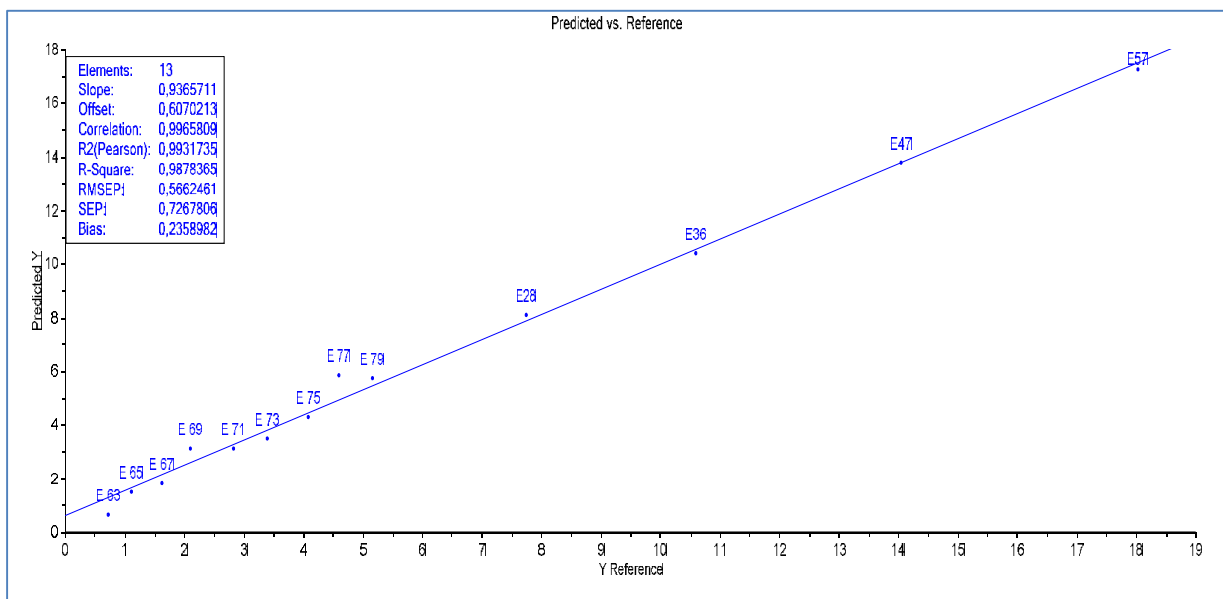


Figure II.IV.4 : Valeur de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de validation externe (Val 2).

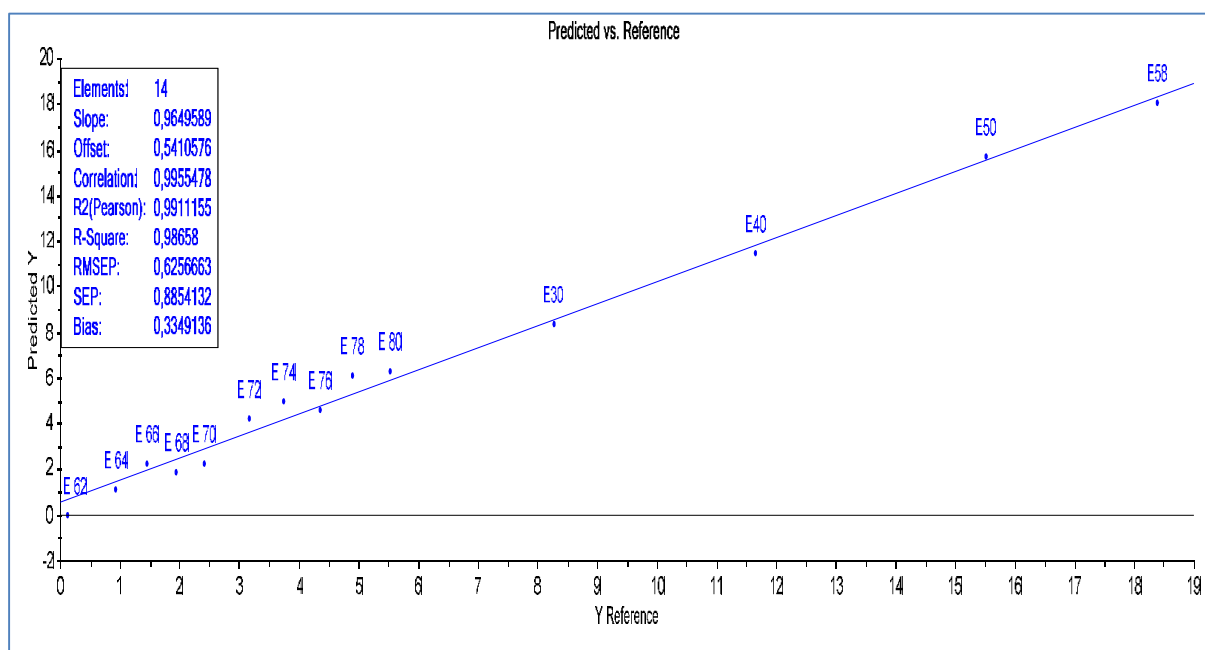


Figure II.IV.5 : Valeur de référence vs prédites du saccharose ajouté au lait dans l'étape de validation externe (Val 3).

Sur les trois figures ci-dessus, la linéarité du modèle PLS est bien vérifiée, avec tous les échantillons (Etalonnage et validation externe) sont localisés le long de la ligne de calibration. Les valeurs prédites et les valeurs de référence sont présentées dans le tableau II.IV.4.

Tableau II.IV.4 : Comparaison des valeurs de références vs prédites des modèles de tests de validation externe.

PLS/1800-920 cm ⁻¹								
Val 1			Val 2			Val 3		
Ref.	Predi.	Ecart	Ref.	Predi.	Ecart	Ref.	Predi.	Ecart
0,58	-0,0219	0,6019	7,746	8,2919	-0,5459	8,281	8,8183	-0,5373
1,187	0,8426	0,3444	10,589	10,9666	-0,3776	11,646	11,8534	-0,2074
2,332	2,2809	0,0511	14,052	13,9722	0,0798	15,511	15,1931	0,3179
3,3	3,5475	-0,2475	18,035	17,4278	0,6072	18,388	17,7281	0,6599
5,36	5,8712	-0,5112	0,732	0,0478	0,6842	0,126	-0,8131	0,9391
6,578	7,1659	-0,5879	1,111	0,6779	0,4331	0,925	0,3479	0,5771
10,221	10,5659	-0,3449	1,619	1,3146	0,3044	1,455	1,1182	0,3368
13,191	13,1754	0,0156	2,104	1,8999	0,2041	1,942	1,722	0,22
17,264	16,7228	0,5412	2,833	2,9075	-0,0745	2,41	2,3723	0,0377
18,388	17,7281	0,6599	3,394	3,6186	-0,2246	3,168	3,2992	-0,1312
			4,083	4,4234	-0,3404	3,738	4,0316	-0,2936
			4,591	5,0294	-0,4384	4,358	4,6637	-0,3057
			5,174	5,7162	-0,5422	4,89	5,3193	-0,4293
						5,523	5,9521	-0,4291

Sur le tableau II.IV.4, l'écart entre les valeurs prédites et les valeurs de références pour le modèle PLS pour la première validation externe (val 1) varie de -0,5879 à 0,6599, varie de -0,5459 à 0,6842 pour la seconde (val 2) et varie de -0,5373 à 0,9391 pour la troisième (val 3).

Les écarts obtenus des trois validations externes (qui sont séparés dans le temps) prouvent la reproductibilité du modèle de calibration préétabli.

IV. Conclusion

Dans ce travail, nous avons établi un modèle prédictif en utilisant la méthode FT-MIR couplé à la PLS capable de détecter l'adultération du lait par ajout du saccharose. L'effet est lié à l'absorption du saccharose dans le spectre MIR. Il est suggéré que ce phénomène peut être exploité afin de détecter l'adultération du lait.

Les résultats de la prédiction obtenue en utilisant la technique de régression PLS ont donné de bonnes estimations des quantités de saccharose ajouté au lait, avec des erreurs relatives de $5,167 \pm 0,586$ g/l et une limite de détection est de $1,31 \pm 0,052$ g/l dans la gamme spectrale entre 1800 et 920cm^{-1} .

Cette étude montre que la spectroscopie FT-MIR couplée à la PLS, est une méthode adéquate pour l'analyse de la quantification de saccharose ajoutée dans des échantillons de lait cru sans prétraitement de l'échantillon. Globalement, la performance du modèle PLS préétablit est très prometteuse, reproductible et robuste.

La méthode analytique développée dans cette étude pourrait être utilisée dans l'industrie laitière pour le contrôle rapide des fraudes par ajout du saccharose, puisque les spectres sont acquis directement à partir des laits fraudés sans aucun prétraitement préalable. Cette technique peut être facilement adaptée à l'analyse de routine dans l'industrie laitière, surtout que, ces pratiques d'ajout du saccharose deviennent de plus en plus pratiquées par les fraudeurs.

V. Références

- [1] Xiaofang P. and Annuradha T. The China melamine milk scandal and its implications for food safety regulation. *Food Policy*, 36 (2011) 412–420.
- [2] Ferreira H. Detection and quantification of bovine, ovine and caprine milk percentages in protected denomination of origin cheeses by reversed-phase high-performance liquid chromatography of beta-lactoglobulins. *J. Chromatogr. A*, 1015 (2003) 111-118.
- [3] <http://www.magazine-histoire.com/present/index.htm>. Fraudeurs de lait en 1742. *Le Magazine de la petite histoire de France*, NUMÉRO 16 (2005).
- [4] Reid L.M., Woodcock T., O'Donnell C.P., Kelly J.D. and Downey G. Differentiation of apple juice samples on the basis of heat treatment and variety using chemometric analysis of MIR and NIR data. *Food Research International*, 38 (2005) 1109–1115.
- [5] Moros J., Iñón F.A., Garrigues S., Khanmohammadi M. and De la Guardia M. Evaluation of the application of attenuated total reflectance–Fourier transforms infrared spectrometry (ATR–FTIR) and chemometrics to the determination of nutritional parameters of yogurt samples. *Anal Bioanal Chem*, 385 (2006) 708–715.
- [6] Koca N., Kocaoglu-Vurma N.A., Harper W.J. and Rodriguez-Saona L.E. Application of temperature-controlled attenuated total reflectance-mid-infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration. *Food Chemistry*, 121 (2010) 778-782.
- [7] Rodríguez N., Ortiz M.C., Sarabia L., Gredilla E. Analysis of protein chromatographic profiles joint to partial least squares to detect adulterations in milk mixtures and cheeses. *Talanta*, 81 (2010) 255-264.
- [8] Geladi P. and Kowalski B. Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185 (1986) 1–17.
- [9] Faber N.M., Duewer D.L. and Chesler S.N. Characterizing the uncertainty in near infrared spectroscopic prediction of mixed-oxygenate concentrations in gasoline: sample-specific prediction intervals. *Anal. Chem*, 70 (1998) 2972-2982.
- [10] Grappin R., Lefier D. and Mazerolles G. Analyse du lait et des produits laitiers. In D. Bertrand, & E Dufour (Eds.), *La Spectroscopie Infrarouge et ses Applications Analytiques*, Chapter 21 (2000) 497-540.
- [11] Golbraikh A. and Tropsha A. Beware of q². *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20 (2002) 269 –276.
- [12] Kubinyi H., Hamprecht A. and Mietzner F. Three-dimensional quantitative similarity–activity relationships (3D QSAR) from SEAL similarity matrices. *J. Med. Chem*, 41 (1998) 2553–2564.

CONCLUSION GENERALE

La combinaison de deux techniques originales, la spectroscopie infrarouge et la chimiométrie, pourrait être utilisée comme alternative aux méthodes classiques existantes de dosage du lait et ses dérivés. La validation de ces méthodes s'est faite par la validation externe en se basant sur des données spectrales réelles issues des échantillons inconnus.

La qualité nutritionnelle du lait cru de différentes régions du Maroc varie entre coopératives et entre fermes, selon les périodes. Concernant les fermes, Cette variabilité est légèrement marquée dans la même période, dûe aux conditions similaires d'élevage adoptées. Dans la même période, la qualité du lait des fermes est très bonne par rapport à celle du lait des coopératives (en comparant l'ESD, la MG et le TP).

L'analyse en composantes principales (ACP) a permis d'explorer la variabilité entre les différentes régions, ainsi que, les facteurs pouvant affecter la teneur du lait en MG, ESD et TP. Le facteur saison a été le plus marqué avec des taux de contributions les plus élevés. En générale, les teneurs en MG, en ESD et en TP du lait des coopératives varient d'une manière plus importante, comparées à celles des fermes. Un effet période (temps) est également observé, l'autre paramètre restant, « coopérative » ou « ferme » a une influence d'une manière concrète sur la qualité nutritionnelle du lait.

La technique développée, dans ce travail, pour classer les laits et les beurres de différentes régions du Maroc a permis de séparer en quatre classes les échantillons des laits et en trois classes ceux des beurres selon leurs origines. Cette méthode est basée sur l'application de l'analyse en composantes principales (ACP) et la méthode de régression des moindres carrés partiels discriminante (PLS-DA) sur les données du moyen infrarouge. Le modèle préétabli est ensuite utilisé pour prédire l'origine de nouveaux échantillons avec exactitude.

Les modèles préétablis ont donné des résultats satisfaisants en comparant les erreurs de calibrations (RMSEC et RMSEC_v) et les erreurs de prédiction (RMSEP). Le bon modèle discriminant prédictif, obtenu par PLS-DA, pour les spectres FT-MIR des échantillons du lait et du beurre, issus de différentes régions marocaines, prouve l'utilité de cette technique développée pour une caractérisation et une classification rapide des laits et des beurres en

fonction de leur origine géographique, pour élaborer un modèle de reconnaissance des échantillons du lait et du beurre.

De même, l'application développée par les données spectroscopiques FT-MIR et par les méthodes chimiométriques (PLS et SVM), est mise en place pour élaborer un modèle reliant la concentration d'extrait sec dégraissé (ESD) aux spectres. Dans cette étude, l'influence du domaine spectral, des méthodes de prétraitement et des méthodes de régression sur l'erreur de prédiction ont été étudiées.

Le meilleur modèle PLS d'étalonnage a été réalisé dans le domaine 1800-920 cm^{-1} avec les données centrées. Alors que, le meilleur modèle SVM est celui élaboré dans le domaine 1800-920 cm^{-1} et qui utilise des données brutes (sans prétraitement).

La teneur en ESD du lait est donc déterminée par SMIR couplée aux méthodes chimiométriques de manière satisfaisante et sa prédiction est robuste, ainsi les résultats sont comparables à la méthode chimique de référence.

Enfin, la méthode FT-MIR couplée à la PLS est appliquée pour déterminer quantitativement le saccharose ajouté au lait. L'application analytique développée nous a permis d'établir un modèle prédictif, capable de détecter l'adultération du lait par ajout du saccharose. Les résultats de la prédiction obtenus en utilisant la technique de régression PLS ont donné de bonnes estimations du saccharose ajouté au lait, avec des erreurs relatives de $5,167 \pm 0,586$ g/l et une limite de détection de $1,31 \pm 0,052$ g/l sur des données traitées par la première dérivative S.Golay dans la gamme spectrale entre 1800 et 920 cm^{-1} .

Ces travaux montrent que la spectroscopie FT-MIR couplée à la PLS, est une méthode adéquate pour l'analyse de la quantification de saccharose ajouté dans des échantillons de lait cru sans prétraitement de l'échantillon précédent. En effet, les activités menées au cours de ce travail nous ont permis de présenter les méthodes et les traitements applicables aux spectres de FT-MIR. En effet, comme ces spectres contiennent un très grand nombre de variables, les informations fournies ne peuvent pas être extraites directement sans traitement préalable bien adapté.

Nous avons prouvés que les techniques spectroscopiques couplées aux outils chimiométriques permettent de développer des méthodes rapides, non destructives et moins coûteuses. Le

développement d'une analyse fiable et moins coûteuse est plus demandée, pour répondre, d'une part, aux besoins de l'industrie laitière, et d'autre part, aux exigences des consommateurs et remplacer les méthodes chimiques. Ainsi, cette technique peut être facilement adaptée à l'analyse de routine dans l'industrie laitière.

En perspective, l'étude pourrait s'orienter vers l'analyse des caractéristiques organoleptiques représentatives de différents territoires, dans la recherche d'une authenticité des laits et beurres. De même, la mise en place d'un système de valorisation et de protection des dénominations géographiques des laits et beurres. Il est aussi envisageable d'étudier d'autres constituants du lait et étudier d'autres aspects de fraude par spectroscopie infrarouge combinée aux méthodes chimiométriques.