

LA SPECTROSCOPIE PROCHE INFRAROUGE, UNE AIDE AU CONSEIL DE FUMURE

Renneson¹ M., Mariage² C., Genot³ V., Colinet² G.

1. Centre Provincial de l'Agriculture et de la Ruralité – 17, rue St Nicolas, B-1310 La Hulpe – malorie.renneson@brabantwallon.be

2. Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech – Département BIOSE – Axe Echanges Eau-Sol-Plante – 2, Passage des Déportés – B-5030 Gembloux – clemence.mariage@ulg.ac.be

3. ASBL CPL-PROMOGEST - Laboratoires de la Province de Liège – Rue de Dinant, 110 – B 4557 Tinlot-Scryspaa@provincedeliege.be

1. Contexte

Cinq laboratoires provinciaux d'analyse de sols et de produits agricoles coexistent au Sud de la Belgique (Wallonie) au sein d'un réseau appelé REQUASUD (www.requasud.be). Ce réseau, financé par le Service Public de Wallonie, travaille depuis de nombreuses années à l'harmonisation des méthodes d'analyse, à l'amélioration du conseil de fumure, au développement d'outils de gestion des données et à la mise en routine de nouvelles méthodes d'analyse de terre. Il est encadré par un laboratoire de référence (Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech, Axe Echanges Eau-Sol-Plante).

Les analyses de terre représentent environ 15 000 échantillons par an au sein du réseau ; elles sont centralisées dans une base de données commune. Dans le contexte actuel, les agriculteurs doivent maintenir la qualité des sols, comme outil de production et pour leurs fonctions environnementales, tout en limitant les apports d'intrants et indirectement les coûts. Il est dans ce cadre primordial de disposer d'un conseil de fumure le plus précis possible pour éviter les excès de fertilisation. Malgré leur importance dans le menu d'analyse du sol nécessaire à l'élaboration d'un diagnostic et d'un conseil de fumure pertinent, certaines propriétés sont rarement analysées en routine en raison de leur coût ou du temps d'analyse qu'elles nécessitent. C'est notamment le cas de la capacité d'échange cationique (CEC) qui est un paramètre important dans l'interprétation des teneurs en potassium, magnésium et calcium mais dont l'analyse n'est demandée qu'une fois sur 100 en moyenne par les agriculteurs.

Au vu de ces considérations et dans la volonté de disposer d'un conseil de fumure personnalisé, des recherches ont été menées depuis plusieurs années pour étudier la faisabilité d'une application en routine de la spectroscopie dans le domaine proche infrarouge (SPIR) pour estimer les propriétés physico-chimiques du sol (Genot et al., 2011, 2014). En effet, cette technique non-destructive ne nécessite qu'une préparation réduite de l'échantillon et offre une grande rapidité de mesure, un faible besoin en matériel, une formation minimale des manipulateurs et permet la détermination simultanée de plusieurs composants (Russel et al., 2002). De plus, aucun extractif chimique n'est utilisé. Ces recherches ont été menées en collaboration entre le réseau REQUASUD, l'Université de Liège-Gembloux-Agro-Bio Tech, le CRA-W et les laboratoires de proximité du réseau REQUASUD.

2. La spectroscopie proche infrarouge

La SPIR est une technique d'analyse basée sur le principe d'absorption des rayonnements infrarouges par la matière. L'intérêt du rayonnement proche infrarouge est qu'il a la particularité de faire vibrer les liaisons chimiques des molécules organiques. C'est ainsi qu'il va y avoir une interaction plus ou moins forte entre le rayonnement proche infrarouge et les liaisons chimiques des molécules des protéines, des matières grasses, des glucides, de l'eau... Les longueurs d'onde correspondant à l'agitation maximale des liaisons et donc à leur absorption par la matière sont spécifiques à ces liaisons et chaque

constituant présente dès lors un spectre d'absorption spécifique dans le proche infrarouge en fonction de sa composition chimique (Figure 1). Bien qu'utilisée depuis de nombreuses années pour les fourrages, par exemple, cette technique a tardé à être utilisée en analyse de sol car les liens fondamentaux entre les mesures chimiques et les propriétés du sol sont complexes. Il est donc difficile de mettre directement en relation une caractéristique physique, chimique ou physico-chimique du sol avec une empreinte spectrale ou une longueur d'onde particulière (Shepherd et Walsh, 2002). C'est ainsi que le spectre est le plus souvent traité dans son intégralité en utilisant des méthodes chimiométriques adaptées comme, par exemple, la régression selon les moindres carrés partiels (PLS).

Un spectromètre proche infrarouge est un appareil permettant d'acquérir le profil spectral des échantillons mesurés à différentes longueurs d'onde. Après interaction avec l'échantillon, la lumière réfléchie est mesurée par un détecteur approprié. Il est donc possible de calculer le pourcentage d'énergie absorbée par l'échantillon et inversement le pourcentage d'énergie réfléchie (on parlera de réflectance) ou transmise (on parlera de transmittance) par l'échantillon à chaque longueur d'onde. Ce pourcentage est fonction de la nature et de la concentration des différents constituants ainsi que l'état physique de l'échantillon (taille des agrégats, humidité...). Le profil spectral d'un échantillon est représenté graphiquement sous la forme de ce qu'on appelle communément un spectre proche infrarouge (Figure 1). L'axe des abscisses correspond aux différentes longueurs d'ondes (exprimées en nm), et l'axe des ordonnées correspond à la mesure de l'absorbance, c'est-à-dire au logarithme de l'inverse de la réflectance ($A = \text{Log } 1/R$) ou de la transmittance ($A = \text{Log } 1/T$).

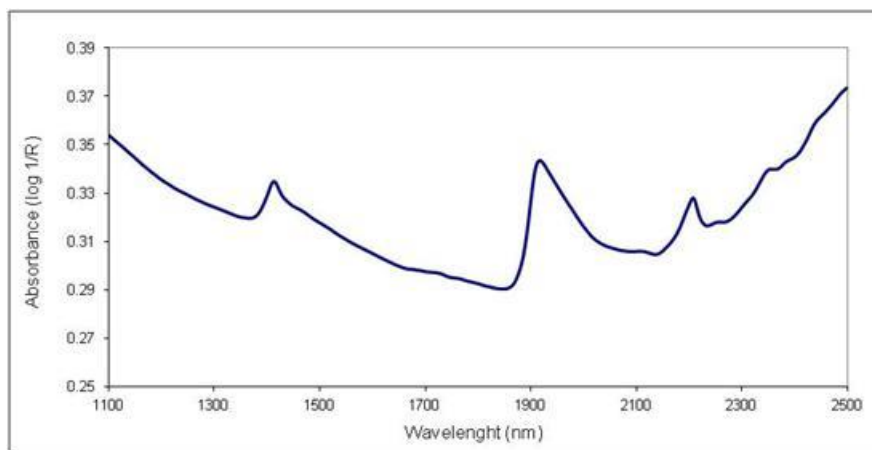


Figure 1 - Exemple d'un spectre infrarouge d'un échantillon de terre séchée, émottée et tamisée à 2 mm

Cette technique présente les avantages d'être rapide, de nécessiter peu de matériel, de permettre une formation minimale des manipulateurs, d'être non-destructive et de ne pas générer de déchets.

3. Développement de la SPIR pour les sols au sein du réseau REQUASUD

L'utilisation en routine de la spectroscopie proche infrarouge dans les laboratoires nécessite au préalable son développement qui passe par la création d'une base de données de spectres de référence. Ces étapes sont généralement longues et coûteuses.

3.1. Elaboration d'un protocole de préparation et scan des échantillons

Préalablement à la création d'une base de données spectrale, un protocole de préparation des échantillons a été élaboré. Ce protocole définit la procédure de broyage des échantillons, de remplissage des coupelles et de passage de celles-ci dans le spectromètre ; cette procédure étant d'application tant pour les phases de calibrage et de validation que pour le travail en routine dans les laboratoires.

La méthodologie adoptée se veut robuste, indépendante de la nature de l'échantillon, de l'opérateur et reproductible dans le temps. Pour rester au plus près du travail de routine et après étude bibliographique, il a été décidé de travailler avec les échantillons séchés, émottés et tamisés à 2 mm. Plusieurs techniques de remplissage des coupelles ont été testées et les résultats de Genot et al.(2011) montrent que celles-ci ne sont pas équivalentes. Une méthode commune de remplissage de coupelles (une pour sols secs et une pour sols frais) a été adoptée par tous les laboratoires du réseau pour éliminer cette source de biais.

3.2. Développement d'une méthode de prédiction

La prédiction par SPIR repose sur la mise en place d'une base de données spectrale de référence à travers une série d'étapes (Figure 2) :

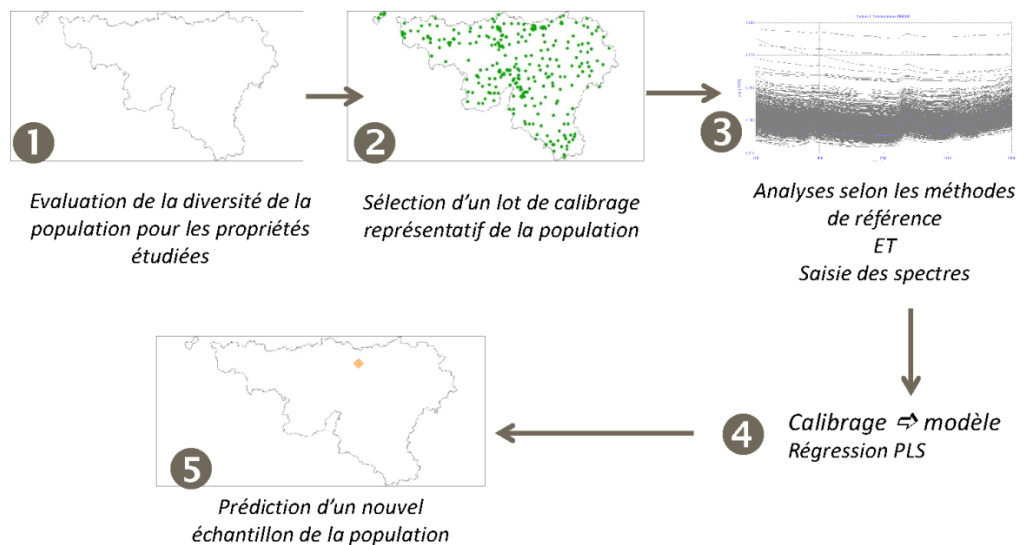


Figure 2 - Etapes de calibration de la spectroscopie proche infrarouge

- 1) Evaluation de la diversité de la population pour les différents paramètres analytiques étudiés : une étude de la diversité des sols rencontrés sur le territoire wallon et de leurs caractéristiques analytiques a été réalisée sur base de la Carte Numérique des Sols de Wallonie et des bases de données analytiques existantes (Genot, 2006).
- 2) Sélection d'un lot d'échantillons de terre représentatifs de cette diversité : mille trois-cents échantillons de terre, représentatifs de la diversité pédologique du territoire wallon, ont ainsi été sélectionnés, prélevés, séchés, émottés et tamisés à 2 mm.
- 3) Analyse des échantillons : les différents échantillons sont scannés en double selon le protocole défini pour la SPIR et analysés chimiquement au laboratoire selon les méthodes de référence (Springler-Klee pour le carbone organique total, Kjeldhal pour l'azote total, Metson pour la capacité d'échange cationique, De Leenheer pour le pourcentage d'argile...).
- 4) Calibrage : élaboration de modèles prédictifs sur base des spectres et des analyses de référence.

Des comparaisons entre différents prétraitements des spectres ainsi qu'entre des méthodes de régression par moindres carrés partiels (PLS) locales vs globales ont été réalisées. Quinze prétraitements des spectres ont été comparés préalablement à la régression PLS. Ensuite, une approche en mode local, utilisant également le principe de la régression PLS, a été testée et comparée aux modèles obtenus selon la régression classique. La régression locale utilise le critère de similarité entre les spectres (basée sur leurs corrélations) pour sélectionner les spectres les plus proches de l'échantillon à prédire et établir une équation de régression uniquement sur base de ces spectres. Contrairement à la régression PLS classique ou globale, il n'y a pas une équation obtenue au terme de la phase de calibrage mais une base de données spectrale avec des critères bien définis pour sélectionner les spectres et développer une

nouvelle équation pour chaque nouvel échantillon à prédire. Cette technique permet notamment de tenir compte de la non-linéarité de la relation entre la réflectance aux différentes longueurs d'onde et la propriété du sol à prédire.

Un lot indépendant a été utilisé pour la validation. Les critères retenus pour évaluer la qualité des modèles établis sont notamment : l'erreur standard de validation croisée (SECV), l'erreur standard de prédiction (SEP), le coefficient de corrélation (r^2), le RPD qui représente le rapport entre l'écart-type de la population et le SEP ainsi que le coefficient de variation (CV). Le RPD permet de qualifier les modèles obtenus en considérant trois catégories principales (Chang et al., 2001) : (1) $RPD \geq 2$ signifiant que le paramètre étudié est bien prédit par la technique, (2) $1,4 \leq RPD < 2$ signifiant qu'il est possible de prédire cette propriété du sol par SPIR moyennant une amélioration des modèles et (3) $RPD < 1,4$ signifiant que le modèle prédit mal le paramètre.

Les résultats, tant en terme de SEP que de RPD, ont permis de conclure que la qualité de la prédiction était nettement meilleure pour les modèles locaux et que le fait de travailler sur la corrélation entre les spectres améliore également la qualité de prédiction.

Une évaluation de la répétabilité et la fidélité intermédiaire de la méthode a également été réalisée et l'on constate que la technique infrarouge est au moins aussi fidèle que les méthodes de référence et que, comparativement à l'erreur standard de prédiction, la part d'erreur liée à la fidélité est très faible.

3.3. Exploitation en routine à l'échelle du réseau

La dernière étape a consisté à déployer la technique pour un usage en routine dans les différents laboratoires. L'objectif visé est de scanner par SPIR systématiquement tout nouvel échantillon et à ne plus analyser chimiquement que ceux qui ne sont pas correctement prédits par les modèles.

Lorsqu'un échantillon est scanné dans un laboratoire, en fonction du paramétrage défini pour le mode local, une sélection des échantillons les plus proches spectralement est effectuée et le modèle prédit quatre propriétés physico-chimiques : les teneurs en carbone organique total (COT), en azote total (NT), la capacité d'échange cationique (CEC) et le pourcentage d'argile. Des valeurs de GH et de NH, deux paramètres qui permettent de juger de la qualité de la prédiction, sont associées à chaque prédiction et indiquent la distance mathématique entre le spectre et l'ensemble des spectres de la base de données sélectionnés pour la prédiction. Si ces paramètres ne répondent pas aux critères définis par le réseau ($GH < 3$ et $NH < 1$), l'échantillon est analysé selon les méthodes de référence.

La prédiction suit le schéma de la Figure 3.

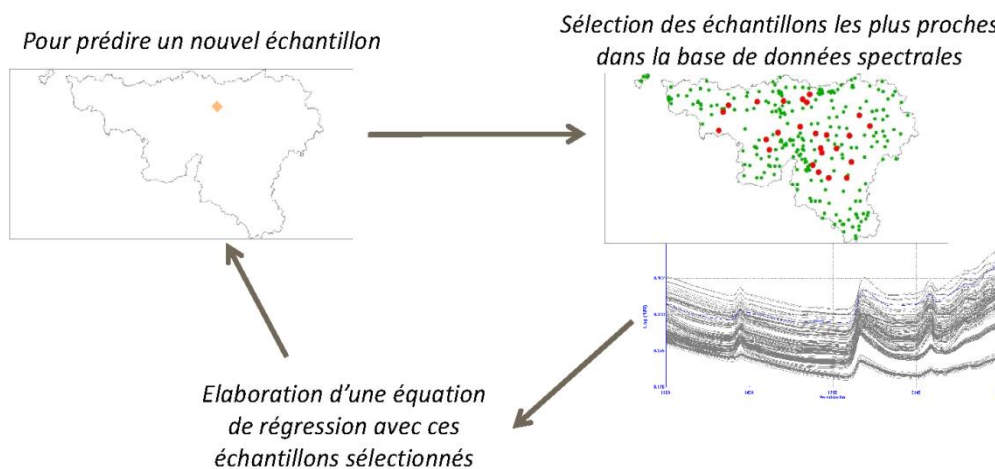


Figure 3 - Prédiction d'un nouvel échantillon selon le modèle PLS local

Tous les laboratoires sont équipés d'un spectromètre proche infrarouge (XDS) qui leur permet de scanner environ 120 échantillons de terre par jour et par technicien. Les différents appareils sont calibrés une fois par an afin de s'assurer de la cohérence des spectres.

La base de données spectrale est centralisée au niveau du Centre Wallon de Recherches Agronomiques et les laboratoires travaillant en mode local y sont connectés en permanence. Ils peuvent ainsi, en routine, prédire les quatre paramètres étudiés sur les échantillons de terre provenant des sols agricoles. Les appareils communiquent en direct avec la base de données, de manière à en utiliser systématiquement la dernière version. Depuis le transfert de la base de données spectrale et des modèles de prédiction, les laboratoires d'analyse de terre sont effectivement en mesure d'utiliser la technique en remplacement ou en complément des méthodes d'analyses traditionnelles.

3.4. Amélioration continue de la base de données

Les valeurs analytiques obtenues par les méthodes classiques pour les échantillons non prédits sont introduites dans la base de données spectrale avec les spectres associés pour compléter celle-ci, la diversifier et *in fine* améliorer les prédictions au fil du temps.

4. Utilisation actuelle de la SPIR dans les laboratoires du réseau REQUASUD

Les laboratoires du réseau REQUASUD ont été parmi les premiers dans le monde à utiliser l'infrarouge en routine pour estimer les propriétés physico-chimiques des sols à l'échelle de toute une région. A partir de 2011, le laboratoire provincial de Tinlot a commencé à utiliser la technique en routine. Depuis, d'autres laboratoires du réseau ont suivi l'exemple et scannent les échantillons avant leur analyse classique au laboratoire.

Quatre paramètres sont actuellement prédits sur les échantillons de sols secs : la capacité d'échange cationique (CEC), le carbone organique total (COT), l'azote total (NT) et le taux d'argile. Une norme sur la prédiction de la teneur en carbone organique total et de l'azote total par spectroscopie proche infrarouge (ISO 17184, 2014) est d'ailleurs sortie en 2014, ce qui traduit l'intérêt des laboratoires pour cette méthode alternative.

Actuellement, la qualité de la prédiction est comparable pour certains paramètres à la précision analytique au laboratoire. Ainsi, pour le carbone organique total, l'écart-type de prédiction (SEP) obtenu est de 0,12 g/100g pour les cultures. Par comparaison, l'écart-type robuste considéré dans les essais interlaboratoires du BIPEA varie de 0,07 à 0,18 g/100g pour les essais de 2016.

Afin d'améliorer les performances des équations, la base de données relative aux sols secs a été scindée en 3 bases spécifiques (prairies, cultures et potagers). Les modèles relatifs aux prairies et aux cultures présentent des niveaux de performance similaires (Tableaux 1 et 2).

Outre la prédiction sur sol sec, une base de données a été constituée pour estimer les paramètres sur sols humides. Contrairement aux sols secs, des coupelles rondes sont utilisées sous presse hydraulique. Cette base de données a pour but de prédire les taux de carbone, d'humidité et d'argile pour les échantillons prélevés dans le cadre d'une analyse de nitrates. Cette procédure permet de s'affranchir des étapes de séchage et de tamisage. Bien que cette base de données soit actuellement moins fournie que celle sur sol sec, les résultats semblent encourageants.

En 2012, on estimait qu'environ 70% des terres sous culture ou sous prairie étaient correctement prédites par la spectroscopie proche infrarouge pour le carbone organique total. Actuellement, le carbone est correctement prédit dans 89% des cultures et 85% des prairies. Ces valeurs démontrent l'évolution de la base de données et de la qualité de la prédiction. Ces statistiques indiquent que d'ores et déjà, la technique infrarouge permet de fortement diminuer le nombre d'analyses en laboratoire et les pollutions engendrées par les réactifs. Actuellement, la base de données est constituée de plus de 18 000 valeurs pour le carbone. Ainsi, au fil des ans, cette base s'est étoffée grâce au travail conjoint des laboratoires, de manière à couvrir au maximum la diversité des sols rencontrés.

Tableau 1 - Performances des équations d'étalonnage pour les sols de prairie (Minet et al., 2016)

Paramètres	N	R ²	SEC	RPD
Carbone organique total (%)	8849	0.91	0.49	3.4
Capacité d'échange cationique (meq/100g)	855	0.85	3.15	2.6
Azote total (g/kg)	1077	0.82	0.59	2.4
Argile (%)	210	0.82	4.12	2.3

N = nombre de spectres dans la base de données, R² = coefficient de détermination ; SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

Tableau 2 - Performances des équations d'étalonnage pour les sols de culture (Minet et al., 2016)

Paramètres	N	R ²	SEC	RPD
Carbone organique total (%)	10139	0.93	0.21	3.8
Capacité d'échange cationique (meq/100g)	1228	0.81	2.47	2.3
Azote total (g/kg)	3240	0.92	0.25	3.6
Argile (%)	575	0.84	4.08	2.5

N = nombre de spectres dans la base de données, R² = coefficient de détermination ; SEC = erreur standard d'étalonnage, RPD = Ecart-type/SEC

5. Conclusion et perspectives

La spectroscopie proche infrarouge est une technique efficace pour prédire certains paramètres rapidement et à moindre coût dans les laboratoires d'analyses de terre. Cette technique vient directement en remplacement ou en complément des analyses de routine. Elle trouve tout son intérêt pour réaliser un conseil de fumure personnalisé et précis. En effet, cette technique permet notamment de prédire la capacité d'échange cationique, paramètre rarement analysé mais qui présente un intérêt dans le conseil de fumure potassique et magnésien.

Bien que longue à mettre en place, du fait d'une importante phase de calibration nécessaire, la SPIR présente tout son intérêt par la suite. Utilisée actuellement en routine dans certains laboratoires wallons, elle permet d'atteindre des précisions quasiment équivalentes à celles des mesures classiques. Cette technique a pu se développer en Région wallonne du fait de l'existence du réseau de laboratoires REQUASUD.

La liste des paramètres estimables par la spectroscopie proche infrarouge est encore limitée actuellement. Seules les analyses du COT, de NT, de la CEC, de l'argile et de l'humidité donnent des résultats satisfaisants actuellement. La SPIR n'a donc pas pour vocation de remplacer les analyses classiques de terre mais bien de permettre d'élargir le panel d'analyses proposé et de disposer plus facilement de paramètres habituellement mal connus.

Cette technique évolue cependant au fil du temps et évoluera encore suite au développement méthodologique et à l'acquisition de couples « spectre-analyse de référence » pour des paramètres peu mesurés. Ainsi, les développements récents ont porté sur la prédiction de l'humidité résiduelle, du carbone et du taux d'argile directement sur un sol frais non conditionné.

En outre, d'autres recherches sont menées en Wallonie pour estimer les différentes fractions de la matière organique par spectroscopie proche infrarouge. Ce type de fractionnement étant très long et compliqué à réaliser en routine, la SPIR pourrait être un outil de prédiction intéressant pour affiner les diagnostics relatifs à la qualité des matières organiques des sols. Cependant, avant de pouvoir être mis en application en routine, des études plus approfondies sont nécessaires ainsi que l'acquisition d'un plus grand nombre de mesures.

Enfin, des réflexions et des tests de comparaison sont actuellement en cours pour savoir s'il est nécessaire ou non de scinder la base de données lorsque de nouvelles méthodes d'analyse de référence apparaissent. C'est ainsi le cas pour la détermination de la capacité d'échange cationique. La base de données initiale a été créée à partir de la méthode Metson. Depuis, les laboratoires ont adopté la méthode à la cobalthexamine. Or, par leur nature, ces méthodes présentent des divergences importantes, en fonction du pH des sols et leur intégration dans le diagnostic de fertilité et le conseil de fumure devra peut-être être repensée.

Références bibliographiques

- Genot V., 2006. Appréhension de la variabilité spatiale et vertical des sols wallons et potentialité de la spectroscopie proche infrarouge. Contribution à l'élaboration d'un conseil de fumure personnalisé, DEA, ULg-GxABT, Gembloux, 70p.
- Genot V., Colinet G., Bock L., Vanvyve D., Reusen Y., Dardenne P., 2011. Near infrared reflectance spectroscopy for estimating soil characteristics valuable in the diagnosis of soil fertility, *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **19**, 117-138.
- Genot V., 2014. *Apport de la pédologie au conseil de fumure personnalisé par l'intégration d'arguments morphospaciaux et physico-chimiques impliquant de nouveaux outils d'analyse : la carte numérique des sols de Wallonie et la spectroscopie proche infrarouge*. Thèse de doctorat. Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, 179p.
- ISO 17184, 2014. Qualité du sol - Dosage du carbone et de l'azote par spectrométrie proche infrarouge (SPIR).
- Minet O. et al., 2016. *La spectrométrie proche infrarouge. Une technologie rapide, précise et écologique pour déterminer la composition et la qualité des produits agricoles et alimentaires*. REQUASUD.
- Russell C.A., Angus J.F., Batten G.D., Dunn B.W. and Williams R.L., 2002. The potential of NIR spectroscopy to predict nitrogen mineralization in rice soils, *Plant and Soil* **247**, 243–252.