

L'utilisation de la spectrométrie dans le proche infrarouge pour l'évaluation de la qualité des fourrages

M. Lila, V. Furstoss

La prédiction de la composition chimique des fourrages par spectrométrie proche infrarouge (SPIR) se généralise dans les laboratoires de service. Il est utile de connaître ses modalités. Cette méthode fiable et rapide présente de larges perspectives d'application.

RESUME

Cette technique basée sur les propriétés d'absorption de la matière organique dans le proche infrarouge permet, par l'exploitation statistique des données spectrales, d'établir des équations de prédiction pour différents constituants à l'intérieur d'une espèce végétale. Quel que soit le type de matériel de mesure utilisé (filtres fixes, filtres oscillants et monochromateur), il est nécessaire de réaliser des équations d'étalonnage. Le niveau de précision est le même que celui des analyses de référence pour les paramètres de la valeur alimentaire (dont la MAT, l'amidon, les glucides solubles et pariétaux, la digestibilité *in vivo* et les UFL ou UFV...). A l'aide des appareils à monochromateur, il est possible d'identifier l'origine des échantillons et de pouvoir leur appliquer les équations d'étalonnage les mieux adaptées.

MOTS CLES

Composition chimique, fourrage, méthode d'estimation, spectrométrie proche infrarouge, valeur alimentaire.

KEY-WORDS

Chemical composition, estimation method, feeding value, forage, near infra-red spectrophotometry.

AUTEURS

I.N.R.A., Station d'Amélioration des Plantes Fourragères, F-86600 Lusignan.

Le BIPEA (Bureau InterProfessionnel d'Etudes Analytiques) a publié en 1996 le guide de l'utilisateur de spectromètres d'absorption dans le proche infrarouge. Il s'adresse aux utilisateurs potentiels ou non, de cette méthode d'analyse et est relativement exhaustif. Nous présentons ici les intérêts de cette technique et ses applications à l'analyse des fourrages.

L'évaluation de la qualité nutritionnelle des aliments, et parmi ceux-ci les fourrages, implique un grand nombre de déterminations analytiques de différents constituants. Les méthodes d'analyse "classiques", souvent utilisées, sont généralement longues à mettre en œuvre et assez complexes. Par exemple, le dosage le plus commun, celui de l'azote organique total par la méthode de Kjeldahl, demande, sans automatisation, plusieurs heures de travail d'un personnel qualifié ; il en est de même de la mise en œuvre de l'application de la digestibilité *in vitro* selon Tilley et Terry.

Devant ces problèmes, des techniques plus simples et surtout plus rapides ont été développées pour les méthodes colorimétriques. La plus ancienne et la plus répandue est celle qui fait appel au flux continu. La robotisation a été appliquée aussi avec succès à des techniques comme la chromatographie en phase liquide ou gazeuse. Malgré l'optimisation de ces techniques, faisant appel à des processus chimiques, un délai relativement long (24-48 h) est nécessaire pour l'obtention d'un résultat d'analyse.

Au cours des quinze dernières années, la spectrométrie dans le proche infrarouge (SPIR) s'est implantée dans de nombreux laboratoires d'analyses de routine. Cette technique d'analyse a l'avantage d'être très rapide, très reproductible, utilisant une faible quantité d'échantillon sans préparation particulière. Toutefois, sa mise en œuvre présente certaines difficultés et impose certaines règles d'utilisation. Les quelques inconvénients rencontrés ne diminuent en rien les nombreux avantages que l'utilisation de cette technique apporte. L'information spectrale obtenue est importante et permet diverses applications.

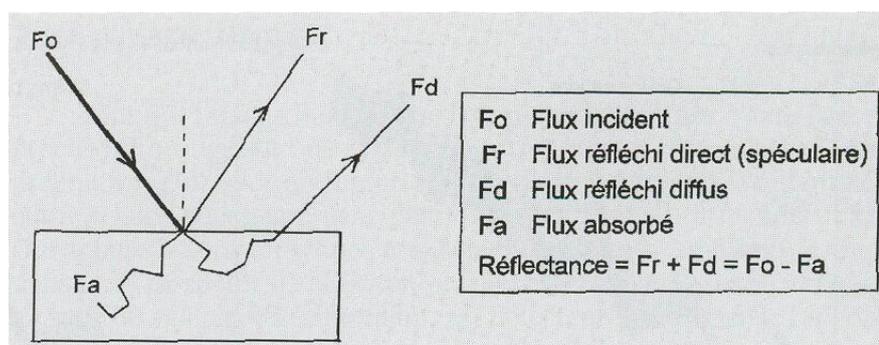
Application analytique de la spectrométrie dans le proche infrarouge

1. Définition et rappels théoriques

Depuis Norris (1961, 1965) qui décrit les premières applications de la SPIR au domaine du végétal, de nombreux auteurs, particulièrement Osborne (1986) et Williams (1987) ont relaté des travaux concernant l'analyse des fourrages. Norris qui est donc le pionnier du développement de cette méthode en donne la définition suivante en 1989 : "La SPIR est une méthode instrumentale basée sur le fait que chacun des composés chimiques majeurs d'un échantillon a une propriété d'absorption dans le proche infrarouge qui peut être utilisée pour différencier un composé parmi d'autres. La sommation de ces propriétés d'absorption combinée avec les propriétés de diffraction de l'échantillon constitue la réflectance diffuse de l'échantillon. Par conséquent, le signal de réflectance dans le proche infrarouge contient une information sur la composition de l'échantillon".

Figure 1 : Trajet des flux lumineux sur échantillon pulvérulent.

Figure 1 : Path of light flows through a powdery sample.



Le domaine spectral du proche infrarouge, situé entre le visible et l'infrarouge moyen, correspond aux longueurs d'ondes comprises entre 800 et 2 500 nanomètres. Dans la pratique du SPIR, la plage spectrale s'étend généralement de 1 100 à 2 500 nanomètres et correspond aux bandes d'absorption des constituants susceptibles d'être dosés dans les produits d'origine végétale ou animale. Ces bandes d'absorption sont des bandes fondamentales des liaisons chimiques telles que C-H, N-H, O-H... dans le moyen infrarouge (une bande par liaison). Et ce sont des bandes harmoniques de ces mêmes liaisons qui sont présentes dans le proche infrarouge (plusieurs bandes pour une même liaison).

L'intensité de ces dernières est plus faible que celle des fondamentales et, de plus, ces bandes se recouvrent plus ou moins. Ces propriétés conduisent à obtenir des pics moins aigus que dans le moyen infrarouge et d'exploitation statistique plus simple. De plus, un léger déplacement de bande, pour une raison non contrôlée, n'aura qu'une faible conséquence sur l'intensité de la lumière absorbée à la longueur d'onde donnée. Il est encore plus facile de trouver des méthodes mathématiques permettant de choisir les longueurs d'onde les plus significatives d'un constituant donné.

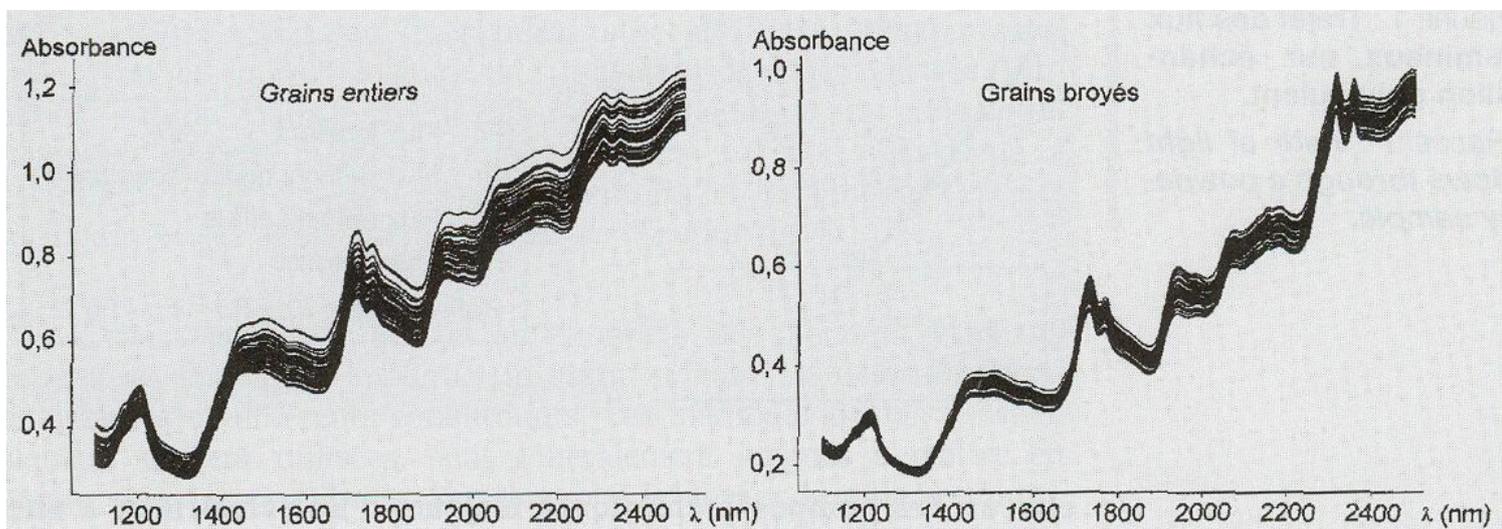
Le proche infrarouge présente cependant certains défauts :

– Il est en général difficile de donner une explication poussée des spectres obtenus. Les harmoniques et les combinaisons de bandes sont en effet complexes à interpréter.

– Les spectres d'une même collection se ressemblent très fortement. La figure 2 représente des spectres de grains de colza d'origines diverses. Il est impossible, par l'observation directe de ces spectres, de mettre en évidence certaines caractéristiques ; et si on compare ces spectres à ceux de la figure 2 bis qui sont ceux des mêmes graines mais broyées, le seul effet visible est l'intensité générale de la mesure (spectres moins aigus et décalage des absorbances) qui dépend principalement de la taille des particules.

Figure 2 : Influence de la granulométrie sur la dynamique des spectres de colza.

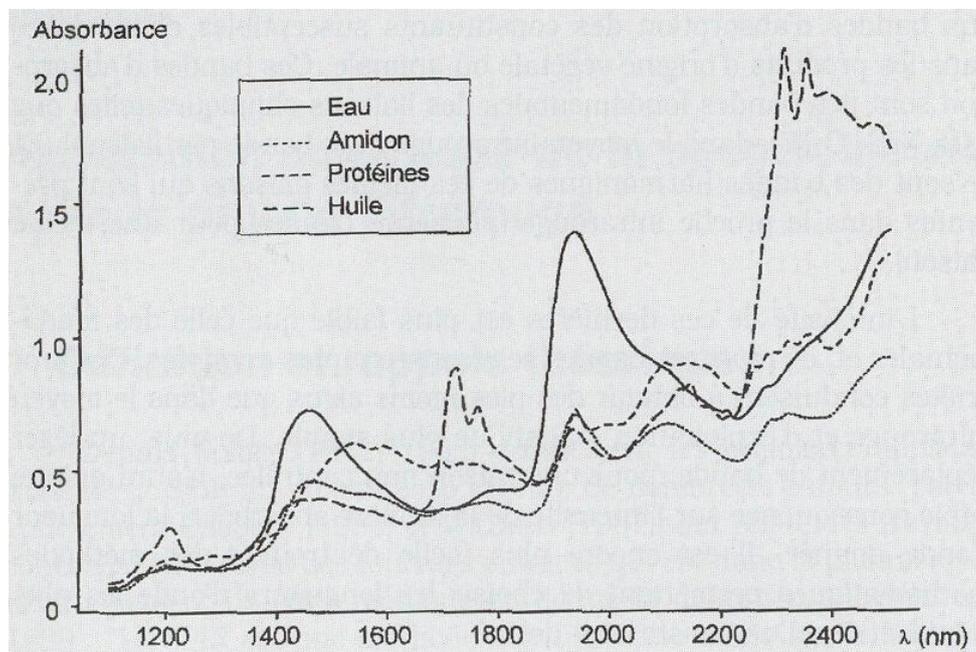
Figure 2 : Influence of granulometry on the dynamics of the spectra of rape.



– Les bandes spectrales des différents composés biochimiques se recouvrent largement. La figure 3 montre quelques spectres caractéristiques. Il n'y a pas un pic de référence pour un composé donné. De ce recouvrement important des bandes découle la stratégie d'exploitation des données spectrales qui repose sur des méthodes statistiques.

Figure 3 : Spectres dans le proche infrarouge de produits purs montrant le recouvrement des bandes spectrales.

Figure 3 : Spectra in the near infra-red of pure products, showing the overlapping of spectral bands.



2. Appareillages

Pour des raisons historiques, les appareils destinés à l'analyse en proche infrarouge sont de type séquentiel, c'est-à-dire qu'ils ne comprennent qu'un seul détecteur de l'intensité lumineuse, l'échantillon étant éclairé successivement par toutes les longueurs d'onde utiles. Ces appareils sont constitués des éléments suivants : une source lumineuse, un dispositif de sélection des longueurs d'onde, une cellule de mesure où est placé l'échantillon, un détecteur qui convertit l'énergie lumineuse en signal électrique et un système informatique qui traite ce signal et affiche les résultats. Ce qui différencie ces appareils est le dispositif de sélection des longueurs d'onde. Trois principes sont appliqués :

- Les filtres interférentiels fixes, constitués d'une matière transparente placée entre deux couches semi-réfléchissantes : la lumière incidente interfère à l'intérieur du filtre et seules certaines longueurs d'onde traversent le dispositif (principe du IA 450 de Bran et Luebbe, de l'Inframatic de Scantec).
- Les filtres oscillants : en faisant varier l'angle d'incidence entre le rayon lumineux et le filtre, il est possible de sélectionner différentes longueurs d'onde autour d'une valeur centrale.
- Les monochromateurs à réseau qui sont des miroirs polis sur lesquels de nombreuses rainures sont gravées parallèlement les unes aux autres. Les rainures diffractent la lumière et se comportent comme des sources lumineuses déplacées les unes par rapport aux autres. Ceci engendre des interférences lumineuses, comme dans le cas des filtres, et permet de sélectionner des longueurs d'onde en faisant tourner le réseau (IA 500 de Bran et Luebbe, série des 4500 et 6500 de NIR System).

3. Application analytique

Il a été montré précédemment que les bandes spectrales se recouvrent fortement. De ce fait, il est impossible de fonder une application analytique sur la seule mesure de la hauteur d'un pic significatif. La détermination d'un constituant par SPIR ne peut alors provenir que de la combinaison linéaire de mesures d'absorbance en différents points du spectre, mesures affectées de coefficients obtenus par

régression multilinéaire par rapport à une méthode de référence. Les résultats d'analyse par SPIR proviennent du résultat d'une équation de la forme :

$$C = F_0 + F_1 \log 1/R_1 + F_2 \log 1/R_2 + \dots + F_n \log 1/R_n,$$

où C est la teneur d'un constituant (en %) et $\log 1/R_n$, l'absorbance mesurée à la longueur d'onde λ_n .

Il faut donc utiliser une procédure d'étalonnage qui comporte 6 parties :

- la recherche d'une mesure de référence pertinente,
- le rassemblement d'un lot d'échantillons aussi représentatifs que possible de l'espèce végétale qui devra être analysée et l'analyse de ces échantillons par la méthode de référence,
- la sélection des lots d'échantillons d'étalonnage et de vérification de cet étalonnage,
- la collecte des valeurs spectrales des échantillons,
- l'établissement de l'équation de prédiction,
- la vérification de l'analyse par SPIR sur les lots d'échantillons réservés,
- l'application en routine.

Un soin particulier est à accorder à chacune de ces parties :

- Recherche d'une mesure de référence : Cette étape n'est apparue primordiale que lorsque l'utilisation de la SPIR s'est répandue. La précision de la méthode de référence permet de fixer une limite à ce que l'on peut attendre d'une analyse par SPIR. Il est arrivé que des reproches faits à la SPIR quant à sa fiabilité n'étaient dus en fait qu'à la méconnaissance de la validité et de la précision de la méthode de référence.

- Choix des lots d'échantillons : L'équation d'étalonnage étant la résultante d'ajustements des valeurs spectrales à des teneurs connues, il est concevable que ces teneurs soient les plus représentatives possibles de l'espèce végétale pour laquelle l'étalonnage est réalisé. Il est souhaitable de prendre en compte toutes les origines de variation possibles quant à la teneur du constituant à prédire. Ainsi, un bon lot d'échantillons comprendra le maximum d'origines génétiques, le plus grand nombre de coupes, le plus grand nombre d'origines de culture. Si ce nombre devient trop important, le choix se restreindra aux plus représentatifs.

- Choix du lot de calibration : Dans une population décrite comme ci-dessus, les teneurs en différents constituants sont généralement réparties de manière gaussienne. Le choix des échantillons pour l'étalonnage risque de conduire à une même répartition, c'est-à-dire d'avoir de nombreux échantillons ayant une valeur proche de la moyenne. Ceci ne conduit pas à des équations d'étalonnage satisfaisantes pour des raisons statistiques. Il est alors conseillé de choisir des échantillons régulièrement répartis sur la plage de mesure ; on obtient ainsi un "histogramme plat". Si possible, orienter le choix pour avoir les corrélations les plus faibles entre les divers constituants pris en compte dans l'établissement de l'équation. Certains auteurs ont développé des algorithmes permettant de choisir les échantillons sur la seule base de leurs données spectrales. Un nombre de 50 échantillons semble être le minimum requis pour ensuite calculer une équation.

- Collecte des valeurs spectrales : La collecte en elle-même ne présente pas de contrainte particulière, chaque constructeur d'appareil ayant un type de cellule permettant de présenter l'échantillon de manière correcte pour la mesure. Toutefois, le conditionnement de l'échantillon dès le champ de récolte a une influence certaine sur le résultat de l'analyse.

La température de séchage et la rapidité de ce séchage, c'est-à-dire la ventilation de l'étuve, ont bien entendu une influence sur l'évolution de certains constituants (glucides solubles en particulier), ce qui entraîne une modification de la "qualité intrinsèque" de l'échantillon. La température recommandée serait 60°C. L'action de cette température doit être accompagnée d'une très grande ventilation, ce qui malheureusement n'est pas toujours obtenu. Dans la pratique, il est admis d'élever cette température jusqu'à 80°C, ce qui permet un séchage d'une durée acceptable.

Le broyage de l'échantillon est aussi un facteur très important quant à la valeur de la mesure spectrale. Nous avons vu que la granulométrie intervient dans l'intensité du flux réfléchi ; cette granulométrie est la résultante du type de broyeur, de la grille de broyage et bien entendu de la composition de l'échantillon. Il est donc impératif de choisir définitivement une technique de broyage pour chaque type de produit. Une fois le mode de broyage

standardisé, il est aisé d'admettre que les différences de granulométrie entre échantillons font partie de l'information permettant de connaître la composition de ces échantillons.

Le degré d'humidité influence les résultats spectraux puisqu'on sait que l'eau absorbe beaucoup dans le proche infrarouge ; il n'est pas impossible de déterminer cette teneur en eau par SPIR mais, l'obtention de bonnes valeurs de référence pour l'étalonnage étant délicate, on peut préférer ramener tous les échantillons à un niveau très faible et constant d'humidité par passage de 12 heures à l'étuve à 60°C et faire la collecte de spectres après refroidissement dans un dessiccateur.

– Etablissement de l'équation d'étalonnage :

- Utilisation d'appareils à filtres fixes : Les valeurs spectrales sont obtenues à partir de 6 et jusqu'à 19 filtres selon l'appareil. Une régression multilinéaire calculée à partir de ces données et des valeurs de référence permet d'obtenir une équation de prédiction dans laquelle sont retenues en général 3 à 6 longueurs d'onde.

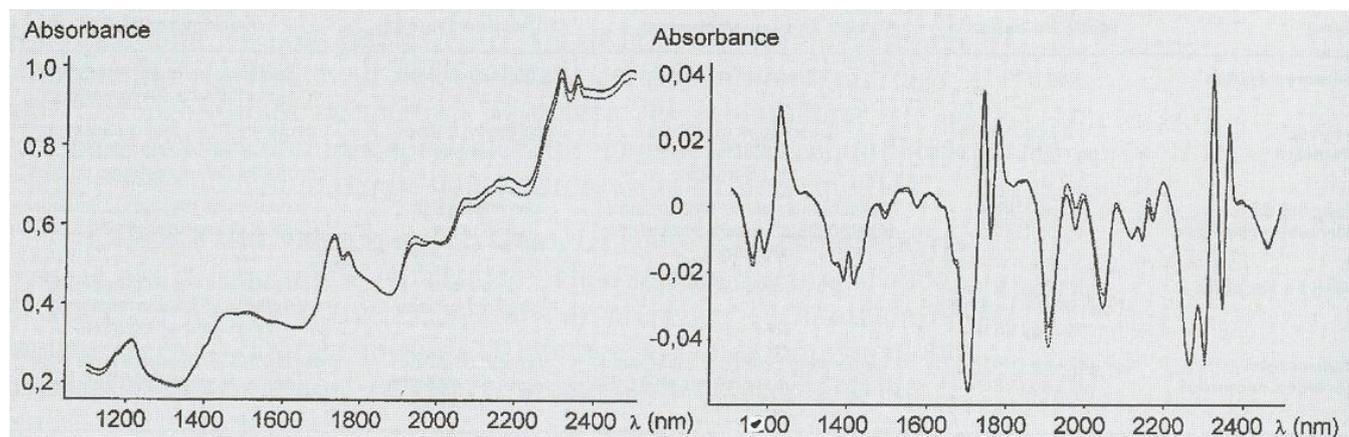
- Utilisation d'appareils à filtres oscillants ou à monochromateurs : Il existe toujours un bruit de fond aléatoire dans les mesures spectrales. Le "lissage" est un traitement couramment appliqué par la méthode de la moyenne mobile, mais il est toujours délicat de choisir le nombre de points participant au calcul. La "dérivation" des spectres permet de corriger une partie de la déformation liée à la taille des particules qui modifie la quantité de lumière diffusée. Ces déformations correspondent pour l'essentiel à une variation de la hauteur générale des spectres, c'est-à-dire à une multiplication par un facteur constant sur l'ensemble du spectre. La dérivée première permet de corriger le facteur de hauteur générale des spectres. La dérivée seconde, qui peut être considérée comme la différence entre deux dérivées premières, corrige encore mieux et est souvent la technique la plus utilisée. Le tableau 1 récapitule l'ensemble des techniques de transformation généralement utilisées. Il ressort que les résultats obtenus par ces traitements réduisent fortement les effets de variation de taille des particules et qu'en plus les différences entre spectres dérivés deviennent visibles à l'observation directe (figure 4). Ces transformations faites (le choix restant toujours assez subjectif ou bien résultant de tâtonnements), la régression multilinéaire est calculée comme un appareil à filtre fixe.

Tableau 1 : Différentes transformations des données spectrales couramment appliquées (Rosenthal, 1977).

Table 1 : Various transformations of spectral data in common use (Rosenthal, 1977).

Terme	Mode de calcul	Mesure faite normalement à...	Utilisation typique	Commentaires
Données brutes	Log (1/R)	l'absorption maximale	régression linéaire multiple	demande un grand nombre de coefficients de régression
Dérivée première	$d \text{ Log } (1/R5) = \text{Log } (1/R1) - \text{Log } (1/R2)$	l'absorption maximale et longueur d'onde de référence	régression linéaire multiple	demande 2 fois moins de termes que les données brutes ; corrige les défauts de ligne de base
Rapport de dérivées premières	$\frac{d \text{ Log } (1/R5)}{d \text{ Log } (1/Rc)}$	numérateur : bande d'absorption dénominateur : bande de référence correctrice	corrélation à un seul terme	a donné des résultats satisfaisants pour le dosage des protéines du blé
Dérivée seconde	$d^2 \text{ Log } (1/R1) = \text{Log } (1/R3) + \text{Log } (1/R4) - 2\text{Log } (1/R1)$	l'absorption maximale	régression linéaire multiple	utile dans le cas de dosages de produits complexes (aliments composés par exemple)
Rapport de dérivées secondes	$\frac{d^2 \text{ Log } (1/R1)}{d^2 \text{ Log } (1/Rc)}$	numérateur : bande d'absorption dénominateur : bande de référence correctrice	un seul terme ou régression linéaire multiple	demande 6 longueurs d'onde pour chaque terme ; bons résultats

– Vérification de la validité de l'équation de prédiction : Les échantillons n'ayant pas servi à l'établissement de l'équation d'étalonnage sont analysés et les résultats sont comparés à leur valeur de référence. Une régression orthogonale permet de juger de la valeur des teneurs prédites estimant l'erreur standard de prédiction (SEP). Celle-ci ne peut être inférieure à l'erreur standard obtenue par la méthode de référence.

Figure 4 : Transformation de 2 spectres par dérivée première.**Figure 4 : Transformation of 2 spectra by a first derivative.**

– Application en routine : Deux manières de travailler sont possibles :

- La plus simple et la plus courante consiste à appliquer l'équation de prédiction précédemment établie, au fur et à mesure de la collecte du spectre de chaque échantillon. Divers systèmes de saisie peuvent être imaginés pour un traitement informatique des données dont le nombre peut être important sachant qu'il est possible de réaliser 150 à 200 introductions d'échantillon par jour pour lesquels on peut obtenir autant de déterminations que prévu.

- Une autre manière d'opérer consiste à collecter toutes les valeurs spectrales de tous les échantillons puis d'appliquer en fin de collecte l'équation de prédiction. Ceci permet de recalculer à tout moment une nouvelle équation dès lors que la population d'échantillons à analyser évolue (introduction de nouveaux génomes par exemple).

Applications, résultats

1. Dosages courants

Comme il a été dit précédemment, à partir d'analyses de référence pertinentes, il est possible de prédire l'ensemble des constituants majeurs des végétaux. Certains tels que les glucides solubles, les protéines (MAT) ou les lipides sont prédits avec une très grande précision ; d'autres, et en particulier les glucides pariétaux (hémicelluloses, cellulose, lignines), le sont un peu moins, ceci étant dû, sans doute, à la fois à la difficulté de bien définir chimiquement ces composés et à leurs liaisons chimiques parfois très fortes dans la paroi de la cellule végétale. D'autres critères de qualité, en particulier la digestibilité, sont prédits avec des niveaux de précision très acceptables (Bertrand *et al.*, 1987).

Généralement, la précision des résultats obtenus par SPIR est du même niveau que celle des analyses de référence.

De nombreux résultats ont été publiés (Biston et Dardenne, 1985), certains donnant même la possibilité de prédire la digestibilité *in vivo* de la matière organique, ainsi que les UFL ou UFV du maïs fourrage frais (Dardenne *et al.*, 1993).

Bien entendu, ces étalonnages sont spécifiques, c'est-à-dire qu'une équation établie pour du foin de graminée ne pourra être utilisée pour une luzerne ou du maïs (tableau 2). Aujourd'hui, des appareils effectuant la mesure spectrale en transmission permettent des prédictions pour des fourrages frais et pour des ensilages, mais les équations ne s'appliquent pas aux mêmes fourrages sous forme de foin par exemple.

Au fil des années, la mise en place de différents étalonnages pour les principaux fourrages se fait et ne demande plus que des améliorations ponctuelles au fur et à mesure des récoltes successives.

Tableau 2 : Erreurs standards de prédiction de digestibilité *in vitro* obtenues avec plusieurs équations appliquées aux fourrages purs ou associés.

*Table 2 : Standard deviations for the values of *in vitro* digestibility obtained by the application of several equations to pure and mixed forages.*

Equation calculée à partir de :	Fétuque	Dactyle	Luzerne	Graminée - luzerne
et appliquée à : Fétuque	1,64	2,50	3,07	non calculé
Dactyle	2,73	1,96	2,11	non calculé
Luzerne	3,07	2,87	1,26	non calculé
Mélange de graminées	1,99	2,00	1,76	non calculé
Graminée - luzerne	2,05	1,99	2,14	2,00

2. Prédiction de constituants à faible teneur

Généralement, tout constituant dont la teneur est inférieure à 3% de la matière sèche ne peut être prédit avec une bonne sécurité. Toutefois, dans des cas très particuliers, par exemple celui des graines de colza, il a été possible de réaliser des étalonnages d'excellente qualité pour le dosage des glucosinolates (Lila et Furstoss, 1986). En revanche, des tentatives de dosage de vicine et de convicine de graines de féverole ou de saponines de feuilles de luzerne (particulièrement d'acide médicagénique) n'ont pas été couronnées de succès. Au mieux, cas de la luzerne, la SPIR donne la possibilité d'obtenir un classement par groupe de teneurs (Lila *et al.*, 1989a).

Figure 5 : Analyse factorielle discriminante des variétés de blé (Devaux *et al.*, 1986).

Figure 5 : Discriminating factorial analysis of wheat cultivars (Devaux et al., 1986).

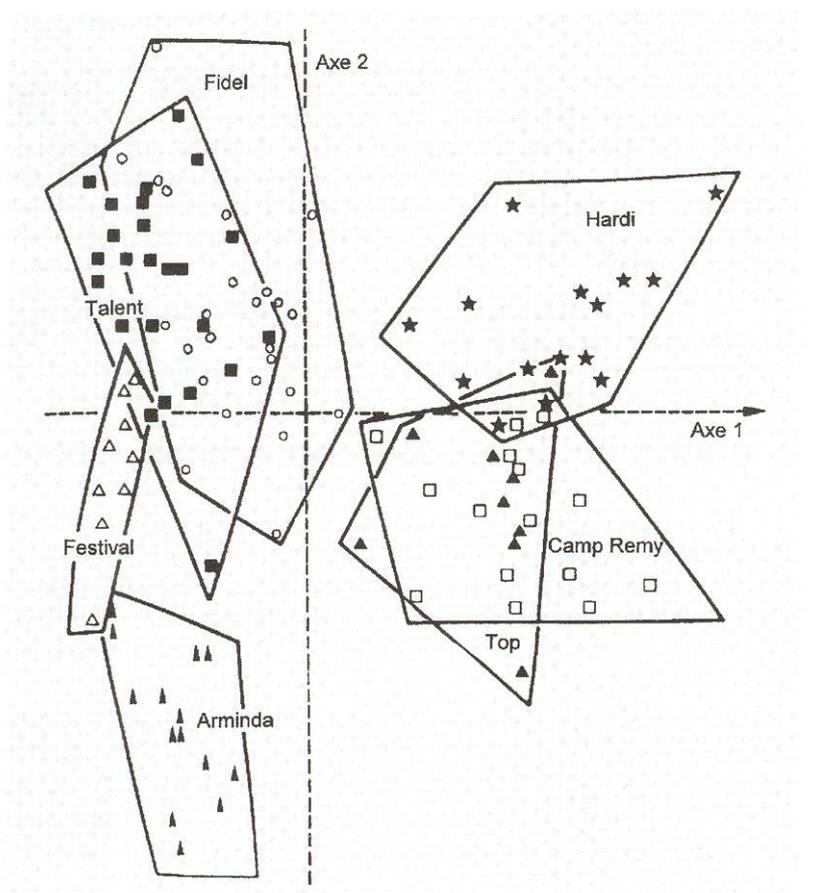
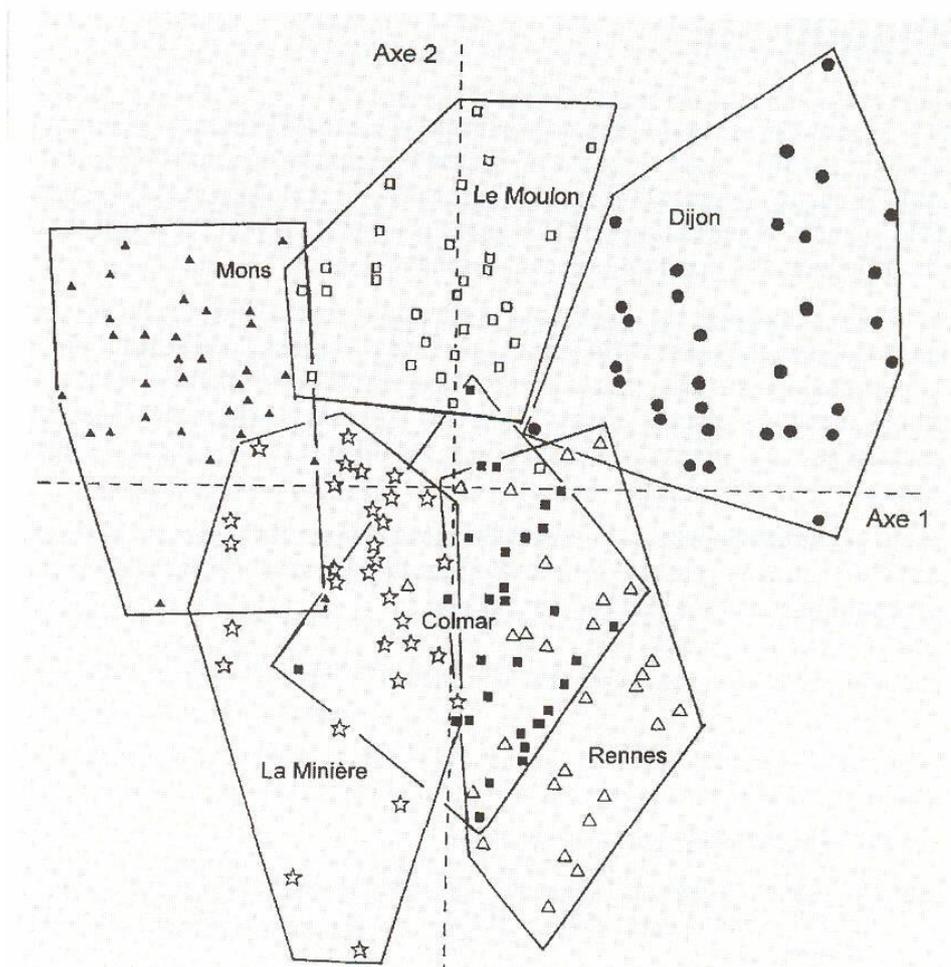


Figure 6 : Analyse factorielle discriminante des régions de culture des blés (Devaux, *et al.*, 1986).

Figure 6 : Discriminating factorial analysis of regions of wheat cultivation (Devaux *et al.*, 1986).



3. Autres applications

Les équations d'étalonnage obtenues par régression multilinéaire incluent généralement moins de 10 données spectrales, alors qu'un spectre peut comprendre, sur un appareil à réseau, jusqu'à 700 points de mesure et représente une information importante. Bertrand (1985 et 1988) a réalisé une étude consacrée à la description et à la quantification des ressemblances éventuelles entre spectres de blé. Les méthodes statistiques d'analyse factorielle, telle que l'analyse en composantes principales (ACP) et l'analyse factorielle discriminante (AFD) sont adaptées à cet objectif. Les travaux ont porté essentiellement sur la discrimination des variétés de blés panifiables (6 variétés) cultivées dans 6 régions françaises différentes. Les résultats de la figure 5 montrent qu'il est possible de discriminer des variétés bien que cette technique ne puisse évidemment concurrencer, sur le plan de la certitude, des techniques telles que l'électrophorèse mais qui sont beaucoup plus difficiles à mettre en œuvre. Il est remarquable de noter aussi (figure 6) que l'information spectrale permet de repérer les régions de culture.

Ces résultats permettent de penser que la SPIR n'est pas seulement une méthode prédictive étalonnée par rapport à des analyses de référence mais est aussi un moyen d'identification de produits ou de classification à partir de leur "empreinte" spectrale.

Des applications ont été réalisées à partir d'analyses multidimensionnelles de spectres. En particulier, on peut citer une application très importante permettant de dire si un échantillon inconnu est de telle ou telle espèce et même de préciser s'il existe dans la bibliothèque de spectres précédemment collectés un groupe auquel il appartient et à partir duquel une équation a été développée et pourra lui être appliquée (Shenk *et al.*, 1993). Par ces techniques, il est aussi possible de prédire la composition d'un mélange d'espèces dans une prairie et de suivre son évolution (Lila *et al.*, 1989b ; Petterson *et al.*, 1992).

Conclusion

Dans l'état actuel des connaissances, la SPIR est une technique analytique qui, tout en étant une méthode empirique, a montré sa validité dans un grand nombre d'applications. L'exploitation de spectres PIR à l'aide de techniques statistiques permet d'affiner les résultats et de proposer des applications plus nombreuses.

De nouveaux appareillages sont apparus sur le marché et permettent de nouvelles applications, en particulier l'utilisation de la transmission sur des grains entiers non broyés ; de même l'usage de fibres optiques placées *in situ* dans un rumen, ou dans un réacteur, permettent de suivre l'évolution des constituants de différents produits.

La prédiction de la valeur alimentaire des fourrages par SPIR est aujourd'hui une réalité. Cette technique a montré son intérêt tant par sa rapidité d'emploi que par sa fiabilité.

Accepté pour publication, le 24 janvier 2000

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BIPEA (1996) : *Guide de l'utilisateur de spectromètres d'absorption dans le proche infra-rouge*, 60 p, BIPEA, 6, av. Louis Roche, F-92230 Gennevilliers.

Bertrand D., Robert P., Loisel W. (1985) : "Identification of some wheat varieties by near infrared reflectance spectroscopy", *J. of the Sci. of Food and Agriculture*, 36, 1120-1124.

Bertrand D., Lila M., Furstoss V., Robert P., Downey G. (1987) : "Application of principal component analysis to the prediction of lucerne forage protein content and in vitro dry matter digestibility by N.I.R. spectroscopy", *J. of the Sci. of Food and Agriculture*, 41, 299-307.

Bertrand D. (1988) : *Utilisation des analyses multidimensionnelles en spectroscopie de réflexion dans le proche infrarouge*, thèse présentée à l'Université de Dijon.

Biston R., Dardenne P. (1985) : "Application de la Spectrophotométrie de Réflexion dans le Proche Infrarouge. Prévion de la qualité des fourrages en vue de leur exploitation rationnelle", *Bull. Rech. Agron. Gembloux*, 20 (1/2), 23.

Dardenne P., Andrieu J., Barriere Y., Biston R., Demarquilly C., Femenias N., Lila M., Maupetit P., Riviere F., Ronsin T. (1993) : "Composition and nutritive value of whole maize plants fed fresh to sheep. II. Prediction of the "in vivo" organic matter digestibility", *Ann. Zootech.*, 42, 251-270.

Devaux M.F., Bertrand D., Martin G. (1986) : "Discrimination of bread baking quality of wheat according to their variety by near infrared reflectance spectroscopy", *Cereal Chemistry*, 36, 151-154.

Lila M., Furstoss V. (1986) : "Détermination de longueurs d'onde spécifiques pour la mesure de glucosinolates du colza par spectrophotométrie de réflexion dans le proche infrarouge", *Agronomie*, 6, 703-707.

Lila M., Genier G., Pietrazek W. (1989a) : "Etude d'un facteur antinutritionnel de la luzerne : les saponines", *XVIe Cong. Int. des Herbages*, Nice.

Lila M., Furstoss V., Bertrand D. (1989b) : "Etude de la composition d'une association trèfle-graminée par spectrométrie proche infrarouge", *XVIe Cong. Int. des Herbages*, Nice.

Norris K.M. (1989) : *In Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) : analysis of forage quality*, édité par United States Department of Agriculture, 6.

Norris K.H., Butler W.L. (1961) : "Techniques for obtaining absorption spectra on intact biological samples", *IRE Transactions on Biomedical Electronics*, 8 (3), 153-7.

Norris K.H., Hart J.R. (1965) : "Direct spectrometric determination of moisture content of grain and seeds", *Principles and Methods of Mesuring Moisture Content in Liquids and Solids*, 4, 19-25.

Osborne B.G. (1986) : *Near-Infrared Spectroscopy in Food Analysis*, Longman Scientific and Technical, England.

Petterson P., Nordkvist E., Salomonsson L. (1992) : "Determination of botanical composition in forage using NIRS and multivariate calibration", *Proc 5th Int. Conference on Near Infrared Spectroscopy*, Haugesund, Norvège.

Rosenthal R.D. (1977) : "An introduction to Near Infrared Quantitative Analysis", *Annual meeting of American Association of Cereal Chemists*, 1-13.

Shenk J.S., Fales S.L., Westerhaus M.O. (1993) : "Using Near Infrared Reflectance Product Library Files to Improve Prediction Accuracy and Reduce Calibration Coste", *Crop Sci.*, 33, 578-581.

Williams P.C. (1987) : "Variables affecting Near-Infrared Reflectance Spectroscopic Analysis, Near Infrared Technology in the Agriculture and Food Industries", *American Association of Cereal Chemists*, 143-167.

SUMMARY

Use of near infra-red spectrophotometry for the assessment of forage quality

Based on the absorption properties of organic matter in the near infra-red, this method gives the predictive equations for the contents of various constituents in a given botanical species by means of a statistical analysis of the spectral data. Every type of measuring equipment used (fixed filters, oscillating filters and monochromator) requires the preliminary determination of calibration equations, following the same procedure. The method is both rapid and reliable. The major constituents, such as crude protein, soluble carbohydrates, starch, cell-wall carbohydrates, as well as in vivo digestibility and Feed Units (for both lactation and meat production) can be predicted with the same level of accuracy as with the reference analyses. With the use of equipment with a monochromator, it is possible, by applying statistical methods of factorial analysis to the whole set of spectral values, to identify the origin of the samples and to select the most appropriate calibration equations.