



MESURE ET MÉTROLOGIE

Pour une recherche innovante et fiable

Numéro spécial 2016

Coordonnatrice : Dalila Mohrath

CAHIER DES TECHNIQUES DE L'INRA / SPÉCIAL MESURE ET MÉTROLOGIE



Directeur de la publication : G. Jacquin ; Rédacteur en Chef : Michel Bariteau
Coordonnatrice : Dalila Mohrath
Comité de relecture : Patrick Gross, Jacques Maratray, Christophe Montaurier, Robert Pujol
Secrétaire de Rédaction : Dominique Montagu-Ledoux
Composition et impression : Jouve
©INRA, 2016 - ISSN 0762 7339 - https://www.inra.fr/cahier_des_techniques

Couverture © : Dalila Mohrath

Annexe © : photos J2M 2012, J2M 2014



Avant-propos

Une fois de plus, le Cahier des Techniques donne à voir des réalisations originales issues de nos Unités. Ces travaux traduisent bien le dynamisme des équipes dans le domaine du développement des méthodes et des outils expérimentaux de mesure, ainsi que des logiciels au service des différentes communautés de recherche.

La richesse des sujets abordés est bien le reflet de la pluridisciplinarité de notre Institut et nous tenons à souligner l'importance aussi bien des Journées de la Mesure et de la Métrologie que celle du Cahier des Techniques de l'INRA, pour favoriser les échanges entre communautés. Ce partage est un atout important que l'INRA doit favoriser car il est souvent source d'inventions originales. Tous ces développements sont aussi potentiellement des projets qui peuvent aller jusqu'à l'innovation.

Nous ne pouvons que vous inciter à poursuivre vos travaux et nous vous assurons de notre soutien dans vos initiatives.

Monique Axelos
Chef du Département scientifique Caractérisation et Elaboration des produits issus de l'agriculture

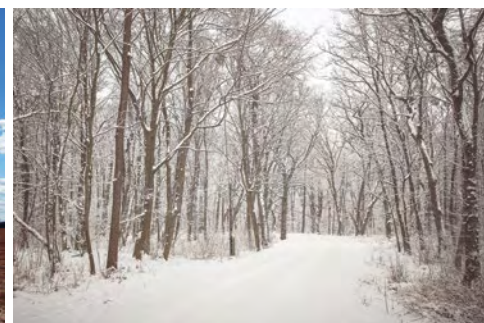
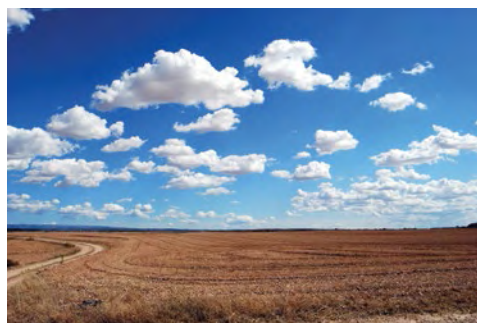
et

Guy Richard
Chef du Département scientifique Environnement et Agronomie



/ Chapitre 1 /

Développement et mise au point de dispositifs expérimentaux dédiés aux mesures en conditions réelles



Dans l'ensemble des typologies d'expérimentations menées au sein de l'INRA, seront traités ici quelques exemples de dispositifs expérimentaux (capteurs, dispositifs complets ou méthodologies) adaptés aux essais *in situ*, c'est-à-dire aux conditions réelles du milieu.

Les contraintes de la mesure « tout terrain » conduisent les développeurs à devoir prendre en considération de multiples facteurs environnementaux, au mieux vaguement prévisibles, mais plus fréquemment de type aléatoire.

Les développeurs mènent donc une réflexion et des tests associés, afin d'adapter les capteurs et les systèmes de mesure à la diversité des milieux dans lesquels ils opèrent : milieux souvent hostiles envers le matériel de mesure, voire parfois destructeur, mais dans tous les cas, très perturbateurs pour les mesures.

Qu'il s'agisse des amplitudes de températures nécessitant une compensation électronique efficace des dérives du signal liées à cette grandeur, des périodes d'humidité saturante, de la pluie, des risques de crues, des mesures dans les cours d'eau imposant une étanchéité éprouvée de tous les matériels soumis à ces événements, de l'acidité d'un suc gastrique nécessitant l'utilisation de matériaux robustes, ou des mouvements incontrôlables d'un animal équipé d'une instrumentation embarquée, l'acquisition « tout terrain » est soumise à rude épreuve et requiert une approche d'expert.

L'expertise de ceux qui connaissent les milieux (naturels ou cultivés) concernés par ces expérimentations (forêt, cours d'eau, vigne, champs, animaux sauvages ou d'élevage, etc.) revêt, particulièrement ici, un atout évident pour définir un cahier des charges adéquat, pertinent et « raisonnable » des dispositifs de mesure, ainsi que pour adapter et intégrer ceux-ci à l'environnement qu'ils contribueront à caractériser.

Les articles de ce chapitre illustrent une partie de la diversité des problématiques rencontrées et solutionnées, que ce soit au champ, en forêt, en rivière ou sur l'humain.

Mesure de débit sur un lysimètre en milieu agricole à sol non remanié

Franck Tison¹, Jean Claude Gaudu, René Pallut, Stéphane Ruy, Claude Doussan, Liliانا Di Piétro

Résumé. Dans cet article, nous décrivons la conception, la réalisation et l'installation d'un système de mesure de débit des flux d'eau à surface libre, sur un lysimètre à sol non remanié implanté sur une parcelle agricole. Le système est composé de deux débitmètres d'architecture différente, destinés à deux gammes de débit correspondant à des intensités de pluie faibles et fortes, et d'un dispositif d'étalonnage. Nous présentons la procédure d'étalonnage et nous étudions la propagation des erreurs sur la mesure. Nous présentons aussi, une première analyse des données obtenues sur un échantillon choisi d'épisodes de « pluie – drainage ». L'objectif de l'installation est de fournir des mesures des flux de drainage de faible à forte intensité et à des pas de temps courts. En particulier, il permet d'estimer la contribution des écoulements préférentiels au drainage suite à des épisodes pluvieux. Le système permet de mesurer la variabilité temporelle du flux de drainage, et de détecter les flux à temps de percée courts. Cet article est destiné aux ingénieurs et techniciens confrontés à cette problématique d'estimation des écoulements.

Mots clés : mesure de débit, lysimètre, drainage, sol non remanié, étalonnage, générateur de débit étalon


Introduction

Contexte général

Les eaux souterraines représentent des ressources en eau importantes largement exploitées pour l'alimentation en eau potable pour les industries, ou pour l'irrigation des cultures. En France, les prélèvements annuels dans les aquifères représentent un volume de 6,32 km³, soit 19 % des prélèvements totaux (Margat, 2001). Les pratiques agricoles peuvent altérer la qualité des eaux souterraines : les eaux qui percolent dans le sol en dessous de la zone racinaire peuvent entraîner des éléments (nitrates, pesticides, métaux...) qui vont polluer les nappes souterraines. L'élaboration et la mise en œuvre de pratiques agricoles qui minimisent les risques de pollution passent par une meilleure compréhension de l'écoulement de l'eau dans les sols. L'eau s'écoule dans la porosité du sol à des vitesses très variables. On distingue les écoulements rapides dits « préférentiels » dans les pores de grande taille ou macropores (fissures de retrait, anciens passages de racine, trous de vers de terre, porosité créée par le labour...) des écoulements plus lents dans les micropores des sols. Ces écoulements, et leur part relative dans le flux de drainage total, sont encore mal connus et font l'objet de nombreuses recherches (e.g. Bogner, 2004 ; Garel, 2007 ; Chapelet et al., 2012...). Dans le cadre de ces travaux, la mesure directe des différents types de flux de drainage représente un défi technique majeur, la mesure devant porter sur un volume de sol important et être adaptée à une très large gamme de débit.

L'UMR EMMAH (Environnement méditerranéen et modélisation des agro-hydrosystèmes) dispose d'un site atelier, situé sur le Centre INRA - PACA à Avignon, dédié à l'étude et au suivi de la dynamique de l'eau dans les sols et les aquifères. Il est destiné plus particulièrement à la caractérisation et à la prédiction des écoulements préférentiels de l'eau et du transport rapide de composés polluants, en phase liquide et/ou colloïdale, en relation avec les états de surface, la structure du sol et celle de la zone non saturée profonde. Ce site dispose d'un lysimètre de grande taille (longueur : 2,60 m, largeur : 2,00 m et profondeur : 2,40 m) construit autour d'un échantillon de sol non remanié ; il est équipé de deux rangées de drains pour intercepter les eaux s'écoulant (un dispositif à mi-hauteur lié aux écoulements préférentiels et un dispositif au fond du lysimètre donnant le drainage total). Ces

1. INRA, UMR 1114 EMMAH, F-84914 Avignon cedex 9, France
franck.tison@paca.inra.fr



caractéristiques font de ce lysimètre un ouvrage remarquable qui peut être assimilé à un modèle réduit de parcelle. Son instrumentation permanente permet le suivi des produits dans le sol, dans la zone non saturée et de ceux qui devraient rejoindre la nappe, en fonction de l'évolution saisonnière du milieu et des évènements climatiques.

Les attentes et les contraintes

En 2005, les mesures de débit étaient exécutées manuellement, par deux expérimentateurs. Il était nécessaire d'automatiser ces mesures et leur enregistrement sur les deux rangées de drains de façon à prendre en compte tous les évènements pluvieux. Les gammes de mesure des deux débitmètres à concevoir étaient de 0 à 150 L/h pour les drains supérieurs et de 0 à 450 L/h pour les drains inférieurs, avec la nécessité de détecter le début des écoulements et de les enregistrer tout au long de l'épisode de drainage. Enfin, comme tout appareil de mesure, un dispositif d'étalonnage devait permettre la vérification et le calibrage des instruments.

Etat de l'art

Aucun dispositif industriel ne permettait de mesurer les débits sortants sur les deux séries de drains du lysimètre. Il était donc nécessaire de concevoir deux instruments capables de réagir à un petit volume d'eau pour mesurer le plus finement possible de petits débits.

Cependant, il existe de nombreux types de débitmètre industriel : les débitmètres volumiques laminaires, débitmètres à flotteur, débitmètres à turbine, débitmètres à engrenage sont des instruments qui permettent des mesures de débit volumique ; les débitmètres à ultra son, débitmètres massiques laminaires, débitmètres électromagnétiques, débitmètres massiques thermiques, débitmètres massiques Coriolis sont des instruments qui permettent des mesures de débit massiques. Les uns comme les autres nécessitent une canalisation en eau pour réaliser une mesure fiable.

D'autres méthodes et dispositifs permettent la mesure de débit en surface libre. Le seuil jaugeur, le déversoir et le canal venturi sont basés sur le même principe : une section artificielle est implantée dans l'écoulement. Cela permet d'obtenir un régime critique où le débit est en relation avec la hauteur d'eau au-dessus du seuil. Ces dispositifs sont adaptés pour la mesure de débit sur des cours d'eau. La mesure au voisinage du zéro n'est pas possible.

La méthode électromagnétique, basée sur le principe de Faraday, consiste à implanter dans l'écoulement une bobine d'induction pour renforcer le champ magnétique et deux électrodes de chaque côté de l'écoulement d'eau. Cette méthode, adaptée à des mesures de débit sur des canaux, rivières, est relativement imprécise, et n'est donc pas adaptée pour le lysimètre.

La méthode volumique consiste à recueillir dans un récipient un volume d'eau pendant un temps donné. Cette méthode, qui est relativement simple à mettre en œuvre est la méthode que nous avons choisie et que nous avons automatisée.

Solutions choisies

Les solutions proposées et mises en œuvre sont les suivantes :

✓ débitmètre 150 L/h : le principe consiste en l'utilisation d'une bouteille où une fuite calibrée est aménagée. Cette bouteille est installée sur une balance électronique équipée de jauges de contrainte KERN (DE 60K5N), et un auget basculeur d'une capacité de 20 g comptabilise le volume d'eau évacué par la fuite. L'électronique embarquée mesure le temps entre deux basculements d'auget, et lit la mesure de masse sur la balance. Un ordinateur interroge régulièrement l'électronique embarquée pour sauvegarder les mesures sur le disque dur de l'ordinateur ;

✓ débitmètre 450 L/h : l'objectif est l'extension de la plage de mesure. La bouteille limitant la durée de fonctionnement à pleine échelle est supprimée. Nous avons fait le choix de mettre en cascade plusieurs augets basculants, de taille croissante pour mesurer le débit du flux d'eau qui circule dans l'appareil, en le divisant par gamme de débit. L'électronique embarquée mesure la période entre chaque basculement. Le même ordinateur interroge l'électronique embarquée pour sauvegarder les mesures sur le disque dur.

Description du lysimètre

Un lysimètre est un dispositif qui permet d'étudier les interactions entre l'eau, le sol et les plantes. Il est classiquement utilisé pour estimer l'évapotranspiration par mesure (i) de la pluie incidente, (ii) du drainage et (iii) de la teneur en eau du profil de sol ou en pesant le bloc de sol. Le lysimètre de l'UMR EMMAH d'Avignon n'est pas pesable. C'est un ouvrage en béton d'une longueur de 2,60 m et d'une largeur de 2,00 m sur une hauteur de 2,40 m (**Figures 1 et 2**). Il a été construit autour d'un échantillon de sol non remanié pour ne pas perturber la structure du sol en relation avec l'étude des écoulements préférentiels, ce qui est sa principale caractéristique. La base du lysimètre est isolée de la nappe par une série de palplanches en PVC. Trente-quatre drains, disposés en deux séries, ont été installés pour collecter les eaux de drainage.

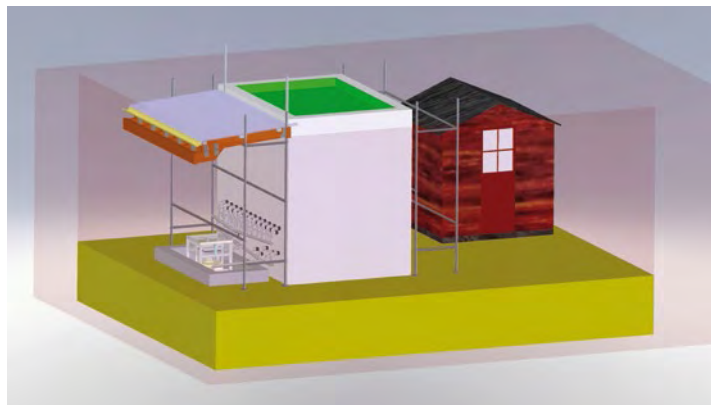


Figure 1. Schéma général du lysimètre.



Figure 2. Photographie de la façade ouest du lysimètre (photo : EMMAH).



La vue synthétique sur la **Figure 3** permet de découvrir la structure interne de l'ouvrage. Une structure mécanosoudée en IPN rigidifie l'ensemble de l'ouvrage. Quatre murs en béton projeté maintiennent le monolithe de sol à sa place. Une géo-membrane en PVC isole le sol du béton. Des palplanches interceptent le flux d'eau qu'une série de drains évacue vers l'extérieur. Une autre série de drains placés au-dessus des premiers est prévue pour intercepter les flux préférentiels (**Figure 4**). Une paire de collecteurs achemine les eaux drainées vers les débitmètres.

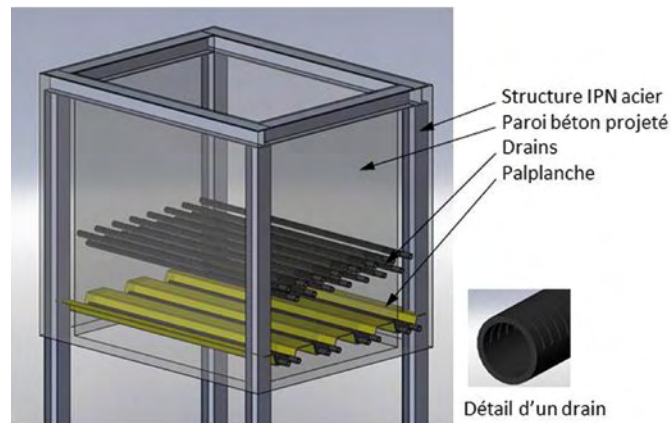


Figure 3. Schéma de la structure interne du lysimètre.

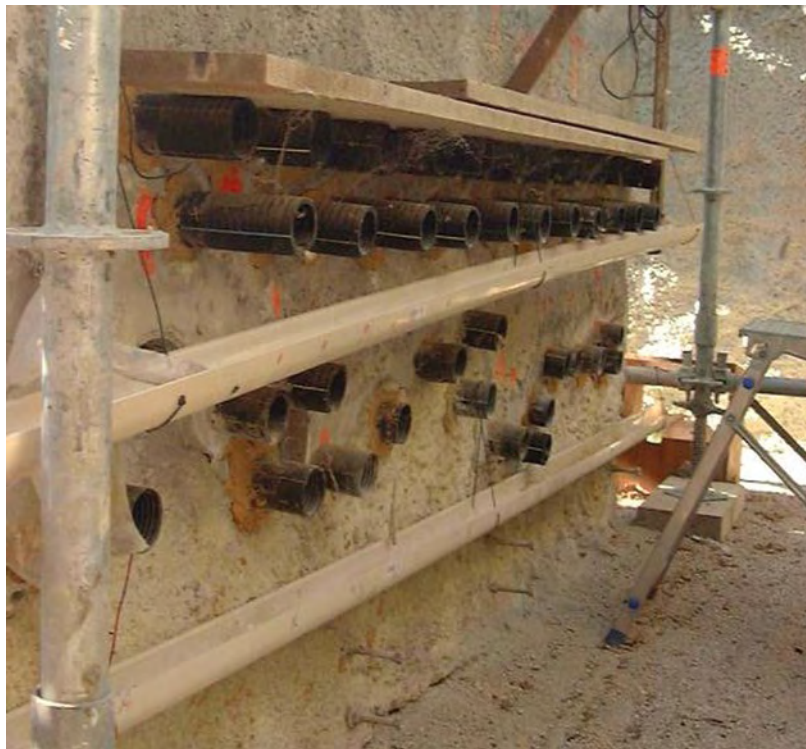


Figure 4. Photographie des drains avant l'installation des débitmètres (photo : EMMAH).

Les dispositifs de mesure

Le débitmètre 150 L/h

Organisation générale

Le débitmètre connecté aux drains supérieurs est conçu pour mesurer des débits couvrant une plage de mesure allant de 0 à 150 L/h soit un équivalent de précipitations de 0 à 31 mm/h. Son schéma général est donné **Figure 5**.

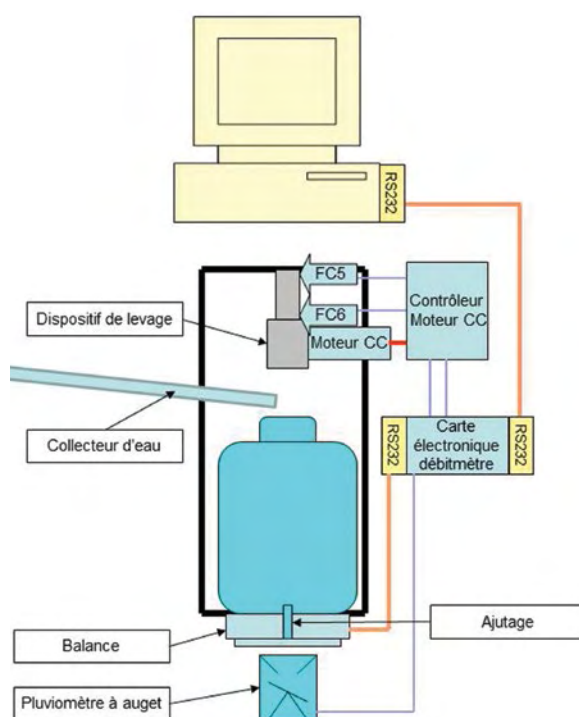


Figure 5. Schéma général du débitmètre 150 L/h.

L'eau drainée s'écoule dans le collecteur et tombe dans la bouteille. Cette bouteille est munie d'un ajustage qui calibre la fuite vers le pluviomètre à auget d'une capacité de 20 g disposé dessous. L'auget déclenche la mise en fonction du débitmètre lors de son premier basculement. Les basculements suivants caractérisent la mesure du débit au niveau de l'auget. La mise en fonction du débitmètre actionne la commande du vérin électrique qui dépose la bouteille sur la balance. La mesure du débit via la balance est calculée en sommant les variations de masse sur un intervalle de temps d'une minute. Pour obtenir la mesure de débit de ce dispositif, on ajoute le débit mesuré au niveau de la balance à celui mesuré au niveau de l'auget. Toutes les minutes, un ordinateur connecté au port série du débitmètre récupère les mesures mémorisées et les enregistre sur le disque dur. Si le débitmètre est en veille, l'ordinateur vérifie le bon fonctionnement de l'installation.



Principe de fonctionnement du débitmètre

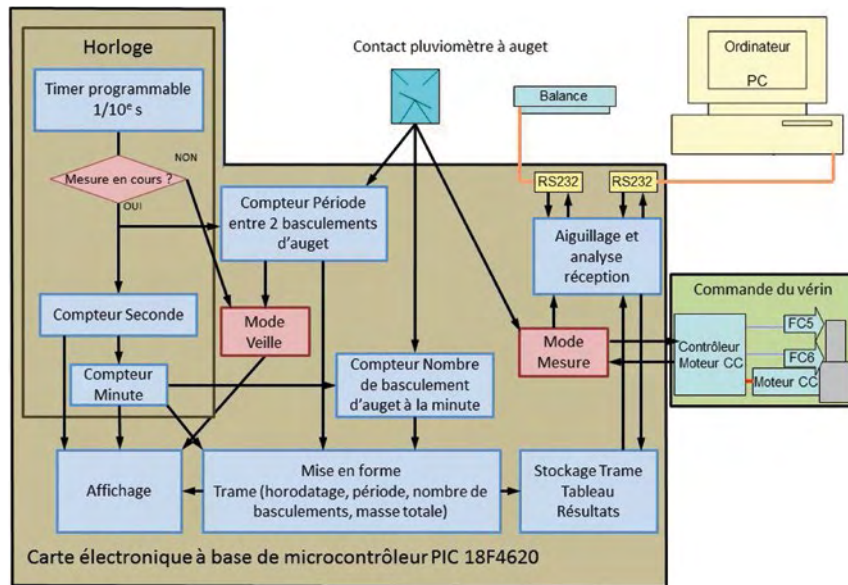


Figure 6. Organisation des fonctions sur la carte électronique du débitmètre 150 L/h.

La **Figure 6** représente l'organisation des fonctions mises en œuvre sur la carte électronique du débitmètre. Un microcontrôleur PIC 18F4620 gère son fonctionnement : son programme a été développé à l'aide de la plateforme MPLAB et du compilateur C18 de Microchip. Cette carte est connectée à :

- ✓ un ordinateur sous Windows XP. Le programme écrit avec la plateforme LabView permet, via un port RS232, de configurer le débitmètre, de commander certaines fonctions, de rapatrier les mesures et de les enregistrer sur le disque dur. Ce programme permet de gérer les deux débitmètres ;
- ✓ une balance munie d'un port RS232 pour mesurer la masse de la bouteille ;
- ✓ un contact du pluviomètre à auget basculeur. A chaque fois qu'un auget est plein (ici 20 g), il bascule et un contact se ferme fugitivement.

Le débitmètre est en mesure de fournir une mesure à un pas de temps paramétrable, défini par défaut à 1 min.

Les fonctions mises en œuvre dans le microcontrôleur sont décrites ci-dessous.

✓ **L'horloge.** La fonction de mesure de temps est assurée par le timer programmable du microcontrôleur. Celui-ci est programmé pour générer une interruption tous les dixièmes de seconde. Si la mesure est en cours, un compteur génère la seconde, et un autre compteur génère la minute. La seconde est utilisée entre autre pour l'affichage. La minute est utilisée pour définir le cadencement de la mise en disponibilité des résultats, et participe à la définition de l'horodatage.

✓ **Les modes de fonctionnement.** La carte électronique permet deux modes de fonctionnement : le mode « Veille », et le mode « Mesure ».

- Le mode « Veille » est le mode de démarrage du débitmètre. Le timer programmable est toujours actif, mais les compteurs sont à l'arrêt. Le vérin est en position haute (la bouteille ne repose pas sur la balance). Le système qui analyse la réception est actif : le débitmètre répond aux sollicitations de l'ordinateur. Le vérin peut être commandé, les constantes internes peuvent être reprogrammées, et si l'ordinateur demande un téléchargement des données, le débitmètre répond qu'il est en veille et que le tableau contenant les données est vide. Cette fonctionnalité permet de s'assurer que le débitmètre fonctionne toujours.

▫ Le mode « Mesure » est le mode de fonctionnement pendant lequel la mesure est en cours. Le débitmètre passe du mode « Veille » au mode « Mesure » grâce à un basculement d'auget. Dès cet instant, des compteurs sont mis en fonction en même temps que la trame de l'information est mise en forme.

- Le compteur « Période » totalise les interruptions du timer programmable.
- Le compteur « Nombre de basculements » totalise le nombre de basculements de l'auget pendant une minute. Deux cas peuvent se produire :
 - la période entre deux basculements d'auget est inférieure à une minute : le compteur de période n'est pas remis à zéro et le compteur du nombre de basculements totalise les basculements d'auget. Au niveau de l'affichage, la moyenne de la période sur la minute écoulée est affichée. Les contenus des compteurs sont mémorisés dans la trame de la ligne qui sera enregistrée dans l'ordinateur ;
 - la période entre deux basculements d'auget est supérieure à une minute : si une mesure est disponible dans le tableau Résultats, elle est transférée dans l'ordinateur. Si le tableau est vide, une chaîne de caractères est émise vers l'ordinateur signifiant qu'une mesure est en cours, et qu'elle sera sans doute disponible lors de la prochaine minute. Si la période dépasse une valeur limite, paramétrée par défaut à 16 min, le débitmètre est mis en veille.
- La mise en forme de la trame : lorsqu'une mesure est disponible, un horodatage (nombre de jours, nombre d'heures et nombre de minutes de fonctionnement) débute la trame. Le champ suivant est la période entre deux basculements d'auget, suivi du nombre de basculements d'auget. La trame se termine par la masse mesurée par la balance. Tous les champs sont séparés par un point-virgule. A titre d'illustration, voici un extrait de fichier de mesure de ce débitmètre :

```

0J0:0:0; ;0;* Départ mesure * // Début du fichier : tous les compteurs sont à zéro
* Nacelle Basse * // Les commentaires sont encadrés par des étoiles (*)
* Tableau de données vide * // Fin de réponse du débitmètre quand le tableau est vide
* Mesure en cours * // Quand l'ordinateur interroge le débitmètre, la mesure est
* Mesure en cours * // en cours, mais pas encore disponible
0J0:3:0; 1663; 1; 9.215 kg // première mesure disponible : un seul basculement d'auget
* Tableau de données vide * // et période de 166,3 secondes
* Mesure en cours *
...
0J0:46:0; 684; 4; 9.245 kg // dans la minute précédente, il y a eu 4 basculements
* Tableau de données vide * // d'augets et les périodes cumulées sont de 68,4 secondes
0J0:47:0; 527; 3; 9.245 kg // l'eau commence à s'accumuler dans la bouteille
* Tableau de données vide *
0J0:48:0; 679; 4; 9.245 kg
* Tableau de données vide *
...
0J8:16:0; 9229; 1; 9.245 kg
* Tableau de données vide *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *

```



* *Mesure en cours* *
 * *Mesure en cours* *
 * *Mesure en cours* *
 * *Mesure en cours* *
 * *Mesure en cours* *
 * *Mesure en cours* *
 * *Mesure en cours* *
 * *Mesure en cours* *
 0J8:31:48; ; * *En veille* * // Au bout de 16 min d'inactivité, le débitmètre se met en
 * *Nacelle Haute* * // veille. La nacelle est replacée en position haute
 * *Tableau de données vide* * // Le tableau qui contient les données est vide
 * *En veille : Débit non mesurable* * // Le débitmètre est en veille, mais il répond à la demande de
 * *Tableau de données vide* * // l'ordinateur

- Le stockage de la trame. Quand la trame est prête, elle est stockée dans un tableau où sont disponibles les résultats. Ce tableau peut contenir 10 mesures.

✓ L'aiguillage et l'analyse de la réception du signal

- L'aiguillage des ports RS232 : le microcontrôleur qui équipe la carte électronique du débitmètre est un PIC 18F4620, et ne dispose que d'un seul port série. L'aiguillage est positionné par défaut sur l'ordinateur. Lors d'une interrogation de l'ordinateur, le débitmètre est en mesure de lui répondre. Si une mesure est en cours, à la minute où le débitmètre édite une mesure, l'aiguillage connecte la balance au débitmètre qui lui envoie une demande de mesure. La balance répond, et l'aiguillage revient en position initiale. Si l'ordinateur émet une demande pendant que l'aiguillage connecte le débitmètre à la balance, la demande est ignorée. Le tableau de stockage des trames de mesure permet de mémoriser jusqu'à 10 mesures.
- L'analyse de la réception : l'analyse de la réception est une fonction toujours active, quel que soit le mode dans lequel se trouve le débitmètre. Elle permet de différencier une instruction d'un opérande. Ainsi, il est possible de lire et de reprogrammer les paramètres fondamentaux du débitmètre (période de cumul des basculements d'auge : 1 min, période sans basculement avant mise en veille : 16 min) et aussi de contrôler la validité des trames reçues provenant de la balance.

✓ La commande du vérin

Le mode « Mesure » active le vérin et dépose la bouteille sur la balance. Si le vérin n'arrive pas à destination dans le laps de temps qui lui est imparti, le contrôleur du moteur à courant continu envoie un niveau logique au débitmètre lui indiquant un dysfonctionnement du vérin. Celui-ci est enregistré dans le fichier de données comme un commentaire.

La **Figure 7** représente une vue synthétique du projet Solidworks avec une photographie du débitmètre prêt à être installé.

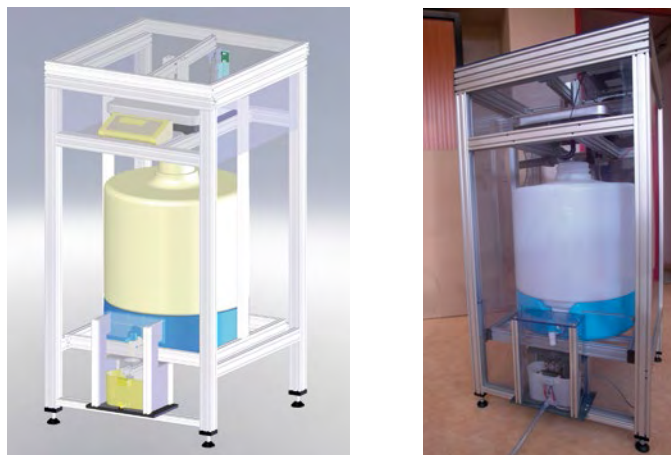


Figure 7. Photographies du projet Solidworks et du débitmètre terminé (photo : EMMAH).

Le débitmètre 450 L/h

Organisation générale

Ce débitmètre est conçu pour mesurer des débits couvrant une plage de mesure allant de 0 à 450 L/h soit un équivalent de précipitations de 0 à 95 mm/h. Son schéma général est donné **Figure 8**.

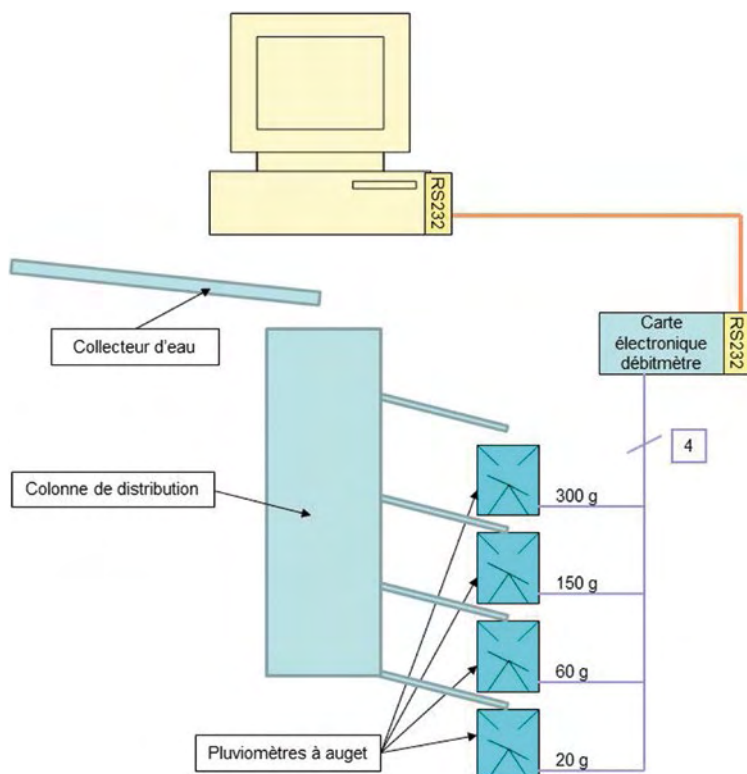


Figure 8. Schéma général du débitmètre 450 L/h.



L'eau drainée s'écoule dans le collecteur et tombe dans la colonne de distribution. Celle-ci est équipée de quatre ajutages qui limitent le débit vers quatre augets dont les capacités respectives sont de 20 g, 60 g, 150 g et 300 g. Le débitmètre mesure chaque intervalle de temps entre deux basculements d'auget sur une période d'une minute. Le débit total est la somme des débits mesurés. Toutes les minutes, le même ordinateur connecté au port série du débitmètre récupère les mesures en mémoire et les enregistre sur le disque dur. Si le débitmètre est en veille, l'ordinateur vérifie le bon fonctionnement de l'installation.

Principe de fonctionnement du débitmètre

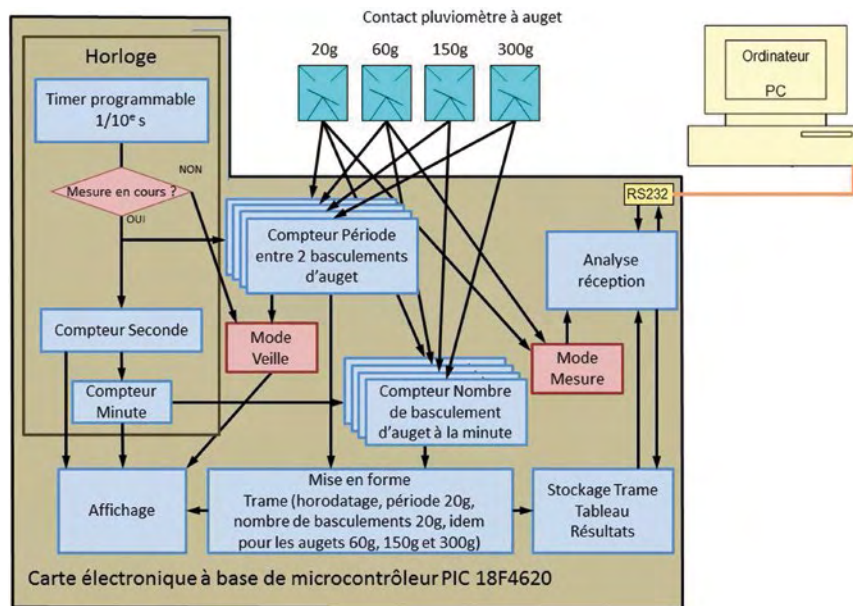


Figure 9. Organisation des fonctions sur la carte électronique du débitmètre 450 L/h.

La **Figure 9** représente l'organisation des fonctions mises en œuvre sur la carte électronique du débitmètre. Un microcontrôleur PIC 18F4620 gère son fonctionnement, son programme a été développé à l'aide de la plateforme MPLAB et du compilateur C18 de Microchip. Cette carte est connectée à :

- ✓ un ordinateur sous Windows XP. Le même programme écrit avec la plateforme LabView décrit précédemment dispose des mêmes fonctions pour ce débitmètre.
- ✓ un contact des pluviomètres à auget basculeur. Ils sont au nombre de quatre. A chaque fois qu'un auget est plein il bascule, et son contact associé se ferme fugitivement.

Le débitmètre est en mesure de fournir une mesure à un pas de temps paramétrable défini par défaut à 1 minute.

Les fonctions mises en œuvre dans le microcontrôleur sont identiques à celles décrites précédemment pour le débitmètre 150 L/h avec quelques variantes.

- ✓ L'horloge. Son fonctionnement est identique à celui du débitmètre 150 L/h (cf. ci-dessus).
- ✓ Les modes de fonctionnement. La carte électronique permet deux modes de fonctionnement : le mode « Veille » et le mode « Mesure ».
 - Le mode « Veille » est identique au précédent mais ne fait pas intervenir le verrin.

▫ Le mode « Mesure » est identique au précédent mais se déclenche dès le basculement de l'auget 20 g ou de l'auget 60 g. Les augets inactifs sont considérés en veille et leur compteur reste à zéro.

- Les compteurs « Période » totalisent les interruptions du timer programmable sur les augets actifs.
- Les compteurs « Nombre de basculements » totalisent le nombre de basculements des augets actifs pendant une minute. Deux cas peuvent se produire, identiques à ceux décrits précédemment avec une mise en veille du débitmètre lorsque la période entre deux basculements d'auget est supérieure à 90 min au lieu de 16 min.
- La mise en forme de la trame est identique mais comporte, à la suite, les périodes et les nombres de basculements des augets 20, 60, 150 puis 300 g. Le fonctionnement des augets est asynchrone, aussi pour renseigner la période de l'auget en veille, ou dont la mesure est en cours, un « XX » remplit le champ. Tous les champs sont séparés par un point-virgule. A titre d'illustration, voici un extrait de fichier de mesure de ce débitmètre :

```

0J0:0:0; ;0; ;0; ;0; ;0;* Départ mesure *           // Début du fichier : tous les compteurs sont à zéro
* Tableau de données vide *                          // Fin de réponse du débitmètre quand le tableau est vide
* Mesure en cours *                                  // Quand l'ordinateur interroge le débitmètre, la mesure est
* Mesure en cours *                                  // en cours, mais pas encore disponible
...                                                  // Les commentaires sont encadrés par des étoiles (*)
* Mesure en cours *
0J0:14:0; 8255; 1; XX; 0; XX; 0; XX; 0;              // première mesure disponible : un seul basculement d'auget
* Tableau de données vide *                          // après 14 min de fonctionnement. La période est de
* Mesure en cours *                                  // 825,5 secondes. Les autres augets ne sont pas actifs : « XX »
* Mesure en cours *                                  // remplit les champs « Période » et « 0 » indique qu'il n'y
...                                                  // a pas eu de basculement sur aucun des autres augets
3J1:19:0; 620; 6; XX; 0; XX; 0; XX; 0;
* Tableau de données vide *
3J1:20:0; 617; 6; XX; 1; XX; 0; XX; 0;              // L'auget de 20g a effectué 6 basculements et son compteur
* Tableau de données vide *                          // Période accumule 61,7 secondes. L'auget 60 g vient de
...                                                  // basculer
3J3:32:0; 627; 6; XX; 1; XX; 0; XX; 0;
* Tableau de données vide *
3J3:33:0; 552; 5; 4500; 1; XX; 0; XX; 0;            // Nouveau basculement de l'auget 60 g. La période est de 450 s
* Tableau de données vide *                          // A noter, cet extrait de mesure n'est pas issu du même fichier
3J3:34:0; 562; 5; XX; 1; XX; 0; XX; 0;            // que le précédent : les horodatages ne correspondent pas
* Tableau de données vide *
...
3J5:0:0; 678; 5; XX; 1; XX; 0; XX; 0;
* Tableau de données vide *
3J5:1:0; 546; 4; XX; 1; XX; 0; XX; 0;              // Après 90 minutes d'inactivité, l'auget 60 g est mis en veille
* Tableau de données vide *
3J5:2:0; 549; 4; XX; 0; XX; 0; XX; 0;              // Le nombre de basculement est repassé à zéro
* Tableau de données vide *
* Mesure en cours *
* Mesure en cours *
16J2:52:45; ; ; ; ; 1; XX; 0; XX; 0; XX; 0;        // Au bout de 90 min d'inactivité, le débitmètre se met en
* Tableau de données vide *                          // veille. Le tableau qui contient les données est vide
* En veille : débit non mesurable *                  // Le débitmètre est en veille, mais il répond à la demande de
* Tableau de données vide *                          // l'ordinateur
* En veille : débit non mesurable *
* Tableau de données vide *
* En veille : débit non mesurable *

```



- ✓ Le stockage de la trame est identique à celui décrit ci dessus.
- ✓ L'analyse de la réception. Cette fonction est toujours active, quel que soit le mode dans lequel se trouve le débitmètre. Elle permet de différencier une instruction d'un opérande. Ainsi, il est possible de reprogrammer les paramètres fondamentaux du débitmètre (période de cumul des basculements d'auget : 1 min, période sans basculement avant mise en veille : 90 min).

La **Figure 10** représente une vue synthétique du projet Solidworks et une photographie du débitmètre prêt à être installé.

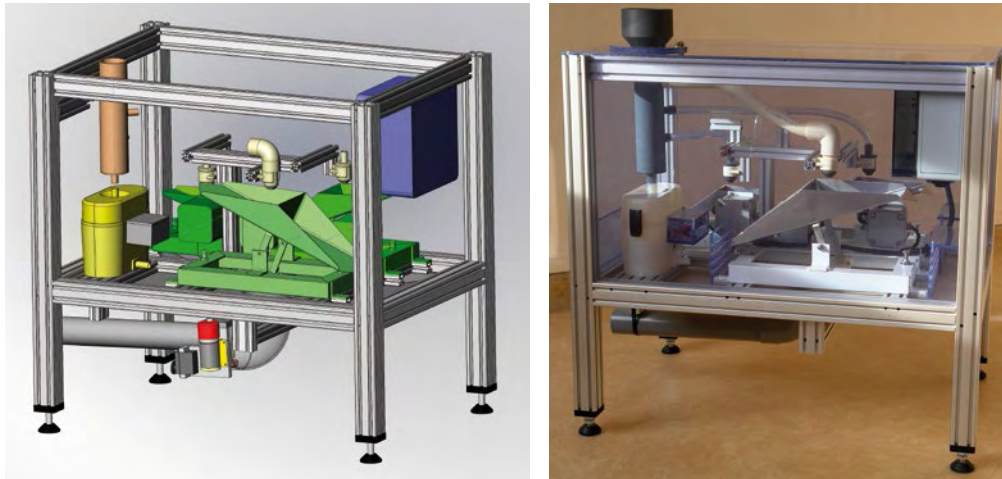


Figure 10. Photographies du projet Solidworks et du débitmètre terminé (photo : EMMAH).

Implantation sur site

L'implantation des deux débitmètres a nécessité la construction d'un ouvrage en béton pour positionner convenablement les instruments vis-à-vis des exutoires des collecteurs (**Figure 11**). Cet ouvrage a été dimensionné pour résister à la poussée d'Archimède liée à la proximité de la nappe en période de hautes eaux. La partie inférieure de l'ouvrage est équipée d'une pompe de relevage afin d'évacuer les eaux de drainage vers la nappe.

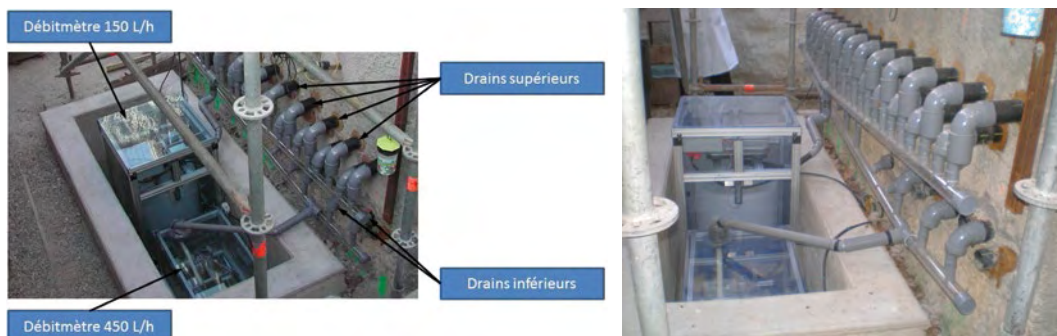


Figure 11. Photographies des drains et de leurs raccordements aux débitmètres (photo : EMMAH).

Acquisition des données

Un ordinateur sous Windows XP héberge le programme d'acquisition des données (**Figure 12**). Il est écrit en langage graphique sous Labview. Deux ports séries sont utilisés pour communiquer avec les deux débitmètres. L'application dispose de plusieurs onglets qui permettent :

- la configuration des débitmètres (définition des références, remise à zéro des compteurs internes et commande manuelle des fonctionnalités) ;
- la visualisation du tableau de bord de l'installation, et le calcul des débits toutes les minutes ;
- la visualisation des débits pour les deux séries de drains.

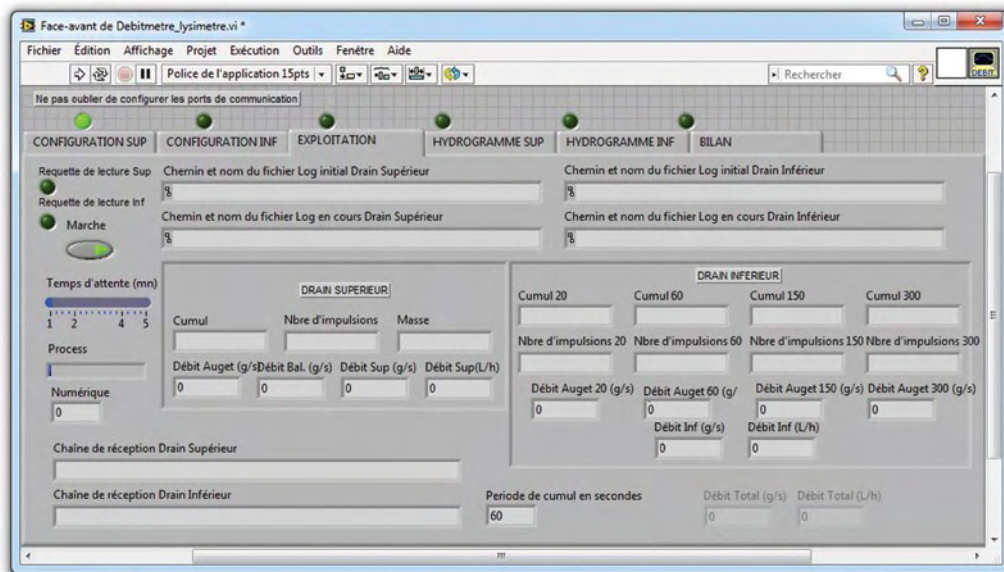


Figure 12. Vue de l'onglet « exploitation » de l'application.

Le volet « Bilan » n'est pas implémenté car le bilan hydrique ne peut être obtenu qu'avec un post-traitement des données recueillies. Il est en effet nécessaire de tenir compte des formules mathématiques de correction établies lors de l'étalonnage du matériel.

Procédure d'étalonnage

Le générateur de débit constant

Pour réaliser un étalonnage, il est nécessaire de générer un débit constant qui sera mesuré le plus précisément possible et qui servira d'étalon de travail afin de le comparer à la mesure du débitmètre à étalonner. Nous avons conçu un tel dispositif où l'opération s'effectue en circuit fermé (**Figure 13 et 14**).



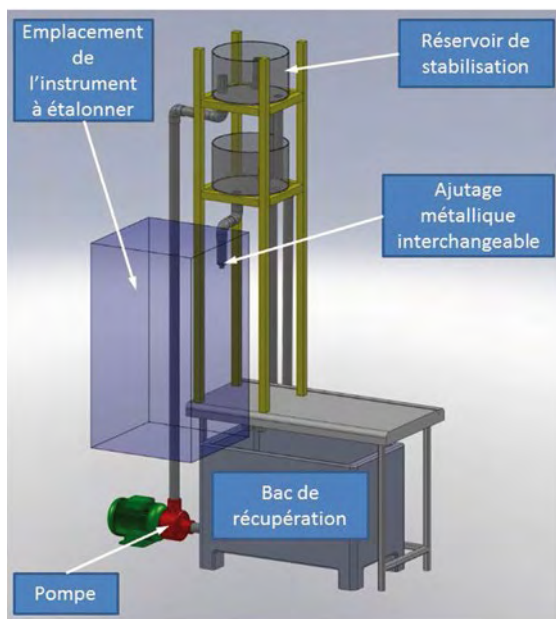


Figure 13. Vue de synthèse du système d'étalonnage des débitmètres.

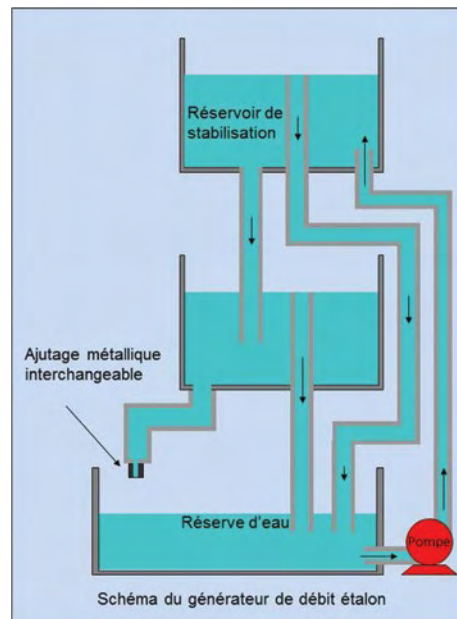


Figure 14. Schéma du générateur de débit étalon.

La pompe propulse l'eau dans le réservoir de stabilisation. Le niveau monte jusqu'à ce qu'il atteigne le niveau du déversoir. La partie basse du réservoir est équipée d'une conduite qui achemine l'eau dans un second réservoir. A ce niveau, le débit est constant, mais peut subir des variations liées aux turbulences générées dans le réservoir de stabilisation par la pompe. Le fonctionnement du deuxième bac est similaire au réservoir de stabilisation, mais l'écoulement de l'eau est stabilisé : les turbulences ne sont plus visibles. La surface eau/air est parfaitement régulière quel que soit le débit généré. La plage de débit couverte par le générateur va de 2 L/h à 800 L/h. La stabilité de la mesure est meilleure que 0,1 %.

La procédure d'étalonnage

Les étalonnages des deux débitmètres sont réalisés annuellement juste après leur maintenance. Après un nettoyage méticuleux, il faut vérifier la balance du débitmètre 150 L/h ainsi que l'équilibrage des augets des deux débitmètres. Ensuite, le débitmètre à étalonner est installé sous l'ajutage du générateur de débit, son exutoire devant alimenter le bac de récupération de l'installation. L'étalonnage consiste à comparer le débit indiqué par le débitmètre à celui qui traverse l'appareil. Le générateur de débit, grâce à un jeu d'ajutages usinés selon le besoin, peut fournir les débits suivants : 2 L/h, 10 L/h, 34 L/h, 52 L/h, 73 L/h, 100 L/h, 144 L/h, 250 L/h, 350 L/h, 440 L/h et 550 L/h. Dans un premier temps, le flux d'eau devant traverser le débitmètre est dévié pour être mesuré par un opérateur : il faut remplir d'eau un récipient en mesurant le temps de remplissage. La quantité d'eau ainsi prélevée est pesée. Ensuite la déviation est retirée et le flux d'eau traverse le débitmètre. La période d'acquisition dure 30 min pour accumuler un nombre suffisant de mesures. A l'issue de cette période, la déviation est remise en place et l'opérateur mesure à nouveau le débit. Une fiche Excel, spécialement développée pour l'étalonnage, permet de vérifier la validité des mesures manuelles ainsi que celles effectuées par le débitmètre. Une fiche récapitulative permet la détermination de la fonction mathématique pour transformer les données acquises en valeurs de débit utilisables par les chercheurs.

Résultats

Les étalonnages

Les courbes d'étalonnage représentent le coefficient multiplicatif à appliquer à la mesure relevée pour obtenir la valeur du débit qui traverse l'instrument (voir **Figures 15 et 17** pour les débitmètres 150 L/h et 450 L/h respectivement). Les courbes des coefficients de variation (écart type / moyenne des mesures) représentent la dispersion relative des mesures relevées pour des débits constants (voir **Figures 16 et 18** pour chacun des deux débitmètres).

Débitmètre 150 L/h

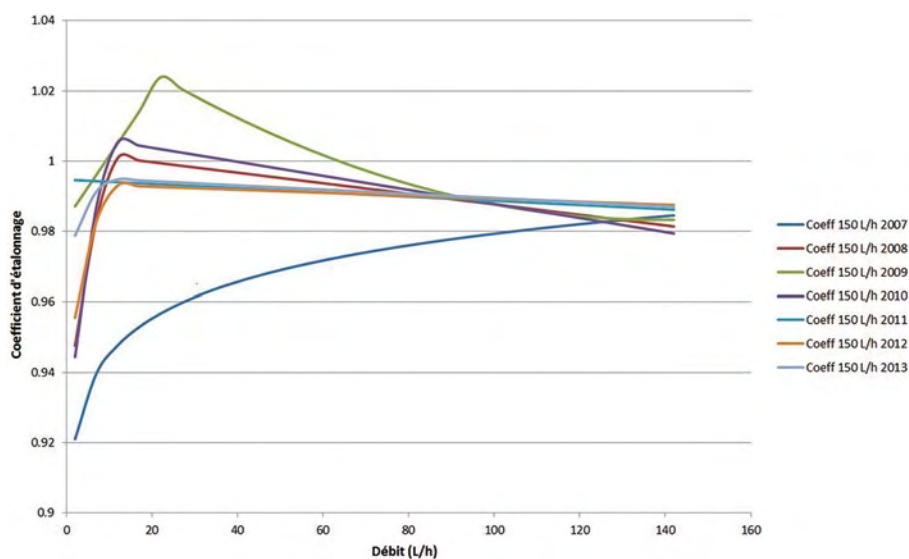


Figure 15. Comparatif des coefficients d'étalonnage en fonction du débit entre 2007 et 2013.

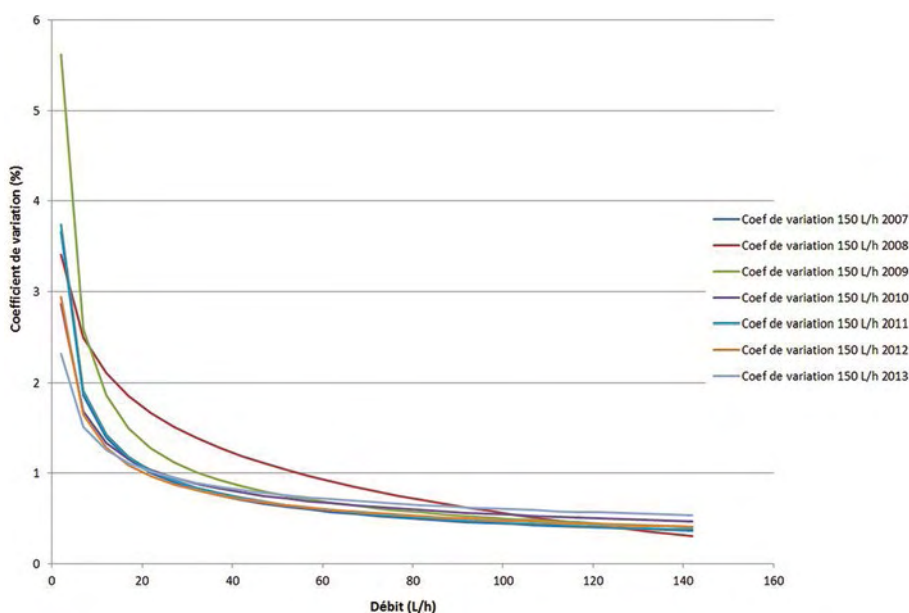


Figure 16. Comparatif des coefficients de variation en fonction du débit entre 2007 et 2013.



Le comparatif des coefficients d'étalonnage montre une allure similaire des différentes courbes. La singularité de la courbe d'étalonnage de 2007 n'est pas expliquée. La mesure des très faibles débits est délicate avec un coefficient de variation qui peut monter jusqu'à 6 %. L'origine de ce défaut provient de la balance qui indique une mesure oscillant entre 0 et 5 g. Ces informations viennent parasiter les mesures de l'auget. L'augmentation du débit montre que les coefficients de variation diminuent rapidement et deviennent inférieurs à 1 % à partir de 60 L/h, toutes courbes confondues et quelle que soit l'année de l'étalonnage.

Débitmètre 450 L/H

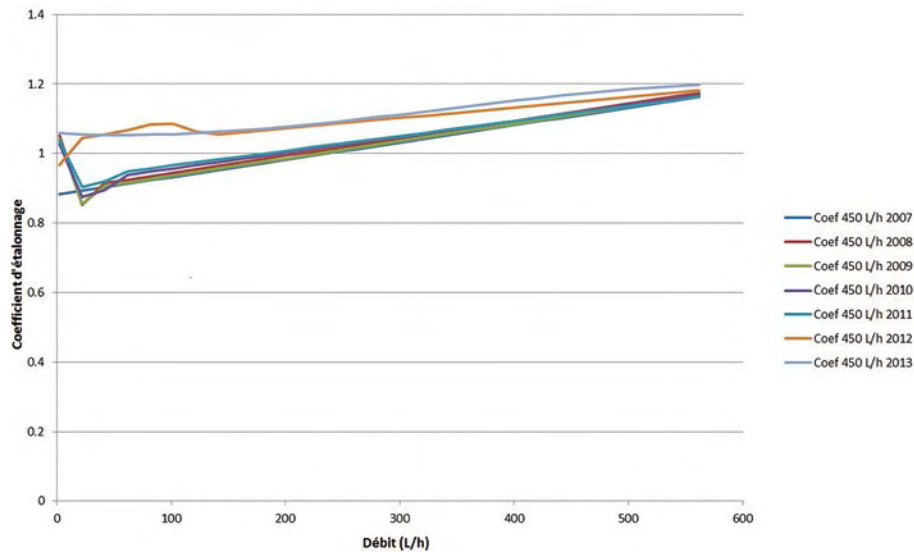


Figure 17. Comparatif des coefficients d'étalonnage en fonction des débits entre 2007 et 2013.

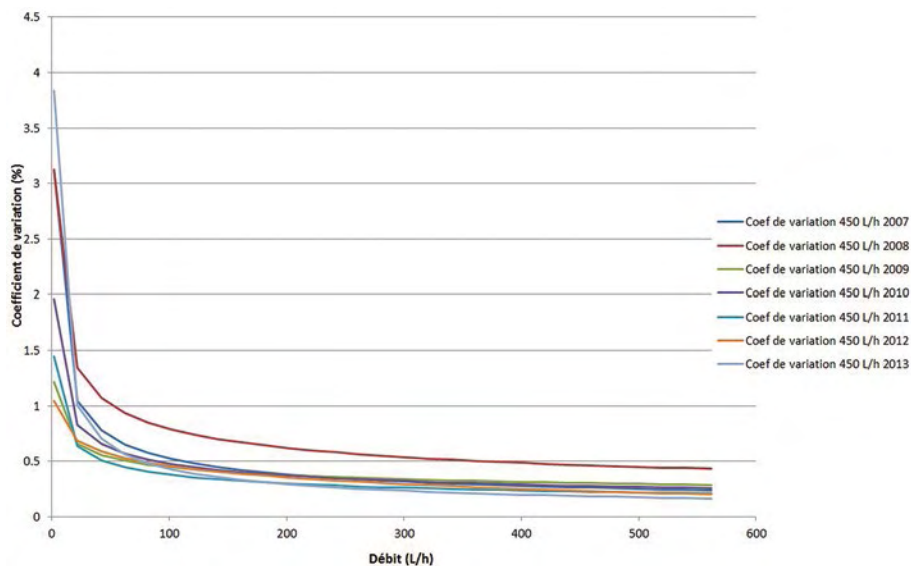


Figure 18. Comparatif des coefficients de variation en fonction du débit entre 2007 et 2013.

Le comparatif des coefficients d'étalonnage montre deux groupes de courbes. L'évolution du type de courbe s'explique par le démontage, en 2012, de l'ensemble des augets afin de nettoyer et lubrifier les pivots. La mesure des petits débits reste délicate, avec toutefois des coefficients de variation plus faibles que pour le débitmètre 150 L/h (inférieur à 4 %).

Les données obtenues

Nous présentons ici les résultats de mesures obtenues dans trois conditions d'humidité de sol différentes. L'indicateur d'humidité du sol est représenté par la notion de pluie efficace en hydrologie, calculée par la différence « Pluie – EvapoTranspiration Potentielle ». L'évolution de cet indicateur est donnée sur deux années hydrologiques contrastées (voir **Figure 19**). Trois épisodes pluvieux (novembre 2007, février 2008, janvier 2009) ont été individualisés, dont les caractéristiques sont données dans la **Figure 20**.

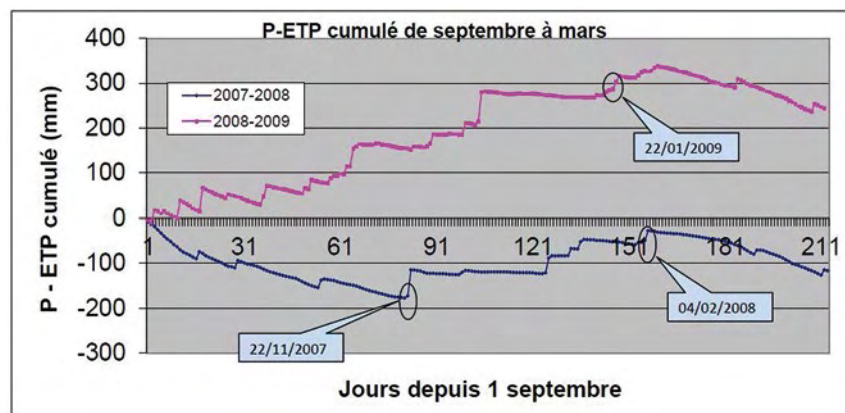


Figure 19. Représentation du signal « Pluie – EvapoTranspiration Potentielle » entre 2007 et 2009.

Episode	Temps de percée	Cumul de pluie	Cumul drainé		Coefficient de restitution (Q drainé / Q pluie)	Pluie – ETP (Sur les 15 jours précédents)
			Ecoulement préférentiel (drains haut) (mm)	Ecoulement global (drains bas) (mm)		
22/11/07	1 h 25	49,5 mm (en 15 heures)	Rien	1,89 mm (en 0 h 48)	3,82%	-19
04/02/08	5 h 54 (haut) 3 h 53 (bas)	24,8 mm (en 7 heures)	0,021 mm (en 3 h 13)	5,12 mm (en 28 jours)	20,7% 0,1% drains hauts 20,6% drains bas	-0,1
26/01/09	2 h 33 (haut) 0 h 48 (bas)	53,6 mm (en 9 jours)	23,1 mm (en 15 heures)	32 mm (en 10 jours)	102% 43% drains hauts 59% drains bas	34,1
		32 mm (en 11 heures)	55,1 mm - 21,6 mm = 33,5 mm		104%	

Figure 20. Récapitulatif des mesures.



Episode pluvieux du 22/11/2007 (Figures 21 et 22) :

le sol est sec (« Pluie – ETP » négatif). La quantité d'eau drainée est faible, ainsi que le coefficient de restitution (4 %). On peut remarquer une évolution semblable de la pluie et du drainage (Figure 22) et un temps de percée (temps nécessaire à une goutte d'eau pour traverser la hauteur du bloc de sol) très court : 1 h 25.

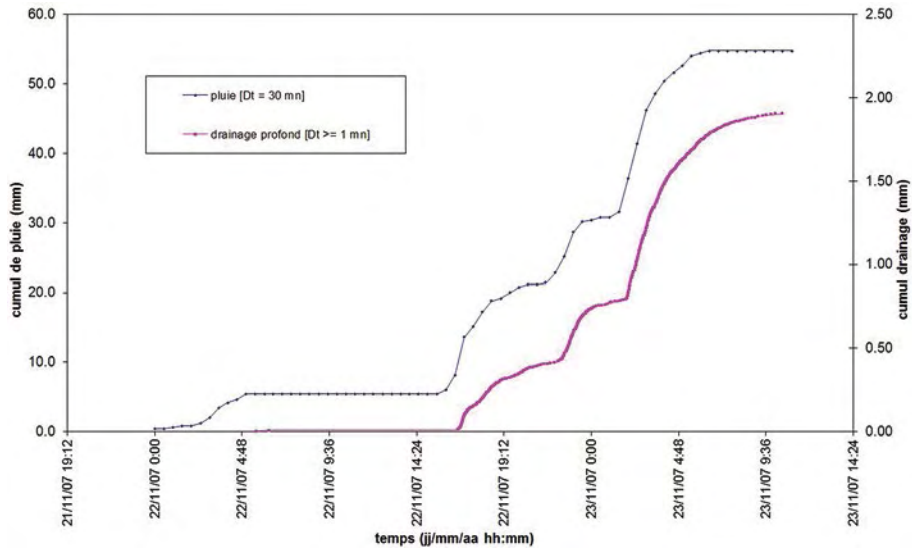


Figure 21. Cumul de pluie et de drainage en fonction du temps le 22/11/2007.

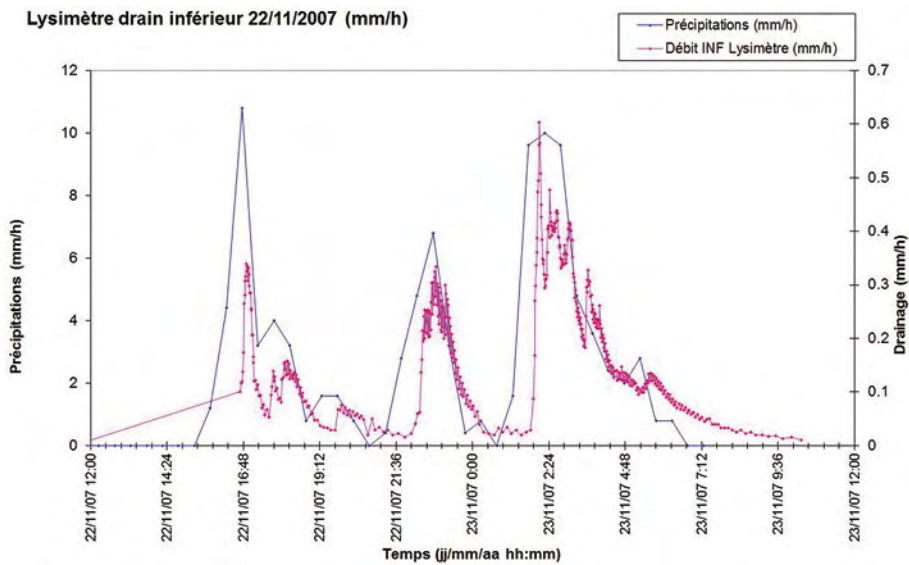


Figure 22. Précipitations et drainage en fonction du temps le 22/11/2007.

Episode pluvieux du 04/02/2008 (Figures 23 et 24) :

le sol est plus humide (« Pluie – ETP » proche de zéro). La quantité d'eau drainée reste faible, mais le coefficient de restitution est de 20 %. La restitution est longue (28 jours) et différée.

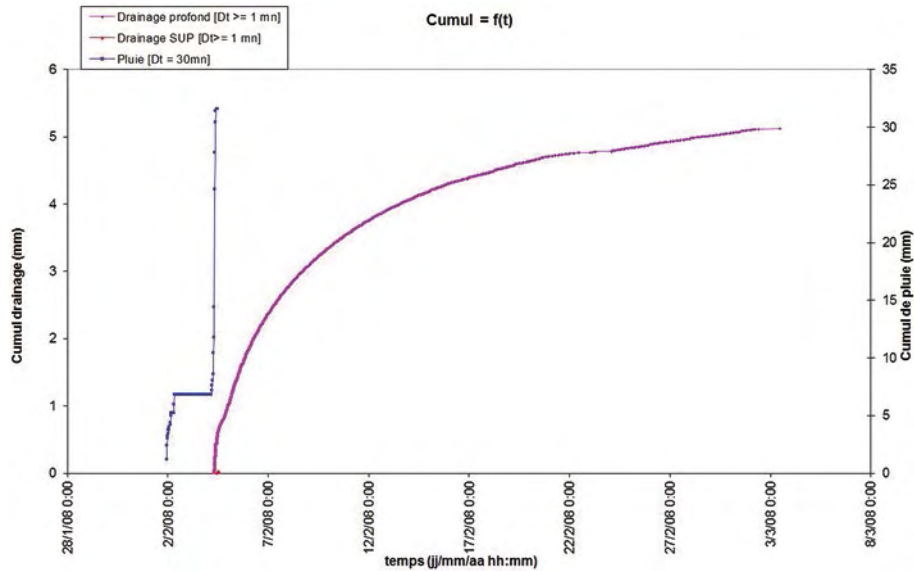


Figure 23. Cumul de pluie et de drainage en fonction du temps le 04/02/2008.

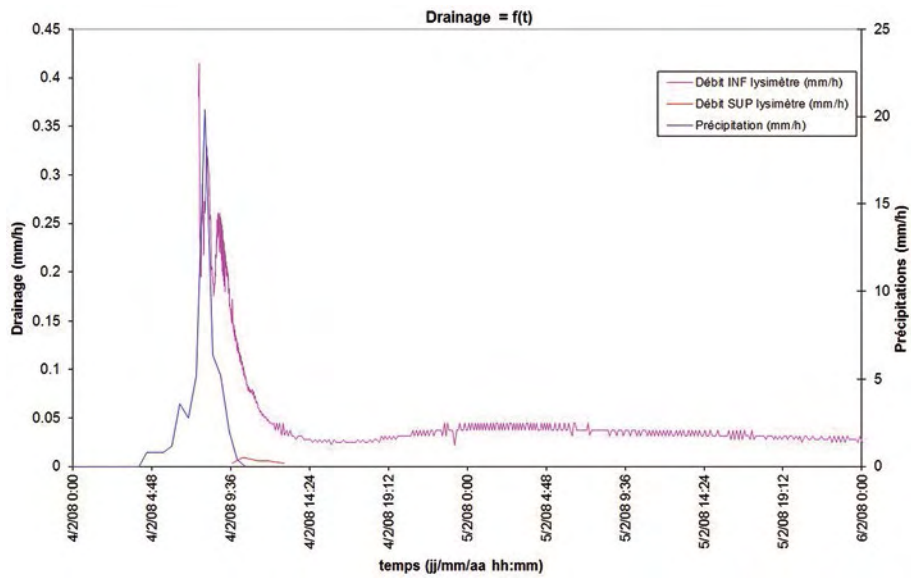


Figure 24. Précipitations et drainage en fonction du temps le 04/02/2008.



Episode pluvieux du 26/01/2009 (Figures 25 et 26) :

le sol est très humide (« Pluie – ETP » positif). La quantité d'eau drainée est importante et le coefficient de restitution est maximal (100 %). L'eau est transférée complètement. Des chemins préférentiels sont activés.

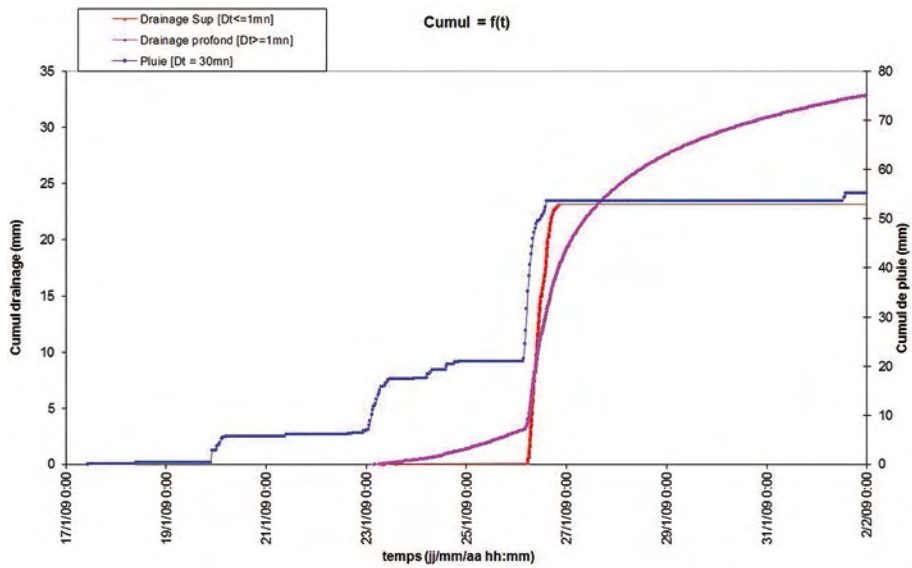


Figure 25. Cumul de pluie et de drainage en fonction du temps le 26/01/2009.

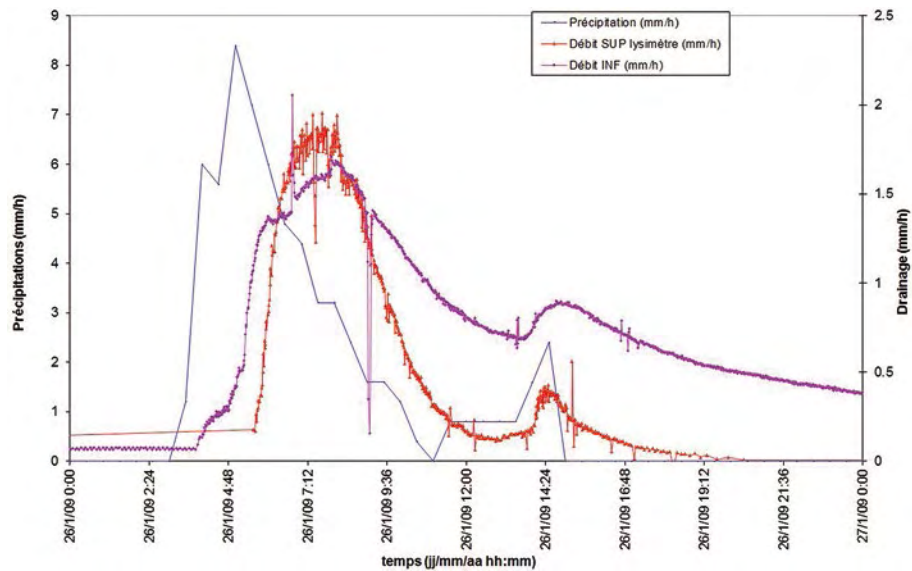


Figure 26. Précipitations et drainage en fonction du temps le 26/01/2009.

Retour d'expérience

L'analyse *a posteriori* de la phase de conception de ces deux débitmètres, et un recul de plusieurs années de fonctionnement sur site permettent de formuler plusieurs points sur le retour d'expérience.

Mise au point

Sensibilité aux orages : le disjoncteur qui sécurise l'installation électrique du lysimètre se déclenche un peu trop facilement pendant les orages. L'onduleur alimente l'installation jusqu'à ce que les batteries soient vides. Les conséquences sont les suivantes : un arrêt brutal de l'installation et une absence de mesures. Certaines améliorations ont été alors mises en œuvre : (i) nous avons effectué le remplacement du disjoncteur par un modèle industriel insensible aux perturbations électromagnétiques ; (ii) nous avons installé un programme superviseur d'onduleur sur l'ordinateur et avons assuré la connexion de l'ordinateur au réseau informatique pour permettre la retransmission par mail des alertes (absence secteur, tension batterie trop basse, etc.).

Sensibilité au colmatage : les événements pluvieux brutaux provoquent l'arrachement de particules plus ou moins fines de sol qui sont entraînées avec l'eau. Ces particules sont quasi inexistantes au niveau des drains supérieurs. En revanche, leurs dépôts sont bien visibles dans les collecteurs des drains inférieurs et dans le débitmètre 450 L/h. Lors d'épisodes cévenols intenses, comme le 18/12/2008, une coulée de boue est venue remplir la colonne de distribution des augets. Le remède a été la mise en place d'un bac de décantation en amont du système de mesure, pour séparer les particules solides de l'eau (**Figure 27**). Initialement, une bouteille était prévue pour maintenir le niveau constant dans la cuve, mais après quelques mois d'utilisation, nous avons constaté que l'évaporation de l'eau du bac était très faible, il n'était donc pas utile d'installer un système de rattrapage de niveau.

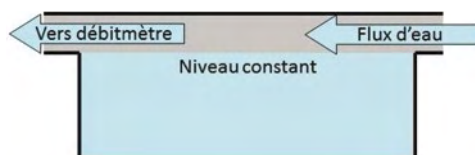


Figure 27. Schéma du bac de décantation.

Sensibilité aux... grenouilles ! En 2011, des enregistrements de mesure sont détectés sur le débitmètre 150 L/h alors que ni irrigation, ni précipitation ne sont constatées. Il s'avère que des grenouilles se sont installées dans l'auget sous la bouteille de 50 L. La mise en place d'une grille en métal déployée sous le débitmètre a permis de résoudre ce problème.

Ce qu'il faudrait refaire

Le principe même de fonctionnement du débitmètre 150 L/h est à revoir car la sensibilité de la balance à la dérive thermique introduit une incertitude sur ses mesures. Une solution serait de reprendre l'architecture du débitmètre 450 L/h. Nous pourrions aussi supprimer l'auget de 300 g car la plage de mesure restante serait suffisante pour répondre pleinement au besoin des drains supérieurs.



Ce qu'il reste à faire

Actuellement, le signal de pluie est acquis avec un pas de temps de 30 min sur un dispositif d'acquisition différent de celui des débitmètres. L'idéal serait d'acquérir ce signal avec la même discrétisation que les mesures de débit, soit une minute et en parfaite synchronisation avec la mesure des débitmètres. Cette adaptation serait reliée à l'ordinateur via un port série. L'application serait aussi à adapter pour être en capacité d'enregistrer ces nouvelles mesures.

Nous souhaitons aussi construire un banc d'étalonnage pérenne qui puisse prendre en charge la mesure du débit du générateur de débit sans que l'opérateur intervienne directement. Actuellement, cette mesure réalisée par l'opérateur est sensible à son savoir-faire.

Enfin, la simplification des fichiers de données permettra une extraction plus aisée des mesures, et donc un traitement plus rapide. Il faudra donc intégrer les formules d'étalonnages à l'application et enregistrer les données brutes et les mesures élaborées.

Conclusion

Ce travail de conception, de réalisation et d'installation a duré deux ans. Ce système de mesure fonctionne depuis 2007 en milieu extérieur. Il a la particularité de mesurer des débits sur des flux d'eau à surface libre avec une gamme de mesure (i) de zéro à 150 L/h, soit un équivalent de précipitation de 31 mm/h, pour le débitmètre connecté aux drains d'interception et (ii) de zéro à 450 L/h, soit un équivalent de précipitation de 95 mm/h, pour le débitmètre connecté aux drains contre les palplanches, avec une résolution de 20 g qui correspond à 0,004 mm de précipitation. Quelques modifications, comme le changement d'un disjoncteur de l'installation électrique, la mise en place d'un bac de décantation, et la pose de grilles « pare grenouilles » ont été nécessaires pour fiabiliser le fonctionnement de l'installation. Après 7 ans de fonctionnement, l'installation a subi deux pannes : la première, due à un impact de foudre proche du site de mesure, a nécessité le remplacement d'un microcontrôleur et d'une carte port série sur l'ordinateur ; et la deuxième, due à un ordinateur en fin de vie, a nécessité le remplacement de l'unité centrale.

Les mesures montrent une variabilité importante de comportements, et des temps de percée courts (quelques heures au maximum pour arriver à 2,5 m de profondeur). Ce temps de percée met en évidence la fragilité de la nappe phréatique vis-à-vis des risques de transfert de polluants mobiles avec l'eau. L'intérêt du dispositif débitométrique est qu'il est conçu pour échantillonner les eaux de drainage, permettant ainsi de suivre le cheminement des polluants, des particules et des bactéries depuis la surface du sol jusqu'à la nappe (voir par ex. Brillard et al., 2015). Ceci participe à l'amélioration de la compréhension du transport complexe dans les sols.

Références bibliographiques

Brillard J, Dupont C, Berge O, Dargaignaratz C, Oriol-Gagnier S, Doussan C, Broussolle V, Gillon M, Clavel T, Bérard A (2015) The water cycle, a potential source of the bacterial pathogen *Bacillus cereus*. BioMed Research International. Special issue "Contamination of ready-to-eat food by emerging and neglected pathogens and the role of environment" 2015, Article ID 356928, 15 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/356928>

Bogner C, Marc V, Di Pietro L, Doussan C, Ruy S, Gaudu JC, Perrin P, Cognard-Plancq AL, Emblanch C, Daniel M, Simler R (2004) Tracer study of infiltration in a field soil - simulated rainfall experiment on a large lysimeter. International Workshop on the Application of Isotope Techniques in Hydrological and Environmental Studies: 6-8 November 2004; Paris.

Chapelet A, Debroux M, Tison F, Di Pietro L, Doussan C, Joelson M, Marc V, Ruy S (2012) An experimental set up in Avignon (South of France) for the multiscale study of preferential flow in soil and of groundwater recharge processes; Colloque EuroSoil 2012, Bari, 2-6 juillet, (p. 1901).

Garel E, Marc V, Ruy S, Doussan C, Simler R, Daniel M, Tison F (2007) Infiltration processes and impact on shallow groundwater in agricultural dry land areas. International Symposium on Advances in Isotope Hydrology and its role in Sustainable Water Resources Management, (IHS-2007), May 2007, Vienne.

Margat J (2001) Exploitations et utilisations des eaux souterraines dans le monde, UNESCO - BRGM.



Méthodologie pour l'usage d'un drone de catégorie E pour la détection de la flavescence dorée

Moustafa Kasbari¹, Benoît Leroux²

Résumé. La détection des pieds de vigne atteints de flavescence dorée est devenue une priorité nationale. Dans ce cadre, ces travaux ont permis le développement d'une méthode d'observation rapide utilisant un aéronef télépiloté (drone). Le déploiement d'un drone sur une parcelle présentant des symptômes de jaunisse a permis de comparer les résultats d'une prospection aérienne avec ceux d'une prospection au sol. Nous démontrons que le drone offre un gain de confort pour le viticulteur, un gain de temps et une amélioration du rendement de la prospection fine. Enfin, ces travaux ont permis de développer des algorithmes de traitement de l'image et des protocoles de positionnement automatique pour le drone, facilitant la recherche de symptômes sur une parcelle et la géolocalisation automatique des pieds de vigne suspects.

Mots clés : drone, UAV, RPAS, législation, flavescence dorée

Introduction

Depuis 2008, le CEEMA (Centre d'essais et d'études pour modèles autonomes) travaille au développement de systèmes autonomes pour les marchés civils. La particularité de notre approche consiste en l'intégration de briques technologiques indépendantes pour fabriquer un RPAS (remotly piloted aircraft system, ou système aérien piloté à distance) qui soit parfaitement adapté aux missions pour lesquelles il a été conçu. Nous affirmons ainsi qu'à chaque usage métier correspond une configuration et que le RPAS standard n'existe pas. Dans le présent article et à des fins de simplification, nous avons choisi de remplacer le mot « RPAS » par le mot moins précis mais plus usité « drone ».

Dans le cas du marché de l'agriculture, nous nous sommes intéressés à la possibilité d'automatisation de la détection de la flavescence dorée par un drone. Pour ce faire, nous avons, lors de la campagne de 2014, sélectionné une parcelle de vigne rouge dans le vignoble de la Sainte Victoire (13) et comparé nos résultats à ceux obtenus lors d'une prospection fine à pied dirigée par les services de la FREDON PACA (Fédération régionale de défense contre les organismes nuisibles Provence Alpes Côte d'Azur). La méthodologie employée et les résultats obtenus sont présentés dans cet article.

Problématique

La flavescence dorée (Constant et Lernould, 2014) est une maladie de la vigne qui se transmet de pied en pied par un insecte : la cicadelle (Chuche, 2010). L'agent responsable de la contamination est un phytoplasme (Carle et al., 2011) qui se multiplie dans la vigne, y circule et s'y conserve à vie. En ce sens, la contamination de la vigne est irréversible et conduit à la mort du pied.

Sachant que la propagation de la maladie d'une année à l'autre se fait selon un facteur dix (Salar et al., 2013) (10 pieds contaminés en année N donnent 100 pieds contaminés l'année N+1), la détection de cette maladie qui menace tout le vignoble français est devenue une priorité nationale.

Par ailleurs, les symptômes ne sont visibles que sur une courte période précédant les vendanges, ce qui ne laisse que peu de temps aux agriculteurs et aux services de l'Etat pour mener des campagnes de prospection.

1. CEEMA, 6581 Route de Rians, F-83910 Pourrières, France; Kasbari@gmail.com

2. DICT, 22 Bld Emile Loubet, F-13710 Fuveau, France

L'objet de ce travail est de proposer et de valider une méthodologie de mesure afin d'automatiser la détection des symptômes au champ.

Méthodologie

Symptôme des pieds flavescents

Un pied de vigne atteint par la flavescence dorée développe simultanément trois types de symptômes (Walter, 2000) : la coloration du feuillage (rougissement sur cépage rouge, jaunissement sur cépage blanc), le flétrissement des baies et le non aoûtement du bois (endurcissement au froid). D'autres maladies à jaunisse développent ces mêmes symptômes, et leur observation ne pourra être qu'un indice de la présence de la maladie ; dans tous les cas, un prélèvement et un test en laboratoire seront nécessaires pour confirmer la présence ou non de flavescence dorée.

Détection des symptômes

Habituellement, la prospection se fait à pied ou en quad par des techniciens qui scrutent la vigne pour tenter de détecter les symptômes de la maladie. Mais les contraintes liées à ce fastidieux travail d'observation répétitif et en pleine chaleur conduisent parfois à des loupés, laissant dans la nature des pieds infectés non localisés.

Notre travail propose l'utilisation d'un système autonome aérien, ou drone, pour simplifier et automatiser la détection de ces symptômes. L'œil humain est remplacé par une caméra visible haute résolution embarquée sur un drone, afin de maximiser la surface de vigne analysée par jour.

Dans la première partie de notre méthode, le drone parcourt automatiquement la parcelle étudiée pendant que le technicien observe les images sur son ordinateur et géolocalise les pieds de vigne suspects.

Dans la deuxième partie (non présentée dans cet article), le traitement automatique de l'information relayée au sol permet l'automatisation de la géolocalisation des pieds de vigne suspects.

Règlementation pour l'utilisation d'un drone

L'usage des drones en France est réglementé. Il faut rappeler qu'un opérateur qui souhaite utiliser un drone pour une activité autre que le loisir ou la compétition doit s'enregistrer à la DGAC (Direction générale de l'aviation civile) en déposant un *Manuel d'Activité Particulière* et posséder une autorisation préfectorale selon le travail aérien envisagé (Arrêté du 11 avril 2012). Le caractère ponctuel ou expérimental des études menées n'exonère pas l'opérateur de ces démarches.

Description du matériel

Le matériel utilisé a été loué à la société DICT (Drone Innovation Conseils & Technics, société spécialisée dans la R&D et le conseil sur les marchés du drone civil). Construit autour d'une technologie de type MikroKopter, il permet d'embarquer un appareil photo Sony NEX5 avec une autonomie réelle de 15 min tout en maintenant une réserve d'autonomie de 2 min (**Figure 1**).





Figure 1. Drone et appareil photographique utilisés dans l'expérimentation (photos : Leroux, DICT).

L'appareil photo dispose d'un capteur CMOS Exmor de 14 millions de pixels et d'une liaison haute fréquence dans la bande des 5,8 GHz pour transmettre les images en temps réel vers l'écran de l'opérateur.

Description de la parcelle et préparation de la mission

La parcelle de vigne analysée a été identifiée par les services de la FREDON PACA comme présentant des symptômes de jaunisse. Elle se situe dans le Var entre les villages de Trets (13) et de Saint-Maximin la Sainte-Baume (83).

Elle est identifiée par un contour noir dans la **Figure 2**. La parcelle a une surface de 5000 m². Elle est composée de 18 rangées de vigne rouge espacées de 2,50 m, contenant chacune 105 pieds. Elle comporte, selon le technicien en charge de cette zone, huit pieds suspects identifiés lors d'une prospection fine exécutée à pied par l'équipe du vignoble.



Figure 2. Image satellite et photographie aérienne basse altitude de la parcelle étudiée (photo : Leroux, DICT).

Le secteur envisagé pour la mission est, sur le plan aéronautique, une zone à fort trafic. L'extrait de carte aéronautique représenté **Figure 3** montre la multitude d'espaces et de routes que comporte le secteur. En outre, des zones réglementées, civiles, militaires, dangereuses (en rouge sur le dessin) rendent le survol de la parcelle délicat. Nous avons donc soigneusement préparé la mission en contactant les gestionnaires des zones concernées et en informant les services de la circulation aérienne civile (DGAC) et militaire (DIRCAM) de cette mission.



Figure 3. Extrait de la carte aéronautique France Sud-Est. Secteur Sainte-Baume / R95.

La mission elle-même consiste en un survol basse altitude (inférieure à 30 m) de la parcelle, en mode automatique. Le programme implémenté dans le drone permet un maillage du terrain dans le sens des rangées, afin que chaque rangée puisse être observée automatiquement sur la capture d'écran (Figure 4).



Figure 4. Capture d'écran de l'interface graphique du logiciel de navigation du drone.



Résultats et analyse

La **Figure 5** montre le drone en cours de mission (cercle rouge) ainsi qu'un pied de vigne suspect (flèche rouge).



Figure 5. Photographie aérienne du drone en cours de mission. Localisation d'un pied de vigne suspect et image agrandie des feuilles rougies (photo : Kasbari, CEEMA).

Le technicien peut, en temps réel, repérer les symptômes sur les feuilles des pieds de vigne et zoomer sur les images afin d'améliorer leur reconnaissance.

Le **Tableau 1** montre la comparaison des résultats obtenus entre la prospection aérienne et la prospection à pied.

La vitesse de déplacement de l'aéronef permet de traiter de plus grandes surfaces dans un même temps. L'image haute définition permet d'identifier sans aucune fatigue les symptômes de la maladie. Lorsque le technicien identifie un pied suspect, il peut déclencher la géolocalisation de la photographie et les coordonnées GPS sont alors enregistrées dans un fichier de type CSV (comma-separated values) avec le numéro d'ordre de la photographie.

Tableau 1. Résultats obtenus par prospection à pied et par drone

Analyse sur 1 ha	Temps	Nombre de pieds suspects
Prospection avec un drone	36 min	24
Prospection à pied	105 min	16

L'expérience montre plusieurs avantages à l'usage de cette technique. D'une part, le temps nécessaire au traitement de la parcelle est près de trois fois plus court avec un drone, d'autre part le nombre de pieds suspects identifiés est 50% supérieur au nombre de pieds de vigne suspects détectés lors d'une prospection à pied.

Il faut par ailleurs noter qu'un contrôle plus méticuleux à pied permet *a posteriori* de retrouver l'ensemble des pieds identifiés par le drone. La prospection par voie aérienne est donc plus complète (**Tableau 2**).

Tableau 2. Comparaison des avantages et inconvénients de la prospection à pied et par drone

	Forces	Faiblesses
Prospection avec un drone	<ul style="list-style-type: none"> - Temps d'analyse - Répétabilité - Coût 	<ul style="list-style-type: none"> - Législation - Autonomie - Météo
Prospection à pied	<ul style="list-style-type: none"> - Facilité de mise en œuvre - Simplicité 	<ul style="list-style-type: none"> - Temps d'analyse - Coût - Pénibilité

Conclusion et perspectives

La flavescence dorée est une maladie à quarantaine incurable qui nécessite une détection systématique qui est fastidieuse mais obligatoire. Cette étude a montré que l'utilisation d'un drone permet de gagner un facteur 3 dans le temps nécessaire au traitement d'une parcelle par rapport à une méthode traditionnelle de prospection à pied. Les résultats de dénombrement montrent que la méthode aérienne conduit à un taux de détection 50 % plus efficace que la détection au sol et à une géolocalisation précise des pieds de vignes suspects. Pour autant, le développement d'un algorithme de reconnaissance automatique des symptômes sur l'image reste à parfaire. Le lien avec l'autopilote pour un positionnement automatisé du drone doit encore être validé par une campagne de tests complémentaires.

Références bibliographiques

Carle P, Malembic-Maher S, Arricau-Bouvery N, Desque D, Eveillard S, Carrere S, Foissac X (2011) Flavescence dorée phytoplasma genome : a metabolism oriented towards glycolysis and protein degradation. *Bull Insectol* **64** : S13-S14.

Chuche J (2010) Comportement de *Scaphoideus titanus*, conséquences spatiales et démographiques. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux 2, 216 p.

Constant N, Lernoald J (2014) Gestion de la flavescence dorée dans la viticulture biologique.

Salar P, Charenton C, Foissac X, Malembic-Maher S (2013) Multiplication kinetics of flavescence dorée phytoplasma in broad bean. Effect of phytoplasma strain and temperature. *Eur J Plant Pathol* **135** : 371-381.

Walter B, Boudon-Padiou E, Ridé M, Walter B (2000). Les maladies à virus, bactéries phytoplasmes et de la vigne. Bordeaux, Féret, 191 p.

Arrêtés du 11 avril 2012 « relatif à la conception des aéronefs civils qui circulent sans aucune personne à bord, aux conditions de leur emploi et sur les capacités requises des personnes qui les utilisent (<http://www.legifrance.gouv.fr>)

DGAC , <http://www.developpement-durable.gouv.fr/-Aviation-legere-generale-et,1699-.html>

DIRCAM, <http://www.dircam.air.defense.gouv.fr/dia/>



Dispositif de mesure des profils verticaux de CO₂ et de vapeur d'eau en forêt, avec étalonnage automatique de l'analyseur IRGA

Patrick Gross¹

Résumé. Un dispositif automatique de mesure de concentration de CO₂ et de vapeur d'eau à sept hauteurs différentes dans la forêt a été conçu pour estimer le stockage de CO₂ dans toutes les couches de la canopée. Un ensemble d'électrovannes et de pompes, couplé à un analyseur de gaz infrarouge (IRGA) LI840 pour le CO₂ et le H₂O et une centrale d'acquisition CR1000, mesurent séquentiellement la concentration de ces gaz aux sept hauteurs, sur un cycle de 2 min. Une séquence d'étalonnage automatique de cet analyseur a été ajoutée afin d'inter-calibrer ce dernier avec l'analyseur IRGA dédié à la mesure des flux par Eddy covariance.

Mots clés : mesure concentration CO₂ H₂O, IRGA, profil vertical, étalonnage automatique



Figure 1. Tour à flux en forêt domaniale de Hesse (57) (photo : P. Gross)

1. INRA, UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie forestières, F-54280 Champenoux, France ; gross@nancy.inra.fr

Introduction

Le flux gazeux de CO_2 mesuré au-dessus des forêts est la résultante de deux flux contraires : assimilation chlorophyllienne et respiration de l'écosystème. La mesure par la méthode Eddy covariance (EC) du flux nocturne de CO_2 permet d'évaluer la respiration de la forêt, à condition qu'une turbulence suffisante existe pour entraîner les gaz produits par le sol et les arbres vers le point de mesure, situé au-dessus de la forêt. Dans le cas contraire, le CO_2 est stocké dans les couches basses de la canopée ou entraîné par advection horizontale. C'est pour mesurer ce stockage et partiellement corriger ainsi les flux de CO_2 obtenus par EC, que nous avons développé ce système automatisé.

Dispositif de mesure

Le cœur du dispositif (**Figure 2**) est constitué d'un analyseur IRGA LICOR LI840 couplé à une centrale d'acquisition Campbell CR1000 par liaison RS232. L'échantillonnage séquentiel de chaque niveau est réalisé avec un jeu d'électrovannes NO (normalement ouvertes) et NC (normalement fermées) commandées par quatre sorties logiques (C1 à C4 de la CR1000) via une interface réalisée au laboratoire. On a ajouté au cycle de mesure, à un intervalle paramétrable, une séquence d'étalonnage automatique du LI840 (zéro et pente) par le passage d'azote gazeux (zéro), d'un mélange étalon $\text{N}_2/\text{O}_2/\text{CO}_2$ (pente CO_2) et d'un gaz issu d'un générateur de point de rosée (pente H_2O). Afin de réguler le débit du gaz circulant dans l'analyseur, on a conçu un ensemble de mesure et de régulation avec un débitmètre massique à faible coût et une pompe à membrane.

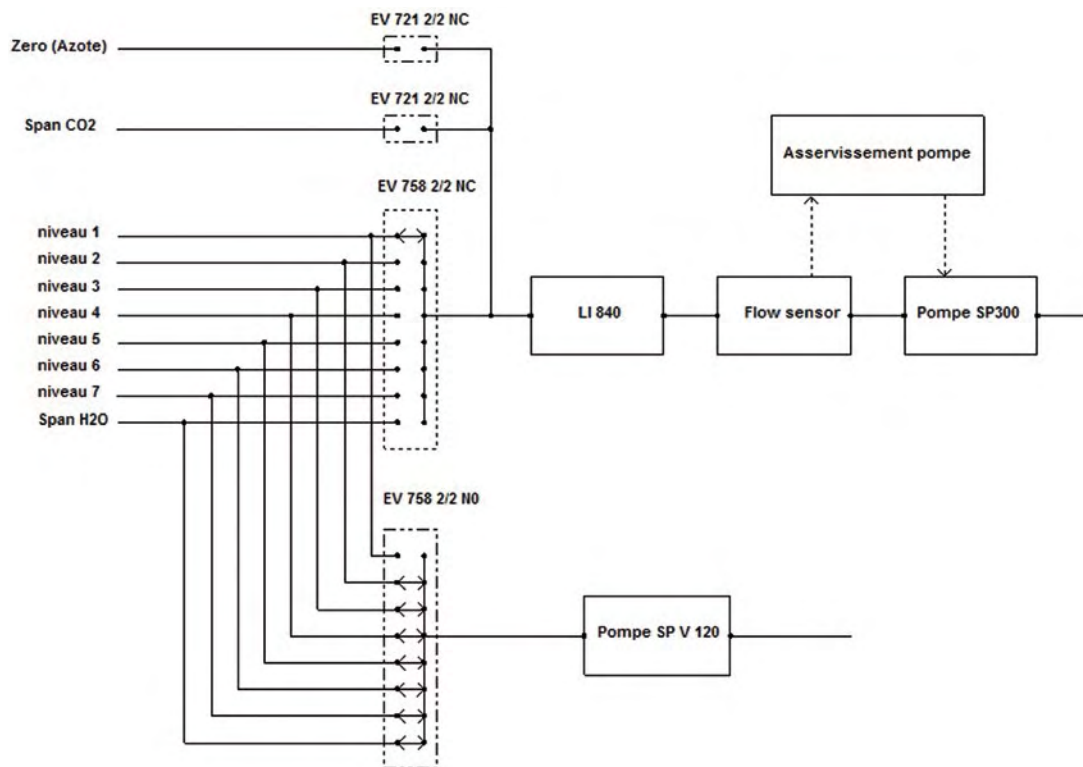


Figure 2. Schéma pneumatique du dispositif, avec le niveau 1 mesuré par l'analyseur.

La mesure de fraction molaire de CO₂ et H₂O aux différents niveaux s'effectue de manière séquentielle. Afin de minimiser le temps de réponse dû à la purge lors d'un changement de niveau, toutes les lignes qui ne sont pas en phase de prélèvement sont connectées à une seconde pompe simultanément (**Figure 2**).

Les électrovannes (EV) sont des modèles Matrix : BX 721 101 C 2 12, BX 758 8EV A2 12 et BX 758 8EV C2 12, avec respectivement 1 entrée-1 sortie NC, 8 entrées-1 sortie NO et 8 entrées-1 sortie NC, les deux dernières références sont optimisées pour un travail en dépression (**Figure 3**). La tension d'alimentation est de 12 V DC et la puissance de chaque bobine de 1,4 W.



Figure 3. De gauche à droite BX721 (*2), BX 758 NO et BX758 NC.
Tous les tuyaux ne sont pas raccordés (photo : P. Gross).



Figure 4. Filtre PALL ACRO 50
avec sa protection anti-pluie
(photo : P. Gross).

La sortie commune du groupe des huit EV normalement fermées (EV 758 2/2 NC) est connectée à l'analyseur LICOR LI840, placé en amont du débitmètre massique et de la pompe 1 (Schwarzer Precision SP 300) asservie, tous deux intégrés dans une régulation Proportionnelle-Intégrale. Seul le niveau sélectionné par les EV NC est mesuré. L'analyseur est protégé des poussières par un filtre PALL ACRO 50 membrane PTFE 0,2 µm.

La sortie du groupe des huit EV normalement ouvertes (EV 758 2/2 NO) est connectée à la pompe 2 (Schwarzer Precision SPV 120), plus puissante pour aspirer, en permanence, les six lignes de prélèvement des niveaux non sélectionnés pour l'analyse. Ainsi, seul le volume mort en aval des électrovannes NC est à purger à la commutation ; dix secondes suffisent pour cette opération. La dernière entrée du groupe NC (EV7) est utilisée pour l'étalonnage de l'analyseur LICOR LI840 avec un générateur de point de rosée (pente H₂O). Deux électrovannes simples (EV 721 2/2 NC) complètent le dispositif pour l'étalonnage avec le mélange N₂/O₂/CO₂ (pente CO₂) et l'azote pur (zéro).

Les tubes des lignes de prélèvement en SYNFLEX 1300 6 mm sont protégés de l'intrusion de poussières par des filtres à membrane PTFE 1 µm (PALL ACRO 50) en tête de ligne. Une protection anti-pluie a été ajoutée en utilisant un pilulier percé et taraudé 1/8 NPT (**Figure 4**). L'influence des variations des pertes de charge sur les mesures de concentrations dues aux différences de longueur des lignes

d'échantillonnage et d'encrassement des filtres en amont est minimisée par la régulation de débit dans l'analyseur LI840. La mesure de la pression et du débit de gaz dans cet analyseur, pour chaque niveau échantillonné, permet de suivre l'état des filtres et de les changer avant un colmatage excessif. Une dépression relative supérieure à 5 kPa est considérée comme critique.

Les tubes en SYNFLEX sont regroupés dans une gaine isolante Armaflex XG de diamètre intérieur 28 mm et d'épaisseur 19 mm. Trois câbles pour thermocouple Cuivre-Constantan y sont également insérés : deux sont utilisés comme câble chauffant pour éviter des phénomènes de condensation, la soudure chaude du troisième, placée à mi-chemin dans la gaine est utilisée pour la mesure de la température effective dans celle-ci.

Déroulement de la mesure

Un profil vertical est effectué toutes les 15 min et ne dure que 2 min grâce au temps de purge réduit à chaque changement de niveau. L'évolution journalière montre bien la différence de concentration en CO₂ entre les différents niveaux (**Figure 5**). On remarque notamment la décroissance rapide de concentration des niveaux bas en début de matinée, lorsque le vent se lève et vient mélanger l'air du couvert avec l'air atmosphérique, ce qui correspond à un déstockage de CO₂.

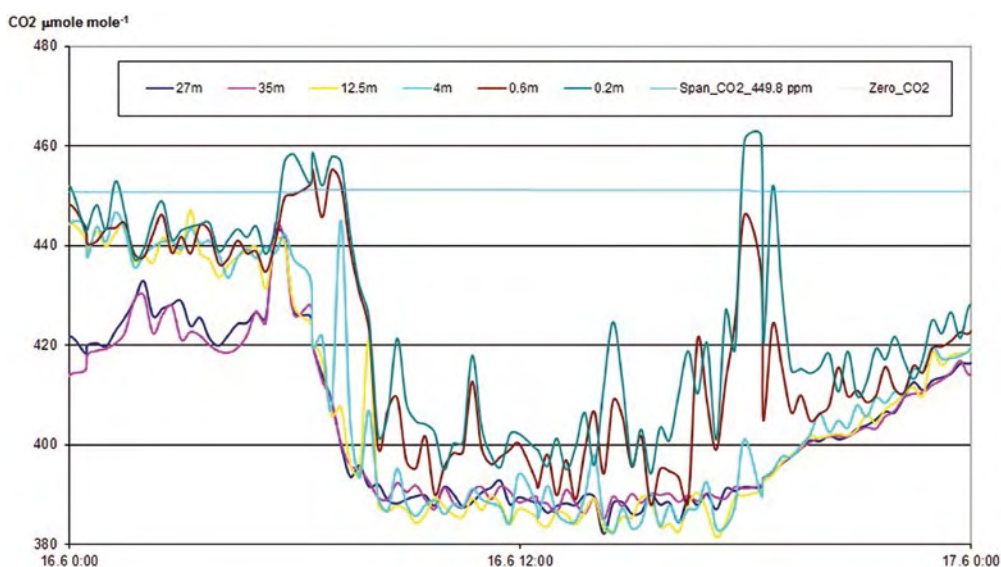


Figure 5. Evolution de la fraction molaire de CO₂ mesurée à 6 niveaux différents. La forêt a une hauteur moyenne de 18 m. L'analyseur Eddy covariance est installé à 27 m, c'est notre niveau de référence.

Correction des flux

L'intensité de la turbulence entraînant les flux de matière verticalement, de l'écosystème vers l'atmosphère, peut être caractérisée par la vitesse de friction u^* , calculée à partir des trois composantes du vecteur vent. D'une manière générale, la turbulence est réduite la nuit, favorisant (i) le stockage de CO₂ dans l'air du couvert et (ii) les phénomènes de stratification ou d'advection horizontale de CO₂ dans le cas de situation en pente ou de gradient thermique. L'étude de notre site nous a permis de définir un seuil critique de 0,11 m. s⁻¹ pour u^* , en dessous duquel l'advection latérale devient prépondérante : dans

|||||

ce cas, le CO_2 produit par le sol et les arbres est emporté latéralement et le stockage est faible, aucune correction n'est possible : ces données de flux seront repérées et éliminées lors du post-traitement. Heureusement, cette situation n'est pas systématique en période nocturne, les mesures de respiration de l'écosystème sont valides pour $u^* > 0,11 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. La journée du 16 juin (**Figure 6**) est un exemple de succession de situations où les corrections sont possibles ou non. Par convention, un flux de CO_2 est compté positif s'il sort de l'écosystème (respiration) et négatif s'il est entrant (photosynthèse). En début de journée, u^* est inférieur au seuil critique, aucune correction ne peut être apportée, la donnée de flux est éliminée. Puis au lever du jour, la turbulence s'active : un stockage négatif est mesuré, correspondant à un déstockage de CO_2 de l'écosystème vers l'atmosphère. Ce flux sortant est en opposition avec le flux de photosynthèse entrant. La correction nous amène à diminuer la valeur algébrique du flux net FCO_2 :

$$\text{flux corrigé} = \text{FCO}_2 + \text{stockage CO}_2.$$

A contrario, en soirée, en l'absence de photosynthèse, un stockage positif apparaît, ce qui corrige à la hausse le flux respiratoire (positif). Cela permet ensuite les calculs des flux de respiration et d'assimilation de l'écosystème et d'affiner leur modélisation en réponse aux facteurs climatiques.

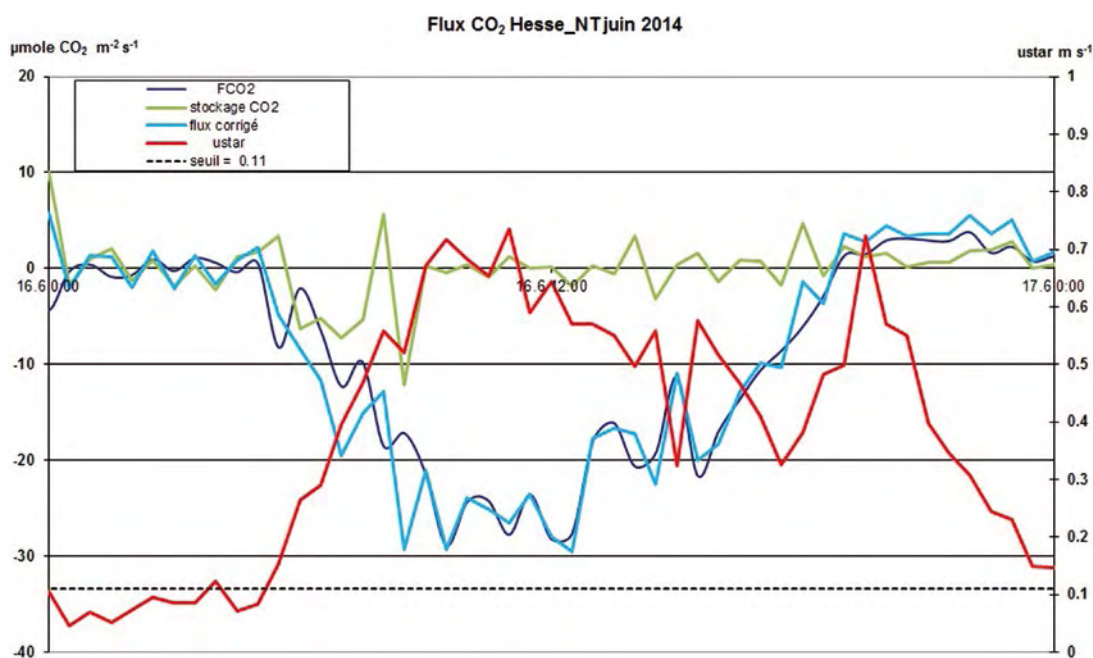


Figure 6. Evolution du flux journalier de CO_2 . La courbe bleu foncé correspond au flux mesuré par EC, la courbe bleu clair représente le flux corrigé. Le déstockage matinal est bien visible lorsque u^* (ustar) dépasse le seuil de 0,11. Le flux nocturne est valide pour la soirée.

Étalonnage de l'analyseur LI840

Un cycle de mesure pour le profil vertical sur sept niveaux dure 2 min. L'étalonnage automatique de l'analyseur LICOR LI840 est programmé à la suite toutes les 180 min et dure 11 min (cette période est paramétrable dans le logiciel de la centrale CR1000). La chronologie de la séquence d'étalonnage a été choisie afin d'en optimiser la durée : la réponse de l'analyseur aux variations de teneurs en H_2O est beaucoup plus lente que celle liée aux variations de teneurs en CO_2 (à cause de l'eau adsorbée dans

le système), le passage du mélange gazeux $N_2/O_2/CO_2$ permet de commencer à désorber l'humidité sur les parois des canalisations et de l'analyseur, ce processus se terminera ensuite lors du passage du gaz zéro (**Figures 7 et 8**).

A l'issue de l'étalonnage, aucun réglage n'est apporté à l'analyseur : les indications sont mémorisées et serviront à corriger les mesures de profil ultérieurement. Cette stratégie simplifie le suivi des dérives éventuelles du LI840, qui se sont avérées faibles, aussi bien pour l'offset que pour la pente.

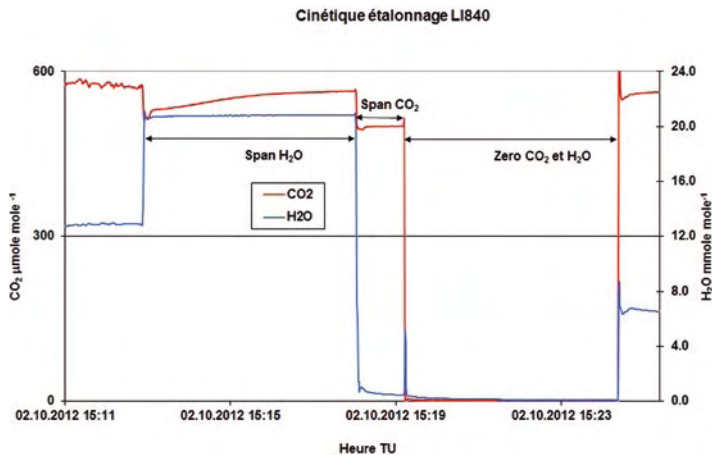


Figure 7. Cinétique d'étalonnage de l'analyseur LI840 : pente H_2O , pente CO_2 et zéro.

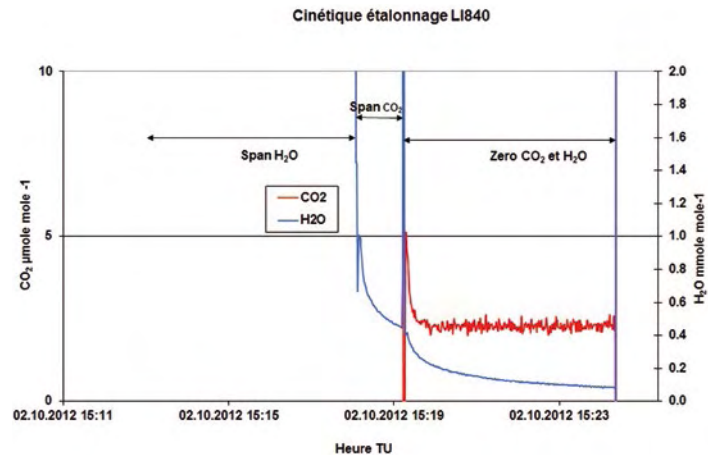


Figure 8. Zoom sur l'étalonnage du zéro.

Intercomparaison LI840 / LI7200

L'analyseur LICOR LI7200 utilisé pour la mesure des flux par la méthode Eddy covariance est installé sur une tour à 27 m de hauteur. L'étalonnage de cet appareil est possible pour la partie CO_2 en tirant une ligne acheminant les gaz étalons depuis les bouteilles situées dans un module au sol jusqu'à l'analyseur. Par contre, la vapeur d'eau nécessite beaucoup de précautions pour éviter des problèmes de condensation dans les tubes de transport, et il serait difficile d'installer un générateur de point de rosée sur la tour à flux. C'est pourquoi nous avons choisi de placer un point de prélèvement du profil à proximité de l'analyseur LI7200. La comparaison des mesures de fraction molaire de H_2O (courbes brune et violette **Figure 9**) a mis en évidence la nécessité de filtrer l'air et de chauffer le tube d'échantillonnage de l'analyseur LI7200, alors que le constructeur jugeait ces précautions superflues. Leur mise en place le 20 janvier 2014 a apporté une amélioration notable des mesures de fraction molaire en vapeur d'eau (**Figure 9**).



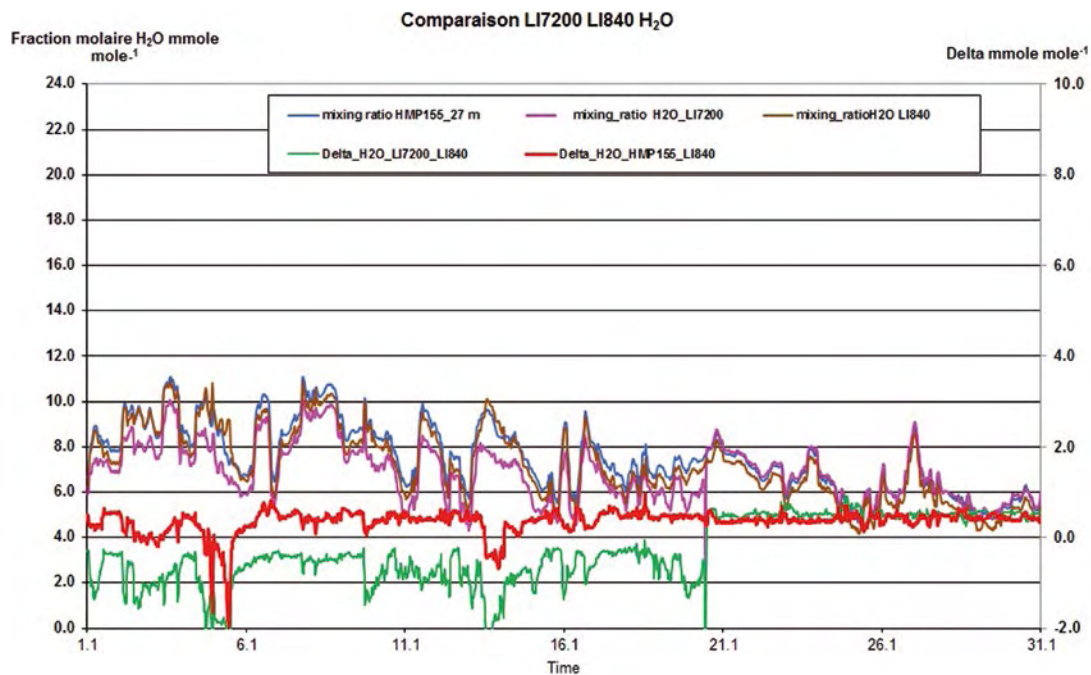


Figure 9. Comparaison des indications des analyseurs LI7200 et LI840 et d'un hygromètre Vaisala HMP155 pour la mesure de fraction molaire de vapeur d'eau ; le chauffage et la filtration pour le LI7200 ont été mis en service le 20 janvier 2014.

Conclusion

Ce dispositif, en fonctionnement en forêt depuis juillet 2012, a bien répondu aux objectifs visés et nous autorise à réévaluer environ 50 % des flux nocturnes de CO_2 . La comparaison des mesures LI7200-LI840 est maintenant systématique, afin de corriger les flux de CO_2 et de vapeur d'eau calculés en cas de dérive de l'analyseur LI7200. Les dysfonctionnements sont repérés et solutionnés beaucoup plus rapidement.

Références bibliographiques

Bonnefond JM, Berbigier P, Nouvellon Y, Rouspard O (2002) La mesure des flux de gaz par la méthode des covariances turbulentes ou « Eddy covariance ». www.inra.fr/j2m

Gross P (2002) Etalonnage des capteurs d'humidité à l'aide d'un générateur de point de rosée. www.inra.fr/j2m

Annexe technique

Commande électrovannes profils CO₂ et H₂O

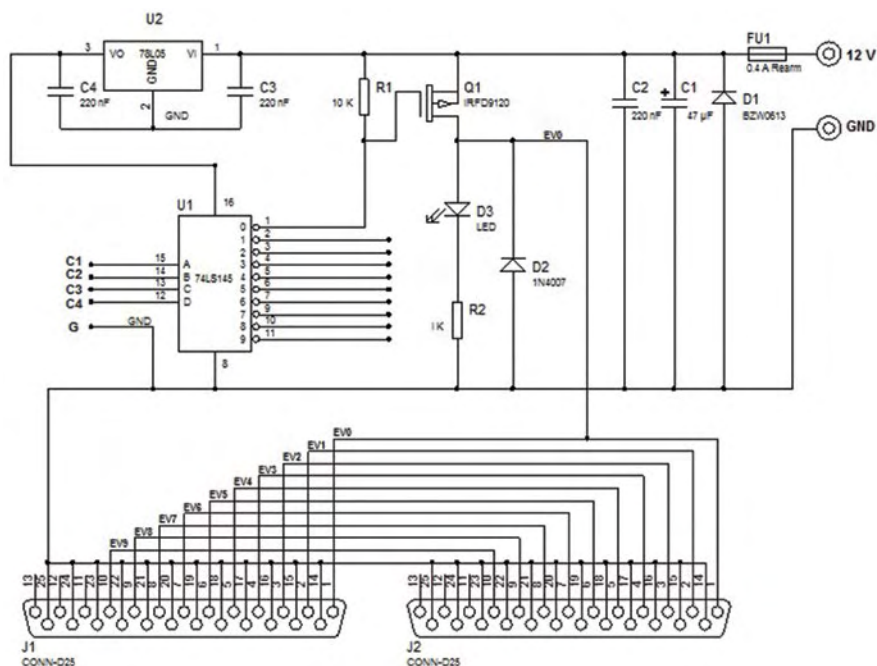


Figure 10. Schéma de principe de la commande des électrovannes. Pour ne pas alourdir la figure, l'ensemble R1, R2, Q1, D2 et D3 n'a été représenté qu'une seule fois, il faut le répéter autant de fois que d'électrovannes supplémentaires : dans notre cas, 10 au total.

Un décodeur BCD vers décimal 74LS145 sélectionne une seule électrovanne parmi les dix possibles, suivant le code binaire en entrée, voir **Tableau 1**. La sortie collecteur ouvert facilite l'interfaçage avec les transistors MOSFET canal P IRFD9120. Pour d'autres utilisations, ne pas dépasser un courant de 1 A dans ces transistors, en modifiant éventuellement le calibre du fusible réarmable.

Tableau 1. Table de vérité

Entrées				Electrovannes sélectionnées	Broches DB25 + -
C4	C3	C2	C1		
0	0	0	0	EV0	1-14
0	0	0	1	EV1	2-15
0	0	1	0	EV2	3-16
0	0	1	1	EV3	4-17
0	1	0	0	EV4	5-18
0	1	0	1	EV5	6-19
0	1	1	0	EV6	7-20
0	1	1	1	EV7	8-21
1	0	0	0	EV8	9-22
1	0	0	1	EV9	10-23

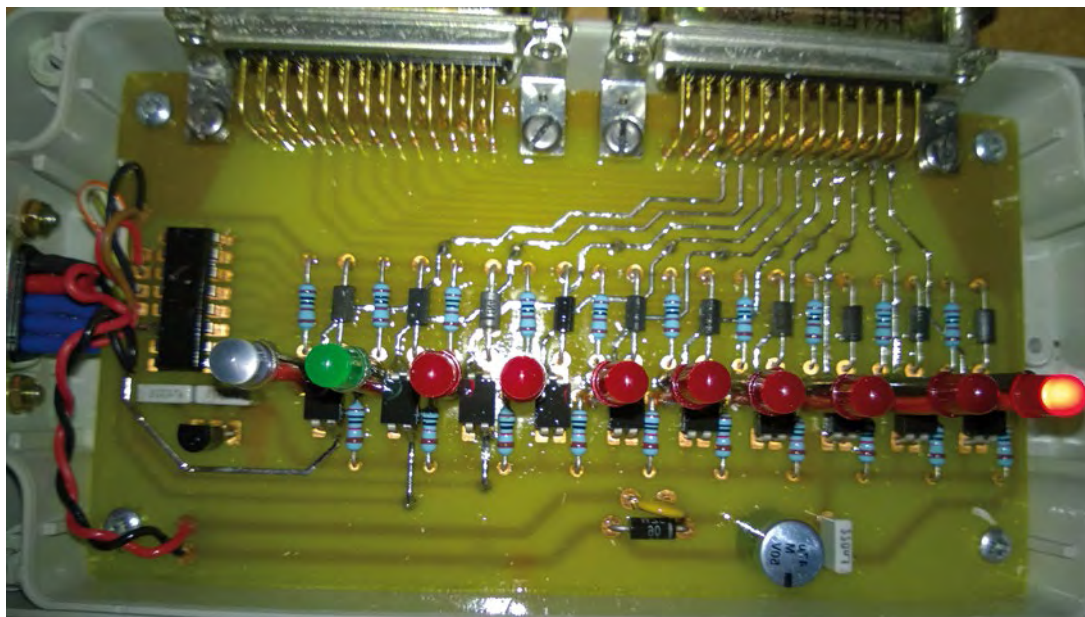


Figure 11. Implantation des composants de la carte de commande des électrovannes (photo : P Gross).

Régulation de débit dans l'analyseur LI840

Nous avons choisi un capteur de débit faible coût : First Sensor WBAL001DU, la réponse n'est pas linéaire, mais sans conséquence pour fonctionner à un seul point de consigne (0,85 l. min⁻¹). Ce capteur est alimenté en + 10 V par IC3 MAX 666. L'action Proportionnelle-Intégrale est réalisée par les deux amplificateurs IC1 et IC2, le transistor MOSFET Q1 effectue l'interface avec la pompe à membrane. L'alimentation secteur classique a été remplacée récemment par un module convertisseur 12 V en entrée et ± 12 V en sortie pour fonctionner sur batterie+panneau solaire.

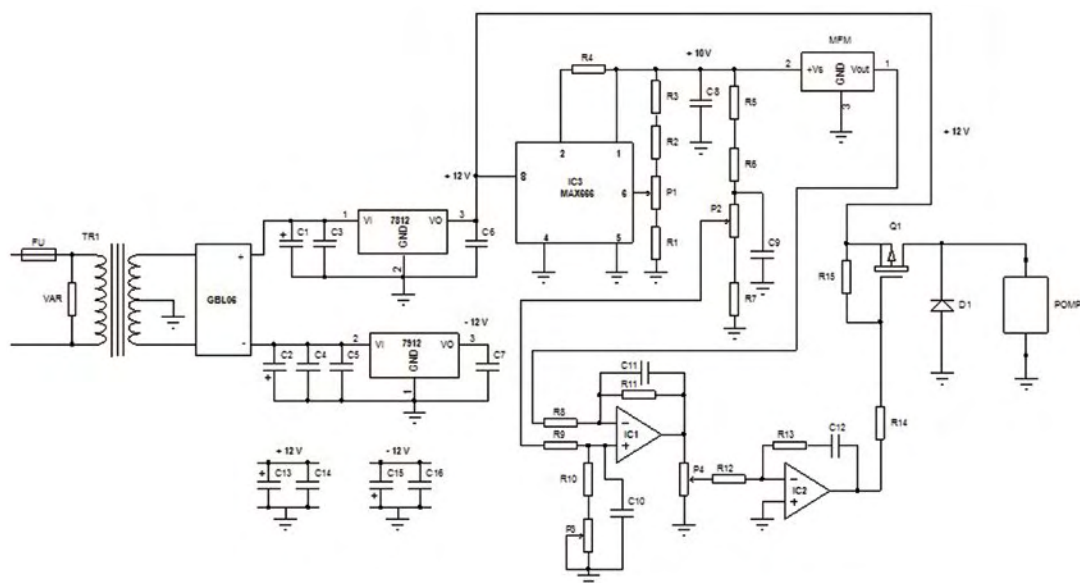


Figure 12. Schéma de principe de la régulation de débit.

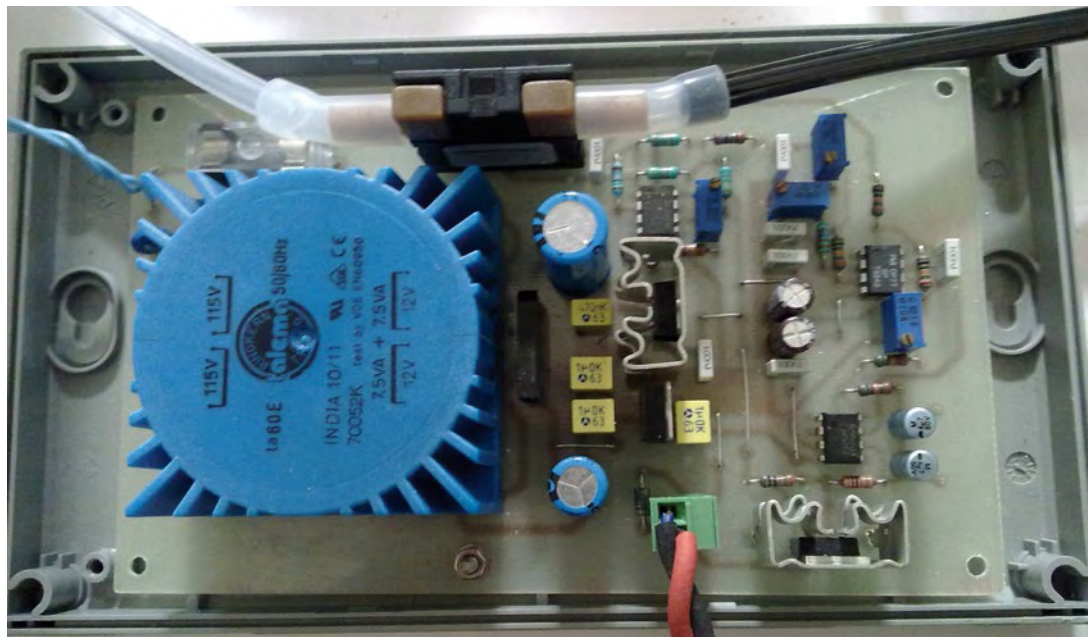


Figure 13. Implantation des composants de la carte de régulation de débit (photo : P Gross).



Système RFID de détection automatique de poissons

Bastien Sacré¹, Julien Tremblay^{2,3}, Didier Azam^{2,3}, Frédéric Marchand^{2,3}, Dominique Huteau⁴

Résumé. Dans un objectif de suivi des poissons migrateurs, l'U3E¹, au travers du programme européen Morfish (Interreg Manche), en collaboration avec le GWCT⁵, a fait l'acquisition de nouveaux types de lecteurs RFID (radio frequency identification). Ces lecteurs ont été installés à des points stratégiques sur les rivières normandes et bretonnes de l'Observatoire de recherche en environnement sur le poisson diadrome dans les fleuves côtiers (ORE Dia PFC). Ils permettent de suivre les déplacements des poissons lors de leurs migrations. Pour être identifiés par ces dispositifs, les poissons sont, au préalable, équipés d'un transpondeur de type PIT Tag (passive integrated transponder Tag : étiquette transpondeur passif intégré), capsule de verre composée d'une puce électronique et d'une antenne que l'on injecte dans le poisson. L'objectif de cet article est de permettre à une personne ayant peu de connaissances en électronique d'installer ce type de lecteur RFID. Ce système est aussi adaptable aux autres animaux aquatiques ou terrestres pouvant être équipés de Tag RFID.

Mots clés : marquage individuel, PIT Tag, RFID, antenne, suivi des populations, poissons migrateurs

Introduction

Capter, marquer pour identifier individuellement des animaux, les relâcher dans leur milieu puis les recapter au cours de leur vie permet le suivi d'un échantillon de population et de ce fait, d'obtenir des informations fiables sur le fonctionnement de cette population. Cette reconnaissance individuelle se fait à l'aide d'un marquage spécifique qui attribue un code d'identification unique pour chaque individu. Les animaux capturés une première fois sont marqués et seront suivis tout au long de leur vie à travers plusieurs occasions de recapture ou de détection, au cours desquelles leur présence et leurs caractéristiques sont enregistrées. Dans le cadre du suivi de population de poissons, l'utilisation du marquage individuel est appliquée pour connaître leurs traits d'histoire de vie (croissance, âge de maturité, reproduction...) mais aussi leur dispersion dans le cours d'eau (pour leur alimentation ou leur reproduction). En France, et plus particulièrement à l'INRA de Rennes, l'emploi de PIT Tag RFID en milieu naturel sur les saumons et truites a débuté dans les années 1990 (Ombredane, 1998). Cette technologie a permis de marquer de manière pérenne des poissons de petite taille. Les observations en milieu naturel et les essais réalisés en conditions contrôlées ont permis de définir une taille minimale (57 mm) à partir de laquelle il est possible de marquer les poissons à l'aide de PIT TAG de 12 mm, sans conséquence sur leur santé. À cette taille, le taux de rétention des marques est supérieur à 96 % en milieu naturel (Ombredane, 1998) alors qu'il est de 80 % en bassin de stabulation (Acolas, 2007). La lecture des PIT Tags nécessite des lecteurs générant un champ électromagnétique qui alimente le PIT Tag ce qui permet de récupérer l'identifiant de ce dernier. La détection de ces marques s'est longtemps faite uniquement à l'aide de lecteurs manuels qui nécessitent de capturer le poisson pour le scanner. Le déploiement de systèmes RFID permettant de détecter les poissons marqués directement dans leur milieu naturel est plus récent. Il est apparu au sein de l'INRA au milieu des années 90 mais à cette période les distances de détection, dues à la méthode de transmission, ne permettaient d'équiper que des petits cours d'eau peu profonds. L'amélioration de cette technologie avec l'arrivée de nouvelles normes (1996) ainsi que sa démocratisation, permettent aujourd'hui d'équiper des cours d'eau plus conséquents et de répondre à certaines questions scientifiques sur la biologie, les déplacements des poissons mais aussi, d'évaluer l'efficacité des dispositifs de contrôle ou de suivi des poissons migrateurs.

1. INRA, 1036 U3E Ecologie et écotoxicologie aquatique, F-35042 Rennes, France

2. INRA, 1036 U3E, Pôle GEST'AQUA, F-35042 Rennes, France ; Julien.tremblay@rennes.inra.fr

3. ONEMA, Pôle GEST'AQUA, F-35042 Rennes, France

4. INRA, 0985 UMR Ecologie et santé des Ecosystèmes, F-35042 Rennes, France

5. Game and Wildlife Conservation Trust

Matériel et méthodes

PIT Tag RFID

La définition de la RFID (radio frequency identification - identification par radiofréquence), dans un sens général, est une technologie d'identification automatique qui utilise le rayonnement radiofréquence pour identifier des objets porteurs d'étiquettes lorsqu'ils passent à proximité d'un interrogateur (antenne, lecteur, douchette...). Elle permet l'identification individuelle d'objets sans contact direct. Les fréquences utilisées par cette technologie s'adaptent à différents environnements et domaines d'applications (carte de transports, industrie, sécurité des élevages...). Pour les résumer, il existe quatre types de fréquences utilisés et normés en RFID : la LF, HF, UHF et SHF (**Tableau 1**).

Tableau 1. Fréquences de la RFID et environnements perturbateurs

Abréviation anglo-saxonne	En français	Fréquence Bande passante utilisée	Environnement(s) perturbateur(s)
LF	Basses fréquences	125 kHz-134,2 kHz	Métal
HF	Hautes fréquences	13,56 MHz	Liquide, Métal+
UHF	Ultra hautes fréquences	860MHz-960MHz	Liquide++, Métal++
SHF	Super hautes fréquences	2,45 GHz	Liquide++, Métal++

Dans le cas qui nous intéresse, pour être identifiés par ces dispositifs, les poissons doivent être, au préalable, équipés d'une marque de type PIT Tag qui est composée d'une puce électronique et d'une antenne en cuivre insérée dans une capsule de verre (**Figure 1**). Cette marque utilise les basses fréquences (**Tableau 1**), une centaine de kilohertz permettant la communication dans l'eau. Il existe plusieurs tailles de PIT Tag : 12 mm, 23 mm et 32 mm. Le principe de ces marques est basé sur une technologie dite « passive », sans source d'alimentation (sans pile). Le protocole normatif HDX (half duplex) consiste à envoyer un signal radio pour exciter le PIT Tag se trouvant dans le champ de l'antenne, puis de l'écouter pour récupérer son numéro d'identification unique.



Figure 1. PIT Tags en verre 12 mm (photo : U3E, INRA).



Tableau 2. Documentation technique Tag HDX 12 mm (source : <http://www.ti.com/lit/gpn/trpgr30tgc>)

PARAMETER	TRPGR30TGC
Functionality	Read only
Memory (bits)	80(64-bit UID + 16-bit CRC)
Memory (pages)	1
Resonance frequency	134.6 kHz
Modulation	FSK (frequency shift keying) 134.2 kHz/124.2 kHz
Transmission principe	HDX (half duplex)
Power source	Powered from the reader signal (battery-less)
Typical reading range	≤ 60 cm
Typical reading time	70 ms
Case material	Glass
Protection glass	Hermetically sealed
EMC	Programmed code is not affected by natural electromagnetic interference or x-rays
Signal penetration	Transpondeur can be read through almost all non metallic material
Mechanical shock	IEC 60068-2-32 free-fall drop test, 20 times from 1.5 m height
Dimensions	Ø 2.12 ± 0.05 mm x 12.0 ± 0.5 mm
Weight	0.10 g

Les limites connues des Tags en verre Half-Duplex 12 mm, d'après la documentation et les tests effectués sont les suivants :

- ✓ le système ne permet pas de lire deux Tags en même temps (pas d'anticollision) ;
- ✓ une faible distance de détection 60 cm au maximum (**Tableau 2**) ;
- ✓ cette distance de détection varie selon l'orientation du Tag par rapport au plan de l'antenne, l'optimum de détection se faisant avec le PIT Tag perpendiculaire au plan.

Capture et marquage des poissons

Après capture (pêche électrique, piégeage...), les poissons sont anesthésiés, ils sont ensuite mesurés, pesés et marqués par PIT Tag. Le marquage consiste en l'injection d'un PIT Tag (11,5 mm x 2,12 mm ; 0,1 g) dans la cavité péritonéale, pour les jeunes poissons. Pour les saumons adultes la puce est insérée sous la nageoire adipeuse (petite nageoire située à l'arrière du dos).



Figure 2. Insertion d'un PIT Tag dans un saumon (photo : U3E, INRA).

La pose de la marque peut se faire selon deux méthodes : à l'aide d'un trocart stérile ou à partir d'une incision réalisée au scalpel, uniquement pour l'intra péritonéal. Les poissons sont ensuite remis à l'eau dès qu'ils sont réveillés. Les différentes opérations de captures mises en œuvre sur les sites d'études permettent de contrôler ces poissons à plusieurs reprises tout au long de leur existence et de mesurer les différents traits d'histoires de vie de chaque individu.

Lecteur RFID

Les lecteurs installés dans le cadre du programme européen Morfish sont de la marque « Oregon RFID » (**Figure 3** et **Tableau 3**). Les enregistreurs sont composés de trois ensembles électroniques et d'une alimentation. Les cartes électroniques d'Oregon RFID ont été remontées dans un boîtier plus important, afin de créer une seule unité comprenant le lecteur et une source d'alimentation linéaire filtrée. En plus de l'ergonomie, l'intérêt de ce regroupement est de faciliter l'étanchéité du lecteur.



Caractéristiques techniques du lecteur « Orégon RFID » :

- lecteur Half-duplex
- 1 à 4 antennes
- normes : ISO 11784/11785
- tension d'alimentation : 10-24 Volts
- 2.2 Ampères maximum
- 5 millions d'enregistrements
- connexions : USB et RS 232

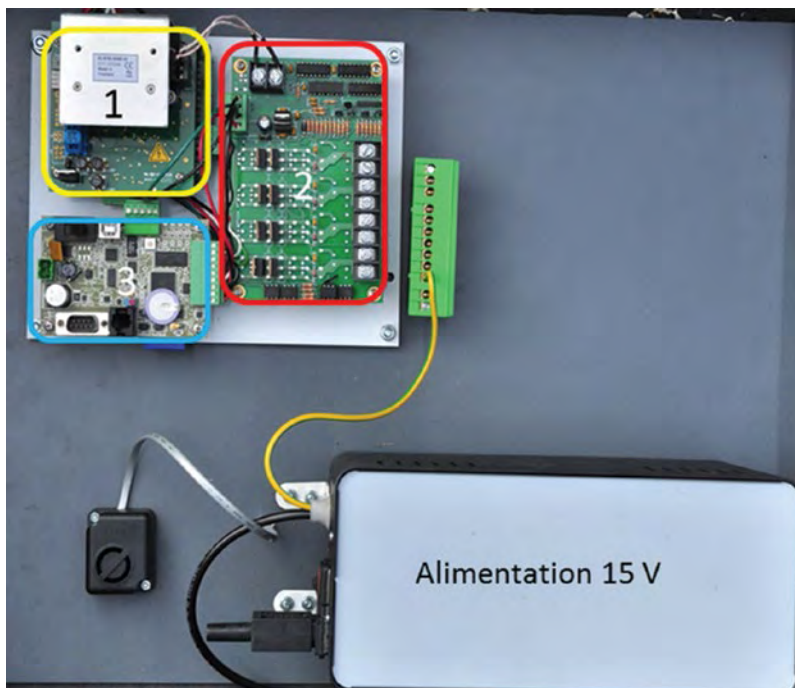


Figure 3. Lecteur RFID dans son boîtier étanche (photo : U3E, INRA).

Tableau 3. Récapitulatif des fonctions des cartes électroniques (cf. Figure 3)

N°de module	Nom	Fonction détaillée	Constructeur
1	Générateur signal RFID	Partie qui génère le signal et récupère les numéros de PIT Tag	Texas Instrument®
2	Datalogger	Enregistre les données et distribue l'énergie sur les autres cartes	Oregon RFID
3	Démultiplexeur	Permet de multiplier par 4 le signal d'antenne	Texas Instrument®

Caractéristiques et montage des antennes

Pour ce système, une antenne est constituée d'un fil électrique de bonne qualité (fil audio, électronique...). Pour former une antenne, il suffit de faire au moins une boucle avec le fil électrique ou d'ajouter des spires (des tours) afin d'augmenter les caractéristiques du câble (inductance, résistance). Le système est limité par ces caractéristiques : plus l'antenne est grande plus le fil électrique doit avoir une section importante. Il a été constaté que la bonne qualité du cuivre qui compose les câbles affecte les caractéristiques et augmente la possibilité de faire de grandes antennes. Une fois l'antenne formée, il est nécessaire de l'équilibrer avec une carte de réglage appelée « Tuner Board » (**Figure 4**). La carte électronique est composée principalement d'un parc de condensateurs et d'une ferrite (bobine avec un noyau amovible). La carte standard fabriquée par Texas Instrument® a pour limite une inductance allant de 8 à 80 μH (microHenry) (**Tableau 4**). Les autres cartes de réglages servent pour les plus grands PIT Tags, elles permettent une plus grande plage d'utilisation notamment en termes de taille d'antenne.

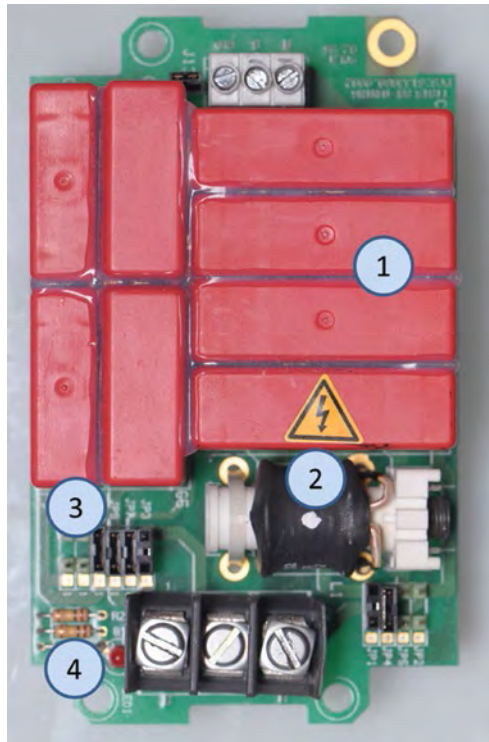
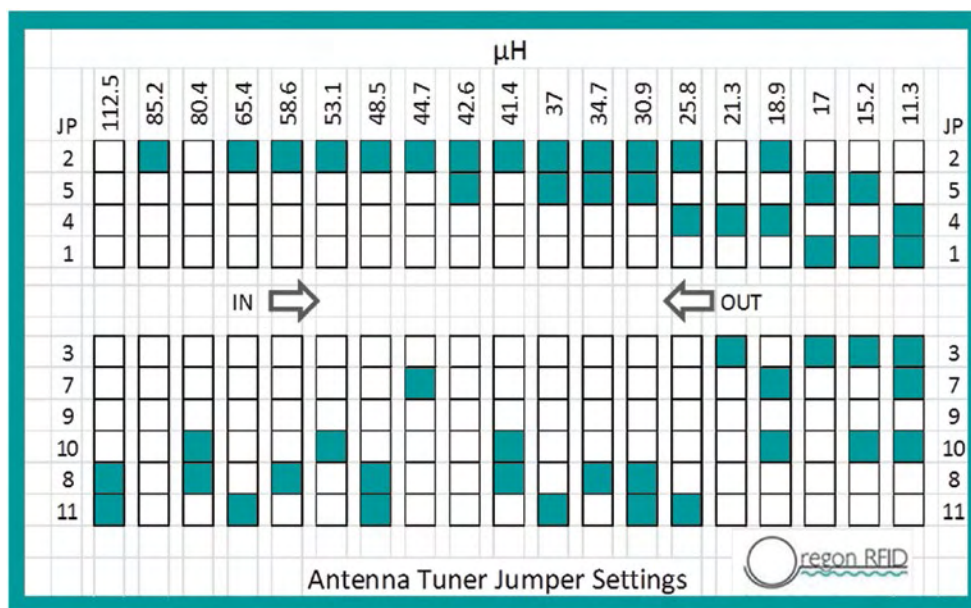


Figure 4. Carte « tuner board » Texas Instrument® (Photo U3E, INRA).
1 : parc de condensateurs ; 2 : ferrite ; 3 : cavaliers ; 4 : LED de contrôle.



Tableau 4. Positionnement des cavaliers



Le **Tableau 5** récapitule les différentes tailles d’antennes testées *ex-situ* et installées sur sites naturels pour des PIT Tags de 12 mm. En laboratoire, nos tests ont permis de réaliser des antennes avec 100 % d’efficacité de lecture pour différentes tailles. Cependant nous avons constaté à plusieurs reprises qu’en milieu naturel, les contraintes de terrain et l’environnement (alimentation électrique, interférences) ne permettaient pas d’obtenir les mêmes résultats. Il nous a fallu ajuster la taille et la forme des antennes pour limiter l’influence de ces contraintes sur l’efficacité de la détection des antennes.

Tableau 5. Tailles des antennes testées *ex-situ* et *in situ*

Type antenne	Section fil	Spire	Taille L x H	Détection
<i>Test ex-situ</i>				
Plate (posée sur le fond de la rivière)	4 mm ²	1	20 x 0,8 m	21 cm
Cadre (passage au travers)	4 mm ²	2	4 x 0,60 m	25 cm
<i>Installées in situ (milieu naturel)</i>				
Bief de Moulin (plate)	4 mm ²	1	7 x 0,5 m	21 cm
Cadre (passage au travers)	4 mm ²	2	3 x 0,8 m	30 cm
Cadre (passage au travers)	2,5 mm ²	3	1,50 x 0,50 m	50 cm

Procédure d’installation

Mode opératoire pour l’installation de matériel Oregon RFID :

A. Construction de l’antenne : positionner les spires de fil électrique sur un support amovible afin de pouvoir les reformer facilement.

- B.** Relever l'inductance de l'antenne (L en microHenry) avec le RLC mètre (**Figure 5**) :
- brancher à chaque extrémité du câble d'antenne les bornes du RLC mètre ;
 - le mettre en marche sur le mode L/C/R et « SER » ;
 - relever la valeur en μH . Cette valeur doit être comprise entre 8 et 80 μH .



Figure 5. RLC mètre (photo : U3E, INRA).

Attention les relevés d'inductance doivent se faire avant toutes connections (hors tension).

- C.** Brancher le câble antenne sur les bornes extérieures de la carte de réglages. Relier au lecteur avec un câble de type Twinax (bornes **A** et **B** sur la carte de réglage) (Twinax : Câble Blindé 100 Ohms) (**Figure 6**). Il n'y a pas de polarité pour le câblage. Le système est limité en longueur totale de Twinax à 120 m (30 m pour quatre antennes).

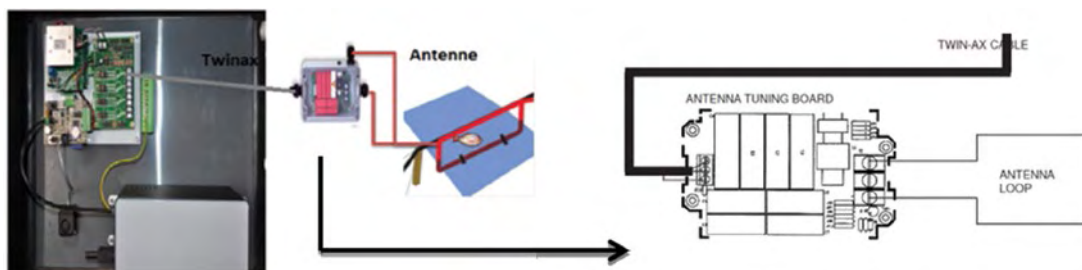


Figure 6. Branchements du système (source : <http://www.ti.com/lit/pdf/scbu023>) (photo : U3E, INRA).

- D.** Positionner les cavaliers en fonction de la carte de réglage et de la valeur relevée au RLC mètre. Ce réglage permet de s'approcher au plus près de la fréquence de résonance (**Tableau 4** et **Figure 4**).
- E.** Dévissez « la ferrite » (composant blanc avec une « Vis » noire) au maximum jusqu'à ce qu'elle touche le boîtier.



- F. Relier le lecteur (câble USB) à un ordinateur équipé d'un logiciel de type Hyper Terminal (Putty, HyperTerminal, Teraterm).
- G. Mettre l'ensemble sous tension (brancher l'alimentation électrique ou la batterie). Attention, le lecteur est sous tension, il ne faut pas toucher les cartes électroniques du lecteur ou la carte de réglage (entre 200 et 500 V pulsés).
- H. Vérifier que la LED rouge dans le lecteur RFID clignote (**Figure 7**).

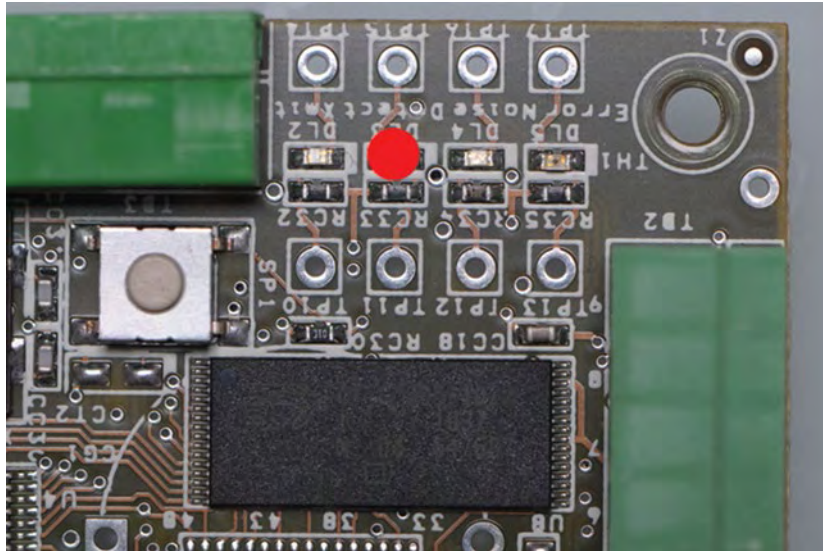


Figure 7. LED statut (photo : U3E, INRA).

- I. Le réglage n'étant pas encore fait, l'intensité de la LED peut-être faible.
- J. Pour finir d'équilibrer l'antenne, démarrer le logiciel hyper terminal puis entrer la commande « AD » et la touche Entrée (**Tableau 6**).

Tableau 6. Détail de la commande « AD »

Commande	Réglage interne au lecteur	Intensité antenne 1	Intensité antenne 2	Intensité totale système	Tension système	Tension horloge	Heure
AD	Rx 0.23 Tx	A1 2.67	A2 2.64	EA 1.43	15.0 V	2.6 V	06:26:35.24

Des paramètres se mettent à défiler. La valeur A1 qui correspond au branchement de l'antenne 1 s'affiche, elle représente la consommation de l'antenne.

K. Affiner ce réglage en utilisant uniquement un tournevis en céramique pour actionner la ferrite. Trouvez l'intensité maximale que le système peut accepter.

Si vous arrivez au bout de la ferrite (noyau qui sort du composant), éteignez le lecteur et positionnez les cavaliers pour un réglage supérieur (reprendre l'étape D).

Si l'intensité de l'antenne ne fluctue pas, vérifier la carte de réglage (position des cavaliers, branchements...) pour s'assurer que le lecteur reste opérationnel.

L. Une fois l'antenne réglée, passer un PIT Tag dans le champ de détection, perpendiculaire au plan de l'antenne. Le son émis par le buzzer du lecteur nous indique la détection de la marque. Jaugez le champ magnétique de l'antenne avec le Tag, il doit être détecté sur toute la surface de l'antenne.

Si ce n'est pas le cas, prendre un réglage supérieur ou changer la configuration du câble (spire, diamètre, taille de l'antenne).

Lorsque l'antenne fonctionne correctement, il ne reste plus qu'à l'installer sur site, vérifier son efficacité (temps de détection entre deux Tags) puis le bruit provoqué par les perturbations extérieures (si c'est le cas, la LED jaune clignote).

Retour d'expérience

Caractéristiques des systèmes mis en place

Actuellement, quatre systèmes RFID de détection automatique de poissons sont disposés à différents endroits de nos sites d'études : sur le Scorff dans le Morbihan (**Figure 8 et 9**) et sur l'Oir en Basse Normandie (**Figures 10 à 12**). Les largeurs des sections du cours d'eau où sont installés les systèmes RFID varient de 1,5 m à 6 m. Cela nécessite parfois de mettre deux antennes côte à côte pour couvrir la largeur de la rivière. Elles sont positionnées dans des endroits peu profonds pour permettre leur installation et répondre aux limites de distance de détection. Elles sont généralement doublées : une antenne en aval et une autre en amont pour obtenir le sens de migration des poissons et estimer les efficacités respectives de chacune.

Problèmes rencontrés

Il ne faut surtout pas utiliser une alimentation à découpage (la plus courante) car le lecteur ne peut pas fonctionner. La meilleure source d'alimentation est l'utilisation de batteries, source d'alimentation « propre » (recommandée par le fabricant). Cependant pour l'acquisition de données sur le long terme, cela implique une forte contrainte de surveillance, port de charge, rechargement, gestion... Nous avons préféré mettre en place des alimentations sur secteur de type linéaire.

Pendant la période de test des antennes, il a été constaté que des réglages répétés ou le mauvais positionnement des cavaliers créent le blocage d'un commutateur sur la carte de multiplexage. Pour éviter ces problèmes, avant d'allumer le lecteur, il faut vérifier le réglage des antennes (se référer à l'étape D de la procédure d'installation). Dans le cadre d'une installation en milieu naturel, il est préférable de s'équiper d'un deuxième lecteur et de cartes de réglages supplémentaires en cas de blocage (condition de l'étape L de la procédure d'installation).

Enfin, les bruits générés par l'environnement électromagnétique des sites d'étude ont pu être résorbés par la mise en place d'un filtre EMI (contre les interférences électromagnétiques) positionné en amont de l'alimentation électrique. De même, la mise à la terre du blindage des câbles Twinax peut être une solution, ainsi que la réduction de la longueur du câble.



Le Scorff



*Figure 8. Passe à poisson de Pont Calleck équipée de deux antennes (partie médiane du Scorff)
(photo : U3E, INRA).*



*Figure 9. Passe à poisson du moulin de St Yves équipée d'une antenne (partie en aval du Scorff)
(photo : U3E, INRA)*

L'Oir



Figure 10. L'Oir aval est équipé d'une série de deux antennes (photo : U3E, INRA).



Figure 11. Le ruisseau la Roche, affluent de l'Oir, est équipé à son exutoire de deux antennes (photo : U3E, INRA).





Figure 12. L'Oir en aval du moulin de Cerisel est équipé de deux antennes qui barrent la rivière. Son efficacité est variable. Elle est perturbée par des bruits électromagnétiques. Le site sera bientôt équipé d'un deuxième rideau qui s'accompagnera du rapprochement du lecteur pour en améliorer l'efficacité. (Photo : U3E, INRA).

Conclusion

Un certain recul sur la technologie RFID a été acquis par l'U3E depuis 1993. Les études concernant ce procédé ont été réalisées sur les sites de l'ORE Dia PFC où un marquage régulier des poissons est réalisé depuis cette date. Près de 36 000 PIT Tags ont été posés dans ce cadre. La provenance des informations issues des « recaptures » de marques sont nombreuses (pêche électrique, piégeage, tracking RFID, lecteur RFID...). Elles sont de natures variées (espèces, taille, poids, coordonnée géographique...). Elles alimentent les bases de données de l'ORE Dia PFC. Les données issues de ces marquages ont permis la réalisation de nombreuses publications scientifiques sur la dynamique de populations au regard des changements climatiques. Le programme européen « Morfish » Interreg Manche a facilité le déploiement de cette technique à plus grande échelle pour le suivi des communautés de poissons migrateurs. Il a permis les échanges de personnels techniques entre le GWCT et l'INRA afin d'harmoniser les pratiques des deux côtés de la Manche.

Références bibliographiques

Acolas M-L, Roussel J-M, Lebel J-M, Baglinière J-L (2007) Laboratory experiment on survival, growth and tag retention following PIT injection into the body cavity of juvenile brown trout (*Salmo trutta*). *Fisheries Res* **86** : 280-284.

Ombredane D, Bagliniere J-L, Marchand F (1998) The effects of passive integrated transponder tags on survival and growth of juvenile brown trout (*Salmo trutta* L.) and their use for studying movement in a small river. In: *Advances in Invertebrates and Fish Telemetry*, pp. 99-106. Springer.

Vous mangez trop salé !

Patrick Mielle, Marion Emorine, Chantal Septier, Jacques Maratray¹

Résumé. La consommation de sel est excessive dans les pays industrialisés. Les autorités sanitaires recommandent donc une réduction drastique de la quantité de sel incorporée dans les aliments manufacturés. Afin de conserver une perception du produit à teneur réduite en sel identique à celle du produit original, le rendement d'extraction du sel par la salive doit donc être amélioré, par exemple en modifiant la texture de l'aliment. Le sel se libère graduellement des aliments solides pendant les processus résultant de la mastication et de la salivation et entraînant la déstructuration de l'aliment. Deux sondes ont été développées pour la mesure de la température et de la conductivité de la salive en bouche pendant la mastication pour l'analyse en temps réel des électrolytes extraits par la salive. Leur réponse est très rapide, et donne des résultats fiables en fonction des différences dans la composition des aliments ainsi qu'entre individus. L'électronique a été développée dans l'Unité, à partir de circuits intégrés de catégorie « instrumentation », avec les critères de miniaturisation, de très faible consommation et bien entendu de sécurité des sujets. Un logiciel de pilotage et d'acquisition a été développé sous LabView, permettant à la fois l'étalonnage multipoint de chacune des sondes de conductivité et de température et l'affichage d'un graphe de libération du sel, pondéré par les courbes d'étalonnage de chaque sonde. Le logiciel gère également la sécurité du sujet. Nous avons observé des résultats fiables et reproductibles sur les différents aliments testés, avec une très bonne sensibilité, un temps de réponse court et sans temps de latence.

Mots clés : aliments, sel, libération, mastication, conductivité, instrumentation

Introduction

La consommation de sel (NaCl) est essentielle pour l'organisme, car elle est source d'iode et de fluor. Mais une consommation excessive (supérieure à 6 g/jour) est reconnue comme facteur important d'augmentation de l'hypertension et de risque pour les maladies cardiaques. Les autorités sanitaires recommandent une réduction de 20 % de la teneur en sel des aliments, celle-ci étant actuellement de 0,5 à 2 g pour 100 g dans les aliments manufacturés.

Il est donc essentiel de mieux comprendre, puis de permettre aux entreprises de maîtriser la libération des composés sapides afin de développer des aliments à teneur réduite en sel. Mais cette réduction en sel peut entraîner un rejet des produits par le consommateur. Afin de conserver une perception du produit à teneur réduite en sel identique à celle du produit original, le rendement d'extraction du sel par la salive doit donc être amélioré, par exemple en modifiant la texture, la composition ou encore le process d'élaboration de l'aliment, ou bien encore en ajoutant des arômes congruents. Le sel se libère graduellement des aliments solides pendant les processus intervenant en bouche, résultant à la fois de l'action de la mastication et de la salivation et entraînant la déstructuration de l'aliment et la libération des composés sapides, responsables de la saveur. Développer des produits à teneur réduite en sel sans affecter l'acceptabilité de l'aliment par le consommateur nécessite de mieux comprendre le phénomène de libération des composés sapides en bouche. Différentes stratégies ont donc été menées dans l'Unité pour améliorer la disponibilité du sel en bouche et augmenter le rendement d'extraction par la salive.

Suivre la libération du sel en bouche en direct

Deux sondes, ainsi que leur électronique associée, ont été développées dans notre Unité pour la mesure de la température et de la conductivité de la salive en bouche pendant la mastication, permettant l'analyse en temps réel des électrolytes extraits par la salive. Ceci permet de gagner beaucoup de temps par rapport à la technique actuelle utilisant des prélèvements discrets (discontinus, effectués en

1. INRA, UMR CSGA 1324 – CNRS UMR 6265, Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 17 rue Sully, B.P. 86510, F- 21065 Dijon cedex, France; Patrick.Mielle@dijon.inra.fr; jacques.maratray@dijon.inra.fr

mettant le cycle en pause) analysés par la technique de chromatographie liquide haute performance. Les sondes, une par sujet, ont été développées d'une taille et avec des matériaux compatibles avec la mise en bouche, afin d'assurer un très haut degré de sécurité pour les panélistes. Leur réponse est très rapide, sans temps de latence, et avec des résultats fiables en fonction des différences dans les aliments et entre individus.

Développement des sondes

La mesure de la conductivité de solutions aqueuses est basée sur la conduction électrique des ions (mesurée en S/cm). Celle-ci est dépendante de la température de la solution, une compensation par sonde de température (thermistance de type NTC-negative temperature coefficient-) est donc nécessaire si les variations de la température du liquide analysé sont assez importantes.

Le montage le plus efficace est de type Wenner array (comparable au montage Kelvin pour la mesure de faibles résistances) : un courant circule entre deux électrodes externes et une différence de potentiel (tension) est mesurée entre les deux électrodes internes. Ce montage présente l'intérêt principal d'être moins sensible au colmatage que le montage à deux électrodes. Afin d'éviter la polarisation des électrodes dans un électrolyte (effet condensateur), un courant alternatif symétrique est appliqué entre les électrodes externes.

Notre sonde originale utilisée pour les mesures dans le simulateur de mastication « Bouche artificielle » (Maratray et al., 2007) comporte donc un réseau de quatre électrodes plaquées or afin de réduire l'effet des particules et du colmatage. Différents designs d'électrodes ont été testés. Il est à noter que bien que les électrodes soient de type planar (en ligne), les courants circulent dans les trois dimensions, un peu à la manière des lignes de force d'un aimant.

La gamme de concentration pour l'étalonnage va de 0,02 à 20 g de NaCl/litre (sel de cuisine). La compensation en température est basée sur un capteur de température miniature. Les deux sondes sont séparées (**Figure 1**). Afin de réduire au maximum l'encombrement en bouche, les sondes utilisées sur l'humain sont de type deux fils. Leur taille est de 5 x 2 mm, et la sortie vers l'extérieur de la cavité buccale s'effectue par deux fils de 21 μm isolés, passant par la commissure des lèvres. Ceci limite au maximum la gêne causée par le dispositif. La sonde de conductimétrie possède par définition un temps de réponse nul, et celle de température a un temps de réponse d'environ 0,3 s en phase liquide. Les sondes ne comportent pas de composants électroniques embarqués, sont bien évidemment inertes et ne contiennent aucun matériau dangereux pour la santé. Elles peuvent être stérilisées à froid. Elles sont compatibles avec la directive européenne RoHS et elles ont bénéficié d'un agrément sanitaire délivré par l'AFSSAPS (n° ID RCB 2011 A00807-34).

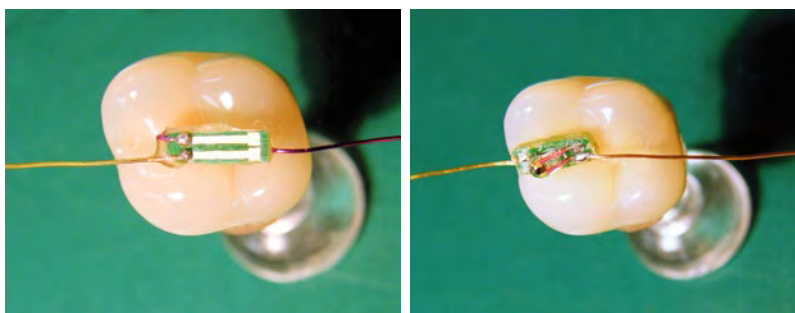


Figure 1. A gauche : le capteur de conductivité pour mise en bouche, version deux fils ; à droite : le capteur de température. La molaire humaine représente l'échelle (photo : P. Mielle, INRA).

Développement de l'électronique

L'acquisition des données est effectuée par un boîtier de la marque National Instruments® de type NI6009, qui est auto-alimenté par la prise USB d'un ordinateur portable fonctionnant uniquement sur batteries, afin que le sujet soit intégralement isolé du secteur. Toujours pour assurer la sécurité des panélistes, le courant dans les sondes est limité à +/- 50 μA , sous une tension efficace maximale de 2,5 VRMS. Dans le cas extrême d'une défaillance de l'électronique, le sujet ne serait soumis qu'à la tension USB, soit 5 VDC, qui n'est aucunement létale.

La partie électronique a été développée en catégorie « instrumentation » et gère indifféremment les deux sondes (**Figure 2**). Elle présente de très faibles offset et dérives, encore améliorées par une alimentation symétrisée +/- 2,50 VDC. Le rapport cyclique du courant bipolaire de sonde (fréquence de 120 Hz) est de 50 +/- 0,2 %, toute dissymétrie du rapport cyclique pouvant entraîner une polarisation dans le cas d'une durée d'utilisation assez longue.

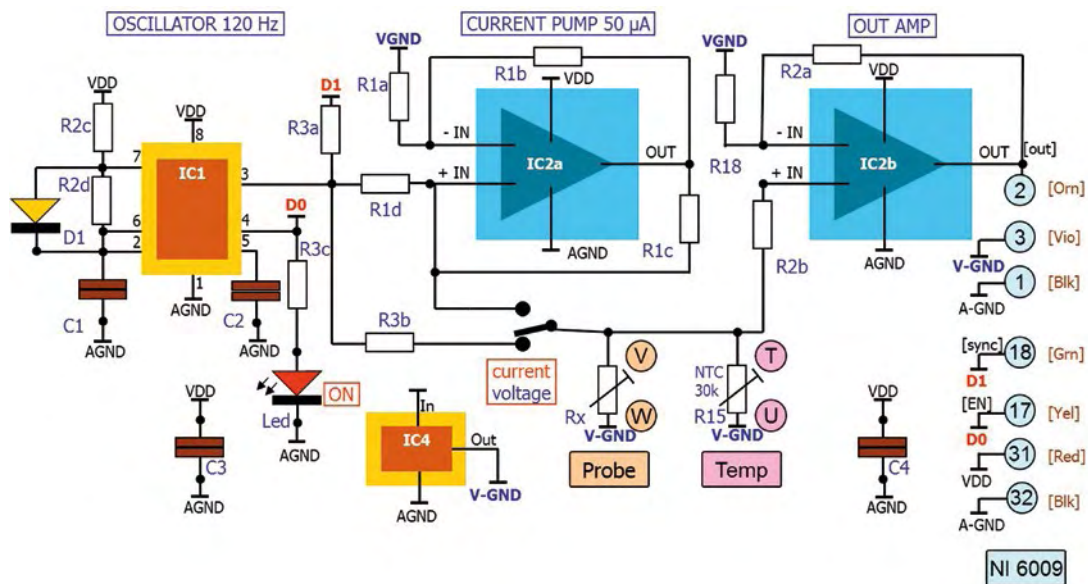


Figure 2. Schéma de principe de l'électronique développée pour le conditionnement de signal des sondes.

Afin d'assurer une compacité maximale, de limiter le nombre de fils et de minimiser la sensibilité aux parasites, la partie conditionnement du signal a été directement câblée sur le connecteur de la carte d'acquisition (**Figure 3**). Des réseaux de résistances appariées ont été mis en œuvre afin d'assurer une impédance de sortie proche de l'infini pour le générateur de courant (de type *Howland Current Pump*).



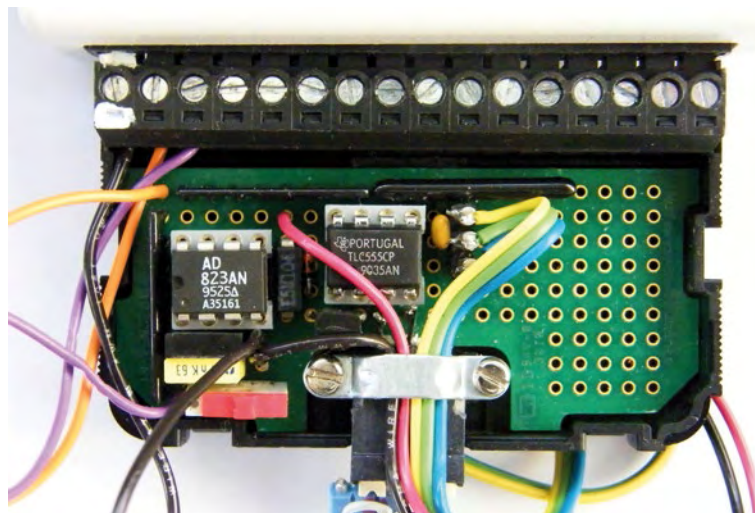


Figure 3. Vue du câblage compact de la carte de développement connecté sur le boîtier NI6009 (photo : P. Mielle).

Développement du logiciel

Le logiciel a été développé dans notre Unité sous Labview. Il supervise la sécurité du panéliste, assure la déconnection si l'ordinateur portable est alimenté sur le secteur et met les sondes hors tension avant le début de l'acquisition. Il gère également la calibration d'un couple de sondes par panéliste (20 sujets). Il gère enfin l'acquisition et le stockage des données et permet l'affichage de la température ou de la concentration en sel en boucle, avec un changement automatique de gamme suivant les valeurs de tension mesurées (Figure 4).

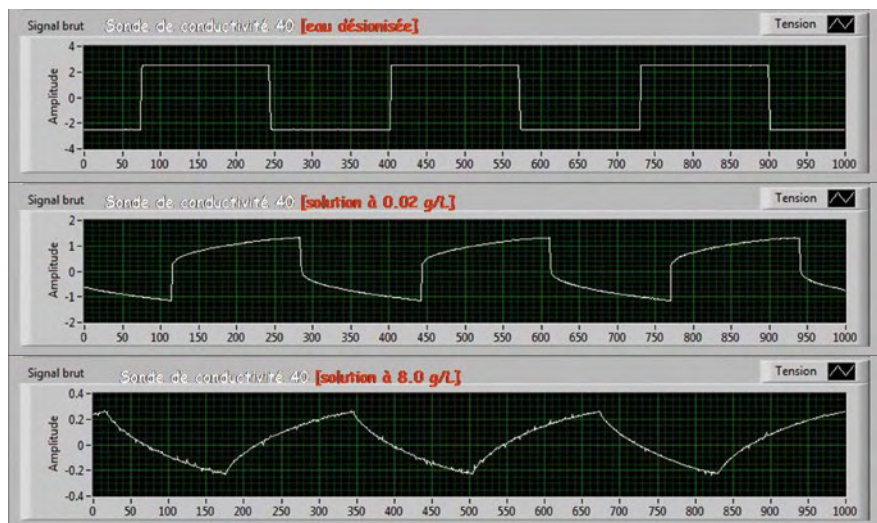


Figure 4. Forme et intensité des différents signaux générés par les sondes suivant la concentration en sel. On notera que la réponse des sondes de conductivité présente une forte composante capacitive.

Réponse des sondes

A cause de la forte composante capacitive due au milieu électrolytique, la fonction de transfert de la réponse des sondes de conductivité suit une loi de puissance. Afin d'améliorer la prédiction de la concentration en sel à partir des mesures brutes, nous avons utilisé un modèle en deux segments, l'un pour les tensions faibles et l'autre pour les tensions élevées (**Figure 5**). Le seuil de commutation entre les deux équations est paramétrable, et se situe généralement autour de 0,5 VRMS.

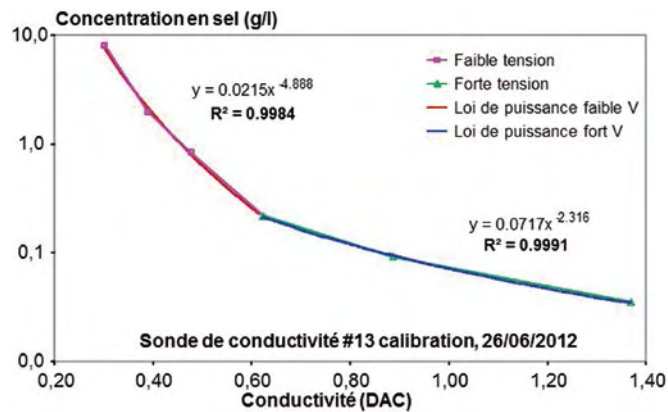


Figure 5. Réponse de la sonde de conductivité n° 13 en fonction de la concentration et modélisation.

Nous avons constaté une bonne stabilité de la réponse pendant la durée d'une manipulation sur les solutions salines à 37°C, sous agitation (**Figure 6**). Le contrôle de la stabilité de l'ensemble de la chaîne d'acquisition a été effectué pendant 30 jours par l'utilisation de charges fictives (*dummies*) : REF1, simulant la sonde de température, est purement résistive et fournit une tension RMS d'environ 1 270 mV, la stabilité de la mesure a été de 0,03 % ; REF2, simulant la sonde de conductivité est une impédance complexe qui fournit une tension RMS d'environ 373 mV, la stabilité de la mesure a été de 0,09 %, soit une stabilité équivalant en concentration de NaCl à 0,22 % de la mesure.

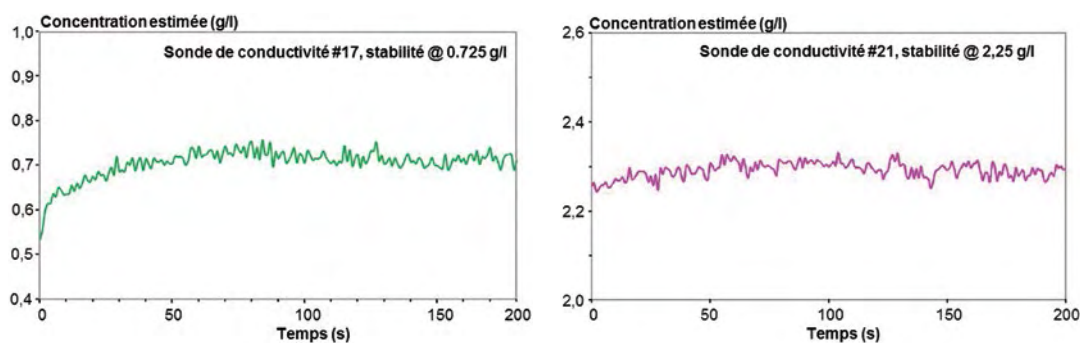


Figure 6. Stabilité des sondes de conductivité à deux concentrations pendant une expérimentation.

Mesures sur les sujets

Le positionnement des sondes de conductimétrie en bouche est très délicat. En effet, la concentration est très hétérogène suivant l'emplacement de la sonde de mesure. Pour une mesure fiable elle doit baigner dans le flux salivaire, dans une zone de circulation, mais toutefois assez éloignée du bol alimentaire afin de ne pas mesurer l'aliment lui-même. De plus, pour le confort, la sonde ne doit pas gêner la mastication, ni bouger pendant celle-ci.

La fixation des sondes est elle aussi délicate. D'un point de vue purement technique, l'idéal serait de les fixer par un piercing dans la joue des sujets, mais...

Nous avons donc testé plusieurs méthodes (**Figure 7**) :

- ✓ la suspension sublinguale par les fils, mais la sonde n'était pas en contact permanent avec la salive ;
- ✓ par colle dentaire, mais cette colle provoquait des courts-circuits sous l'effet de la salive ;
- ✓ par un couple d'aimants, un de chaque côté de la joue, solution un peu plus aisée à mettre en œuvre, et qui permet d'ajuster la position de la sonde assez facilement.

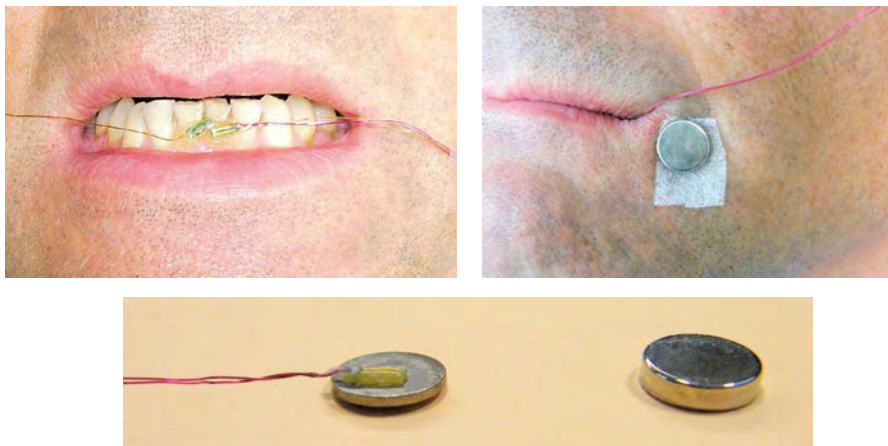


Figure 7. Différents essais de fixation et de positionnement de la sonde en bouche (photo : P. Mielle).

Les premières mesures ont été effectuées sur des aliments courants contenant une quantité de sel assez importante : des cubes de fromage apéritif, du jambon sec et enfin des crackers apéritif. Afin de prendre en compte la concentration en sel initiale dans la salive, la moyenne des valeurs initiales sur 30 s a été retirée de toutes les concentrations calculées (*offset*). Le comportement de la libération du sel dans la salive a été assez différent pour chacun de ces trois produits (**Figure 8**) :

- ✓ dans les cubes de fromages apéritif, le sel est réparti également dans toute l'épaisseur (*bulk*), sa libération est donc quasi-constante dès le début de la mise en bouche ;
- ✓ dans le jambon sec, le sel est emprisonné dans les fibres de la viande, qui doivent être ramollies afin de permettre sa libération ;
- ✓ dans les crackers apéritif, le sel se trouve uniquement en surface, sous forme de grains fins, sa libération commence donc dès que le sel commence à se dissoudre dans la salive.

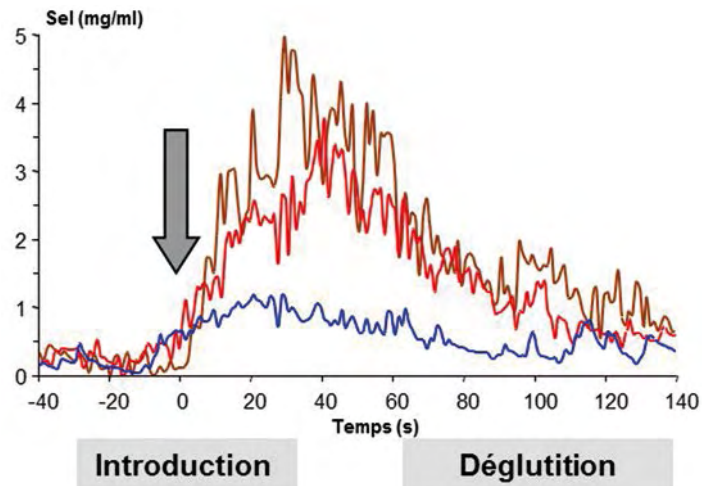


Figure 8. Mesures sur un panéliste de la libération de sel pour divers aliments : en bleu, cubes de fromage apéritif ; en rouge, jambon sec ; en marron, crackers apéritifs.

Conclusion

Nous avons observé des résultats fiables et reproductibles sur les différents aliments testés, avec une très bonne sensibilité, un temps de réponse court et sans temps de latence. De plus, l'ensemble peut être positionné en bouche de manière sûre et aisée, avec des risques de détérioration réduits pendant la mastication.

Les différences constatées dans les courbes de libération du sel sont liées d'une part à la texture de l'aliment, ainsi qu'à la distribution du sel, mais principalement aux différences interindividuelles entre les sujets, dues à des mastications très différentes (Figure 9).

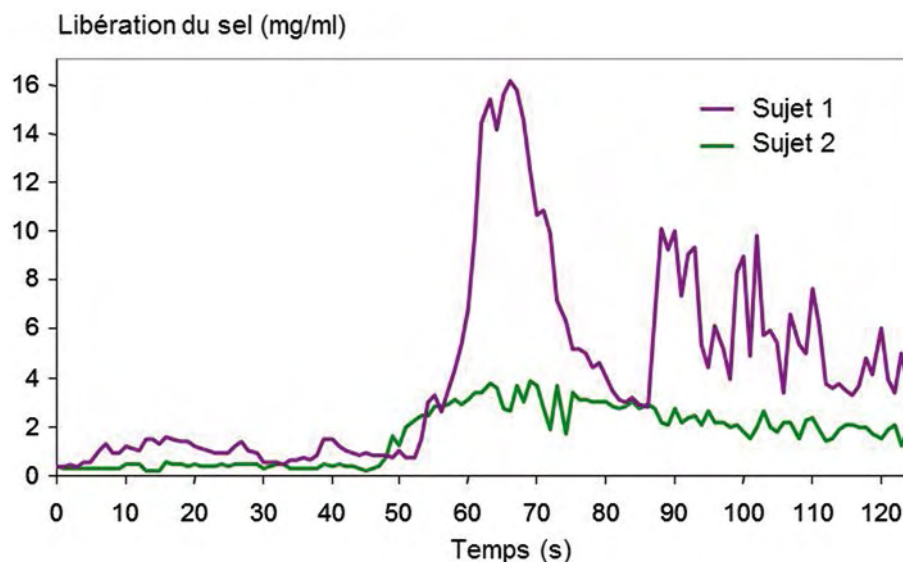



Figure 9. Différences interindividuelles entre deux panélistes dans la libération de sel pendant la mastication.





Le relatif confort observé pendant l'utilisation va permettre un couplage de la réponse sensorielle temporelle au goût salé avec la mesure instrumentale de la libération du sel. La sonde développée est également utilisée avec succès sur le simulateur de mastication « Bouche Artificielle ».

La sonde peut être également utilisée sur des aliments servis chauds (snacks), la réponse étant pondérée par un capteur de température miniature.

Références bibliographiques

US Department of Health and Human Services, US Department of Agriculture : Dietary guidelines for Americans, USA, 2005.

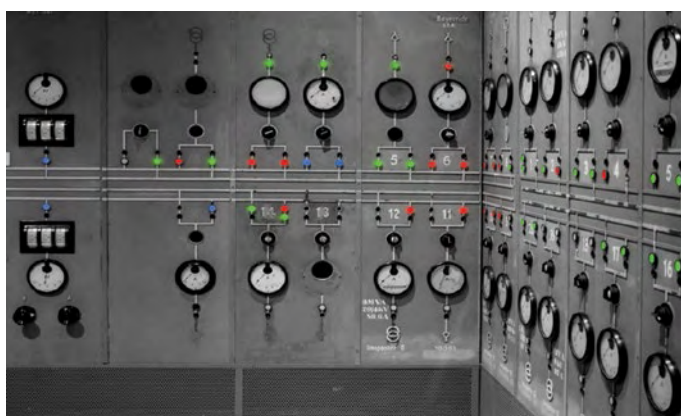
Maratray J, Mielle P, Bé A (2007) La bouche artificielle. *Cahier des Techniques de l'INRA* **60** : 37-44.

Pionnier E, Le Quere JL, Salles C (2005) Real time release of flavor compounds and flavor perception. An application to cheese, in : *Food Flavor and Chemistry : Explorations into the 21st Century*. Cambridge : Royal Soc Chemistry, 13-22.

Salles C, Tarrega A, Mielle P, Maratray J, Gorria P, Liabeuf J, Liodenot JJ (2007) Development of a chewing simulator for food breakdown and the analysis of in vitro flavor compound release in a mouth environment. *J Food Eng* **82** : 189-198.

/ Chapitre 2 /

Développement et mise au point de dispositifs expérimentaux dédiés aux mesures en conditions contrôlées



Après l'expérimentation *in situ*, soumise notamment aux aléas climatiques, nous abordons ici la mesure sur des systèmes pour lesquels les expérimentateurs cherchent à maîtriser certains paramètres de leur environnement.

Ce type d'expérimentation est nécessaire lorsque :

- le système de mesure ne peut être mis en œuvre *in situ* du fait de sa fragilité, de son encombrement, de ses besoins en fluides, de la nécessité d'une stabulation rigoureuse pour les animaux soumis à des instrumentations invasives avec l'obligation de proximité d'un environnement vétérinaire ou médical si l'expérimentation concerne l'humain ;
- l'expérimentateur souhaite faire varier de façon contrôlée les paramètres de l'environnement afin d'en mesurer l'impact sur le processus étudié ;
- la difficulté de travailler à l'échelle «grandeur nature» pour diverses raisons (rareté de l'objet à caractériser, coût, éthique liée à l'expérimentation animale et humaine, etc.) impose de passer à des systèmes traitant de petits échantillons, à des appareils reproduisant des mécanismes naturels ou simulant des fonctions d'organes.

Les expérimentations en conditions contrôlées qu'elles soient en laboratoire, en serre, en box d'élevage, en pièce spécialement aménagée, en enceinte climatique, en cuve, etc. couvrent toutes les grandeurs imaginables et les instruments de mesure utilisés peuvent parfois être très volumineux et très sophistiqués (spectromètre de masse, scanner...).

Souvent, en plus de l'acquisition de mesures et avant cette étape, l'expérimentateur est amené à concevoir d'autres dispositifs permettant de préparer l'échantillon ou l'objet d'étude.

Les articles de ce chapitre illustrent une partie de la diversité des problématiques rencontrées et solutionnées, que ce soit pour l'étude du sol, des plantes, des animaux ou de l'humain.

Conception d'un système de contrôle de la dynamique hydrique d'échantillons de sol couplé à la mesure des émissions de protoxyde d'azote

Eva Rabot¹, Guillaume Giot¹, David Colosse^{1,2}, Isabelle Cousin¹

Résumé. Les émissions par les sols du protoxyde d'azote (N_2O), un gaz à effet de serre, sont en particulier déterminées par les caractéristiques hydriques des sols. Dans cet article, nous présenterons la conception d'un système de contrôle de la dynamique hydrique de saturation et de désaturation d'échantillons de sol de grande taille. Ce système est couplé à un système de mesure des émissions de N_2O . L'instrumentation permet de mesurer la teneur en eau et le potentiel matriciel au cours du temps. La conception du système répond à un ensemble de contraintes techniques, liées aux besoins scientifiques et de facilité de mise en pratique. Ce dispositif a été mis en fonctionnement et a fourni des résultats satisfaisants en dépression jusqu'à -300 cm d'eau.

Mots clés : teneur en eau, potentiel matriciel, protoxyde d'azote, cycle de saturation-désaturation, sol

Introduction

Les émissions du protoxyde d'azote (N_2O) par les sols, un gaz à effet de serre, sont en particulier déterminées par les caractéristiques hydriques des sols. Si ce facteur de contrôle est reconnu depuis longtemps, il est néanmoins considéré comme un paramètre très sensible (Grundmann et Rolston, 1987 ; Heinen, 2006). Une meilleure compréhension des déterminismes des émissions de N_2O liés aux caractéristiques hydriques des sols constitue ainsi un enjeu majeur. Cette compréhension peut être approchée à l'aide d'expérimentations de laboratoire impliquant un contrôle fin de l'état de saturation d'échantillons de sol.

Il existe diverses méthodes de contrôle de la dynamique hydrique d'échantillons de sol au laboratoire, développées principalement pour l'estimation de la courbe de rétention en eau des sols, c'est-à-dire pour établir la relation teneur en eau-potentiel matriciel. **1)** Les tables à succion utilisent le principe de l'équilibre hydrostatique pour appliquer une charge hydraulique négative sur un échantillon de sol placé sur une couche de sable fin. La charge hydraulique négative est appliquée en abaissant un réservoir d'eau, ce qui conduit au drainage de l'échantillon. Le suivi de la teneur en eau est réalisé par pesées en dehors de la table à succion. Les tables à succion fonctionnent dans la gamme de potentiels matriciels de 0 à -100 cm d'eau, et permettent de traiter en même temps plusieurs échantillons de petite taille, typiquement 5 cm de haut. Plus la taille des pores constituant le matériau sur lequel repose l'échantillon est fine, et plus la charge hydraulique négative qui peut être appliquée est basse. Ainsi, lorsque le sable de la table à succion est remplacé par un mélange sable/kaolin, la désaturation peut aller jusqu'à environ - 500 cm d'eau. **2)** Pour des gammes de potentiels plus importants, la pression est cette fois appliquée à la surface de l'échantillon à l'aide d'air comprimé. On peut citer par exemple les systèmes de presse à membrane de Richards, pour l'estimation de la rétention en eau de mottes de sol. La gamme de potentiels matriciels atteints est de -100 à -15 000 cm d'eau. **3)** Des systèmes commerciaux utilisent le même principe sur des cylindres d'échantillons non perturbés (ex. : les *Flow Pressure Cells* et *Tempe Pressure Cells* de Soilmoisture Equipment). **4)** Enfin, les systèmes de *multistep outflow* (MSO) sont utilisés pour l'étude de la relation teneur en eau-potentiel matriciel en conditions dynamiques. La désaturation est le plus souvent réalisée en imposant une pression à la surface du sol, mais peut

1. INRA, UR 272 Science du Sol, F-45075 Orléans, France ; Guillaume.Giot@orleans.inra.fr

2. INRA, UR 874 Ecosystème prairial, F-63009 Clermont-Ferrand, France

aussi être réalisée à l'aide d'une dépression à la limite inférieure de l'échantillon. Un système de MSO a été utilisé dans le cadre de l'étude des émissions de dioxyde de carbone lors de la désaturation d'échantillons de sol par Weihermüller et al. (2009), jusqu'à - 600 cm d'eau. Un système simplifié a été utilisé par Castellano et al. (2010) pour l'étude des émissions de N₂O, dans lequel la désaturation était réalisée par drainage libre jusqu'à un potentiel matriciel de - 80 cm d'eau.

Dans cet article, nous présenterons la conception d'un système de contrôle de la dynamique hydrique de saturation et de désaturation d'échantillons de sol. Ce système sera couplé à un système de mesure des émissions de N₂O. Sa conception répondra à un ensemble de besoins scientifiques et pratiques.

Matériel et méthodes

Cahier des charges

La définition des enjeux scientifiques conduit à envisager des expérimentations de contrôle fin de la saturation et de la désaturation en eau d'échantillons de sol, couplées à la mesure des flux de N₂O, pendant une durée d'environ deux semaines. Plusieurs expérimentations de ce type devront pouvoir être enchaînées dans le temps. Un ensemble de contraintes techniques, liées aux besoins scientifiques et à une mise en pratique facile, a ainsi été listé :

- ✓ le dispositif doit permettre à la fois le contrôle fin (à ± 5 hPa) de la saturation et de la désaturation en eau d'un échantillon de sol, sans qu'il soit nécessaire de déplacer l'échantillon ;
- ✓ le dispositif doit être compatible avec la mesure des flux de N₂O par la méthode des chambres statiques. Cette technique consiste à placer une chambre étanche à la surface de l'échantillon de sol et à mesurer l'évolution de la concentration en N₂O au cours du temps, pour finalement calculer le flux de N₂O. Ainsi, la désaturation en eau d'échantillons de sols par l'application d'une pression positive à la surface du sol n'est pas envisageable ;
- ✓ le système doit être étanche aux gaz et à l'eau, mais démontable ;
- ✓ le potentiel matriciel minimum mesuré lors de la désaturation des échantillons doit être inférieur à -100 cm d'eau ;
- ✓ les échantillons de sol seront de grande taille (15 cm de diamètre, pour 7 cm de hauteur) ;
- ✓ l'instrumentation doit permettre le suivi de la teneur en eau et du potentiel matriciel du sol au cours du temps ;
- ✓ l'eau drainée lors de la désaturation doit pouvoir être recueillie ;
- ✓ l'ensemble du système doit pouvoir être transporté.

Conception du banc MSO

Nous avons envisagé de fabriquer un système de *multistep outflow* (MSO) adapté à des échantillons de grande taille. Une vue d'ensemble du système est présentée en **Figure 1**. L'échantillon est d'une part connecté à un réservoir d'eau afin de contrôler sa saturation par le bas selon le principe du vase de Mariotte. La saturation par le bas permet de limiter le piégeage de bulles d'air dans les pores du sol. D'autre part, l'échantillon est connecté à une pompe à vide (VS Pro, Vacuum Controller System, UMS) et à une fiole à vide afin de contrôler sa désaturation. Des tests ont montré que notre montage MSO pouvait fonctionner en dépression jusqu'à - 300 cm d'eau. Une vanne trois-voies permet le passage du circuit de saturation au circuit de désaturation. L'eau drainée est collectée dans la fiole à vide et sa quantité est suivie au cours du temps à l'aide d'une balance (erreur maximale tolérée de ± 1 g). L'ensemble est relié par du tube en PVC souple transparent (Tubclair AL) de 3 mm de diamètre intérieur. Trois tensiomètres permettent la mesure du potentiel matriciel.

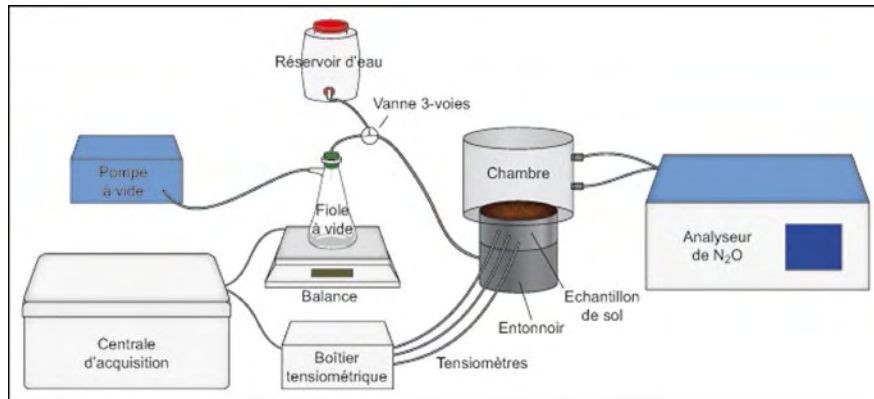


Figure 1. Vue d'ensemble du couplage du système de multistep outflow pour le contrôle de la dynamique hydrique et de la mesure des flux de protoxyde d'azote.

Une vue détaillée du montage étanche de l'échantillon de sol sur le banc MSO est donnée en **Figure 2**. L'échantillon de sol est prélevé dans un cylindre en acier inoxydable de 15 cm de diamètre pour 7 cm de hauteur. Il est installé sur le banc MSO après avoir été arasé à ses deux extrémités. La connexion hydraulique entre le bas de l'échantillon et le système de désaturation est assurée par une céramique poreuse (Soilmoisture Equipment Corp.). La céramique utilisée possède un point d'entrée d'air de 100 kPa, et existe dans une version *high flow* (conductivité hydraulique à saturation de $8,6 \times 10^{-8} \text{ m.s}^{-1}$) et *standard flow* (conductivité hydraulique à saturation de $7,6 \times 10^{-9} \text{ m.s}^{-1}$). D'autres caractéristiques hydrauliques peuvent être utilisées selon les gammes de potentiels matriciels ciblées. Le diamètre de la céramique est de 15,5 cm. Elle doit être lentement saturée en eau dégazée hors du banc MSO avant d'être utilisée. L'ensemble céramique-cylindre de sol est placé sur un entonnoir surmonté d'un support percé. Il est important qu'il n'existe pas de flux d'eau préférentiels sur les côtés de la céramique poreuse afin que la saturation de l'échantillon de sol soit homogène. Un système d'étanchéité a ainsi été développé. Un joint en polyuréthane sur-mesure est placé à la jonction céramique-cylindre. Il est entouré d'un collier en PVC, puis d'un collier de serrage métallique. Enfin, un ruban de silicone entre le collier en PVC et le support percé permet de compléter l'étanchéité. Le support percé est doté d'un système de piégeage des bulles d'air. En effet, la présence de bulles d'air bloquées dans l'entonnoir conduirait à réduire la surface de contact entre l'eau et la céramique poreuse et affecterait la vitesse et la qualité de la saturation de l'échantillon. Un capillaire est ainsi inséré à la surface de l'entonnoir et permet d'évacuer l'air à mesure que l'entonnoir se remplit d'eau. Lorsqu'il y a débordement, l'entonnoir est supposé saturé et le capillaire du piège à bulles est bouché. Des tubages en plastique permettent de rediriger l'eau de débordement vers le réservoir d'eau.

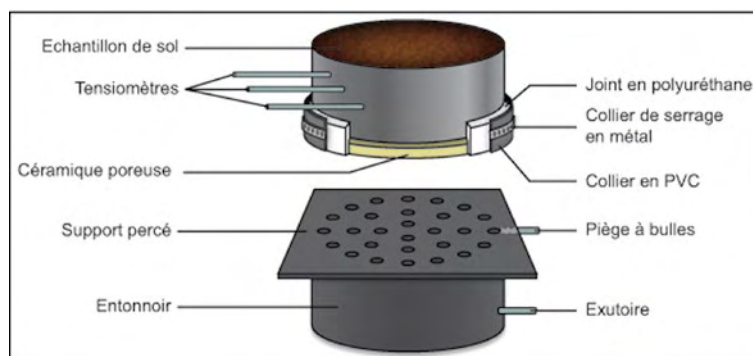


Figure 2. Vue en coupe partielle du montage étanche de l'échantillon de sol sur le banc de multistep outflow.



Instrumentation

L'échantillon est instrumenté à l'aide de trois microtensiomètres constitués d'une céramique poreuse (20 mm de longueur, 2,2 mm de diamètre, 150 kPa de point d'entrée d'air) et d'un tube capillaire Nylon. Les microtensiomètres sont insérés à environ 0,5 cm, 1 et 2 cm de la surface du sol. Leur profondeur est mesurée très précisément pour retrancher, *a posteriori*, le potentiel gravitaire lié à leur altitude de la valeur du potentiel total mesuré. Les microtensiomètres doivent préalablement être saturés à l'aide d'eau dégazée pour éviter la formation de bulles d'air. Ils sont reliés à un boîtier équipé de capteurs de pression différentiels, utilisant un principe piézorésistif, d'une étendue de mesure de 100 kPa. Ce dispositif microtensiométrique, développé par l'INRA d'Avignon (Gaudu et al., 2006), est commercialisé par la société SDEC. Les capteurs sont étalonnés dans la gamme 0 à - 800 cm d'eau à l'aide d'un calibrateur de pression (DRUCK DPI 602), raccordé Cofrac (Comité français d'accréditation). La relation entre la tension en millivolt mesurée par les capteurs et le potentiel en centimètre d'eau imposé par le calibrateur de pression est représentée **Figure 3**. Pour chaque capteur, le modèle d'étalonnage est linéaire : on en déduit le gain et l'offset des trois capteurs C1 à C3.

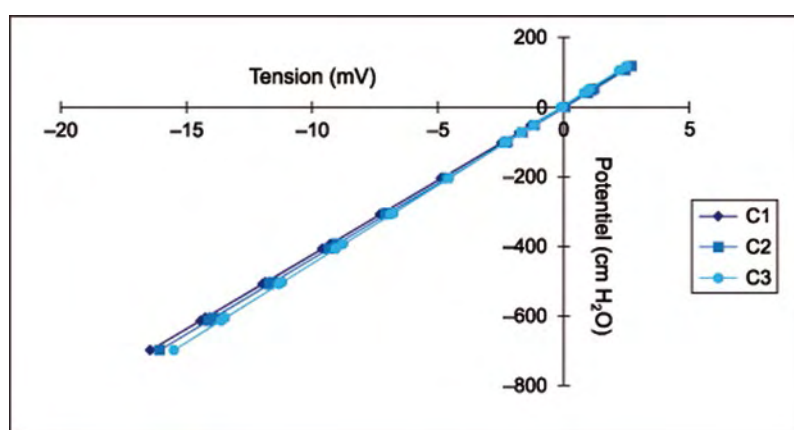


Figure 3. Etalonnage des trois capteurs de pression.

Les capteurs de pression sont connectés à une centrale d'acquisition (CR1000 Campbell Scientific) permettant l'acquisition du potentiel matriciel toutes les 10 min. Une connexion RS232 entre la CR1000 et une balance de précision permet également le suivi temporel du flux d'eau à travers l'échantillon. Les données de masse mesurées par la balance sont décodées à l'aide des instructions SerialOpen, SerialInRecord et SerialFlush de l'éditeur de programme CRBasic dans le logiciel LoggerNet. Le suivi de la température ambiante est effectué à l'aide d'une sonde PT100 connectée à la CR1000.

Mesure des flux de protoxyde d'azote

Les flux de N₂O sont suivis à l'aide d'un analyseur par corrélation infrarouge (N₂O Analyzer, modèle 46i, Thermo Scientific) par la méthode des chambres statiques. La chambre est retirée puis repositionnée avant chaque mesure afin que la concentration de départ en N₂O soit égale à la concentration atmosphérique. Il convient de noter que pendant les phases de désaturation, la chambre doit être maintenue fermée, et seulement ouverte avant les mesures de flux de N₂O, afin que la valeur cible de la pompe à vide se maintienne. La concentration en N₂O dans la chambre est enregistrée toutes les minutes pendant des périodes de 20 min. Etant donnée la courte période de mesure, les concentrations présentent généralement une évolution linéaire en fonction du temps. Les flux sont donc calculés de façon linéaire sur des périodes de 10 min après la fermeture de la chambre.

Résultats

Un exemple d'évolution des flux de N_2O et du potentiel matriciel en fonction du temps est donné **Figure 4**.

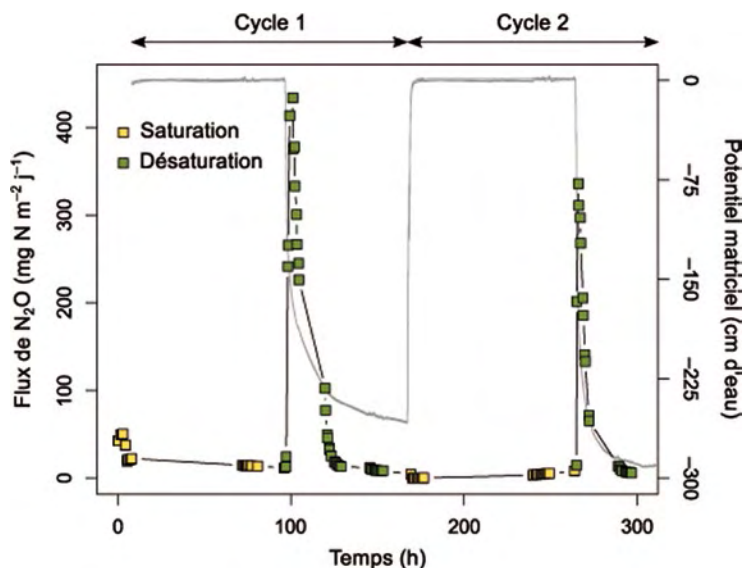



Figure 4. Exemple d'évolution des flux de protoxyde d'azote (carrés) et du potentiel matriciel mesuré à l'aide des trois tensiomètres (lignes grises), lors de deux cycles de saturation-désaturation (cycle 1 et cycle 2).

Un échantillon reconstitué avec une densité apparente de $1,45 \text{ g.cm}^{-3}$ a été soumis à deux cycles de saturation-désaturation. Une céramique poreuse *high flow* a été utilisée. L'échantillon a dans un premier temps été saturé pendant 4 jours dans le système MSO avec une solution enrichie en nitrates, puis une pression négative de -300 cm d'eau a été appliquée à sa base pendant 3 jours. Ce cycle a ensuite été répété une seconde fois. Lors de la première saturation en eau, le potentiel matriciel mesuré par les trois tensiomètres était de 0 cm . Dès lors que la pompe à vide a été activée, le potentiel matriciel a montré une décroissance rapide, pour finalement atteindre un plateau autour de la valeur cible. Deux heures ont été nécessaires pour atteindre un potentiel matriciel de 0 cm lors de la resaturation en eau du deuxième cycle. Un pic de N_2O de faible ampleur, lié à la réactivation de l'activité biologique de dénitrification a pu être identifié au début de la phase de saturation : pendant la phase de saturation, le transport de N_2O sous forme dissoute vers la surface du sol est lent. Dès le début de la désaturation, le transport rapide du N_2O et son relargage depuis la solution du sol ont été favorisés par le départ de l'eau. Ainsi, associé à la dynamique du flux d'eau et à l'augmentation du coefficient de diffusion gazeuse lors de la désaturation de l'échantillon, le flux de N_2O a montré un pic intense et furtif à chaque début de désaturation en eau (Rabot, 2014).

Conclusion

Afin de contrôler finement le statut hydrique d'un échantillon de sol de grande taille, un système permettant la saturation et la désaturation d'échantillons a été conçu sur le modèle des systèmes de *multistep outflow*. Il a été couplé à un système de mesure des flux de N_2O par la méthode des chambres statiques. Le cahier des charges regroupait un ensemble de contraintes techniques qui ont pu être respectées. Le système a d'ores et déjà été mis en fonctionnement et a fourni des résultats

|||||



satisfaisants en dépression jusqu'à - 300 cm d'eau. Il s'est également avéré transportable, puisqu'il a pu être installé sous un scanner pour l'étude simultanée des reconnections gazeuses pendant la désaturation d'un échantillon d'un sol (Rabot, 2014).

Références bibliographiques

Castellano MJ, Schmidt JP, Kaye JP, Walker C, Graham CB, Lin H, Dell CJ (2010) Hydrological and biogeochemical controls on the timing and magnitude of nitrous oxide flux across an agricultural landscape. *Glob Change Biol* **16** : 2711-2720.

Gaudu JC, Bourlet M, Mohrath D, Chanzy A, Bertuzzi P (1996). Méthode de Wind. Notice technique. Version 1.

Grundmann GL, Rolston DE (1987) A water function approximation to degree of anaerobiosis associated with denitrification. *Soil Sci* **144** : 437-441.

Heinen M (2006) Simplified denitrification models : Overview and properties. *Geoderma* **133** : 444-463.

Rabot E (2014) Le contrôle des émissions de protoxyde d'azote par le fonctionnement hydrique des sols. Thèse de Doctorat, Université d'Orléans.

Weihermüller L, Huisman JA, Graf A, Herbst M, Sequis JM (2009) Multistep outflow experiments to determine soil physical and carbon dioxide production parameters. *Vadose Zone J* **8** : 772-782.

Un automate d'irrigation contrôle la sécheresse et quantifie la transpiration chez de jeunes arbres

Cyril Buré¹, Alain Bénard¹, Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot¹, Oliver Brendel¹, Patrick Gross¹, Irène Hummel¹, Didier Le Thiec¹, Franck Radnai¹

Résumé. Pour mieux comprendre le fonctionnement des écosystèmes forestiers et à terme assurer leur durabilité, il est important non seulement de caractériser les réponses des différentes espèces forestières aux changements climatiques, mais aussi d'analyser les mécanismes d'acclimatation en abordant la plasticité inter et intra-spécifique de traits fonctionnels liés à l'acquisition des ressources (eau, carbone...). Les sécheresses du futur seront plus fréquentes et intenses; étudier leurs impacts nécessite le passage par des expérimentations en conditions contrôlées. Ces conditions devant être homogènes et répétables sur un grand nombre d'individus, l'automatisation est donc devenue indispensable.

Mots clés : automate, irrigation, sécheresse, forêt

Introduction

Depuis longtemps à l'INRA l'équipe « Physiologie et diversité de la réponse aux contraintes » au sein de l'UMR EEF (Ecologie et écophysologie forestières) étudie les réponses des arbres à la disponibilité en eau. L'équipe mène de nombreuses expérimentations en pot en conditions contrôlées. En pot, le niveau de sécheresse édaphique appliqué est déterminé à partir d'une calibration entre l'humidité volumique du substrat et sa masse. L'humidité volumique est mesurée manuellement par TDR (time domain reflectometry) et la masse par pesée. Le maintien de l'intensité de la sécheresse passe par un arrosage contrôlé qui compense les pertes évaporatoires. L'automatisation des pesées et de l'arrosage des pots à haute fréquence limite les oscillations de la teneur en eau du sol et par conséquent assure le maintien et la répétabilité de la contrainte. Par ailleurs, la quantité d'eau transpirée par la plante est quantifiable à partir de ces pesées.

A la suite de plusieurs projets conséquents (en nombre d'individus) l'idée de développer un système automatisé d'irrigation et de quantification de la transpiration par pesée de plantes en pot a émergé. En effet, le contrôle de la sécheresse sur environ 150 jeunes arbres mobilise beaucoup de personnel plusieurs fois par jour et est consommateur en manipulations ainsi qu'en temps. Ces raisons ont été déterminantes pour le développement d'un système automatisé approprié à l'application d'un déficit hydrique et permettant de quantifier les pertes transpiratoires.

Lors de la réflexion, appuyée par un échange avec le Lycée Louis Vincent à Metz, il est apparu important de concevoir un outil capable 1) de manipuler de jeunes arbres en croissance, 2) de gérer une fréquence d'arrosage élevée permettant ainsi un contrôle fin de la sécheresse mais également de mesurer la cinétique journalière de transpiration. Pour rédiger le *Cahier des clauses techniques particulières* (CCTP), nous avons établi une liste de contraintes et de critères techniques afin de définir la solution la plus appropriée à nos besoins. L'automate étant destiné à être installé en serre, et étant conscient de l'hétérogénéité climatique dans ce type de structure (température, lumière...), nous avons fait le choix d'un système avec convoyage des plants par rapport à un système à multiples balances fixes. Cette solution offre l'avantage de pouvoir installer, en plus d'une station de pesée-arrosage automatique, une station de mesure avec un équipement unique plutôt que de multiplier l'équipement pour chaque plante. Cette solution offre aussi la perspective d'ajouter ultérieurement une cabine de phénotypage. Nous avons requis un système où le convoyage ne modifie pas l'azimut des plants. Un autre critère du CCTP était l'optimisation de l'espace pour

1. INRA, UMR 1137 Ecologie et écophysologie forestières, F-54280 Champenoux, France ; cyril.bure@nancy.inra.fr

maximiser le nombre de plants dans la serre (dont les dimensions sont de 9 m x 6,3 m) sachant que les études qui y seraient menées porteraient sur de jeunes arbres en croissance (essentiellement le peuplier et le chêne). L'envergure latérale maximale prévue pour ces jeunes arbres était de 50 cm et le volume des pots d'environ 10 L afin de ne pas trop contraindre le développement racinaire.

Parmi les différentes offres faites par des prestataires, nous avons fait le choix 1) d'un système de convoyage à bandes avec une mécanique simple (sans chaîne et sans huile) nécessitant peu d'entretien et fonctionnant à l'air comprimé ; 2) de travailler avec des entreprises qui nous laissaient la propriété du système de contrôle et donc avec une entière liberté d'évolution (ELCOM² et ELOGIA³). Travailler en collaboration avec des entreprises spécialisées en automatisation s'avérait approprié à nos besoins de recherche tout en laissant une marge de développement du système de contrôle. C'est ainsi, et après plusieurs années de réflexion, de conception, de réalisation et de tests qu'en décembre 2010 « Pollux » a été installé dans une serre du Centre.

Présentation générale

Il s'agit d'un système de convoyage de plants en pot vers une station de pesage/arrosage via un « ascenseur » qui descend le pot sur une balance fixe ou vers une station de mesure manuelle (située dans une zone sécurisée). La forme du dispositif a été optimisée pour maximiser le nombre de plants dans la serre soit 72 plants, organisés sur six convoyeurs de stockage (**Figure 1**). Aux extrémités, deux navettes déplacent les pots d'une ligne de stockage à l'autre ou vers l'une des stations. L'ensemble du système est confiné sous la serre grâce à un sas de protection. Le mode de circulation des plants est organisé, sans mélange aléatoire, de façon à ce que l'ordre des plants soit toujours le même et ainsi que l'intervalle de temps entre deux pesées soit quasi-identique pour chaque plant. De plus, la vitesse de déplacement a été réglée pour limiter les mouvements brusques et à-coups susceptibles de modifier le fonctionnement des plants, tout en maintenant une cadence de mesure/arrosage optimale.

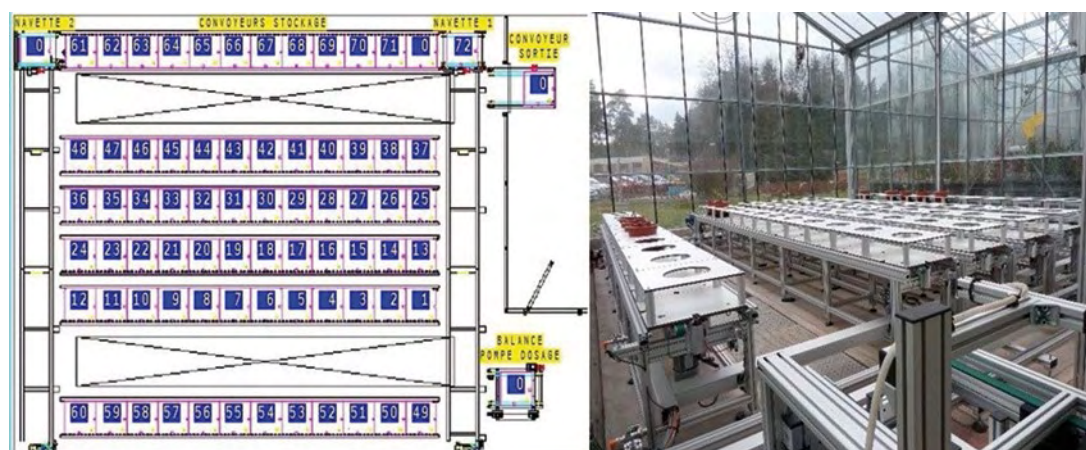


Figure 1. Plan d'ensemble et vue générale du dispositif (photo : C. Buré).

2. ELCOM : 1 rue Isaac Asimov, ZAC La Maladière, 38300 Bourgoin-Jallieu ; Tél. 04 74 43 99 61 mail : elcom@elcom.fr
3. ELOGIA : 425 chemin Pré Piraud, Z.A Pré Châtelain, 38300 Saint-Savin ; Tél. 04 74 27 74 02

Ossature

Les supports de pots dits « palettes »

Ce sont deux plaques carrées (50 x 50 cm et d'1 cm d'épaisseur) en stratifié compact pour une grande résistance à l'humidité et aux produits chimiques, espacées par quatre entretoises en aluminium (de 15 cm de haut) (**Figure 2**). La plaque inférieure est numérotée et équipée d'une puce RFID (radio frequency identification) permettant l'identification de la palette (donc du plant) lors de son passage sur les stations d'arrosage ou de mesure. La plaque supérieure, usinée pour recevoir un pot de 20 cm de diamètre, est amovible pour évoluer en fonction des besoins (utilisation d'autres diamètres de pots).

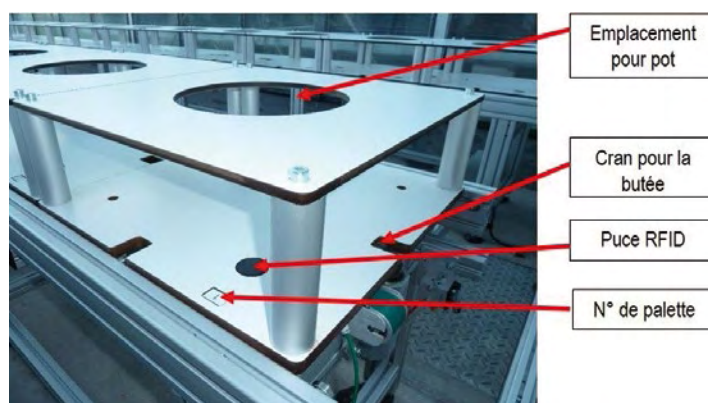


Figure 2. Palette (photo : C. Buré).

Les convoyeurs de stockage et les navettes

Les convoyeurs de stockage (ou « lignes ») sont des structures en profilé aluminium équipées d'une bande roulante portant 12 palettes chacune et assurant le déplacement des palettes (**Figures 1 et 3**). Cinq convoyeurs fonctionnent dans un sens, le sixième, dit « convoyeur de retour », dans l'autre sens. Situées sur un rail à chaque extrémité des convoyeurs, les navettes naviguent de façon coordonnée perpendiculairement aux convoyeurs. Lors du transfert d'une palette, la navette se positionne en face du convoyeur, ce qui libère la butée d'arrêt via un distributeur à galet d'air comprimé (**Figure 3**) et met en action la bande roulante. La palette coulisse vers la navette jusqu'à ce qu'un capteur de présence situé sur la navette détecte la palette et implique l'arrêt du transfert (**Figure 3**). La navette 1 reçoit la palette de l'un des cinq convoyeurs et l'emmène soit à la station de pesée-arrosage, soit à la station de mesure, ou directement vers le convoyeur de retour (ligne 6). La navette 2 reçoit la palette située à l'extrémité opposée du convoyeur de retour et la transfère à la position libérée par la dernière palette transportée par la navette 1. Seule la navette 1 est équipée d'un lecteur RFID qui identifie la palette avant son passage sur une des stations.



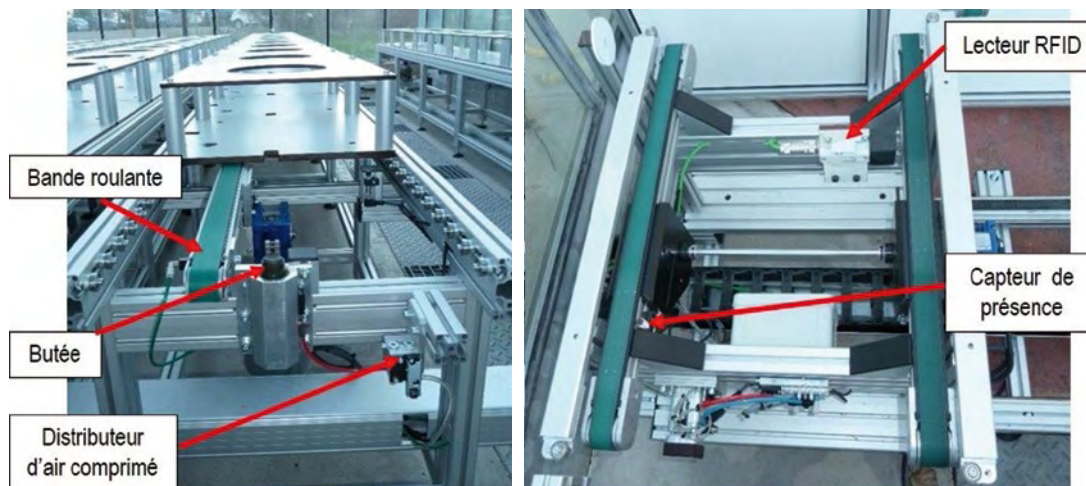


Figure 3. Convoyeur (à gauche) et navette 1 (à droite) (photos : C. Buré).

Station de pesée et arrosage

Ce poste, capital dans le système, est constitué d'une balance (Mettler Toledo BBA429) conçue pour répondre à des environnements de travail particulier (étanchéité à la poussière et à l'eau en projection, balance industrielle) avec un terminal de pesage (IND429). Elle est connectée et commandée par l'automate via le port RS- 232. Avant le transfert d'une palette sur cette station, l'automate commande une tare : la navette transfère la palette sur la station de pesage ; la palette est descendue lentement sur la balance ; elle est pesée et/ou arrosée selon le schéma de flux (**Figure 4**). Si la masse enregistrée est inférieure à la consigne, l'automate active la pompe péristaltique (Masterflex L/S 7550-30) pour délivrer un volume d'eau correspondant à la différence entre la masse mesurée et la consigne. Le volume est délivré avec une incertitude de ± 2 mL. La pompe prélève l'eau dans un réservoir, ce qui permet une certaine autonomie en cas de coupure d'alimentation en eau et protège la pompe péristaltique de la pression du réseau (**Figure 5**). Le réservoir est alimenté grâce à deux capteurs de niveau (bas et haut) reliés à une électrovanne. Une fois la phase d'arrosage terminée, la masse est de nouveau comparée : si l'écart à la consigne est supérieur à 10 mL, l'automate relance une deuxième phase d'arrosage ; sinon, l'automate redirige la palette sur la navette, qui l'amène sur le convoyeur de retour avant de prendre en charge la palette suivante. La consigne et les masses avant et après arrosage sont automatiquement enregistrées.

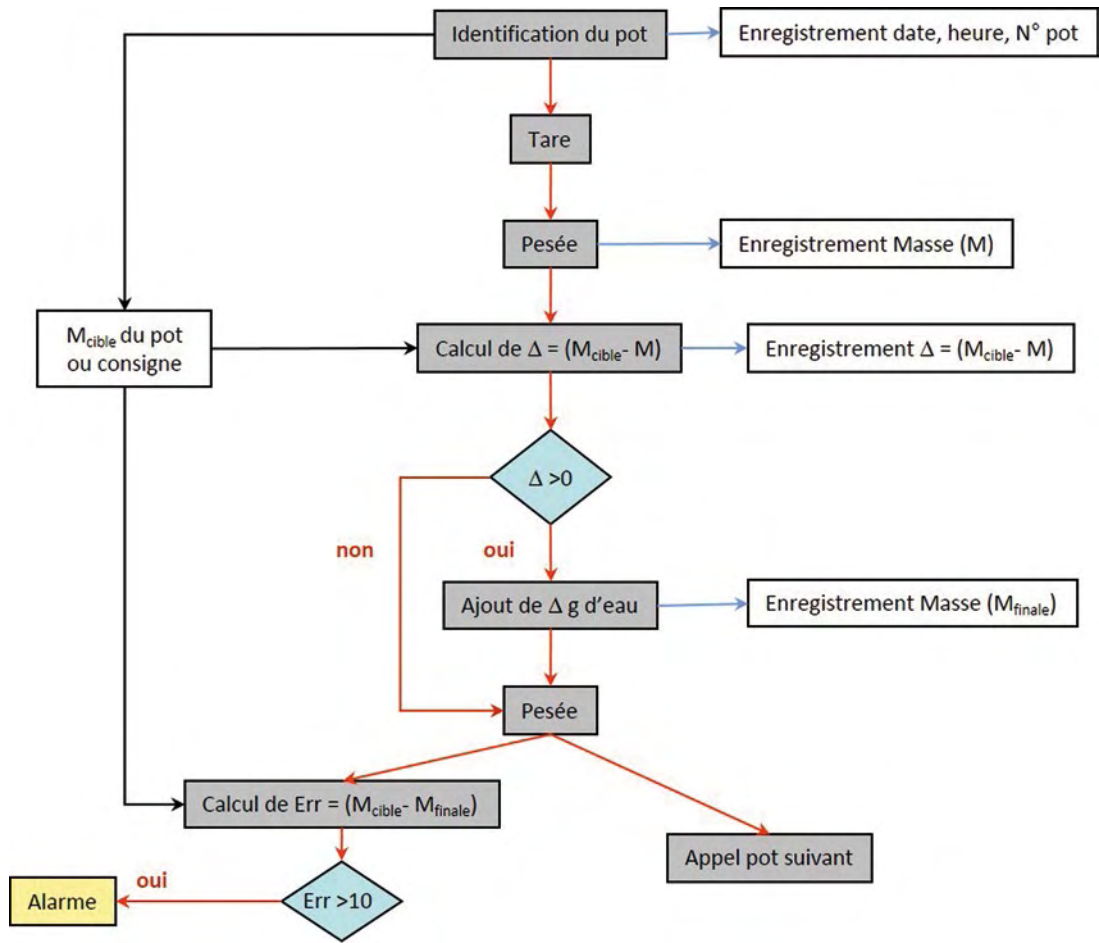


Figure 4. Schéma de flux.

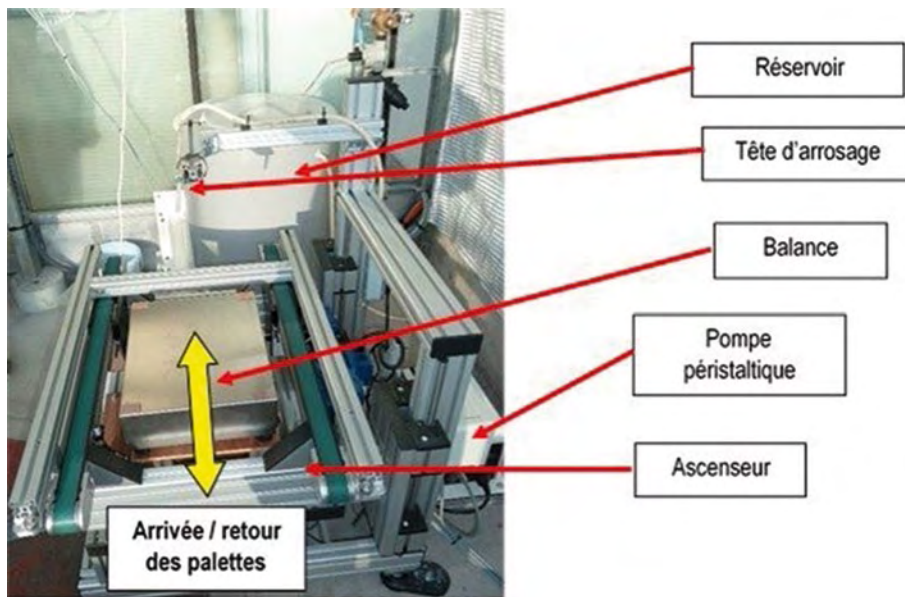


Figure 5. Station de pesée/arrosage (photo : C. Buré).



Station de mesure manuelle et sas de contrôle

La station de mesure manuelle est placée dans un sas (Figure 6) qui permet de recevoir les palettes pour réaliser différentes opérations sur les arbres en toute sécurité. La palette est présentée par la navette 1 devant la porte coulissante et à l'ouverture de celle-ci, s'avance jusqu'au poste de mesure. Une fois les mesures terminées, il suffit de valider son retour dans le circuit, via l'interface de gestion.

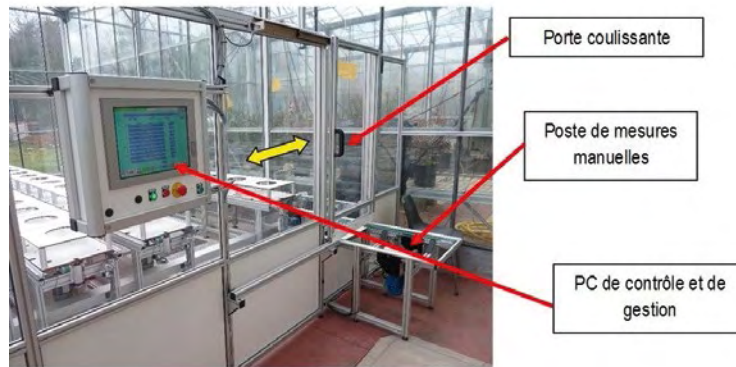


Figure 6. Sas et station de mesure manuelle (photo : C. Buré).

Automate et interface PC

Le pilotage de la partie mécanique a été réalisé en collaboration avec la société ELOGIA (bureau d'étude en automatisme) qui a conçu un programme permettant de répondre au mieux aux attentes et aux besoins des expérimentations et des expérimentateurs. Il s'agit d'un système de contrôle interfacé par PC tactile (Figure 7) qui gère de façon coordonnée :

- ✓ le convoyage des palettes,
- ✓ la desserte de la station de pesée et la descente/remontée de l'ascenseur pour la pesée,
- ✓ la desserte de la station de mesure,
- ✓ le système d'arrosage contrôlé.



Figure 7. PC tactile de gestion (photo : C. Buré).

Interface

L'interface permet de programmer 1) l'enchaînement des différents cycles de travail de l'automate, 2) une modification facile du programme, 3) également le changement instantané des consignes ainsi que la visualisation de la position des palettes et la surveillance des données enregistrées. Ce système peut être piloté à distance via le réseau internet et plus précisément, par le système « d'accès distant » mis en place par l'Unité SESUP (Services, support, usages autour du poste de travail) et disponible dans le catalogue de services 2014 de la DSI (Direction du Système d'information). Évolutif, ce système peut être complété en fonction de nouveaux besoins (nouveau mode de circulation, ajout de mesures automatiques ...).

Les différents cycles de travail de l'automate

- ✓ *Cycle « chargement et déchargement »*
Il permet de recevoir les palettes vides une à une au niveau du poste de mesure manuelle pour y déposer les plants. De plus, une sélection des palettes est possible de façon à ne considérer qu'un lot de plants.
- ✓ *Cycle « mesure manuelle »*
Il permet d'amener les palettes à la station de mesure. De même que pour le cycle « chargement et déchargement », une sélection des palettes est possible de façon à ne considérer qu'un lot de plants.
- ✓ *Cycle « arrosage »*
Il permet à chacune des palettes d'être dirigée vers la station de pesée, et, en fonction de la consigne de masse attribuée, d'être arrosée ou non.
- ✓ *Cycle « pesage seul »*
Il permet une pesée des palettes sans arrosage pour estimer la perte en eau entre deux arrosages.
- ✓ *Cycle « mesure et arrosage »*
Ce cycle est la combinaison des deux étapes précédentes. Dans un premier temps il y a le passage au poste de mesure manuelle suivi de l'étape d'arrosage.
- ✓ *Cycle « balade ».*
Les palettes sont en mouvement, elles circulent d'un convoyeur à l'autre sans passer sur les stations dans le but d'homogénéiser l'exposition à l'environnement.
- ✓ *Cycle « pause »*
C'est l'arrêt programmé du système pendant un certain temps (en minutes) (max : 1000 min). Il est utilisé pour espacer les autres cycles.

Les programmes

Deux types de programmation de l'automate sont possibles.

Le programme journalier

Il démarre chaque jour à une heure donnée. Le programme comprend jusqu'à 20 étapes, chacune correspondant à un des cycles décrits plus haut. A chaque étape, le cycle peut être répété plusieurs fois (ex : 1^{ère} étape de trois cycles « balade »). Une fois toutes les étapes effectuées, quelle que soit l'heure, l'automate s'arrête et le programme journalier reprend le lendemain à l'heure donnée. Le chargement des consignes se fait automatiquement à chaque début du programme.

Le programme unique

Contrairement au programme journalier, le programme unique ne peut pas commencer à une heure donnée. Son exécution se fait manuellement et comme son nom l'indique, il permet de réaliser un seul cycle.



Enregistrement des données

Toutes les données produites sont enregistrées quotidiennement sous forme de fichiers « .csv » (*comma-separated values*). Trois types de données sont sauvegardées : 1) les fichiers d'évènements qui répertorient tous les évènements programmés ou non, 2) les fichiers d'alarmes et 3) les fichiers de pesées qui sont incrémentés au fur et à mesure des pesées avec la date et l'heure de passage de chaque palette, son identification et les masses avant et après arrosage ainsi que la consigne.

Les fichiers journaliers de pesée-arrosages sont intégrés quotidiennement dans une base de données (BD). Pendant l'intégration, les données sont vérifiées et les pertes en eau ainsi que la transpiration par unité de temps sont calculées. Cette intégration se base sur un fichier pour chaque projet/robot où les opérateurs indiquent de manière codifiée les informations utiles. C'est aussi dans ce fichier que sont précisées les sorties de pot de la chaîne de mesure. La BD est capable d'intégrer des anomalies de masse (ex : perte ou ajout de masse autre que l'eau, comme un tuteur, un instrument de mesure, etc.) et des arrosages manuels supplémentaires dans ses calculs. Dans la BD, les données sont organisées par projets avec toutes les métadonnées sur la conduite de l'expérimentation. Il est aussi possible d'y accéder à distance par une connexion PostgreSQL.

Système d'alarme

Pour s'assurer du fonctionnement optimal de l'automate, un système d'alerte par sms (short message system) a été installé. Ce système peut nous informer sur notre téléphone portable en temps réel, de toute panne mécanique mais aussi d'un mauvais fonctionnement du programme. Pour plus de sécurité dans les expérimentations, un sms peut signaler le dysfonctionnement du système de convoyage ou d'arrosage (écart [masse de consigne-masse finale]).

Applications et perspectives d'évolution

Le système a été dupliqué en 2013 dans un autre compartiment de la même serre. Plusieurs projets de recherche ont eu lieu en interne ou lors de collaborations nationales et internationales sur différentes espèces forestières (chêne, peuplier, etc.). Les automates sont impliqués dans le cadre d'un projet européen d'infrastructure (Tree4future).

Pour illustrer l'utilisation principale de l'automate, nous avons choisi un exemple de suivi temporel de la masse d'une palette lors d'une expérimentation sur peuplier (**Figure 8**). L'arrosage du pot (jusqu'à la masse de consigne) permet de compenser les pertes transpiratoires entre les cycles d'arrosage et d'appliquer strictement des régimes hydriques de façon homogène. Notre système permet de calculer l'eau consommée par une plante à l'échelle de la journée et de suivre la dynamique de transpiration le jour et la nuit (**Figure 9**).

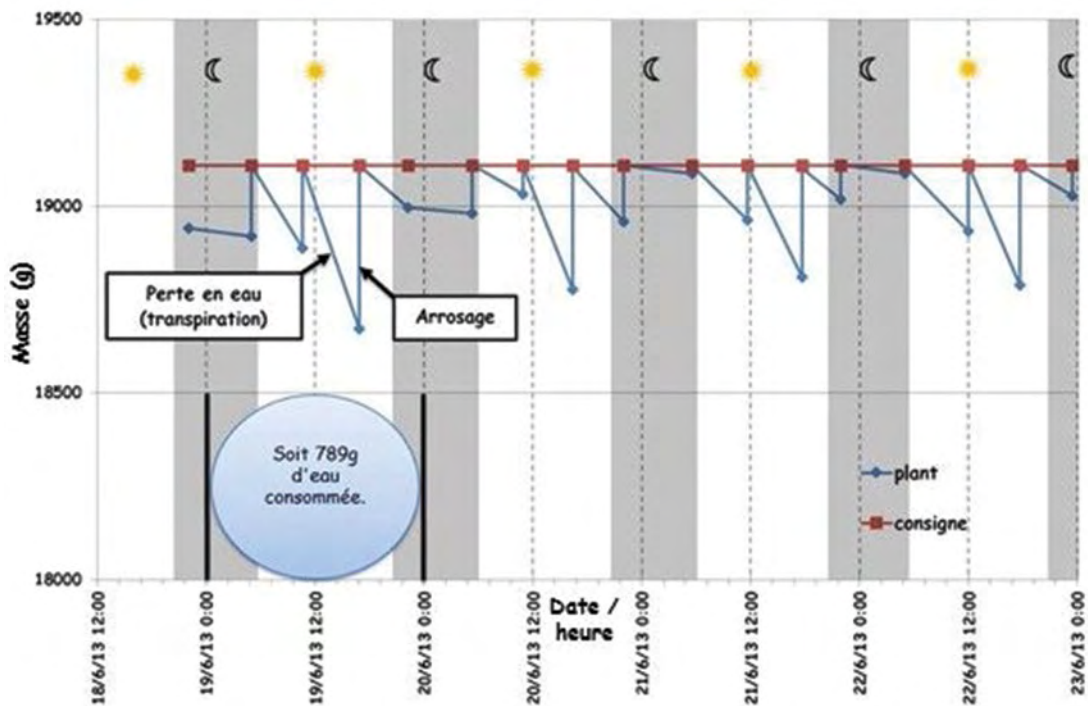


Figure 8. Exemple de suivi temporel de la masse.

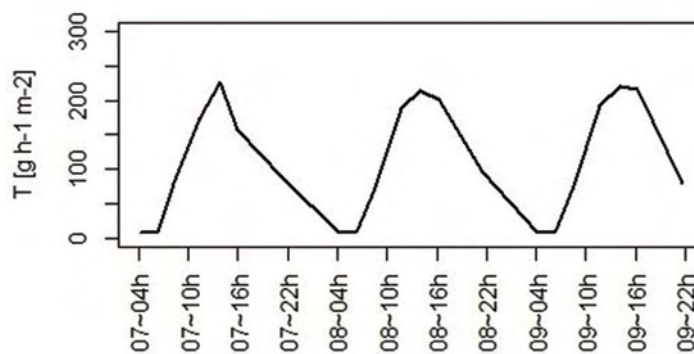


Figure 9. Suivi temporel de la transpiration « plante entière » sur 3 journées consécutives.

Le retour des utilisateurs est très positif d'autant que les résultats sont obtenus 1) sans la fatigue physique des pesées manuelles pluri-journalières, 2) avec une grande fréquence temporelle dans l'acquisition des données. De plus, la sauvegarde automatique (des mesures et des événements) permet une amélioration de la démarche qualité autour d'expériences lourdes. Enfin, le choix d'un système évolutif, tant dans l'ossature que la gestion de l'automatisme, est pertinent. Nous avons pu faire évoluer « Pollux », lors de l'acquisition du second automate (« Castor »), pour mieux satisfaire les utilisateurs. Etant gestionnaires et propriétaires du programme et des données générées, nous avons la liberté de faire évoluer nos automates en fonction de nos besoins scientifiques (exemple : acquisition automatique des diamètres de tige ou de l'humidité volumique du substrat, ajout d'instrumentation aux stations, ajout de stations et/ou d'interconnexions des deux automates).



Outils et exemples d'utilisation autour d'un imageur TEP dans la compréhension de la prise alimentaire chez le porc

Eric Bobillier¹

Résumé. Ce travail a pour but de présenter le principe d'utilisation d'un imageur TEP (tomographie par émission de positons) dans une application de localisation de structures cérébrales, mise en œuvre lors d'une aversion alimentaire chez le porc. Le but de ces recherches est de mieux comprendre les mécanismes mis en œuvre lors de la prise alimentaire chez l'animal, et par extrapolation, chez l'homme. L'imagerie TEP qui permet de mesurer l'activité métabolique de structures très petites (quelques mm), est bien adaptée pour suivre l'activité de noyaux et de structures cérébrales. Cependant, l'image obtenue par cette technique pour être correctement interprétée, doit être couplée à une image anatomique (scanner) afin de permettre une meilleure localisation des structures activées. De plus, cette localisation nécessite l'utilisation d'un atlas stéréotaxique en cours d'élaboration au sein du laboratoire. Un appareil de préparation et d'injection de marqueur radioactif (FDG (fluorodésoxyglucose (¹⁸F)) utilisé lors de la mise en œuvre de cette technique d'imagerie est également présenté.

Mots clés : imagerie médicale, TEP, tomographie par émission de positons, FDG

Principe de fonctionnement d'un imageur TEP

La TEP (tomographie par émission de positon) (**Figure 1**) repose sur le principe général de la scintigraphie, qui consiste à injecter un traceur dont on connaît le comportement et les propriétés biologiques pour obtenir une image du fonctionnement d'un organe. Ce traceur est marqué par un



Figure 1. Vue générale d'un TEP (photo : H. Flageul).

1. INRA, UR ADNC 1341, Domaine de la Prise, F-35590 St Gilles, France ; eric.bobillier@rennes.inra.fr

atome radioactif (carbone, fluor, azote, oxygène...) qui émet des positons, dont l'annihilation produit elle-même deux photons. La détection de la trajectoire de ces photons par le collimateur de l'imageur TEP, permet de localiser le lieu de leur émission et donc la concentration du traceur en chaque point de l'organe. C'est cette information quantitative que l'on représente sous la forme d'une image, faisant apparaître en couleur les zones de forte concentration du traceur.

De manière plus physique, le détecteur TEP (**Figure 2**) est composé d'un arceau de détecteurs, eux mêmes constitués d'un photomultiplicateur équipé d'un collimateur individuel. A chaque désintégration de l'isotope radioactif, deux photons Gamma sont émis à 180° l'un de l'autre. Ces photons de haute énergie (512 KeV), vont venir frapper les collimateurs et être transformés en photons visibles. Ces photons vont à leur tour, percuter les grilles du photomultiplicateur, et générer un courant. Si les deux détecteurs sont percutés au même instant, cela indique que la source de la désintégration se trouve à équidistance, et donc au centre de ceux-ci. Si, par contre un décalage temporel existe, celui-ci permet de définir si la source est plus à droite ou plus à gauche. Une unité de coïncidence permet de calculer ce décalage, et de rejeter des détections erronées (trois détections et plus simultanées). Une unité de stockage et de calcul reconstitue l'image en sommant la totalité des détections pendant un temps donné.

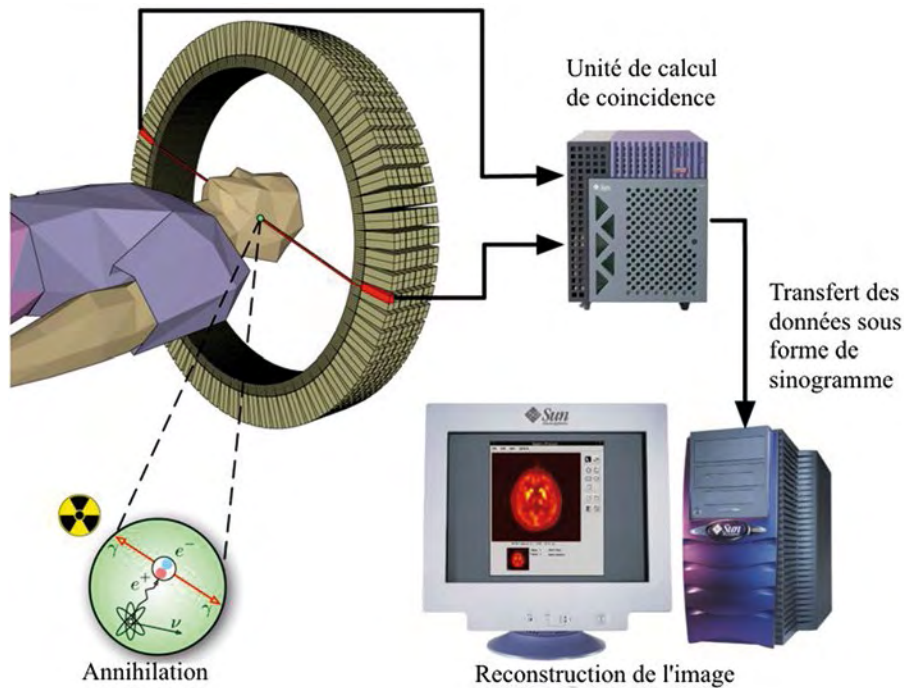


Figure 2. Schéma du processus d'acquisition (source : documentation Siemens).

La scintigraphie en TEP est obtenue par injection d'un traceur faiblement radioactif par voie intraveineuse. Le marqueur est le plus souvent le fluor (^{18}F) incorporé dans une molécule de glucose formant le ^{18}F -fluorodésoxyglucose (en abrégé ^{18}F -FDG). Ce traceur, semblable au glucose, se fixe au niveau des tissus qui consomment de grandes quantités de ce sucre comme les tissus cancéreux, le muscle cardiaque ou encore le cerveau. Dans le cas de nos études, nous stimulons de manière simultanée à l'injection du marqueur, un processus digestif ou olfactif qui va induire une activation de certaines zones du cerveau. L'activation de ces noyaux induisant une plus grande consommation de sang, entraîne une plus grande fixation du marqueur F-FDG, permettant ainsi leur visualisation.



Exemple d'application : développement d'une aversion/préférence olfactogustative conditionnée chez le porc

Le but de cette étude, menée au sein du laboratoire par le Dr David Val-Laillet, est de développer un modèle expérimental, permettant de mieux comprendre les mécanismes mis en œuvre lors d'une préférence ou d'une aversion alimentaire. Ce sujet peut être abordé sous les angles conjoints de la recherche en nutrition humaine et du bien-être animal en conditions d'élevage². Au cours des deux dernières décades, le porc est devenu un modèle incontournable de la recherche biomédicale et plus particulièrement des études en nutrition et neurosciences. Le comportement alimentaire est étroitement lié à l'image sensorielle de l'aliment et à sa valeur hédonique. Étudier comment cette image et cette valeur peuvent moduler l'ingestion, et décrire des corrélats neurobiologiques de ces mécanismes, peut aider à comprendre l'origine de certains troubles du comportement alimentaire chez l'homme (aversions chez les enfants, patient anorexique, patient cancéreux sous chimiothérapie...) ou de préférences exacerbées (addictions alimentaires, obésité...).

Une telle étude sur le porc peut également être utile en production animale, pour comprendre la façon dont une aversion à un aliment nouveau ou de transition, peut se développer et être mémorisée par l'animal. Elle peut aussi aider à comprendre sur quelles bases une préférence alimentaire se met en place et comment cela se traduit en termes de traitement central.

La réalisation de cette étude se déroule en trois phases :

- ✓ *une première phase dite de conditionnement* où les animaux sont soumis à des régimes alimentaires marqués olfactivement (thym, cannelle, orange). Chacun de ces aliments est associé à une injection intra duodénale induisant soit une « douleur viscérale » (aversion), soit « une sensation de plaisir » (glucose, préférence), soit « neutre » (sérum physiologique, contrôle) ;
- ✓ *la deuxième phase constitue une étape de contrôle* permettant de vérifier si les mécanismes aversions-préférences se sont bien mis en place. Pour ce faire, les animaux sont à nouveau soumis aux régimes, mais cette fois sans injection duodénale. Leurs choix seront validés par le suivi des quantités ingérées et de l'enregistrement vidéo de leur comportement devant le repas ;
- ✓ *la troisième phase, met en œuvre l'imagerie TEP* et permet de localiser les structures cérébrales activées lors de l'induction d'une aversion, d'une préférence, ou d'un contrôle. Pour ce faire, les animaux anesthésiés (sans blocage des fonctions digestives) (**Figures 3 et 4**), sont soumis à un stimulus gustatif et/ou olfactif généré par deux appareils que j'ai en partie développés au sein du

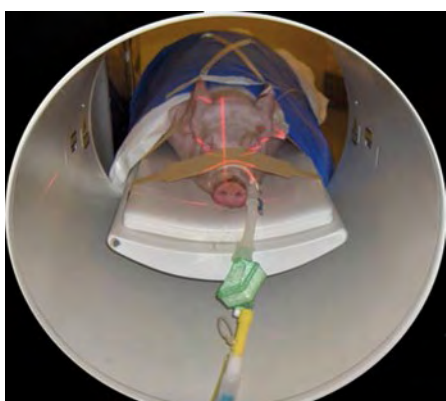


Figure 3. Un animal dans le TEP.



Figure 4. Animal équipé des sondes.

(Photos 3 et 4 : H. Flageul INRA St-Gilles)

2. La recherche a été conduite en suivant strictement les recommandations en matière d'expérimentation et de bien-être animal.

laboratoire : le gustautomate et l'olfactautomate (**Figures 5 et 6**). Le gustautomate permet d'injecter sur la langue, une salive artificielle à laquelle est ajoutée de manière ponctuelle une flaveur associée à l'aversion, la récompense ou le contrôle. Le dispositif prend aussi en charge l'aspiration des excédents de salive, afin de ne pas saturer la gueule de l'animal. L'olfactautomate quant à lui, dispense dans le groin, les odeurs associées aux différentes flaveurs (**Figure 7**). Ces deux appareils sont pilotés par un programme développé en LabView. Ces stimulations sont conduites de manière conjointe à l'injection du marqueur radioactif ^{18}F -FDG, permettant ainsi « d'éclairer » les zones cérébrales activées (**Figures 8 et 9**).

Les images ainsi obtenues (**Figure 8**) permettent après soustraction, de définir quelle partie du cerveau est activée (par exemple flaveur « récompense » versus « contrôle », **Figure 9**).



Figure 5. Le gustautomate



Figure 6. L'olfactautomate.

(Photos 5 et 6 : H. Flageul INRA St-Gilles)



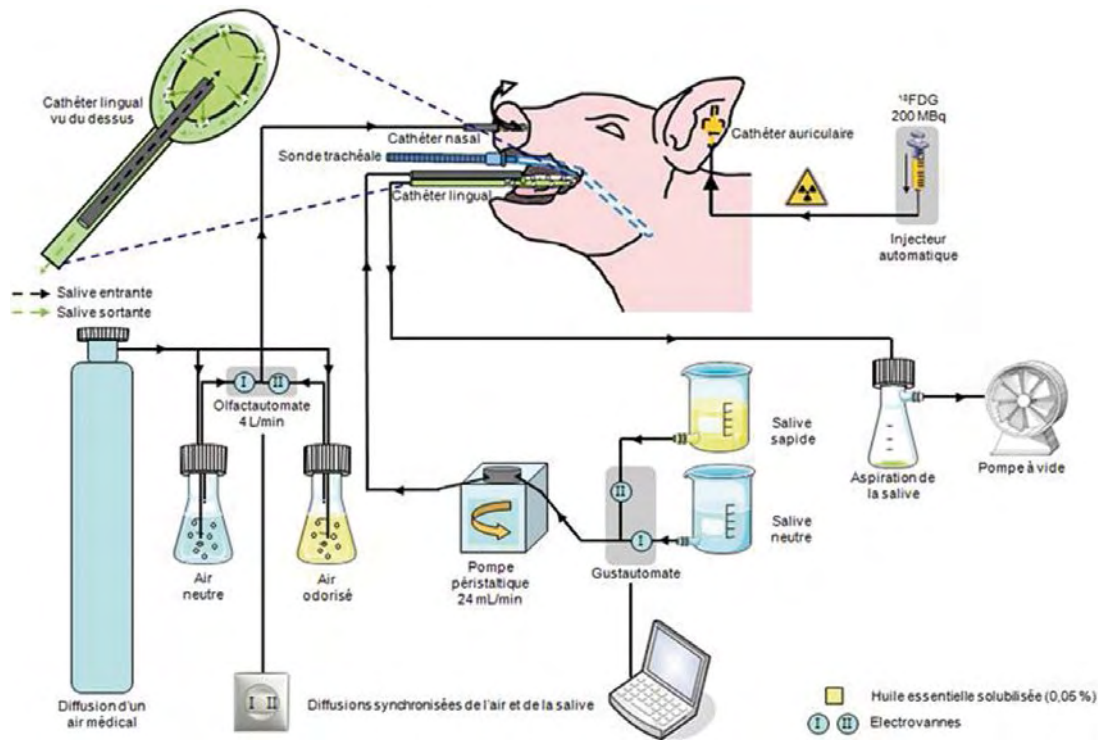


Figure 7. Représentation schématique du dispositif de stimulation.

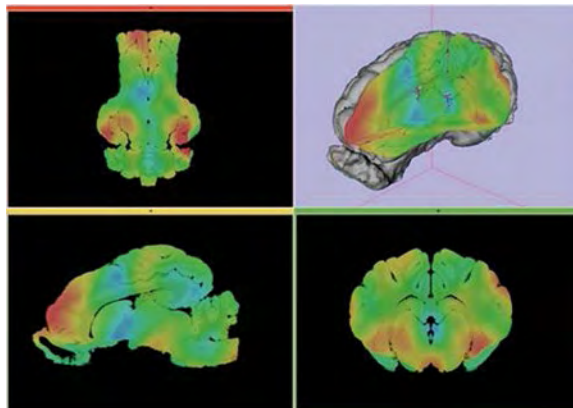


Figure 8. Image TEP.

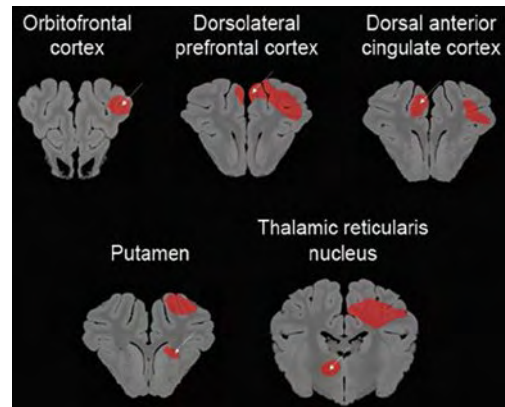


Figure 9. « Récompense » versus « contrôle ».

Dispositif de préparation et d'injection automatique du marqueur radioactif

Le marqueur radioactif utilisé pour le TEP et possédant une forte énergie (512 KeV), entraîne lors de sa manipulation et de sa préparation, un risque radiologique important pour les utilisateurs. A ce titre, les calculs effectués par la personne compétente en radioprotection, préconisent une protection de 4 cm de plomb pour réduire efficacement le risque radiologique. Dans ce cadre, le responsable du laboratoire, Dr C.H Malbert, a demandé de concevoir un dispositif de préparation et d'injection du ^{18}F -FDG pouvant être contrôlé à distance (**Figure 10**).

Le ^{18}F -FDG nécessite pour sa fabrication, de disposer d'un synchrotron que nous n'avons pas sur place. Un accord passé avec le centre anticancéreux Eugène Marquis de Rennes, nous permet d'obtenir régulièrement ce produit. Il nous est expédié par transporteur spécial, et arrive au laboratoire sous forme d'un petit flacon contenu dans une protection en plomb. Le ^{18}F -FDG doit ensuite être dilué dans du sérum physiologique pour pouvoir être ensuite injecté dans l'animal par voie intraveineuse, et ce en tenant compte de la décroissance de l'activité radioactive du produit et de la dose à injecter. Le rôle de l'injecteur automatique que j'ai conçu permet d'effectuer toutes ces tâches, en limitant, tant que possible, les contacts des utilisateurs avec le ^{18}F -FDG. J'ai donc réalisé avec l'aide des ateliers de mon Unité, un dispositif mobile comprenant deux poussettes pilotées par une liaison RS232, une caméra, un écran et un ensemble de protection au plomb (400 kg). Un logiciel, développé sous LabView (**Figure 11**), permet de piloter l'ensemble des tâches de préparation à partir du poste de contrôle du TEP. Le processus se déroule en quatre phases :

- 1) remplissage des seringues en sérum,
- 2) aspiration du ^{18}F -FDG,
- 3) purge du cathéter,
- 4) injection du mélange dans l'animal.

Seules les phases 2 et 4 nécessitent une intervention manuelle minimale de l'utilisateur, la caméra et l'écran lui permettant de visualiser ses mains derrière la protection au plomb.



Figure 10. Vue de l'injecteur automatique ; (photo : E. Bobillier).



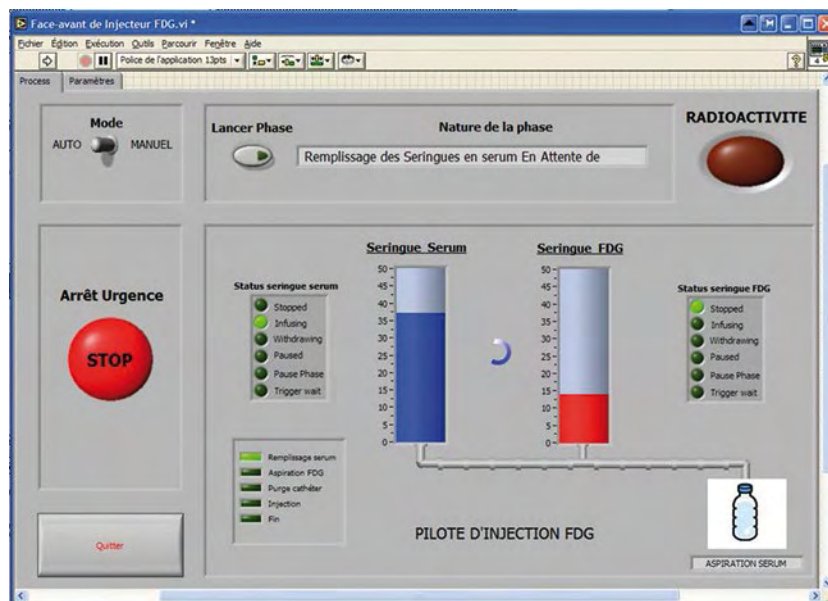


Figure 11. Logiciel de pilotage.

Références bibliographiques

- Clouard C, Meunier-Salaün MC, Meurice P, Malbert CH, Val-Laillet D (2014) Combined compared to dissociatorial and intestinal sucrose stimuli induce different brain hedonic processes. *Frontiers Psychol* **5** : Article 861.
- Clouard C, Jouhannau M, Meunier-Salaün MC, Malbert CH, Val-Laillet D (2012). Exposures to conditioned flavours with different hedonic values induce contrasted behavioural and brain responses in pigs. *PLoS ONE* **7** (5), e37968.
- Gaultier A, Meunier-Salaün MC, Malbert CH, Val-Laillet D (2011) Flavours exposures after conditioned aversion or preference trigger different brain processes in anaesthetised pigs. *Eur J Neurosci* **34** : 1500-1511.

Développement d'un microdigesteur pour le suivi de la digestion gastro-intestinale de gouttes d'huile isolées

Mélanie Marquis¹, Gaëlle Rivière¹, Hugo Algaba¹, Sébastien Marze¹

Résumé. La bonne assimilation des nutriments et micronutriments lipophiles (notamment vitamines) est capitale pour prévenir les maladies chroniques chez l'homme, en particulier cardiovasculaires. Toutefois, la digestion des lipides met en jeu de nombreux phénomènes qui sont difficilement quantifiables *in vivo* en condition d'alimentation normale. Les méthodes *in vitro* dynamiques (en flux continu) sont également trop complexes pour appréhender les mécanismes individuels. Afin de caractériser ces derniers au cours de la digestion de nutriments lipophiles (triglycérides) et de micronutriments lipophiles (vitamines liposolubles), nous avons développé une méthode microfluidique. Cela nous a permis de suivre en temps réel la diminution du volume de gouttes pour des huiles de différentes sources dans des conditions de digestion gastro-intestinale en flux continu.

Mots clés : digestion *in vitro*, microfluidique, émulsion, caractéristiques structurales

Introduction

La maîtrise de plusieurs facteurs indispensables pour l'étude *in vitro* des lipides est offerte par les outils microfluidiques. La microfluidique est la science de la manipulation des fluides à l'échelle micrométrique. La microfluidique à gouttes a pour avantages de maîtriser (i) l'obtention d'une population de gouttes monodisperses, (ii) des débits et profils de vitesse, (iii) des temps de résidence dans le système et (iv) des mélanges. Elle permet également de réduire les quantités à l'échelle du microlitre abaissant ainsi considérablement les coûts d'expérimentation. D'autre part, les méthodes de microconstructions existantes sont extrêmement flexibles et peu coûteuses. Ces microsystèmes présentent ainsi une bonne modularité.

Dans ce contexte, la première étape du projet a été de développer un microdigesteur dynamique à gouttes permettant de mimer les flux de sucs digestifs dans différents environnements physico-chimiques représentatifs de ceux rencontrés dans la bouche, l'estomac et l'intestin grêle.

Ensuite l'utilisation du microsystème a permis d'explorer le rôle de nombreux paramètres (tels que la taille des gouttes, le type d'huile, le type d'émulsifiant à l'interface) sur la digestion de gouttes *in vitro*.

A terme, cet outil pourrait devenir un moyen de criblage de systèmes d'intérêt nutritionnel.

Matériel et méthodes

Conception du circuit microfluidique

Le microdigesteur que nous avons imaginé est constitué de deux modules. Un premier pour la génération de gouttes d'huile monodisperses (toutes de la même taille), et un second pour le piégeage individuel de ces gouttes afin d'étudier leur digestion en flux continu. Ces deux modules sont reliés entre eux par un tuyau en plastique. La particularité de ce microsystème réside dans le fait que les surfaces internes doivent être hydrophiles afin d'obtenir des gouttes d'huile et non des gouttes d'eau. Pour cela, les canaux ont préalablement subi un traitement adéquat.

1. INRA, UR 1268 BIA, Biopolymères Interactions et assemblages, F-44316 Nantes Cedex 3, France ; Melanie.Marquis@nantes.inra.fr

Concernant le premier module, la littérature a exploré plusieurs géométries pour la génération de gouttes de l'ordre de 100 μm . Nous avons choisi la géométrie contenant une jonction avec focalisation des flux ou FFD (flow focusing device) (Zhang et al., 2006). Dans cette géométrie, deux canaux d'un fluide porteur, appelé phase continue, qui est dans notre cas une solution aqueuse, convergent vers un canal central contenant une huile appelée phase dispersée. La phase continue vient confiner la phase dispersée pour former des gouttes d'huile dans l'eau. En jouant sur les débits de chaque phase, il est possible de contrôler la taille des gouttes. Ainsi, plus le débit de la phase continue (Q_c) est grand et le débit de la phase dispersée petit (Q_d), plus les gouttes obtenues seront petites.

Pour le second module, afin de mimer au mieux les différentes étapes de la digestion sur des gouttes isolées, nous avons dessiné une chambre comprenant des pièges micrométriques (plots). La goutte va être dirigée vers un plot grâce à une fente d'aspiration au milieu de ce dernier. Une fois le plot rempli, la goutte va bloquer l'aspiration et les autres gouttes seront repoussées (Huebner et al., 2009).

Dans notre cas, les dessins de circuits sont créés à partir du logiciel Adobe Illustrator et sont imprimés, sur un transparent, en haute résolution (3600 dpi) afin de conserver les dimensions micrométriques. Les masques qui en résultent sont utilisés pour la construction de moules (Figure 1).

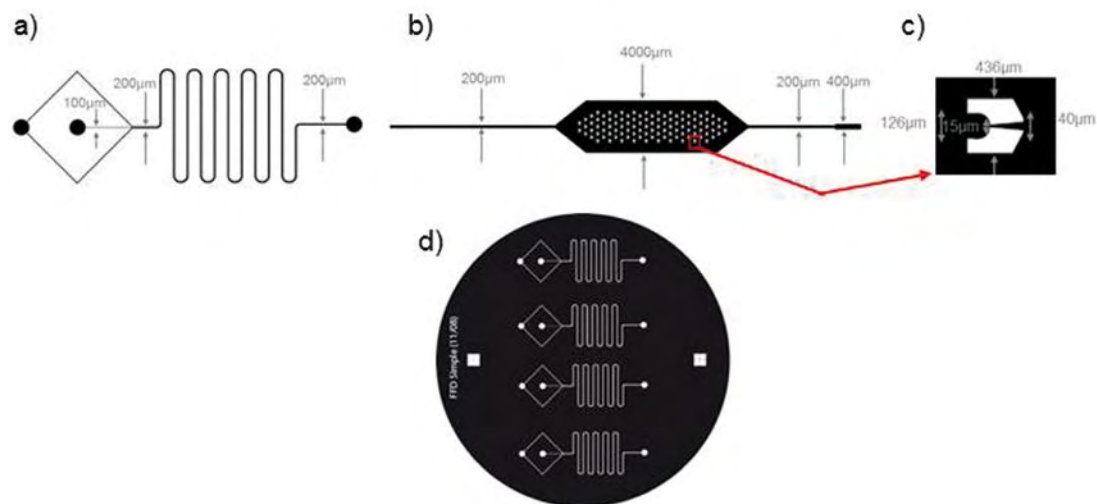


Figure 1. Dessins des différentes parties composant le microdigesteur, réalisés à l'aide du logiciel Adobe Illustrator. **a)** Module 1 : générateur de gouttes par une jonction Flow Focusing (FFD). **b)** Chambre de digestion avec des plots pour piéger les gouttes. **c)** Grossissement d'un plot constitué de deux parties laissant une fente d'aspiration. **d)** Motifs imprimés en négatif et en haute résolution (3600 dpi) pour l'obtention des masques qui serviront à la construction des moules par photolithographie.

Fabrication des circuits

Construction des micromoules par photolithographie

Cinq à dix millilitres d'une résine SU8 sensible aux ultra-violets (UV) (CTS, France) sont étalés au centre d'une galette de silicium de 10 cm de diamètre (Silicon Materials, Allemagne) à l'aide d'une tournette, ou spin coater (SPS-Europe, Pays-Bas), avec une accélération de 500 tr/min sur une durée de 30 s. L'ensemble subit une première étape de deux phases sur plaques chauffantes afin d'évaporer le solvant contenu dans la résine (5 min à 65°C puis 20 min à 95°C). Le masque, où sont représentés les motifs, est ensuite placé entre une source UV à 365 nm (UV-KUB 2, Kloé, France) et la résine. L'insolation dure 40 s à une puissance de 25 mW/m². Une seconde étape de deux phases de chauffage est réalisée

afin d'assurer une bonne adhésion de la résine réticulée sur le substrat silicium (5 min à 65°C puis 10 min à 95°C). La partie de la résine exposée aux UV est devenue alors insoluble au solvant de développement qui est du propylène glycol méthyl éther acétate, PGMEA (Sigma-Aldrich, France) (**Figure 2a-1**). Après plusieurs étapes de lavage au PGMEA et à l'isopropanol (Sigma-Aldrich, France), les motifs apparaissent en relief. Le moule est séché sous un flux d'air avant d'être utilisé pour l'étape de lithographie molle (**Figure 2a-2**). Cette étape nécessite de travailler en environnement propre limitant le dépôt de poussière dans la résine non réticulée (Tabeling, 2003).

Construction des circuits par lithographie molle

Cette étape se réalise sous hotte à flux laminaire pour éviter la présence de poussière dans les microcanaux. Du polydiméthylsiloxane, PDMS, est mélangé avec 10 % de réticulant (PDMS RTV615, Eleco Produits, France). Ce mélange est coulé sur le moule préalablement placé dans une boîte de Petri. En parallèle, un mélange de PDMS avec 5 % de réticulant est étalé, avec une épaisseur de 5 mm, au fond d'une boîte de Petri. Après une étape de dégazage pour éliminer les bulles dues au mélange, une première étape de réticulation à 70°C pendant 20-25 min est réalisée. Les microcircuits sont ensuite démoulés. Les entrées et les sorties sont poinçonnées de sorte à positionner les futures connectiques. Les microcircuits subissent un dernier nettoyage avec du papier adhésif afin d'éliminer le maximum de petits résidus et les poussières avant d'être délicatement positionnés sur la fine couche de PDMS contenant 5 % de réticulant. L'ensemble est placé à nouveau à 70°C pendant au moins une heure afin d'initier le collage par gradient de réticulant (**Figure 2 b-1**). Puis des renforts, en PDMS contenant 5 % de réticulant, sont réalisés au niveau des entrées et des sorties à l'aide d'un assemblage composé d'emporte-pièces adaptés en plastique et d'un tube en inox (Coop 23G/15 mm, Phymep, France) placé dans les trous préalablement poinçonnés. Les circuits finalisés sont placés au moins une nuit à 70°C pour terminer la réticulation (**Figure 2b-2**) (Xia et Whitesides, 1998).

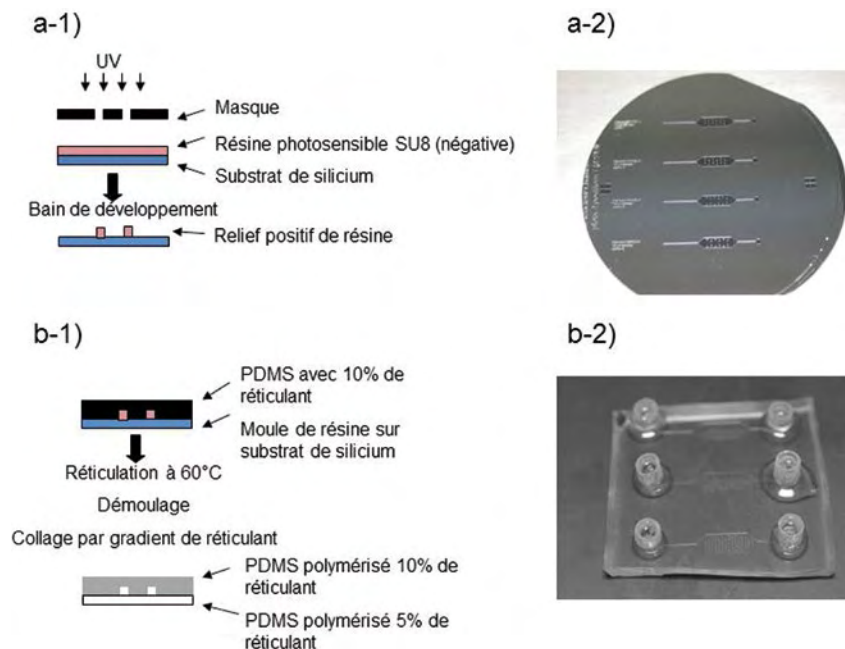


Figure 2. Etapes de microconstruction.

a-1) Schéma du principe de l'étape de fabrication d'un moule en résine photosensible par photolithographie.

a-2) Photo d'un moule avec les motifs de résine en relief sur un substrat silicium.

b-1) Schéma du principe de fabrication d'un microcircuit par lithographie molle avec du polydiméthylsiloxane (PDMS).

b-2) Photo de circuits fermés et avec renforts au niveau des connectiques ; (photos : BIA Nano- ISD).



Traitement hydrophile

Comme expliqué précédemment, pour générer des gouttes d'huile dans l'eau, les canaux doivent être hydrophiles, lié au fait que la phase continue soit de l'eau. Initialement le PDMS est un composé hydrophobe. Un traitement adapté des canaux est nécessaire pour les rendre hydrophiles.

Pour ce faire, nous avons choisi d'utiliser la méthode de dépôt d'acide acrylique réticulé en acrylate sur la surface des canaux (Schneider et al., 2010). Pour cela une solution de benzophénone (Sigma-Aldrich, France) à 10 % dans l'acétone est injectée dans les canaux à l'aide de seringues en verre (2 mL, Hamilton, Suisse) et de tuyaux en polytétrafluoroéthylène, PTFE (11919445, Fisher Scientific, France) à un débit de 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ pendant 10 min. La benzophénone diffuse dans le PDMS car ce dernier est perméable à l'acétone. La solution d'acétone résiduelle dans les canaux est éliminée par évaporation sous flux d'azote gazeux et par un passage sous vide de 10 min minimum. Ensuite l'acide acrylique issu d'une bouteille fraîchement ouverte (Sigma-Aldrich, France) est préparé à 20 % dans de l'eau Millipore (eau ultra pure). La solution est injectée avec un débit de 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ pendant 2 min. Le circuit rempli est ensuite exposé aux UV à 365 nm pendant 5 min à 25 mW/m^2 . L'insolation génère des radicaux libres et a pour but de polymériser l'acide acrylique au contact de la benzophénone. Ensuite l'acide acrylique non réticulé est éliminé par lavage à l'éthanol à 95 %, injecté à 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ dans les canaux pendant 45 min. Il en résulte une fine couche hydrophile de PAA (polyacrylic acid) à la surface des canaux. Les canaux sont ensuite rincés avec un flux d'eau à pH 11 pendant 45 min à 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ et sont conservés à 4°C.

Mise en fonctionnement du microdigesteur

Génération de gouttes d'huile et remplissage de la chambre de digestion

Les entrées et les sorties des deux modules sont connectées vers l'extérieur par des tubes inox reliés à un tuyau PTFE. Les liquides sont injectés dans le module 1 à l'aide de seringues en plastique (Terumo, Belgique) montées sur des pousse-seringues PHD 2000 (Harvard Apparatus, France) (**Figure 3-a**). L'ensemble est placé sur un microscope inversé IX51 (Olympus, France) équipé d'une caméra C4742-95 (Hamamatsu, France) et d'un objectif au grossissement x4 (Olympus, France). La caméra est pilotée par un logiciel développé par notre Unité. Cela permet d'observer et de contrôler d'une part, la génération de gouttes d'huile de diamètre voulu au niveau de la jonction du module 1 (**Figure 3-b**) et d'autre part, le piégeage des gouttes dans les plots du module 2 (**Figure 3-c**). Les deux modules du microdigesteur sont connectés entre eux par un tuyau PTFE dès lors que la taille des gouttes visée est stable à la sortie du module 1. La chambre de digestion se remplit donc avec les gouttes de taille contrôlée générées dans le module 1.

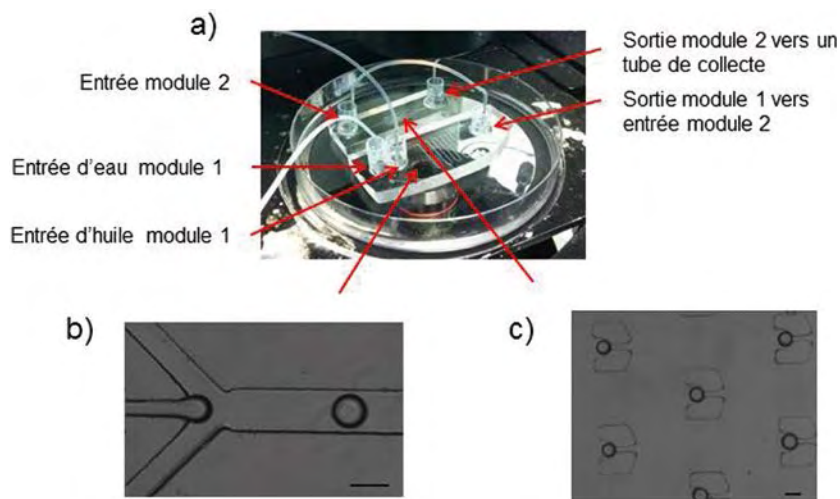


Figure 3. Microdigesteur en fonctionnement.

- a)** Les deux modules sont placés sur un microscope inversé. Les solutions sont injectées par des seringues en verre montées sur des pousse-seringues. Les connectiques sont réalisées par des tuyaux PTFE et tubes inox (les deux modules sont connectés entre eux par un tuyau PTFE).
- b)** Génération de gouttes d'huile dans l'eau au niveau de la jonction Flow Focusing Device (FFD), l'échelle est de 130 μm .
- c)** Gouttes d'huile de 130 μm piégées dans les plots de la chambre de digestion, l'échelle est de 200 μm ; (photos : BIA Nano-ISD).

Digestions

Une fois les plots de la chambre remplis, le module 1 est déconnecté du module 2. L'entrée de la chambre de digestion est ensuite directement connectée à une seringue contenant un fluide digestif injecté à un débit de 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ à partir d'un pousse-seringue. Afin de se rapprocher des conditions réelles de digestion, il est nécessaire de placer la chambre du microdigesteur à une température de 37°C. Pour cela, elle est installée sur une platine chauffante adaptée au microscope.

Lorsque le fluide circule dans le module 2, la digestion débute et l'observation de la diminution de la taille des gouttes en fonction du temps (**Figure 4a**) peut être évaluée par mesure du diamètre par analyse d'image.

Nous avons appliqué cette méthode sur quatre huiles différentes : l'huile d'olive (O1514, Sigma-Aldrich, France), la trioléine (T7140, Sigma-Aldrich, France), le glyceryl trioctanoate (T9126, Sigma-Aldrich, France) et l'huile de poisson (EPAX 1050 TG, Polaris, France) (**Figure 4b**). Le fluide digestif injecté est composé de lipase porcine (L3126, lipase de pancréas de porc type II, Sigma-Aldrich, France) et d'un sel biliaire (sodium glycodeoxycholate, G9910, Sigma-Aldrich, France) à pH 7,5.



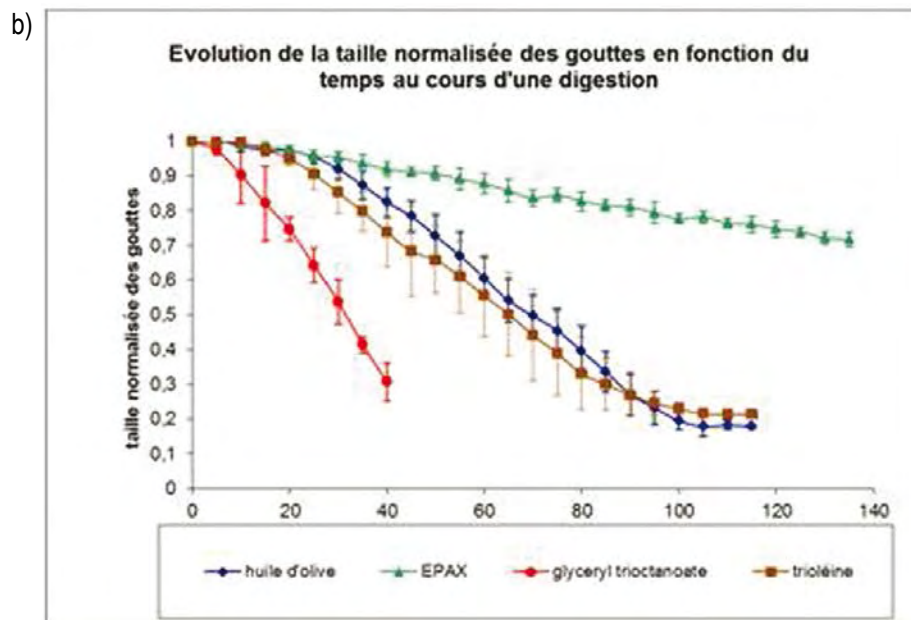
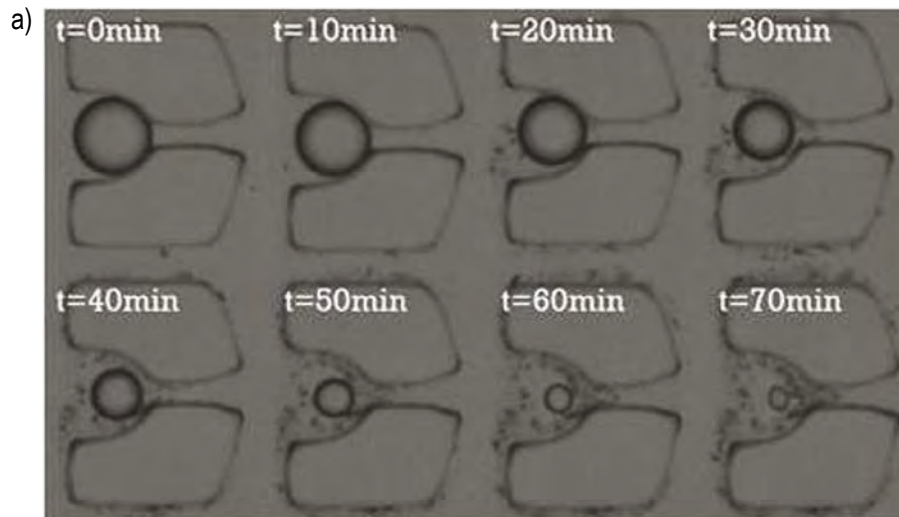


Figure 4. Digestion de gouttes d'huile dans le microdigesteur contenant de la lipase porcine et du sodium glycodeoxycholate à un pH 7,5. **a)** Observation de la diminution de la taille d'une goutte d'huile d'olive piégée. **b)** Graphique montrant l'évolution de la taille des gouttelettes en fonction du temps. Huiles étudiées : huile d'olive, huile de poisson EPAX 1050, glyceryl trioctanoate, trioléine ; (photo :BIA Nano-ISD).

Les premiers résultats nous ont permis de voir que l'huile d'olive, riche en trioléine, a un comportement proche de la trioléine pure. Par contre, les deux autres huiles ne se digèrent pas du tout à la même vitesse. Nous avons constaté que les gouttes d'huile de poisson ont encore 70 % de leur taille initiale après plus de 120 min de digestion, alors que les trois autres huiles ont des tailles de gouttes qui tendent à se stabiliser (entre 20 et 35 % de leurs tailles initiales) à des temps plus courts. Ces différences peuvent s'expliquer par la longueur des différentes chaînes carbonées constituant les lipides. En effet, plus la chaîne est longue et plus la digestion durera. L'huile de poisson est principalement constituée de chaînes avec plus de 20 atomes de carbone tandis que les deux autres huiles possèdent des chaînes de moins de 20 atomes de carbone (18 pour l'huile d'olive et la trioléine et 8 pour le glyceryl

trioctanoate). Cette différence de rapidité de digestion est due à deux facteurs déjà démontrés dans la littérature : la lipase pancréatique hydrolyse généralement plus rapidement les chaînes les plus courtes et ces mêmes chaînes sont solubilisées en plus grande quantité par les sels biliaires sous forme de monoglycéride et d'acide gras.

Enfin, notre méthode a permis de mettre en évidence un résultat jusqu'ici non observé (Marze et al., 2014). En comparant nos résultats, qui peuvent être exprimés en volume, avec des données obtenues par une méthode *in vitro* réalisée sur émulsions en tube (Marze et al., 2012), nous avons en effet constaté que les gouttes générées en microfluidique sont digérées bien plus rapidement que les gouttes d'émulsion en tube. La différence s'explique par le fait que nos résultats sont obtenus en flux continu et non en statique. Ainsi, en microfluidique, le fluide digestif est renouvelé tout au long de la digestion comme cela se passe *in vivo*. De plus, les gouttes étant isolées, aucune floculation ou coalescence ne peut retarder la digestion.

Conclusion et perspectives

Le microdigesteur que nous avons mis au point permet d'étudier des gouttes de triglycérides dans des conditions plus proches de ce qui se passe *in vivo*. Les caractéristiques structurales des gouttelettes peuvent être évaluées au cours de la digestion gastro-intestinale en flux continu. Ce système modèle nous a permis de réaliser des tests préliminaires sur la bioaccessibilité de micronutriments lipophiles (vitamines) contenus dans les gouttelettes d'huiles précédemment étudiées via le couplage du montage microfluidique à un microscope confocal inversé. Par ailleurs, notre microdigesteur pourrait tout à fait s'appliquer à l'étude de gouttes aqueuses contenant des protéines ou des polysaccharides, à la fois pour étudier la dégradation et la réticulation de ces biomolécules par des enzymes appropriées.

Références bibliographiques

- Huebner A, Bratton D, Whyte G, Yang M, de Mello AJ, Abell C, Hollfelder F (2009) Static microdroplets arrays : A microfluidic device for droplet trapping, incubation and release for enzymatic and cell-based assays, *Lab on a Chip* **9** : 692-698. DOI: 10.1039/B813709A dernière consultation le 05-01-2015.
- Marze S, Algaba H, Marquis M (2014) A microfluidic device to study the digestion of trapped lipid droplets. *Food & Function* **5** : 1481-1488. DOI: 10.1039/c4fo00010b dernière consultation le 05-01-2015.
- Marze S, Choimet M (2012) In vitro digestion of emulsions: mechanistic and experimental models. *Soft Matter* **8** : 10982-10993. DOI: 10.1039/c2sm26336j dernière consultation le 05-01-2015.
- Schneider MH, Willaime H, Tran Y, Rezgui F, Tabeling P (2010) Wettability patterning by UV-initiated graft polymerization of poly(acrylic acid) in closed microfluidic systems of complex geometry. *Anal Chem* **82** : 8848-8855. DOI: 10.1021/ac101345m dernière consultation le 05-01-2015.
- Tabeling P (2003) *Introduction à la microfluidique*. Edition Belin, Paris.
- Xia YN, Whitesides GM (1998) Soft lithography. *Ann Rev Materials Sci* **28** : 153-184. DOI: 10.1002/(SICI)1521-3773(19980316)37:5<550::AID-ANIE550>3.0.CO;2-G dernière consultation le 05-01-2015.
- Zhang H, Tumarkin E, Peerani R, Nie Z, Sullan RMA, Walker GC, Kumacheva E (2006) Microfluidic production of biopolymer microcapsules with controlled morphology. *J Amer Chem Soc*, **128** : 12205-12210. DOI: 10.1021/ja0635682 dernière consultation le 05-01-2015.



Chambres calorimétriques pour l'homme et analyse de gaz

Christophe Montaurier^{1,2}

Résumé. Les chambres calorimétriques du plateau technique "Calorimétrie Indirecte" de Clermont - Ferrand permettent d'évaluer, avec précision, la dépense énergétique et l'utilisation des substrats énergétiques (protéines, lipides, glucides) d'un individu vivant dans des conditions qui autorisent un contrôle précis de son activité physique et de son alimentation. Elles fonctionnent sur le principe de la calorimétrie indirecte en circuit ouvert (mesure des échanges gazeux respiratoires : consommation d'oxygène et production de CO₂). Leur confort et leurs équipements permettent d'effectuer des mesures de dépense énergétique, de fréquence cardiaque et d'actimétrie, sur une durée allant de 24 h à plusieurs jours. Ces équipements rares ont permis de mettre en évidence des résultats inédits concernant les dépenses énergétiques lors du sommeil grâce à la participation de personnes volontaires. Leur mise en œuvre et leur utilisation requièrent des compétences dans les domaines de l'instrumentation, des capteurs, de l'informatique et de la physique des gaz. Lors de la phase de conception, il faut tenir compte de contraintes parfois contradictoires entre elles, afin de faire des choix judicieux quant aux appareils et à l'instrumentation à utiliser. C'est notamment le cas du volume de la chambre, qui doit être suffisant pour le confort des volontaires, mais limité pour éviter une trop grande dilution des échanges respiratoires imposant une contrainte trop importante quant au choix des analyseurs d'O₂ et de CO₂. La validation de l'ensemble de l'installation et le temps de réponse sont des éléments à prendre en compte lors du calcul des volumes des échanges respiratoires.

Mots clés : chambre calorimétrique, analyse de gaz, O₂, CO₂, échanges respiratoires, homme, validation

Introduction

Le Centre de recherche en nutrition humaine d'Auvergne (CRNH-A) est le seul site français disposant de deux chambres calorimétriques destinées aux investigations chez l'homme et opérationnelles de manière permanente. Il s'agit de l'un des 12 sites répertoriés en Europe. Les deux chambres calorimétriques font partie intégrante du Laboratoire de Nutrition humaine, situé sur le campus de l'hôpital Gabriel Montpied (CHU de Clermont - Ferrand).

L'évolution rapide des connaissances dans le domaine du vivant a profondément bouleversé les approches méthodologiques en biologie. La nutrition humaine a largement bénéficié de ces changements récents pour optimiser l'alimentation et ses effets bénéfiques chez l'homme. Les méthodes classiques d'exploration du métabolisme énergétique développées depuis de très nombreuses années, notamment la calorimétrie indirecte, ont permis des avancées considérables dans des domaines variés tels que les changements aux différents stades du développement, l'adaptation à diverses situations nutritionnelles ou dans le champ des pathologies nutritionnelles. L'essor de la biologie moléculaire ne doit pas être dissocié de l'exploration intégrative du métabolisme énergétique afin de maintenir une « pertinence métaboliquement raisonnée » à l'avancée de ces connaissances. Dans ce but, les chambres calorimétriques (CC) offrent l'opportunité de pouvoir « disséquer » les facteurs impliqués dans la modulation de la dépense énergétique au cours des différentes phases de la journée.

Les CC, basées sur le principe de la calorimétrie indirecte, constituent la méthode de référence pour le suivi cinétique de la mesure de la dépense énergétique de l'homme en conditions contrôlées de vie. Outils intégratifs de suivi de la dépense énergétique (DE), les CC permettent de détailler les composantes essentielles de la DE d'une journée et d'évaluer la contribution des substrats énergétiques à la fourniture d'énergie, tout en contrôlant le cadre de vie de l'individu (alimentation, activité physique, rythme de vie...). Toutefois, ce type d'installation nécessite des équipements lourds ainsi que des

1. INRA, UMR1019 Nutrition humaine, CRNH Auvergne, F-Clermont-Ferrand, France

2. Clermont Université, Université d'Auvergne, UMR1019 Nutrition humaine, F-Clermont-Ferrand, France
christophe.montaurier@clermont.inra.fr

compétences techniques spécifiques (instrumentation, physique des gaz, traitement du signal). La procédure visant à concevoir, réaliser et exploiter des CC pour l'homme doit être élaborée avec soin, sous peine de rendre inexploitable ces coûteuses installations. Dans le domaine de l'analyse des gaz, le milieu dans lequel sont effectués les prélèvements, l'acheminement des échantillons de gaz, le choix des appareils d'analyse et la maîtrise des paramètres intervenant dans la physique des gaz, jouent sur la qualité des mesures effectuées.

Principe de mesure de la dépense énergétique par calorimétrie indirecte

Les chambres calorimétriques (CC), basées sur le principe de la calorimétrie indirecte, constituent la méthode de référence pour le suivi cinétique de la mesure de la dépense énergétique de l'homme en conditions contrôlées de vie.

Nos installations permettent donc de calculer les dépenses énergétiques de volontaires à partir de la mesure de leurs échanges respiratoires. Ce principe, édicté par Lavoisier à partir de 1780, repose sur la relation qui unit le volume d'oxygène que nous consommons (VO_2 en litres) et le volume de dioxyde de carbone que nous produisons (VCO_2 en litres) à l'énergie que nous dépensons (DE en kcal).

Il existe dans la littérature, plusieurs équations proches les unes des autres en termes de résultats, établissant la relation entre VO_2 , VCO_2 et DE. Nous utilisons l'équation de Brouwer (Brouwer, 1965) corrigée :

$$(3,866 \times VO_2 + 1,2 \times VCO_2) \times 0,99 = DE$$

Au-delà de la seule détermination de la dépense énergétique, nos CC permettent également de déterminer quelle famille de nutriments est en particulier utilisée lors des différentes activités. En effet, l'énergie utilisée par l'organisme est associée à l'oxydation des nutriments (lipides, protéines, glucides) et la production d'énergie par litre d'oxygène consommé varie selon leur nature : 5,01 kcal (20,96 kJ) pour le glucose, 4,66 kcal (19,5 kJ) pour les lipides et 4,34 kcal (18,16 kJ) pour les protéines. Le calcul exact de la dépense énergétique nécessite de connaître la participation relative de chacun des substrats à la consommation totale d' O_2 . L'oxydation nette des protéines peut être déterminée à partir de l'excrétion urinaire d'azote. La mesure simultanée de la consommation d' O_2 et de la production de CO_2 permet de calculer la contribution relative des glucides et des lipides aux oxydations totales (le quotient respiratoire étant de 1 lors de l'oxydation de glucides et de 0,7 lors de l'oxydation de lipides). Il est ainsi possible de calculer précisément les oxydations nettes de ces deux substrats à partir des échanges respiratoires totaux en O_2 et CO_2 mesurés, auxquels on aura retranché les échanges gazeux attribuables à l'oxydation des protéines via l'excrétion urinaire d'azote. La mesure des échanges gazeux respiratoires s'effectue en collectant l'air injecté dans la chambre calorimétrique et l'air extrait de celle-ci (Ravussin et al., 1986).

Qu'est-ce qu'une chambre calorimétrique (CC) ?

Une chambre calorimétrique c'est tout d'abord une chambre, dimensionnée comme une chambre d'étudiant, mais... mieux équipée. En effet les dimensions ainsi que les aménagements ont été pensés de manière à ce que les volontaires puissent bénéficier d'un confort maximum durant leur séjour.

C'est un outil de mesure de la dépense énergétique. Les volontaires séjournent dans l'appareil de mesure.



C'est un ensemble de capteurs et d'instruments. Tous les paramètres influents de la physique des gaz doivent être mesurés et enregistrés : les concentrations d'oxygène et de dioxyde de carbone, le débit de renouvellement d'air dans le circuit, la température, l'humidité relative et la pression atmosphérique. La fréquence cardiaque du volontaire est également enregistrée, mais n'entre pas dans le calcul de la dépense énergétique.

C'est aussi une chaîne d'acquisition et de traitement des données. L'ensemble comprend une carte PC et un logiciel d'acquisition, et des programmes de traitement, de filtrage des données et de présentation des résultats.

Description des CC

Les deux chambres calorimétriques ont une surface de 10 m² au sol, pour un volume total d'un peu plus de 32 m³ chacune. Elles fonctionnent sur le principe de la calorimétrie indirecte en circuit ouvert (mesure des échanges gazeux respiratoires : consommation d'oxygène et production de dioxyde de carbone).

L'air de chaque chambre est climatisé pour le confort des volontaires, régulé en température et en humidité, et partiellement renouvelé en permanence (circuit ouvert, voir **Figure 1**).

L'aménagement intérieur comprend une table, une chaise, un lit, une table de chevet avec lampe, un lavabo et des toilettes. Un ensemble hi-fi/vidéo/multimédia permet au volontaire de se détendre lors des phases de repos du protocole. Pour les phases d'activités, l'équipement de la chambre peut-être adapté et aménagé avec un tapis roulant, un ergo-cycle ou un stepper. Pour la communication, chaque chambre est équipée d'un téléphone et d'un interphone. Un four à micro-ondes permet de faire réchauffer les plats.

Chaque chambre est également associée à un électrocardioscope permettant la surveillance et l'enregistrement de la fréquence cardiaque (FC) de chaque volontaire. Ce paramètre, bien que n'intervenant pas directement dans le calcul de la dépense énergétique, permet d'établir une correspondance entre les cinétiques des dépenses énergétiques et celles des fréquences cardiaques.

Les CC permettent des séjours d'une durée de 24 h à plusieurs jours des volontaires, une surveillance permanente est donc assurée à proximité. La nuit, une personne de garde séjourne dans une chambre aménagée pour assurer la continuité de la surveillance. Les chambres sont équipées d'alarmes qui sont toutes dupliquées en chambre de garde (sonnettes d'appel actionnables par les volontaires, alarme cardiaque, alarme incendie, alarme technique).

L'enregistrement des données nécessaires au calcul des dépenses énergétiques est assuré par un ensemble d'installations techniques.

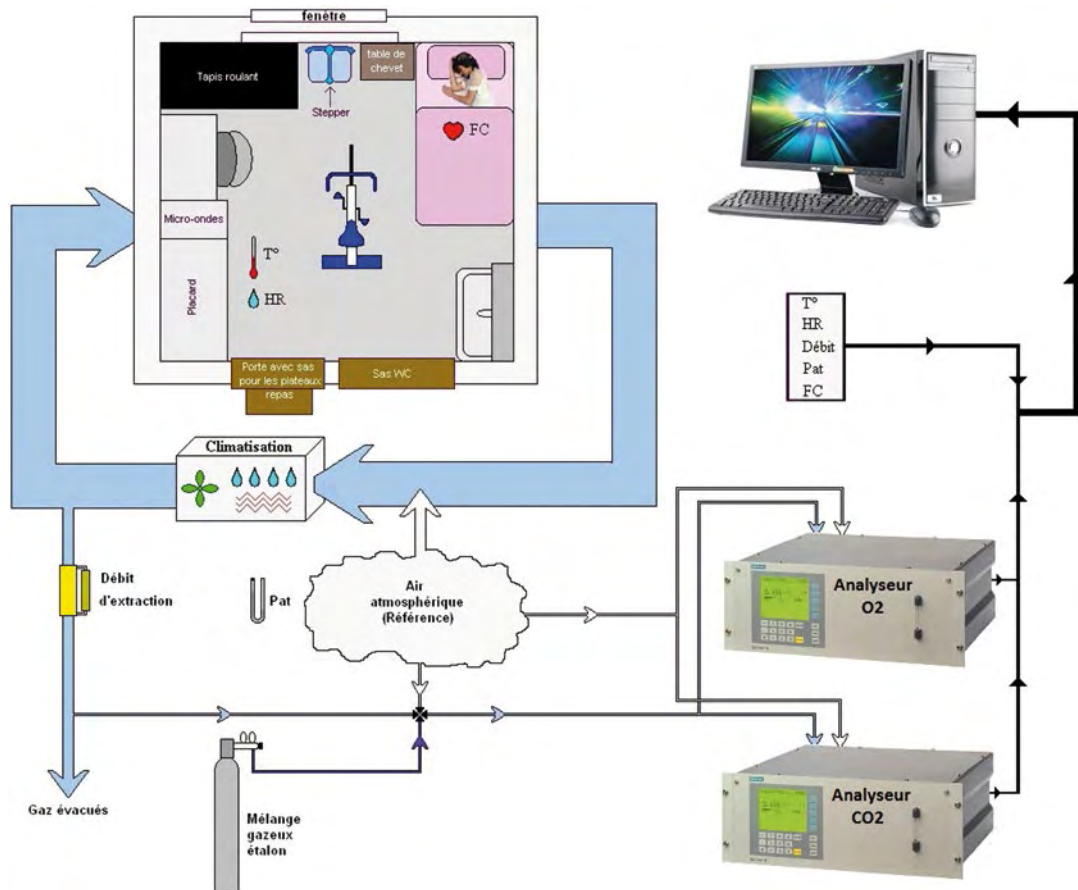


Figure 1. Chambre calorimétrique et équipements.

La baie d'analyse comporte quatre analyseurs (un couple par chambre) pour les mesures en continu des concentrations d'O₂ et de CO₂. Un débitmètre massique par chambre permet de mesurer en permanence le débit d'extraction de l'air (renouvellement), dans la gamme de 1 à 10 m³/h. Une sonde de température et une sonde d'humidité complètent l'ensemble des capteurs de chaque chambre, ainsi qu'un capteur de pression atmosphérique. L'acquisition des données se fait via une carte d'acquisition PCL 816 de chez Advantech (Advantech Europe BV Ekkersrijt, The Netherlands) implantée dans un PC dédié. Une séquence d'acquisition et un stockage des données sont effectués toutes les minutes.

Que permettent les CC ?

Outils intégratifs de suivi de la dépense énergétique, les CC permettent de détailler les composantes essentielles de la DE d'une journée et d'évaluer la contribution des substrats énergétiques à la fourniture d'énergie, tout en contrôlant le cadre de vie de l'individu (alimentation, activité physique, rythme de vie...).

Ces installations permettent donc de mesurer les échanges respiratoires (volumes O₂ et CO₂) des volontaires. A partir de ces mesures nous obtenons une évaluation précise de la DE et nous pouvons tracer sa cinétique tout au long du séjour en CC du volontaire, ainsi que calculer le bilan global sur 24 h. Par ailleurs le calcul du quotient respiratoire (QR) qui est le rapport VCO₂/VO₂ nous fournit une indication sur l'utilisation des substrats énergétiques (protéines, lipides, glucides) utilisés par les individus. Un QR proche de 1 indique une oxydation plus glucidique, alors que vers 0,7 l'oxydation sera plus lipidique.



Les activités sont préétablies et les repas sont calibrés. De ce fait nous pouvons contrôler la balance énergétique de chaque volontaire.

L'enregistrement simultané de la fréquence cardiaque, de l'actimétrie et de tous les paramètres de calcul de la DE, permet d'établir les relations d'étalonnage d'appareils portables légers (Polars, ActiHeart, ArmBand ...). Ces appareils peuvent ensuite être portés par les volontaires dans les conditions normales de vie (à domicile, au travail, au sport ...) et fournir des résultats de dépense énergétique plus précis à partir de leurs simples paramètres, grâce à l'étalonnage qu'ils ont subi avec les outils de référence que sont les CC.

Contraintes et choix techniques des analyseurs

Outre le confort de vie des volontaires dans les CC, nous devons leur assurer un environnement physiologique non perturbé. Il s'agit de maintenir les concentrations en O_2 et CO_2 au sein de la CC dans des plages de valeurs qui ne modifieront en rien la perception, la sensation et le comportement des volontaires. Ces concentrations sont choisies pour rester dans la gamme 20,000 % - 21,000 % pour l' O_2 et 0,000 % - 1,000 % pour le CO_2 .

C'est le débit de renouvellement de l'air de la CC qui permet de maintenir les concentrations en O_2 et CO_2 dans ces gammes, compte tenu du volume de la CC, de la masse maigre du volontaire ainsi que du programme d'activités prévu lors du protocole en CC. Plus le volontaire aura une masse maigre importante et/ou plus les activités prévues seront intenses, plus il faudra renouveler rapidement l'air de la CC. En d'autres termes, il faudra un débit de renouvellement d'air bien plus important pour un pilier de rugby qui va pédaler 2 h sur un ergo-cycle, que pour une frêle jeune fille qui fera de la lecture. A défaut, les concentrations d' O_2 et de CO_2 sortiraient des plages de valeurs cibles.

Ces valeurs limites des concentrations, imposent le choix des plages de mesure de nos analyseurs qui sont donc calées sur les valeurs que nous venons de voir.

Par ailleurs, nos CC ayant des volumes de 32 m³, le volume de dilution des échanges respiratoires de chaque volontaire est important. En considérant qu'en moyenne un homme consomme 0,34 L d' O_2 et produit 0,3 L de CO_2 par minute, cela représente des variations de 0,00106 % et 0,00094 % respectivement pour l' O_2 et le CO_2 par minute dans une CC. Cette réalité nous impose de choisir des analyseurs ayant des résolutions suffisantes pour pouvoir observer de si faibles modifications des concentrations de l'air extrait de nos CC. Les meilleures résolutions répondant à nos besoins ont été apportées par les analyseurs SIEMENS OXYMAT 6E et SIEMENS ULTRAMAT 6E pour l' O_2 et le CO_2 respectivement (SIEMENS AG, Nuremberg, Germany). Ces deux appareils présentent une résolution de 0,001 %. Leur précision annoncée par le constructeur est de ± 50 ppm (0,005 %) pour l'analyseur d' O_2 et de ± 10 ppm (0,001 %) pour l'analyseur de CO_2 .

Bien que l'acquisition se fasse toutes les minutes sur le PC, les calculs intègrent les données sur une durée minimum de 5 min. Comme nous pouvons le constater plus haut, les variations de concentrations sur une minute sont à la limite des performances des analyseurs. En intégrant nos valeurs sur 5 min, nous nous assurons d'avoir des variations significatives de concentrations.

Temps de réponse

Les matériaux poreux et micro-alvéolés potentiellement utilisés pour l'isolation des parois (laine de verre ou de roche), les moquettes, les tissus (rideaux), les mousses (matelas, ameublement) se comportent



comme des volumes tampons vis à vis des gaz. Ces derniers diffusent au sein de ces matériaux, jusqu'à l'équilibre des concentrations entre l'extérieur et l'intérieur.

Au cours de la journée de mesure, l'ensemble de ces matériaux va se comporter en «condensateur». Ils vont stocker une partie des gaz échangés lorsqu'il y a un excédent extérieur, puis relarguer ces mêmes gaz lorsqu'il y a un déficit extérieur. Ce phénomène induit un effet de traîne plus ou moins important sur la réponse des mesures. Il intervient donc, en partie, sur le temps de réponse global de l'installation. C'est un phénomène que nous cherchons évidemment à supprimer, ou tout du moins à minimiser. Pour cela il faut bannir au maximum les matériaux évoqués précédemment et leur préférer des matériaux pleins (sol en vinyle à la place de la moquette par exemple) ou bien à alvéoles fermées pour les mousses.

Le temps de réponse global du système dépend essentiellement de trois paramètres : l'effet tampon éventuel (évoqué précédemment), le temps de dilution et d'acheminement des échantillons et le temps de réponse des analyseurs eux-mêmes. Le mode de prélèvement de l'échantillon implique une durée plus ou moins longue entre le moment où l'échantillon est prélevé au niveau de la CC, et celui où il arrive à l'entrée de l'analyseur. Selon les installations, ce temps de parcours dépend de la longueur et de la section de la tuyauterie ainsi que du débit des pompes de prélèvement. Le temps de réponse des analyseurs peut dépendre pour partie de leur paramétrage interne. Dans le cas de nos analyseurs, il est recommandé de tenir compte d'un délai de 1 min pour considérer que la valeur lue est stable. De manière générale, il est nécessaire de déterminer expérimentalement le temps de réponse global de chaque CC. Pour cela plusieurs méthodes sont possibles : une méthode répandue consiste à injecter un volume donné de gaz connu et de chronométrer le temps mis par les analyseurs pour répondre aux changements de concentrations. En ce qui nous concerne, nous avons choisi une méthode utilisant les conditions réelles d'utilisation de nos CC. C'est au cours des passages de 15 volontaires (pour chaque CC) effectuant chacun quatre exercices physiques distincts (trois marches sur tapis roulant et une séance de stepper) que nous avons déterminé les temps de réponse globaux de nos CC. D'après nos données enregistrées, nous avons observé le temps écoulé entre le début de chaque exercice et l'apparition des modifications des concentrations de gaz : pour nos deux CC le temps de réponse obtenu est de 3 min.

Ce temps de réponse global doit naturellement être pris en compte dans le traitement des données et le calcul des échanges respiratoires. Les autres paramètres enregistrés (température, humidité, pression atmosphérique, débit) ne subissent pas ce phénomène global de retard, dans la mesure où les prélèvements sont effectués directement au sein du milieu de variation de chaque mesurande). Pour cela on décale les valeurs d'O₂ et de CO₂ de la durée nécessaire pour faire correspondre leur moment d'apparition à celui des paramètres à réponses rapides (température, humidité, débit, pression atmosphérique).

Contrôles, calage et validation

L'ensemble des capteurs délivrant des informations utilisées pour le calcul des DE doivent être périodiquement contrôlés et éventuellement ré-étalonnés. Nous effectuons ces contrôles en moyenne une fois par an, mais la périodicité peut être adaptée selon l'intensité de l'utilisation de nos CC.

En revanche, le contrôle et le calage éventuel des analyseurs sur les valeurs étalons, sont effectués à chaque début et fin de période de mesure (séjour de volontaires en CC). Si les contrôles d'étalonnage effectués entre le début et la fin de l'enregistrement d'une période de mesure (typiquement 36 h), mettent en lumière une dérive des analyseurs, celle-ci doit être prise en compte et corrigée lors du traitement des données. Par exemple, si les deux analyseurs dérivent de manière linéaire de +0,01 %



(10 points de l'échelle de mesure comportant 1000 points), cela représente un écart de 1,16 % sur le calcul de la DE sur 24 h d'un volontaire. Une dérive de +0,05 % conduit à un écart de 5,80 % sur la DE sur 24 h.

Par ailleurs, afin de pouvoir faire confiance aux valeurs délivrées par le système de mesure que représente une chambre calorimétrique, il est nécessaire de valider l'ensemble de l'installation. Le principe de validation d'une chambre calorimétrique, adopté à Clermont-Ferrand, consiste à injecter du CO₂ pour simuler une production de CO₂, et injecter de l'azote (N₂) pour diluer les gaz, notamment l'O₂, simulant ainsi une consommation d'O₂. Nous contrôlons la quantité de chaque gaz que nous injectons par gravimétrie. Nous cherchons ensuite à savoir si nous récupérons en sortie tout ce que nous injectons, par l'intermédiaire des concentrations, des débits, des températures et des pressions.

Les principaux calculs sont les suivants :

Équation de départ :
$$V_e = V_s - V_{N_2 \text{ injecté}} - V_{CO_2 \text{ injecté}} + V_f - V_i$$

Volume de CO₂ analysé :

$$V_{CO_2 \text{ analysé}} = V_{CO_2} + V_{CO_2 f} - V_{CO_2 i} + ((V_{N_2 \text{ injecté}} + V_{CO_2 \text{ injecté}}) * 0,04006 / 100) \text{ en litres}$$

Volume d'O₂ théorique extrait de la chambre d'après les injections de gaz :

$$V_{O_2 th} = [(V_s - V_{N_2 \text{ injecté}} - V_{CO_2 \text{ injecté}} - V_i + V_f) * 20,930 / 100] + V_{O_2 i} - V_{O_2 f} \text{ en litres}$$

Concentration théorique en O₂ de l'air (en différentiel par rapport à l'air ambiant) :

$$[O_2 thd] = ((V_s * 20,930 / 100) - V_{O_2 th}) / V_s \text{ en \%}$$

Concentration en O₂ de l'air extrait (différentiel) : $[O_2 dc] = [O_2 d] * (P_a / (P_a - P_p))$ en %

Taux de récupération du CO₂ : $TCO_2 = V_{CO_2 \text{ analysé}} / V_{CO_2 \text{ injecté}}$ en %

Taux de récupération de l'O₂ : $TO_2 = [O_2 dc] / [O_2 thd]$ en %

Avec : V_e = volume d'air entrant dans la CC sur la durée considérée

V_s = volume d'air sortant de la CC

$V_{N_2 \text{ injecté}}$ = volume d'azote injecté dans la CC

$V_{CO_2 \text{ injecté}}$ = volume de CO₂ injecté dans la CC

$V_f - V_i$ = variation du volume entre le début et la fin des mesures

Indices : f = final ; i = initial ; d = différentiel ; c = corrigée

P_a = pression atmosphérique

P_p = pression de vapeur d'eau saturante à l'entrée des analyseurs

0,04006 % = concentration en CO₂ de l'air entrant = concentration de l'air ambiant de référence

20,930 % = concentration en O₂ de l'air entrant = concentration de l'air ambiant de référence

Les valeurs des taux de récupération TCO_2 et TO_2 permettent de prendre la décision de valider ou non l'ensemble de l'installation. Dans le cas idéal ces taux doivent être égaux à 100%. Un déséquilibre prononcé entre les valeurs de ces taux peut pointer un problème spécifique sur le circuit de mesure de l'un des gaz (O₂ ou CO₂), depuis la zone de prélèvement jusqu'à l'analyseur. Il faut alors procéder à une détection méthodique de défaut sur tous les éléments constituant la chaîne de mesure incriminée. Si les deux taux sont faibles, outre l'existence possible de problèmes sur les circuits de mesure des gaz, cela peut également mettre en évidence la présence de fuites au niveau de la CC. Une action est alors nécessaire

pour réduire les fuites, qu'elles soient au niveau du caisson de la CC, de la tuyauterie ou du caisson de climatisation éventuel. Dans la pratique les taux sont rarement égaux à 100 %, et peuvent se situer pour des valeurs acceptables entre 95 et 100 %. On peut dans ce cas considérer l'installation comme valide. Néanmoins, pour être précis sur les calculs des volumes d'échanges respiratoires que l'on fait au cours des protocoles, il est nécessaire d'utiliser ces taux de récupération comme facteurs de correction.

Pour l'ensemble de ce type d'installation, il a été montré que la précision de la mesure de la dépense énergétique en chambre calorimétrique était très bonne : en effet la différence moyenne entre les mesures effectuées en chambre calorimétrique et celles effectuées par la méthode de référence (la calorimétrie directe) est de $1,2 \pm 0,14$ % au cours de périodes de 24 h (Dauncey, 1980).

Résultats originaux

Les CC basées sur la calorimétrie indirecte sont les seuls outils de référence permettant de faire des mesures en continu et d'obtenir les cinétiques des DE des volontaires sur des périodes de 24 h à plusieurs jours.

La DE mesurée durant la nuit reflète le véritable métabolisme de base (celui du sommeil) par rapport au métabolisme de repos trop souvent appelé métabolisme de base par abus de langage dans les publications internationales. En effet dans la mesure où les CC sont des installations relativement rares, beaucoup d'équipes de recherche ont recours à la mesure des DE via des appareils de mesure des échanges respiratoires sous canopy (masque ou cloche), seuls matériels à leur disposition. Ce type de matériel effectue la mesure du métabolisme lorsque les volontaires sont allongés mais éveillés. Il s'agit ici du métabolisme de repos. Les mesures effectuées avec nos CC nous montrent que sur 63 volontaires ayant séjourné en CC, leurs DE de repos et de sommeil sont respectivement de $86,3 \pm 29,7$ kcal/h et $60,0 \pm 10,9$ kcal/h.

Les mesures des DE des volontaires en CC nous ont permis de mettre en évidence des variations de DE de sommeil inattendues et inédites chez les patients parkinsoniens (Montaurier et al., 2007) ainsi que chez les patients greffés rénaux (Heng et al., 2014).

Conclusion

Les CC basées sur le principe de la calorimétrie indirecte sont les outils de référence pour la mesure des cinétiques de DE, des bilans sur 24 h et de l'oxydation des substrats.

La conception d'une chambre calorimétrique, sa mise en œuvre, ainsi que le traitement des données nécessitent des compétences et des connaissances techniques complètes (électronique, informatique, physique des gaz). Ce type d'installation lourde requiert une maintenance régulière et des contrôles périodiques au niveau de tous les organes composant l'ensemble (capteurs, instrumentation, informatique, traitement des données).

Les analyseurs de gaz (O_2 et CO_2) sont au cœur du principe de fonctionnement des CC. Il est nécessaire d'apporter un soin particulier à leur choix, ainsi qu'aux contrôles d'étalonnage et aux calages éventuels qu'il ne faut pas manquer d'effectuer lors des périodes de mesure. En cas de dérive, des corrections sont à intégrer lors de la phase de calcul.

La validation de l'ensemble du système permet de manière pratique d'alerter éventuellement sur l'apparition de dégradations des performances d'un ou plusieurs éléments, mais surtout de s'assurer de la fiabilité des résultats obtenus.



Au-delà des points importants décrits ici, d'autres éléments doivent également être considérés. En cas de perturbation sur les signaux enregistrés, un filtrage du signal est alors nécessaire. Un soin particulier doit également être apporté quant au choix des mélanges gazeux étalons destinés aux analyseurs.

Références bibliographiques

Brouwer E (1965) Report of sub-committee on constants and factors. Symposium of Energy Metabolism held at European Association for Animal Production, London: EAAP Academic : 441-443.

Dauncey MJ (1980) Metabolic effects of altering the 24 h energy intake in man, using direct and indirect calorimetry. *Br J Nutr* **43**: 257-269.

Heng AE, Montaurier C, Cano N, Caillot N, Blot A, Meunier N, Pereira B, Marceau G, Sapin V, Jouve C, Boirie Y, Deteix P, Morio B (2014) Energy expenditure, spontaneous physical activity and with weight gain in kidney transplant recipients. *Clin Nutr* : pii: S0261-5614(14)00134-4. Doi : 10.1016/j.clnu.2014.05.003

Montaurier C, Morio B, Bannier S, Derost P, Arnaud P, Brandolini-Bunlon M, Giraudet C, Boirie Y, Durif F (2007) Mechanisms of body weight gain in patients with Parkinson's disease after subthalamic stimulation. *Brain* **130** : 1808-1818.

Ravussin E, Lillioja S, Anderson T (1986) Determinants of 24-hour energy expenditure in man. Methods and results using a respiratory chamber. *J Clin Invest* **78** : 1568-1578.

Étalonnage d'un système de suivi en ligne pour la quantification des composés d'arômes en fermentation alcoolique par chromatographie en phase gazeuse

Magaly Angénieux¹, Marc Perez²

Résumé. Un système de suivi en ligne de composés d'arômes a été mis en place afin d'avoir, en temps réel et à une fréquence de mesure élevée, leur production au cours de la fermentation alcoolique du vin. Une fraction de gaz fermentaire est prélevée dans l'espace de tête de la cuve en fermentation, via des lignes de transfert chauffées. L'échantillon est injecté directement ou concentré sur un piège Tenax[®] froid, avant désorption et injection sur un chromatographe en phase gazeuse pourvu d'une double détection FID (détecteur à ionisation de flamme) et FPD (détecteur à photométrie de flamme). Afin de calculer les concentrations des composés d'arômes dans le gaz fermentaire, un plan d'étalonnage a été mené avec un diluteur de gaz Sonimix[®] et un générateur de gaz ATIS[®] (Adsorbent Tube Injector System). Après les étapes d'optimisation de chaque dispositif, douze composés d'arômes sur seize peuvent être quantifiés. Les deux systèmes s'avèrent complémentaires compte tenu des différences de nature des composés d'intérêts et de leurs gammes de concentrations attendues.

Mots clés : chromatographie phase gazeuse (CPG), composés d'arômes, étalonnage

Introduction

L'unité expérimentale de Pech Rouge (INRA) a pour cœur de métier l'expérimentation et la recherche en viticulture et en œnologie. Elle possède une halle de fermentation différée permettant de réaliser des fermentations à l'échelle pilote toute l'année. La halle est équipée de 16 fermenteurs de 1 hL et 4 fermenteurs de 10 L. Les fermenteurs sont des cuves fermées, instrumentées (température, dégagement de CO₂) et contrôlées de façon automatique. La halle s'est équipée depuis 6 ans d'un système de suivi en ligne des gaz fermentaires. L'objectif est de réaliser l'analyse en continue par chromatographie en phase gazeuse des principaux composés volatils. La fermentation alcoolique consiste en la transformation du sucre du raisin, en éthanol et CO₂ par des levures. Cette réaction produit également des composés d'arômes qui sont des molécules « marqueuses » du métabolisme. Lors de la fermentation, deux phases sont observées dans le fermenteur, la phase liquide qui est le moût (jus de raisin) en cours de fermentation et la phase gazeuse qui est l'espace de tête du fermenteur. La connaissance déjà acquise de la composition de la phase liquide, représente un intérêt d'un point de vue organoleptique. Celle de la phase gaz permet de prendre en compte les pertes de composés en cours de fermentation. Déterminer la composition en composés d'arômes des deux phases permet d'établir des bilans et contribue à la compréhension du métabolisme des levures. Le système de suivi en ligne des composés volatils dans la phase gazeuse est utilisé dans de nombreux projets de recherche en collaboration avec l'UMR Science pour l'œnologie (SPO) ainsi que sur des projets en lien avec des industriels fabricants de levures œnologiques.

Description du matériel

Le suivi en ligne des composés volatils d'arôme est réalisé grâce à un chromatographe en phase gazeuse (CPG). Le gaz présent dans l'espace de tête de la cuve de fermentation est pompé à un débit de 14 mL.min⁻¹ à travers une ligne de transfert chauffée pour éviter la condensation. Le gaz est

1. INRA, UE 0999 Pech Rouge, F-11430 Gruissan, France ; Magaly.angenieux@supagro.inra.fr

2. INRA, UMR 1083 Science pour l'œnologie, 2 place Viala, F-34060 Montpellier cedex1, France

concentré sur un piège froid (Tenax®) pendant 6 min puis désorbé à 160°C pendant 1 min. Le gaz est ensuite analysé à l'aide d'un chromatographe (Perichrom PR2100) équipé d'une colonne ZBWax plus (60 m x 0,32 mm x 0,5 µm, Phenomenex, Le Pecq, France) et d'un détecteur FID (détecteur à ionisation de flamme) pour la détection des composés carbonylés. Une autre partie du gaz de l'espace de tête n'est pas concentrée et est injectée directement dans une colonne RTX1 (60 m x 0,53 mm x 0,70 µm, Restek, Lisses, France) avec détecteur FPD (détecteur à photométrie de flamme) pour l'analyse des composés soufrés (**Figure 1**). Quatre fermenteurs peuvent être suivis en même temps.

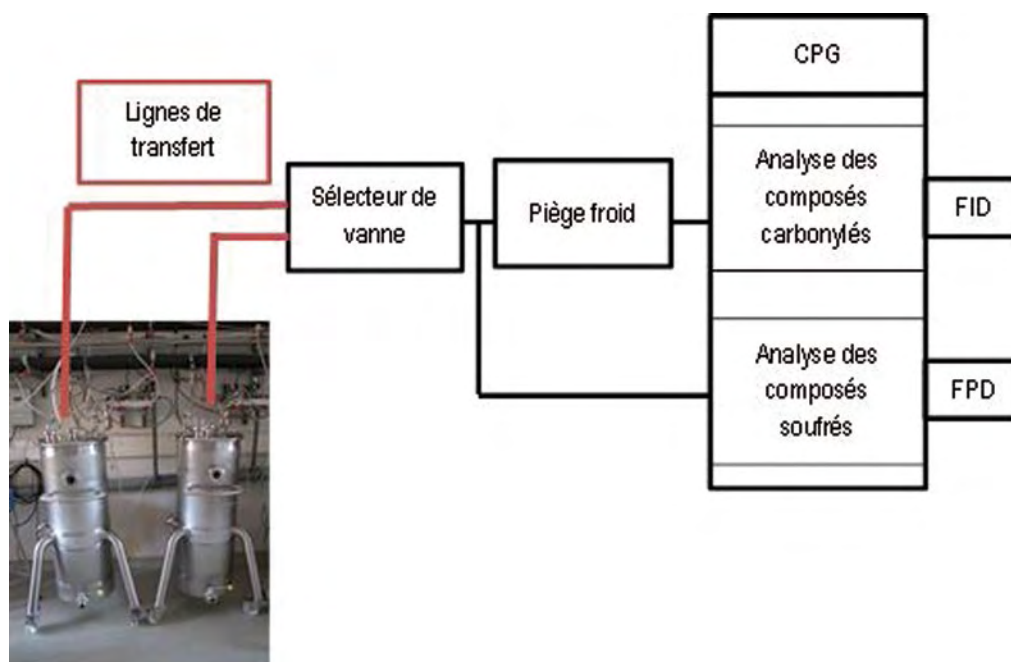


Figure 1. Schéma du système de suivi en ligne des composés d'arômes (photo : UE Pech Rouge, Halle de fermentations différées).

Après une étape de mise au point des paramètres analytiques, nous avons pu détecter et identifier les molécules d'intérêt que sont les alcools supérieurs (propanol, isobutanol, isoamylalcool...), les esters d'éthyle, les esters d'acétate et l'H₂S avec la fréquence d'une analyse par heure. Ceci est un point fort du système car une fermentation peut durer jusqu'à 200 h. Or, la production de certaines molécules ne se fait que sur quelques heures, d'où l'importance d'avoir une fréquence analytique élevée, contrainte inatteignable en prélèvement manuel.

Afin de pouvoir corréliser les données de la phase gazeuse avec celles obtenues dans la phase liquide, il était important de pouvoir quantifier les composés détectés. Mais tous les composés ne peuvent pas être quantifiés par le même analyseur. Pour cela, nous avons acquis deux systèmes : le Sonimix® 6000C1 (LNI Schmidlin SA) et ATIS® (Adsorbent Tube Injector System, Supelco).

Le système Sonimix® est un diluteur de gaz. Il permet de diluer les gaz d'une bouteille étalon sur une certaine plage de concentration.

Le système ATIS® est un générateur de gaz. Il est constitué d'une ampoule en verre de 10 mL montée dans un bloc chauffé. On injecte dans cette ampoule un faible volume d'une solution de composés, préparée dans un solvant adapté et aux concentrations voulues. L'ampoule est balayée par de l'air pour créer un « gaz étalon » qui est injecté dans le système de suivi en ligne par les lignes de transfert.

Pour le système Sonimix[®], il est nécessaire que les composés soient présents sous forme de gaz dans une bouteille à une concentration précise. Ainsi, pour les composés les moins volatils qui ne peuvent être obtenus sous cette forme, le système ATIS[®] qui requiert des composés sous forme liquide vaporisable sera mis en œuvre.

Optimisation et étalonnage

Pour quantifier nos molécules d'intérêt, il est important d'estimer leur concentration dans la phase gazeuse. Pour certaines, nous avons à disposition des données bibliographiques renseignant leur K_i (coefficient de partage) mais déterminé dans des conditions différentes des nôtres (Morakul et al., 2010).

Nous avons donc choisi pour le système ATIS[®], de tester différentes gammes de concentrations. Dans le cas du Sonimix[®], la fonctionnalité « diluteur de gaz » nécessite la fabrication par un gazier d'une bouteille de gaz à une concentration précise. Nous avons donc dans ce cas estimé les concentrations à l'aide des coefficients de partage, puis empiriquement en réalisant des dilutions de gaz créées dans des flacons en verre hermétiques.

Pour les deux systèmes, un travail d'optimisation a été nécessaire.

ATIS[®]

Pour le système ATIS[®] nous avons testé :

- ✓ *la température de l'ampoule d'injection* : elle a été fixée à 95°C afin de vaporiser les composés à analyser sans trop s'éloigner de la température des lignes de transfert qui sont chauffées à 90°C ;
- ✓ *le solvant de la solution contenant les composés d'intérêt (méthanol, éthanol ou hexane)* : l'éthanol étant en grande quantité dans les échantillons de gaz fermentaires, il a été choisi pour simuler au mieux les échantillons ;
- ✓ *le système d'injection* : le fabricant préconisait de récupérer le gaz étalon créé dans un sac Tedlar[®] puis de fixer ce sac en bout de ligne de transfert. Nous avons déterminé que brancher la ligne de transfert directement en sortie du système ATIS[®] était plus simple et plus efficace que l'utilisation d'intermédiaire ;
- ✓ *le débit d'air d'ATIS[®] par rapport à l'aspiration de la ligne* : Il a été fixé de façon empirique et est beaucoup plus important que le débit aspiré par les lignes (30 mL.min⁻¹ contre 14 mL.min⁻¹ pour le débit d'aspiration dans la ligne de transfert). Un débit plus faible entraîne le dédoublement des pics du chromatogramme ;
- ✓ *le choix du gaz diluteur* : en fermentation, les fermenteurs sont saturés en CO₂. Après l'étape de concentration, le gaz qui permet d'injecter les composés dans l'injecteur du CPG est le gaz vecteur (hélium). Après confirmation que le CO₂ n'influe pas sur les réponses des composés, l'air a été choisi comme gaz diluteur.

Le temps de piégeage des composés injectés a également été testé. Ceci nous a permis de déterminer d'une part que le temps de piégeage est suffisant pour récupérer toute la quantité de composés injectée dans le système ATIS[®] et d'autre part, que les composés très volatils comme l'acétate d'éthyle et l'acétaldéhyde ne restent pas fixés pendant le temps de piégeage défini par la méthode d'analyse.

Le système ATIS[®] a l'avantage de permettre d'ajuster au mieux les concentrations des composés à doser pour un coût faible, mais il ne peut pas être utilisé pour des composés trop volatils.

La **Figure 2** présente les résultats d'étalonnage du système ATIS[®] pour trois composés.

|||||

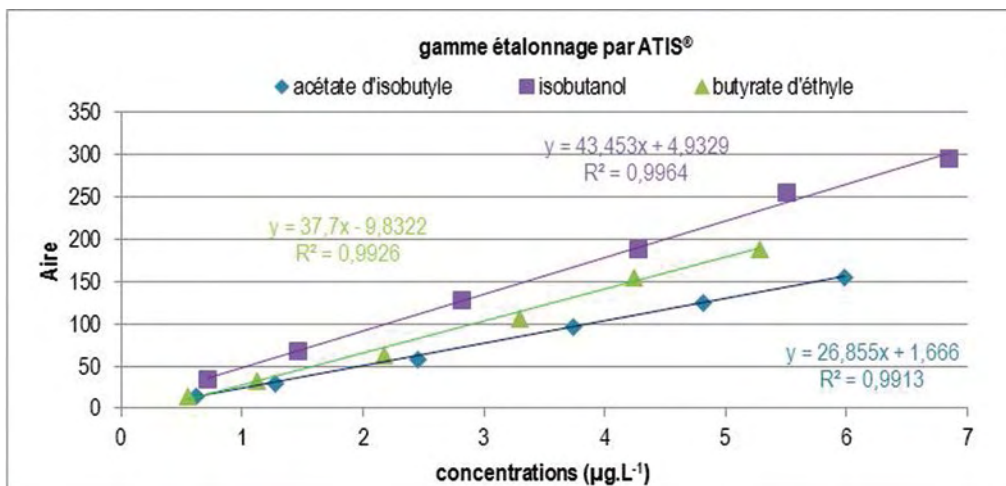


Figure 2. Etalonnage de l'acétate d'isobutyle, de l'isobutanol et du butyrate d'éthyle par le système ATIS®.

Sonimix®

Pour les molécules très volatiles nous avons donc utilisé le système Sonimix® en mode diluteur de gaz. Actuellement, l'acétate d'éthyle, l'acétaldéhyde et l'H₂S sont quantifiés avec ce système.

Le principal travail d'optimisation sur ce système a porté sur le choix du gaz diluteur. Pour les composés passant par le piège (acétate d'éthyle et acétaldéhyde), nous avons appliqué le même raisonnement et obtenu le même résultat qu'avec le système ATIS®. Pour les composés soufrés qui ne sont pas piégés, la question du gaz diluteur s'est posée car du CO₂ est injecté dans la colonne analytique avec les composés. De plus, il est détecté par le détecteur FPD et son temps de rétention est très proche de celui de l'H₂S.

Les tests ont montré que la présence de CO₂ induisait une meilleure réponse de l'H₂S. Le gaz diluteur doit donc être le CO₂ pour la quantification des composés soufrés.

Un point important est à prendre en compte en utilisant ce gaz : le Sonimix® est prévu pour fonctionner avec de l'air. Il réalise la dilution des gaz grâce à des débitmètres et régulateurs massiques (RDM) qui mesurent des débits massiques (masses / temps). En dilution, un débit volumique (volume / temps) est appliqué en sortie d'appareil. Connaissant la concentration en ppm de la bouteille étalon, le Sonimix® donne la concentration voulue du composé en ppm (air en gaz diluteur).

L'utilisation du CO₂ comme gaz diluteur nécessite l'application d'un facteur de correction sur les concentrations données par le Sonimix®.

Le **Tableau 1** et la **Figure 3** présentent les résultats d'étalonnage du Sonimix® pour H₂S.

Suite à ces étapes d'optimisation, le travail de quantification a pu être réalisé.

Ces deux systèmes nous permettent de quantifier douze des seize composés d'intérêts ciblés initialement. Les quatre composés non quantifiés sont des composés ayant des points d'ébullition hauts ce qui demandera une optimisation des paramètres ATIS® spécifiques.

Tableau 1. Etalonnage de l'H₂S par le système Sonimix®

Concentrations (mg.L ⁻¹)	Racine carrée de l'aire moyenne (n = 3)	Ecart type	Coefficient de variation
0,0042	2,21	0,01	0,65%
0,0084	6,29	0,21	3,27%
0,0141	12,21	0,34	2,80%
0,0156	12,83	0,49	3,78%
0,0195	17,75	0,28	1,55%

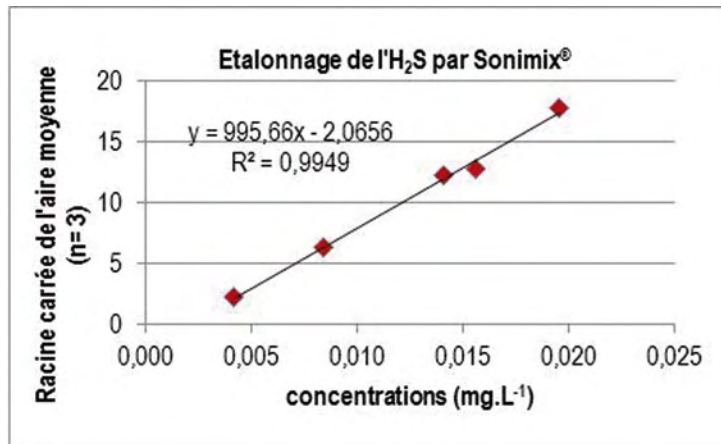


Figure 3. Etalonnage de l'H₂S par le système Sonimix®.

Approche d'une validation de méthode du système de suivi en ligne

La validation de méthode doit permettre de garantir les résultats en fonction des besoins des demandeurs d'analyse.

Nous avons cherché à déterminer si notre processus de mesure était reproductible (résultats de l'analyse des gaz fermentaires proches dans un intervalle de temps précis et sur plusieurs fermenteurs) et juste (biais par rapport à une valeur dite vraie).

Pour estimer la reproductibilité du système de suivi en ligne, nous avons comparé la réponse en aire sur trois fermenteurs pour l'acétate d'isobutyle (Figure 4).



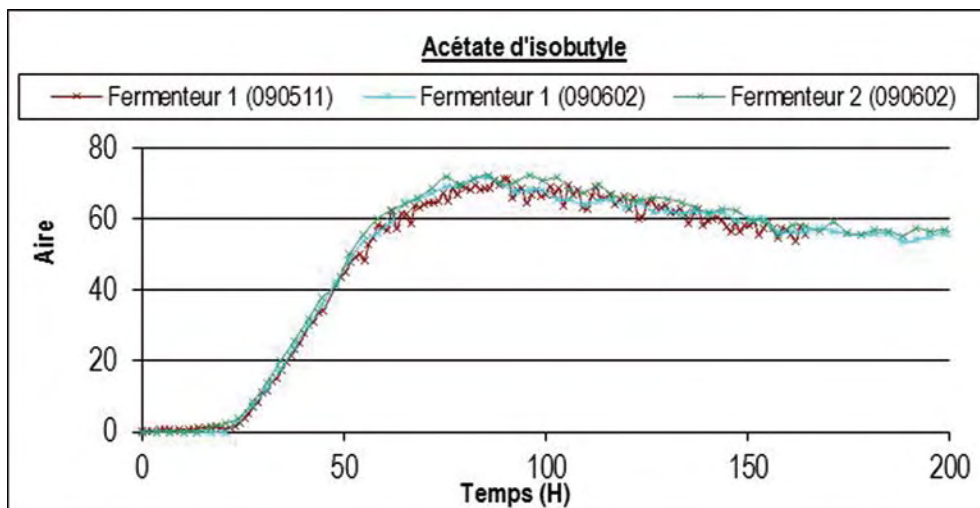


Figure 4. Exemple de la cinétique de l'acétate d'isobutyle pour une même modalité conduite sur trois fermenteurs.

A partir des deux systèmes d'étalonnage décrits plus haut, une gamme d'étalonnage a été réalisée pour chaque composé d'intérêt (douze composés au total). En s'appuyant sur les gammes d'étalonnage, la justesse de la méthode a pu être estimée. Pour cela il nous a fallu préparer des matériaux de référence non disponibles hormis les bouteilles de gaz pour certains composés fabriquées par des gaziers et contrôlées. Pour estimer la dérive du système, nous avons mis en place des points de contrôle (solutions de concentrations connues pour les composés analysés par ATIS® et un point de dilution des bouteilles de gaz pour Sonimix®) et leur carte de contrôle associées.

Conclusions et perspectives

Actuellement, nous sommes capables de détecter seize composés d'arômes et d'en quantifier douze tout au long de la fermentation alcoolique, avec une fréquence analytique élevée. Néanmoins, la quantification des composés les moins volatils pose encore problème et nécessitera une optimisation spécifique des systèmes d'étalonnage.

De plus le système de suivi en ligne évolue pour répondre aux besoins de nouveaux projets et sujets de recherche. La détection, et donc la quantification de nouvelles molécules est prévue, comme celle du diacétyle dans des vins de champagne.

Références bibliographiques

Marze S, Cholmet M (2012) In vitro digestion of emulsions : mechanistic and experimental models. *Soft Matter* **8** : 10982-10993. DOI: 10.1039/c2sm26336j dernière consultation le 05-01-2015.

Morakul S, Athes V, Mouret JR, Sablayrolles JM (2010) Comprehensive study of the evolution of gas-liquid partitioning of aroma compounds during wine alcoholic fermentation. *J Agric Food Chem* **58** : 10219-10225.

/ Chapitre 3 /

Logiciels et systèmes d'acquisition et de traitement de données



Dans les précédents chapitres, nous avons vu des exemples de dispositifs de mesure générant des données caractérisant les phénomènes étudiés.

Certains de ces systèmes de mesure produisent de grandes quantités de données brutes, d'autres plus avancés, effectuent des traitements sur ces données brutes afin d'en fournir de plus élaborées – et moins nombreuses.

La spécificité de nombreuses expérimentations menées dans l'Institut impose souvent le développement d'outils logiciels adaptés aux problématiques de l'expérimentation en question et aux exigences scientifiques définies. Dans ce cas, l'acquisition des données et/ou leur traitement font l'objet de conception et/ou de développement internes assurés par des informaticiens et des électroniciens de l'Institut.

Ces outils peuvent assurer soit l'acquisition, en pilotant des centrales ou des cartes d'acquisition de données par exemple, soit le traitement et la présentation des données sous forme aisément interprétable, soit les deux.

Le développement peut aussi porter sur l'ensemble « matériel-logiciel », grâce notamment à la commercialisation florissante de nombreuses plateformes matérielles miniaturisées, performantes et à faible coût ; elles sont, de plus, livrées avec de riches bibliothèques logicielles qui offrent des solutions pour un large éventail d'applications dans nos métiers, allant de la commande de process à la réalisation de systèmes d'acquisition de mesures embarqués.

Dans ce chapitre, un des articles traite de la carte *Raspberry PI* qui inclut un système d'exploitation Linux, mais d'autres systèmes aux noms singuliers comme *Arduino*, *Mbed*, *Red Pitaya*, *BeagleBoard*... peuvent, avec leurs qualités propres, répondre aux besoins des développeurs (informaticiens et/ou électroniciens) selon les exigences du projet scientifique.

GRAPHE : un logiciel de visualisation de données horodatées sur un graphique 2D

Cédric Perrot¹, Didier Combes¹, Ela Frak¹

Résumé. *Grappe* est un nouveau logiciel développé sous Labview et compatible avec Windows qui permet d'afficher des tableaux de données horodatées sur un graphique en 2D (temps ; valeur). En plus d'être ouvert aux formats des fichiers Excel et des fichiers texte dont les données sont délimitées par un séparateur unique, ce logiciel offre des fonctionnalités d'exploration graphique. Les caractéristiques de chaque tracé (visibilité, type, couleur, etc.) et les échelles d'axes sont modifiables. Six modes de zooms sont disponibles, des curseurs s'affichent pour suivre les coordonnées des points d'une courbe et effectuer des calculs mathématiques. Enfin, le graphique s'exporte vers le presse-papiers ou en image simplifiée.

Mots clés : analyse de données, zoom, curseurs, calculs mathématiques, exportation d'image

Introduction

Les recherches de l'URP³F (Unité de Recherche pluridisciplinaire prairies et plantes fourragères) de Lusignan visent à comprendre comment la diversité végétale (espèces, variétés, génotypes), les contraintes du milieu extérieur (eau, azote, lumière) et les pratiques agricoles (fauche ou pâturage) déterminent la valeur agronomique des prairies semées et conditionnent leur durée de vie ainsi que leurs impacts sur la biodiversité et sur l'environnement physique et chimique dans l'air et le sol. Une grande partie des recherches de l'Unité s'appuie donc sur une démarche d'écophysiologie où la caractérisation des conditions environnementales (température, humidité, rayonnement, CO₂, etc.) d'une plante ou d'un couvert végétal dans l'espace et le temps est tout aussi importante que le processus biologique étudié. Pour cela, des dispositifs de mesures physiques sont mis en œuvre pour enregistrer des valeurs numériques sous forme de tableaux de données horodatées. Celles-ci sont exploitées *a posteriori* par les scientifiques, afin qu'ils justifient les phénomènes observés et construisent des modèles mécanistes fondés sur des bases statistiques qui permettent de rendre compte de la variabilité.

Origine du besoin

Quel que soit le dispositif d'acquisition utilisé au cours d'une expérimentation, il est indispensable de vérifier régulièrement les valeurs acquises pour garantir la continuité et la fiabilité d'un jeu de données. Ce besoin a fait émerger la nécessité de disposer d'un outil simple d'utilisation qui pourrait aider la personne en charge du téléchargement des données pour que, de manière rapide, elle puisse *in situ*, aussi bien contrôler les signaux d'une série de capteurs sur le long terme qu'un phénomène transitoire qui peut témoigner par exemple d'un faux contact au niveau du branchement d'un capteur.

Parmi les logiciels prospectés pour accomplir ces tâches, même si Excel et View Pro de Campbell Scientific semblent les mieux adaptés pour décoder les formats des tableaux de données et tracer des graphiques, ils ne proposent pas toutes les fonctionnalités correspondantes à nos besoins.

En effet, le logiciel View Pro ne permet pas d'exploiter des formats de données autres que celui des centrales d'acquisition de marque Campbell Scientific. De plus, l'opérateur est obligé de sélectionner chaque paramètre à visualiser avant de tracer le graphique, ce qui peut vite devenir fastidieux quand on veut comparer un grand nombre de variables.

1. INRA, UR0004 P³F, F-86600 Lusignan, France ; cedric.perrot@lusignan.inra.fr

Quant à Excel, même s'il reste très utilisé, il ne permet pas facilement de zoomer une zone d'un graphique et d'effectuer des calculs directement à partir des courbes.

Ces constatations faites, le logiciel *Grappe* a été développé en ayant pour objectifs d'afficher simplement et rapidement un graphique des données temporelles, et de proposer une palette de fonctions répondant aux exigences des utilisateurs potentiels. Un des points forts de ce logiciel réside dans la facilité de positionner des curseurs pour afficher des calculs sur des fenêtres temporelles bien identifiées, correspondant par exemple au moment de l'application d'un traitement au cours d'une expérimentation.

Présentation du logiciel

Grappe est un logiciel développé à partir du langage de programmation Labview 2013, compatible avec les versions de Windows XP, Vista, 7, 8 et 8.1.

Installation

Pour installer le logiciel, il suffit d'exécuter le fichier « Setup.exe » et cliquer sur « Suivant » puis « Terminer » à l'apparition des fenêtres (**Figure 1**).

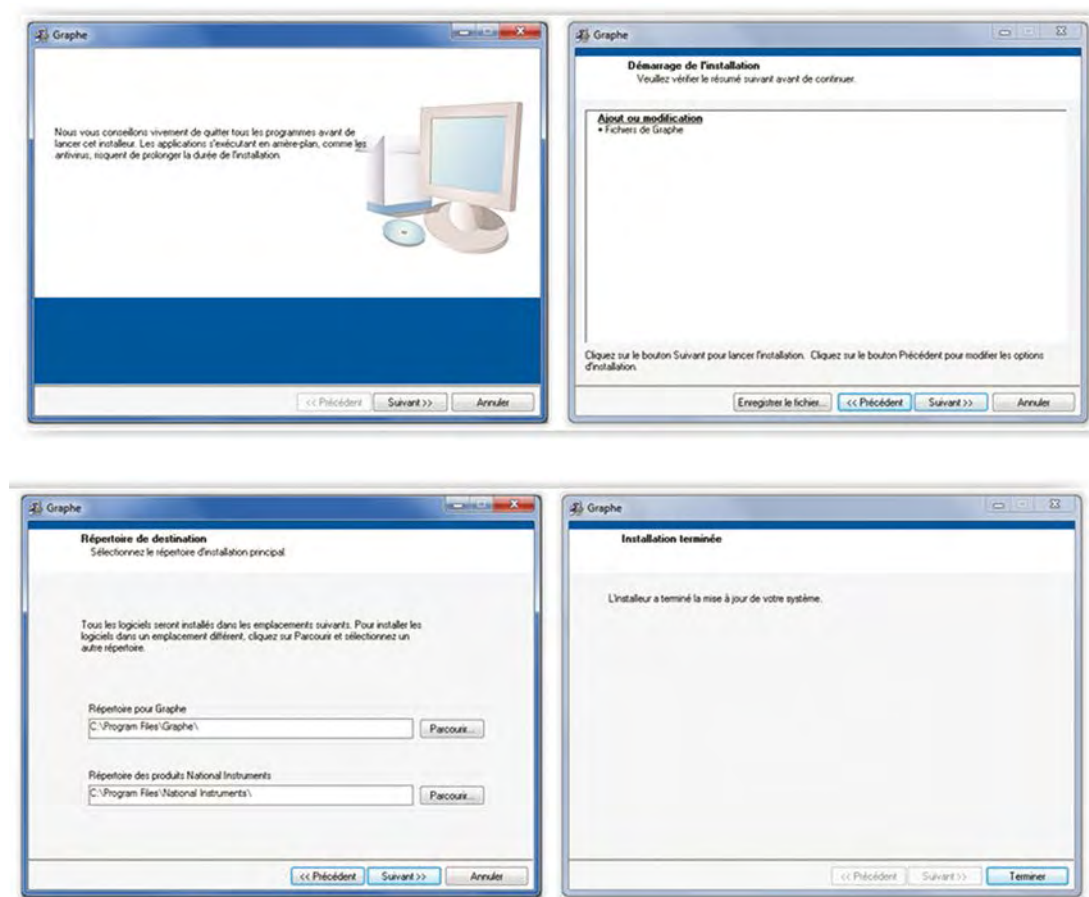


Figure 1. Fenêtres d'installation du logiciel.

Utilisation

Le logiciel peut être exécuté à partir du programme  Graphe disponible dans le menu démarrer ou via le raccourci créé automatiquement sur le bureau 

Importation et conversion des données

Le logiciel *Grapher* présente l'avantage d'accepter des fichiers de données (**Figure 2**) de type texte, dont les extensions les plus communes sont : *.dat, *.csv, *.txt, *.prn.

Il est aussi possible d'importer des données issues du premier onglet d'un fichier Excel *.xls ou *.xlsx dans la limite de 65 536 lignes.

Afin de simplifier la conversion des données, le logiciel propose une liste de séparateurs (**Figure 2**) pour fractionner le contenu d'une ou plusieurs cellules d'une colonne et de le distribuer en éléments individuels dans d'autres cellules de colonnes adjacentes.

Une fois mis en forme, le tableau doit comprendre une colonne de données d'horodatage (date et/ou heure) suivie des colonnes correspondantes à chaque variable.



Figure 2. Sélection du fichier et du séparateur pour répartir par colonne les données du tableau.
En bas de la figure : bandeau décrivant les étapes à suivre avant d'afficher le graphique.

Horodatage

Parmi les dates et/ou heures présentes dans la première colonne du tableau, l'utilisateur sélectionne la première cellule d'horodatage, encadrée en orange (**Figure 2**), qui correspond au début de la fenêtre temporelle à afficher sur le graphique. Ensuite, il choisit dans la liste un format d'horodatage en fonction des champs du **Tableau 1** et des caractères respectifs de la cellule sélectionnée.



Tableau 1. Correspondance des champs d'horodatage

Champs	Correspondance	Exemple : «2008/12/19 09:30:00»
%Y	Année	2008
%m	Mois	12
%d	Jour	19
%H	Heure	09
%M	Minute	30
%S	Seconde	00
%3u	Milliseconde	

Pour exemple, le format de l'horodatage «2008/12/19,09:30:00» doit être du type : "%Y/%m/%d %H:%M:%S", avec les caractères « " » aux extrémités, « espace » entre la date et l'heure, « / » et « : » intercalés respectivement entre les champs de date et d'heure.

Il est possible d'organiser, de modifier ou de créer des nouveaux formats d'horodatage dans la liste déroulante en renseignant le fichier de configuration « Formats_horodatage.txt » (Figure 3).

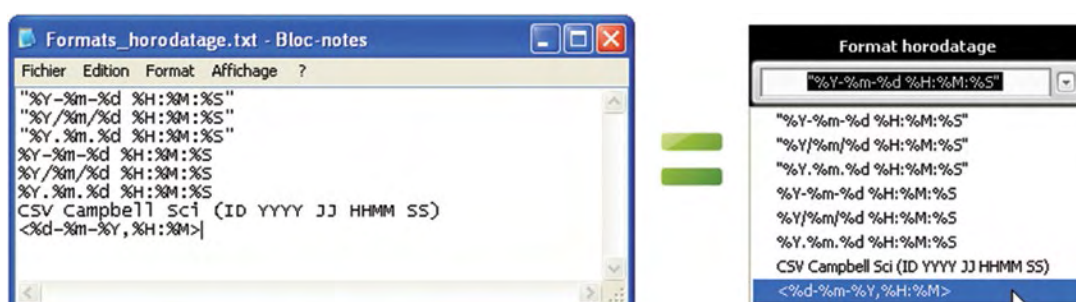


Figure 3. Fichier de configuration et liste des formats d'horodatage.

En plus des formats standards, le logiciel inclut déjà un format d'horodatage **CSV Campbell Sci (ID YYYY JJ HHMM SS)**, dédié aux anciennes centrales d'acquisition de type CR10X, CR23X, etc. de la marque Campbell Scientific.

En fonction des demandes des utilisateurs, une nouvelle version du logiciel peut être développée, implémentée de nouveaux formats d'horodatage spécifiques.

Une fois le format d'horodatage sélectionné, l'utilisateur l'applique à la cellule active du tableau, puis valide ou non le résultat de la conversion qui s'affiche dans l'indicateur clignotant selon une trame type composée de l'heure (%H:%M:%S:%3u) et de la date (%d/%m/%Y) (Figure 4).



Figure 4. 1 : Sélection de la cellule d'horodatage – 2 : Conversion et affichage de l'horodatage dans l'indicateur clignotant – 3 : Comparaison et validation.

Variables à afficher sur la fenêtre graphique

En un clic sur le nom d'une variable, l'utilisateur sélectionne toutes les données présentes à droite de la cellule active. L'entête des colonnes est alors automatiquement renseignée par les noms des variables sur fond bleu (Figure 5).

Dans le cas où l'utilisateur souhaite restreindre cette sélection à une plage de variables, il lui suffit de maintenir la touche **ctrl** appuyée et de cliquer sur la dernière variable de la série. L'entête des colonnes indique alors strictement les noms des variables à afficher sur le graphique (Figures 6 et 7).

Le bouton **Afficher graphe** fait apparaître une nouvelle fenêtre dédiée à l'affichage graphique (Figure 7), qui va permettre à l'utilisateur de visualiser et de manipuler les courbes des variables sélectionnées.

294	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	"LOAD"	"CR1000"	"CR1000"	"1696P"	"CPUValida_01_15"	"CPUValida_01_15"	"364P"	"Valida_01"	"TC_31_Avg"	"TC_31_Avg"
	"TIMESTAMP"	"RECORD"	"Bat_vol"	"Bat_Avg"	"TC_31_Avg"	"TC_46_Avg"	"TC_18_Avg"	"TC_18_Avg"	"TC_31_Avg"	"TC_31_Avg"
	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"
	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"
1	"2008-12-19 09:30:00"	0	13.82	8.49	7.345	7.208	6.04	7.349	7.1	7.1
2	"2008-12-19 09:45:00"	1	13.82	8.54	7.511	7.308	7.04	7.241	7.1	7.1
3	"2008-12-19 10:00:00"	2	13.82	8.61	7.993	7.849	7.518	7.837	7.7	7.7
4	"2008-12-19 10:15:00"	3	13.82	8.7	8.37	8.21	7.98	8.22	8.1	8.1

Figure 5. Sélection de toutes les variables à droite de la cellule active.

294	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	"LOAD"	"CR1000"	"CR1000"	"1696P"	"CPUValida_01_15"	"CPUValida_01_15"	"364P"	"Valida_01"	"TC_31_Avg"	"TC_31_Avg"
	"TIMESTAMP"	"RECORD"	"Bat_vol"	"Bat_Avg"	"TC_31_Avg"	"TC_46_Avg"	"TC_18_Avg"	"TC_18_Avg"	"TC_31_Avg"	"TC_31_Avg"
	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"	"T2"
	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"	"Avg"
1	"2008-12-19 09:30:00"	0	13.82	8.49	7.345	7.208	6.04	7.349	7.1	7.1
2	"2008-12-19 09:45:00"	1	13.82	8.54	7.511	7.308	7.04	7.241	7.1	7.1
3	"2008-12-19 10:00:00"	2	13.82	8.61	7.993	7.849	7.518	7.837	7.7	7.7
4	"2008-12-19 10:15:00"	3	13.82	8.7	8.37	8.21	7.98	8.22	8.1	8.1

Figure 6. Exemple de sélection d'une plage de 3 variables.



Figure 7. Fenêtre graphique avec trois tracés correspondants aux variables sélectionnées.

Visualisation et manipulation du graphique


La légende indique les noms des variables et les caractéristiques d'affichage des tracés. Chaque tracé peut être personnalisé via un menu contextuel et rendu visible grâce à la case à cocher associée.

La case à cocher située en haut de la légende des tracés affiche ou efface toutes les courbes du graphique (**Figure 8**).

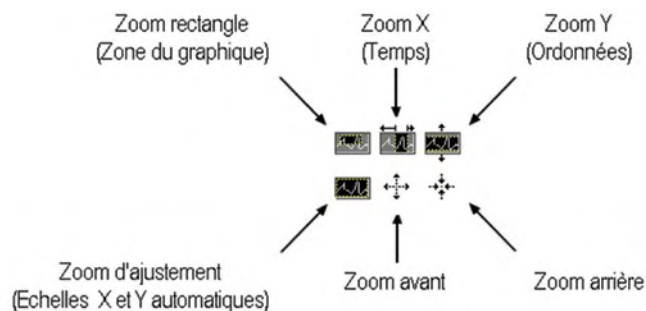


Figure 8. Légende des tracés et menu de personnalisation.



La palette  regroupe trois outils qui servent à manipuler l'affichage graphique :

- ✓ la main sert à saisir et à déplacer les tracés,
- ✓ la loupe dévoile six options pour effectuer des zooms avant et arrière :



dès lors qu'un zoom avant est appliqué, l'ascenseur horizontal placé en bas de l'afficheur graphique s'active. Il sert à déplacer les tracés suivant l'axe des X en conservant une fenêtre temporelle identique à celle du zoom (**Figure 7**) ;

✓ la croix active un curseur représenté en pointillés sur l'afficheur graphique. Etant donné que le curseur se déplace uniquement sur les points du tracé auquel il est associé, il sert à suivre avec précision les valeurs **Y** en fonction du temps **X**, de la variable active dans la liste déroulante nommée « Curseur » (**Figure 9**).

L'affichage d'un second curseur attaché à la même courbe permet d'indiquer en direct un calcul mathématique de l'ensemble des points compris entre les deux curseurs (**Figure 10**). En appuyant sur la touche **Ctrl**, l'utilisateur visualise tous les résultats mathématiques simultanément.

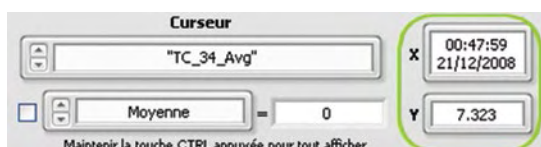


Figure 9. Affichage des coordonnées (X, Y) du point ciblé par le curseur.



Figure 10. Affichage du calcul mathématique avec les points compris entre deux curseurs.

Quatre options de quadrillage (Sans, Horizontal, Vertical, Tout) facilitent la lecture des courbes.

Les valeurs mini et maxi des échelles X et Y peuvent être modifiées manuellement sur la zone des tracés. La commande **Echelle Y** ajuste l'axe des ordonnées :

- ✓ automatiquement selon les valeurs extrêmes des tracés,
- ✓ manuellement en fonction des valeurs indiquées dans les commandes **Mini** et **Maxi**.

Exportation du graphique

Les données et le graphique peuvent être exportés via le menu contextuel de la zone des tracés (**Figure 11**).

Même si les deux premières options permettent d'exporter les tableaux de données associés au graphique, l'expérience montre que l'exportation d'une image simplifiée vers le presse-papiers (**Figure 12**), pour la coller dans un autre logiciel, s'avère la plus utile pour illustrer rapidement un rapport.



Figure 11. Menu contextuel du graphique.





Figure 12. Exportation en image simplifiée.

Retour d'expérience

Expérimentation SPPR (sélection plasticité phénotypique reproduction)

De 2010 à 2012, l'Unité a mené une expérimentation portant sur l'évolution en conditions naturelles de plusieurs générations d'un peuplement mono spécifique de graminées. Une des composantes écophysiological étudiée était l'analyse de la compétition pour la lumière à partir de la mesure de la distribution du rayonnement transmis par les plantes, soumises à deux rythmes de défoliation, 2 ou 6 semaines.

Dans ce cas, le logiciel *Grappe* a été utile à double titre. En effet, le technicien qui se rendait sur place vérifiait rapidement la cohérence des dernières données téléchargées depuis la centrale d'acquisition en comparant par exemple les courbes des capteurs de rayonnement incident. Ainsi, après avoir visualisé des points aberrants sur les tracés, il a remédié *in situ* à des problèmes de faux contacts, dus à l'oxydation des borniers d'un multiplexeur. *A posteriori*, même si le chercheur a traité les données avec d'autres logiciels spécialisés, au préalable il a tracé sur un même graphique les courbes des 85 capteurs de rayonnement, sur la période de mars 2010 à février 2012 avec des points tous les ¼ heures (Figure 13), ceci dans le but d'isoler des intervalles de temps autour des dates de défoliation pour lesquels les rapports de rayonnement transmis / incident restaient pertinents (Figure 14).

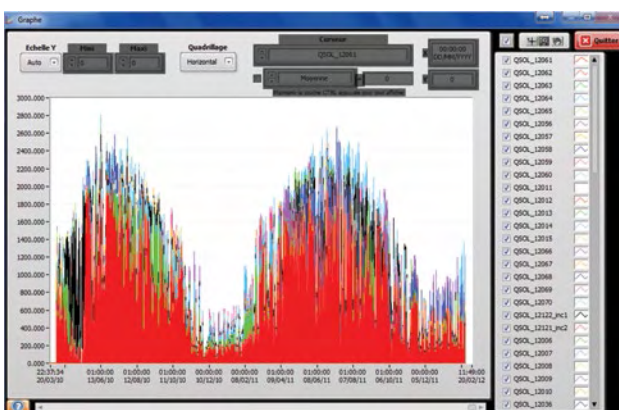


Figure 13. Evolution saisonnière du rayonnement entre mars 2010 et février 2012.

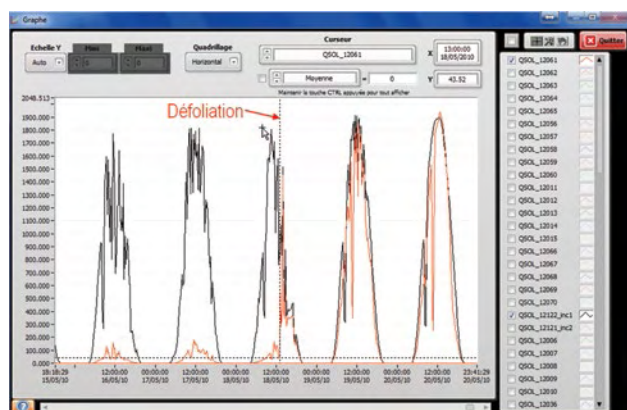


Figure 14. Recherche d'une date de défoliation par comparaison visuelle des courbes de rayonnement transmis (QSOL_12061) et incident (QSOL_12122_inc1).

Mesures de gaz à effet de serre

Dans le but d'analyser les flux des gaz à effet de serre du sol vers l'atmosphère, le SOERE ACBB (Système d'observation et d'expérimentation pour la recherche en environnement - Agro-écosystème, Cycle bio-géochimique et biodiversité) de Lusignan dispose de trois séries de six enceintes de mesure d'échanges gazeux, équipés d'analyseurs de N_2O 46C et 46I de la marque Thermo Scientific connus pour dériver rapidement. Ainsi, le métrologue en charge du suivi des analyseurs trace quotidiennement le graphique de la variable N_2O pour surveiller la dérive des mesures et s'assurer qu'elles ne soient pas amenées à dépasser la gamme de l'analyseur, soit 1000 ppb (**Figure 15**).

De même, ce logiciel est utilisé pour suivre les dérives des analyseurs de CO_2 installés sur le SOERE ACBB, notamment celui dédié aux mesures du gradient de CO_2 dans la végétation d'une prairie semée (**Figure 16**).

Dans les deux cas, ce suivi est utilisé le cas échéant pour déclencher la procédure d'étalonnage manuel des analyseurs.

Dans l'exemple (**Figure 15**), le logiciel *Grphe* trace un nombre important de points, puisqu'avec une mesure toutes les 10 s, le graphique reprend les données des 1 067 598 lignes d'un fichier texte.

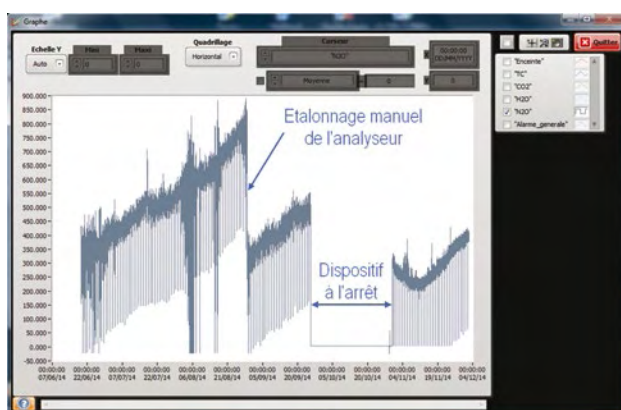


Figure 15. Suivi des mesures de concentration de N_2O .

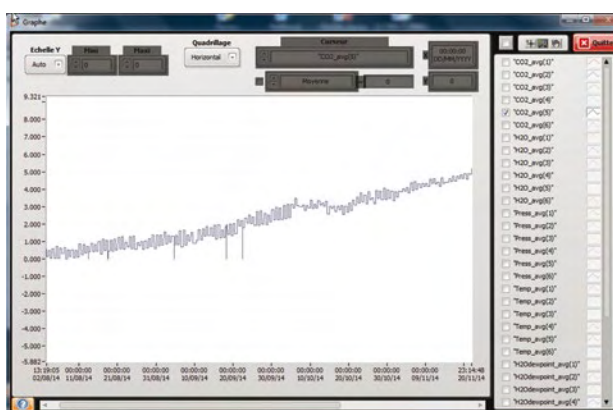


Figure 16. Exemple de dérive d'un analyseur de CO_2 .

Expérimentation Waterblue

Dans le cadre du programme de recherche sur la photomorphogénèse, une expérimentation visant à décorréler les effets du signal « lumière bleue » et de la transpiration sur la croissance foliaire des graminées a été mise en place. Cette étude consistait à analyser les effets de pertes d'eau contrôlées par les stomates sur la vitesse d'allongement des feuilles. Des mesures d'allongement foliaire et de pertes d'eau ont été systématiquement effectuées sur deux plantes. Chaque plante, disposée sur une balance, était positionnée dans une enceinte climatique qui permettait de maîtriser la tension de vapeur de l'air (contrôle de l'humidité relative et de la température) et la qualité de la lumière en plaçant soit un filtre neutre qui atténue le niveau de rayonnement dans le domaine du visible, soit un filtre « bleu » qui bloque le passage de la bande spectrale correspondant au bleu (**Tableau 2**). Ici les données issues des capteurs de déplacement pour mesurer la vitesse d'allongement des feuilles et des balances utilisées pour les mesures de transpiration étaient horodatées et enregistrées automatiquement dans un fichier texte toutes les minutes.

|||||

Tableau 2. Traitements appliqués aux plantes

Période	Conditions		Traitements	
	Phytotron n°2 (P2)	Phytotron n°3 (P3)		
1	10 h 45 à 12 h	Filtre neutre HR* = 40 %	Filtre neutre HR* = 40 %	Evolution de la transpiration sans modification de la qualité de la lumière
2	12 h à 15 h	Filtre neutre HR* = 40 %	Filtre bleu HR* = 40 %	Affecter uniquement la qualité de la lumière, pour voir l'effet sur la transpiration
3	15 h à 18 h	Filtre neutre HR* = 80 %	Filtre bleu HR* = 80 %	Modifier l'humidité pour décorrélérer l'effet signal bleu du flux transpiratoire (suivi en parallèle de la conductance stomatique)

* HR : Humidité relative

L'utilisation du logiciel *Grappe* est illustrée ici sur les données des balances (**Figure 17**). Dans ce cas, compte tenu du bruit sur le signal, la scientifique en charge de l'expérimentation s'est essentiellement servi des outils curseurs et calculs de la pente d'un ajustement linéaire afin de mieux repérer les périodes de traitements ayant un effet sur la transpiration. Une fois cette étape effectuée, les données « balances » des périodes identifiées étaient filtrées. Puis, des pertes d'eau par unité de temps et par plante ont pu être calculées et mises en relation avec la vitesse d'allongement foliaire mesurée sur la feuille en croissance de la même plante.



Figure 17. Exemple de calcul des pentes des signaux bruts des balances.

Conclusion et perspectives

Pour ceux qui l'ont adopté, le logiciel *Grphe* leur sert au quotidien dès lors qu'ils souhaitent visualiser des jeux de données brutes pour : soit vérifier le bon fonctionnement d'un dispositif de mesure, soit rechercher des informations précises sur les courbes.

Plusieurs scientifiques et techniciens de l'Unité ainsi que des collègues faisant partie de réseaux de mesure utilisent déjà ce logiciel. Suite au poster et à la démonstration présentés aux J2M 2014, d'autres personnes ont demandé à l'utiliser.

Etant donné que ce logiciel est développé à partir de l'interface de programmation Labview, il peut évoluer selon les besoins des nouveaux utilisateurs en le complétant avec de nouvelles fonctionnalités.

Référence bibliographique

LabView. Programmation et applications [ouvrage] / F. Cottet. Paris, Dunod, 2001 , 415 p.
ISBN : 978-2-10-005667-5 <http://zone.ni.com>



Qua²Ray : quantité et qualité du rayonnement

Logiciel d'analyse du rayonnement lumineux

Eric Roy¹, Annie Eprinchard¹, Ela Frak¹, Didier Combes¹

Résumé. Qua²Ray est un logiciel d'analyse du rayonnement lumineux à partir d'acquisitions réalisées à l'aide d'un spectroradiomètre. Il comprend plusieurs fonctions capables d'analyser des spectres en instantané, de calculer des cartographies de rayonnement, ou encore de calculer des propriétés optiques d'échantillons. Toutes ces fonctions sont basées sur le calcul des caractéristiques spectrales essentielles au fonctionnement des plantes. Cet article décrit les matériels utilisés avec Qua²Ray, les différentes fonctions ainsi que plusieurs exemples concrets d'applications.

Mots clés : spectroradiomètre, composition spectrale, flux de photons, source lumineuse, propriétés optiques

Introduction

A l'INRA, l'Unité de Recherche pluridisciplinaire Prairies et plantes fourragères étudie le fonctionnement des plantes fourragères dans les prairies semées. Ces recherches, visent à mieux comprendre et modéliser les effets des facteurs abiotiques et plus particulièrement ceux liés à l'environnement lumineux.

Le rayonnement joue un rôle prépondérant et complexe dans les processus qui déterminent l'architecture et la croissance des plantes en peuplement. Il pilote l'acquisition photosynthétique du carbone (effet trophique) et en même temps, exerce la fonction de signal pouvant déclencher des réactions morphogénétiques (effet photomorphogénétique) spécifiques à plusieurs domaines de longueurs d'onde allant des UV jusqu'au proche infrarouge (Varlet-Grancher et al., 1995). Pour comprendre et analyser les effets du rayonnement, les chercheurs de l'équipe Ecophysiologie qui s'intéressent à la régulation de la croissance et du développement des plantes par la lumière, ont systématiquement besoin d'accéder aux différentes variables du rayonnement que sont : la densité de flux de photons entre 400-700 nm (photosynthetically active radiation : PAR), la densité de photons UVA-Bleu (320- 500 nm), le rapport relatif entre le flux de photons dans la bande spectrale du rouge clair (600-700 nm) et du rouge sombre (700-800 nm), etc. Ces différentes variables sont extraites à partir des mesures de distribution de l'énergie lumineuse (spectres) dans le domaine allant des UV-A, en passant par le visible et jusqu'au proche infrarouge (380-1100 nm) obtenues à l'aide de spectroradiomètres.

Au cours des années 2000, le calcul de ces variables a été formalisé grâce au développement d'une feuille Excel dédiée, appelée «*CARACT.XLS*» (De Berranger et al., 2005) mais elle ne permettait qu'un traitement individuel (un par un) des spectres. De plus, la caractérisation de l'environnement lumineux et de son hétérogénéité, sa manipulation grâce à l'utilisation de différents type de sources ou de filtres de transmission en vue de tester et d'identifier la variable du rayonnement pertinente vis-à-vis d'un processus biologique (exemple : suppression de bleu et allongement foliaire) génèrent beaucoup d'informations spectrales qui doivent toutes être analysées. D'autres feuilles de calculs ont ainsi été développées pour simuler des éclairagements artificiels, pour convertir les données brutes en grandeur physique ou encore pour calculer les propriétés optiques de divers matériaux à partir de spectres de transmission. Or, le développement récent de nouveaux outils de cartographie spatiale et des demandes croissantes des chercheurs de l'Unité et de nombreux collègues de l'INRA à caractériser ou manipuler l'environnement lumineux des plantes nous ont amenés à faire évoluer cet ensemble d'outils en un seul logiciel, Qua²Ray, de façon à automatiser le traitement des spectres et à intégrer les coordonnées des acquisitions.

1. INRA, UR0004 P3F Ecophysiologie, Le chêne RD150 CS80006, F-86600 Lusignan, France ; eric.roy@lusignan.inra.fr

Description du matériel

Mesure de spectre lumineux

Les mesures de spectres sont réalisées par des spectroradiomètres couplés à une fibre optique qui guide le flux lumineux reçu par un récepteur connecté à son embout. La lumière reçue est ainsi décomposée par un réseau optique dans la gamme de longueurs d'ondes spécifiques au spectroradiomètre (de 300 à 1100 nm).

Deux spectroradiomètres ont été utilisés, l'un de marque ASD (modèle FIELDSPEC Pro Dual Range) et le second de marque TriOS GmH (modèle TRIMISPEC). Ils sont équipés d'un récepteur (cosinus) dont l'angle d'ouverture est de 180°. Ce récepteur permet de rendre compte des effets d'angle lors de la mesure de rayonnement : cela signifie que le rayonnement de direction perpendiculaire au récepteur est maximum alors que celui qui vient dans la direction rasante est faible. Le spectroradiomètre ASD est fourni avec un certificat d'étalonnage afin de convertir les données brutes en flux par unité de surface et pour chaque longueur d'onde ($W/m^2/nm$). Le logiciel de pilotage et d'acquisition du spectroradiomètre ASD (RSDual) permet de définir le protocole d'acquisition des spectres de rayonnement et génère des données sous un format binaire. Ces données peuvent être transformées au format ASCII à l'aide d'un second logiciel (ASD ViewSpectro). Ce fichier texte comporte 23 lignes d'entêtes et 751 lignes de données correspondant aux longueurs d'onde de 325 nm à 1075 nm, avec un incrément de 1 nm.

L'étalonnage du spectroradiomètre TriOS a été effectué en interne par comparaison avec le spectroradiomètre ASD. Nous avons développé une feuille de calcul Excel pour calculer les coefficients d'étalonnage qui permettent de convertir les données brutes en grandeur physique identique à celle de l'ASD.

Le spectroradiomètre TriOS est piloté par le logiciel MSDA qui génère des fichiers ASCII aux extensions .DAT comprenant 34 lignes d'entêtes et 843 lignes de données correspondant aux longueurs d'onde de 307 nm à 1100 nm avec un incrément de 1 nm.

Le format des données des spectres spécifique à chaque spectroradiomètre, comprend les métadonnées du spectroradiomètre (numéro de série, date du spectre, longueur d'onde min et max, temps d'intégration...) ainsi que deux colonnes contenant les valeurs de longueurs d'onde et les valeurs de flux en $W/m^2/nm$.

Cartographie de rayonnement lumineux

La cartographie de rayonnement peut être effectuée de manière manuelle ou automatique. Le choix d'une acquisition manuelle peut se faire dans le cas où les points de mesure ne sont pas nombreux. Le temps nécessaire pour une mesure est d'environ 1 seconde et intègre le temps d'acquisition et l'enregistrement du fichier. Au-delà de 50 points, il est préférable d'opter pour une acquisition automatique.

Un dispositif de cartographie automatique, le Climascope (**Figure 1**), a été développé en 2006 pour répondre à cette dernière problématique. Il s'agit d'un plateau (230 x 230 mm) qui peut recevoir différents types de capteurs (rayonnement, température, humidité, concentration de CO_2). Il se déplace suivant deux axes sur une distance totale de 860 mm de long et 550 mm de large avec un pas d'un millimètre.

Pour effectuer des mesures de rayonnement, nous avons monté le spectroradiomètre TriOS sur un robot à deux axes (Pan Tilt) fixé au plateau mobile. Le Climascope et le spectroradiomètre sont reliés à un ordinateur qui gère de manière synchronisée le déplacement du plateau et l'acquisition des spectres, via une interface développée sous LabView©.



Les coordonnées de tous les points de la cartographie doivent être au préalable renseignées en millimètre dans un fichier texte, en précisant les déplacements du plateau suivant les deux axes perpendiculaires (l'axe des X et des Y). Dans ce même fichier, l'orientation (azimut et élévation) en degré du robot doit également être renseignée. Après avoir importé le fichier de coordonnées, l'interface LabView (i) commande le déplacement du plateau pour le placer au premier point de mesure, (ii) fait l'acquisition du spectre, (iii) copie et renomme le fichier de données selon le format suivant : « nom-de-la-carto_n°incrément_positionX_positionY_azimut_élévation.dat. », (iv) et passe au point suivant. Une fois la cartographie terminée, nous obtenons autant de fichiers de spectres que de points de mesure.

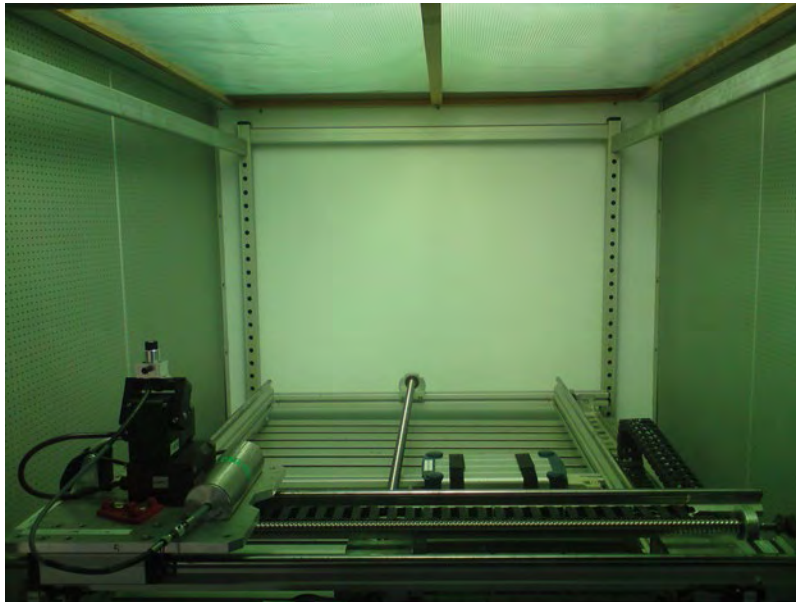


Figure 1. Illustration du Climascope dans une enceinte de culture (photo : E. Roy, INRA).

Mesure de propriétés optiques

Nous utilisons la sphère intégrante LI-COR 1800-12S (LI-COR 1983) associée au spectroradiomètre FIELDSPEC Pro pour mesurer la réflectance et la transmittance d'échantillons.

Pour connaître le pourcentage de réflexion ou de transmission d'un échantillon, il faut une mesure de flux de rayonnement incident. Cette mesure est effectuée lorsque l'illuminateur éclaire la sphère et correspond à la référence (Reference). Il est nécessaire également d'estimer le bruit électronique (Dark Reading) en effectuant une mesure lorsque l'illuminateur éclaire le porte échantillon vide. Enfin, les mesures de l'échantillon sont effectuées en réflectance (Reflectance Sample) et transmittance (Transmittance Sample) lorsque l'illuminateur éclaire le porte échantillon avec l'échantillon.

Après avoir acquis ces spectres, nous pouvons appliquer la formule ci-dessous qui est décrite dans la notice du LI-COR 1800 : T pour transmittance, R pour réflectance.

$$T_{(nm)} = \frac{\text{Transmittance Sample}_{(nm)} - \text{Dark Reading}_{(nm)}}{\text{Reference}_{(nm)} - \text{Dark Reading}_{(nm)}} \quad R_{(nm)} = \frac{\text{Reflectance Sample}_{(nm)} - \text{Dark Reading}_{(nm)}}{\text{Reference}_{(nm)} - \text{Dark Reading}_{(nm)}}$$

La gestion du nom de ces différents spectres est essentielle si nous voulons automatiser le calcul des propriétés optiques. Nous avons défini un protocole d'acquisition dans lequel l'ordre des séquences des mesures est défini et une syntaxe précise est utilisée pour le nom des fichiers. Ce nom commence par le nom d'échantillon suivi d'un indice « t » propre au spectroradiomètre et d'un numéro d'incrément qui augmente à chaque acquisition.

Description du logiciel Qua²Ray

Qua²Ray est un logiciel d'analyse du rayonnement lumineux développé en Visual Basic pour Application. A l'ouverture, la page principale présente les différentes fonctions (Figure 2) regroupées par type d'analyse telles que l'analyse spectrale, l'analyse spatiale, l'analyse de propriétés optiques et l'analyse de sources lumineuses.

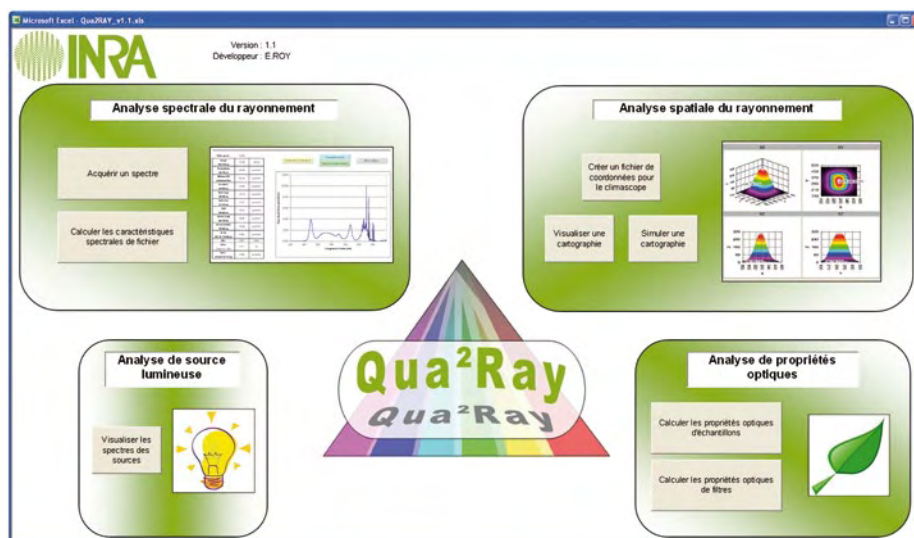


Figure 2. Capture d'écran de la page principale du logiciel Qua²Ray.

Analyse spectrale du rayonnement lumineux

Fonction « Acquérir un spectre »

Cette fonction permet d'acquérir un spectre, de le visualiser et de calculer ses caractéristiques instantanément. Elle garde en mémoire jusqu'à trois acquisitions et les exporte pour les enregistrer. Si nous souhaitons analyser leurs caractéristiques avec un autre spectre connu, la fonction peut charger un spectre d'une source lumineuse disponible dans Qua²Ray (Figure 3).

Cette fonction est pour l'instant disponible uniquement avec le spectroradiomètre TRIMISPEC et son logiciel MSDA qui fournit les acquisitions en instantané dans un répertoire connu.

Dans le cas d'un réglage d'un éclairage matriciel à LED, cette fonction permet de suivre l'ensemble des caractéristiques spectrales lorsque nous modifions l'intensité d'un groupe de LED (rouge, vert ou bleu).



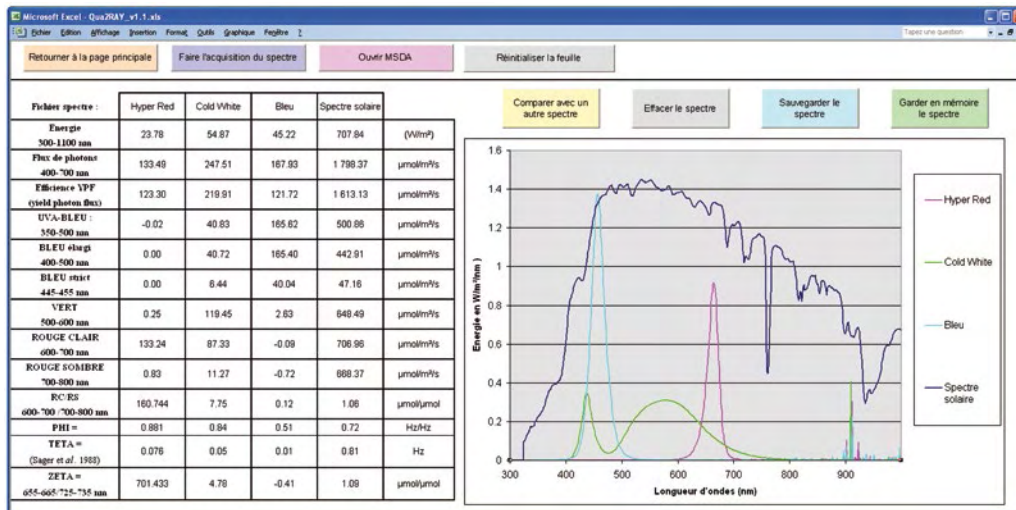


Figure 3. Acquisition de trois spectres de LED pour comparaison avec le spectre solaire.

Fonction « Calculer les caractéristiques spectrales de fichier »

A partir d'acquisitions faites avec le spectroradiomètre ASD ou TriOS, la fonction calcule les caractéristiques spectrales du rayonnement les plus importantes au niveau des plantes.

La fenêtre « Paramètres de traitement » renseigne le type de spectroradiomètre, les particularités du fichier d'acquisition (avec entête, fichier du Climascope, données brutes ou non), le nom et le format du fichier à enregistrer (xls, txt ou csv).

Après avoir cliqué sur le bouton « Lancer le calcul », une boîte de dialogue standard « Ouvrir » permet de choisir un ou plusieurs fichiers de spectre à traiter. La fonction traite les fichiers sélectionnés et insère le résultat dans le tableau. L'ensemble des colonnes correspond aux différents paramètres synthétiques caractérisant le rayonnement et chaque ligne correspond à un fichier traité.

Lorsque les acquisitions proviennent d'une cartographie du Climascope, la fonction récupère à partir du nom des fichiers, les coordonnées du point où le spectre a été mesuré. Ainsi, nous obtenons un tableau avec les coordonnées dans les quatre premières colonnes, suivies des 17 caractéristiques spectrales et du nom du fichier dans les colonnes suivantes (Figure 4).

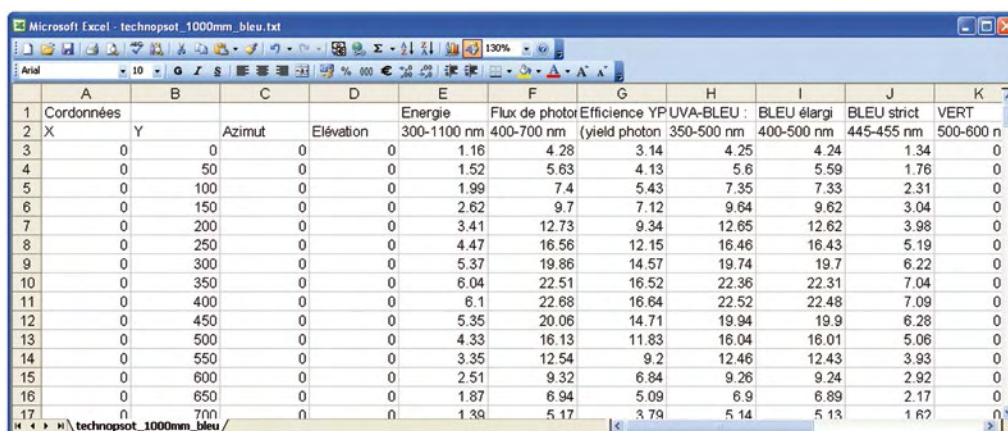


Figure 4. Aperçu du fichier enregistré après le calcul des caractéristiques spectrales pour différents spectres.

Analyse spatiale du rayonnement lumineux

Fonction « Créer un fichier de coordonnées pour le Climascope »

Pour réaliser une cartographie, le Climascope a besoin d'un fichier au format texte avec toutes les coordonnées des points de mesure. À partir des informations qui sont renseignées dans la fenêtre sur les offsets par rapport au bord de la pièce, les longueurs et les intervalles des points de mesure, la fonction crée le fichier en insérant une ligne par point de mesure (**Figure 5**).



Figure 5. A gauche, définition des paramètres pour calculer les points de mesure et à droite le fichier créé.

Fonction « Visualiser une cartographie de rayonnement »

La fonction « Visualiser une cartographie » ouvre une boîte de dialogue standard « Ouvrir » pour sélectionner le fichier de cartographie puis lance l'application Grap3D. Afin d'analyser les résultats de la cartographie obtenue par la fonction « Calculer les caractéristiques spectrales de fichier », Graph3D permet de tracer un graphique en trois dimensions avec ses trois projections à partir des données d'un fichier « txt » (**Figure 6**). Il interprète les deux premières colonnes comme les coordonnées des axes X et Y et nous pouvons choisir le paramètre à afficher sur l'axe Z grâce au menu déroulant. L'unité des axes X et Y est le millimètre et celle de l'axe Z dépend du paramètre affiché.

Fonction « Simuler une cartographie de rayonnement »

Cette fonction a pour but de simuler le positionnement de sources lumineuses que nous avons préalablement cartographiées individuellement.

Par exemple, nous avons cartographié un spot sur une surface de 800 mm par 550 mm avec le Climascope. Nous souhaitons simuler le rayonnement lumineux reçu sur un plan horizontal en prenant en compte la configuration du positionnement de six spots espacés de 300 mm sur l'axe X et de 400 mm sur l'axe Y. Nous renseignons dans la fenêtre « Simuler une cartographie », le fichier de la cartographie source, le nombre de sources sur les axes X et Y, leur intervalle sur X et Y et le fichier de sauvegarde (**Figure 6**).

Pour créer la nouvelle cartographie, la fonction va recalculer les coordonnées de la cartographie source pour les six spots en fonction de leur positionnement, et additionner les valeurs de flux de photons pour



les coordonnées similaires. Le résultat de la simulation est enregistré sous un fichier « txt » et affiché par Graph3D (**Figure 6**).

La fonction ne prend pas en compte le processus de réflexion notamment dû à la présence de parois réfléchissantes. La méthode est particulièrement adaptée aux sources lumineuses à LED qui sont des éclairages très directionnels et dont l'impact des parois réfléchissantes est souvent négligeable, ou pour des éclairages en serres dont les vitres réfléchissent très peu la lumière.

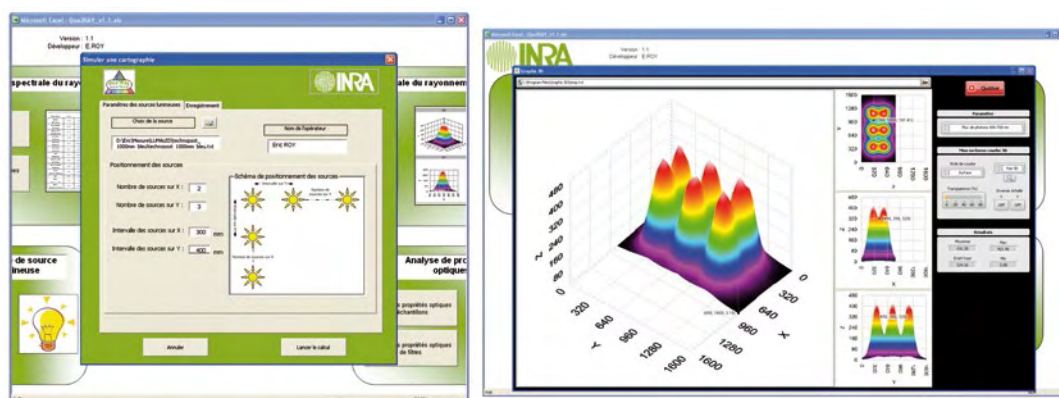


Figure 6. Simulation d'un éclairage par six spots LED avec le paramétrage de la fonction (à gauche) et l'affichage du résultat avec Graph3D (à droite).

Analyse de sources lumineuses

Une fonction permet de stocker des spectres de sources lumineuses qui sont utilisés dans plusieurs fonctions du logiciel Qua²Ray. Les valeurs du spectre sont en $W/m^2/nm$ et sont enregistrées dans un onglet du logiciel Qua²Ray. Nous pouvons les visualiser avec la fonction « Visualiser les spectres des sources » et les exporter au format « txt ».

Actuellement, il y a trois spectres stockés qui sont (i) le spectre solaire, (ii) le spectre d'une lampe à iodure métallique (HQI) et (iii) celui d'une lampe à haute pression de sodium (HPS). Ce sont les trois types de source qui sont principalement utilisés en serre et en chambre de culture. Nous pouvons personnaliser cette liste en important manuellement jusqu'à 250 spectres.

Analyse de propriétés optiques d'échantillons

Fonction « Calcul de propriétés optiques d'échantillons »

Nous avons expliqué dans la partie « description du matériel » que le calcul des propriétés optiques d'un échantillon nécessitait plusieurs mesures de spectre et donc générait plusieurs fichiers.

Le calcul consiste à ouvrir individuellement les fichiers de spectres, à récupérer les valeurs correspondantes aux paramètres Dark Reading, Reflectance Sample, Reference et Transmittance Sample dans une seule feuille Excel. Nous appliquons ensuite la formule décrite précédemment et nous obtenons le pourcentage de rayonnement transmis ou réfléchi pour chaque longueur d'onde entre 325 et 1075 nm. Cette démarche est très fastidieuse et peut engendrer des erreurs dès l'instant où l'on a plusieurs échantillons.

Pour réduire les risques d'erreur la fonction « Calcul de propriétés optiques d'échantillons » du logiciel Qua²Ray automatise cette opération. Pour cela nous devons d'abord paramétrer le calcul à l'aide de la fenêtre « Paramètres de traitement » et ses quatre onglets : « Propriétés optiques », « Spectro », « Spectre Incident » et « Enregistrement » (**Figure 7**).

L'onglet « Propriétés optiques » permet de choisir le type de calcul à effectuer et le nombre de faces de l'échantillon. « Spectro » permet de choisir le type de spectroradiomètre avec lequel ont été faites les acquisitions ainsi que les caractéristiques des fichiers (données brutes, avec entête, numéro d'incrément des fichiers...). L'onglet « Spectre incident » propose une option de calcul des propriétés optiques pour une bande spectrale en pondérant par les valeurs du spectre de la source incidente. L'onglet « Enregistrement » permet de choisir la forme d'enregistrement des propriétés optiques calculées avec, soit un fichier par échantillon, soit un fichier avec un onglet par échantillon, soit un fichier avec un onglet pour toutes les réflectances d'échantillon et un autre onglet avec les transmittances.

Après avoir paramétré les calculs à effectuer, la fonction s'initialise et ouvre une boîte de dialogue « Ouvrir » pour sélectionner l'ensemble des fichiers d'acquisition. Dans le cas où il y a plusieurs échantillons à calculer, il suffit de sélectionner tous les fichiers d'acquisition de tous les échantillons, et le logiciel Qua²Ray traite automatiquement l'ensemble des échantillons.

Une fois les propriétés optiques calculées, elles sont sauvegardées au format souhaité. Dans notre exemple, nous avons choisi un fichier par échantillon (**Figure 7**). Le fichier comprend le nom de l'échantillon, le type de spectre incident utilisé pour le calcul, les valeurs de réflectance et de transmittance pondérées par le spectre incident, et la valeur de réflectance et de transmittance pour chaque longueur d'onde.

A la fin des opérations, un rapport final s'affiche récapitulant les échantillons traités ainsi que les fichiers qui ont été créés.

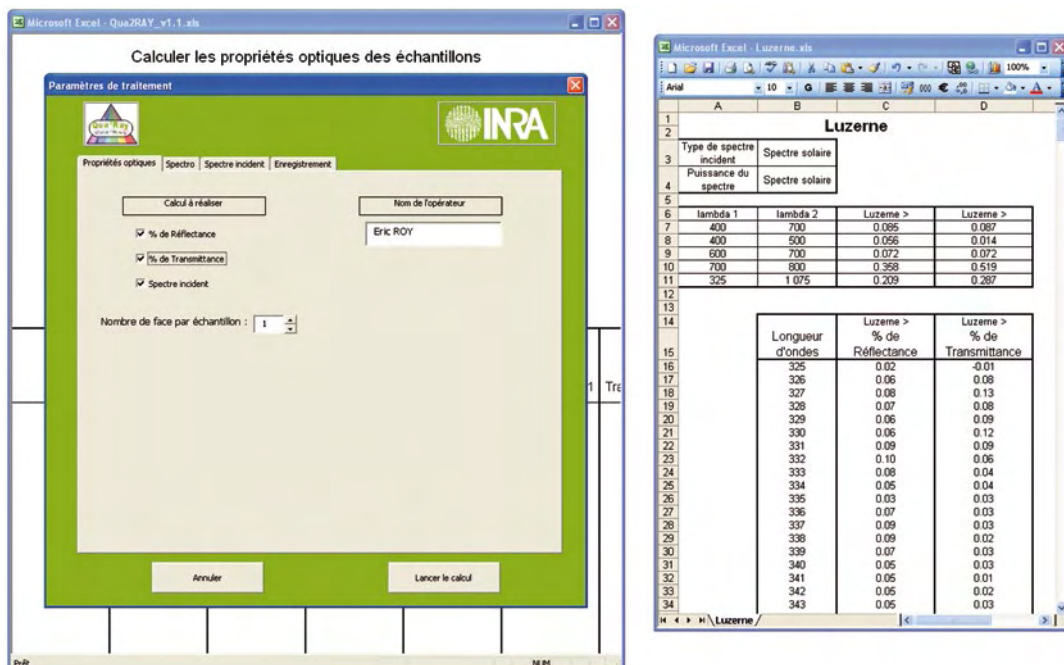


Figure 7. Configuration des paramètres de calcul (à gauche) et affichage du résultat obtenu sur une feuille de luzerne (à droite).

Fonction « Calcul de propriétés optiques de filtres »

La méthode pour mesurer et calculer les propriétés optiques de filtre est la même que celle utilisée pour un échantillon quelconque. Nous obtenons un pourcentage de rayonnement transmis ou réfléchi par longueur d'onde. Seule l'interprétation que l'on souhaite en faire diffère. L'intérêt de cette fonction, est d'associer les paramètres d'une source lumineuse stockée dans le logiciel Qua²Ray avec le filtre que l'on souhaite analyser, pour simuler le spectre et ses caractéristiques que l'on obtiendrait.

La **Figure 8** montre les propriétés optiques du filtre « HT015 » calculées par la fonction, auxquelles nous avons rajouté un graphique pour mieux les illustrer. Nous retrouvons le pourcentage de rayonnement transmis du filtre [B16:B768], la source avec son spectre [C17:C768] en courbe rose et ses caractéristiques [B1:B14], l'éclairement simulé avec son spectre [D16:D768] en courbe jaune et ses caractéristiques [C1:C14].

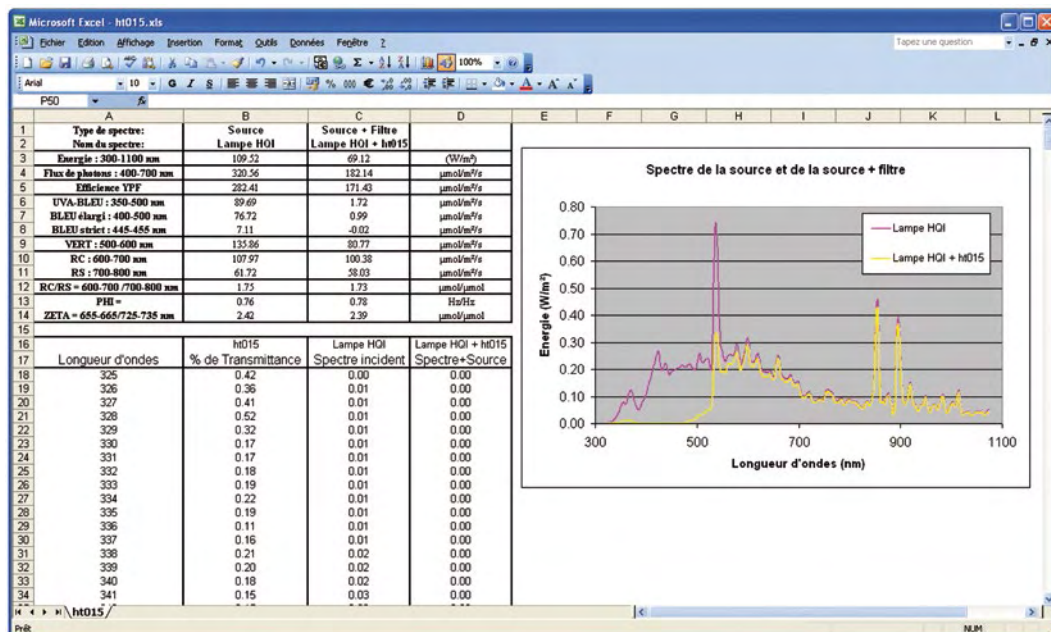


Figure 8. Simulation du résultat d'une association entre une lampe HQI et un filtre LeeFilters HT015.

Résultats

Réglage d'un plafond à LED Ecolux

L'Ecotron Ile-de-France est un dispositif expérimental composé de trois cellules climatiques pouvant simuler des environnements spécifiques (Verdier et al., 2014). Chaque cellule peut accueillir un mésocosme aquatique ou terrestre, et un système d'éclairage matriciel à LED, appelé ECOLUX. Il est composé de 40 cartes comprenant chacune 35 pavés de LED différentes (UV, blanc, bleu, rouge clair, rouge sombre) dont la programmation permet de simuler des régimes différents de lumière contrôlés en qualité et en quantité.

La capacité de ce dispositif à générer différents environnements lumineux a été testée dans le cadre d'une expérimentation concernant les effets d'un faible ratio « rouge clair/rouge sombre = Rc/Rs », sur le développement et la croissance des plants d'arabidopsis. Pour répondre à cet objectif, deux

niveaux de ratio Rc/Rs très contrastés (1.15 et 0.1) représentés par la variable Zeta ont été obtenus sous un flux constant de rayonnement PAR d'environ $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Le paramètre Zeta est un autre descripteur du ratio Rc/Rs. Il correspond à un rapport entre les flux de photons dans une bande spectrale de 10 nm entre le rayonnement rouge clair (655-665nm) et rouge sombre (725-735nm). L'ECOLUX permet de faire varier facilement le paramètre Zeta grâce aux pavés de LED rouge clair et rouge sombre, mais trouver la configuration idéale peut s'avérer difficile, car pour abaisser le Zeta on doit réduire le flux de rayonnement rouge clair au niveau de chaque carte, ce qui impacte automatiquement le flux de rayonnement utile pour la photosynthèse (PAR 400-700nm) et qu'il faudra compenser avec des LED bleues. Il faut donc systématiquement s'intéresser à l'ensemble des variables du rayonnement (aussi bien quantitatives que spectrales) après chaque changement de configuration d'allumage des pavés de LED.

La démarche pour trouver la configuration idéale avec ce type d'éclairage est la suivante : allumer quelques pavés de LED, faire une acquisition de spectre, calculer ses caractéristiques, les comparer au cahier des charges puis modifier la combinaison des pavés si nécessaire et recommencer la démarche jusqu'à trouver la combinaison satisfaisante. Cette démarche peut être longue et approximative si les calculs des paramètres ne sont pas faits en temps réel. C'est ce que permet notre logiciel Qua2Ray !

En effet, grâce à la fonction « acquérir un spectre », l'acquisition du spectre et le calcul des caractéristiques spectrales se font en quelques secondes, ce qui nous a permis de trouver rapidement les combinaisons satisfaisantes : cinq pavés de LED blanches pour un rayonnement PAR de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et un paramètre Zeta de 4.7, cinq pavés de LED blanches et sept pavés de LED rouges sombres pour un rayonnement PAR de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et un paramètre Zeta de 0.1 (**Figure 9**).



Figure 9. Cartographie de l'ECOLUX avec la combinaison cinq pavés de LED blanches et sept pavés de LED rouges sombres (photo : E. Roy, INRA).



Développement de rampes lumineuses pour les stades de sport

Dans le cadre d'un projet avec un gestionnaire de pelouse de stades de sport, nous avons développé des rampes lumineuses pour éclairer des surfaces de pelouse déficitaire en rayonnement. Le cahier des charges consistait à éclairer de façon suffisante et homogène une surface de plusieurs dizaines de mètres carrés pour assurer une bonne qualité de gazon.

Pour mener à bien ce projet, nous avons commencé par choisir un type de source lumineuse en fonction de son spectre, de sa puissance d'éclairage et de sa répartition du flux pour satisfaire au mieux les besoins de la plante. Après avoir sélectionné la source lumineuse qui équipera les rampes, nous devons définir la hauteur de la source par rapport au gazon mais aussi le maillage, c'est-à-dire le nombre de sources lumineuses et l'écartement entre elles pour assurer un flux de rayonnement suffisant et homogène au niveau du couvert végétal visé.

Tout d'abord, une cartographie de la source sélectionnée a été faite pour plusieurs hauteurs sur une surface de 10 m x 8 m avec un pas de 20 cm. A partir de cette cartographie, nous avons paramétré le logiciel Qua²Ray pour faire une simulation de 16 sources lumineuses avec un maillage de 4 m x 2 m. Après 30 secondes de calcul, nous obtenons une cartographie globale de 22 m x 14 m avec pour chaque coordonnée, une valeur de flux de photons en $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, exportable au format xls, csv ou txt pour faire quelques calculs statistiques.

Vue la simplicité de mise en œuvre et le temps très court des simulations, nous pouvons aisément refaire la simulation avec un maillage différent pour s'approcher au mieux des exigences du cahier des charges.

Modification du spectre d'une source lumineuse HQI

Le logiciel Qua²Ray a aussi été utilisé dans le cadre d'une expérimentation visant à décorrélérer les effets de la composante bleue de la lumière (400-500 nm) et de la transpiration sur la croissance foliaire des graminées (Barillot et al., 2010). Pour réaliser cette expérience, la composition spectrale de la lumière ainsi que la capacité de transpiration des plantes devaient être manipulées indépendamment l'une de l'autre. Deux enceintes climatiques ont été utilisées à cet effet : dans chacune d'entre elles, une plante a été positionnée sur une balance de précision pour suivre la transpiration et a été équipée d'un capteur d'allongement foliaire pour suivre la vitesse d'allongement de la feuille en croissance. Les deux plantes ont été placées dans les chambres de cultures quelques heures avant d'appliquer le traitement lumineux, afin d'avoir un état initial de la vitesse et de la transpiration. Après stabilisation des conditions, le traitement lumineux (lumière avec ou sans bleu) combiné ou pas à un traitement visant à modifier le taux d'humidité relative dans les chambres, pour contrôler le déficit de saturation de l'air (VPD), a été appliqué.

Dans nos enceintes climatiques équipées de lampes à décharge du type iodure métallique (HQI), le seul moyen pour modifier le spectre dans sa composante bleue en bloquant le passage de ces photons ou en réduisant de façon neutre le flux de photons dans le PAR, est d'intercaler un filtre de transmission entre la source et la surface de culture.

Nous disposons d'un nuancier de filtres pour pré-sélectionner visuellement les filtres qui se rapprocheraient de notre besoin. Une fois sélectionnés, nous mesurons les propriétés optiques de ces filtres selon la méthode décrite précédemment (**Figure 10**).

Grâce à la fonction « Calcul de propriétés optiques de filtres » du logiciel Qua²Ray, nous calculons le pourcentage de transmission des filtres par longueur d'onde et nous simulons leurs influences sur une source lumineuse type HQI (**Figure 8**). La forme du spectre et ses caractéristiques spectrales nous permettent de choisir le filtre adapté à notre expérimentation : Lee-filter HT 216 (filtre neutre) pour ramener les deux traitements lumineux à une même efficacité photosynthétique et filtre HT 015 permettant d'éliminer les photons de la bande spectrale 400-500 nm correspondant au bleu.



Figure 10. De gauche à droite : nuancier de filtres, enceinte de culture lampe HQI + HT 216, enceinte de culture lampe HQI + HT 015 (photo : S. Carre, INRA).

Conclusion et perspectives

Le logiciel Qua²Ray aide les utilisateurs de spectroradiomètre à traiter leurs données et calculer les caractéristiques spectrales essentielles au fonctionnement d'une plante.

Ainsi, nous avons pu réaliser de nombreuses cartographies de rayonnements pour caractériser des sources lumineuses innovantes (ECOLUX, projecteurs LED Osram...), calculer des propriétés optiques sur un grand nombre d'échantillons et définir rapidement des filtres en fonction de leurs caractéristiques pour des modifications de spectres.

Développé entre 2010 et 2013 en Visual Basic sous Office 2003, le logiciel Qua²Ray aurait besoin soit d'une mise à jour pour résoudre quelques bugs liés aux nouvelles versions d'Office, soit d'un re-développement complet sous une autre plateforme comme « Python », afin d'augmenter ses capacités de calcul, d'avoir accès à des fonctions mathématiques plus élaborées, de tolérer plusieurs types de spectroradiomètre et de créer un module exécutable.

Ce logiciel est disponible pour tous les agents INRA qui le souhaitent, adaptable plus ou moins rapidement en fonction de leurs spectroradiomètres.

Références bibliographiques

Barillot R, Frank E, Combes D, Durand J-L, Abraham J, Escobar-Gutiérrez J (2010) What determines the complex kinetics of stomatal conductance under blueless PAR in *Festuca arundinacea*? Subsequent effects on leaf transpiration. *J Exp Bot* **61**: 2795-2806.

De Berranger C, Christophe A, Gautier H, Varlet-Grancher C (2005) Caract.xls : un outil pour estimer les caractéristiques spectrales du rayonnement lumineux actif sur la croissance et le développement des plantes. *Cahiers des Techniques de l'INRA* **54** : 21- 36.

Varlet-Grancher C, Ollat N, Gautier H, Julien JL (1995) La photomorphogenèse. Actes de l'Ecole-Chercheurs INRA en Bioclimatologie. De la plante au couvert. Le Croisic, 257-268.

Verdier B, Jouanneau I, Simonnet B, Rabin C, Van Dooren TJ, Delpierre N, Clobert J, Abbadie L, Ferrière R, Le Galliard JF (2014) Climate and atmosphere simulator for experiments on ecological systems in changing environments. *Environ Sci Technol* **48** : 8744-8753.

1800-12 Integrating Sphere instruction manual. LI-COR, inc. (May 1983).



Adonis, un outil INRA d'acquisition de données

Premier bilan de son déploiement

Vincent Dumas¹, David Alletru², Alexandre Bernard³, Frédéric Bernier⁴, Pascal Bertin⁵, Guillaume Bodineau⁶, Philippe Burger⁷, Laurent Falchetto³, Audrey Jacques-Gustave⁸, Julien Parmentier², Didier Raffailac⁷

Résumé. Adonis (Acquisition de DONnéeS à l'Inra) est un outil informatique INRA d'acquisition de données sur des plantes ou des ensembles de plantes repérées spatialement dans des dispositifs agronomiques (laboratoire, serre, champ, verger, forêt...). Le projet Adonis est piloté par la Commission nationale des unités expérimentales (CNUe) avec l'appui de quatre départements et de la Direction du système d'information (DSI). Il a pour ambition de mettre à disposition des expérimentateurs de terrain, un outil informatique permettant i) de fiabiliser l'acquisition de données, ii) de les organiser depuis la conception des dispositifs jusqu'à l'archivage des données saisies, iii) puis de les transférer vers d'autres outils pour leur exploitation. Adonis intègre de manière implicite une démarche d'assurance qualité en recherche (AQR) au profit de l'expérimentateur et des gestionnaires d'expérimentation. Après 2 ans et demi de développement, l'application est opérationnelle et disponible pour les Unités depuis le deuxième semestre 2012. Avec l'aide et le soutien de la Formation permanente nationale (FPN), le programme de formation élaboré a permis de former, en interne, 214 personnes depuis le début du déploiement. En 2014, il y a eu 465 connexions mensuelles, provenant d'une vingtaine d'Unités réparties sur 12 Centres INRA. Pour accompagner le déploiement d'Adonis, différents outils ont été mis en place (site de téléchargement, Mantis, forum) et sont disponibles pour la communauté des utilisateurs. Le réseau de référents Adonis, récemment constitué, permettra de faire le lien entre les utilisateurs et les animateurs-formateurs. Cette application est une opportunité pour les expérimentateurs, essentiellement dans le domaine du végétal, afin de fédérer au sein de l'INRA et de partager des méthodes ainsi que des techniques de travail.

Mots clés : Adonis, phénotypage, base de données, expérimentation végétale, saisie portable

Introduction et contexte

La CNUe (Commission nationale des unités expérimentales), en partenariat avec les Départements EA (Environnement et agronomie), EFPA (Écologie des forêts, prairies et milieux aquatiques), BAP (Biologie et amélioration des plantes) et SPE (Santé des plantes et environnement) ainsi que la DSI (Direction du système d'information), a décidé en 2009 de développer un outil informatique collectif d'acquisition de données : Adonis. Ce projet a pour objectif de répondre à une attente des expérimentateurs de l'INRA à savoir : disposer d'un outil informatique qui permette de réaliser et de standardiser la saisie de données sur le terrain à l'aide d'ordinateurs durcis, de tablettes ou d'ordinateurs portables dans des dispositifs expérimentaux (Verger, 2006).

Chronologie du projet

De 2006 à 2009, un groupe de réflexion, constitué pour l'essentiel d'expérimentateurs associés à un informaticien, a permis d'aboutir à la rédaction d'un cahier des charges qui a été validé par la DSI (Clastre et al., 2009). A partir de ce document de base, la procédure d'appel d'offre conduite en fin d'année 2009 a permis de retenir la société prestataire Softeam pour développer cet outil.

De 2010 à 2013, une équipe projet INRA composée de deux informaticiens et d'un responsable scientifique a encadré le déroulement de la phase de développement conduite par le prestataire. Elle s'est appuyée sur un groupe constitué de six expérimentateurs pour valider les choix techniques et réaliser les tests des différentes itérations développées. L'application Adonis a été déposée en janvier 2011 à l'Agence pour la protection des programmes (Adonis, 2012).

1. INRA, UMR 1131, SVQV, 28 rue d'Herrlisheim, BP20507, 68021 F-68021 Colmar cedex, France ; vincent.dumas@colmar.inra.fr

2. INRA, UE 0393, Unité expérimentale arboricole, Domaine des Jarres, F-33210 Toulence, France

3. INRA, UE 0115, Domaine expérimental d'Epoisses, F-21110 Bretenière, France

4. INRA, UE 0570, Unité expérimentale Forêt Pierroton, 69 route d'Arcachon, F-33612 Cestas cedex, France

5. INRA, UE 30787, Unité expérimentale de la Motte, BP35327, F-35653 Le Rheu cedex, France

6. INRA, UE 0995, GBFOR, 2163 avenue de la Pomme de Pin, CS40001, Ardon, F-45075 Orléans cedex 2, France

7. INRA, UMR 1248, AGIR, 24 chemin de Borderouge, Auzeville, CS52627, F-31326 Castanet -Tolosan cedex, France

8. INRA, UAR 1140, CNUe, 69 route d'Arcachon, F-33612 Cestas cedex, France

A partir de septembre 2012, Adonis est entré dans la phase de déploiement avec le lancement des premières formations internes. Adonis est en effet un outil composé de deux entités distinctes, « Adonis-bureau » et « Adonis-terrain », qui proposent de nombreuses interfaces et fonctionnalités : celles-ci nécessitent la maîtrise du vocabulaire et des concepts de l'expérimentation. En collaboration avec la FPN⁹, sept acteurs du projet ont donc construit une formation de 3 jours combinant théorie et exercices pratiques. La diffusion de l'application, via un site de téléchargement à partir de février 2013, et la poursuite des formations internes ont permis une montée en puissance du déploiement d'Adonis à l'INRA dès les premières années.

En 2014, le projet prend une nouvelle dimension du fait de la finalisation du développement de l'outil par le prestataire et du fait d'une nouvelle organisation mise en place à l'INRA pour encadrer le dispositif d'accompagnement d'Adonis (**Figure 1**).



Figure 1. Organigramme du dispositif d'accompagnement d'Adonis (décembre 2014).

Adonis, rappel des fonctionnalités

Adonis est structuré en deux applications distinctes, « Adonis-bureau » et « Adonis-terrain », selon les fonctionnalités et le type de matériel informatique utilisés lors des différentes phases de l'acquisition des données (**Figure 2**) (Clastre, 2010).

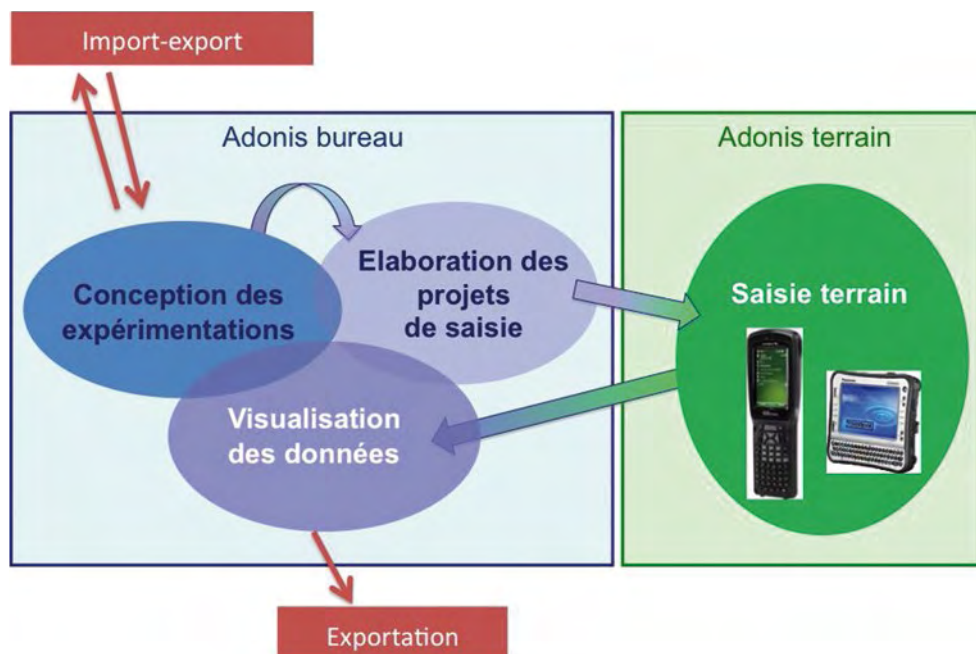


Figure 2. Structuration d'Adonis en deux applications, « Adonis-bureau » et « Adonis-terrain » interconnectées par le projet de saisie et le retour des données saisies.

« Adonis-bureau » : l'avant et l'après-saisie

L'application « Adonis-bureau » regroupe les fonctionnalités nécessaires aux activités encadrant la saisie *stricto-sensu* : création des informations en préparation de la saisie, puis récupération et gestion des données saisies. Le module « **conception** » assure la déclaration i) des dispositifs expérimentaux et de leurs éléments constitutifs (bloc, sous-bloc, parcelle unitaire, individu), ii) des facteurs étudiés et de leurs modalités (par exemple, une liste des génotypes combinée aux différentes modalités d'une fertilisation azotée) ainsi que leurs affectations aux éléments du dispositif. Les plans d'expériences sont, soit créés grâce aux fonctions de randomisation implémentées, soit importés à partir de fichiers au format texte. Les dispositifs sont regroupés au sein de plateformes, et chaque élément constitutif y est localisé dans un système de coordonnées. Un outil graphique permet la représentation schématique des éléments et leur manipulation. Enfin, les plateformes et les dispositifs sont exportables dans des fichiers au format texte (csv) ou structuré (xml), assurant l'échange d'informations vers d'autres applications ou d'autres installations Adonis.

Le projet de saisie est élaboré par l'expérimentateur pour préparer chaque saisie de données sur le terrain. Le module « **projet de saisie** » permet de définir : i) les variables qui recevront les données saisies (dénomination, nature des valeurs stockées) ; ii) le choix des éléments des dispositifs qui seront saisis ; iii) l'enchaînement des saisies entre les variables et entre les éléments des dispositifs. Il permet aussi le paramétrage de tests portant sur les valeurs saisies, comme aide dans la prévention des erreurs de saisie ainsi que le paramétrage de la déclaration des opérateurs de saisie. Il est à noter que les variables peuvent être enregistrées dans une bibliothèque assurant leur réutilisation et permettant de les partager avec des collègues via un fichier d'exportation de type xml.

Après la saisie des données sur le terrain (Figure 2), les fonctionnalités du module « **données saisies** » permettent (i) un regroupement de différentes saisies, (ii) leur visualisation sur le plan d'expérimentation et (iii) leur exportation vers des fichiers au format csv ou xml. Une fiche de synthèse est systématiquement éditée au bureau, à chaque retour de saisie, pour faciliter le contrôle et la qualité des données.

L'application « Adonis-bureau » fonctionne sur les postes de travail standards sous système Windows (Xp/7/8) ou Linux, et avec une base de données installée localement ou sur un serveur (Clastre, 2010).

« Adonis-terrain » : la mise en œuvre du projet de saisie

L'application « Adonis-terrain » est l'utilitaire de mise en œuvre du projet de saisie. Elle a été construite pour deux environnements : les portables et tablettes fonctionnant sous Windows Xp /7/8 et les ultraportables durcis (Psion Motorola WorkAboutPro) fonctionnant sous Windows mobile 6.1 et 6.5. Les deux applications ainsi développées offrent les mêmes fonctionnalités avec des interfaces spécifiques à chaque système (**Figure 3**). Un ensemble de fonctionnalités accompagne la saisie sur le terrain : i) deux modes possibles de saisie (formulaire et tabulaire) ; ii) l'identification à l'aide de codes à barres ou de puces électroniques ; iii) la visualisation des données déjà saisies et la représentation graphique de la position en cours de saisie dans le dispositif expérimental.

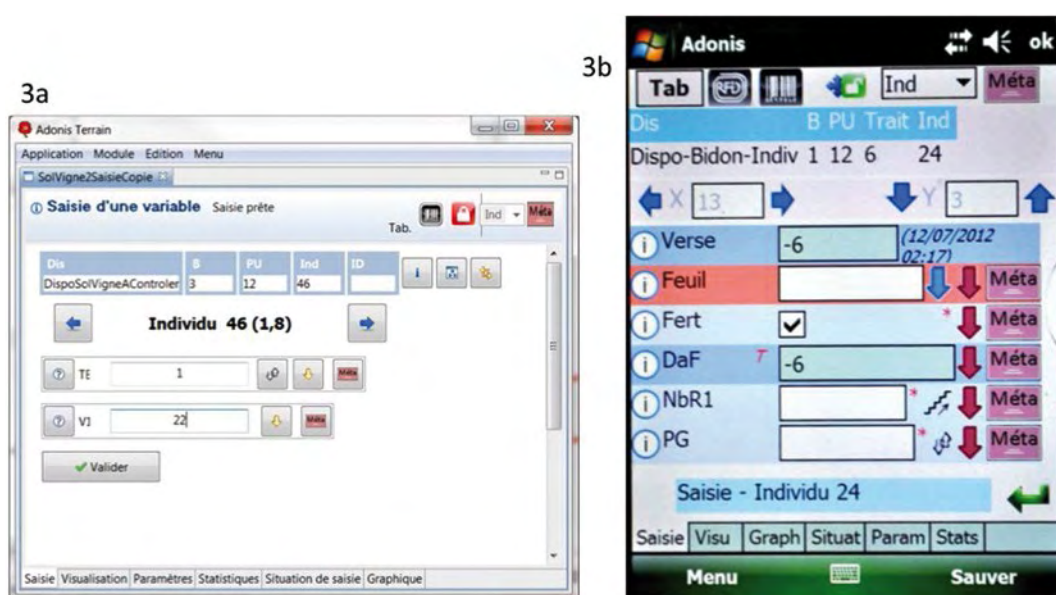


Figure 3. Illustration de l'interface de saisie d'« Adonis-Terrain » développée pour un Panasonic CFU1 (3a) et pour un Psion WorkAbout Pro3 (3b).

Pourquoi utiliser Adonis ?

Les avantages liés à l'utilisation d'Adonis sont de deux niveaux complémentaires :

tout d'abord, Adonis possède naturellement des fonctionnalités permettant de contribuer aux deux critères essentiels de la démarche qualité, à savoir : 1) la fiabilité des données produites et 2) la traçabilité de l'activité expérimentale.

✓ **Concernant la fiabilité** : Adonis, de fait, évite toutes les erreurs dues à la double saisie (saisie papier puis informatique) ; en cours de saisie, différents tests paramétrables pour chaque variable accompagnent l'opérateur pour éviter les erreurs de frappe sur le terminal portable ; le chemin préalablement programmé guide l'opérateur sur le terrain, et l'outil graphique permet à tout moment de valider son positionnement ; Adonis permet une identification par code (code à barres ou puce électronique) moyennant des appareils de lecture connectables ou intégrés à l'appareil de saisie ;



la gestion des données manquantes est prise en compte, avec la possibilité de les codifier, afin de distinguer les mesures impossibles à réaliser des mesures non réalisées.

✓ **Concernant la traçabilité** : les différentes opérations réalisées lors de l'utilisation d'Adonis sont éditables au travers de rapports. Ces rapports de synthèse sont à tout moment éditables, ils concernent le protocole, le dispositif, la plateforme, le projet de saisie, la saisie et les variables.

Ensuite, à un niveau différent, Adonis formalise l'expérimentation en accompagnant l'expérimentateur, de la conception du dispositif (à partir du protocole) jusqu'à la visualisation et l'exportation des données au bureau. Lors de ces différents temps, Adonis harmonise les pratiques d'expérimentation en proposant un vocabulaire, des méthodes, des formats de variables et de fichiers, communs à tous les utilisateurs. L'ensemble de ces éléments est centralisé dans l'application de manière cohérente grâce à l'utilisation d'une base de données. Grâce à ce formalisme et à cette harmonisation de méthode, Adonis contient à chaque instant, toutes les informations (protocole, dispositif, plate-forme, projet de saisie, saisie) facilement accessibles et compréhensibles par les expérimentateurs, tout en proposant de nombreuses fonctionnalités adaptées à leurs besoins. Ainsi, par exemple, l'application Adonis permet l'évolution de plusieurs notateurs sur une même plateforme, grâce à des droits d'accès différents attribués lors des saisies, et garantit donc la cohérence des données acquises. La standardisation des pratiques qu'offre Adonis permet de faciliter les échanges d'objets au sein des réseaux d'expérimentations (dispositifs expérimentaux, bibliothèques de variables, données brutes) et ouvre de nouvelles perspectives pour animer ces réseaux.

Adonis : un outil fonctionnel

Présentation du déploiement à l'INRA

Les chiffres clés du dispositif de formation déployé depuis septembre 2012 sont les suivants : 23 sessions de formations organisées, 214 personnes formées, provenant de 16 Centres INRA et de plus de 50 Unités. L'évaluation des formations et les retours d'enquêtes réalisées auprès des utilisateurs montrent une forte adéquation entre les attentes des expérimentateurs et les potentialités d'Adonis. Ils ont également souligné le fait qu'Adonis apparaît comme un outil complexe qui nécessite obligatoirement une formation avant de débiter. Pour certains, ce constat soulève des questions et des craintes (manque de temps à y consacrer, isolement, besoin d'accompagnement pour réaliser le changement de méthode, besoin d'engagement clair des commanditaires d'expérimentations...). Pour l'INRA, il était important de clairement identifier ces freins à l'utilisation d'Adonis pour pouvoir proposer des solutions d'accompagnement adaptées. Le séminaire Adonis organisé en mars 2014 a constitué la première action d'accompagnement des utilisateurs dans leur démarche d'appropriation de l'outil. Il a permis de définir les principales actions du dispositif d'accompagnement proposé à ce jour comme la mise en place du réseau de référents Adonis ou l'annuaire des utilisateurs, actions qui viennent compléter la palette d'outils déjà en fonction (Mantis, forum, site Web, site de téléchargement). Le site web Adonis hébergé sur le site de la CNUE permet de centraliser l'ensemble des accès aux outils déployés (site intranet : <https://cnue.pierroton.inra.fr/cnue/spip.php?page=adonis>).

L'analyse statistique du site de téléchargement permet de dresser un bilan de l'utilisation d'Adonis : celle-ci est en nette progression entre 2013 et 2014. Le nombre de connexions annuelles a augmenté de 47 %, passant de 3780 connexions comptabilisées en 2013 à 5578 en 2014 (soit une moyenne en 2014 de 465 connexions mensuelles). Trois départements scientifiques comptabilisent 97 % des connexions avec, respectivement, 50 %, 30 % et 13 % pour les départements BAP, EFPA et EA. Au total, 80 postes de travail informatique accédant à Adonis ont été répertoriés et sont répartis dans 36 Unités et 17 Centres INRA.

Trois « Adonis success-stories »

Au-delà de ce premier bilan du déploiement d'Adonis, voici trois exemples qui illustrent différentes démarches d'utilisateurs dans trois contextes différents : le premier concerne l'expérimentation en grandes cultures menée dans l'Unité expérimentale (UE) d'Epoisses, le second concerne l'expérimentation arboricole menée dans l'UE de Toulonne, et le troisième concerne l'expérimentation de systèmes de culture innovants conduite dans l'UMR AGIR¹⁰ à Auzeville.

1 - L'expérimentation en grandes cultures - UE d'Epoisses

L'acquisition de données informatisée au champ est en place sur l'UE depuis plus de 20 ans. Elle a été développée en interne dès 1991. En 2002, l'Unité fait l'acquisition d'un logiciel du commerce adapté à ses exigences. Impliquée dans le projet Adonis dès sa genèse et forte de son expérience en acquisition de données, l'Unité a su intégrer les exigences de l'expérimentation en grandes cultures dans le cahier des charges.

Début 2013, l'application commerciale n'étant plus maintenue et le matériel arrivant en fin de vie, c'est donc naturellement qu'Adonis a été déployé dans l'Unité à l'issue de la première vague de formation dont a fait partie l'ensemble des huit agents de l'équipe d'expérimentation. Dans le même temps, l'équipe s'est dotée de huit portables de terrain (six Workabout et deux CFU1) et de deux lecteurs de codes à barres. Il s'agissait d'être en mesure d'effectuer l'ensemble des observations de terrain et d'intégrer toute la chaîne d'acquisition des pesées embarquées (récoltes de fourrages et de maïs ensilage) et des pesées de sacs post-récolte. Après une première année d'appropriation de l'outil et d'adaptation, Adonis est utilisé en routine par l'ensemble des expérimentateurs sur l'ensemble des cultures. Chaque expérimentateur héberge l'application et sa base de données dans un répertoire partagé du serveur de l'Unité. Grâce aux différents profils d'utilisateurs, l'échange et le partage des dispositifs, projets de saisie et saisies en sont facilités. Les stagiaires sont rapidement rendus autonomes sur le terrain, dès lors que les expérimentateurs leur fournissent un projet de saisie préalablement conçu et chargé sur le portable de terrain.

Quelle que soit l'origine du plan d'expérience, le dispositif est créé à la fois sous Adonis et sous Statbox (logiciel d'analyse et de traitement statistique) avec un numéro de parcelle identique de façon à faciliter les échanges entre les deux applications. Ainsi toutes les données d'Adonis sont facilement exportables vers Statbox pour réaliser leur traitement statistique. Dans le cadre des expérimentations fourragères pluriannuelles, Adonis est utilisé pour toutes les acquisitions de données, notamment via les variables semi-automatiques qui permettent d'acquérir les masses parcellaires, depuis la pesée embarquée de la récolteuse jusqu'à la pesée des échantillons identifiés à l'aide de codes à barres. Pour ces expérimentations, l'identité de l'échantillon correspond à celle de la parcelle unitaire récoltée. Ainsi, dans ce cadre, la gestion mise en place permet de garantir la traçabilité de l'échantillon, depuis son prélèvement jusqu'aux données acquises. Durant la campagne 2013-2014, sur la vingtaine d'espèces de grande culture et l'ensemble des espèces fourragères, ce sont 40 420 données brutes au sein de 115 dispositifs qui ont été acquises à l'aide d'Adonis (**Figure 4**).

Après 2 années d'utilisation, Adonis est devenu l'outil central et incontournable pour conduire les activités d'expérimentation de l'UE. L'application permet de produire des données fiables et de qualité dans un format standardisé. Pour finir, ses fonctionnalités couvrent actuellement l'ensemble des exigences attendues. Les évolutions programmées permettront d'améliorer l'ergonomie et d'envisager de nouvelles applications.



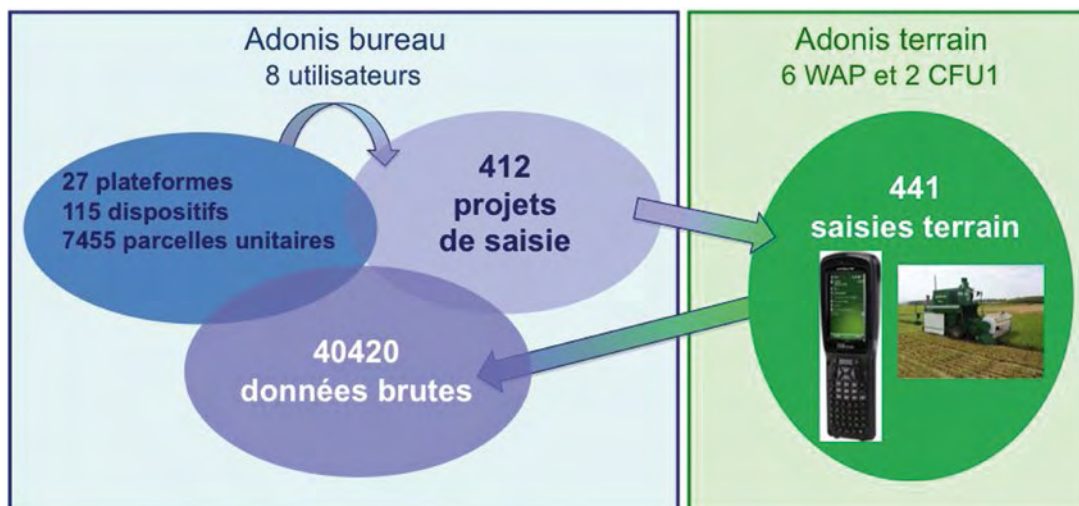


Figure 4. Utilisation d'Adonis dans l'Unité expérimentale d'Epouisses durant la campagne 2013-2014 concernant 19 espèces de grande culture et 20 espèces fourragères.

2 - L'expérimentation arboricole - UE de Toulence

L'UE de Toulence met en place et suit des expérimentations en arboriculture et en forêt. Le déploiement d'Adonis au sein de l'Unité a débuté en octobre 2012. Une réflexion générale a accompagné ce changement de pratique qui a abouti à une réorganisation de l'expérimentation (méthodes, matériels et équipements, animation). La campagne de notations de 2014, toutes espèces confondues, fut la première intégralement réalisée à l'aide d'Adonis. L'exemple développé ci-dessous illustre cette réorganisation.

Dans le cadre d'une expérimentation portant sur la caractérisation phénotypique d'une population de sélection de cerisier regroupant 249 arbres, différentes mesures ont été réalisées chaque année aussi bien sur les arbres (phénologie, développement, charge, récolte...) que sur des échantillons de cerises (qualité du fruit). Aux vues des fonctionnalités offertes par Adonis, l'identification à l'aide de codes à barres (QR codes) s'est imposée pour identifier les arbres au sein des dispositifs ainsi que les échantillons de fruit. Sur le terrain, au moment du prélèvement, le QR code de l'étiquette est scanné afin de renseigner les variables d'un premier projet de saisie regroupant les observations réalisées sur les arbres. Ensuite, l'étiquette est retirée de l'arbre puis associée à l'échantillon. Au laboratoire, l'échantillon est identifié en scannant de nouveau le QR code pour renseigner un second projet de saisie. Dans ce dispositif, la période d'observations et de prélèvements s'étale sur 3 à 4 semaines. Ce système d'étiquette permet un repérage visuel sur le terrain des arbres restant à prélever. Il permet de ne pas se préoccuper de l'identifiant de l'arbre afin de se focaliser sur la saisie de l'observation. La fiabilité des mesures en est accrue, notamment grâce à l'absence de double saisie (contrairement à l'utilisation du papier) ce qui induit donc un gain de temps non négligeable.

Au-delà de cet exemple correspondant à une utilisation sur un site expérimental, Adonis offre des atouts pour travailler en réseau. Le projet de recherche Perpheclim¹¹ est un projet du Méta-programme ACCAF¹², et vise à mettre en place les infrastructures nécessaires à l'observation, l'archivage et la modélisation de la phénologie des espèces pérennes (forêt, vigne, arboriculture). Le réseau de l'observatoire « fruit » comprend six Unités INRA dont l'UE arboricole de Toulence. Ce réseau intègre quatre espèces différentes (abricotier, cerisier, pêcher, pommier) et dans ce cadre, Adonis a été choisi comme logiciel d'acquisition des données. L'UE arboricole a organisé une journée de formation avec

11. Perpheclim, Evolution de la phénologie des espèces pérennes face au changement climatique, projet de l'action « Adaptation biodiversité ».

12. Méta-programme ACCAF, Adaptation de l'agriculture et de la forêt au changement climatique

les responsables de chaque site afin d'accompagner la mise en place du réseau d'expérimentations. Cette journée a permis de remettre à jour les connaissances de chacun, d'uniformiser la nomenclature des objets étudiés (facteurs, modalités, dispositif, plateforme) et de créer une bibliothèque de variables Adonis. Une deuxième journée a d'ailleurs été envisagée pour uniformiser les projets de saisie et pérenniser les échanges au sein du groupe.

Adonis contribue donc à la nécessité de fournir des données expérimentales fiables et uniformisées. De plus, c'est un vecteur essentiel pour accompagner et formaliser la structuration technique d'un réseau d'expérimentateurs car il implique d'échanger des objets, des compétences et un savoir-faire.

3 - L'expérimentation sur systèmes de culture innovants - UMR AGIR

L'UMR AGIR conduit des essais de systèmes de culture innovants depuis plus de 20 ans. L'essai actuel permet de comparer des prototypes de systèmes de grandes cultures économes en intrants, pensés pour répondre aux exigences d'Ecophyto 2018, et de limiter les fuites de nitrates en mobilisant les principes de l'agro-écologie. Trois rotations triennales sont comparées sur neuf parcelles de 6000 m², subdivisées en deux selon que l'on utilise ou pas des cultures intermédiaires. Les rotations étudiées contiennent des cultures pures, mais aussi des mélanges variétaux et des associations bispécifiques. L'essai, qui n'est donc ni factoriel, ni organisé selon un dispositif statistique en bloc, fait l'objet d'un suivi *via* des placettes (20 à 24 placettes réparties sur chaque parcelle) sur lesquelles le technicien réalise des notations de bioagresseurs (maladies, ravageurs, adventices) et des mesures (biomasses à différents stades, composantes du rendement).

Auparavant, ces données étaient acquises sur support papier (format libre ou *via* un masque de saisie pré-imprimé) et ressaisies par la suite sur Excel. Adonis permet dorénavant d'éviter cette double-saisie tout en conservant la flexibilité nécessaire sur le terrain. En effet, toutes les placettes ne sont pas concernées par toutes les mesures et il est impossible de savoir *a priori* ce qui est important de noter sur chacune d'elle. L'identification des objets mesurés est réalisée *via* des codes à barres sur le terrain (saisie sur WorkaboutPro avec lecteur de codes à barres intégré) ou au laboratoire lors des mesures sur les échantillons (saisie avec un ordinateur portable Windows connecté à un lecteur de codes à barres et à une balance). Adonis permet de réaliser l'ensemble des mesures sans exception en faisant appel, notamment, i) aux échelles de notations, ii) à des codes pour les noms des maladies et des ravageurs afin d'en faciliter leurs saisies, iii) et aux variables génératrices. Les variables génératrices sont utiles pour dénombrer, identifier et caractériser les différents éléments présents sur les placettes, ce qui est indispensable pour le suivi de ce type d'essai. Par exemple, cela permet de générer automatiquement, en fonction du nombre de maladies observées sur les placettes, les variables descriptives pour chacune d'elles telles que le nom de la maladie et son intensité d'attaque.

Adonis est désormais complètement intégré au suivi de cet essai, les fonctionnalités d'« Adonis-bureau » (plan, bibliothèque de variables) apportent un plus indéniable. La saisie des données est fiabilisée et un gain de temps est constaté. Des évolutions (variable avec liste déroulante notamment) ont été proposées au comité de pilotage d'Adonis afin d'améliorer l'ergonomie de l'outil et ainsi, permettre son utilisation dans des contextes plus complexes tels que des suivis botaniques.

Conclusion : mise en place de la communauté des utilisateurs

Adonis est l'illustration d'un projet ambitieux, long et qui a su mobiliser, durant près de 10 ans, un collectif provenant de tous les secteurs du végétal à l'INRA, en vue de l'élaboration d'un outil partagé. Ce projet original a été initié et conduit de manière collective par les personnes directement concernées et en attente de cet outil. Aujourd'hui, Adonis est disponible et fonctionnel. Son déploiement depuis

2 ans est encourageant et démontre que l'application développée répond aux attentes génériques des expérimentateurs de terrain. Le logiciel permet de fiabiliser et sécuriser la saisie de données à l'aide d'ordinateurs (ultraportables, portables, tablettes...) dans le cadre des expérimentations de terrain. Il permet aussi de formaliser la saisie, d'échanger sur des méthodes et des objets (dispositifs, variables, configurations de matériel), mais aussi de partager des compétences et des savoir-faire. Ce logiciel intègre les besoins génériques de la chaîne d'acquisition, depuis la conception du dispositif jusqu'à l'exportation de données brutes, pour une large gamme d'expérimentations. Et il se positionne en amont de projets structurants visant à concevoir des bases de données intégratives comme par exemple EPHESES¹³. Le fait de partager cet outil, permet d'envisager la constitution d'une communauté de pratiques entre les expérimentateurs de l'INRA.

Les résultats enregistrés en 2014 concernant le téléchargement d'Adonis et la diversité thématique et géographique de ses utilisateurs sont autant d'éléments encourageants. Les trois « success-stories » citées ci-dessus confirment la bonne adéquation de l'outil avec les attentes des expérimentateurs. Après une période d'adaptation et de prise en main, Adonis s'impose comme un outil fonctionnel et incontournable. Afin qu'Adonis devienne un outil de référence pour l'acquisition de données à l'INRA, les efforts concernant le projet portent actuellement sur deux axes distincts : le premier vise à faire évoluer en interne l'application (implémenter de nouvelles fonctionnalités et améliorer son ergonomie) ; le second axe concerne le renforcement de cette communauté naissante qui est fédérée autour de personnes proactives (animateurs, formateurs et référents) répartis sur de nombreux Centres INRA et qui forment autant de relais auprès des utilisateurs pour accompagner les changements de pratiques (Figure 5).

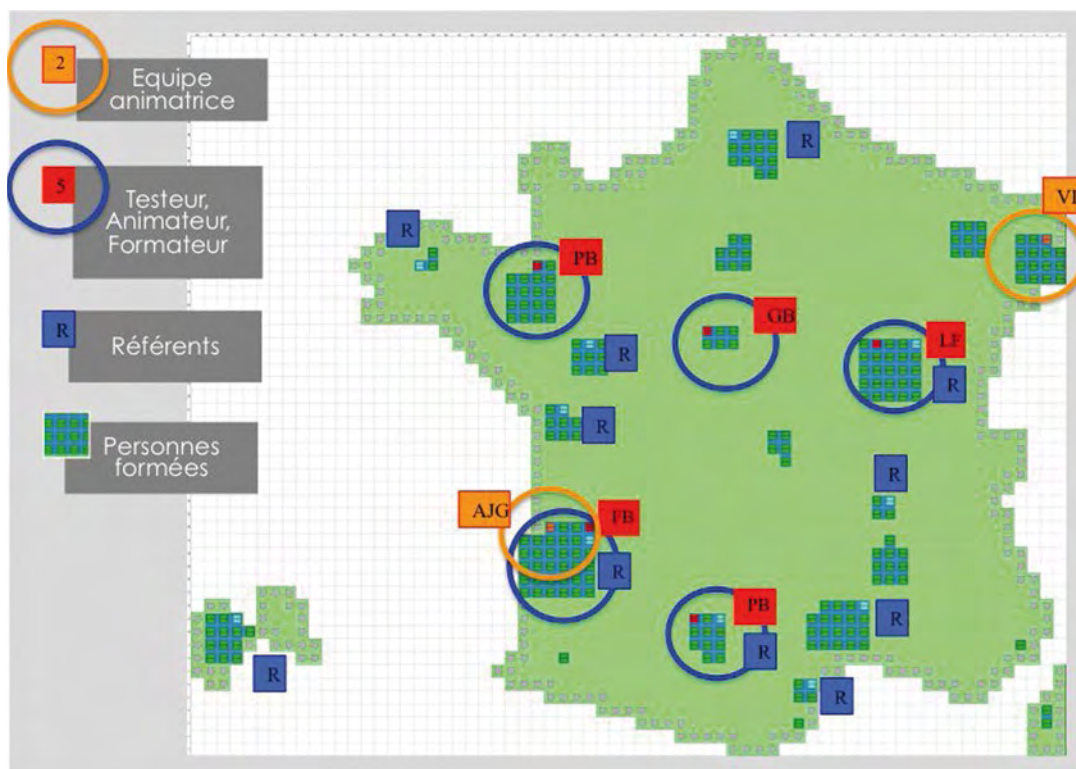


Figure 5. Répartition des différents acteurs du projet Adonis.

Références bibliographiques

ADONIS, Acquisition de données à l'INRA, logiciel INRA déployé depuis septembre 2012, dépôt à l'APP N° IDDN. FR.001.040034.000.R.P.2011.000.31235.

Clastre P, Lecomte A, Papelier S, Verger M (2009) Cahier des charges Adonis, Acquisition de données à l'INRA. 212 p.

Clastre P, Dumas V, Lecomte A, Verger M (2010) Adonis : un outil d'acquisition et de structuration de données issues d'expérimentations végétales à l'INRA. Journées de la Mesure et de la Métrologie. Nouan-le-Fuzelier, 11-14 octobre 2010. http://www7.inra.fr/j2m/fichiers/recueils/j2m_2010.pdf

Verger M (2006) Vers un système d'acquisition de données et métadonnées pour les plantes ou des ensembles de plantes repérés spatialement. Journées de la Mesure et de la Métrologie. Balaruc-les-Bains, 2006, 98-104.



Le Raspberry Pi : un nano-ordinateur au service de la science et de l'enseignement

Julien Cartailier¹, Richard Rocca-Poliméni¹

Résumé. Dans le cadre de la veille technologie au sein de l'équipe de recherche CALIPRO (construction de la qualité des aliments par la chimie et le procédé), membre de l'UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments (composée de cinq équipes basées principalement sur le site de Massy de l'école d'ingénieur AgroParisTech), plusieurs Raspberry Pi ont été achetés. Un Raspberry Pi est un nano-ordinateur qui nous a permis de développer différents dispositifs à faible coût (25€) et faible encombrement (taille d'une carte de crédit) autant pour la recherche scientifique que pour l'enseignement. Par exemple, il peut être utilisé comme centrale d'acquisition (tensions, courants, températures), ou système déporté pour le contrôle/commande et la visualisation de dispositifs expérimentaux, ainsi que comme client vocal pour les applications code-barres. L'intérêt de cet ordinateur repose principalement sur sa polyvalence, sa rapidité d'acquisition, ses possibilités d'interfaçage avec d'autres matériels ou cartes d'extension ainsi que sa capacité à être, au besoin, indépendant du réseau électrique et de l'Internet filaire (fonctionnement sur piles ou batteries grâce à sa faible consommation d'énergie, dispositif wifi, etc.).

Mots clés : instrumentation, nano-ordinateur, acquisition, interface

Introduction

Le Raspberry Pi est un nano-ordinateur monocarte caractérisé, entre autres, par une très petite taille et un faible coût (prix moyen suivant les versions : environ 30 €). Il a été créé par David Braben, dans le cadre de sa fondation Raspberry Pi, dans le but initial d'encourager l'apprentissage de la programmation informatique à l'école. Il est fourni nu (carte mère avec un processeur, une RAM et un port GPIO sans boîtier, ni alimentation, ni clavier, ni souris, ni écran) afin de diminuer au maximum les coûts et de permettre l'utilisation de matériel de récupération. Le 17 février 2015, la fondation annonçait avoir vendu plus de 5 millions de Raspberry Pi, tous modèles confondus.

Le Raspberry Pi

Caractéristiques techniques

Jusqu'en juillet 2014, les deux modèles principaux étaient le Raspberry Pi A (**Figure 1**) et le Raspberry Pi B (**Figure 2**) ayant les caractéristiques générales suivantes : un processeur ARM1176JZF-S de 700 MHz Broadcom, une RAM de 256 Mo pour le modèle A et 512 Mo pour le modèle B, une unité de lecture-écriture de carte mémoire, une carte graphique Broadcom VideoCore IV et une interface API logicielle vidéo (OpenGL). Les dimensions sont proches d'une carte de crédit (85,60 mm × 53,98 mm × 17 mm) pour une de 45 g voire même réduites pour le modèle A+ (65 mm × 53,98 mm × 17 mm ; masse : 23 g).

Les systèmes d'exploitation compatibles avec Raspberry Pi / ARM incluent diverses distributions Linux dont la version Debian dédiée et nommée Raspbian qui est celle que nous avons choisie d'utiliser.

1. INRA, UMR1145, Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech., Université Paris-Saclay, F - 91300 Massy, France
julien.cartailier@agroparistech.fr

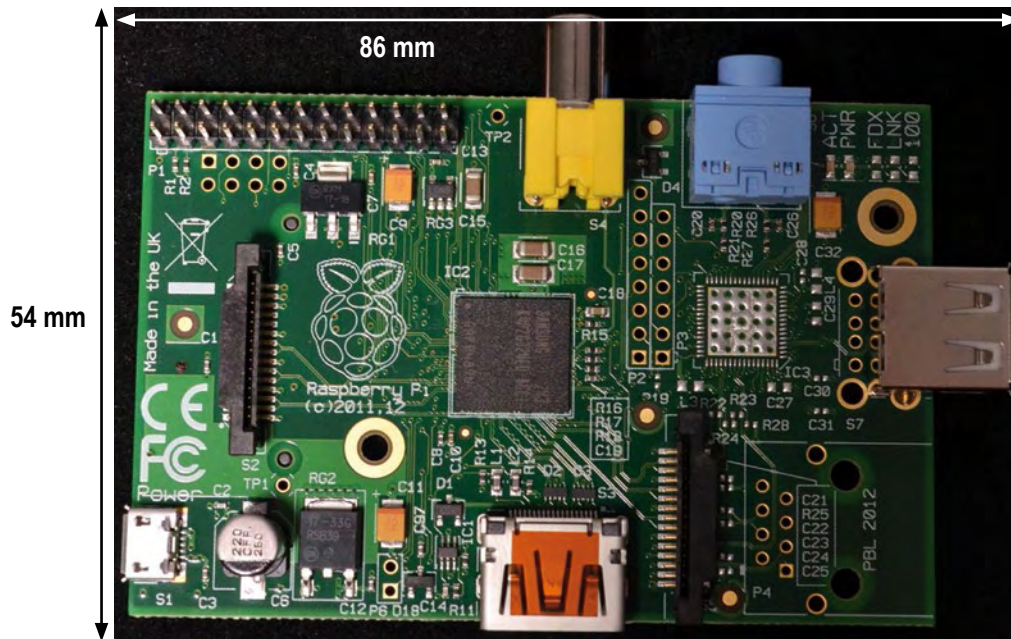


Figure 1. Photographie d'un Raspberry Pi modèle A.
Source : <http://www.raspberrypi.org/>

Les périphériques

Le modèle B (**Figure 2**), qui est le plus utilisé, dispose comme périphériques, de deux sorties vidéo (RCA et HDMI), d'une sortie audio, d'un lecteur de carte mémoire (SD), de deux ports USB (un seul pour le modèle A), d'un port réseau RJ45 (qui n'est pas présent pour le modèle A), et surtout de 26 broches entrées / sorties (GPIO) accessibles directement sur la carte mère.

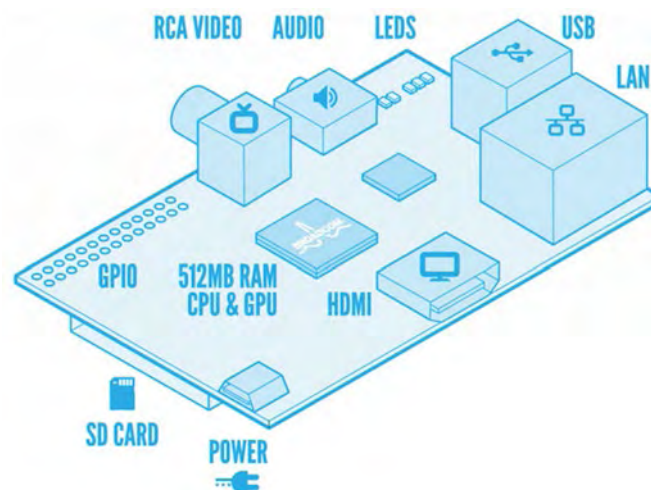


Figure 2. Schéma des périphériques du Raspberry Pi modèle B.
Source : <http://www.ipatx.eu/>



Le port GPIO

Le port GPIO (General purpose input/output) offre un accès direct à l'alimentation en 5 V ou 3,3 V (quatre broches + cinq broches de masse), la communication série synchrone (SPI et I²C), la communication série asynchrone (RS232) et à des entrées/sorties à usage général (huit broches) (**Figure 3**). Chacune de ces broches peut être configurée pour jouer le rôle d'une entrée (réception d'un signal) ou d'une sortie (émission d'un signal). En revanche, le GPIO ne peut traiter que des signaux numériques de 0 à 3,3 V. Pour le traitement d'un signal analogique, il faudra utiliser un convertisseur analogique numérique (CAN) comme le MCP3008 par exemple.

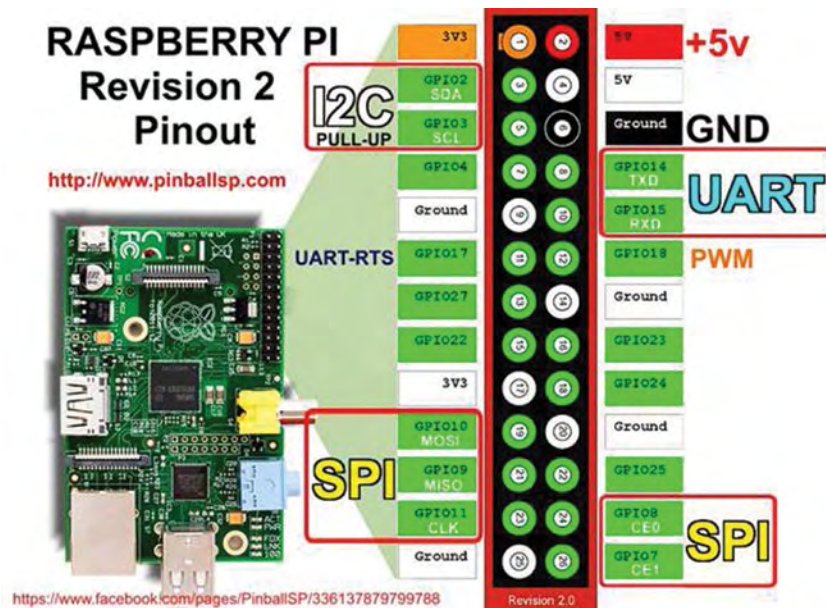


Figure 3. Configuration des entrées / sorties du Raspberry Pi modèle B.
Source : <http://www.pinballsp.com/>

Les intérêts scientifiques

Le premier intérêt scientifique du Raspberry Pi réside dans le fait que le Raspberry Pi est un vrai ordinateur : donc, en plus des capteurs physiques connectables, il est possible de rajouter des capteurs logiciels aussi complexes que nécessaires car la capacité de calcul du Raspberry Pi est assez grande. De plus, il peut faire des opérations purement informatiques comme des mails, et récupérer des informations sur le réseau. Enfin, on peut ajouter des périphériques grâce aux ports USB intégrés sur la carte.

Le deuxième intérêt scientifique est sa rapidité d'acquisition : pour la vérifier, nous avons mesuré la tension de réseau électrique 50 Hz avec un convertisseur 220 V – 3 V redressé (**Figure 4**). Six mille points par seconde ont été acquis soit une période de 166 μ s. Sur la courbe, nous remarquons que les points sont bien répartis, excepté à un endroit dû au fait que le Raspberry Pi réalise d'autres tâches en même temps. Pour régler ce problème il existe des systèmes d'exploitation « temps réel ».

De plus, la consommation d'énergie d'un Raspberry Pi est très faible. En effet, sa puissance est au maximum de 5 W. Nous avons d'ailleurs réussi, en enlevant les périphériques, à réduire l'intensité jusqu'à 600 mA, en alimentant le Raspberry Pi en 3,3 V en passant directement par le GPIO. Ainsi, sa consommation minimale est de 2 W.

Pour finir, sa faible consommation lui permet d'être indépendant du réseau électrique, mais aussi, du réseau Internet filaire grâce à un dongle wifi ou une clé 3G.

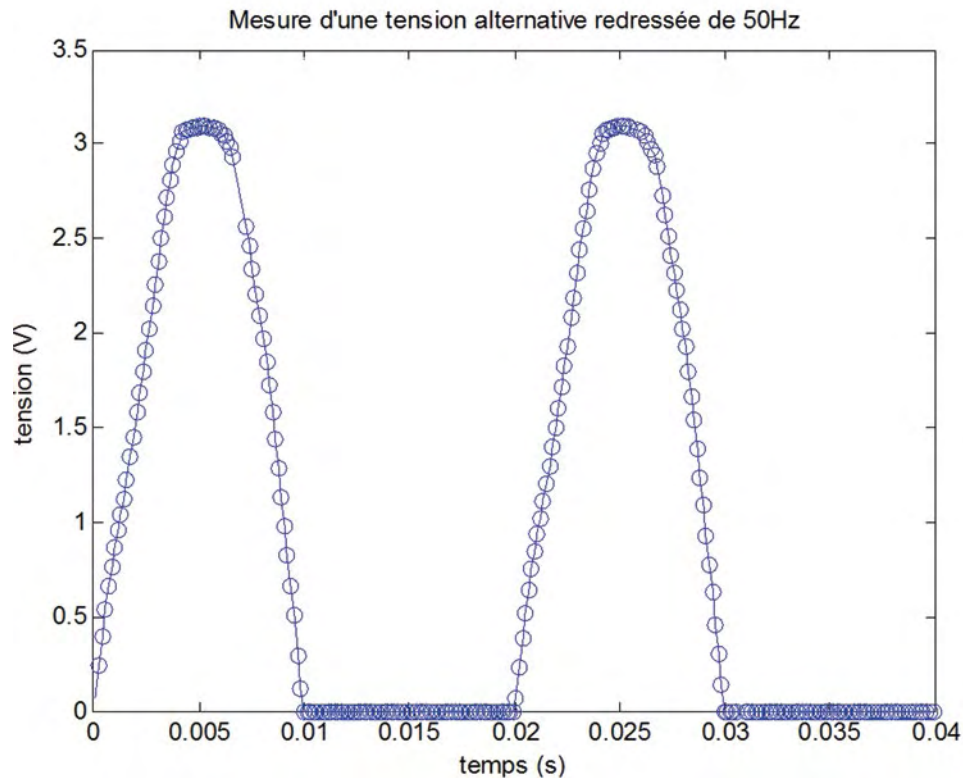


Figure 4. Courbe d'acquisition d'une tension alternative de 50 Hz redressée sur le MPC3008.

Exemples d'applications

Une centrale d'acquisition économique

Pour l'acquisition de signaux analogiques, nous avons utilisé un convertisseur numérique / analogique (CNA) : le MCP3008. Ce composant utilise quatre broches de communication série synchrone SPI du Raspberry Pi et lui rajoute huit entrées analogiques. La résolution est alors de 10 bits (cependant il existe des convertisseurs à 16 bits tel que le AD7706).

Pour utiliser facilement le Raspberry Pi comme une centrale à bas coût, nous avons fait créer des cartes électroniques prototypes sur lesquelles nous n'avons plus qu'à brancher nos capteurs analogiques (**Figure 5**). Le coût total revient alors à environ 50 € (Raspberry Pi : 25 €, MCP3008 : 5 €, platine : 15 €).

En parallèle nous avons développé des clients en langage TCL (tool command language) (voir § ci-après) pour visualiser à distance les mesures des capteurs sur n'importe quel ordinateur relié au Raspberry Pi via le réseau. Nous avons utilisé ce dispositif pour remplacer, par exemple, une solution d'acquisition NI (national instrument) de surveillance de chambres froides avec des sondes platines Pt100, ou pour récupérer le signal 0 – 5 V d'un pH-mètre.



Le Raspberry Pi comme un ordinateur

Le Raspberry Pi peut être utilisé comme un ordinateur peu encombrant et économique pour acquérir les données d'une centrale reliée par un câble RS232 ou directement par une prise Ethernet. Dans le cas d'une communication RS232, comme le Raspberry Pi ne dispose que d'une connexion « RS232 logiciel » via son port GPIO, nous avons développé une platine qui fait la conversion RS232 matériel/RS232 logiciel (**Figure 6**) à l'aide d'un convertisseur MAX3232. Le coût de mise en place est d'environ 50 € (Raspberry Pi : 25 €, MAX 3232CPE : 5 €, platine : 15 €). Cette application a été très utilisée pour surveiller des expérimentations à distance comme le suivi des températures et des flux dans un four domestique pendant la cuisson de pâtes alimentaires.

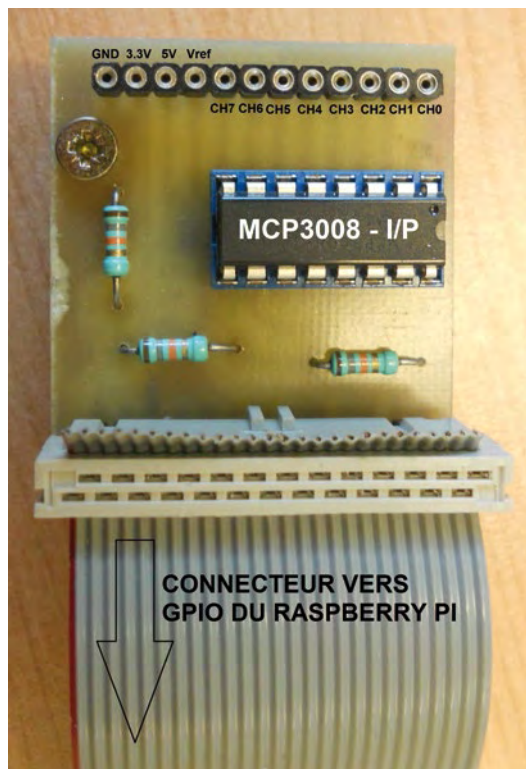


Figure 5. Platine de connexion entre le Raspberry Pi et les capteurs (photo : J. Cartailier).



Figure 6. Platine de connexion entre le Raspberry Pi et une centrale d'acquisition (photo : J. Cartailier).

La **Figure 7** présente une platine complète combinant les usages décrits ci-dessus et attribuant donc au Raspberry Pi une connexion « RS232 matériel » et huit entrées analogiques.

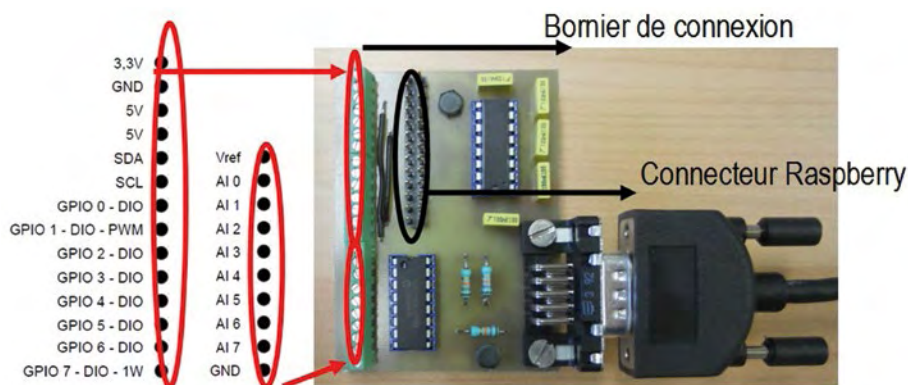


Figure 7. Platine complexe pour le Raspberry Pi (photo : J. Cartailier).

Clients vocaux de scannage de code-barres

Grâce au Raspberry Pi, sa sortie son et ses ports USB, nous avons pu miniaturiser les clients vocaux de notre application de gestion de produits chimiques décrite dans une précédente publication (Cartailier et Rocca-Poliméni, 2013).

Application pour travaux pratiques sur la régulation

Cette application a été développée pour des travaux pratiques sur la régulation, inclus dans le cursus de formation des ingénieurs d'AgroParisTech (Figure 8). Il s'agit d'une platine comportant une résistance parcourue par un courant constant collée à un capteur de température, et un ventilateur qui permet la régulation de la température. On utilise la fonction PWM (pulse width modulation) du GPIO du Raspberry Pi pour commander la vitesse du ventilateur. Le capteur est un capteur numérique 1-Wire (réf : DS18B20) relié directement au GPIO et dont le signal est converti de façon logicielle par le Raspberry Pi pour obtenir la valeur en température.

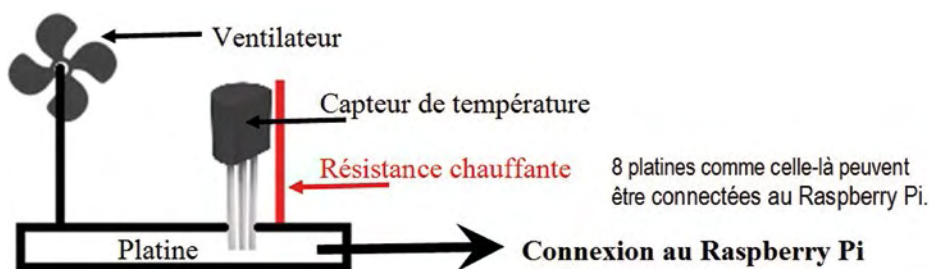


Figure 8. Schéma de fonctionnement de l'application des TP régulation.

Clients développés

Lorsqu'un Raspberry Pi est utilisé pour acquérir des données, il est complètement autonome pour cette tâche. Pour cela, il utilise un programme d'acquisition unique (voir ci-dessous) développé en interne et paramétré par un fichier de configuration lié au dispositif d'acquisition. Ce fichier de configuration inclut, par ailleurs, les coefficients d'étalonnage.



Client acquisition

Le client acquisition (**Figure 9**) qui se trouve sur le Raspberry Pi réalise les tâches essentielles d'une centrale d'acquisition, c'est-à-dire qu'il envoie les instructions nécessaires et reçoit les données souhaitées suivant le fichier de configuration fixant la fréquence d'acquisition. Il stocke ces données dans sa mémoire et enfin, il met à disposition ces données via son serveur web aux clients déportés.

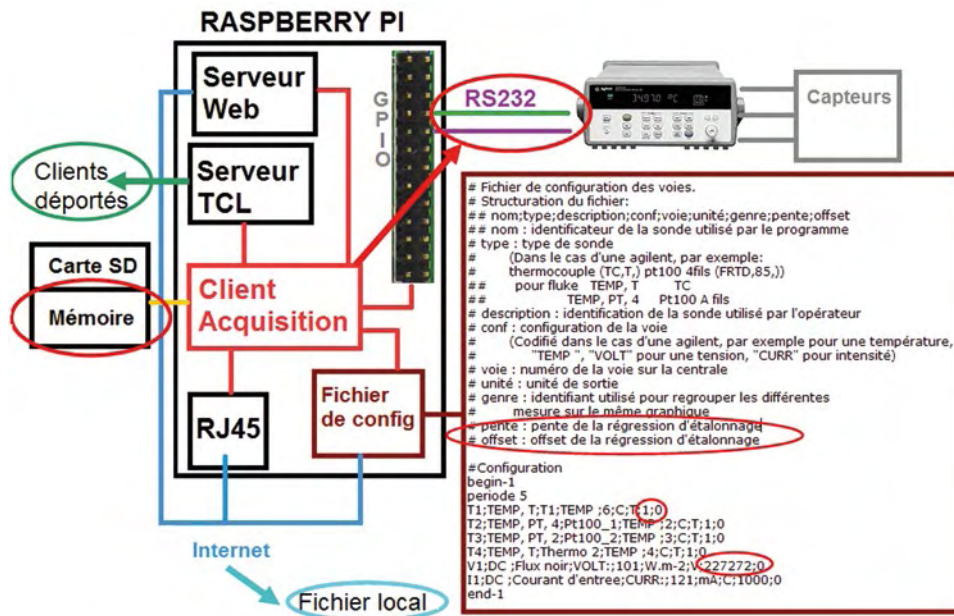


Figure 9. Schéma de fonctionnement du client acquisition.

Client visualisation

Le client visualisation (**Figure 10**) permet quant à lui de visualiser les valeurs d'une expérience en cours, de manière déportée (c'est-à-dire sur un ordinateur relié au Raspberry Pi par le réseau). Il est composé de trois groupes de fenêtres. La première, nommée « Acquisition », permet de lancer l'expérience, de l'arrêter mais aussi de quitter le client sans arrêter l'expérience et de mettre à jour les données. La deuxième est composée des dernières valeurs instantanées relevées et des calculs effectués par le Raspberry Pi, en fonction de son fichier de configuration. La troisième sert à visualiser le ou les graphiques triés par type de mesure (température, flux...) suivant le fichier de configuration et représentant toutes les valeurs stockées dans la mémoire du Raspberry Pi. Les graphiques sont ainsi réalisés localement, ce qui permet de ne pas saturer la mémoire du Raspberry Pi. Toutes les valeurs sont enregistrées sur le Raspberry Pi et consultables via le web à l'adresse donnée sur la fenêtre « Acquisition ».

Le client de visualisation peut comporter d'autres boutons sur sa fenêtre « Acquisition » dans le cas d'expériences nécessitant des systèmes de contrôles/commandes plus avancés (exemple TP sur la régulation cf. § ci-dessus).

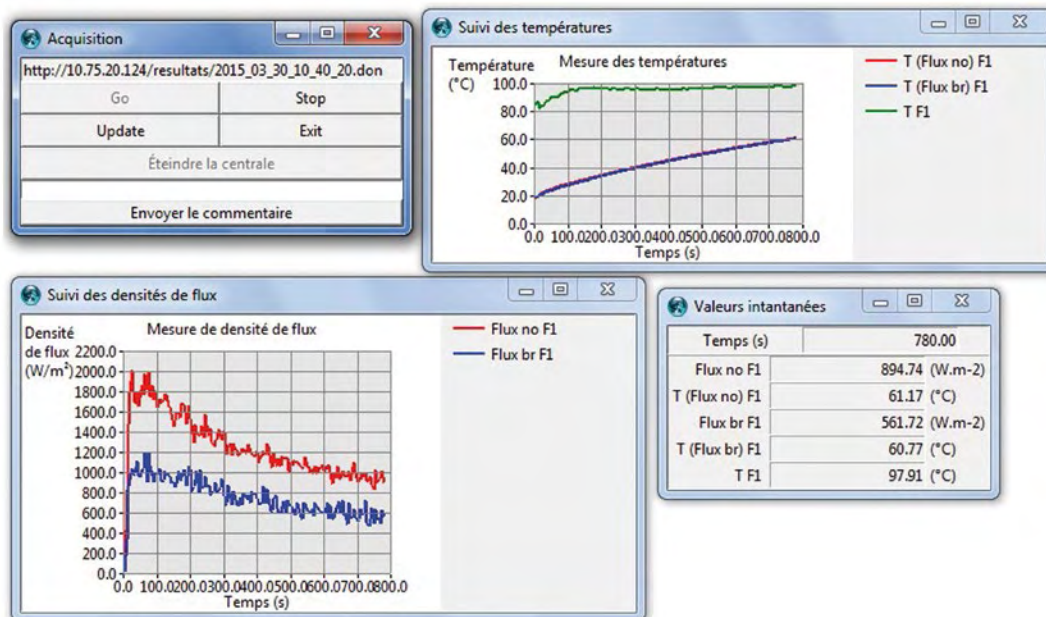


Figure 10. Fenêtres du client visualisation.

Conclusion et perspectives

Nous disposons d'environ 20 Raspberry Pi en fonctionnement dans l'école pour plusieurs utilisations dont principalement :

- ✓ quatre travaux pratiques du cursus ingénieur,
- ✓ la surveillance des chambres froides (-20°C et 4°C),
- ✓ la gestion des produits chimiques par système code-barres,
- ✓ un dispositif de contrôle des pipettes,
- ✓ plusieurs dispositifs pour la recherche : mesure de température dans des produits céréaliers pendant la cuisson dans un four industriel, mesure de flux thermique dans un four de cuisson et dans un dispositif de cuisson par contact, récupération des données de plusieurs pH-mètres en ligne.

A l'avenir, nous souhaitons développer l'aspect sans fil du Raspberry Pi, en remplaçant le wifi par un téléphone portable avec l'envoi de SMS pour des alertes et également l'envoi de données par GPRS ou 3G.

La deuxième évolution à court terme est de remplacer le Raspberry Pi B par le modèle B+ qui possède un port GPIO étendu à 40 broches (pour 16 entrées/sorties numériques) et quatre ports USB au lieu de deux (**Figure 11**). Par ailleurs, son alimentation a été améliorée, ce qui lui permet de consommer encore moins d'énergie et d'être plus stable.

Enfin, nous avons le projet de développer une centrale embarquée pour mesurer des flux de chaleur en ligne dans un four de cuisson industriel : pour ceci nous allons utiliser un Raspberry Pi alimenté par des piles et relié à une centrale d'acquisition TC-08 de chez Pico Technology. Les données seront sauvegardées sur la carte SD ce qui permettra de le rendre autonome. De plus, nous allons utiliser un bouclier thermique pour protéger le Raspberry Pi ainsi que la centrale durant la cuisson qui dure environ 1 h.



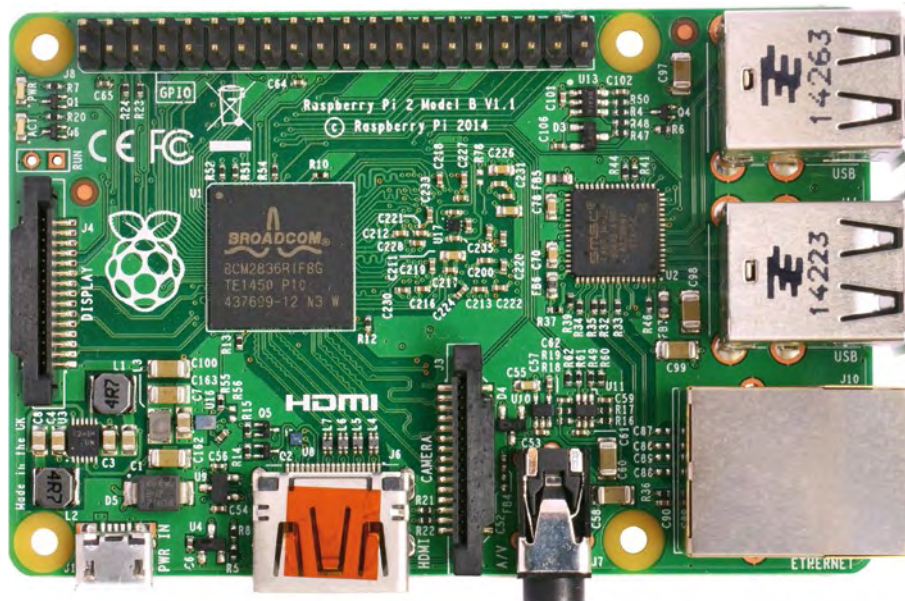


Figure 11. Photo d'un Raspberry Pi modèle B+.
Source : <http://en.wikipedia.org/>

Références bibliographiques

Cartailler J, Rocca-Poliméni R (2013) Mise en place d'une gestion de produits chimiques par code-barres. *Le Cahier des Techniques de l'INRA* 80 : n°3.

Annexe

Il existe au sein de l'INRA une grande variété de communautés de pratique et de réseaux métiers plus ou moins transversaux (Département /inter Départements/ouverts à l'externe), qui permettent l'échange de savoir-faire et l'amélioration des pratiques.

Parmi ceux-là, le réseau « Mesure et Métrologie » s'adresse à un public de concepteurs, développeurs, adaptateurs, utilisateurs, mesureurs et métrologues, qu'ils soient techniciens, ingénieurs ou chercheurs.

Ce réseau regroupe plus de 350 membres à ce jour, majoritairement INRA mais inclut également 15 % d'agents extérieurs (Université, CNRS, CIRAD, INRIA, industriels). Il est soutenu par de nombreux Départements Scientifiques (EA, CEPIA, EFPA ...), par la Délégation à la Qualité et par la Formation Permanente Nationale, au travers des rencontres organisées tous les 2 ans : les « Journées de la Mesure et de la Métrologie » (J2M).

Ces Journées, où plus d'une centaine de membres se retrouvent, sont organisées depuis 1990 et ont pour ambition de mutualiser les expériences, de générer l'entraide, de valoriser le savoir-faire et d'assurer une veille technologique. Elles permettent aussi d'impulser des collaborations et de susciter l'innovation.

Les sujets qui y sont abordés traitent des dispositifs de mesure mis au point au sein de l'INRA - et de la métrologie qui y est associée - comme les prototypes, les dispositifs complexes (assemblage), les montages électroniques, les systèmes d'acquisition, la mise au point de méthodes et le développement d'outils informatiques. Les thématiques scientifiques concernées portent sur le végétal, l'environnement, l'animal mais aussi sur l'humain.

Ces journées sont pilotées par un Comité permanent composé actuellement de six personnes (Christophe Garin, Patrick Gross, Jacques Maratray, Dalila Mohrath, Christophe Montaurier et Robert Pujol).

Il s'appuie sur un Comité local de volontaires dans chaque Centre INRA pour l'organisation et la logistique.

Le réseau bénéficie aussi de trois supports de communication :

- ✓ un site internet dédié <http://www.inra.fr/j2m>
- ✓ une liste de diffusion,
- ✓ ainsi que les recueils des présentations dont toutes les éditions depuis 1990 sont disponibles sur le site web.

Les prochaines J2M sont organisées par le Centre INRA Val de Loire (du 10 au 13 octobre 2016).



Passage de témoin entre le comité local d'organisation de Lille (2014) et Val de Loire (2016).



LES J2M EN PHOTOS



125 participants en 2012, Le Croisic, Centre organisateur Nantes-Angers

EXPOSÉS EN SÉANCE PLÉNIÈRE



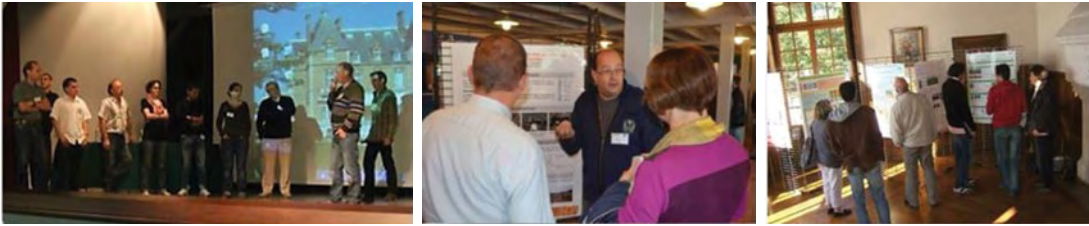
26 exposés en 2014, Centre organisateur Nord-Picardie-Champagne

INTERVENTIONS SPÉCIFIQUES



Chef de Département, Président de Centre, Délégation à la Qualité, Cahier des Techniques, Propriété Intellectuelle (et partenaires privés)

SÉANCES POSTERS



Présentation orale des posters, 19 posters en 2014

DÉMONSTRATIONS ET STANDS INDUSTRIELS



7 stands industriels en 2014

COMITÉS D'ORGANISATION



Comité permanent des J2M et comités locaux d'organisation, réunion préparatoire, présentation du bilan chiffré



Index des auteurs

<i>Algaba H.</i> ,.....	91	<i>Hummel I.</i> ,	75
<i>Alletru D.</i> ,.....	138	<i>Huteau D.</i> ,.....	46
<i>Angénieux M.</i> ,	107	<i>Jacques Gustave A.</i> ,.....	138
<i>Azam D.</i> ,.....	46	<i>Kasbari M.</i> ,.....	30
<i>Bénard A.</i> ,.....	75	<i>Le Thiec D.</i> ,	75
<i>Bernard A.</i> ,.....	138	<i>Leroux B.</i> ,.....	30
<i>Bernier F.</i> ,.....	138	<i>Maratray J.</i> ,.....	59
<i>Bertin P.</i> ,.....	138	<i>Marchand F.</i> ,.....	46
<i>Bobillier E.</i> ,.....	84	<i>Marquis M.</i> ,.....	91
<i>Bodineau G.</i> ,	138	<i>Marze S.</i> ,.....	91
<i>Bogeat Triboulot M.B.</i> ,	75	<i>Mielle P.</i> ,.....	59
<i>Brendel O.</i> ,.....	75	<i>Montaurier C.</i> ,	98
<i>Buré C.</i> ,.....	75	<i>Pallut R.</i> ,.....	7
<i>Burger P.</i> ,	138	<i>Parmentier J.</i> ,.....	138
<i>Cartailler J.</i> ,	148	<i>Perez M.</i> ,.....	107
<i>Colosse D.</i> ,.....	69	<i>Perrot C.</i> ,	115
<i>Combes D.</i> ,.....	115, 126	<i>Rabot E.</i> ,.....	69
<i>Cousin I.</i> ,	69	<i>Radnai F.</i> ,.....	75
<i>Di Piéto L.</i> ,.....	7	<i>Raffailac D.</i> ,.....	138
<i>Doussan C.</i> ,.....	7	<i>Rivière G.</i> ,.....	91
<i>Dumas V.</i> ,.....	138	<i>Rocca Poliméni R.</i> ,	148
<i>Emorine M.</i> ,	59	<i>Roy E.</i> ,	126
<i>Eprincharde A.</i> ,	126	<i>Ruy S.</i> ,	7
<i>Falchetto L.</i> ,.....	138	<i>Sacré B.</i> ,.....	46
<i>Frak E.</i> ,.....	115, 126	<i>Septier C.</i> ,.....	59
<i>Gaudu J.C.</i> ,.....	7	<i>Tison F.</i> ,	7
<i>Giot G.</i> ,.....	69	<i>Tremblay J.</i> ,	46
<i>Gross P.</i> ,.....	36, 75		



Table des matières

Avant-propos

M. Axelos, G. Richard

/ p. 3

Développement et mise au point de dispositifs expérimentaux dédiés aux mesures en conditions réelles

Au champ

Mesure de débit sur un lysimètre en milieu agricole à sol non remanié

F. Tison, J.-C. Gaudu, R. Pallut, S. Ruy, C. Doussan, L. Di Piédro

/ p. 7

Méthodologie pour l'usage d'un drone de catégorie E pour la détection de la flavescence dorée

M. Kasbari, B. Leroux

/ p. 30

En forêt

Dispositif de mesure des profils verticaux de CO₂ et de vapeur d'eau en forêt, avec étalonnage automatique de l'analyseur IRGA

P. Gross

/ p. 36

En rivière

Système RFID de détection automatique de poissons

B. Sacré, J. Tremblay, D. Azam, F. Marchand, D. Huteau

/ p. 46

Sur l'humain

Vous mangez trop salé !

P. Mielle, M. Emorine, C. Septier, J. Maratray

/ p. 59

Développement et mise au point de dispositifs expérimentaux dédiés aux mesures en conditions contrôlées

Pour l'étude du sol

Conception d'un système de contrôle de la dynamique hydrique d'échantillons de sol couplé à la mesure des émissions de protoxyde d'azote

E. Rabot, G. Giot, D. Colosse, I. Cousin

/ p. 69

Pour l'étude des plantes

Un automate d'irrigation contrôle la sécheresse et quantifie la transpiration chez de jeunes arbres

C. Buré, A. Bénard, M.-B. Bogeat-Triboulot, O. Brendel, P. Gross, I. Hummel, D. le Thiec, F. Radnai

/ p. 75

Pour l'étude animale

Outils et exemples d'utilisation autour d'un imageur TEP dans la compréhension de la prise alimentaire chez le porc

E. Bobillier

/ p. 84

Développement d'un microdigesteur pour le suivi de la digestion gastro-intestinale de gouttes d'huile isolées

M. Marquis, G. Rivière, H. Algaba, S. Marze

/ p. 91

Pour l'étude concernant l'humain

Chambres calorimétriques pour l'homme et analyse de gaz

C. Montaurier

/ p. 98



Etalonnage d'un système de suivi en ligne pour la quantification des composés d'arômes en fermentation alcoolique par chromatographie en phase gazeuse

M. Angénieux, M. Perez

/ p. 107

Logiciels et systèmes d'acquisition et de traitement de données

Logiciels

GRAPHE : un logiciel de visualisation de données horodatées sur un graphique 2D

C. Perrot, D. Combes, E. Frak

/ p. 115

Qua²Ray : quantité et qualité du rayonnement ; logiciel d'analyse du rayonnement lumineux

E. Roy, A. Eprinchard, E. Frak, D. Combes

/ p. 126

Systèmes

Adonis, un outil INRA d'acquisition de données. Premier bilan de son déploiement

V. Dumas, D. Alletru, A. Bernard, F. Bernier, P. Bertin, G. Bodineau, P. Burger, L. Falchetto, A. Jacques-Gustave, J. Parmentier, D. Raffaillac

/ p. 138

Le Raspberry Pi : un nano-ordinateur au service de la science et de l'enseignement

J. Cartailier, R. Rocca-Poliméni

/ p. 148

Annexe

/ p. 157

