

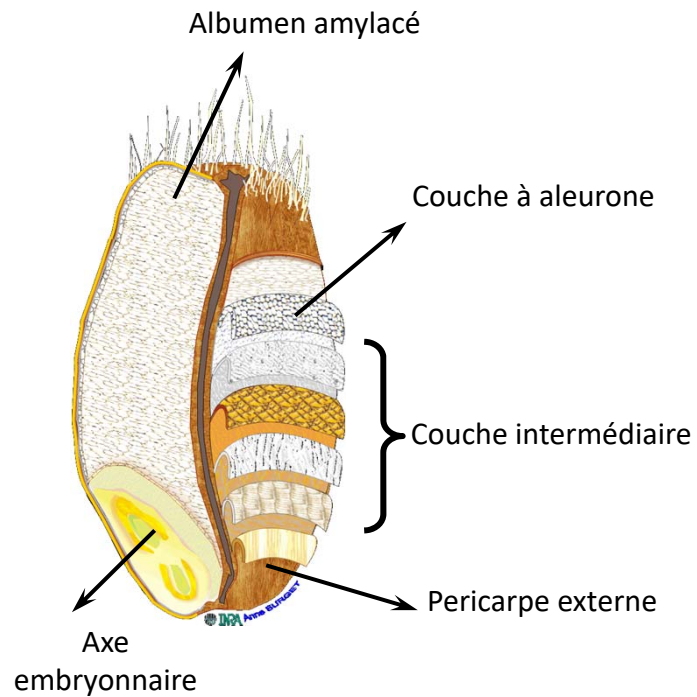
# Suivi du devenir des tissus du grain de blé au cours du fractionnement : des marqueurs biochimiques à l'imagerie multispectrale

Barron C. , Lullien-Pellerin V.  
Guillon F., Devaux M.F.



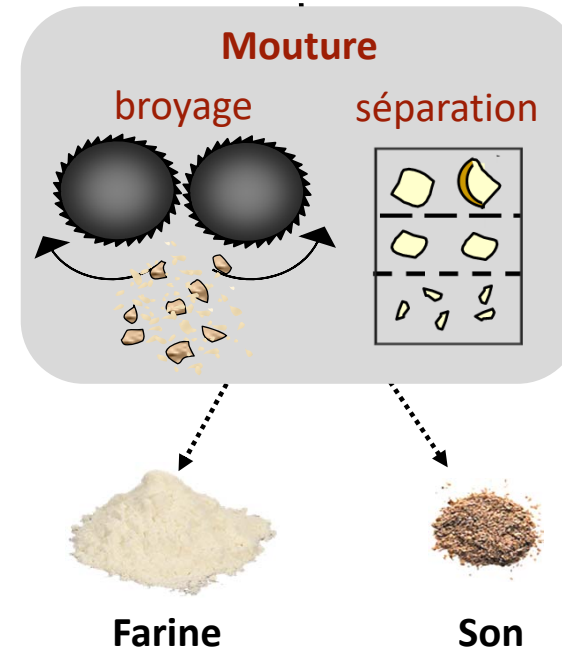
# Du grain à la farine : une séparation à l'échelle tissulaire

## Le grain de blé



Hétérogénéité  
structure / composition

## La mouture



albumen amylicé  
contaminé par enveloppes

% cendres

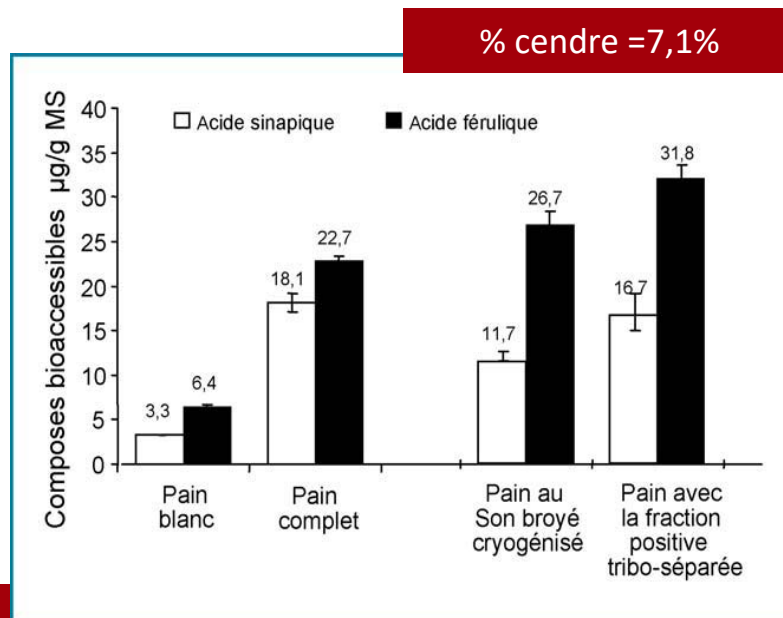
enveloppes + albumen  
amylicé adhérent

# Des caractérisations plus en lien avec l'échelle de dissociation...

... pour établir le lien avec les propriétés fonctionnelles

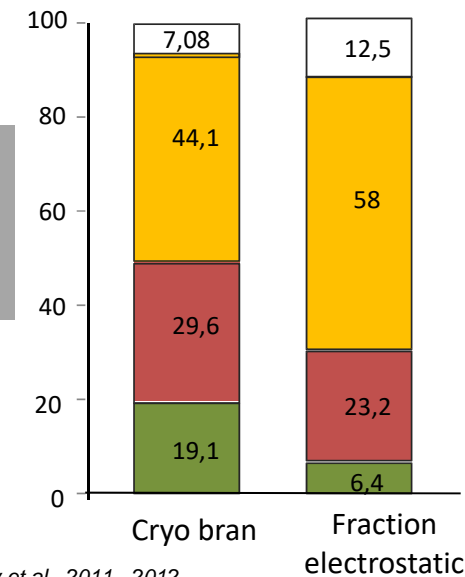
Caractérisations conventionnelles : Taille des particules, Teneur en cendre

Des pains avec des teneurs en cendre similaires mais provenant de fractions différentes n'ont pas les mêmes propriétés nutritionnelles



Lien avec la composition en tissus...

%starchy endosperm   
  %Intermediate layer  
 %Aleurone layer   
  %Outer pericarp

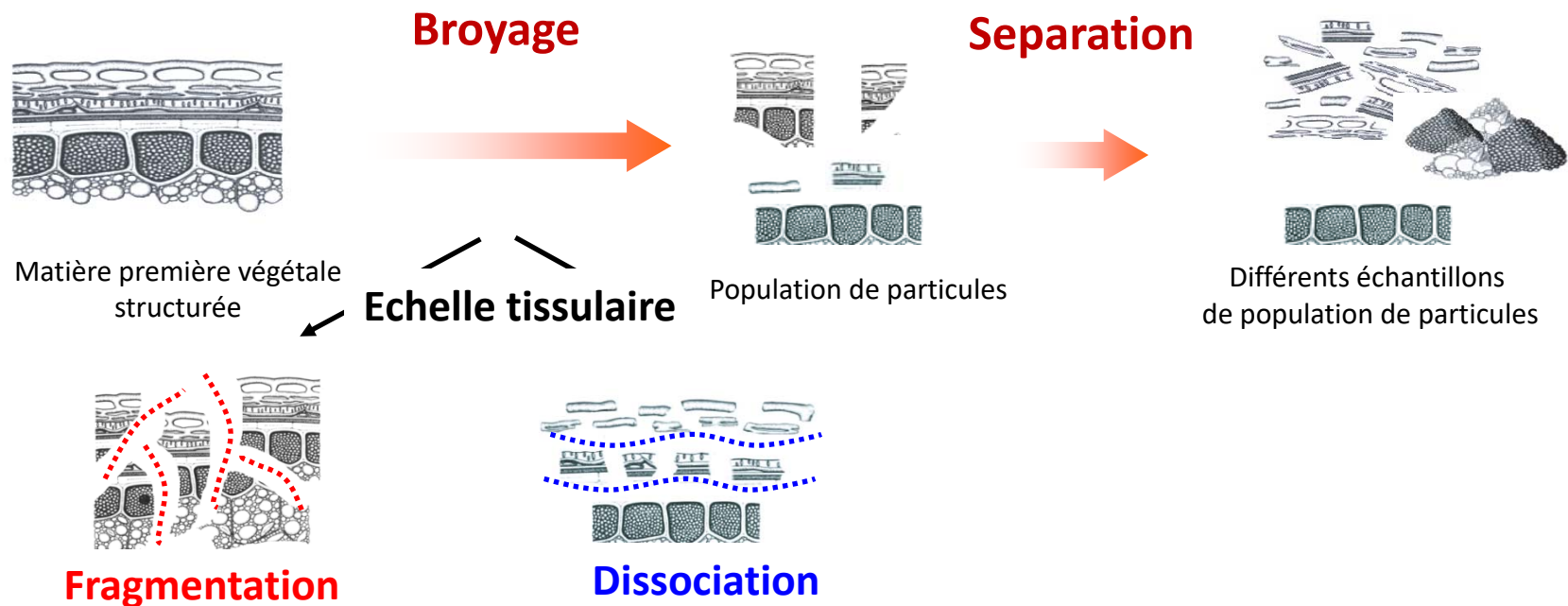


Hemery et al., 2011., 2012

# Des caractérisations plus en lien avec l'échelle de dissociation...

... pour mieux piloter les procédés de fractionnement

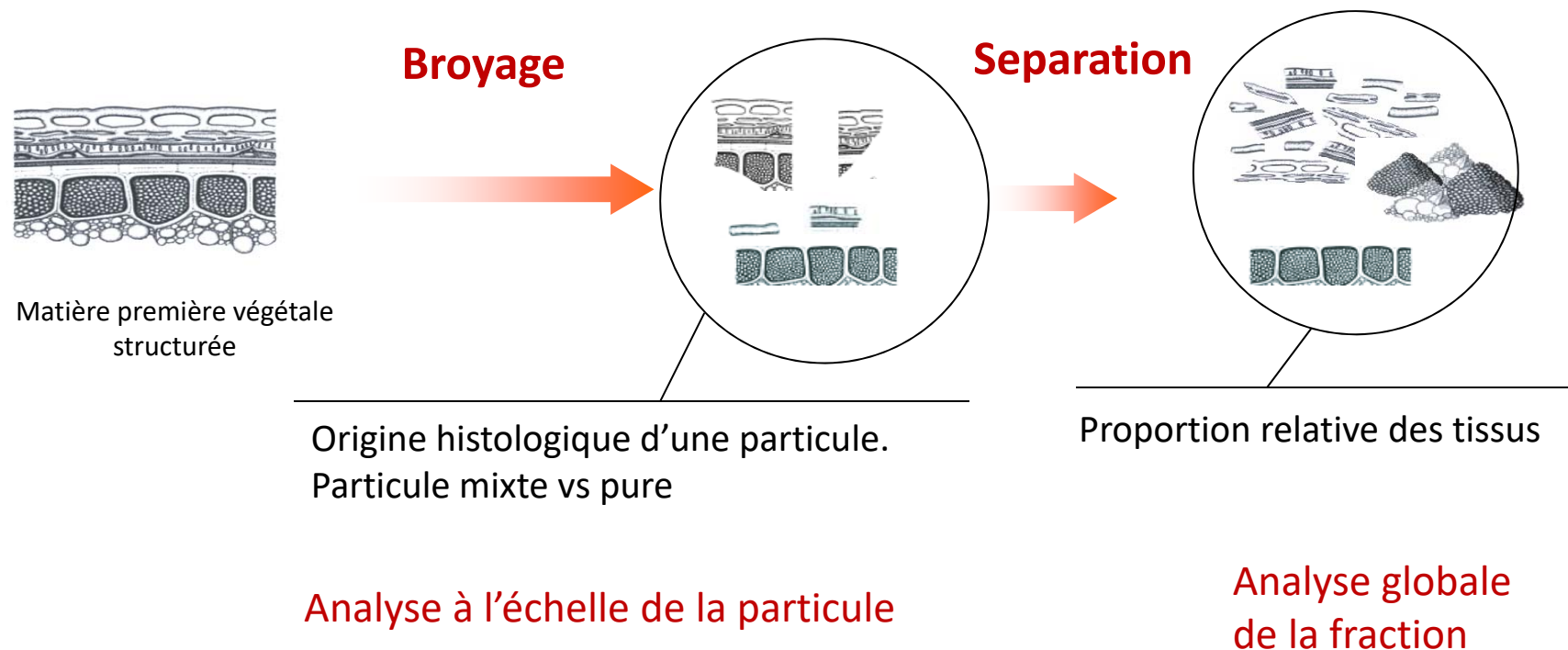
évaluer l'état de dissociation obtenu par broyage



# Des caractérisations plus en lien avec l'échelle de dissociation...

... pour mieux piloter les procédés de fractionnement

évaluer l'état de dissociation obtenu par broyage



# Evaluation de la composition histologique de fractions technologiques

✓ S'appuie sur une connaissance de la structure de l'objet à fractionner

✓ Réduction de la notion de tissu à une composition

Hypothèse :

composition non affectée par process

$$\% \text{ tissu} = \frac{[X]_{\text{Fraction}}}{[X]_{\text{tissu}}}$$

✓ Deux approches différentes:

⇒ Recherche d'un composé spécifiquement localisé

Marqueur

⇒ Recherche d'une signature globale du tissu cible

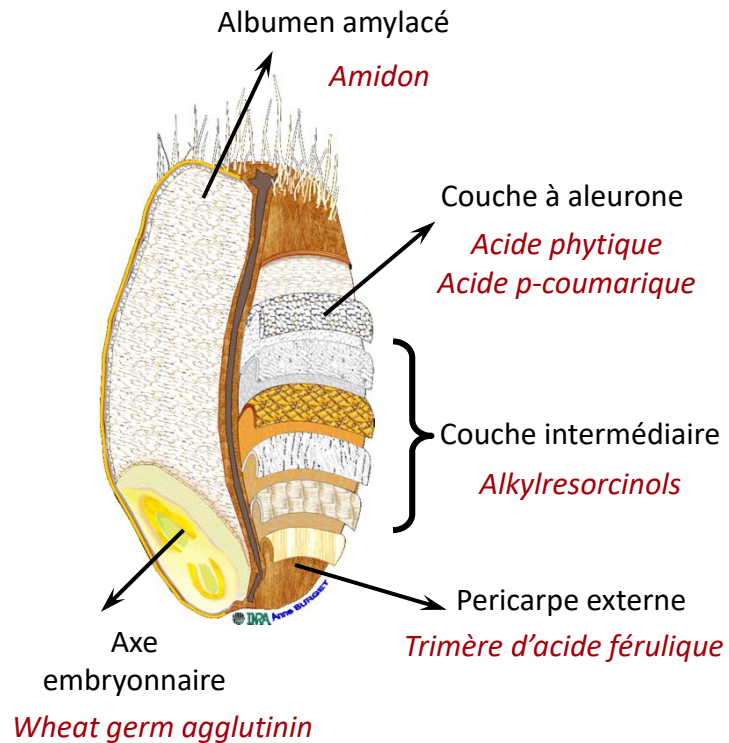
Spectral

Impose dissection manuelle des tissus

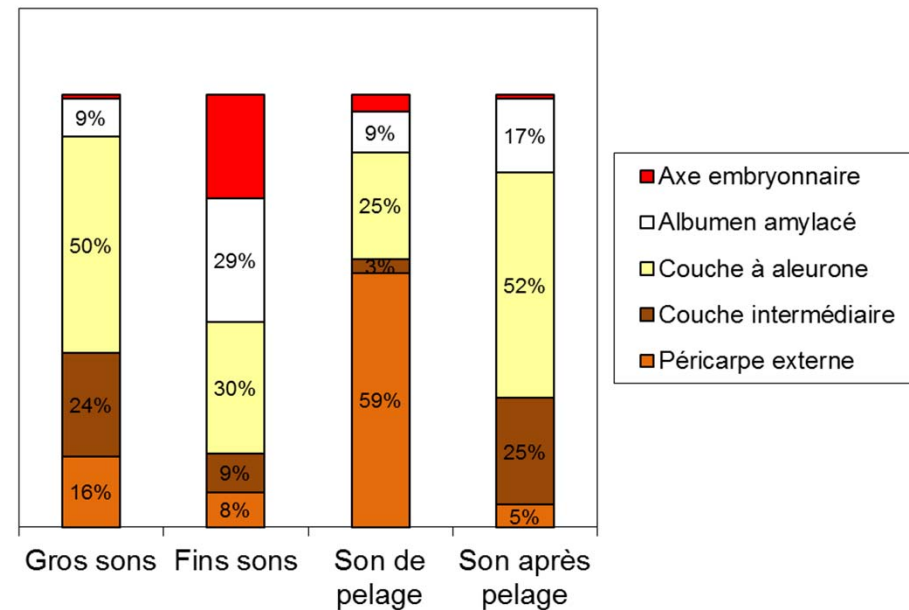
Travail initié sur variété pure

? Facteurs d'influence : espèce, variété, conditions environnementales sur ces compositions/signatures tissulaires

# Evaluation de la composition histologique de fractions technologiques – Marqueurs biochimiques



- ✓ Validée sur blé tendre
- ✓ Validée sur blé dur, adaptable à orge.
- ✓ Ex résultat : variabilité des « sons »

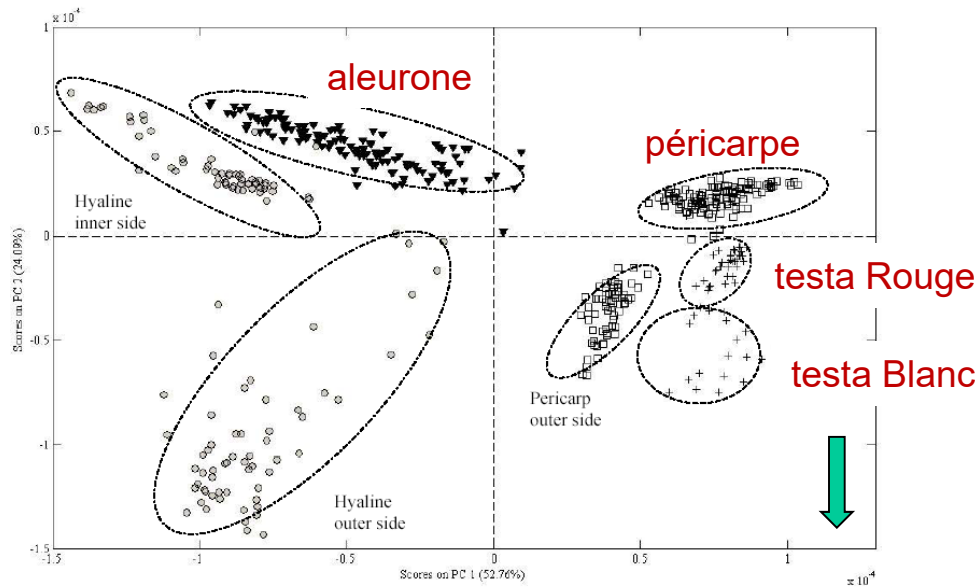


Hemery et al., 2009, J. Cereal Sci., 49, 55-64

# Evaluation de la composition histologique de fractions technologiques – Spectroscopie MIR

✓ 1 tissu = 1 signature spectrale

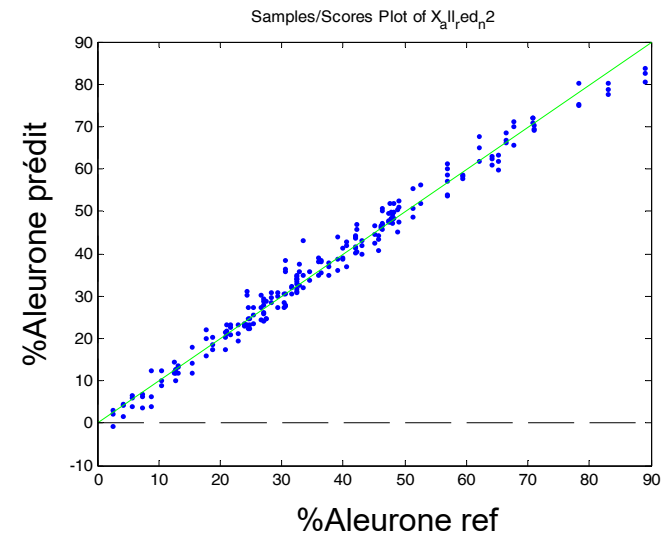
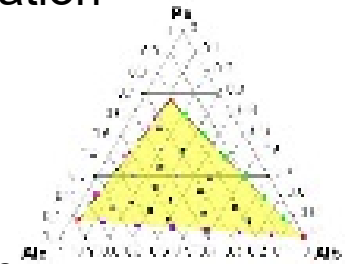
✓ Quantification



PCA : spectra baseline corrected and normalised, spectral region of interest 600-1500cm<sup>-1</sup>

**A prendre en compte pour durum**

Méthode de référence=marqueurs biochimiques  
Echantillons : blé tendre

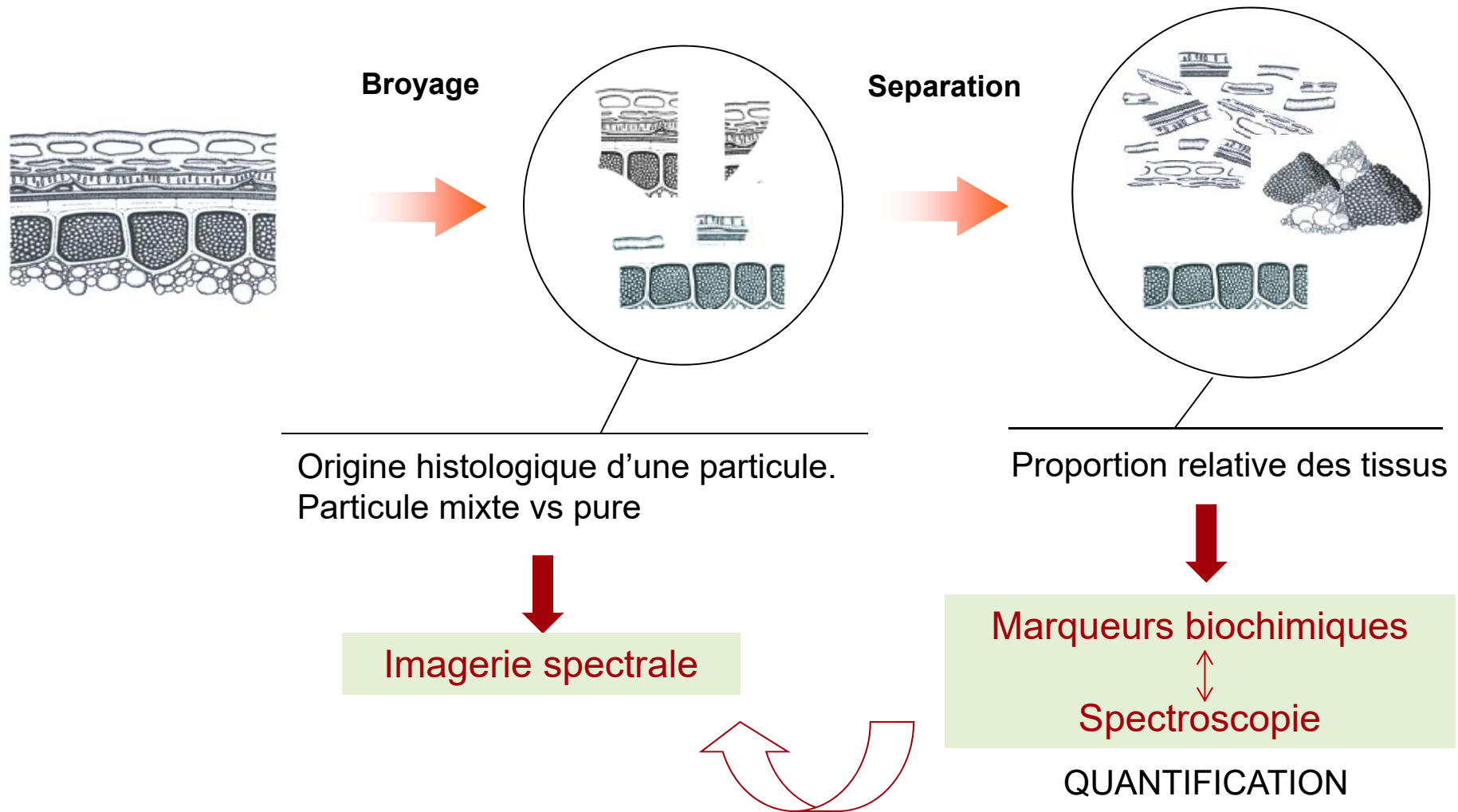


RPD Calibration : 4.3  
SEP test : 3.4%

Barron and Rouau 2008  
Barron 2011

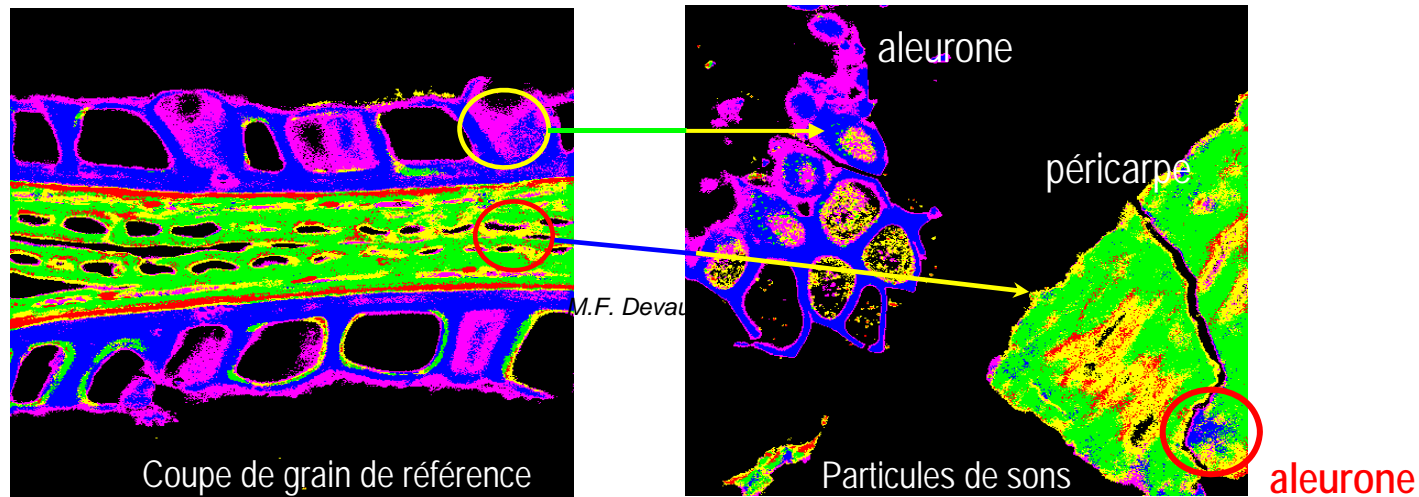


# De la caractérisation d'une population de particule à la caractérisation d'une particule individuelle...



# L'imagerie en auto-fluorescence

- Spectroscopie de fluorescence:
  - Différenciation aleurone vs péricarpe : exc UV vs exc visible
- Imagerie multispectrale (collaboration URBIA)
  - Microscope confocal, 15 images, utilisations des profils spectraux, calibration à partir de l'objet structuré
  - Testa OK ms durée d'acquisition très longue



# Imagerie de fluorescence adaptée à l'analyse des particules

- taille des particules variable (épaisseur 40-300 $\mu$ m, «  $\emptyset$  » 50 $\mu$ m-2mm)
- grand nombre de particules (cf représentativité)
- Détection de structure petites (cf testa 8 $\mu$ m d'épaisseur).



Tout en conservant l'identification des tissus cibles (péricarpe/testa/aleurone/albumen amylicé) par l'obtention de signaux spécifiques à chaque tissu

# L'imagerie multispectrale en autofluorescence : échelle « macro »

- AZ100M, filtres + caméra couleur

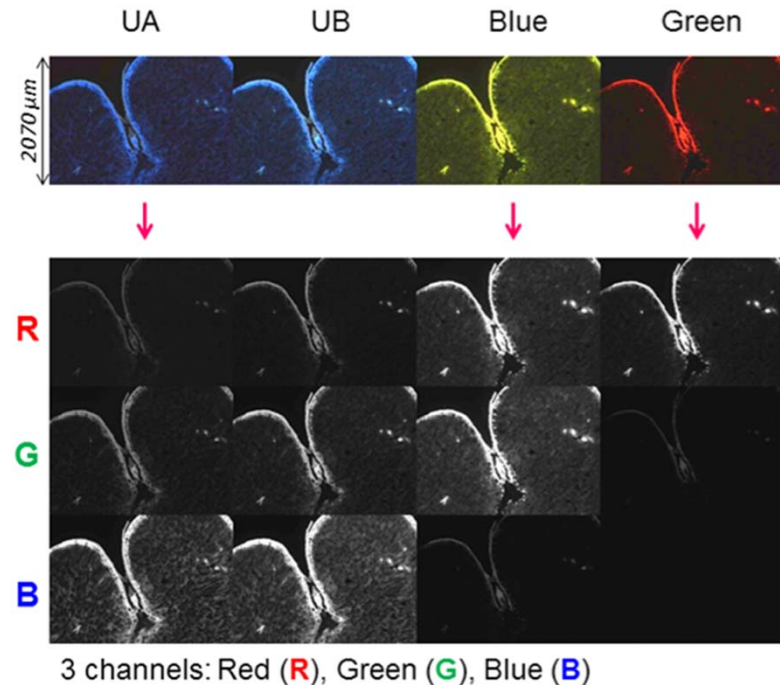
Filter	Exc (nm)	DM (nm)	Em (nm)
UA	360-370	>380	>400
UB	325-375	>400	>420
BL	450-490	>505	>515
GR	510-560	>565	>593

⇒ 12 images

Magnification x4,

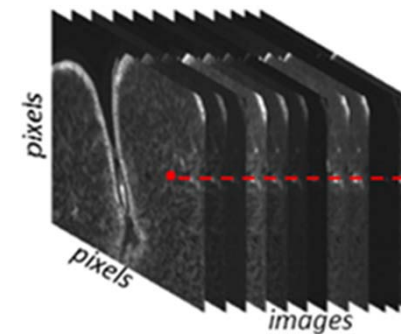
Image resolution: 2.74µm.px-1,

Field of view: 3.5x2.8mm<sup>2</sup>



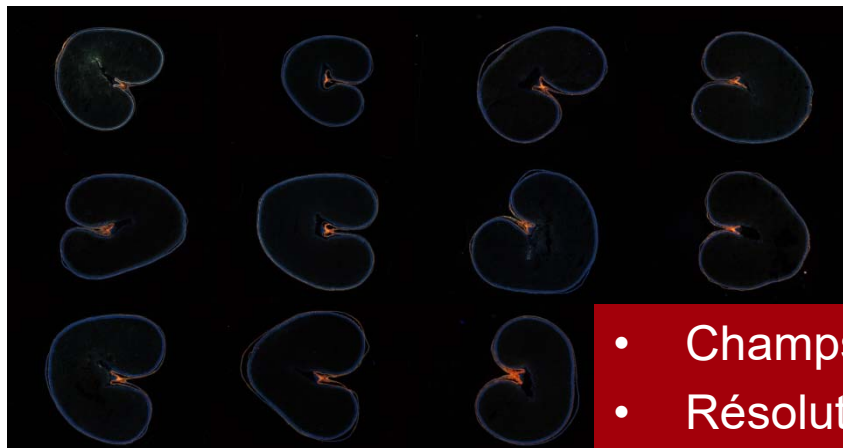
- Automatisation acquisition d'image mosaïques

⇒ **dimension spectrale plus faible mais large champs  
de vue et acquisition rapide**



# Validation de l'outil « microscope epifluorescence »

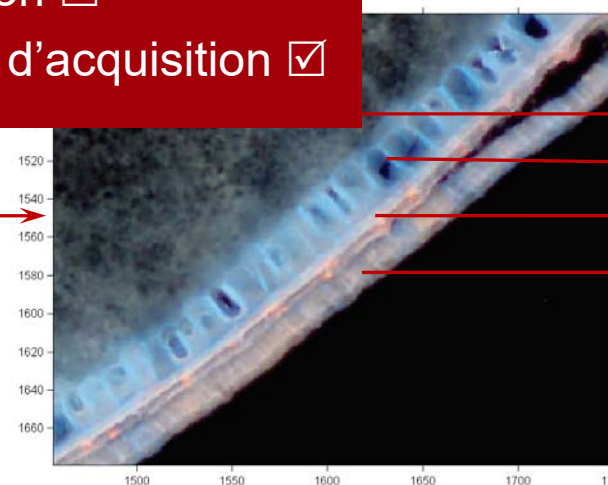
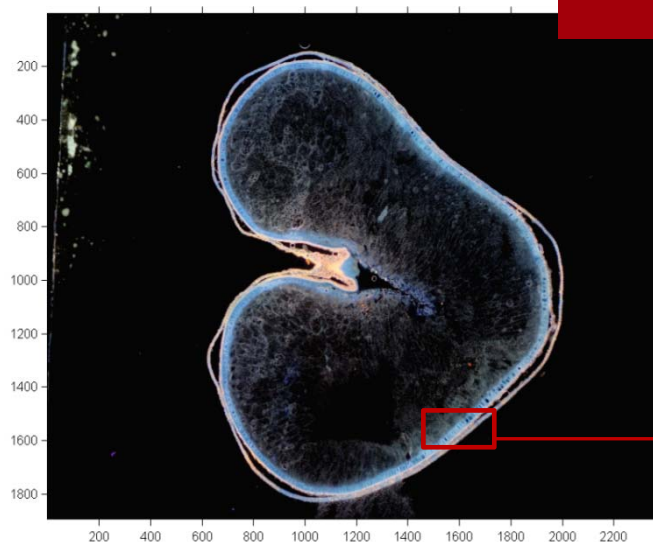
- Grande collection d'images avec une résolution  $px=2,67\mu m$



Analyse possible de plusieurs grains pour une 20aine de variété

Résolution suffisante pour observer les tissus périphériques sur coupe

- Champs de vue
- Résolution
- Rapidité d'acquisition



Albumen  
Aleurone  
Testa  
Péricarpe

ALIMENTATION  
AGRICULTURE  
ENVIRONNEMENT

INRA

# ACP sur une image

Image de scores PC1

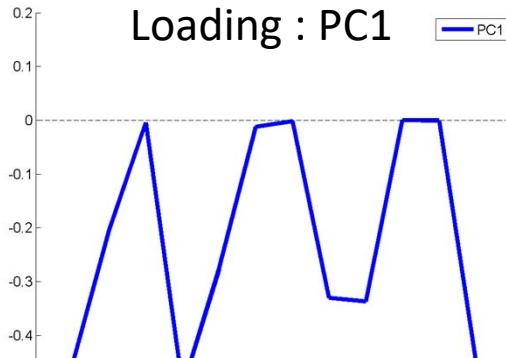
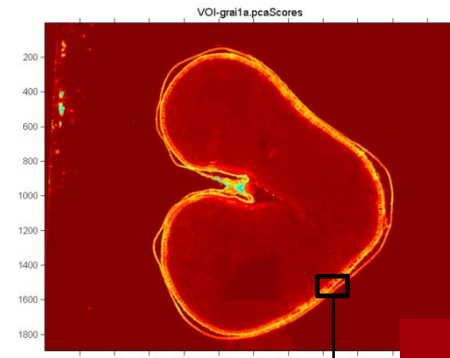
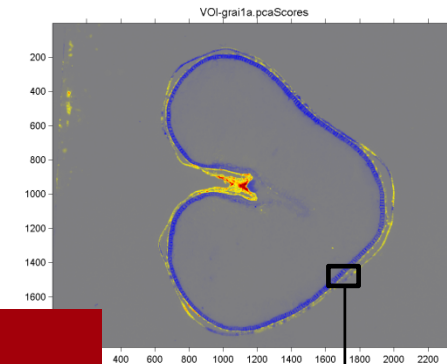
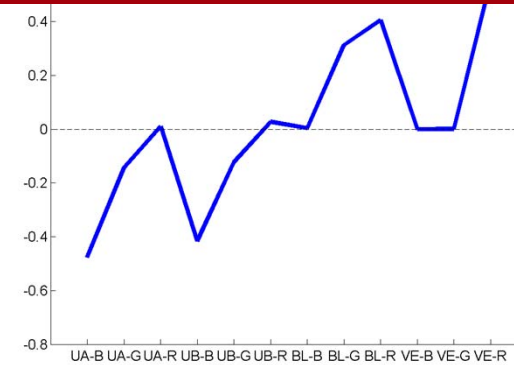
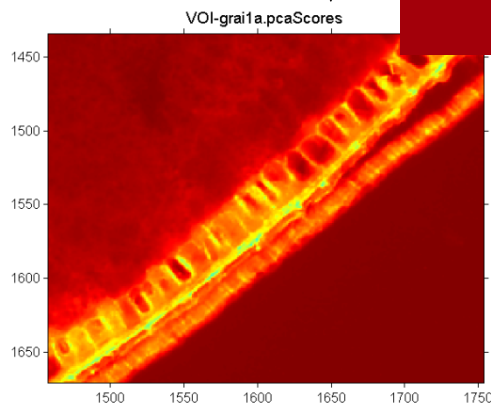


Image de scores PC2

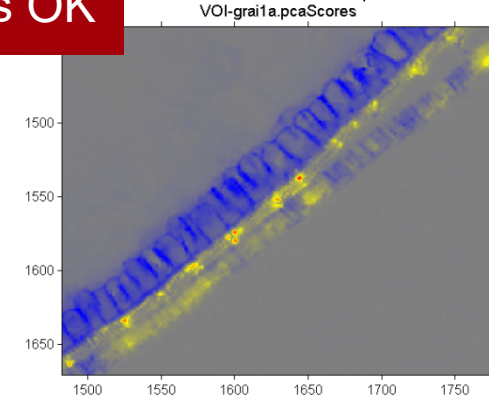


- Identification tissus blé   
Testa à vérifier mais 1<sup>ère</sup> images OK

Zoom

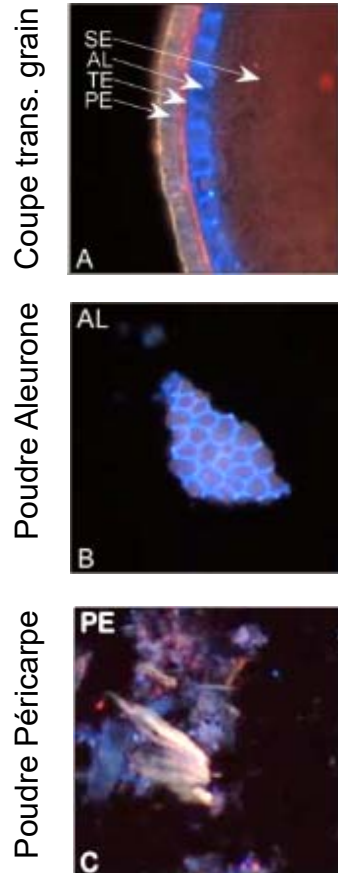


Zoom



# Validation de l'outil « microscope epifluorescence »

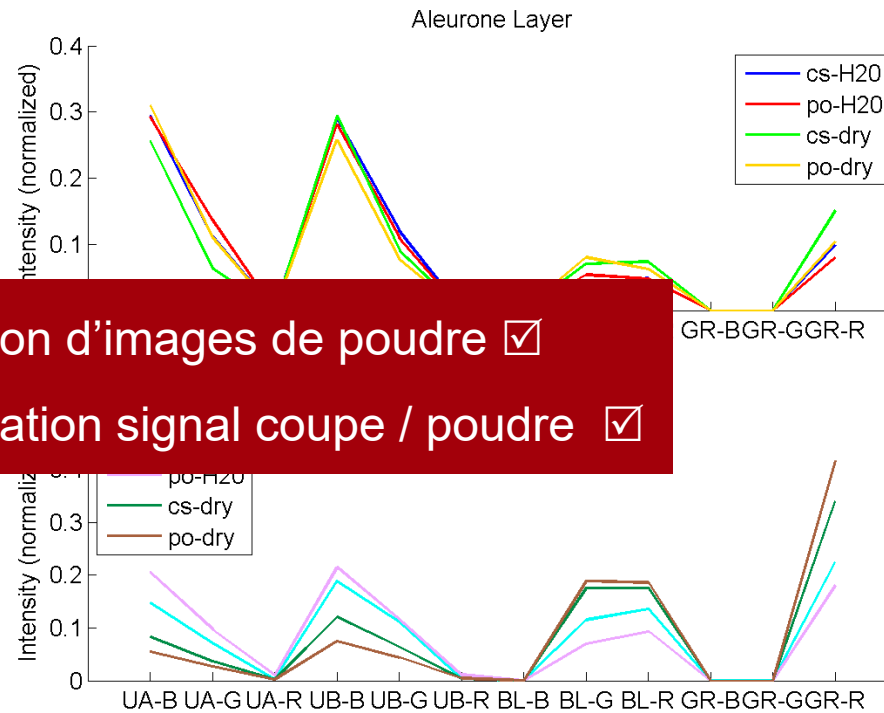
## Images multispectrales



Blé tendre

Corcel et al., 2016

## Profils d'autofluorescence



- Acquisition d'images de poudre
- Conservation signal coupe / poudre

- **Couche à aleurone:** fluorescence bleu intense sous excitation UV
- **Péricarpe:** fluorescence avec tous les filtres, un peu plus intense sous excitation bleu ou verte

# Perspectives imagerie multispectrale

- **Base d'étalonnage**
  - En cours. Sur coupes de grain. Modèle Blé dur.
  - Analyse de la variabilité à différentes échelles
  - Outils développés : Kmeans multi-échelle. Thèse M. Corcel
- **Analyse de particules :**
  - Résultats préliminaires sur poudre de maïs montre l'importance du mode de présentation
  - Test de validation puis prédiction des tissus à partir du modèle élaboré sur coupe
  - Qualifier la proximité géographique des pixels





# Remerciements

Rouau X.  
Lullien-Pellerin V.  
Samson M.F.  
Abecassis J.  
Surget A.  
Lasserre T.M.  
Putois A.  
Hemery Y.  
Raggiri V.  
Nouri M.  
...



Guillon F.  
Devaux M.F.  
Saulnier L.  
Alvarado C.  
Helary L.  
Corcel M.  
...



À travers divers projets :

EU: Healthgrain, BarleyBoost  
ANR Wheafi, PIAVE Défi Blé Dur  
INRA : AIC Histochem, AIC Apsali