

CRYOSCOPIE : ETUDE COMPARATIVE ENTRE LES METHODES A TEMPS FIXE ET LA METHODE PAR RECHERCHE DE PLATEAU

La méthode de référence de mesure cryoscopique du point de congélation du lait procède à la recherche du plateau sur la courbe de congélation, alors que les méthodes de routine mesurent le point de congélation à un temps fixe après le choc congélateur. Il est reconnu que les résultats obtenus selon ces deux types de méthodes peuvent différer sensiblement. Mais l'ordre de grandeur des écarts potentiels entre les deux méthodes est parfois mal connu ou mal apprécié. C'est pourquoi CECALAIT a comparé, dans des conditions rigoureusement contrôlées, les méthodes à temps fixe et la méthode de référence, au moyen des mêmes échantillons de lait individuel ou de troupeaux. Les résultats mettent en évidence les biais importants introduits par les méthodes à temps fixe. Ils montrent également que le temps nécessaire pour atteindre le plateau de la courbe de congélation peut fluctuer de façon notable.

Les différentes normes équivalentes, FIL 108B:1991, ISO 5764, AFNOR V 04-205 de 1990, décrivent la méthode cryoscopique de référence. Celle-ci correspond à la température du plateau atteint par le lait lors de la remontée de température consécutive à la cristallisation (choc congélateur) initiée mécaniquement après refroidissement à une température appropriée.

Nous avons en outre rappelé, à plusieurs reprises (cf Lettres de Cecalait, N° 13 et 17) l'existence et l'utilisation quasi-généralisée en analyse de routine, de méthodes, qui mesurent la température à un temps fixe après l'induction de la cristallisation. Or, bien que la littérature ait clairement établi les risques d'erreur systématique liés à ces méthodes, ils semblent parfois mal appréciés, et en tous cas mal connus des utilisateurs. C'est pourquoi une étude comparative des principaux modes de mesure à temps fixe avec la méthode de référence nous est apparue du plus grand intérêt.

PROTOCOLE

♦ ECHANTILLONS

L'essai a porté sur 40 laits individuels (prélevés pour le contrôle laitier et additionnés de pastilles de bronopol) et 62 laits de mélange (laits sans conservateur) provenant de deux tournées de ramassage distinctes et ayant été prélevés à des fins de paiement du lait

Dans chacune des deux populations de laits, environ 20 à 30 % des échantillons ont été "mouillés" artificiellement à 3 et 6% afin d'obtenir une amplitude de point de congélation à la fois représentative de la réalité et permettant une bonne analyse des résultats.

Les essais ont été menés au laboratoire de physico-chimie de CECALAIT à l'aide d'un appareil Advanced Instrument 4 D III préalablement paramétré sur la mesure du point de congélation par recherche du plateau.

Chaque échantillon et chaque solution saline, utilisée pour l'étalonnage, ont été analysés en double. Afin de simuler le temps fixe, les températures affichées par l'appareil ont été

relevées exactement à 30, 60 et 90s après le choc congélateur. Puis, bien sûr, les valeurs finales affichées une fois le plateau atteint, ont été également relevées. De cette manière, la même prise d'essai a permis de mesurer pour chaque échantillon et en une seule phase de mesure, les 4 valeurs correspondant aux modalités potentiellement utilisables par les laboratoires. L'erreur d'échantillon en est alors limitée. En outre, pour chaque échantillon, on a effectué une mesure du temps total entre le choc congélateur et la prise de température (sur le plateau).

♦ TRAITEMENT DES DONNEES

L'appareil a été préalablement calibré sur une recherche de plateau (FIL 108 B: 1991). Mais les valeurs lues à un temps donné après le choc congélateur ont été transformées à l'aide des valeurs obtenues de façon similaire sur les solutions salines (correction sur 2 points de référence: - 0,483 °C et - 0,541 °C). De cette manière, on a simulé des calibrages de temps fixe, à respectivement 30, 60 et 90s. Une vérification de la correction a été établie par comparaison entre la valeur calculée et la valeur de référence d'une solution à - 0,512 °C.

La comparaison des différentes méthodes à temps fixe par rapport à la méthode de référence par recherche de plateau a été réalisée par régression linéaire en prenant comme variable expliquée Y, la méthode de référence et comme variable explicative X, la méthode à temps fixe. La justesse des méthodes à temps fixe a été appréciée au moyen de la moyenne des écarts, des écarts types des écarts, des écarts types résiduels et des équations des régressions linéaires estimées.

RESULTATS

> La répétabilité de l'ensemble des méthodes testées a été satisfaisante avec des valeurs de Sr et r inférieures aux valeurs normalisées (Sr = 1,4 m°C; r = 4 m°C) et similaires pour toutes les méthodes.

> Comparaison des méthodes

Le tableau 1 et les figures 1 et 2 regroupent et illustrent l'ensemble des résultats obtenus en comparant les méthodes à temps fixe et la méthode de référence.

Figure 1

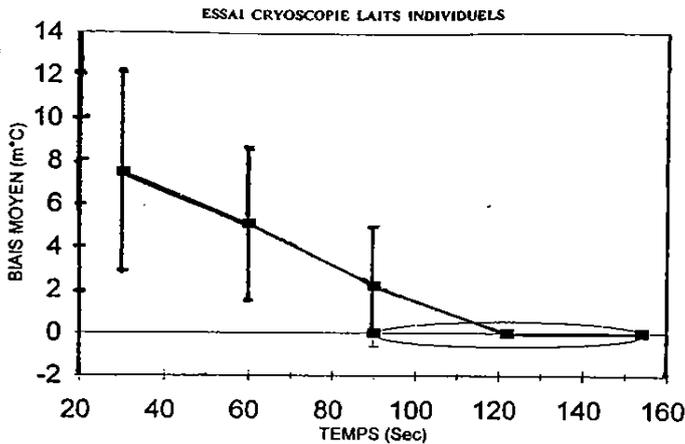


Tableau 1: Résultats des comparaisons des méthodes à temps fixe (TF 30, 60 et 90s) par rapport à la méthode de référence par recherche du plateau sur laits de troupeaux et laits individuels (valeurs x (-1000)).

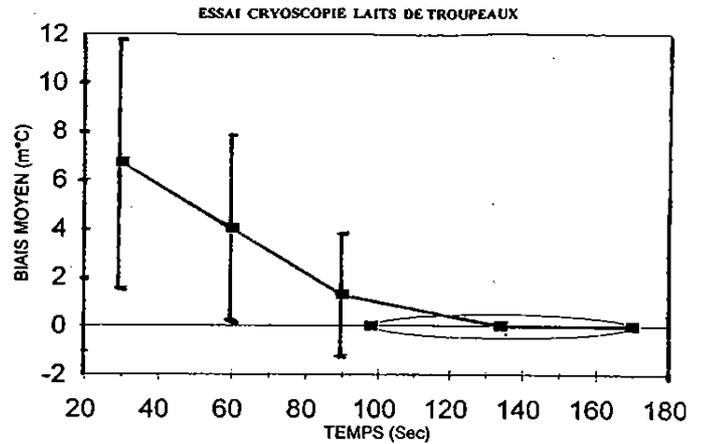
	LAITS DE TROUPEAUX			LAITS INDIVIDUELS		
	TF 30 sec /RP	TF 60 sec /RP	TF 90 sec /RP	TF 30 sec /RP	TF 60 sec /RP	TF 90 sec /RP
\bar{Y}	518.0	518.0	518.0	529.3	529.3	529.3
\bar{X}	524.8	522.0	519.3	536.9	534.4	531.6
Sy	13.3	13.3	13.3	17.9	17.9	17.9
$\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$	+6.7	+4.0	+1.3	+7.5	+5.1	+2.2
Sd	2.54	1.90	1.23	2.30	1.81	1.43
Sy,x	2.56	1.91	1.24	2.33	1.79	1.41
b	0.9956	0.9868	0.9940	0.9991	0.9769	0.9831
a	-4.43	+2.87	+1.82	-7.07	+7.23	+6.75
n	62	62	62	40	40	40

\bar{X} : Moyenne méthode temps fixe
 Sy,x : Ecart type résiduel de régression
 \bar{Y} : Moyenne méthode de référence
 Sy : Ecart type de série
 Sd : Ecart type des écarts
 b : pente
 a : ordonnée à l'origine
 n : nombre d'échantillons

On observe que les mesures à temps fixe donnent, en général, des valeurs de point de congélation significativement inférieures à la méthode de référence pour les laits individuels, comme pour les laits de troupeaux. De plus, l'écart entre les deux valeurs est d'autant plus important que le temps fixé entre le choc congélateur et la mesure est court.

Comme l'indique le tableau 1, la relation liant temps fixe et recherche de plateau consiste en un décalage constant à tous les

Figure 2



niveaux (pente statistiquement non distincte de 1,00). On le mesure par la moyenne des écarts à la référence \bar{d} . On observe ainsi, sur des laits de troupeaux des valeurs \bar{d} de l'ordre de 6 à 7 m°C pour un temps fixe de 30s, 4 à 5 m°C pour un temps fixe de 60 s et 1 à 2 m°C pour un temps fixe de 90 s.

Parallèlement, la précision d'estimation de la mesure (+/- 2 Sd) passe d'environ 5 m°C pour 30s, à 4 m°C pour 60s et à environ 2,4 m°C pour une mesure à 90s.

Les figures 1 et 2 montrent ainsi que les biais moyens ($\bar{d} \pm 2 Sd$) et l'intervalle de confiance des mesures augmentent de manière quasi-linéaire avec la réduction du temps de mesure. Leurs valeurs sont notablement plus importantes pour les mesures à 30s qu'à 90s; on peut estimer la variation de l'erreur à environ - 0,09 m°C/s entre 30 et 90s.

Ces figures illustrent également les résultats obtenus par la mesure du temps entre le choc congélateur et la prise de température sur le plateau. Elles témoignent d'une forte variabilité démontrant ainsi l'importance du facteur individuel lait dans la précision de la mesure. Les moyennes et intervalles de confiance des temps mesurés ($t \pm 2 St$) sont ainsi de :

- 134 ± 35,8 s, pour les laits de troupeaux
- 122 ± 31,2 s, pour les laits individuels.

CONCLUSION

Ces résultats mettent clairement en évidence et quantifient précisément les erreurs liées au temps de la mesure cryoscopique. Pour les mesures à 90s, ils confirment les résultats obtenus par Van Leeuwen et Black (1984), présentés dans la Lettre de CECALAIT N° 13, de janvier 1995. Ils soulèvent à nouveau le problème de l'harmonisation des résultats cryoscopiques en France, déjà évoqué dans la dernière Lettre de CECALAIT (N° 17 de janvier 1996).

Une approche de l'analyse cryoscopique en deux étapes :

L'analyse par recherche de plateau assure seule la valeur vraie du point de congélation. Cette méthode disponible sur certaines configurations d'appareils reste longue (entre 1,5 et 3 mn et en

moyenne autour de 2 mn par analyse), donc coûteuse. Elle peut difficilement répondre aux besoins de cadence de certaines catégories de laboratoires, tels que les laboratoires interprofessionnels. Il en découle la nécessité d'adopter une nouvelle stratégie en matière d'analyse cryoscopique. La stratégie à première vue la plus évidente consisterait en une analyse cryoscopique en deux étapes :

- ♦ une étape de tri où on identifie les échantillons suspects et qui utiliserait les méthodes rapides, telles que les méthodes à temps fixe, ou les méthodes de tri équivalentes, telles que le système associé à l'infra-rouge du Milkoscan 4000 de Foss Electric (DK). Cette étape requerrait un étalonnage par rapport à la méthode de référence FIL 108B, ainsi qu'une prise en compte de l'incertitude associée aux mesures, dans le choix d'un seuil de sélection,

- ♦ une étape de confirmation consistant à analyser en recherche de plateau (FIL 108B) les échantillons suspects détectés au préalable.

Pour ce faire, les matériels disponibles sur le marché se devraient d'offrir à l'avenir à l'utilisateur la possibilité d'ajuster de manière aisée et fiable le signal sur des valeurs de référence connues d'échantillons à teneur garantie (ETG) ou d'intégrer, de manière aisée, une relation corrective qui serait fonction du temps de mesure choisi.

(par O. LERAY et Ph. TROSSAT)