

LE DOSAGE DE LA MATIERE GRASSE DU LAIT

PAR LA METHODE GERBER : INFLUENCE DE L'ALCOOL AMYLIQUE

(résumé de l'intervention de M. TROSSAT de CECALAIT lors de l'Assemblée Générale de CECALAIT en juin 1999)

La méthode acidobutyrométrique Gerber est largement pratiquée dans l'ensemble des laboratoires laitiers pour le dosage, en routine, de la matière grasse du lait. L'un des réactifs qu'elle utilise est l'alcool amylique, un mélange de deux isomères. Les études menées à la suite d'observations de terrain ont montré que la justesse de la méthode dépend des proportions d'isomères en présence. Dès lors, il a été possible de déterminer par calcul de composition "idéale" de l'alcool amylique, afin de garantir l'équivalence de la méthode Gerber et de la méthode de référence Röse-Gottlieb dans la zone des taux butyreux usuels dans les laits entiers. Après validation, cette donnée nouvelle sera intégrée dans la révision de la norme V 04-210, à paraître dans le courant de l'année 2000.

La méthode acidobutyrométrique Gerber est utilisée depuis de nombreuses années comme méthode de routine pour le dosage de la matière grasse du lait, dans l'ensemble des laboratoires laitiers. Elle est, en effet, moins onéreuse et plus facile à mettre en œuvre que la méthode gravimétrique de référence, dite de Röse-Gottlieb. Cependant la relation de justesse liant les deux méthodes a toujours été examinée avec beaucoup d'attention par les organismes de normalisation à travers le monde. Il est connu, en effet, depuis longtemps qu'il n'y a pas équivalence stricte, d'où des révisions régulières de la méthode Gerber, afin d'en optimiser la précision. Par ailleurs, certains laboratoires français travaillant avec des laboratoires étrangers ont constaté des différences dans les résultats obtenus, en fonction de la provenance d'un des réactifs : l'alcool amylique (cf encadré).

CECALAIT a alors initié des travaux pour étudier l'influence de la composition de ce réactif. Menés dans le cadre de la Commission "Produits laitiers" de l'AFNOR, en collaboration avec les laboratoires officiels de la DGCCRF et les laboratoires interprofessionnels, ces travaux ont d'abord permis de remédier au problème des différences entre alcools d'origine différente, en en définissant plus précisément la composition. L'objectif de travail est ensuite devenu plus ambitieux, visant à étudier et proposer une composition idéale permettant d'avoir une équivalence entre les résultats obtenus par la méthode Gerber et la méthode Röse-Gottlieb, sur une zone de taux butyreux aussi étendue que possible.

↳ INFLUENCE DE L'ALCOOL ISOAMYLIQUE

Les réactions mises en œuvre dans la méthode Gerber sont complexes, mais la présence d'alcool amylique est destinée à faciliter la séparation de la matière grasse dans le butyromètre. Or il y a quelques années, des laboratoires avaient constaté que selon la provenance de l'alcool, en France, mais bien plus encore lors d'échanges internationaux, des écarts, parfois considérables, pouvaient apparaître dans les résultats de matière grasse.

L'hypothèse que certains alcools pouvaient n'être pas conformes à la norme avait alors été émise. En effet, dans la norme V 04-210 qui décrit la méthode Gerber en France, une

annexe détaille les spécifications de l'alcool amylique (cf encadré).

Après prélèvement et analyse de 7 alcools du commerce, provenant de 7 fournisseurs différents, les laboratoires de la DGCCRF avaient conclu que tous étaient conformes. Cependant, l'analyse par chromatographie en phase gazeuse du ratio des deux isomères composant le mélange avait montré, qu'au sein d'alcools respectant tous ces spécifications, le pourcentage de méthyl-3 butanol 1 pouvait varier de 70% à 100%.

En parallèle, l'examen des résultats obtenus, de 1991 à 1996, dans les essais d'aptitude mettait en évidence l'existence d'un décalage entre les résultats obtenus par la méthode Gerber et la méthode Röse-Gottlieb. Cet écart, de -0,3 g à l'époque, dans la plage des taux moyens, (il a été considérablement réduit depuis) n'était cependant pas constant pour tous les taux.

L'organisation d'un essai interlaboratoire pour cerner clairement l'influence de la composition de l'alcool amylique sur la justesse de la méthode Gerber s'imposait donc. Cela a été chose faite en 1997.

Dix laboratoires ont alors analysé en double une gamme de 10 échantillons aux taux régulièrement répartis entre 15 et 50 g de MG/L. Ils ont pratiqué la méthode Gerber en utilisant 3 alcools différents, composés respectivement de :

* 83% de méthyl-3 butanol 1 et 17% de méthyl-2 butanol 1 (M3B1/M2B1 83/17)

* 91% de méthyl-3 butanol 1 et 9% de méthyl-2 butanol 1 (M3B1/M2B1 91/9)

* 100% de méthyl-3 butanol 1 (M3B1/M2B1 100/0)

Les moyennes des résultats obtenus ont été comparées aux résultats obtenus en parallèle dans un essai interlaboratoire pratiqué avec les mêmes échantillons, mais en utilisant la méthode de référence Röse-Gottlieb.

Le tableau 5 présente les résultats obtenus

avec

\bar{Y} : moyenne référence / mean reference values

\bar{X} : moyenne de la méthode acidobutyrométrique gerber / mean Gerber method

$\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$: moyenne des écarts Gerber-référence / mean of the differences

Sd : écart type des écarts / standard deviation of the differences

$S_{y,x}$: écart type résiduel de la régression / residual standard deviation for the linear regression

équation de la régression linéaire estimée, où la variable expliquée Y est le résultat donné par la méthode de référence et la variable explicative X, le résultat de la méthode Gerber : $Y = bX + a$,

avec b : pente, a : ordonnée à l'origine

equation of the estimated linear regression, where Y is the result given by the reference method and X the result given by the Gerber method : $Y = bX + a$,

with b : slope, a : point O ordinate

Tableau 5 : influence de la composition de l'alcool isoamylique sur la justesse de la méthode Gerber

Table 5 : accuracy of the Gerber method depending on the composition of the amylic alcohol reagent

Ratio M3B1/M2B1	100/0	91/9	83/17
\bar{Y} (g/L)	33,39	33,39	33,39
\bar{X} (g/L)	33,60	33,30	33,05
$\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$ (g/L)	+0,21	-0,09	0,34
Sd (g/L)	0,36	0,37	0,36
$S_{y,x}$ (g/L)	0,33	0,35	0,34
b	0,988	0,987	0,988
a (g/L)	+0,218	+0,53	+0,73

Le tableau 5 montre l'influence significative du ratio d'isomères de l'alcool amylique. Le mélange 83/17 conduit ainsi à un défaut de l'ordre de $-0,3$ g/L sur toute la gamme et à un biais de pente d'environ 1%.

La cause des différences de résultats constatées pour les alcools différents a donc clairement été établie par cet essai. Cependant quelle composition fallait-il conseiller par la suite ?

↳ VERS UN RATIO D'ISOMERES "IDEAL" ...

En exploitant les résultats de ce premier essai, l'idée de déterminer par calcul un ratio d'isomères idéal pour une équivalence entre méthode Gerber et méthode Röse-Gottlieb dans la zone de taux butyreux de 15 à 50 g/L a été le prolongement logique de la réflexion entamée alors.

Le calcul a abouti à un ratio de M3B1/M2B1 de 94/6.

En 1998, un essai interlaboratoire impliquant 28 laboratoires interprofessionnels, pratiquant la méthode gerber avec ce type d'alcool sur 10 échantillons aux taux régulièrement répartis de 15 à 50 g/L, a permis de valider cette composition. En effet, après comparaison aux résultats obtenus par la méthode Röse-Gottlieb pratiqués sur les mêmes échantillons par 21 laboratoires, on observe un biais moyen de 0,05 g/L.

Une réunion de mise au point avec la profession, en mai 1999, a permis de constater :

* cette possibilité d'améliorer l'ajustement entre les deux méthodes en jouant sur la composition de l'alcool amylique,

* une notable réduction de l'écart entre les deux méthodes, depuis 1996 ; un fait à relier à des changements survenus alors dans la fabrication de l'alcool. D'après les fournisseurs, sa composition respecterait généralement un ratio de M3B1/M2B1 de 95/5 depuis le début de l'année 1997.

* le souhait de l'interprofession d'en arriver à une équivalence entre les deux méthodes préférentiellement dans la zone des taux butyreux situés entre 30 et 50 g/L. Il s'agit, en effet, de la zone la plus représentative en terme de paiement du lait et d'échanges, celle qui correspond à la grande majorité des laits – individuels ou de troupeaux – français.

Pour répondre à ces vœux, de nouveaux calculs ont été nécessaires et c'est finalement le ratio **M3B1/M2B1 91/9** qui a été proposé.

↳ VERS UNE REVISION DE LA NORMALISATION

Au vue de cet ensemble d'éléments, la commission "Produits laitiers" de l'AFNOR a finalisé une nouvelle version de la norme V 04-210 où on trouvera notamment dans le corps du texte :

➤ La composition précise de l'alcool amylique, à savoir un mélange des isomères M3B1/M2B1 dans la proportion **91% / 9%**, avec une incertitude de $\pm 2\%$ affectée à chaque proportion du rapport. Cela aurait une incidence maximale de $\pm 0,06$ g/L sur le résultat final.

➤ La mention d'un domaine d'application de la norme pour des taux butyreux entre 30 et 50 g/L. Le texte informera donc clairement de l'équivalence entre la méthode Gerber et la méthode Röse-Gottlieb dans cette zone usuelle. En parallèle, il signalera les écarts observés en dehors de cette zone ; dans ces cas là, des essais complémentaires de validation (en interne) seraient très souhaitables.

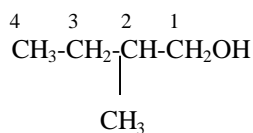
La commission a également proposé de rester en contact avec les fournisseurs pour obtenir des changements de fabrication visant à garantir le ratio d'isomères exigé par la norme. Ce ratio devra d'ailleurs, à terme figurer sur le certificat de conformité du réactif.

Cette nouvelle version de la norme a été soumise à enquête publique au cours du 2^e semestre de 1999.

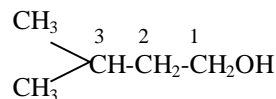
L'alcool amylique utilisé dans la méthode Gerber

Ce réactif, de formule $C_5H_{12}O$, est en fait, composé du mélange de deux isomères.

le méthyl-2 butanol, 1 ou alcool amylique
ou *dl-sec*-butylcarbinol



le méthyl-3 butanol 1, ou alcool isoamylique
ou alcool isopentylique
ou isobutylcarbinol



Quelques spécifications de l'alcool amylique, selon l'annexe de la norme V 04-210

- masse volumique comprise entre 0,808 et 0,818 g:ml
- incolore
- composé d'au moins 98% en volume du mélange des alcools primaires suivants :
 - méthyl-3 butanol 1
 - méthyl-2 butanol 1
- exempt d'alcools secondaires.

En conclusion,

les différentes études menées ont permis d'établir clairement l'influence de la composition de l'alcool amylique sur la justesse de la méthode Gerber.

Elles ont abouti à proposer un alcool composé d'un mélange d'isomères aux proportions fixées et normalisées : 91% de méthyl-3 butanol 1 et 9% de méthyl-2 butanol 1, pour garantir l'équivalence des méthodes Röse-Gottlieb et Gerber dans la gamme des taux butyreux usuels des laits entiers.

Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

Bibliographie

* **AFNOR V 04-210 – décembre 1990.** Lait – Détermination de la teneur en matière grasse : méthode acido-butyrométrique

* **AFNOR NF EN ISO 1211 (V 04-214) – octobre 1995.** Lait – Détermination de la teneur en matière grasse : méthode gravimétrique (méthode de référence)

* **TROSSAT Ph.** Détermination de la matière grasse. Evolution de la méthode Gerber. RLF, mars 2000, n° 599, p. 28-30