

EVALUATION DE L'ANALYSEUR INFRA-ROUGE LACTOSCOPE®

(d'après le rapport d'évaluation -phase I- de CECALAIT)

Le Lactoscope de la société Delta Instruments est un analyseur moyen infrarouge, à transformée de Fourier. Il permet la détermination des teneurs en matière grasse, protéines et lactose du lait, ainsi que d'autres critères, tels un équivalent "teneur en urée" et un équivalent "point de congélation". CECALAIT a évalué les caractéristiques analytiques et instrumentales de l'appareil pour la détermination de la teneur en matière grasse et en protéines et de l'équivalent "point de congélation". Ses caractéristiques de base, à savoir la stabilité et le traçage apparaissent très satisfaisantes. Pour les plages de taux usuels, il en est de même pour l'ajustement de la linéarité proposé par le constructeur. Enfin, les valeurs de répétabilité et de justesse, tant pour les laits individuels, que pour les laits de troupeaux, apparaissent conformes aux exigences réglementaires et normatives.

Le Lactoscope est un analyseur du lait par spectrophotométrie moyen infrarouge (*Moyen infrarouge: 2-10 µm*), fabriqué par la société Delta Instruments (Pays - Bas) et commercialisé en France par la société Laboratoires HUMEAU. Il permet de déterminer la teneur en matière grasse, en matière protéique et en lactose du lait. Il propose, en outre, la détermination d'autres critères, tels qu'un équivalent "teneur en urée" (FNCV) ou un équivalent "point de congélation" (FPD). Les essais d'évaluation, de phase I, ont été menés par CECALAIT de juillet à septembre 2001.

PRINCIPE ET DESCRIPTION

Cet instrument utilise un système infrarouge mono faisceau basé sur la technique de transformée de Fourier et comprend un interféromètre. Il est couplé à un micro-ordinateur qui assure le traitement du signal, le calibrage et la gestion des échantillons. Un calcul par régression linéaire multiple, à partir des absorbances obtenues à différentes longueurs d'ondes, habituellement 3 longueurs d'onde pour la matière grasse et 4 pour les protéines, selon la norme FIL 141, permet d'établir un calibrage de l'appareil. Celui-ci convient pour la prédiction des paramètres « habituels », à savoir, matière grasse, matière protéique et lactose, mais également pour la prédiction de l'équivalent "teneur en urée" ou de l'équivalent "point de congélation".

LES ESSAIS

Les essais d'évaluation ont été entièrement menés au laboratoire de physico-chimie de CECALAIT, qui a effectué aussi bien les analyses de référence que les analyses infra-rouge. Ils ont concerné les critères : matière grasse, matière protéique et FPD.

Utilisant une cadence de 360 déterminations/h, ils ont porté sur les points suivants:

- Evaluation de la stabilité de l'appareil,
- Evaluation de la contamination entre échantillons,
- Evaluation de la linéarité,
- Evaluation de la répétabilité,
- Evaluation de la justesse.

Les critères d'appréciation des paramètres estimés se basent, soit sur la norme FIL 141C: 2000 "Guide pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le moyen infra - rouge", soit sur le manuel d'utilisation des appareils infrarouge dans le cadre du paiement du lait en France (CNIEL).

STABILITE

Elle a été évaluée à l'aide de trois laits, couvrant la gamme de mesure normale en matière grasse et matière protéique. Ils ont été analysés, en mode automatique, en double, toutes les 15 minutes au cours d'une demi-journée de travail, ceci représentant 14 cycles de mesure.

Les calculs de répétabilité et de reproductibilité nécessaires afin d'évaluer la stabilité de l'instrument, ont été calculés pour chaque critère analytique et pour chaque niveau. Les résultats les plus importants sont consignés dans le tableau 1

tableau 1 : résumé des valeurs de reproductibilité obtenues lors de l'évaluation de la stabilité du Lactoscope

table 1 : summary of the reproducibility values obtained when evaluating the stability of Lactoscope

Niveaux levels	Matière grasse fat SR (g/l)	matière protéique protein SR (g/l)	FPD R-(m°C)
1	0.08	0.06	3.87
2	0.09	0.05	3.04
3	0.10	0.06	2.95

avec / with

SR écart-type de reproductibilité absolu / absolute standard deviation of reproducibility

R : écart maximal de reproductibilité dans 95% des cas / maximum reproducibility difference in 95% of occurrences

Ces résultats montrent que, pour les critères matière grasse et matière protéique, les valeurs moyennes journalières d'écart type de reproductibilité (SR) observées sont conformes à celles déduites du manuel d'utilisation des analyseurs infrarouge, à savoir : $SR < L / 2,58$; où L : limite de carte de contrôle à 99 % est égale à 0,7 g/l.

Pour le paramètre équivalent point de congélation, en l'absence de valeurs normalisées, c'est la valeur de reproductibilité de la méthode de référence FIL 108B, c'est à dire $R = 5 \text{ m}^\circ\text{C}$, qui sert de repère. Les valeurs de reproductibilité obtenues ici sont toutes inférieures à cette valeur.

② CONTAMINATION ENTRE ECHANTILLONS

Ce critère a été évalué en mode d'analyse automatique, par les analyses successives d'un même lait de vache et d'eau déminéralisées selon la séquence: « LAIT – LAIT - EAU - EAU », répétée vingt fois. Les mesures ont concerné les critères classiques: matière grasse et matière protéique, pour 3 niveaux de composition en matière grasse et matière protéique, respectivement (20, 20) pour le lait 1; (40,30) pour le lait 2 et (60,40) pour le lait 3.

NB: pour permettre le déclenchement de l'analyse, les échantillons d'eau ont été additionnée de 0,5 % de NaCl.

Le taux de contamination, Tc, a été estimé par la formule:

$$T_c \% = \left[\frac{\sum(\text{eau1}) - \sum(\text{eau2})}{\sum(\text{lait2}) - \sum(\text{eau2})} \right] \times 100$$

Dans ces conditions, l'appareil Lactoscope laisse apparaître des contaminations entre échantillons successifs allant de 0,53% à 0,70%, quels que soient le composant et le niveau testés. Ces taux satisfont donc à la limite d'acceptabilité de 1%, appliquée aux méthodes rapides de détermination de la richesse du lait pour le paiement du lait et le contrôle laitier.

③ LINEARITE

Elle a été évaluée, pour chacun des canaux analytiques, à l'aide de gammes de 14 laits, aux teneurs régulièrement réparties variant de :

- 0 à 128 g/l de matière grasse, réalisée par mélange de crème et de lait écrémé
- 0 à 83 g/l de matière protéique, réalisée par mélange de rétentat protéique et filtrat obtenus par ultrafiltration tangentielle (seuil de coupure 10 KD).

Dans tous les cas, ces échantillons ont été préparés en respectant des facteurs de dilution volume / volume obtenus à partir de dilutions masse / masse corrigées par les masses volumiques des produits. En effet, ce mode opératoire correspond au principe de dosage de la spectrophotométrie infrarouge et aux mesures de référence françaises également volumiques.

Ces gammes ont été analysées en mode automatique, en double, dans l'ordre croissant puis dans l'ordre décroissant des taux de matière grasse ou de matière protéique. L'évaluation de la linéarité s'est faite à partir des données non corrigées, c'est à dire avant application des facteurs d'intercorrection. Elles correspondent donc au signal primaire obtenu pour la matière grasse ou les protéines.

Les résultats montrent que l'ajustement de la linéarité proposé par le constructeur est convenable :

- sur l'ensemble de la gamme testée pour le critère matière protéique,
- sur l'étendue de la gamme de calibrage de l'instrument, à savoir de 22 à 56 g/l ici pour le critère matière grasse. Pour obtenir un ajustement optimal sur l'ensemble de la gamme testée, il apparaît alors souhaitable d'appliquer un polynôme d'ordre 3 au traitement du signal obtenu.

④ REPETABILITE

Pour les critères matière grasse et matière protéique, la répétabilité de l'appareil a été évaluée à partir de 131 laits individuels de vache prélevés dans sept élevages du Jura et de 58 laits de troupeaux. L'ensemble de ces laits couvrait une plage de taux allant de 17 à 85 g/l en matière grasse et de 25 à 43 g/l en matière protéique.

Pour le critère FPD, la répétabilité de l'appareil a été évaluée uniquement à partir des 58 laits de troupeaux.

Tous ces échantillons ont été conservés à l'aide de bronopol (0,02 % final). Les dosages ont été effectués en mode d'analyse automatique en doublant chaque série de 20 échantillons selon la séquence suivante :

Série 1 rép 1 - Série 1 rép 2 - Série 2 rép 1 - Série 2 rép 2 ...
Série n rép 1 - Série n rép 2.

Les tableaux 2 et 3 regroupent l'ensemble des résultats obtenus.

Avec / with

n: nombre de résultats / number of samples

M : moyenne des résultats / mean

Sx : écart-type des résultats / standard deviation of the results

Sr et Sr% : écart-type de répétabilité absolu et relatif / relative and absolute standard deviation of repeatability

r : écart maximal de répétabilité dans 95% des cas / maximal difference between duplicates in 95% of occurrences

tableau 2 : évaluation de la répétabilité pour les laits individuels

table 2 : evaluation of repeatability for individual milks

LAITS INDIVIDUELS INDIVIDUAL MILKS					
	n	M	Sr	Sr (%)	r
Matière grasse fat (g/l)	131	41.37	0.08	0.20	0.23
Matière protéique protein (g/l)	131	33.79	0.07	0.22	0.20

tableau 3 : évaluation de la répétabilité pour les laits de troupeaux

table 3 : evaluation of repeatability for herd milks

LAITS DE TROUPEAUX HERD MILKS						
	n	M	Sx	Sr	Sr (%)	r
Matière grasse fat (g/l)	58	37.89	1.94	0.09	0.24	0.25
Matière protéique protein (g/l)	58	32.95	1.26	0.07	0.20	0.19
F.P.D. (m°C x -1)	58	504	10.0	1.6	0.31	4.4

Les tableaux 2 et 3 montrent que le Lactoscope offre une répétabilité conforme aux prescriptions de la norme FIL 141 C : 2000, pour les composants matière grasse et matière protéique, soient : **Sr = 0,14 g/l et r = 0,4 g/l**.

En ce qui concerne le critère équivalent point de congélation (FPD), la valeur de répétabilité obtenue est proche de la valeur de répétabilité de la méthode de référence au cryoscope à thermistor (Sr = 1,4 m°C).

🎯 JUSTESSE

🔗 Procédure

La justesse a été évaluée à l'aide de deux types d'échantillons:

- d'une part 100 laits individuels de vache (parmi 131) provenant de 7 élevages du Jura et conservés avec du bronopol (0.02 % final) pour l'étude des critères matière grasse et matière protéique.
- d'autre part, 58 laits de troupeaux provenant de la région Franche-Comté, conservés avec du bronopol (0.02 % final) pour l'étude des critères matière grasse, matière protéique et point de congélation.

Les analyses infra rouge, effectuées par le Lactoscope ont été réalisées en doubles non consécutifs, en contrôlant la stabilité du signal par l'analyse d'un lait témoin, intercalé tous les 20 échantillons.

Pour les critères matière grasse et protéique, l'évaluation a porté sur les valeurs obtenues d'après le calibrage de base de l'instrument auquel a été appliqué une correction d'étalonnage calculée à partir d'une gamme de 13 échantillons de laits reconstitués en réseau orthogonal de TB TP selon la technique recommandée dans la norme FIL 141C : 2000.

Les corrections d'étalonnage ainsi appliquées sont :

$$\text{MG} : Y = 0.9968 X + 0.03 ; \text{MP} : Y = 0.9919 X - 1.70 .$$

Pour le critère « Equivalent point de congélation », FPD, l'évaluation a porté sur les valeurs obtenues à partir du calibrage réalisé par la société Delta Instrument, **non ajusté** avec des laits locaux.

Les méthodes de référence utilisées ici sont les méthodes officielles utilisées dans le cadre du paiement du lait, à savoir :

- Matière grasse: Méthode acido-butyrométrique GERBER selon la norme NF V 04 210, avec analyse en simple mais confirmée en cas de résidus trop importants,
- Matière protéique: Méthode au Noir Amido selon la norme NF V 04 216, avec analyse en double.

Pour le point de congélation, la méthode retenue a été la méthode par recherche de plateau, à l'aide d'un cryoscope à thermistor, selon la norme NF V 04 205.

La justesse a été appréciée en calculant les moyennes des écarts, les écarts-types des écarts, les écarts types résiduels et les équations des régressions linéaires estimées en prenant en variable expliquée Y, la méthode de référence et en variable explicative X, le Lactoscope.

🔗 Résultats

Les tableaux 4 et 5 regroupent les résultats obtenus, respectivement pour la matière grasse et la matière protéique, sur laits individuels et sur laits de troupeaux. Le tableau 6 donne les résultats correspondant à la mesure du point de congélation, effectuée uniquement sur laits de troupeaux ici (cf ci-dessus).

Tableau 4 : justesse du Lactoscope pour la matière grasse

Table 4 : accuracy of Lactoscope for fat

	LAITS INDIVIDUELS INDIVIDUAL MILKS	LAITS DE TROUPEAUX HERD MILKS
n	100	58
Y (g/l)	38.82	37.71
X (g/l)	38.85	37.89
Sy (g/l)	8.40	1.93
d (g/l)	0.03	0.18
Sd (g/l)	0.46	0.34
Sy,x (g/l)	0.433	0.344
b	0.981	0.980
a	0.72	0.56

Tableau 5 : justesse du Lactoscope pour la matière protéique

Table 5 : accuracy of Lactoscope for protein

	LAITS INDIVIDUELS INDIVIDUAL MILKS	LAITS DE TROUPEAUX HERD MILKS
n	100	58
Y (g/l)	33.16	33.11
X (g/l)	32.72	32.95
Sy (g/l)	2.61	1.28
d (g/l)	-0.44	-0.16
Sd (g/l)	0.38	0.21
Sy,x (g/l)	0.382	0.207
b	0.991	1.007
a	0.75	-0.08

Tableau 6 : justesse du Lactoscope pour l'équivalent point de congélation (FPD)

Table 6 : accuracy of Lactoscope for freezing point equivalent (FPD)

	LAITS DE TROUPEAUX HERD MILKS
n	55
Y (m°C x-1)	516
X (m°C x-1)	504
Sy (m°C x-1)	10
d (m°C x-1)	-13
Sd (m°C x-1)	3
Sy,x (m°C x-1)	2.8
b	0.927
a	49

Légende des tableaux 4, 5 & 6

Keys for tables 4, 5 & 6

n: nombre de résultats / number of samples

Y : moyenne des résultats par méthode de référence / mean of the results using the reference method

X : moyenne des r ésultats par méthode instrumentale / mean of the results using Lactoscope

Sy : écart-type des résultats par méthode de référence / standard deviation of the results using the reference method

d : moyenne des écarts appareil-référence / mean of the differences Lactoscope-reference method

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

Sy,x : écart-type résiduel / residual standard deviation

b :pente de la régression linéaire / slope of the linear regression equation

a : ordonnée à l'origine de la régression linéaire / point 0 ordinate.

Le tableau 4 montre que pour la matière grasse :

▪ en laits individuels :

- ♦ la pente de régression obtenue ($b = 0,981$) est significativement différente de 1,00 ($P = 1\%$)
- ♦ le biais moyen est de 0.04 g/l.

Les différences entre ces valeurs et les valeurs théoriques (1,00 et 0,00), bien que significative pour la pente, restent faibles et en accord avec les exigences des utilisateurs.

- ♦ L' écart type résiduel de régression est de 0.433 g/l.

▪ en laits de troupeaux :

- ♦ la pente de régression obtenue ($b = 0,980$) n'est pas significativement différente de 1,00 ($P = 5\%$)
- ♦ Le biais moyen est de 0.19 g/l

- ♦ L' écart type résiduel de régression est de 0.344 g/l.

Le tableau 5 montre que pour la matière protéique :

▪ En laits individuels :

- ♦ la pente de régression obtenue ($b = 0,991$) n'est pas significativement différente de 1,00 ($P = 5\%$),
- ♦ le biais moyen est de -0.44 g/l,
- ♦ l' écart type résiduel de régression est de 0.382 g/l.

▪ en laits de troupeaux :

- ♦ la pente de régression obtenue ($b = 1,007$) n'est pas significativement différente de 1,00 ($P = 5\%$),
- ♦ le biais moyen est de -0.16 g/l,
- ♦ l' écart type résiduel de régression est de 0.207 g/l

Pour le FPD (tableau 6), les calculs de régression laissent apparaître un écart type résiduel de 2,8 m°C pour les laits de troupeaux soit une précision d'estimation pour ces derniers de $\pm 5,6$ m°C.

↳ En conclusion,

Pour les critères matière grasse et matière protéique, le Lactoscope satisfait aux exigences de la norme FIL 141C : 2000 fixant à 1.0 g/kg pour les laits individuels et 0,7 g/kg pour les laits de troupeaux, les valeurs d'écart type résiduel de régression.

Pour les laits de troupeaux, les biais moyens observés sont légèrement supérieurs à la tolérance de $\pm 0,15$ g/l. Cela peut toutefois s'expliquer par le décalage d'environ trois semaines entre la préparation de la gamme d'étalonnage et l'analyse des laits de troupeaux.

Pour le critère FPD, les résultats de justesse obtenus sur le critère équivalent point de congélation sont conformes aux valeurs avancées par la société Delta Instruments, soit $Sy,x < 5$ m°C. les écarts moyens observés entre les valeurs instrumentales et les valeurs de référence peuvent s'expliquer par le fait que l'évaluation a porté sur des valeurs obtenues à partir d'un calibrage réalisé par le constructeur sans ajustement sur les laits locaux. Un ajustement basé sur l'analyse d'échantillons de la zone de collecte, comme requis dans la norme FIL 128 est nécessaire.

CONCLUSION GENERALE

Le Lactoscope a été soumis à l'évaluation de la conformité de ses performances par rapport aux exigences du cadre réglementaire du paiement du lait et du contrôle laitier en France pour les critères matière grasse et protéines. Ont été également évaluées, par ailleurs, les performances annoncées par le fabricant Delta Instrument, pour le critère équivalent point de congélation.

Les caractéristiques de base, à savoir, stabilité instrumentale et contamination entre échantillons se sont avérées conformes à l'utilisation attendue de ce matériel. Les caractéristiques de linéarité, sont apparues satisfaisantes sur les plages de taux usuellement rencontrées en lait de troupeaux ou en lait individuel de vache.

Sur le plan de la répétabilité, les valeurs d'écart types estimées apparaissent conformes aux exigences réglementaires pour la matière grasse et les protéines (norme FIL 141C et manuel CNIEL - Contrôle laitier). En outre, les performances de précision mesurées par les moyennes et les écarts type des écarts ainsi

que les écarts type résiduels liés aux régressions, satisfont à ces mêmes exigences.

En ce qui concerne le critère équivalent point de congélation, les valeurs d'écarts types estimées sont du même ordre de grandeur que la valeur de la méthode de référence (cryoscopie par recherche de plateau). Quant aux performances de précision, elles apparaissent conformes aux performances annoncées par le fabricant.

Bibliographie

- ♦ **AFNOR V 04-205, janvier 1990.** Lait. Détermination du point de congélation. Méthode au cryoscope à thermistance
- ♦ **AFNOR V 04-210, septembre 2000.** Lait. Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode acido-butyrométrique
- ♦ **AFNOR V 04-216, décembre 1985.** Lait. Détermination de la teneur en protéines. Méthode au noir amido (méthode pratique)
- ♦ **CNIEL** : manuel d'utilisation des appareils infrarouge dans le cadre du paiement du lait en France. Ref : Proc IR-04-05/00
- ♦ **FIL 108B:1991.** Lait. Détermination du point de congélation (Méthode au cryoscope à thermistance)
- ♦ **FIL 128A:1999.** Lait. Définition et évaluation de la précision globale des méthodes indirectes d'analyse du lait. Application au calibrage et au contrôle de qualité en laboratoire laitier
- ♦ **FIL 141C:2000.** Lait entier. Détermination des teneurs en matière grasse laitière, en protéines et en lactose. *Lignes directrices pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le moyen infrarouge*
- ♦ **QUERVEL X.; TROSSAT Ph.** Rapport préliminaire d'évaluation du Lactoscope®. CECALAIT, 2001, 13 pages

Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière

FIL : Fédération Internationale de Laiterie = IDF : International Dairy Federation

FNCV : feed nitrogen conversion value

FPD : freezing point determination

