

## EVALUATION : LE BENTLEY B 2000 / B

L'analyseur moyen infrarouge BENTLEY B 2000/B de la société Bentley permet de déterminer les teneurs en matière grasse, protéines et lactose du lait, ainsi qu'un équivalent "point de congélation". CECALAIT a évalué les caractéristiques analytiques et instrumentales pour la détermination de la matière grasse (filtres 1 et 2) et des protéines. Ses caractéristiques de base : stabilité instrumentale et traçage apparaissent très satisfaisantes. De même, sa linéarité, préalable indispensable au calibrage, est correcte pour les plages de taux usuels. Enfin, ses valeurs de répétabilité et de justesse, tant pour les laits individuels, que pour les laits de troupeaux sont conformes aux exigences réglementaires et normatives.

Le B2000/B est un appareil automatique d'analyse du lait par spectrométrie moyen infrarouge (MIR), fabriqué et commercialisé par la société BENTLEY. Il permet de déterminer la teneur en matière grasse, en matière protéique et lactose du lait; Il propose, en outre, la détermination d'un équivalent point de congélation. Il a été évalué en phase I (cf Lettre de Cecalait n° 33, page 1) par CECALAIT pendant 4 mois en 1999.

### L'APPAREIL

Le BENTLEY B2000/B est un spectrophotomètre dispersif infrarouge (Moyen infrarouge), pour la détermination de la teneur du lait en matière grasse par 2 filtres différents (filtres 1 et 2), en matière protéique et en lactose. Fonctionnant à haute cadence (450 échantillons / heure), il est entièrement piloté par un micro-ordinateur, aussi bien pour l'analyse que pour le calibrage.

Les modalités mathématiques du calibrage sont les suivantes : l'absorbance correspondant à un canal de mesure, c'est à dire "matière grasse 1", "matière grasse 2", protéine" et "lactose" est, dans un premier temps, linéarisée à l'aide d'un algorithme logarithmique. Dans un deuxième temps, le calcul des facteurs d'intercorrection est effectué par régression linéaire multiple (MLR).

### LES ESSAIS

Les essais d'évaluation ont été menés :

\* au laboratoire de physico-chimie de CECALAIT pour les analyses de référence et les analyses infrarouge B2000/B,

\* au Laboratoire Départemental d'Analyses du Jura (LDA 39), site de Poligny pour les analyses infrarouge comparatives sur un Milkoscan 4000.

Ils ont porté sur les points suivants :

- \* Evaluation de la stabilité de l'appareil
- \* Evaluation de la contamination entre échantillons
- \* Evaluation de l'influence du conservateur
- \* 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 141B:0996 "Guide pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le moyen infrarouge", soit sur le manuel de procédures de réglage des appareils infrarouge dans le cadre du paiement du lait en France (CNIEL).

#### ❶ STABILITE

Elle a été réalisée par l'analyse en mode automatique de 3 laits, couvrant la gamme de mesure normale en matière grasse et matière protéique. L'analyse se fait, en double, toutes les 20 minutes, au cours d'une demi-journée de travail, ceci représentant 15 cycles de mesure.

Les résultats montrent que, pour les critères matière grasse (filtres 1 et 2) et matière protéique, les valeurs moyennes journalières d'écart type de reproductibilité ( $S_R$ ) observées sont conformes à celles déduites de la norme FIL 141, soit une valeur maximale de  $S_R$  de **0,27 g / kg ou L**.

#### ❷ CONTAMINATION ENTRE ECHANTILLONS

Ce critère a été évalué en mode d'analyse automatique, par les analyses successives d'un même lait individuel de vache et d'eau distillée, selon la séquence : "LAIT – LAIT-EAU – EAU", répétée vingt fois. La mesure a porté sur les critères classiques : matière grasse par filtres 1 et 2, matière protéique et lactose.

Le taux de contamination ( $T_c$ ) a été estimé par la formule :

$$T_c = [(S (\text{Eau } 1) - S (\text{Eau } 2)) / (S (\text{Lait } 2) - S (\text{Eau } 2))] \times 100$$

Dans les conditions de réglage du système fluide préconisées par la société BENTLEY Instruments, le système B2000/B laisse apparaître des taux de contamination entre échantillons successifs de l'ordre de **0,00 % à 0,26 %** suivant les composants. Ces valeurs restent très inférieures à la limite d'acceptabilité de 1 % appliquée aux méthodes rapides de détermination de la richesse du lait pour le paiement et le contrôle laitier.

#### ❸ INFLUENCE DU CONSERVATEUR

L'essai a été réalisé sur 37 laits individuels de vache provenant de 2 élevages différents, dans le but de comparer trois modes de conservation différents :

- \* Lait cru (sans conservateur) à 4°C,
- \* Bronopol 0,02 % à 4°C,
- \* Bronopol 0,02 % à 20°C.

Les laits ont été répartis en flacons après 4 heures dans conservateur entre 10 et 15°C, puis stockés selon leurs modes de conservation respectifs pendant 24 heures avant d'être analysés sur l'instrument. Chaque lait a été analysé consécutivement pour les trois modes de conservation afin d'inclure une éventuelle dérive dans les différences constatées.

Les résultats ainsi obtenus ne montrent aucun effet significatif dû à la présence de conservateur ou à la température de stockage sur la détermination de la matière grasse par le filtre 1 et le filtre 2 et de la matière protéique.

Cependant, des écarts types résiduels de régression sensiblement plus élevés pour la détermination de la matière grasse (filtre 1 et 2) ont été observés en étudiant la régression linéaire simple associée à l'influence de la température de stockage (bronopol 4°C et bronopol 20°C). Ce phénomène est plus marqué en filtre 2, connu pour sa sensibilité à la qualité de l'homogénéisation. Par la suite, il conviendra de rester vigilant devant d'éventuelles perturbations de la matière grasse lors du traitement mécanique d'homogénéisation, pour les échantillons conservés à température ambiante. La phase II de l'évaluation devrait permettre de préciser la portée réelle du phénomène, à partir d'un plus grand nombre d'échantillons analysés en routine.

tableau 1 : évaluation de la répétabilité (en g/L)  
table 1 : repeatability of individual and herd milks (g/L)

	<b>Matière grasse / fat Filtre 1 / filter 1</b>	<b>Matière grasse / fat Filtre 2 / filter 2</b>	<b>Matière protéique protein</b>	<b>Lactose</b>
<b>LAITS INDIVIDUELS / INDIVIDUAL MILKS</b>				
<b>n</b>	123	123 (122) *	123 (121) *	123
<b>Moyenne / mean</b>	43.99	43.57 (43.42)	31.79 (31.41)	49.25
<b>Sx</b>	9.89	9.83 (9.74)	4.87 (3.70)	2.36
<b>Sr</b>	0.079	0.132 (0.104)	0.137 (0.132)	0.068
<b>Sr %</b>	0.18 %	0.30 % (0.24 %)	0.43 % (0.42 %)	0.14 %
<b>r</b>	0.219	0.366 (0.288)	0.379 (0.366)	0.188
<b>LAITS DE TROUPEAUX / HERD MILKS</b>				
<b>n</b>	49	49	49 (48)	49
<b>Moyenne / mean</b>	38.33	38.26	32.30 (32.31)	49.83
<b>Sx</b>	2.19	2.20	1.35 (1.36)	1.19
<b>Sr</b>	0.073	0.098	0.142 (0.135)	0.072
<b>Sr %</b>	0.19 %	0.26 %	0.44 % (0.42 %)	0.14 %
<b>r</b>	0.202	0.271	0.393 (0.374)	0.199

avec / with

n : nombre d'échantillons / number of samples

Sx : écart-type de série / standard deviation between sets of about 20 samples –each set is analyzed twice

Sr : écart-type de répétabilité / standard deviation of repeatability

Sr % : écart-type de répétabilité relatif / relative standard deviation of repeatability

r : écart maximum entre doubles / maximum deviation between doubles

() résultats après élimination des données anormales

\* les laits éliminés sont des échantillons présentant des teneurs supérieures à 60 g/L de MG / et 45g/L de MP

() results after discarding the outliers

\* discarded samples were over 60 g/L for fat and over 45 g/L for protein

#### ④ EVALUATION DE LA LINEARITE

La linéarité a été testée, pour chacun des canaux analytiques, à l'aide d'une gamme de 11 laits, aux teneurs régulièrement réparties, variant de :

\* 0 à 85 g/L de matière grasse, obtenus par mélange proportionnel (M/M), corrigé par les masses volumiques, à partir de crème et de lait écrémé,

\* 5 à 50 g/kg de protéines, obtenus par mélange proportionnel (M/M), corrigé par les masses volumiques, de rétentat protéique et de filtrat obtenu par ultrafiltration (seuil de coupure : 10KD)

Les gammes ont été analysées sur le B2000/B en mode manuel, sans agitateur et en données brutes, non corrigées des interactions entre composants. Les analyses ont été effectuées en triple dans l'ordre croissant des taux de matière grasse et de matière protéique.

Les résultats montrent que l'ajustement de la linéarité proposé par le constructeur (linéarisation sur une amplitude correspondant à la gamme de calibrage) convient pour les laits de vache de teneurs classiques, puisqu'on observe une plage linéaire jusqu'à 50g/kg en MG et 40g/kg en MP. Cependant pour l'analyse des laits à teneurs élevées : laits de vaches jersiaises en fin de lactation, lait de brebis par exemple, il apparaîtrait souhaitable de linéariser les canaux de mesure sur une gamme de concentration en matière grasse et matière protéique plus étendue.

#### ⑤ EVALUATION DE LA REPETABILITE

La répétabilité de l'appareil a été évaluée, en mode d'analyse automatique, à partir de 123 laits individuels de vache prélevés dans cinq élevages du Jura et de 49 laits de troupeaux, tous conservés avec du bronopol à 0,02 %. Cet ensemble couvrait une plage de taux allant de 21 à 81 g/L de matière grasse, de 24 à 63 g/L de protéines.

Les dosages ont été effectués en doublant chaque série d'environ 20 échantillons et en contrôlant la stabilité de la réponse instrumentale par l'analyse d'un lait témoin entre chaque répétition de série.

Les chiffres obtenus ont été corrigés par régression linéaire simple à partir d'une gamme de 13 échantillons de laits reconstitués en réseau orthogonal de TB TP selon la technique décrite par O. LERAY (1989).

Le tableau 1, au dos, regroupe l'ensemble des résultats obtenus. Ce tableau permet de conclure que, pour la matière grasse, la matière protéique et le lactose, le BENTLEY 2000/B offre une répétabilité conforme aux prescriptions de la norme FIL 141B:1996, soient **Sr = 0,14 g/kg et r = 0,4 g/kg.**

On notera, toutefois, que les valeurs d'écart type de répétabilité de la matière grasse par le filtre 2 sont sensiblement supérieures à celle de la matière grasse obtenue par le filtre 1.

#### ⑥ EVALUATION DE LA JUSTESSE

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

\* d'une part, 110 laits individuels de vache, dont les taux sont identiques à ceux indiqués en ⑤, provenant de 5 élevages du Jura, conservés avec du bronopol (0.02 % final), pour l'étude de la conformité pour le contrôle laitier,

\* d'autre part, 52 laits de troupeaux provenant de la région Franche-Comté (de taux identiques à ceux de ⑤), conservés avec du bronopol (0.02 % final), pour l'étude de la conformité pour le paiement du lait.

Les méthodes de référence utilisées ont donc été les méthodes officielles de paiement du lait, à savoir :

\* la méthode acidobutyrométrique Gerber pour la matière grasse, avec analyse en simple, mais confirmée en cas de résidus trop importants,

\* la méthode Noir Amido pour la matière protéique, avec analyse en double.

Les analyses effectuées par l'appareil B2000/B ont été réalisées en double, non consécutif, avec un contrôle de la stabilité instrumentale, comme au point ⑤. Le calibrage repose sur une régression linéaire multiple (M.L.R.) à partir d'une gamme d'échantillons de laits reconstitués (cf ⑤).

La justesse a été appréciée au moyen des moyennes des écarts, écarts types des écarts, des écarts types résiduels et des équations des régressions linéaires estimées en prenant en variable expliquée Y, la méthode de référence et en variable explicative X, le B 2000/B. Le cas échéant, les données anormales ("outliers"), représentant les plus fortes contributions à la variance, ont été éliminées.

Les tableaux 2 et 3 montrent les résultats obtenus sur laits individuels, respectivement sur laits de troupeaux.

avec / with

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 instrumental / equation of the estimated linear regression, where Y is the result given by the reference method and X the result given by B 2000/B

$\bar{d}$  : moyenne des écarts / mean of the differences

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

Sy,x : écart type résiduel de la régression / residual standard deviation for the linear regression

( ) résultats après élimination des données anormales / results after discarding outliers

Tableau 2 : justesse du B 2000/B sur laits individuels  
Table 2 : accuracy of B 2000/B for individual milks

critères analytiques	LAITS INDIVIDUELS INDIVIDUAL MILKS		
	MG filtre 1 fat filter 1	MG filtre 2 fat filter 2	matière protéique protein
n	110	110	110
équation equation	Y = 0.995 X - 0.343	Y = 0.979 X + 0.747	Y = 1.032 X - 1.045
$\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$	+ 0.533	+ 0.141	+ 0.041
Sd	0.832	0.486	0.561
Sy,x	0.835	0.461	0.552

Tableau 3 : justesse du B 2000/B sur laits de troupeaux  
Table 2 : accuracy of B 2000/B for herd milks

critères analytiques	LAITS DE TROUPEAUX HERD MILKS		
	MG filtre 1 fat filter 1	MG filtre 2 fat filter 2	matière protéique protein
n	51 (50)	52 (50)	52 (51)
équation equation	Y = 0.963 X + 1.446 (Y = 0.975 X + 0.990)	Y = 0.977 X + 0.983 (Y = 0.967 X + 1.354)	Y = 0.989 X - 0.238 (Y = 0.996 X - 0.442)
$\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$	-0.013 (-0.04)	-0.122 (-0.084)	+0.578 (+0.561)
Sd	0.500 (0.460)	0.384 (0.339)	0.296 (0.271)
Sy,x	0.499 (0.467)	0.385 (0.336)	0.298 (0.274)

Les tableaux 2 et 3 montrent que les biais moyens, pour la matière grasse, sont de :

- \* + **0,53 g/L** et - **0,04 g/L** pour le filtre 1,
- \* + **0,14 g/L** et - **0,084 g/L** pour le filtre 2,

respectivement en laits individuels et en laits de troupeaux ;

Les pentes de régression ne sont pas significativement différentes de 1.00. Les écarts types résiduels de régression sont

- \* **0,84 g/L** et **0,467 g/L** pour le filtre 1,
- \* **0,46 g/L** et **0,336 g/L** pour le filtre 2,

respectivement en laits individuels et en laits de troupeaux. La diminution notable de l'erreur de précision d'estimation, liée à

l'usage du filtre 2, apparaît clairement ici. Rappelons qu'il s'agit là d'une caractéristique de la méthode.

En ce qui concerne la matière protéique, les biais moyens sont de :

\* + **0,04 g/L** et + **0,56 g/L**, respectivement en laits individuels et en laits de troupeaux

La pente de régression n'est pas significativement différente de 1,00 pour les laits de troupeaux, mais l'est pour les laits individuels. Les écarts types résiduels de régression obtenus sont de :

\* **0,552 g/L** et **0,274 g/L**, respectivement en laits individuels et en laits de troupeaux

En tout état de cause, les écarts observés pour les pentes et les biais, par rapport aux valeurs théoriques (1 et 0) restent faibles et en accord avec les exigences des utilisateurs.

➤ En conclusion, pour les critères matière grasse et matière protéique, l'appareil B2000/B satisfait aux exigences de la norme FIL 141 fixant à 1,0 g/kg pour les laits individuels et 0,7 g/kg pour les laits de troupeaux, les valeurs d'écarts type résiduel de régression.

Les biais moyens (d) en laits de troupeaux sont légèrement supérieurs à la tolérance de +/- 0,15 g/kg pour la matière protéique. Toutefois, le décalage d'environ un mois entre la préparation de la gamme d'étalonnage et le prélèvement des laits de troupeaux peut expliquer ces décalages, lesquels restent dès lors dans des limites admissibles.

En outre, des analyses comparatives effectuées à partir de laits de troupeaux, sur le B 2000/B et sur un autre appareil déjà commercialisé (MS 4000, en filtre B pour la matière grasse) ont montré une étroite concordance entre les deux instruments, à savoir :

- \*pour la matière grasse, respectivement en filtre 1 et 2:  
- des biais moyens de -0,021 et de +0,013 g/L  
- des écarts type résiduels de régression de 0,375 et de 0,169 g/L,
- \* pour les protéines, un biais moyen de -0,065 g/L et un écart type résiduel de régression de 0,118 g/L.

## CONCLUSION GENERALE

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, le BENTLEY 2000/B a donné toute satisfaction. En effet, ses caractéristiques de base, stabilité instrumentale, traçage, se sont avérées conformes à l'utilisation attendue de ce matériel. Les caractéristiques de linéarité, préalable indispensable au calibrage, 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 normatives et réglementaires pour la matière grasse et les protéines. De même, ses performances de précision mesurées par les moyennes et les écart types des écarts et les écart types résiduels liés aux régressions satisfont aux normes et limites fixées dans ces mêmes cadres.

La procédure en vue d'une autorisation d'emploi dans le cadre du paiement du lait (cf Lettre de CECALAIT, n° 33) suit depuis lors son cours. L'appareil est maintenant testé en phase II sur les mêmes critères, ainsi que sur l'équivalent "point de congélation".

#### Abréviations

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière  
LDA 39 : Laboratoire Départemental d'Analyses de Poligny  
MLR : régression linéaire multiple

#### Bibliographie

- \* **FIL 141B:1996** Détermination des teneurs en matière grasse laitière, protéines et lactose. Guide pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le moyen infrarouge
- \* **CNIEL** : manuel des procédures de réglage des appareils infrarouge dans le cadre du paiement du lait en France
- \* **LERAY O.** Ajustement – Calcul des intercorrections des spectrophotomètres utilisés pour les dosages TB-TP-TL du lait en moyen infrarouge. Note technique ITEB-INRA Poligny n°2, 1989, 14 pages
- \* **TROSSAT Ph.** Rapport d'évaluation du Bentley 2000/B. CECALAIT, 1999, Poligny, 17 pages