

## EVALUATION DE L'ANALYSEUR FOODLAB®

Le Foodlab® est un analyseur pour matrices alimentaires développé par la société CDR (Italie) et distribué par la société GROSSERON. Il permet, entre autre, la détermination de multiples paramètres sur lait et produits laitiers à l'aide de kits spécifiques. Sur le plan technique, il regroupe une unité d'incubation (12 puits thermostatés à 37°C) et une unité de lecture (3 puits spectrophotométriques fonctionnant à trois longueurs d'ondes dans le visible.)

Les essais, réalisés à CECALAIT de février à septembre 2005, ont porté sur les tests "ammoniaque" et "phosphatase alcaline (ALP)" sur lait.

Pour chaque test les résultats des essais sont présentés dans deux parties distinctes :

- dans la partie A : les résultats sont issus de calibrages réalisés à partir d'étalons dont les valeurs ont été obtenus par détermination selon la méthode de référence,
- dans la partie B : les résultats ont été recalculés selon la méthode de calibrage préconisé par le constructeur (affectation de valeurs théoriques aux étalons).

Pour chaque évaluation, les valeurs Foodlab et référence sont issues de la moyenne de deux répétitions obtenues respectivement par la méthode instrumentale et de référence (seuls ont été retenus les doubles satisfaisant aux conditions de répétabilité des méthodes).

### EVALUATION DU TEST « PHOSPHATASE ALCALINE » (ALP)

Ces essais avaient pour objectifs :

- sur le plan quantitatif, d'évaluer la répétabilité de la méthode et la relation avec la méthode de référence NF EN ISO 11816 (1), et
- sur le plan qualitatif, d'évaluer la correspondance entre les résultats obtenus par les deux méthodes en terme de résultat positif/négatif par rapport à un seuil

donné (0,350 Unités/Litre (U/L) seuil préconisé par la note DGAL (2)).

#### Etude quantitative

##### Description des échantillons

Deux séries d'échantillons ont été utilisées pour ces essais :

- la série 1, composée de 13 échantillons de lait issus de mélanges entre lait traité thermiquement et lait cru afin d'obtenir une gamme de 0,1 à 1% de lait cru (5 échantillons de mélange lait UHT/lait cru et 8 échantillons de mélange lait pasteurisé/lait cru),
- la série 2, composée de 10 échantillons de lait issus de mélanges constitués entre lait pasteurisé et lait cru afin d'obtenir une gamme de 0,1 à 1% de lait cru.

##### Méthodes

Ces essais ont été réalisés selon deux méthodes :

- la méthode de référence, conformément à la norme NF EN ISO 11816 (1) par l'utilisation du test fluorophos® (3), et
- la méthode instrumentale, conformément au mode opératoire du constructeur par utilisation du kit ALP fourni par la société GROSSERON. Le principe repose sur l'hydrolyse du p-nitrophenylphosphate par la phosphatase alcaline qui génère, en milieu alcalin, un composé chromogène dont l'intensité, mesurée à 405 nm, est directement proportionnelle à l'activité phosphatasique de l'échantillon. Cette relation est établie et modifiable à tout moment, par calibrage de l'analyseur.

##### Résultats

###### ⇒ Partie A

###### → Calibrage

L'analyseur a été calibré sur trois points (lait pasteurisé avec 0%, 0,1% et 0,2% de lait cru) avec des valeurs de référence obtenues à l'aide de la méthode de référence. Chaque lot de kits a fait l'objet d'un calibrage spécifique.

(Série 1 : K = 14,68 et Q = -14,99 ; Série 2 : K = 15,73 et Q = -0,13)

K et Q : pente et ordonnée à l'origine du calibrage de l'instrument

###### → Evaluation de la répétabilité

Pour chaque série, la répétabilité a été calculée selon la norme ISO 5725 (4) au moyen des indicateurs :

- Sr (écart type de répétabilité) =  $\sqrt{(\sum w_i^2 / 2n)}$  avec  $w_i$  : écarts entre doubles et n : nombre de doubles

- r (écart maximal entre doubles) = 2,77.Sr

Série 1 : Sr = 0,012 U/L et r = 0,033 U/L pour un niveau moyen de 2,61 U/L

Série 2 : Sr = 0,016 U/L et r = 0,044 pour un niveau moyen de 3,30 U/L

###### → Evaluation de la relation avec la méthode de référence

Pour chaque série, la relation a été évaluée en effectuant une régression linéaire entre les résultats

instrumentaux et référence. Les figures 1a et 2a illustrent les résultats obtenus.

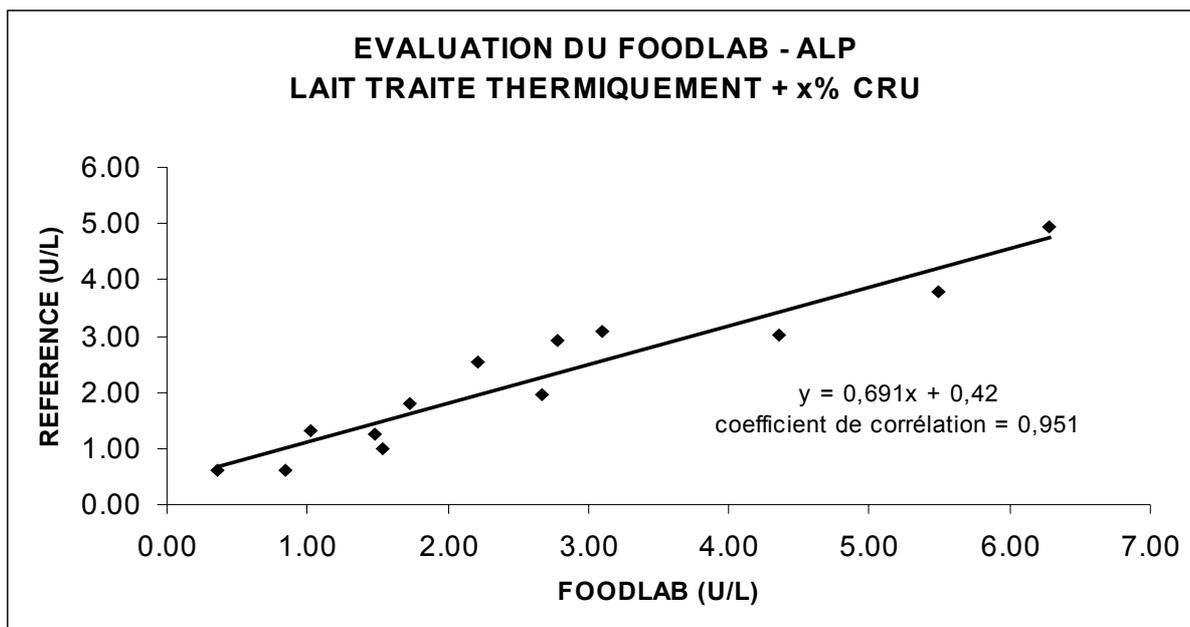


figure 1a : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère ALP (série 1)

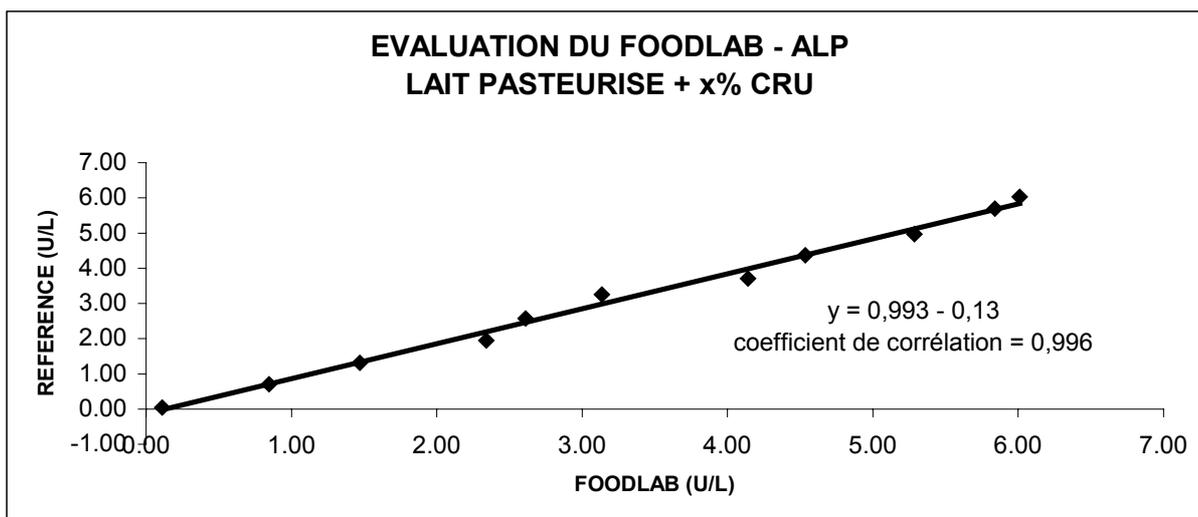


figure 2a : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère ALP (série 2)

Pour la série 1, la relation entre les deux méthodes est linéaire jusqu'à 6 U/L environ et le coefficient de corrélation, égal à 0,951, est proche de 1.

Pour la série 2, cette relation est optimale puisque les facteurs de pente et d'ordonnée à l'origine sont proches de 1 et zéro et le coefficient de corrélation voisin de 1.

⇨ Partie B

→ Calibrage

Les valeurs ont été recalculées suivant le calibrage de l'analyseur préconisé par le constructeur : trois points (lait pasteurisé avec 0%, 0,1% et 0,2% de lait cru)

avec des valeurs de référence (0,01, 1 et 2 U/L respectivement).

(Série 1 : K = 24,70 et Q = -25,30 ; Série 2 : K = 24,83 et Q = -0,29)

→ Evaluation de la répétabilité

Pour chaque série, la répétabilité a été calculée selon la norme ISO 5725 (4) au moyen des indicateurs cités préalablement.

Série 1 :  $S_r = 0,034$  U/L et  $r = 0,094$  U/L pour un niveau moyen de 4,31 U/L

Série 2 :  $S_r = 0,041$  U/L et  $r = 0,113$  pour un niveau moyen de 5,13 U/L

→ Evaluation de la relation avec la méthode de référence

instrumentaux et référence. Les figures 1b et 2b schématisent les résultats obtenus.

Pour chaque série, la relation a été évaluée en effectuant une régression linéaire entre les résultats

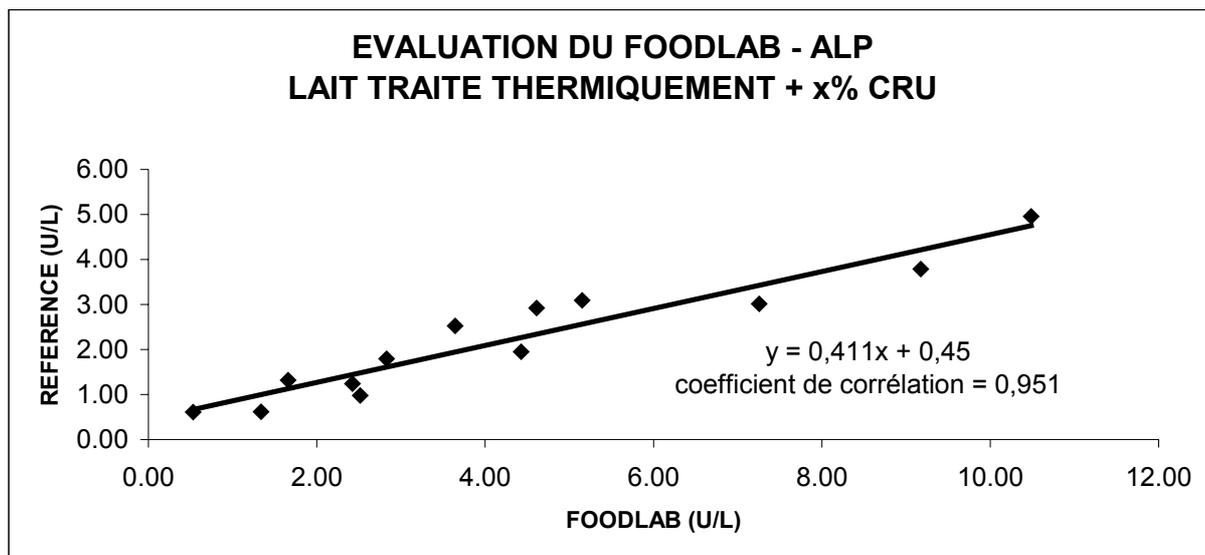


figure 1b : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère ALP (série 1)

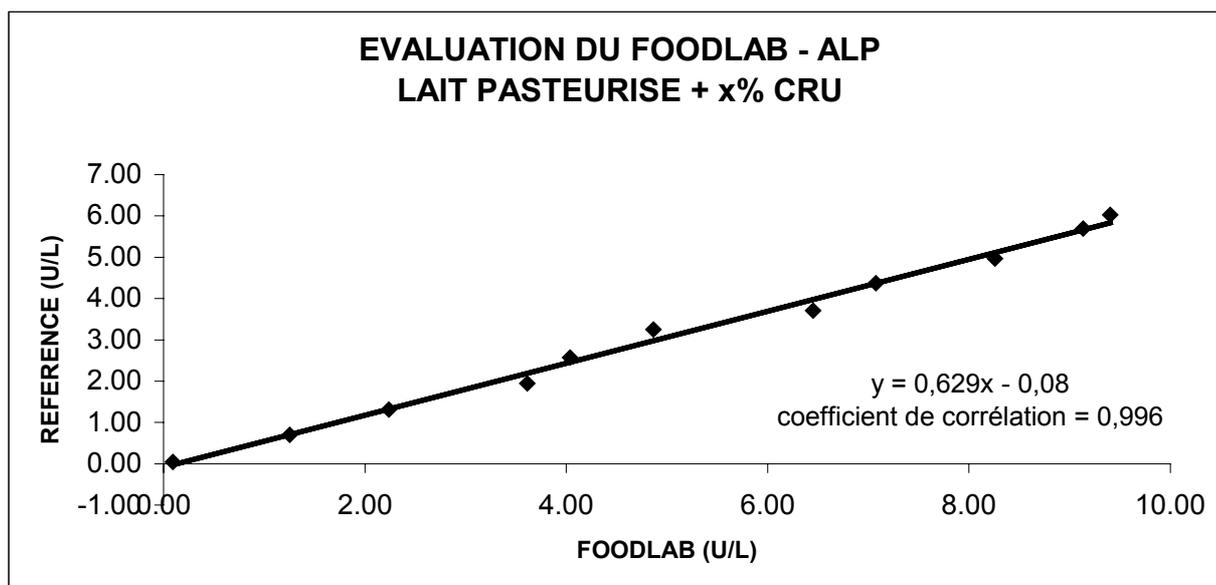


figure 2b : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère ALP (série 2)

Pour les deux séries, la relation reste linéaire avec une bonne corrélation mais les résultats sont plus éloignés des valeurs de référence que ceux obtenus en partie A.

### Etude qualitative

#### Description des échantillons et des méthodes

Comme précédemment, les essais ont été réalisés en deux séries :

Série 1 : -5 échantillons de lait cru de tank en provenance de la région Franche-comté

-5 échantillons de lait de consommation UHT (entier) et pasteurisé.

Série 2 : -6 échantillons de lait de consommation UHT (entier et demi-écrémé) et pasteurisé

-11 échantillons de lait issus de mélanges constitués de lait pasteurisé et lait cru afin d'obtenir une gamme variant de 0,01 à 0,1% de lait cru.

Les méthodes utilisées étaient identiques à celles de l'étude quantitative.

## Résultats

### ⇒ Partie A

#### → Calibrage

De manière équivalente à l'étude quantitative, des calibrages spécifiques des lots de kits utilisés (Série 1 : K = 14,68 et Q = -14,99 ; Série 2 : K = 8,85 et Q = -1,18) ont été réalisés.

#### → Echantillons

Le résultat est négatif si la valeur obtenue est inférieure à 0,350 U/L et positif au delà.

Pour tous les échantillons de lait cru de tank et de lait de consommation, les résultats obtenus par la méthode instrumentale sont identiques à ceux obtenus par la méthode de référence.

Pour les échantillons de mélange, on observe, pour le Foodlab, la détection d'un résultat positif (> 0,350 U/L) à partir de 0,01% de lait cru ajouté contre 0,03% pour la méthode de référence.

L'examen graphique montre que l'on peut améliorer les résultats par une correction de calibrage avec des étalons compris entre 0 et 0,1% de lait cru ajouté (selon l'équation  $Y = 0,7093 - 0,1062$ ). Ceci générerait alors des résultats en totale concordance avec les valeurs de référence.

### ⇒ Partie B

#### → Calibrage

De manière similaire à l'étude quantitative, des calibrages spécifiques des lots de consommables utilisés (Série 1 : K = 24,70 et Q = -25,30 ; Série 2 : K = 8,31 et Q = -0,20) ont été réalisés à partir des valeurs de référence théoriques fournies par le constructeur.

#### → Echantillons

Le résultat est négatif si la valeur obtenue est inférieure à 0,350 U/L et positif au delà.

Une concordance entre les résultats de la partie A et de la partie B est observée.

## Conclusion

D'un point de vue pratique, nous avons constaté une grande simplicité d'utilisation du test Foodlab «ALP». Sur le plan quantitatif, la répétabilité est satisfaisante par rapport aux spécifications de la méthode de référence fixant un écart maximal entre double de 0,062 U/L pour un niveau moyen de 0,500 U/L. On note une forte corrélation entre les résultats instrumentaux et de référence, de plus, la relation

entre les deux méthodes est linéaire. Cependant, les résultats sont plus proches des valeurs de référence après calibrage par rapport à des valeurs obtenues par la méthode de référence.

D'un point de vue qualitatif, quelque soit le mode de calibrage, les résultats sont très satisfaisants puisque parfaitement en accord avec ceux obtenus par la méthode de référence sur les échantillons de lait cru de mélange et lait de consommation du commerce. Le seuil de détection de lait cru est proche de celui de la méthode de référence et les résultats sont plus justes lorsqu'ils sont obtenus à partir d'un calibrage réalisé par rapport à des valeurs de référence.

Cependant, concernant les calibrages, les résultats montrent que :

- les paramètres K et Q sont très différents entre les différentes fabrications de kits ce qui implique un calibrage systématique pour chaque lot.
- les valeurs de référence des étalons sont très différentes selon les préparations d'où l'importance d'effectuer les calibrages à partir de valeurs de référence déterminées par l'analyse plutôt qu'à partir de valeurs fixes attribuées selon le pourcentage de lait cru ajouté.
- un calibrage entre 0 et 0,1% de lait cru ajouté permettrait d'améliorer la précision des résultats autour de 0,35 U/L.

## EVALUATION DU TEST « AMMONIAQUE »

L'objectif des essais a été d'évaluer la répétabilité et la justesse des résultats obtenus par l'analyseur comparativement à la méthode de référence normalisée NF V 04-217 (5).

### Description des échantillons

Les essais ont été réalisés en 2 séries :

- série 1 : 22 échantillons de lait comprenant :
  - 12 échantillons de lait cru de tank en provenance de la région Franche-comté, et
  - 10 échantillons de lait cru supplémentés en ammoniacale de manière à obtenir une gamme de 5 à 80 ppm environ. Ces derniers échantillons ont été préparés par dilution d'un lait enrichi en ammoniacale par ajout d'une solution aqueuse à 25%.
- série 2 : 27 échantillons de lait comprenant :
  - 8 échantillons de lait cru supplémentés en ammoniacale de manière à obtenir une gamme de 5 à 70 ppm environ. Les échantillons ont été préparés, selon les préconisations du constructeur, par dilution d'un lait enrichi en ammoniacale par ajout de sulfate d'ammonium, et
  - 19 échantillons de lait cru de tank en provenance de la région Franche-comté.

## Méthodes

Les essais ont été réalisés selon deux méthodes :

- la méthode de référence, conformément à la norme NF V 04-217 (5) par l'utilisation du test urée/ammoniaque développé par la société Boehringer Mannheim.(6)
- la méthode instrumentale, conformément au mode opératoire du constructeur par utilisation du kit Ammoniaque fourni par la société GROSSERON. Le principe repose sur la complexion de l'ion ammoniacal avec un dérivé phénolique, en milieu alcalin ce qui génère un composé chromogène dont l'intensité mesurée à 700 nm est directement proportionnelle à la quantité d'ammoniaque dans l'échantillon. Cette relation est établie et modifiable à tout moment par calibrage de l'analyseur.

## Résultats

### ⇨ Partie A

#### → Calibrage

Pour la série 1 : l'étalonnage installé par le constructeur ( $K = 33,97$  ;  $Q = 0,59$ ) a été utilisé sans modifications.

Pour la série 2 : deux calibrages ont été réalisés de manière spécifique à chaque lot de réactifs.

1<sup>er</sup> calibrage :  $K = 46,38$  et  $Q = 8,78$

2<sup>ème</sup> calibrage :  $K = 27,39$  et  $Q = 10,93$

#### → Evaluation de la répétabilité

La répétabilité a été calculée selon la norme ISO 5725 (4) sur les deux séries d'échantillons selon la formule préalablement explicitée.

Série 1 (9 échantillons de lait supplémentés) :

$S_r = 0,75$  ppm et  $r = 2,06$  ppm pour un niveau moyen de 17,31 ppm

Série 2 (19 échantillons de lait cru) :

$S_r = 1,23$  ppm et  $r = 3,41$  ppm pour un niveau moyen de 10 ppm

#### → Evaluation de la justesse

### *Echantillons supplémentés*

La justesse a été évaluée en effectuant une régression linéaire entre les résultats (moyenne des doubles) instrumentaux et référence des échantillons supplémentés de la série 1 (figure 3a) et de la série 2 (figure 4a).

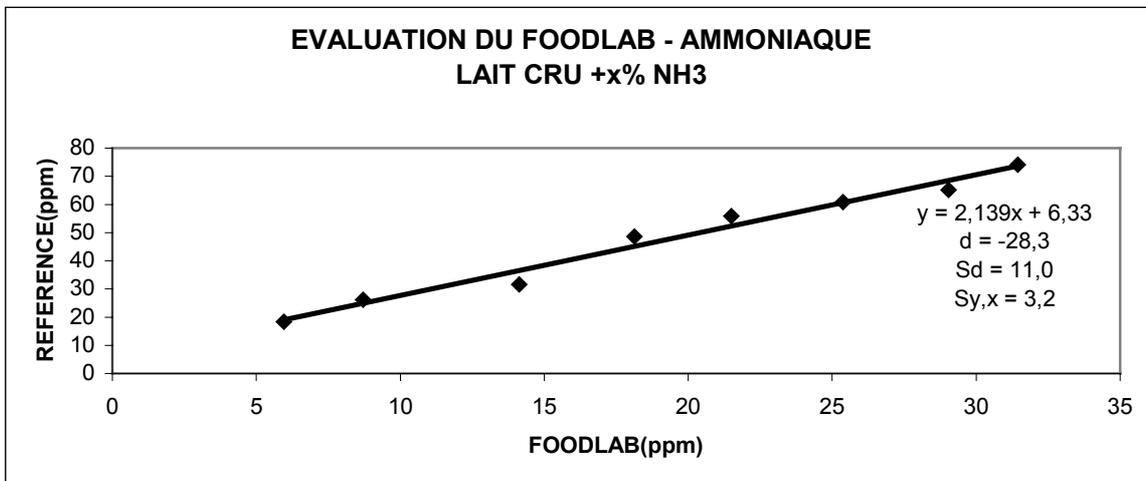


figure 3a : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère «Ammoniaque» (échantillons de lait supplémenté série 1)

*d* et *Sd* : moyenne et écart type des écarts ; *S<sub>y,x</sub>* : écart type résiduel de la régression linéaire

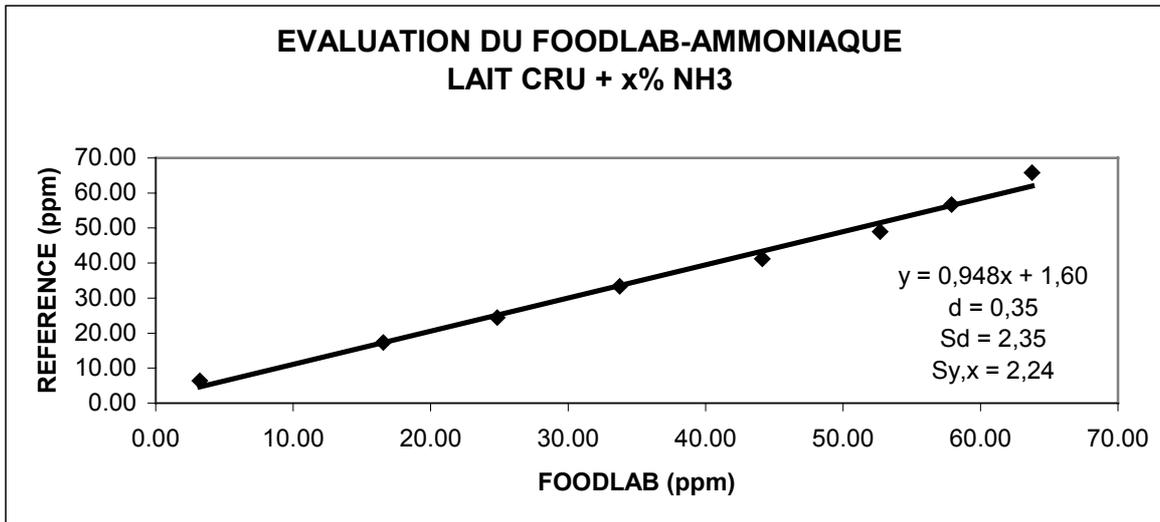


figure 4a : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère « Ammoniaque » (échantillons de lait supplémenté série 2)  
*d* et *Sd* : moyenne et écart type des écarts ; *Sy,x* : écart type résiduel de la régression linéaire

Pour la série 1, malgré une pente (2,139) et ordonnée à l'origine (6 ppm environ) éloignées respectivement de 1 et 0, et une moyenne des écarts de -28, la relation entre les deux méthodes est linéaire entre 18 et 70 ppm environ. En effet, l'écart-type résiduel obtenu sur cette gamme est égal à 3 ppm environ.  
 Pour la série, les résultats sont très concordants puisque la moyenne des écarts est voisine de zéro et les écarts type des écarts et résiduel sont proches et faibles (2 ppm environ).  
 Les différences de justesse observées entre la série 1 et la série 2 sont à mettre en relation avec le mode de calibrage.

*Echantillons de lait cru*

La justesse a été évaluée en calculant la moyenne des écarts (*d*) et l'écart-type des écarts (*Sd*) entre les résultats (moyenne des doubles) instrumentaux et référence (peu de variabilité des taux).

- 1<sup>er</sup> calibrage (7 échantillons de lait cru) :  
*d* = -6,9 ppm et *Sd* = 1,52 ppm.
- 2<sup>ème</sup> calibrage (12 échantillons de lait cru) :  
*d* = 1,16 ppm et *Sd* = 2,17 ppm.

On observe un écart moyen important sur les résultats des échantillons obtenus avec le 1<sup>er</sup> calibrage alors que ceux issus du 2<sup>ème</sup> calibrage sont nettement plus proches des valeurs de référence.

⇨ Partie B

Pour la série 2, les résultats ont été recalculés à partir de l'étalonnage installé par le constructeur (*K* = 33,97 ; *Q* = 0,59)

Les valeurs Foodlab et référence sont issues de la moyenne de deux répétitions obtenues respectivement par la méthode instrumentale et de référence (calculée dans des conditions de répétabilité).

→ Evaluation de la répétabilité

La répétabilité a été calculée selon la norme ISO 5725 (4) sur les deux séries d'échantillons selon la formule explicitée préalablement.

- Série 1 (9 échantillons supplémentés) :  
*Sr* = 0,75 ppm et *r* = 2,06 ppm pour un niveau moyen de 17,31 ppm
- Série 2 (10 échantillons de lait cru) :  
*Sr* = 2,11 ppm et *r* = 5,84 ppm pour un niveau moyen de 3,35 ppm

→ Evaluation de la justesse

*Echantillons supplémentés*

La justesse a été évaluée en effectuant une régression linéaire entre les résultats (moyenne des doubles) instrumentaux et référence des échantillons supplémentés de la série 1 (figure 3b) et de la série 2 (figure 4b).

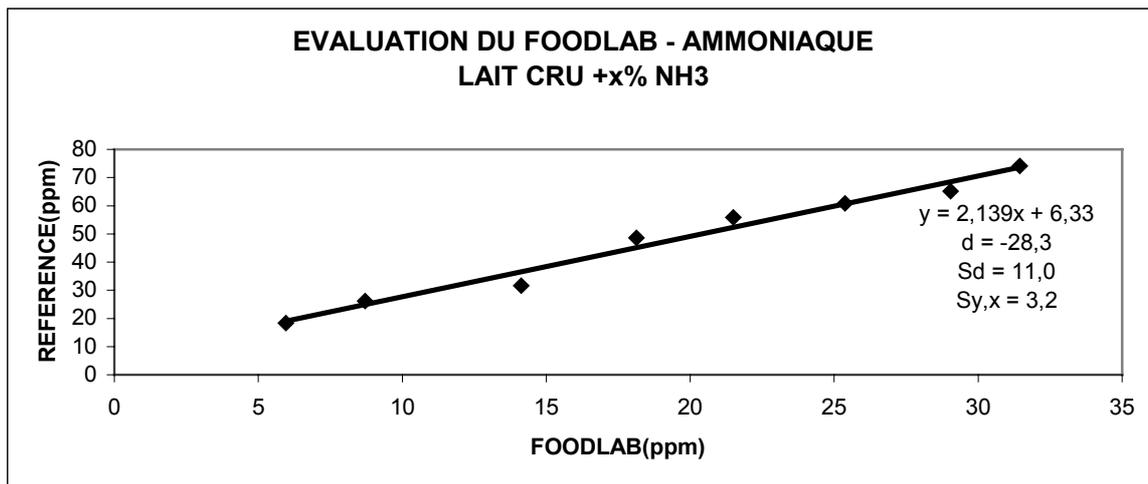


figure 3b : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère « Ammoniaque » (série 1)

$d$  et  $Sd$  : moyenne et écart type des écarts ;  $Sy,x$  : écart type résiduel de la régression linéaire

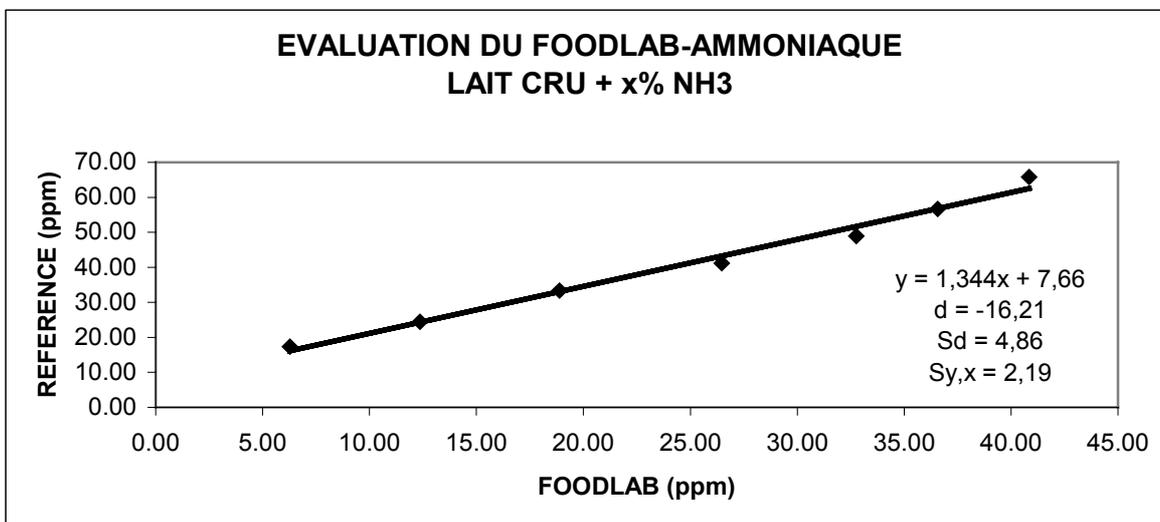


figure 4b : Relation entre les résultats instrumentaux et valeurs de référence concernant le critère « Ammoniaque » (série 2)

$d$  et  $Sd$  : moyenne et écart type des écarts ;  $Sy,x$  : écart type résiduel de la régression linéaire

Comme pour la série 1, les résultats de la série 2 sont éloignés des valeurs de référence.

#### Echantillons de lait cru

La justesse a été évaluée en calculant la moyenne des écarts ( $d$ ) et l'écart-type des écarts ( $Sd$ ) entre les résultats (moyenne des doubles) instrumentaux et référence (pas de variabilité des taux).

- 1<sup>er</sup> calibrage (7 échantillons de lait cru) :  
 $d = -14,12$  ppm et  $Sd = 1,45$  ppm.

- 2<sup>ème</sup> calibrage (12 échantillons de lait cru) :  
 $d = -8,70$  ppm et  $Sd = 2,57$  ppm.

Les résultats sont plus éloignés des valeurs de référence que pour la partie A.

#### Conclusion

Tout comme le test "ALP", le test "ammoniaque" est simple d'utilisation. Cependant, nous avons observé, dans certains cas, des difficultés pour obtenir des résultats cohérents en terme de répétabilité ce qui nous a conduit à éliminer quelques résultats et à refaire les essais correspondants. Ces écarts élevés entre doubles ne provenaient pas de l'analyseur mais des kits car les différences d'intensités de coloration étaient visibles à l'œil nu.

La répétabilité est satisfaisante par rapport aux spécifications de la méthode de référence fixant un écart maximal entre double de 2,8 ppm.

Pour la partie A, l'évaluation de la justesse, sur les échantillons supplémentés de la série 2, montre une bonne corrélation entre les deux méthodes et permet

d'envisager une précision d'estimation inférieure à 5 ppm dans l'étendue de mesure de 18 à 70 ppm (risque 5%).

Concernant les échantillons de lait cru de tank, pour ceux passés avec le 1<sup>er</sup> calibrage, l'écart moyen est élevé puisqu'il est de 7 ppm environ pour un niveau moyen de 12 ppm. Cet écart est vraisemblablement à mettre en relation avec un calibrage inapproprié.

Les résultats des échantillons obtenus avec le 2<sup>ème</sup> calibrage représentent également un niveau moyen de 12 ppm, et l'écart moyen et l'écart type des écarts respectivement d'environ 1 ppm de 2 ppm permettent une précision d'estimation de l'ordre de 5 ppm (risque 5%).

Pour la partie B, les résultats sont plus éloignés des valeurs de référence.

Ainsi, comme pour le test « ALP », concernant les calibrages :

- les paramètres K et Q sont très différents entre les différentes fabrications de kits ce qui implique un calibrage systématique pour chaque lot.

- les valeurs de référence des étalons sont très différentes selon les préparations d'où l'importance d'effectuer les calibrages à partir de valeurs de référence déterminées par l'analyse plutôt qu'à partir de valeurs fixes théoriques attribuées selon la quantité de sulfate d'ammonium ajoutée.

*Remerciements à la société RADIOMETER pour le prêt de matériel Fluorophos ®*

## REFERENCES :

- Rapport d'évaluation de l'analyseur Foodlab® - X. QUERVEL – Ph. TROSSAT – CECALAIT – Janvier 2006
- (1) Norme NF EN ISO 11816-1 : juin 2000 « Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline à l'aide de la méthode fluorimétrique : partie 1 lait et boissons à base de lait » 7 pages. Editions AFNOR
  - (2) Note DGAL « Avis relatif aux méthodes et normes utilisables pour vérifier la conformité aux critères microbiologiques des laits de consommation et produits à base de laits lors de leur mise sur le marché » JORF 251 du 27/10/2004.
  - (3) fluorophos® test system – Advanced instruments inc.
  - (4) Norme NF EN ISO 5725-2 : 1994 « exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure » Editions AFNOR
  - (5) Norme NF V 04-217 : 1992 « Lait et produits laitiers -Détermination de la teneur en ammoniac et en urée – méthode enzymatique » 9 pages. Editions AFNOR
  - (6) Test Urea/Ammonia – « UV method for the determination of urea and ammonia in foodstuffs ... » Ref 10 542 946 035 Boehringer Mannheim/R-biopharm