

DETERMINATION DE L'INDICE DE LIPOLYSE DU LAIT PAR INFRA ROUGE

Le CNIEL, avec la collaboration de CECALAIT et des laboratoires interprofessionnels, ont étudié la faisabilité d'une application de la spectrophotométrie Infra rouge à la détermination de l'indice de lipolyse dans le cadre du paiement du lait.

1/- OBJET

L'analyseur infra rouge FT6000 de la société FOSS dispose d'un module permettant la détermination de l'acidité de la matière grasse du lait. L'objet de l'étude est d'étudier la faisabilité de cette méthode dans le cadre du paiement du lait. L'infra rouge (IR) est envisagé comme alternative à la méthode aux savons de cuivre (MSC), méthode de routine actuellement validée et utilisée.

Les essais relatifs à cette évaluation sur le critère LIPOLYSE ont été réalisés dans 3 laboratoires interprofessionnels utilisant le même type d'instrument (FT 6000) et la même version du calibrage de base « LIPOLYSE » du constructeur FOSS Electric : version 1.1.0 (système 4000) ou version 1.2.1 (Foss integrator).

2/- PROTOCOLE D'ETUDE

Une population identique d'échantillons de laits de producteurs a été analysée durant 4 mois consécutifs

(mars à juin 2007) dans 3 laboratoires interprofessionnels selon le principe suivant :

MARS	AVRIL	MAI	JUIN
3 analyses IR (a-b-c)			
1 analyse MSC	/	/	1 analyse MSC
comparatif MSC/IR	comparatif MSC/IR	comparatif MSC/IR	comparatif MSC/IR
analyse ETG BDI	analyse ETG BDI	analyse ETG BDI	analyse ETG BDI
Répétabilité quotidienne	Répétabilité quotidienne	Répétabilité quotidienne	Répétabilité quotidienne
Stabilité quotidienne	Stabilité quotidienne	Stabilité quotidienne	Stabilité quotidienne

3/- RESULTATS

3.1/- Calibrages initiaux

A partir d'un calibrage standard installé par FOSS, une série d'échantillons de lait de producteurs a été

analysée comparativement par la méthode MSC et IR de façon à établir un calibrage spécifique par laboratoire. Le tableau ci-dessous récapitule les résultats obtenus.

	LABO N° 1	LABO N° 2	LABO N° 3
N	198	220	208
X (meq/l)	0,26	0,22	0,26
Sx (meq/l)	0,17	0,08	0,14
Equation de régression	$0,857x + 0,11$	$0,794x - 0,10$	$0,850x - 0,07$
Sy,x (meq/l)	0,09	0,04	0,07

Tableau 1 : Récapitulatif des calibrages initiaux des analyseurs infra rouges

N : nombre d'échantillon, *X* et *Sx* ; moyenne et écart-type des résultats MSC, *Sy,x* : écart-type résiduel de la régression $MSC = b(IR) + a$

On peut remarquer que les équations de calibrage sont relativement proches entre les laboratoires n° 1 et 3 alors que le laboratoire n° 2 présente une pente de régression plus faible (5 à 6 % environ).

Les valeurs d'écart type résiduels de régression sont significativement différentes entre les 3 laboratoires (0,04 à 0,09 meq/L).

3.2.-Essais comparatifs

Afin de suivre l'ajustement de la méthode infra rouge à la méthode aux savons de cuivre, des essais comparatifs ont été réalisés chaque mois, de mars à juin, entre les deux méthodes.

3.2.1- Résultats bruts

Une comparaison par laboratoire a été réalisée entre les résultats infra rouges (à l'aide du calibrage initial du laboratoire) et les résultats de savons de cuivre au mois de mars et juin sur une population de laits de la zone de collecte des laboratoires.

Pour le mois de mars, les pentes de régression obtenues sont globalement très proches de 1,00, montrant une bonne justesse de l'instrument en utilisant l'équation de calibrage initiale.

Au mois de juin, on observe, lors de l'évaluation de la justesse des instruments des laboratoires n°2 et n°3, que les pentes de régression obtenues sont significativement différentes de 1,00 (respectivement 1,48 et 1,36), ce qui indique une sous estimation forte des résultats infra rouges par rapport à la méthode aux savons de cuivre. La justesse de l'instrument du laboratoire n° 1 est tout à fait satisfaisante en utilisant le calibrage initial (pente = 1,01).

Ces observations sont liées à la composition des laits analysés entre les deux périodes (février–mars et juin). En effet, on observe une forte augmentation (40 % environ) de la moyenne des résultats de lipolyse entre les deux périodes pour les laboratoires n°2 et n°3 (respectivement 0,48 et 0,47 en mars contre 0,68 et 0,67 en juin) alors que la moyenne du laboratoire n° 1 reste stable entre les deux périodes sur le jeu d'échantillons observé.

Les augmentations de taux observées sur les laits analysés par les laboratoires n°2 et n°3 sont à mettre très vraisemblablement en relation avec l'augmentation de l'activité de la lipoprotéine lipase à ces périodes, fonction du stade de lactation et de gestation des animaux.

Ainsi, pour les laboratoires n°2 et n°3, on peut constater que les calibrages initiaux ne correspondent

plus à la composition des échantillons analysés au mois de juin.

On peut également dire que le modèle de calibrage de base FOSS ne prend pas en compte les variations de composition observées dans ces deux laboratoires, ne les compensant pas directement.

3.2.2- Résultats corrigés MSC

Chaque laboratoire a suivi tous les mois la justesse de son analyseur, et analysé comparativement une population de laits par la méthode infra rouge et par la méthode aux savons de cuivre.

Nous avons ainsi corrigé les données infra rouges de mars et de juin à l'aide des équations d'ajustement de chacun de ces mois pour étudier l'amélioration de la relation entre les deux méthodes en utilisant un ajustement mensuel des analyseurs.

Pour le mois de mars et le mois de juin, la correction des données infra rouges à l'aide de l'équation d'ajustement n'améliore pas la justesse de l'analyseur. On peut cependant noter que pour le mois de mars, la performance de justesse des laboratoires était déjà très bonne en utilisant le calibrage initial.

3.2.3- Résultats corrigés ETG BDI

Les matériaux de référence fournis par CECALAIT et utilisés pour calibrer la méthode aux savons de cuivre (ETG BDI) ont été passés sur l'analyseur afin d'étudier la possibilité d'un calibrage mensuel direct (sans passer par l'intermédiaire de la méthode aux savons de cuivre).

Une équation de correction (BDI vs IR) a été calculée pour chaque mois de la période mars à juin. Le tableau 2 présente les résultats des équations d'ajustement obtenus en mars pour les trois laboratoires.

Les résultats infra rouges issus du calibrage initial ont ensuite été corrigés à l'aide de l'équation obtenue comme ci-dessus et comparés aux résultats savons de cuivre par régression linéaire simple.

MARS	LABO N° 1	LABO N° 2	LABO N° 3
N	6		
X (meq/l)	0,36		
Mini-maxi (meq/l)	0,157-0,462		
Equation de régression	2,088x – 0,44	2,352x – 0,56	1,487x – 0,07
Sy,x (meq/l)	0,02	0,02	0,03

Tableau 2 : Récapitulatif des ajustements de mars des analyseurs infra rouges

N : nombre d'échantillon, X et Sx ; moyenne et écart-type des résultats MSC, Sy,x : écart-type résiduel de la régression MSC = b(IR) + a

On peut noter que les équations de corrections obtenues présentent des pentes très différentes de

1,00 et une ordonnée à l'origine très fortement négative pour les laboratoires n°1 et n°2.

Les régressions linéaires réalisées à partir des données corrigées en utilisant les ETG BDI présentent des pentes significativement différentes de 1,00. Du fait de l'ordonnée à l'origine fortement négative, un grand nombre de données se retrouvent négatives pour les laboratoires n°1 et n°3 après correction.

En étudiant ces résultats de comparaisons et les résultats infra rouges « bruts » des ETG BDI, nous pouvons dire que ces échantillons ne sont pas appropriés au calibrage et/ou ajustement des analyseurs infra rouges pour le critère lipolyse.

La technique de fabrication de ces échantillons et notamment l'induction de la lipolyse par ajout d'effecteurs biologiques et leur stabilisation thermique permet d'expliquer leur signal infra rouge spécifique et leur non représentativité par rapport à des laits de producteurs.

3.3/- Classement des résultats

Une comparaison du classement des laits de producteurs analysés selon la méthode aux savons de cuivre et la méthode infra rouge a été effectuée pour les 4 mois de l'étude, se basant sur la limite de 0,89 meq/100 g de matière grasse.

Afin d'étudier l'influence du nombre de valeurs infra rouges prise en compte par trimestre pour le classement sur la concordance avec la méthode aux savons de cuivre, le classement a été effectué en prenant en compte :

- une valeur infra rouge obtenue en même temps que la valeur savons de cuivre
- la moyenne des 3 valeurs infra rouges de chaque mois mars avril et mai
- la moyenne des 6 valeurs infra rouges du mois de mars et avril

- la moyenne des 9 valeurs infra rouges des mois mars avril et mai.

3.3.1- Résultats bruts

La proportion de résultats supérieurs à la limite apparaît toujours plus faible par la méthode infra rouge que par la méthode aux savons de cuivre, et ce pour les analyses de mars et juin.

L'explication de ces résultats vient très probablement du constat visuel de non-linéarité que l'on peut faire sur toutes les comparaisons réalisées entre méthode aux savons de cuivre et méthode infra rouge. Ces observations corroborées par l'observation des résultats obtenus lors de l'évaluation initiale du FT 6000 par CECALAIT sur le critère lipolyse (avec la méthode BDI en référence) nous amène à conclure que la non-linéarité observée provient du modèle de calibrage initial du FT 6000 (Basic calibration FOSS).

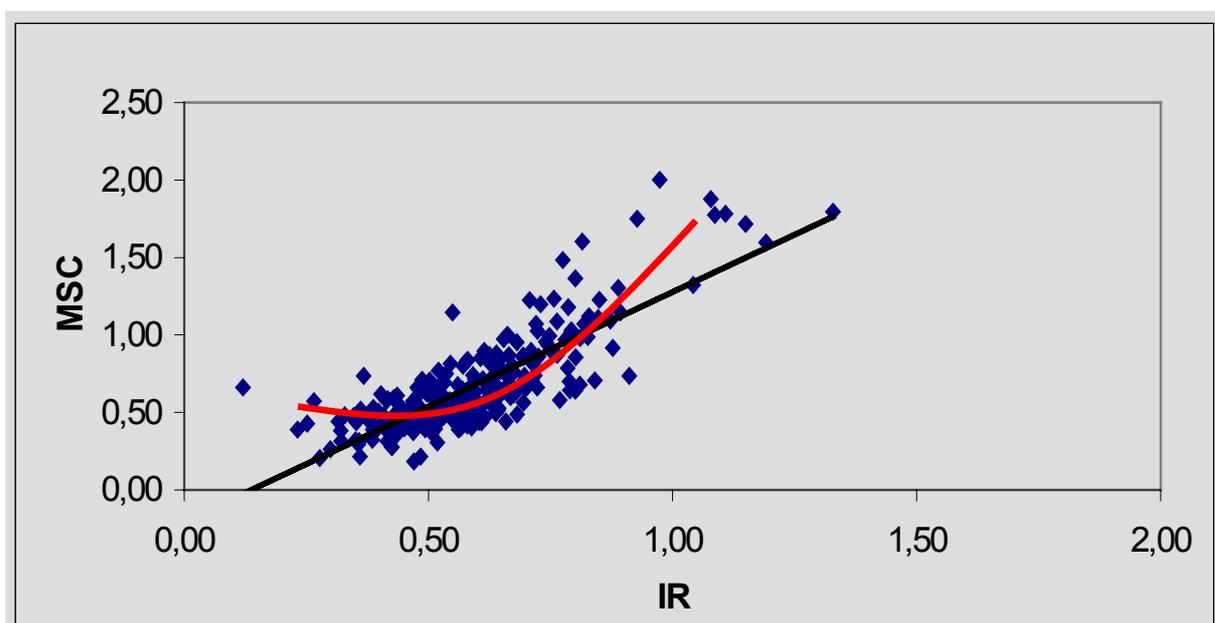
De ce fait, on observe que le calibrage infra rouge a une tendance à sous-estimer les résultats faibles et forts et sur-estimer les résultats médians.

Des essais spécifiques seraient nécessaires pour confirmer statistiquement cette hypothèse.

Il est donc difficile de conclure sur l'amélioration apportée par des analyses infra rouges multiples (chaque décade) par rapport à une analyse trimestrielle du fait de ce problème de linéarité et du pourcentage très faible d'échantillons hors limite pendant la période de mars à mai.

3.3.2- Résultats corrigés MSC

Après correction des données infra rouges à l'aide des équations d'ajustement obtenues respectivement en mars et juin, on observe globalement les mêmes tendances que pour les résultats « bruts ».



3.4/- Evaluation de la répétabilité

La répétabilité a été évaluée quotidiennement par analyse d'une série de 10 échantillons en double non

consécutifs. Les écarts-type de répétabilité moyens mensuels (en meq/l) sont reportés dans le tableau suivant :

	LABO N° 1	LABO N° 2	LABO N° 3
MARS	0,026	0,017	0,020
AVRIL	0,025	0,015	0,019
MAI	0,028	0,015	0,019
JUIN	0,029	0,016	0,018

Tableau 3 : récapitulatif des écarts-type de répétabilité moyens mensuels (meq/L)

On observe une variabilité des écarts type de répétabilité attribuable à un effet « instrument ».

Les résultats sont, à l'exception de ceux du laboratoire n°2, supérieurs à la limite prise en référence pour la méthode aux savons de cuivre, soit 0,018 meq/L.

On peut remarquer également que les différences observées entre les laboratoires peuvent principalement expliquer les différences observées sur les écarts types résiduels de régression (calibrage initiaux), l'erreur de répétabilité venant impacter

directement la « précision d'estimation » de la méthode infra rouge.

3.5/- Stabilité

La stabilité a été évaluée quotidiennement par analyse d'une série de 8 répétitions d'un même lait congelé.

On observe que les valeurs moyennes mensuelles par laboratoire sont très proches des valeurs cibles déterminées en début de mois, et ce sur les 4 mois pour tous les laboratoires.

CONCLUSION

- On a pu noter que la justesse de l'instrument sur le critère lipolyse était satisfaisante (pente non significativement différente de 1,00) dans le cas où le calibrage a été réalisé avec des laits représentatifs de ceux analysés en routine (cas des analyses du mois de mars 2007). Cependant, le système d'ajustement mensuel tel qu'il a été pratiqué lors de ces essais n'a pas permis d'assurer une bonne adéquation du calibrage à la composition fine des laits, expressément dans des périodes de variation (début d'été notamment).
- La concordance de classement des laits, selon qu'on utilise la méthode aux savons de cuivre ou la méthode infra rouge, n'est à ce jour pas assurée (sous estimation systématique des taux forts par la méthode infra rouge), vraisemblablement à cause d'un problème de non-linéarité du modèle utilisé (basic calibration FOSS).
- L'utilisation des ETG BDI, qui satisfait parfaitement au calibrage ou à la vérification des méthodes chimiques (méthode aux savons de cuivre et BDI), ne peut absolument pas être une voie pour remplacer l'opération de calibrage et/ou d'ajustement de l'analyseur par une méthode chimique de transfert (savons de cuivre).
- Compte tenu de ces résultats, la détermination de l'indice de lipolyse par méthode infra rouge n'est pas encore applicable dans le cadre du paiement du lait. Des essais complémentaires seront menés avec pour objectif de rendre plus robuste le calibrage initial des instruments et palier les variations de composition fine des laits.