

EVALUATION : LE MILKOSCAN 6000

L'analyseur moyen infrarouge, à transformée de Fourier, Milkoscan 6000 de la société Foss permet la détermination des teneurs en matière grasse, protéines et lactose du lait, ainsi que d'autres critères comme la teneur en urée ou un équivalent "point de congélation". Il peut être calibré selon deux modes de calcul différents. D'une part, un mode "traditionnel", la régression des moindres carrés partiels (PLS traditionnel), appliquée aux réponses obtenues aux longueurs d'onde habituellement utilisées pour la matière grasse et les protéines, s'utilise pour le dosage des composants majeurs. D'autre part, un mode expérimental, la PLS appliquée aux réponses obtenues sur un plus large éventail de longueur d'onde (PLS Spectrum) convient pour l'ensemble des critères. CECALAIT a évalué les caractéristiques analytiques et instrumentales de l'appareil, pour la détermination de la matière grasse, des protéines et de l'équivalent "point de congélation", en utilisant les deux modes de calibrage. Ses caractéristiques de base : stabilité instrumentale et traçage apparaissent très satisfaisantes. Sa linéarité est, de même, correcte pour les plages de taux usuels. Quel que soit le mode de calibrage, les 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 Milkoscan 6000 est un appareil automatique d'analyse du lait par spectrométrie moyen infrarouge, fabriqué et commercialisé par la société FOSS. Il permet de déterminer la teneur en matière grasse, en matière protéique et en lactose du lait et propose, en outre, la détermination d'autres critères tels que la teneur en urée et un équivalent point de congélation. Il a été évalué en phase I (cf page 1) par CECALAIT de juillet à octobre 1999.

L'APPAREIL

Il utilise un système infrarouge mono-faisceau basé sur la technique de la transformée de Fourier (IRTF) et comprend un interféromètre. Fonctionnant à haute cadence (450 échantillons / heure), il est entièrement piloté par un logiciel sous environnement Windows.

Il dispose de deux types de calculs pour concevoir un calibrage, à partir du signal primaire :

* la régression des moindres carrés partiels (PLS), à partir des absorbances obtenues aux longueurs d'ondes habituellement utilisées pour le calcul par régression multilinéaire (MLR), à savoir 3 longueurs d'onde pour la matière grasse et 4 pour les protéines (cf norme FIL 141B:1996).

Ce calibrage est dit "calibrage P.L.S. traditionnel" et convient pour la prédiction de la matière grasse, de la matière protéique et du lactose. Soulignons qu'il aboutit à des coefficients identiques à ceux qui seraient calculés par un calcul par M.L.R..

* La régression des moindres carrés partielle (PLS), à partir d'un ensemble d'absorbances du spectre des échantillons de calibrage. Ce mode est dit "calibrage P.L.S. Spectrum". Il s'applique à la prédiction de l'urée et de l'équivalent point de congélation, mais convient également pour la matière grasse, la matière protéique et le lactose.

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 au Milkoscan 6000

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

S'intéressant aux critères matière grasse, matière protéique et équivalent point de congélation, 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 141B:0996 "Guide pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le moyen infrarouge", soit sur la "norme" d'utilisation des appareils infrarouge dans le cadre du paiement du lait en France (CNIEL).

● STABILITE

Elle a été évaluée à l'aide de 3 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 environ 15 cycles de mesure.

Quel que soit le mode de calibrage utilisé, les résultats montrent que, pour les critères matière grasse et matière protéique, les valeurs moyennes journalières d'écart type de reproductibilité (S_R) observées sont conformes à celles déduites de la norme FIL 141B, soit $S_R < 0,27$ g/kg.

Pour le paramètre équivalent point de congélation (FPD), en l'absence de valeurs normalisées ou présentes dans le manuel du CNIEL, c'est la valeur de reproductibilité de la méthode de référence FIL 108, c'est-à-dire, $R = 5 \text{ m}^\circ\text{C}$ qui sert de repère. Les valeurs de reproductibilité obtenues 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 individuel de vache et d'eau distillée, selon la séquence : "LAIT – LAIT-EAU* - EAU*", répétée vingt fois. La mesure a porté sur les critères habituels : matière grasse, matière protéique et lactose, et ce à 3 niveaux de composition en matière grasse et matière protéique.

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 ces conditions, le système MS 6000 laisse apparaître des contaminations entre échantillons successifs allant de 0,39 à 0,97%, quel que soit 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.

NB : pour des raisons de conductivité liée au déclenchement de l'analyse, les échantillons d'eau ont été additionnés de KCl à 0,4%, selon les recommandations du constructeur.

③ LINEARITE

Elle a été évaluée pour chacun des canaux analytiques, à l'aide de gammes de 11 laits, aux teneurs régulièrement réparties, variant de :

* 0 à 120 g/L de matière grasse, réalisées par mélange proportionnel (P/V) à partir de crème et de lait écrémé,

* 0 à 83 g/L (P/V) de matière protéique, réalisées par mélange proportionnel (P/V) à partir de rétentat de protéines et de filtrat obtenu par ultrafiltration tangentielle (seuil de coupure 10KD).

Ces gammes ont été analysées sur le MS 6000 en mode automatique, en double, dans l'ordre croissant, puis dans l'ordre décroissant des taux de matière grasse. L'évaluation de la linéarité a été effectuée sur les données brutes, correspondant au signal primaire obtenu pour la matière grasse et la matière protéique. Ces données ont donc été utilisées avant application des coefficients P.L.S., et, en conséquence ne sont pas corrigés par rapport aux interactions entre composants.

Les résultats montrent que l'ajustement de la linéarité, proposé par le constructeur, convient pour les laits de vache de teneur classique. En effet, la linéarité est satisfaisante pour toute l'étendue des teneurs testées en protéines et en MG. Cependant pour l'analyse des laits à teneur élevée, comme par exemple, les laits de brebis en fin de lactation ($MG > 100\text{g/L}$), il apparaîtrait

souhaitable d'optimiser la linéarité sur une gamme de concentrations plus étendue. Ceci est possible en appliquant un polynôme d'ordre 3 au traitement du signal obtenu.

④ REPETABILITE

La répétabilité de l'appareil a été évaluée en mode d'analyse automatique, à partir de 140 laits individuels de vache prélevés dans huit élevages du Jura et de 55 laits de troupeaux. Cet ensemble couvrait une plage allant de 16 à 73 g/L en matière grasse et de 26 à 48 g/L en matière protéique.

Les dosages ont été effectués, en doublant chaque série de 10 échantillons et en contrôlant la stabilité de la réponse instrumentale par l'analyse d'un lait témoin entre les répétitions de séries. Il n'y a eu addition de conservateur (bronopol à 0,02%) qu'aux laits individuels.

La répétabilité a été évaluée selon les différentes possibilités de calibrage de l'appareil, soit :

* en calibrage P.L.S. "traditionnel" pour la matière grasse et la matière protéique

* en calibrage P.L.S. "Spectrum" pour la matière grasse, la matière protéique et l'équivalent point de congélation.

Le tableau 1 (cf page 4) regroupe l'ensemble des résultats obtenus

avec / with

PLS : moindres carrés partiels / partial least squares

FPD : équivalent point de congélation / Freezing Point Detection

\bar{X} : moyenne / mean

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

Le tableau montre que le Milkoscan 6000 offre une répétabilité conforme aux prescriptions de la norme FIL 141B:1996, soient **Sr = 0,14 g/L et r = 0,4 g/L**, pour la matière grasse et la matière protéique, quel que soit le mode de calibrage, P.L.S. Traditionnel ou Spectrum, retenu.

En ce qui concerne le critère équivalent point de congélation (FPD), les valeurs de répétabilité obtenues ($Sr = 0,55 \text{ m}^\circ\text{C}$ pour les laits individuels et de troupeaux) sont inférieures à la limite de la méthode de référence au cryscope à thermistance ($Sr = 1,4 \text{ m}^\circ\text{C}$).

Tableau 1 : évaluation de la répétabilité

Table 1 : repeatability

	N	\bar{X}	Sx	Sr	Sr %	r
LAITS INDIVIDUELS / INDIVIDUAL MILKS						
Matière grasse (g/L) fat P.L.S. Traditionnel "traditional PLS"	140	42,28	9,96	0,120	0,28 %	0,332
Matière grasse (g/L) fat P.L.S. Spectrum	140	43,64	10,33	0,083	0,19 %	0,230
Matière protéique protéin (g/L) P.L.S. Traditionnel "traditional PLS"	140	33,26	3,87	0,050	0,15 %	0,139
Matière protéique protéin (g/L) P.L.S. Spectrum	140	34,23	4,09	0,036	0,11 %	0,100
F.P.D. (m°C) PLS Spectrum	140	-482,2	-10,64	-0,556	-0,12%	-1,54
LAITS DE TROUPEAUX / HERD MILKS						
Matière grasse (g/L) fat P.L.S. Traditionnel "traditional PLS"	55	39,50	2,80	0,137	0,35 %	0,379
Matière grasse (g/L) fat P.L.S. Spectrum	55	40,24	2,81	0,084	0,21 %	0,233
Matière protéique protéin (g/L) P.L.S. Traditionnel "traditional PLS"	55	33,74	1,21	0,048	0,14 %	0,133
Matière protéique protéin (g/L) P.L.S. Spectrum	55	34,73	1,29	0,051	0,15 %	0,141
F.P.D. (m°C) PLS Spectrum	55	-480,7	-6,19	-0,533	-0,11%	-1,48

5 JUSTESSE

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

* d'une part, 112 laits individuels de vache provenant de 7 élevages du Jura, conservés avec du bronopol (0,02 % final), pour l'étude de la conformité pour le contrôle laitier,

* d'autre part, 55 laits de troupeaux provenant de la région Franche-Comté, sans conservateur, pour l'étude de la conformité pour le paiement du lait.

Les méthodes de référence utilisées sont 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 au Noir Amido pour la matière protéique, avec analyses en double,

ainsi que la méthode normalisée de détermination du point de congélation, par recherche de plateau, à l'aide d'un cryoscope à thermistance (norme FIL 108B).

Les analyses effectuées par le Milkoscan 6000 ont été réalisées en doubles non consécutifs, avec un contrôle de la stabilité du signal, comme au point 4.

Pour les critères matière grasse et protéique, l'évaluation a porté :

* d'une part, sur les valeurs obtenues après des calibrages "P.L.S. traditionnel" 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).

* d'autre part, sur les valeurs obtenues à partir des calibrages "P.L.S. Spectrum", réalisés par la société Foss, non ajustés avec des laits locaux.

Cette dernière procédure a également été appliquée au critère "Equivalent point de congélation" (FDP).

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 Milkoscan 6000.

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

Tableau 2 : justesse du Milkoscan 6000 sur laits individuels

Table 2 : accuracy of Milkoscan 6000 on individual milks

	M.G. / fat P.L.S. Trad g/L	M.G. / fat P.L.S. Spect g/L	MP / protein P.L.S. Trad g/L	MP / protein P.L.S. Spect g/L	F.P.D. m°C x -1
\bar{Y}	41,63	41,63	32,86	32,86	524,0
\bar{X}	41,38	42,70	32,85	33,80	482,0
Sy	7,77	7,77	3,48	3,48	8,72
$\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$	-0,25	+1,07	-0,01	+0,94	-42,0
Sd	0,677	0,753	0,345	0,367	7,43
Sy,x	0,667	0,654	0,340	0,346	6,10
b	0,9831	0,9533	1,0195	0,965	(1)
a	0,953	0,923	-0,629	+0,255	(1)
n	112	112	112	112	111

(1) valeurs non communiquées car non significatives du fait de la faible amplitude des taux rencontrés

Tableau 3 : justesse du Milkoscan 6000 sur laits de troupeaux

Table 3 : accuracy of Milkoscan 6000 on herd milks

	M.G. / fat P.L.S. Trad g/L	M.G. / fat P.L.S. Spect g/L	MP / protein P.L.S. Trad g/L	MP / protein P.L.S. Spect g/L	F.P.D. m°C x -1
\bar{Y}	39,27	39,27	33,81	33,81	516,6
\bar{X}	39,54	40,24	33,73	34,72	480,46
Sy	2,79	2,79	1,21	1,21	8,05
$\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$	+0,28	+0,98	-0,08	+0,91	-36,1
Sd	0,298	0,287	0,131	0,155	3,08
Sy,x	0,292	0,282	0,132	0,124	2,80
b	0,9750	0,976	0,9955	0,9278	1,2119
a	+0,710	-0,013	+0,232	+1,596	-65,67
n	55	55	55	55	55

NB : pour l'évaluation du FPD, 5 laits de troupeaux ont été dilués à 30% pour élargir la gamme de taux en équivalent point de congélation

avec / with

PLS : moindres carrés partiels / partial least squares

FPD : équivalent point de congélation / Freezing Point Detection

\bar{X} : moyenne appareil / mean Milkoscan 6000

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

Sy : écart de série / difference among sets

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

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

Sy,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 instrumental : $Y = bX + a$,

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 Milkoscan 6000 : $Y = bX + a$,

with b : slope, a : point O ordinate

n : nombre d'échantillons / number of samples

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

* **-0,25 g/L** et **+0,28 g/L**, en calibrage PLS traditionnel,

* **+1,07 g/L** et **+0,98 g/L**, en calibrage PLS Spectrum,

respectivement en laits individuels et en laits de troupeaux.

Les pentes de régression ne sont pas significativement différentes de 1,00 pour les laits de troupeaux, mais le sont, pour chacun des calibrages, en laits individuels. Les écarts types résiduels de régression sont :

* **0,667** et **0,292** en calibrage PLS traditionnel,

* **0,654** et **0,282** en calibrage PLS Spectrum,

respectivement en laits individuels et en laits de troupeaux.

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

* **-0,01 g/L** et **-0,08 g/L** en calibrage PLS traditionnel

* **+0,94 g/L** et **+0,91 g/L** en calibrage PLS Spectrum,

respectivement en laits individuels et en laits de troupeaux.

Les pentes de régression sont significativement différentes de 1,00 pour chacun des calibrages, en laits individuels, ainsi qu'en laits de troupeaux, avec le calibrage PLS Spectrum. La pente n'est pas significativement différente de 1,00 en laits de troupeaux, pour le calibrage PLS traditionnel. Les écarts types résiduels de régression obtenus sont de :

* **0,340** et **0,132** en calibrage PLS traditionnel

* **0,346** et **+0,124** en calibrage PLS Spectrum,

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 ce qui concerne l'équivalent point de congélation, les calculs de régression laissent apparaître un écart type résiduel proche de **6m°C**, en laits individuels et de **2,8 m°C**, en laits de troupeaux, soit une précision d'estimation, pour ces derniers de **± 5,6 m°C**.

➤ En conclusion, pour les critères matière grasse et matière protéique, l'appareil Milkoscan 6000 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, que ce soit avec le calibrage PLS

traditionnel (identique MLR) ou avec le calibrage expérimental PLS Spectrum.

Pour le calibrage PLS "traditionnel" le biais moyen (d) est légèrement supérieur à la tolérance de +/- 0,15 g/kg pour le critère matière grasse (-0,28). Il peut toutefois s'expliquer par le décalage d'environ un mois entre la préparation de la gamme d'étalonnage et l'analyse des laits de troupeaux. Pour le calibrage PLS Spectrum, les biais moyens plus importants (de l'ordre de 1 g/L) aussi bien pour la matière grasse que les protéines peuvent s'expliquer par le fait que les résultats instrumentaux n'ont pas été ajustés avec des laits de la région et sont obtenus directement à partir d'un calibrage réalisé avec des laits du Danemark. Un ajustement basé sur l'analyse d'échantillons de la zone de collecte, comme requis dans la norme FIL 128 est nécessaire, pour tous les critères : matière grasse et protéines, aussi bien que l'équivalent point de congélation.

Pour ce dernier point, les résultats de justesse sont conformes aux valeurs avancées par la société FOSS, soit $S_{y,x} < 4 \text{ m}^\circ\text{C}$ pour les laits de troupeaux.

🔗 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 Milkoscan 6000 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 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'écarts 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 écarts types des écarts ainsi que les écarts types résiduels liés aux régressions, satisfont aux mêmes exigences.

On peut remarquer que la précision obtenue en matière grasse et en protéines sur les laits individuels ou les laits de troupeaux avec le calibrage PLS traditionnel (équivalent MLR) est équivalente à celle obtenue avec le calibrage PLS Spectrum (Foss).

En ce qui concerne le critère équivalent point de congélation, les performances analytiques du Milkoscan 6000 sont conformes aux performances annoncées par le fabricant. Sa

répétabilité apparaît, en outre, inférieure à la valeur indiquée par la méthode de référence (cryoscopie par recherche de plateau). Cette mesure, relativement précise, peut constituer une méthode économique de tri des laits avant analyse cryoscopique.

Abréviations

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière
FPD : Freezing Point Detection : équivalent "point de congélation"
LDA 39 : Laboratoire Départemental d'Analyses de Poligny
MLR : régression linéaire multiple
PLS : moindres carrés partiels

Bibliographie

* **FIL 108B/1991** Détermination u point de congélation (méthode au cryoscope à thermistance)

* **FIL 128:1985** Définition et évaluation de la précision globale des méthodes indirectes d'analyse du lait. Application au calibrage et au contrôle de qualité

* **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** : "norme" d'utilisation 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 Milkoscan 6000. CECALAIT, 1999, Poligny, 19 pages