

DOSAGE DES PROTEINES LAITIERES

2^e partie : évaluation du spectrophotomètre CECIL 2000

Le spectrophotomètre CECIL de la société Grosseron est un appareil utilisé pour le dosage des protéines du lait par la méthode colorimétrique au noir amido. Ses caractéristiques instrumentales et analytiques ont été évalués par CECALAIT pour vérifier leur conformité avec les exigences réglementaires du paiement du lait. Dans ce cadre, sa stabilité, son traçage, sa répétabilité et sa justesse apparaissent satisfaisantes. Dans sa configuration normale de fonctionnement, ses caractéristiques de linéarité le rendent apte à être utilisé dans la zone de calibrage, allant de 25 à 36 g MAP / kg. C'est justement la zone d'utilisation la plus courante pour ce type d'appareil.

Pour le paiement du lait, la méthode officielle de détermination de la teneur en protéines du lait est la méthode colorimétrique au Noir-Amido (cf arrêté du 2/5/1985)) En outre, de nombreux laboratoires d'entreprise utilisent cette méthode, soit en usage direct, soit, comme les laboratoires de paiement du lait et de contrôle laitier, en tant que méthode de référence secondaire pour calibrer les appareils infra rouge. L'élément principal d'une méthode colorimétrique est le (spectro)photomètre. Les laboratoires français utilisent pour l'heure, principalement trois modèles d'appareils : Vital 33, Promilk et Astor 2000. Les deux premiers ayant cessé d'être fabriqués, de nouveaux modèles ont été développés et mis sur le marché. Compte tenu de l'importance de la méthode au noir amido en tant que méthode de référence secondaire pour le calibrage des appareils, la CST a décidé de soumettre cette nouvelle génération d'appareils à la procédure d'autorisation d'emploi dans le cadre du paiement du lait. Cette procédure exige des essais d'évaluation auprès de laboratoires experts (cf Lettre de CECALAIT, n° 0). C'est dans ce cadre que CECALAIT a évalué récemment les caractéristiques analytiques de deux nouveaux spectrophotomètres : l'ATL33, distribué par la société Humeau et le CECIL 2000, distribué par la société Grosseron.

Dans la première partie (cf n°29); nous avons présenté l'évaluation de l'ATL 33. Cette deuxième partie est, à présent, consacrée à l'évaluation du CECIL 2000

LES APPAREILS

Le CECIL comporte un réseau holographique 1200 L/mm à monochromateur couvrant une gamme spectrale de 325 à 1000 nm. C'est un appareil compact, équipé d'un écran et d'un clavier pour son pilotage, ainsi que d'une imprimante intégrée. Il peut être calibré sur 32 points selon deux modes : linéaire et non linéaire.

LES ESSAIS

Ils ont été menés en novembre 1998 au laboratoire de physico-chimie de CECALAIT, en utilisant la méthode au noir Amido, conformément à la norme FIL 98A 1985, selon le mode opératoire suivant :

- volume de lait de 0,8 ml
- addition de 16 ml de noir amido

- agitation par rotation pendant 10 mn
- séparation du surnageant par centrifugation (accélération 350g) pendant 5 mn
- détermination de la densité optique du surnageant à 620 nm par le spectrophotomètre.

Les essais 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 de ces différents paramètres se réfèrent aux normes FIL 128 :1985 et 135B :1991.

❶ STABILITE

Ce point a été étudié grâce à une série de 4 solutions de noir amido, diluées à 4 niveaux distincts, analysées toutes les 15 mn au cours d'une demi-journée de travail.

La série comporte une solution 0 et trois solutions correspondant au surnageant obtenu avec un lait riche (≈ 36 g de protéines/kg), un lait moyen (≈ 30 g protéines/kg) et un lait pauvre (≈ 25 g protéines/kg).

Les calculs de reproductibilité en vue d'évaluer la stabilité des appareils ont été effectués selon la norme FIL 135 B.

Les résultats montrent que les écarts-types de reproductibilité, en valeur réelle et en valeur relative, SR et SR%, varient de :

0,00 à 0,02 g/kg, soit de 0,00 à 0,09%

Ces écarts très faibles démontrent la bonne stabilité de l'appareil.

❷ CONTAMINATION ENTRE ECHANTILLONS

Elle a été évaluée par l'analyse d'une solution de noir amido diluée et d'eau selon la séquence: EAU – SOLUTION 1 – SOLUTION 2, répétée 10 fois. Le test a été effectué sur 3 niveaux différents, à l'aide de 3 concentrations différentes en noir amido.

Le taux de contamination (Tc %) a été estimé par la formule :

$$Tc \% = \frac{[\Sigma(\text{SOLUTION 2}) - \Sigma(\text{SOLUTION 1}) / \Sigma(\text{SOLUTION 2})] \times 100}{100}$$

Dans ces conditions, le spectrophotomètre CECIL laisse apparaître des contaminations de l'ordre **de 0,0 à 0,4 % au maximum**

Ces valeurs satisfont la limite de 1 % autorisée pour les méthodes rapides de détermination de la richesse du lait, utilisées dans le cadre du paiement du lait et du contrôle laitier.

③ LINEARITE

Ce paramètre a été évalué par l'analyse dans l'ordre croissant et décroissant :

- d'une part, d'une gamme de solutions de noir amido diluées couvrant la plage de densité optique habituellement utilisée,
- d'autre part, d'une gamme de laits, régulièrement répartis sur la plage de 20 à 45 g MAT/kg.

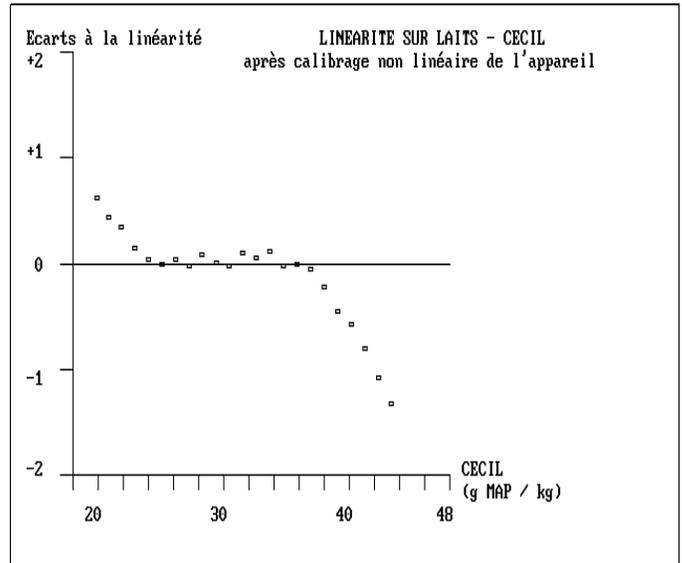
La linéarité a été étudiée par régression linéaire simple, en prenant :

- en variable expliquée Y, les taux théoriques linéaires (g MAP/kg)
- en variable explicative X, la moyenne des résultats obtenus sur chaque spectrophotomètre

L'examen graphique des résidus à la régression a permis de visualiser la distribution des écarts à la linéarité, en fonction des taux théoriques.

La figure 2 montre les plus intéressants des résultats obtenus, ceux provenant des gammes de lait.

Figure 2 : linéarité du CECIL 2000 sur une gamme de laits
linearity of CECIL tested on a set of milk samples, after curvilinear calibration



Y-axis : deviation from linearity / X-axis : MAP = NP protein nitrogen

Les résultats montrent que l'appareil est linéaire dans une plage, englobant la plage de calibration 25 – 36 g MAP / kg

Cette réponse linéaire a été obtenue en utilisant le mode de calibration non linéaire proposé dans la configuration de l'instrument.

④ REPETABILITE

La répétabilité a été évaluée par l'analyse en double de 100 échantillons de laits individuels de vache (conservés avec du bronopol à la concentration finale de 0,02%).

Les résultats sont consignés dans le tableau 6 ci-dessous qui présente les écarts types de répétabilité, Sr et les écarts maximum entre doubles, r.

tableau 6 : répétabilité du CECIL 2000
table 6 : repeatability of CECIL 2000

	n	moyenne mean g MAP/kg g NP/kg	Sr g MAP/kg g NP/kg	r g MAP/kg g NP/kg
Tous niveaux whole range	100	33,25 33.25	0,0575 0.0575	0,159 0.159
25 à 36 g MAP/kg 25 to 36 g NP/kg	76	31,78 31.78	0,0573 0.0573	0,159 0.159

avec / with

n : nombre d'échantillons / number of samples

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

r : écart maximum entre doubles / *maximum deviation between doubles.*

Ces valeurs de répétabilité sont conformes aux prescriptions de la norme FIL 98A 1985 et sont très semblables à celles obtenues avec un appareil d'utilisation courante, tel le VITAL 33

🔍 JUSTESSE

📄 Procédure

Pour l'évaluation de la justesse, 100 échantillons individuels de lait de vache ont été analysés, en double, parallèlement sur un photomètre VITAL 33 et sur le CECIL 2000.

Il a été calibré à l'aide d'échantillons commerciaux de CECALAIT (ETG noir amido), à 3 niveaux protéiques : 25, 30 et 36 g de protéines/kg.

Les opérations se sont déroulées sur 3 jours non consécutifs, répartis sur une période d'une semaine. Chaque série analytique était constituée de laits de contrôle laitier, provenant d'élevages distincts (conservés avec du bronopol à la concentration finale de 0,02%).

La justesse a été estimée au moyen de l'écart type résiduel de régression, en prenant l'appareil de CECALAIT en variable expliquée Y (g MAP/kg) et le spectrophotomètre CECIL 2000 en variable explicative X (g MAP/kg).

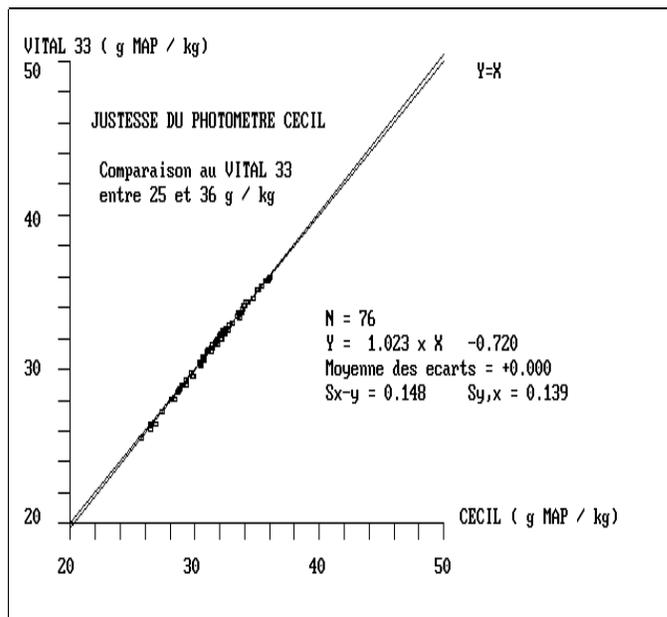
📄 Résultats

La figure 3 montre les résultats obtenus entre 25 et 36 g MAP/kg.

Figure 3 : justesse du CECIL 2000.

accuracy of CECIL 2000

Comparison between CECIL 2000 and VITAL 33, in the range 25 to 36 g NP/kg



- les biais moyens, non significatifs, sont respectivement de **0,00** sur cette plage (voir Fig. 3) et de **+ 0,085** pour tous niveaux confondus.
- Les pentes de régression apparaissent significativement distinctes de 1, au seuil de 1%, en raison d'une relation non totalement linéaire entre cet appareil et le VITAL 33. Les écarts sont surtout observés au niveau des extrêmes de la population des taux et restent toutefois de faible importance.
- les écarts-types résiduels de régression sont respectivement de **0,14** (voir fig. 3) et **0,24 g MAP/kg**

En conclusion, la comparaison des résultats entre ce nouvel appareil et un appareil très largement utilisé, comme le VITAL 33 montre une bonne concordance, notamment sur la plage 25 – 36 g MAP/kg.

CONCLUSION

Le spectrophotomètre CECIL 2000 a été évalué dans le but d'une autorisation d'emploi pour le paiement du lait. Il a donné satisfaction sur les différents points testés: stabilité, traçage, linéarité, répétabilité et justesse.

Ses caractéristiques de linéarité ne le rendent, cependant apte à l'utilisation, que dans la zone de calibrage de 25 à 36 g/kg. En dehors de cette plage, dans la limite de 20 à 45 g MAP/kg, les résultats obtenus seront entachés d'une erreur dont l'importance dépendra de l'éloignement de la valeur cible par rapport à la zone de calibrage. Enfin, en dessous de 20 g MAP/kg et au dessus de 45 g MAP/kg, ne pourront convenir que des modes opératoires spécifiques aux produits dosés.

Après examen des résultats de cette évaluation, la CST a décidé d'accorder à ce spectrophotomètre, son autorisation d'emploi dans le cadre du paiement du lait

BIBLIOGRAPHIE

- ♦ **TROSSAT Ph. ; LERAY O.** Rapport d'évaluation du spectrophotomètre CECIL. CECALAIT, 1998, 9 pages.
- ♦ **FIL 98A:1985** : Lait. Détermination de la teneur en protéines. Méthode au noir amido (méthode pratique)
- ♦ **FIL 128:1985** : Lait. Définition et évaluation de la précision globale des méthodes indirectes d'analyse du lait - Application au calibrage et au contrôle de qualité
- ♦ **FIL 135B:1991** : Lait et produits laitiers. Caractéristiques de fidélité des méthodes analytiques - schéma de conduite d'une étude collaborative
- ♦ **arrêté du 2/5/1985** définissant les modalités techniques selon lesquelles sont prélevés et analysés les échantillons de lait livrés par les producteurs aux fins de la détermination de leur composition et de leur qualité. Journal Officiel de la République Française du 12/6/1985.

Liste des abréviations

CST : Commission Scientifique et Technique du Ministère de l'Agriculture

MAP : Matière azotée protéique

ETG : Echantillon à teneur garantie

