

EVALUATION : LE MILKOSCAN 4000

L'analyseur moyen Infra-rouge Milkoscan 4000 de la Société Foss Electric (Danemark) permet la détermination des teneurs en matière grasse, protéines, lactose, urée et d'un équivalent point de congélation dans le lait. Il propose en outre deux types de calculs de calibration, une régression multilinéaire classique pour la matière grasse, les protéines et le lactose, une régression des moindres carrés partiels (PLS) pour les autres critères, mais pouvant s'appliquer aussi aux trois premiers critères. Ses caractéristiques instrumentales et analytiques ont été évaluées par CECALAIT, les résultats concernant la matière grasse et protéines sont relatés dans La Lettre de CECALAIT n°20, ceux relatif aux autres critères sont présentés ci-dessous.

Les caractéristiques instrumentales de base : stabilité et traçage apparaissent satisfaisantes. La linéarité de l'appareil est correcte pour les plages de taux usuels et peut être ajustée si nécessaire. Les valeurs de répétabilité et de justesse sont conformes aux exigences réglementaires et normatives. Pour la teneur en lactose, les deux modes de calibrage, MLR et PLS, donnent un degré de précision quasi équivalent. Pour le dosage de l'urée et la mesure du point de congélation, la précision répond aux spécifications du constructeur.

Cet article fait suite à celui présenté dans La Lettre de CECALAIT n°20 concernant l'évaluation du Milkoscan 4000 sur les critères relevant du paiement du lait, à savoir matière grasse et protéines.

Selon le même principe, les résultats concernant le lactose, l'urée, et un équivalent point de congélation sont ici présentés.

Pour rappel, le Milkoscan 4000 (MS 4000) est un appareil automatique d'analyse du lait par spectrométrie moyen Infra-rouge (MIR), fabriqué et commercialisé par la société FOSS ELECTRIC. Il a été évalué par CECALAIT entre début juin et fin septembre 1995, à Poligny.

DESCRIPTION

L'appareil dispose d'un système infrarouge monofaisceau comprenant une roue porte-filtre, composée de 11 filtres et un système de mesure de la conductivité du lait, utilisé pour la détermination de l'équivalent point de congélation.

L'appareil est entièrement piloté par logiciel sous environnement Windows et sa cadence analytique varie de 200 à 450 échantillons par heure suivant les modèles. Il dispose de deux types de calcul de régression multifactorielle pour établir les équations de calibration destinées à la prédiction des teneurs :

- ♦ la régression linéaire multiple (MLR) pour la matière grasse, les protéines et le lactose,
- ♦ la régression des moindres carrés partiels (PLS) qui s'applique à l'urée, l'acide citrique, à l'équivalent point de congélation et à l'index d'homogénéisation. Ce mode de calcul peut toutefois être utilisé également pour la matière grasse, les protéines et le lactose.

LES ESSAIS

Ils ont porté sur les points suivants :

- ♦ évaluation de la stabilité de l'appareil,
- ♦ évaluation de la contamination entre échantillons (lactose),
- ♦ évaluation de la linéarité,

- ♦ évaluation de la répétabilité,
- ♦ évaluation de la justesse.

Les critères d'appréciation de ces paramètres sont issus, soit de la norme FIL 141A:1990 "guide pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le moyen infrarouge" alors en vigueur pour le lactose, soit le manuel du CNIEL pour les laboratoires interprofessionnels français et les normes relatives aux méthodes de référence pour les autres critères.

❶ EVALUATION DE LA STABILITE DE L'APPAREIL

Elle a été réalisée par analyse en mode automatique de 3 laits en double, toutes les 20mn, au cours d'une demi-journée de travail dans les conditions réelles d'un laboratoire interprofessionnel.

Pour le lactose, les valeurs moyennes journalières d'écart-type de reproductibilité observées sont conformes à celles de la norme FIL 141A:1990. Pour les paramètres urée, acide citrique et point de congélation (FPD), en l'absence de valeurs normalisées ou présentes dans le manuel du CNIEL, on peut observer que les valeurs de reproductibilité obtenues sont inférieures aux valeurs normalisées des méthodes de référence:

- | | |
|-----------------------------------|------------------|
| - Urée NF V04 - 217 : | CV R (%) = 6,2 % |
| - Acide Citrique FIL 34 C: | CV R (%) = 8 % |
| - Point de congélation FIL 108 B: | R = 5 m°C |

❷ EVALUATION DE LA CONTAMINATION ENTRE ECHANTILLONS

Ce paramètre a été évalué en mode d'analyse automatique, par le passage d'un même lait individuel de vache et d'eau distillée, selon la séquence "lait - lait - eau - eau", répétée 20 fois. La mesure a porté sur le lactose. Le taux de contamination a été estimé par la formule :

$$Tc = [(S(eau1) - S(eau2)) / (S(lait2) - S(eau2))] \times 100$$

Dans ces conditions, le système MS 4000 laisse apparaître des contaminations entre échantillons de l'ordre de 0,4%. Ce taux satisfait parfaitement la limite d'acceptabilité de 1% appliquée aux méthodes rapides.

④ EVALUATION DE LA LINEARITE

Ce paramètre a été testé par le canal analytique du lactose à l'aide d'une gamme de 10 solutions et, pour les critères urée et FPD (évaluation sur les données corrigées PLS) à l'aide d'une gamme unique de 9 laits constitués par dilution et permettant d'obtenir simultanément les concentrations suivantes :

- ◆ 10 à 80 g/kg pour le lactose,
- ◆ 0 à 1000 mg/kg pour l'urée,
- ◆ 0 °C à -0,830 °C pour le point de congélation.

Ce choix a été justifié par le fait que les gammes de solutions aqueuses pures n'ont pas permis d'obtenir des résultats satisfaisants dans l'évaluation de la linéarité, et d'analytes en faibles concentrations et en calibrage PLS.

Les résultats montrent que :

- La linéarité de l'appareil est acquise sur la plage courante des taux de lactose (25 à 53 g/kg). Un ajustement plus poussé est toutefois nécessaire dans le cas d'une utilisation de gammes reconstituées pour ajuster les intercorrections par calcul MLR, dans ce cas, un ajustement jusqu'à 60 g/kg est souhaitable.
- L'ajustement de la linéarité de la réponse pour l'équivalent point de congélation est suffisant pour les taux usuels rencontrés dans les laits de vache. Il devrait toutefois pouvoir être amélioré au moyen d'un traitement numérique approprié.
- La linéarité du critère urée semble pouvoir être optimisée afin de couvrir une gamme plus étendue représentative des taux usuels rencontrés dans la nature. On observe, en effet, deux plages linéaires de 0 à 400mg/kg et de 400 à 700 mg/kg.

④ EVALUATION DE LA REPETABILITE

La répétabilité du MS 4000 a été testée en mode d'analyse automatique, à partir de 150 laits individuels et de 64 laits de troupeaux conservés avec du bronopol à 0,02%. Cet ensemble couvrait une plage de taux allant de 37 à 52 g / kg en lactose et 73 à 438 mg / kg en urée. Pour l'équivalent point de congélation, 52 laits de troupeaux, dilués avec de l'eau (3 et 6 %) ont été ajoutés et ont permis d'obtenir une plage de taux de - 0,473 à - 0,547 °C.

L'analyse de chaque série d'environ 30 échantillons a été doublée, après contrôle de la stabilité de la réponse de l'appareil par analyse d'un lait témoin entre les répétitions de séries. La répétabilité a été évaluée en mode MLR pour le lactose et en mode PLS pour l'urée et l'équivalent point de congélation ainsi que le lactose. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 1.

Pour le lactose, le Milkoscan 4000 a présenté une répétabilité de 0,10g/kg en MLR et de 0,08g/kg en PLS, celui est conforme aux prescriptions de la norme FIL 141 A : 1990 (**Sr = 0,14 g/kg et r = 0,4 g/kg**) quelque soit le mode de calibrage.

Pour le critère urée, l'appareil infrarouge présente un écart type de répétabilité de 14 mg / kg, soit un écart type de répétabilité relatif de 4,70 %. S'il apparaît en cela supérieur à celui de la méthode enzymatique utilisée en référence (valeur de fidélité moyenne de 2,10 %), il reste cependant nettement dans les spécifications données par le constructeur : Sr < 25 mg/kg.

En ce qui concerne le critère équivalent point de congélation (FPD), les valeurs de répétabilité obtenues (Sr = 0,8 m°C) sont dans la limite maximum fixée pour la méthode de référence au cryoscope à thermistor (Sr = 1,4 m°C) et conforme aux spécifications de l'appareil (Sr < 1 m°C).

TABLEAU 1 : répétabilité du MS 4000 pour la teneur en lactose (calibration P.L.S. et M.L.R.), urée et détermination du point de congélation (calibration P.L.S.)

| | LACTOSE (g/kg) | LACTOSE (g/kg) | UREE (mg/kg) | FPD (°C x (-1)) |
|-----------|-------------------|-------------------|-----------------|--------------------|
| Calibrage | MLR | PLS | PLS | PLS |
| n | 214 | 214 | 214 | 266 |
| \bar{X} | 46.949 | 47.736 | 305 | 0.517 |
| Sx | 1.6147 | 2.3159 | 76.8 | 0.0656 |
| Sr | 0.0986 | 0.0785 | 14.35 | 0.0008 |
| Sr % | 0.21 | 0.16 | 4.70 | 0.15 |
| r | 0.273 | 0.217 | 39.75 | 0.0022 |

Légendes

n : nombre d'échantillons

Sx : écart-type de série

r : estimation de la répétabilité

\bar{X} : moyenne

Sr : écart de répétabilité

④ EVALUATION DE LA JUSTESSE

La justesse de l'appareil a été évaluée sur la base des valeurs des moyennes et des écarts-types des écarts à la référence :

- ◆ au moyen de 150 laits individuels de vache, provenant de 8 élevages du Jura et conservés avec du bronopol à 0,02%.

◆ au moyen de 64 laits de troupeaux provenant de la Franche-Comté, également additionnés de bronopol. Pour l'évaluation du point de congélation, 26 de ces laits ont été dilués à 3 et 6 % pour élargir la gamme de taux, portant ainsi le nombre d'échantillons à 116 pour ce critère.

◆ Pour évaluer le critère FPD uniquement, 30 laits de troupeaux provenant de la région Franche-Comté non

additionnés de conservateur ont été analysés. 15 d'entre eux ont été dilués à 3 et 6 % pour élargir la gamme des taux et ainsi porter le nombre total à 59 laits.

Le calibrage MLR a été réalisé, pour le lactose, au moyen d'une gamme de 13 échantillons de laits reconstitués en réseau orthogonal de TB TP selon la technique décrite par O. LERAY (FIL 141A:1990).

Les méthodes de référence utilisées sont :

- ♦ Lactose : Méthode enzymatique FIL 79 B adapté au lait liquide (essai en double)
- ♦ Urée : Méthode enzymatique NF V04 217 (essai en double)
- ♦ Point de congélation : Méthode au cryoscope à thermistor selon FIL 108 B (recherche de plateau).

Pour le calibrage PLS, les équations de calibrage, avec des coefficients affectés aux 11 filtres suivant des combinaisons propres à la prédiction de chaque critère, ont été établies par la société Foss Electric au Danemark. Pour l'urée et le FPD, les valeurs ont été utilisées sans modification. Par contre, pour le lactose, les équations de calibrage finales ont été ajustées par régression linéaire simple à l'aide d'une gamme de 13 laits reconstitués. On a ainsi obtenu des valeurs dites de **calibrage PLS ajusté** plus représentatives des laits de la région.

➤ CALIBRAGE DE L'APPAREIL

Les tableaux 2 et 3 permettent d'évaluer la justesse pour le lactose, l'urée et le FPD.

L'évaluation de la justesse a porté sur les valeurs obtenues selon un calibrage MLR et selon un calibrage PLS.

Légendes des tableaux

\bar{X} : moyenne appareil
 S_y : écart de série
 $\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$: moyenne des écarts appareil-référence
 n : nombre d'échantillons

\bar{Y} : moyenne référence
 S_d : écart-type des écarts
 $S_{y,x}$: écart-type résiduel de régression

NB : Les valeurs indiquées entre parenthèses correspondent aux résultats obtenus après élimination des données " anormales ", au sens où elles contribuent individuellement de manière trop importante à l'erreur résiduelle.

TABLEAU 2 : justesse du MS 4000 pour la teneur en lactose

| critères analytiques | LAITS INDIVIDUELS | | | LAITS DE TROUPEAUX | | |
|-------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | LACTOSE MLR | LACTOSE PLS initial | LACTOSE PLS ajusté | LACTOSE MLR | LACTOSE PLS initial | LACTOSE PLS ajusté |
| \bar{Y} | 47.962 (48.151) | 47.962 (48.138) | 47.962 (48.138) | 48.211 | 48.211 | 48.211 |
| \bar{X} | 47.102 (47.084) | 48.877 (48.887) | 47.176 (47.187) | 46.684 | 48.541 | 46.834 |
| S_y | 2.1411 (1.8974) | 2.1411 (1.8871) | 2.1411 (1.8871) | 0.9082 | 0.9082 | 0.9082 |
| $\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$ | - 0.860 (- 1.066) | +0.914 (+0.749) | - 0.787 (-0.952) | - 1.527 | +0.330 | - 1.377 |
| S_d | 1.1758 (0.647) | 1.1851 (0.626) | 1.1856 (0.629) | 0.4959 | 0.5208 | 0.5196 |
| $S_{y,x}$ | 1.1782 (0.646) | 1.1891 (0.627) | 1.1891 (0.627) | 0.4968 | 0.5214 | 0.5214 |
| n | 150 (142) | 150 (143) | 150 (143) | 64 | 64 | 64 |

TABLEAU 3 : justesse du MS 4000 pour la teneur en urée et détermination du point de congélation

| critères analytiques | Teneur en Urée | | Détermination du point de congélation | | |
|-------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------------|----------------------|-------------------------|
| | LAITS INDIVIDUELS | LAITS DE TROUPEAUX | LAITS INDIVIDUELS | LAITS DE TROUPEAUX | |
| – | | | Laits bronopolés | Laits bronopolés | Laits sans conservateur |
| \bar{Y} | 238.5 (236.7) | 251.8 | 522.45 | 506.24 (506.30) | 504.19 (503.45) |
| \bar{X} | 299.2 (296.7) | 319.5 | 532.34 | 514.83 (515.19) | 509.31 (508.41) |
| Sy | 82.2 (80.9) | 70.6 | 8.957 | 14.498 (14.667) | 18.360 (18.297) |
| $\bar{d} = \bar{X} - \bar{Y}$ | + 60.6 (+ 60.0) | + 67.8 | + 9.89 | + 8.590 (+ 8.893) | + 5.122 (+ 4.959) |
| Sd | 58.0 (51.4) | 37.6 | 8.425 | 4.871 (3.927) | 4.403 (3.876) |
| Sy,x | 53.8 (48.3) | 37.9 | 7.501 | 4.778 (3.915) | 4.423 (3.896) |
| n | 150 (146) | 64 | 146 | 109 (103) | 59 (56) |

Pour le critère lactose, les résultats de l'ensemble des laits individuels indique un biais moyen à la référence de l'ordre de - 0,80 g / kg pour les deux types de calibrage et un écart type résiduel de régression respectivement de 1,178 (0,646 après élimination) et 1,189 (0,627 après élimination).

Les résultats sur laits de troupeaux laissent apparaître des biais moyens à la référence de l'ordre de - 1,5 g/kg (calibrage MLR) et de - 1,3 g/kg (calibrage PLS ajusté).

Les écarts type résiduels de régression sont de 0,497 pour le calibrage MLR et de 0,521 pour le calibrage PLS, ce qui indique qu'en terme de précision, les deux modes de calibrage sont sensiblement équivalents.

Le tableau 3 montre que, pour l'urée, un biais moyen à la référence de +60 à +67 mg/kg environ et un écart type résiduel de régression de 53 à 38 mg/kg pour tous types de laits.

Le fait que l'ajustement final de la calibration urée sur l'appareil infrarouge ait été effectué initialement avec la méthode colorimétrique au DMAB, explique, en partie au moins, les biais moyens observés par rapport à la méthode de référence enzymatique, et faciles à réduire au niveau du réglage par le laboratoire.

Pour la détermination du point de congélation, le biais moyen est de + 9,9 m°C et un écart type résiduel de régression de l'ordre de 7,5 m°C, pour les laits d'élevage; et sur laits de troupeaux, l'écart type résiduel est de l'ordre de 4,5 m°C (3,9 après élimination), soit une précision d'estimation proche de +/- 8 m°C pour ce critère.

L'adjonction de bronopol (0,02 % final) ne modifie pas cette précision d'estimation, mais une différence est observée au niveau du biais moyen de près de 3,4 m°C entre les deux essais: laits sans conservateur et laits bronopolés, d'où l'importance d'en tenir compte dans l'étalonnage de ce critère.

➤ **En conclusion**, Pour le critère lactose, et quelque soit le mode de calibration (PLS ou MLR), l'appareil Milkoscan 4000 est conforme aux exigences de la norme FIL 141A:1990 qui fixe les valeurs d'écarts types résiduels de régression à 1,0 g/kg pour les laits individuels et à 0,7 g/kg pour les laits de troupeaux.

Les résultats de justesse obtenus sur les critères urée et équivalent point de congélation sont conformes aux valeurs avancées par la société FOSS ELECTRIC, à savoir :

- pour l'urée : Sy,x < 45 et 60 mg/kg respectivement pour les laits de troupeaux et les laits individuels,
- pour l'équivalent point de congélation : Sy,x < 5 m°C pour les laits de troupeaux.

6 CONCLUSION GENERALE

Le Milkoscan 4000 présente des caractéristiques de base, stabilité instrumentale, traçage, conformes à l'utilisation attendue de ce type de matériel. Les caractéristiques de linéarité apparaissent satisfaisantes sur les plages de taux usuellement rencontrées en lait de troupeaux ou en lait individuel de vache. Toutefois, elle peut être étendue avec profit par l'utilisateur à des plages de taux plus larges pour certains critères, tels que le lactose ou l'urée de manière à optimiser la précision des calibrages.

La répétabilité et les performances de précision apparaissent conformes soit, aux exigences normatives (lactose), soit aux possibilités annoncées par la société Foss Electric. Pour le lactose, les modes de calibrages MLR et PLS ont montré des résultats sensiblement équivalents.

(par O. Leray et Ph. Trossat)