

Comité du Lait ASBL	Feuille d'enregistrement	FEU-ASQ-00002(1)
Signatures des responsables (document N° 1900)		

0.1 Généralités

Code et version INT-MOP-00009(11)
Titre du document Détermination des teneurs en Matières grasses et Matières Azotée Totale du lait cru
Type de document Instruction technique
Date d'impression 24/6/14

0.2 Résumé

Instruction technique décrivant comment effectuer les dosages matière grasse et protéine dans le lait cru.

0.3 Modification par rapport à la version précédente


§6,3 - Préciser que les échantillons doivent être remis au frigo dans les 45 minutes après la fin de l'analyse


0.4 Dates et Signatures


Approbateur PIRAUX Emile
Directeur

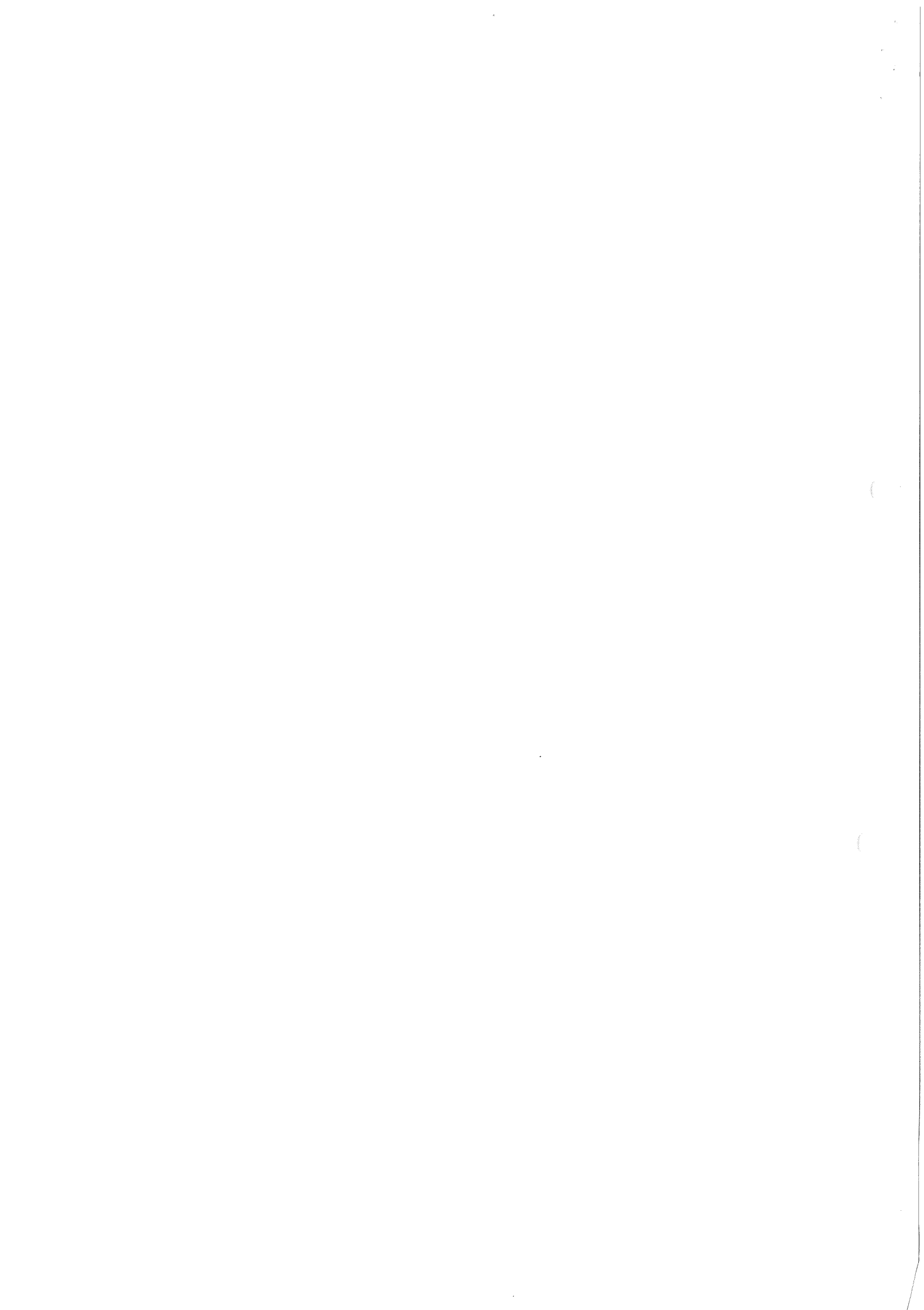
Auteur VESELKO Didier
Responsable technique

Vérificateur PIRON Fabienne
Responsable labo composition

24/6/14 

24/6/14 

24/6/14 



Détermination des teneurs en Matières grasses et Matières Azotées Totales du lait cru

1 Objet et domaine d'application

Cette instruction technique décrit la méthode à utiliser pour la détermination de la teneur en matières grasses (MG) et matière azotées totale (MAT) du lait cru de vaches à l'aide d'une technique entièrement automatisée.

2 Définitions

- Point zéro : mesure que la machine effectue avec le « Liquide Zéro ». Le spectre mesuré sur ce fluide sera ensuite utilisé comme référence par rapport au spectre des échantillons afin de pouvoir quantifier le dosage de chaque composante du lait. Ce spectre permet également de tenir compte de l'encrassement progressif de la cellule de mesure.

3 Références

- NOT-ASQ-00001 : « Glossaire Général »
- NOT-FOS-01002 : Procédure pratique d'utilisation du Combi-Foss
- FEU-FOS-01001 : Check-list du MilkoScan
- NOT-FOS-01001 : Préparation des réactifs du MilkoScan
- [1] – FIL 141C : « Lait entier – Détermination de la teneurs en matière grasse laitière, en protéines et en lactose – lignes directrices pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le moyen infrarouge »

4 Principe de l'analyse

Les molécules de matière grasse et de matière azotée totale possèdent chacune des liaisons spécifiques absorbant la lumière infra-rouge à des longueurs d'onde bien déterminées. L'utilisation d'un spectromètre pour mesurer le spectre de l'échantillon permet une détermination quantitative de la matière grasse et des protéines du lait.

5 Matériel et réactifs

5.1 Matériel et Maintenance

5.1.1 MilkoScan (Foss Electric , Hillerød Denmark)

MilkoScan FT 6000 : cet appareil possède un interféromètre qui permet une analyse large du spectre de l'échantillon dans l'infrarouge moyen (plus de 1000 canaux scannés).

Une calibration fabricant pondère alors les mesures d'intensité de certaines longueur d'onde caractéristiques du composant à mesurer afin d'en obtenir le dosage.

L'entretien des appareils est effectué deux fois par an par un technicien formé à cet effet.

Pour les dépannages, se référer au guide de l'utilisateur MilkoScan FT 6000 pièces détachées.

5.1.2 Bain Marie

Utiliser un bain-marie :

- Réglable à une température entre 47 ± 2 °C
- Avec tête plongeante de chauffe à circulation ou chauffé par des plaques collées dans le fond du bain

5.2 Réactifs

La liste des réactifs ainsi que leur préparation sont décrits dans la note NOT-FOS-01001.

Détermination des teneurs en Matières grasses et Matières Azotées Totales du lait cru

6 Analyses

6.1 Préparation des échantillons

Les échantillons sont portés à une température minimum de 42°C dans un bain-marie. Le dépassement de cette température est contrôlé à l'aide d'un thermomètre planté dans un échantillon du panier en fin de phase de chauffage.

Les temps de chauffages nécessaires sont les suivants (validation de mars 2004, bain marie réglé sur 47°C) :

Température de départ	Température désirée		
	42 °C	43 °C	44 °C
Echantillon froid (0-4 °C)	13 min.	15 min.	17 min.
Echantillons à température ambiante (20 °C)	9 min.	12 min.	14 min.

Ensuite, il faut :

- Mélanger par une série de minimum 3 retournements (éviter l'incorporation de bulles d'air)
- Enlever les bouchons
- Placer les échantillons sur l'appareil. L'opérateur attendra éventuellement quelques instants afin de s'assurer que la température des échantillons ne dépasse pas 42°C au moment où ceux-ci sont présentés à la machine (utilisation du thermomètre).

6.2 Phase de démarrage

Avant de commencer les analyses, on effectue

- Un nettoyage automatique de l'instrument (purge)
- On contrôle le point zéro; celui-ci est ajusté s'il y a lieu (voir 6.6.1.1).
- On contrôle l'étalonnage de l'appareil à l'aide de l'échantillon de contrôle composition et de l'échantillon basse réponse infrarouge (voir 6.6.1.2)

6.3 Phase d'analyse (routine)

Après une préparation comme décrite dans le paragraphe 6.1, les échantillons doivent être analysés dans un délai le plus court possible (maximum 6 minutes).

En plus des échantillons à analyser on analyse des échantillons de contrôle afin de vérifier la justesse et la stabilité de l'appareil. Les détails sont repris au point 6.6.1.2.

Durant les analyses, les échantillons sont placés dans une enceinte fermée et thermostatée dans le but de les maintenir le plus longtemps possible dans la plage de température 37-42°C requise pour les analyses. La validation de méthode réalisée 17/04/2005 (essai 12) a montré le temps que la température d'un casier peut être maintenue dans la plage souhaitée :

Réglage de l'enceinte thermostatée sur 40°C	Temps pour que la température chute de	
	42°C à 37°C	40°C à 37°C
Casier en attente d'analyse	28 min.	22 min.
Casier en cours d'analyse	15 min.	11 min.

Dès que l'analyse d'un panier est terminée, le ranger en chambre froide dans un délai de maximum 45 minutes après la fin de l'analyse.

6.4 Phase d'arrêt

Après le passage du dernier échantillon, on analysera un échantillon de contrôle afin de valider les résultats. L'interprétation du résultat de cet échantillon se fera conformément à ce qui est décrit au paragraphe 6.6.1.2.

Détermination des teneurs en Matières grasses et Matières Azotées Totales du lait cru

Toutes les opérations inscrites dans la note technique (NOT-FOS-01002) et la check-list (FEU-FOS-01001) doivent être exécutées.

6.5 Etalonnages

6.5.1 Etalonnages

Le spectrophotomètre reçoit un étalonnage de base en usine chez le fabricant.

6.5.2 Re-étalonnages

6.5.2.1 La Gamme

La vérification de l'étalonnage se fait grâce à une « gamme » de 9 échantillons dont les teneurs en matière grasse et en matière azotée balayent la gamme d'analyse classique du laboratoire (25 à 55 g/l en matière grasse et protéine). Celle-ci est constituée par le DQPA tous les deux mois selon un planning établi début d'année pour l'année en cours.

Après passage des échantillons sur l'appareil, on analysera un échantillon basse réponse IR (voir 6.5.2.2 pour plus de détails). Ce résultat permettra de déterminer une valeur de référence pour cet échantillon. Cette valeur devra être maintenue durant toute la durée de validité de la gamme (2 mois)

6.5.2.2 Les échantillons de contrôle

Chaque paramètre analysé possède une droite d'étalonnage (deux paramètres, la pente et le biais) qui permet d'ajuster l'étalonnage de l'appareil en fonction des particularités des échantillons locaux, de l'évolution de la composition du lait en fonction du temps, ...

Afin d'entretenir cette droite, on utilisera deux échantillons :

- Un échantillon à basse réponse IR
 - pour ajuster la droite pour les valeurs basses. Cet échantillon est une solution saline 0.9% NaCl.
 - Fréquence d'utilisation minimum
 - 4 x par jour, 3 échantillons, 1 mesure par échantillon.
- L'échantillon de contrôle national, (ECC)
 - composé de lait de grand mélange provenant de toute la Belgique, constitué toutes les semaines (voir protocole de la guidance scientifique) et permettant d'avoir une image moyenne du lait belge.
 - Cet échantillon est inséré dans le panier d'échantillon
 - De préférence dès l'étape de réception des échantillons du laboratoire. En d'autres termes, on utilise un échantillon de contrôle par panier et cet échantillon accompagne les échantillons du panier durant tout leur cheminement dans le laboratoire.
 - Juste avant le début du chauffage au bain marie si l'on est dans l'un des cas suivants :
 - Si les échantillons de contrôle sont en nombre insuffisant
 - Si les dosages de référence ne sont pas disponibles pour le nouvel échantillon de contrôle au moment du début de son utilisation. Il faut alors continuer à utiliser l'échantillon précédent qui est donc en nombre limité.
 - La fréquence d'utilisation est la suivante
 - minimum tous les 50 échantillons
 - si l'échantillon est inséré dans le panier juste avant le chauffage
 - un échantillon de contrôle peut éventuellement servir à deux paniers consécutifs si leur nombre est faible
 - si le volume de lait dans l'échantillon ne permet pas deux analyses, on abaissera la fréquence d'utilisation à un échantillon de contrôle tous les 100 échantillons

L'analyse de ces deux échantillons permet de corriger l'état d'étalonnage de l'appareil en modifiant simultanément la pente et le biais.

Les critères de décision pour un changement d'étalonnage sont précisés au paragraphe 6.6.1.2.

L'opérateur dispose du programme de suivi d'étalonnage qui permet

- D'enregistrer les résultats de chaque échantillon de contrôle analysé
- De détecter un besoin de ré étalonnage
- De faire un enregistrement de tous les étalonnages successifs des appareils.

Tout changement d'étalonnage se fera avec l'accord du responsable du laboratoire.

6.6 Contrôles

6.6.1 Contrôles internes

6.6.1.1 Rinçages et points zéros

La machine doit être paramétrée pour

- Effectuer minimum un rinçage tous les 200 échantillons
- Effectuer minimum un point zéro automatique tous les 400 échantillons

Le rinçage est une procédure automatique de nettoyage (avec le liquide de nettoyage) de tous les circuits fluidique de l'appareil, y compris la cellule de mesure.

Le point zéro est une mesure que la machine effectue avec le liquide « Zéro ». Le spectre mesuré sur ce fluide sera ensuite utilisé comme référence par rapport au spectre des échantillons afin de pouvoir quantifier le dosage de chaque composante du lait. Ce spectre permet également de tenir compte de l'encrassement progressif de la cellule de mesure.

Les limites maximales autorisées (et encodées dans l'appareil) pour un « Point Zéro » sont

- 0.02 g/dl pour la matière grasse.
- 0.02 g/dl pour la matière azotée total.

Au cas ou un des résultats est hors limites, l'appareil s'arrête et demande une action à l'opérateur. Se référer au point 6.10 pour mener l'action adéquate

6.6.1.2 Echantillons de contrôle

En phase de routine, l'étalonnage de l'appareil est vérifié en analysant les deux types d'échantillons de contrôle suivant au minimum (voir 6.5.2.2)

- échantillon de contrôle national (ECC) :
- échantillon basse réponse IR

Pour chaque composant analysé et chaque échantillon de contrôle

- les résultats obtenus doivent se trouver dans des limites de variation individuelle autorisées λ
- et la moyenne cumulée depuis le début de la journée doit se trouver à $\pm \lambda / \sqrt{N}$ g/l (où N= le nombre d'échantillons analysés avec un maximum pour N).

Les limites λ sont reprises dans le tableau ci-dessous

	Matière grasse λ (g/100ml)	Protéine λ (g/100ml)	N maximum
Echantillon basse réponse IR	0.07	0.05	25
Echantillon de contrôle national	0.07	0.05	50

Afin de pouvoir interpréter facilement les résultats des analyses des échantillons de contrôle national, ceux-ci sont portés sur un graphe de contrôle comme décrit dans la note [1] (voir 3

Le programme de suivi d'étalonnage permet de détecter toute déviation et propose les modifications à apporter en conséquence. Cette modification d'étalonnage se fera avec l'accord du responsable labo.

Détermination des teneurs en Matières grasses et Matières Azotées Totales du lait cru

6.6.1.3 Température des échantillons

L'opérateur contrôle la température de ses échantillons de deux façons :

- Contrôle systématique : l'opérateur s'assure par ce moyen qu'il présente à l'appareil des échantillons ayant une température comprise entre 37 et 42°C.
- 4 fois par jour : la température du dernier échantillon d'un casier (44°) juste après son analyse afin de garantir qu'elle est comprise entre 37 et 42°C et donc valider l'analyse.

Si une température n'est pas dans les normes, se référer au point 6.10 pour mener l'action corrective adéquate.

6.6.2 Contrôles externes

Le contrôle de l'exactitude et de la précision est assurée par

- La guidance scientifique qui organise des analyses inter-laboratoires (selon leur propre protocole).

6.7 Expression du résultat

6.7.1 Interprétation du résultat

Un résultat s'exprime par un nombre #.## g/100 ml

6.7.2 Domaine de mesures – Limites

Dans le système informatique, un résultat est représenté sous forme d'un nombre entier allant de 0 à 999 (0=0.00 g/ 100ml et 999=9.99 g/100 ml).

Sur le rapport d'essai FEU-ADM-00020 le résultat est exprimé de la manière suivante

- Résultat : exprimé en g / l
- Limite inférieure : 0.0 g / l
- Limite supérieure : ≥ 99.9 g / l

6.7.3 Sensibilité du résultat

La température joue un rôle important avec les spectrophotomètres IR. Il est important de

- Ne pas présenter des échantillons froids à la machine ($T < 37^{\circ}\text{C}$)
- Ne pas présenter des échantillons trop chauds à la machine ($T > 42^{\circ}\text{C}$)
- Bien mélanger l'échantillon avant analyse, la matière grasse décante naturellement pour se retrouver à la surface de l'échantillon.

6.7.4 Performances

Ce paragraphe reprend les performances de la méthode. Les chiffres sont tirés du dossier de validation de l'appareil MAT-FOS-00007, 12/2002.

6.7.4.1 Matière grasse

Justesse : $S_{yx} = 0.050$ g/100 ml

Mesure effectuée (g/l)	Intervalle de confiance 95 % (g/l)
25.0	24.0 – 26.0
30.0	29.0 – 31.0
35.0	34.0 – 36.0
40.0	39.0 – 41.0
45.0	44.0 – 46.0
50.0	49.0 – 51.0
55.0	54.0 – 56.0

**Détermination des teneurs en Matières grasses et
Matières Azotées Totales du lait cru**

Répétabilité : $S_r=0.0057$ g / 100 ml, $r=0.0161$ g / 100 ml

Mesure effectuée (g/l)	Intervalle de confiance 95 % (g/l)
25.0	24.84 – 25.16
30.0	29.84 – 30.16
35.0	34.84 – 35.16
40.0	39.84 – 40.16
45.0	44.84 – 45.16
50.0	49.84 – 50.16
55.0	54.84 – 55.16

Intra-reproductibilité $S_R=0.015$ g / 100 ml, $R=0.043$ g / 100 ml

Mesure effectuée (g/l)	Intervalle de confiance 95 % (g/l)
25.0	24,6 – 25,4
30.0	29,6 – 30,4
35.0	34,6 – 35,4
40.0	39,6 – 40,4
45.0	44,6 – 45,4
50.0	49,6 – 50,4
55.0	54,6 – 55,4

Carry-Over : 0.75 %

Echantillon analysé après un lait écrémé (g/l)	Mesure réelle influencée par le carry-over (g/l)
25.0	24,8
30.0	29,8
35.0	34,7
40.0	39,7
45.0	44,7
50.0	49,6
55.0	54,6

6.7.4.2 MAT-Matière azotée totale

Justesse : $S_{yx} = 0.037$ g/100 ml

Mesure effectuée (g/l)	Intervalle de confiance 95 % (g/l)
25.0	24.2 – 25.8
30.0	29.2 – 30.8
35.0	34.2 – 35.8
40.0	39.2 – 40.8
45.0	44.2 – 45.8
50.0	49.2 – 50.8
55.0	54.2 – 55.8

Détermination des teneurs en Matières grasses et Matières Azotées Totales du lait cru

Répétabilité : $S_r=0.0052$ g / 100 ml, $r=0.0146$ g / 100 ml

Mesure effectuée (g/l)	Intervalle de confiance 95 % (g/l)
25.0	24.85 – 25.15
30.0	29.85 – 30.15
35.0	34.85 – 35.15
40.0	39.85 – 40.15
45.0	44.85 – 45.15
50.0	49.85 – 50.15
55.0	54.85 – 55.15

Intra-reproductibilité $S_R=0.017$ g / 100 ml, $R=0.048$ g / 100 ml

Mesure effectuée (g/l)	Intervalle de confiance 95 % (g/l)
25.0	24,5 – 25.5
30.0	29,5 – 30.5
35.0	34,5 – 35.5
40.0	39,5 – 40.5
45.0	44,5 – 45.5
50.0	49,5 – 50.5
55.0	54,5 – 55.5

6.8 Administration

6.9 Classements et archivage

Toutes les feuilles d'enregistrement sont classées selon les modalités décrite au bas de chaque page

6.10 Anomalies usuelles

Description	Solution	Enregistrement	Resp
Problème technique : panne machine, pipette bouchée,	Résoudre le problème. Evaluer l'impact sur les résultats antérieurs et agir <ul style="list-style-type: none"> recommencer les analyses Annuler si ce n'est pas possible 	Laboba	Opérateur
Le point Zéro est hors limites	<ul style="list-style-type: none"> Rejeter le point zéro Purger l'appareil Refaire un point zéro S'il est toujours hors limites, en informer le responsable du labo qui prendra les mesures adéquates En cas de forte déviation (>0.1), l'opérateur le consignera dans le dossier de l'appareil et en avisera le responsable du laboratoire. Annuler tous les résultats depuis le dernier échantillon de contrôle valide.	- Dossier appareil Laboba	Opérateur Resp labo Resp labo
La température du dernier échantillon du casier après analyse est inférieure à 37°C	<ul style="list-style-type: none"> Annuler les résultats depuis le dernier contrôle de température valide 	Laboba	Resp labo
L'échantillon de contrôle est hors des limites de variation individuelle autorisée	Remplacer l'échantillon de contrôle par un autre et réanalyser le panier Si le problème persiste, le traiter comme	Liste des res. des éch ctrl	Opérateur

Comité du Lait ASBL	INSTRUCTION TECHNIQUE	INT-MOP-00009(11)
Détermination des teneurs en Matières grasses et Matières Azotées Totales du lait cru		

	un problème technique		
	•		
La moyenne cumulée sort de la courbe de variation autorisée	<p>La moyenne cumulée sort de l'intervalle de confiance</p> <ul style="list-style-type: none"> • Durant 1 échantillon de contrôle → étalonner l'appareil (cf [1] §11.5.1) • Durant 2 ou plus de 2 échantillons de contrôle → rectification de l'étalonnage PUIS réanalyser ou annuler les résultats depuis le moment où la moyenne cumulée sort de l'intervalle de confiance 	Programme de suivi d'étalonnage	Resp labo
La température des échantillons après chauffage est supérieure à 42°C	<ul style="list-style-type: none"> • Attendre que les échantillons refroidissent avant de commencer l'analyse. 	-	Opérateur
En début de semaine, les valeurs de référence du nouvel échantillon de contrôle ne sont pas disponibles	<ul style="list-style-type: none"> • Se référer § 6.5.2.2 	-	Opérateur