

Comité du Lait ASBL	Feuille d'enregistrement	FEU-ASQ-00002(1)
Signatures des responsables (document N° 2459)		

**0.1 Généralités**

Code et version      INT-MOP-00006(11)  
Titre du document    Détermination du point de congélation  
Type de document    Feuille d'enregistrement  
Date d'impression    14/8/18

**0.2 Résumé**

Instruction technique décrivant la procédure à suivre pour la détermination du point de congélation du lait cru

**0.3 Modification par rapport à la version précédente**

§6.5.1.2 : l'entretien de l'étalonnage se fait selon PRO-MAT-00002  
§6.6.1.1 : justesse à 2,5m°C - être plus clair dans la formulation

**0.4 Dates et Signatures**

Approbateur    PIRAUX Emile  
Directeur  
Auteur          VESELKO Didier  
Responsable technique  
Vérificateur    PIRON Fabienne  
Responsable labo composition

14/9/18 

14/8/2018 

14/9/18 



## Détermination du point de congélation

### 1 Objet et domaine d'application

Cette instruction technique décrit la méthode utilisée pour la détermination du point de congélation du lait cru de vaches.

### 2 Définitions

- Point de congélation du lait : valeur mesurée selon la méthode décrite dans la présente instruction technique et exprimée en degrés Celsius (°C).

### 3 Références

- NOT-ASQ-00001 : « Glossaire Général »
- NOT-FOS-01001 : « MilkoScan : Préparation des réactifs »
- FEU-FOS-01001 : « Check-List MilkoScan »
- PRO-MAT-00002 : « Procédure de contrôle du matériel »

### 4 Principe de l'analyse

L'échantillon est analysé sur le MilkoScan afin d'obtenir son point de congélation.

Il s'agit d'un spectrophotomètre dans l'infrarouge moyen couplé à une cellule de conductivité. L'appareil prélève minimum 5 ml de lait, le passe dans une série de 3 homogénéisateurs dont la pression monte jusqu'à 200 bars. L'échantillon ainsi préparé est alors injecté dans la cellule de conductivité et dans la cellule de mesure infrarouge. Le rayonnement infrarouge émis par une source passe dans un interféromètre puis dans la cellule de mesure IR.

La combinaison des mesures de conductivité et du spectre IR de l'échantillon permet d'obtenir le point de congélation de l'échantillon.

### 5 Matériel et réactifs

#### 5.1 Matériel et Maintenance

##### 5.1.1 MilkoScan

Voir §4 pour les principe technique de l'analyse

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

##### 5.1.2 Bain-Marie

Utiliser un bain-marie :

- Réglables à une température entre  $47\pm 2^{\circ}\text{C}$
- Avec tête plongeante de chauffé à circulation ou chauffé par des plaques collées dans le fond du bain

#### 5.2 Réactifs

Pour Le MilkoScan, on utilise les réactifs habituels (zéro et Clean). La préparation des réactifs est décrite dans la note technique NOT-FOS-01001.

## Détermination du point de congélation

### 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

- L'appareil infrarouge est vérifié quant à son bon état de fonctionnement conformément à ce qui est décrit à l'instruction technique INT-MOP-00009.

#### 6.3 Phase d'analyse (routine)

Après la préparation selon ce qui est décrit au §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.

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.

Le rebouchage des échantillons n'est pas nécessaire après analyse.

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 analyse du dernier échantillon, analyser un échantillon de contrôle pour valider la dernière série d'analyses. Interpréter le résultat conformément au point 6.6.1.

## Détermination du point de congélation

En fin de journée, toutes les opérations décrites dans l'instruction technique INT-MOP-00009 doivent être exécutées.

### 6.5 Etalonnages

#### 6.5.1 Etalonnages

##### 6.5.1.1 Etalonnage de base

L'étalonnage de base est fourni par le constructeur.

##### 6.5.1.2 Entretien de l'étalonnage

La droite d'étalonnage est vérifiée régulièrement conformément à la procédure de contrôle du matériel PRO-MAT-00002 (fréquence et mode opératoire).

#### 6.5.2 Re-étalonnages

En fonction des résultats obtenus sur les contrôles internes, le responsable labo décidera si il y a lieu de modifier l'étalonnage de l'appareil. Plus de détails sur les critères de re-étalonnage sont disponibles au point 6.6.1.

Tout changement d'étalonnage sera consigné dans le programme informatique de suivi d'étalonnage disponible sur le poste de travail de chaque appareil.

### 6.6 Contrôles

#### 6.6.1 Contrôles internes

##### 6.6.1.1 Echantillons de contrôle

Le contrôle de l'étalonnage de l'appareil se fait à l'aide de deux contrôles différents :

- Stabilité et justesse :
  - ces deux paramètres sont vérifiés en analysant un échantillon de contrôle composition (ECC)
  - Critère : chaque résultat ne peut s'écarter de plus de  $5\sqrt{N}$  m°C de la valeur de référence et la moyenne cumulée depuis le début de la session de l'intervalle de confiance  $\frac{5}{\sqrt{N}}$  m°C où N représente le nombre d'échantillons depuis le début de la session de travail.
  - 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 la valeur de référence n'est pas disponible 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
- Justesse : par comparaison entre le MilkoScan et le Cryoscope sur un minimum de 5 échantillons de lait cru. La moyenne des différences observées ne peut dépasser 2.5 m°C. Afin d'interpréter les résultats de cette comparaison, l'opérateur dispose du document FEU-CRY-00003. Ce test est effectué minimum une fois par semaine.

En fonction des deux types de tests effectués ci dessus, on déterminera ce qu'il y a lieu de faire :

		Moyenne cumulée des échantillons de contrôle comparée à la valeur de référence	
		Hors intervalle de confiance	Dans l'intervalle de confiance
Ecart moyen sur 5 échantillons entre le cryoscope et le MilkoScan	>2.5 m°C	Changer l'étalonnage du MilkoScan (biais)	(*)
	<= 2.5 m°C	(*)	Ne rien changer

(\*) : Dans ce cas, il faut rechercher les causes du problème et le solutionner avant de valider ou d'invalider les résultats (étalonnage du MilkoScan défectueux, cryoscope défectueux, problèmes éventuels avec les échantillons, ...).

**NB** : pour l'échantillon de contrôle composition, la valeur servant de « référence » sera celle fournie par la guidance scientifique. En cas de divergence entre cette valeur et les résultats observés en interne sur le cryoscope et après s'être assuré du bon fonctionnement du cryoscope (→ instabilité de l'échantillon de contrôle dans le temps), les responsables labo et le RT se consulteront afin de déterminer la nouvelle valeur de référence (prendre la valeur déterminée en interne sur le cryoscope).

### 6.6.1.2 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

Le résultat fourni par l'appareil s'exprime en -m°C

### 6.7.2 Domaine de mesures – Limites

Les résultats sont enregistrés dans la base de données sous forme d'un nombre entier compris entre 1 (-0.001 °C) et 999 (-0.999 °C)

### 6.7.3 Sensibilité du résultat

Néant

#### 6.7.4 Performances

Les chiffres cités dans ce paragraphe sont tirés du dossier de validation du FT-6000 MAT-FOS-00007, 12/2002

Justesse :  $S_{yx} = 2.9 \text{ m}^\circ\text{C}$

Cryoscopie -m°C	Intervalle de confiance 95 % -m°C
500	494.2 – 505.8
505	499.2 – 510.8
510	504.2 – 515.8
515	509.2 – 520.8
520	514.2 – 525.8
525	519.2 – 530.8
530	524.2 – 535.8

Répétabilité :  $S_r = 0.49 \text{ m}^\circ\text{C}$ ,  $r = 1.4 \text{ m}^\circ\text{C}$

Cryoscopie -m°C	Intervalle de confiance 95 % -m°C
500	498.6 – 501.4
505	503.6 – 506.4
510	508.6 – 511.4
515	513.6 – 516.4
520	518.6 – 521.4
525	523.6 – 526.4
530	528.6 – 531.4

Reproductibilité  $S_R = 1.8 \text{ m}^\circ\text{C}$ ,  $R = 5 \text{ m}^\circ\text{C}$

Cryoscopie -m°C	Intervalle de confiance 95 % -m°C
500	495 – 505
505	500 – 510
510	505 – 515
515	510 – 520
520	515 – 525
525	520 – 530
530	525 – 535

#### 6.8 Administration

Néant

#### 6.9 Classement et archivage

Toutes les feuilles d'enregistrement doivent être classées conformément à ce qui est décrit au bas de chacune d'entre elles.

#### 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"> <li>recommencer les analyses</li> <li>Annuler si ce n'est pas possible</li> </ul>	Laboba	Opérateur
La température du dernier échantillon du casier après analyse est inférieure à 37°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>Annuler les résultats depuis le dernier contrôle de température valide</li> </ul>	Laboba	Resp labo

Détermination du point de congélation

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 un problème technique	Liste des res. des éch ctrl	Opérateur
La moyenne cumulée sort de la courbe de variation autorisée	Se référer au § 6.6.1.1 afin de déterminer si un ré-étalonnage est nécessaire.  Dans le cas où un ré-étalonnage est nécessaire : la moyenne cumulée sort de l'intervalle de confiance <ul style="list-style-type: none"> <li>• Durant 1 échantillon de contrôle → étalonner l'appareil</li> <li>• Durant 2 ou plus de 2 échantillons de contrôle → rectification de l'étalonnage PUIS réanalyser (si possible) ou annuler les résultats depuis le moment où la moyenne cumulée sort de l'intervalle de confiance</li> </ul>	Programme de suivi d'étalonnage	Resp labo & RT  Resp labo
La température des échantillons après chauffage est supérieure à 42°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Attendre que les échantillons refroidissent avant de commencer l'analyse.</li> </ul>	-	Opérateur
En début de semaine, les valeurs de référence du nouvel échantillon de contrôle ne sont pas disponibles	Se référer à § 6.6.1.1	-	Opérateur