Essais de l'appareil « Milko-Tester automatique » destiné au dosage en série de la matière grasse du lait

par

R. GRAPPIN et R. JEUNET

avec la collaboration technique de R. RIGOGNE

I.N.R.A. Station Expérimentale Laitière (39) Poligny

INTRODUCTION

Le Milko-Tester est un appareil de dosage rapide de la matière grasse du lait construit par la société danoise A/S. N. Foss Electric (Hillerød). Les résultats obtenus jusqu'à ce jour avec les appareils manuels ou automatiques sont en général satisfaisants (Schmidt, 1966 ; Hänni, 1966 ; O'Keeffe, 1968 ; Sherbon et al., 1969).

Cependant, quelques réserves sont faites quant à la précision des dosages des laits individuels (Grubb, 1966 ; Murphy et al., 1967) et aux risques de bouchage de l'appareil manuel lorsque les dosages sont faits sur des laits acides (Cerna et al., 1966 ; Laskowski et al., 1968).

Récemment, le constructeur a mis au point une version automatique de l'appareil, le Milko-Tester Automatique (M.T.A.) qui, en plus des améliorations apportées au rendement et aux conditions d'utilisation de l'appareil, présente quelques modifications de principe dont les conséquences sont importantes.

Toute méthode automatique de dosage du lait présente, aujourd'hui, un intérêt pour les laboratoires départementaux ou régionaux, vers lesquels sont de plus en plus centralisés les dosages de matière grasse demandés par le contrôle laitier individuel et le paiement du lait.

Grâce à un prêt consenti par le constructeur, nous avons pu, pendant huit mois (de septembre 1968 à avril 1969), procéder aux essais du Milko-Tester Automatique dont nous donnons ici les résultats.

I. - METHODE ET APPAREIL

a) Principe

La méthode repose sur une mesure de la turbidité du lait (Haugaard et Pettinati, 1959 ; Walstra, 1965).

On considère un faisceau de rayons lumineux parallèles traversant une cuve de mesure contenant le lait. Ce faisceau se trouve en partie diffusé par les globules gras en émulsion dans le milieu et à l'aide d'une cellule photo-électrique placée à une courte distance de la cuve (15 à 30 mm), on mesure l'intensité de la lumière transmise. Ce dispositif permet à la cellule photo-électrique de capter, en plus des rayons parallèles comme c'est le cas pour un turbidimètre classique, une partie de la lumière diffusée par les globules gras. Ce type de photomètre a l'avantage d'être relativement peu sensible aux variations du degré d'homogénéisation du lait.

Schéma 1 : Diagramme de fonctionnement du M.T.A.

- I : Mélange du lait par agitation.
- II : Prélèvement du lait (A) et distribution du lait et du Versène (B).
- III : Seringue de mesure du lait.
- IV : Seringue de mesure du Versène.
- V : Désaération du Versène par chauffage.
- VI : Versène.
- VII : Homogénéisation du mélange : lait + Versène.
- VIII : Cuve de mesure et cellule photo-électrique.

Pour obtenir une relation précise entre la densité optique du faisceau lumineux transmis et la concentration en matière grasse du lait, il faut supprimer un certain nombre de facteurs de variation. Tout d'abord, la taille moyenne des globules gras est réduite à 2 microns par homogénéisation. Ensuite, pour éliminer la diffusion de lumière par les micelles de caséine, on ajoute au lait une solution de Versène (éthylène diamine tétra-acétate disodique) qui solubilise la caséine. Cette solution contient en plus un émulsifiant, le Triton X 100, qui empêche la formation de grappes de globules gras ainsi qu'un produit antimoussant ; elle est amenée à pH 10 avec de la soude. Enfin, grâce à cette dilution par la solution de versène, on élimine en grande partie l'influence des variations d'indice de réfraction du sérum.

b) Réalisation et fonctionnement de l'appareil

Le lait étant réchauffé à 35° C environ et mélangé pour obtenir un échantillon parfaitement homogène, l'appareil prélève un volume de 1,5 ml de lait auquel est ajouté un volume de 13,5 ml de la solution diluante, préalablement désaérée par chauffage. Le mélange lait + diluant est ensuite porté à 60° C et homogénéisé à une pression de 140 kg/cm² par un homogénéisateur mécanique (voir schéma 1).

Le fait que l'homogénéisation ne porte plus sur le lait, comme dans les versions MK I et MK II de l'appareil, mais sur le lait dilué, évite le risque de coagulation dans l'appareil.

La mesure de la densité optique, qui se fait en lumière blanche dans une cuve de 0,4 mm d'épaisseur, est transformée de façon à lire directement la teneur en matière grasse du lait sur un voltmètre digital. Toutes les opérations, depuis la mesure du lait jusqu'à l'inscription des résultats sont automatiques. Le seul travail de l'opérateur consiste à placer les flacons dans un portoir, à surveiller le déroulement des dosages et à vérifier les réglages de l'appareil. L'enregistrement et l'identification des résultats des dosages peut se faire directement sur des documents mécanographiques. Le cycle complet pour réaliser un dosage est de 20 secondes.

L'appareil est muni d'un dispositif de contrôle des différentes séquences du dosage arrêtant l'appareil en cas d'incident de fonctionnement.

c) Etalonnage de l'appareil

L'étalonnage consiste à établir une relation entre les mesures fournies par l'appareil et les résultats obtenus par une méthode chimique de référence, puis à régler l'appareil pour qu'il donne exactement la teneur en matière grasse du lait.

Théoriquement, l'appareil est étalonné par le constructeur, mais, souvent, les résultats donnés par le M.T.A. ne coïncident pas exacte-

ment avec ceux que l'utilisateur obtient avec une méthode chimique. Aussi, pour étalonner l'appareil, il faut, après s'être assuré de son bon fonctionnement, doser un grand nombre d'échantillons de lait, d'une part par le M.T.A. et, d'autre part, par la méthode chimique qui servira ensuite de méthode de contrôle. Après comparaison des deux séries de résultats, on règle l'appareil pour obtenir la concordance entre les résultats chimiques et les résultats M.T.A. Ce réglage est assez complexe, mais on peut le résumer ainsi : on modifie l'intensité du courant de compensation (shift value), cette intensité est égale mais de sens opposé au courant émis par la cellule photoélectrique recevant à peu près la totalité de l'énergie lumineuse et on modifie également la distance entre la cellule photoélectrique et la cuve de mesure. Ces opérations doivent être réalisées par l'installateur. Cependant, en cours d'utilisation, nous verrons qu'il est parfois nécessaire de réajuster l'étalonnage de l'appareil. Ces modifications, qui portent très souvent sur un décalage de la droite d'étalonnage parallèlement à elle-même, peuvent se faire de façon approchée en réglant la valeur du courant de compensation.

d) Valeur de la méthode

La valeur d'une méthode se définit :

1) Par la reproductibilité, estimée par l'écart-type des écarts entre plusieurs mesures faites sur un même échantillon de lait.

2) Par la précision ou exactitude, qui est le degré de concordance entre les résultats donnés par l'appareil est par une méthode chimique de référence. Cette précision s'exprime par la moyenne des écarts et par l'écart-type résiduel déduit de la corrélation entre les deux séries de mesure.

Si, pendant une période donnée, il y a des variations de l'étalonnage de l'appareil, dues par exemple à une dérive de l'appareil ou à des modifications des propriétés du lait, ces variations vont affecter la précision (erreurs par excès ou par défaut) et la reproductibilité des mesures qui sont faites au cours de cette période. Aussi deux cas ont été envisagés pour l'étude de la reproductibilité et de la précision :

— dosages sur laits frais et pendant une courte période (quelques heures),

— dosages sur laits conservés réalisés au cours d'une longue période (plusieurs semaines).

II. - ESSAIS DE L'APPAREIL

a) Reproductibilité et précision de la méthode avec des laits frais

Essai 1 : Les teneurs en matière grasse de 70 laits individuels provenant d'une seule traite et récoltés parmi plusieurs élevages

montbéliards d'une même région sont déterminées par les méthodes Röse-Gottlieb (norme FIL. 1 : 1955), Gerber (Terroine, 1951) et par le M.T.A. Toutes les déterminations sont faites deux fois sur le lait frais. La richesse en matière grasse des échantillons varie entre 15 et 60 g/kg.

Résultats :

— Reproductibilité : avec deux dosages M.T.A. par échantillon l'écart-type des mesures intra-lait est de 0,27 g/kg.

— Précision : entre la méthode de référence Röse-Gottlieb et le M.T.A., nous trouvons un coefficient de corrélation de 0,996 et un écart-type résiduel de 0,75 g/kg.

A titre de comparaison, nous donnons dans les tableaux 1 et 2 les valeurs de reproductibilité et de précision obtenues sur ces mêmes échantillons de lait par d'autres méthodes.

b) Influence du produit de conservation

1° UTILISATION DU CHLORURE MERCURIQUE

Le chlorure mercurique, ou sublimé, est un des produits de conservation le plus largement utilisé. En France, il est employé sous la forme de solution hydro-alcoolique colorée. Cette solution est placée dans les flacons destinés aux prélèvements des échantillons et, après évaporation de l'alcool, on obtient un film coloré de sublimé adhérent aux parois du flacon. Le remplissage du flacon avec du lait entraîne la dissolution du sublimé.

1) Influence de la concentration en sublimé

Essai 2 : 30 laits de mélange, conservés avec différentes concentrations de sublimé, sont dosés avec le M.T.A. après 3, 7 et 21 jours de conservation à 4° C.

TABLEAU 1

Reproductibilité des méthodes de dosage de la matière grasse
calculée sur 70 échantillons de laits individuels

Méthode	σ (g/kg)
Röse-Gottlieb	0,12
Gerber	0,26
I.R.M.A.	0,18
M.T.A.	0,27
σ : écart-type des écarts entre deux déterminations	

TABLEAU 2

Précision des méthodes de routine de dosage de la matière grasse par rapport à la méthode Röse-Gottlieb, calculée sur 70 échantillons de laits individuels

Méthode	σ (g/kg)
Gerber	0,47
I.R.M.A.	0,92
M.T.A.	0,75

σ : écart-type résiduel

Résultats : Mis à part le cas d'une concentration en sublimé 5 fois normale, toutes les mesures M.T.A. baissent lorsque la durée de conservation du lait augmente (fig. 1). C'est avec une concentration normale de 0,7 p. 1000 que la baisse est la plus importante : le taux moyen de matière grasse passe de 35,3 g/kg sur le lait frais à 32,4 g/kg après 21 jours de conservation.

La détermination du taux d'acides gras libres de plusieurs échantillons de lait, avant et après conservation avec du sublimé, a révélé une lipolyse très sensible du lait en cours de conservation. On sait en effet (Webb et Johnson, 1965) que le sublimé est un activateur des lipases du lait et Adda et al. (1968), notent dans leurs essais de

fig. 1

Influence de la concentration en chlorure mercurique du lait et du temps de conservation sur les mesures M.T.A. (moyenne de 30 laits d'étables conservés à 4° C). Essai 2.

— 1 dose : 0,7 p. 1000 de Hg Cl₂.

l'appareil I.R.M.A., que l'utilisation du sublimé n'est pas possible pour le dosage de la matière grasse. Mc Dowell (1968 a ; 1968 b) travaillant sur des échantillons de lait composés indique aussi que la matière grasse s'hydrolyse lorsque le lait est conservé avec du sublimé mais il ne déconseille pas l'emploi du sublimé avec le Milk-Tester. Ginn et Packard (1969) préconisent une modification de l'étalonnage de l'appareil pour le dosage des laits conservés avec du sublimé (échantillons composés).

L'action du sublimé est relativement faible lorsqu'il est utilisé à une concentration équivalente à une demi-dose ; elle atteint son maximum avec une dose puis décroît régulièrement pour s'annuler pratiquement avec 5 doses (fig. 1). Les lipases du lait semblent donc sensibles, non seulement à la présence du chlorure mercurique dans le lait, mais aussi à sa concentration.

Ces résultats paraissent contredire ceux de nombreux auteurs (Hedrick et Koch, 1967 ; Bakke, 1968 ; Curtis et Neff, 1968 ; l'Institut de recherche finlandais, 1968 ; Shipe, 1969 et Armandola, 1969) qui ont utilisé avec succès le chlorure mercurique. Toutefois ces auteurs ainsi que Mc Dowell cité plus haut, utilisent le sublimé, non sous la forme de solution alcoolique, mais en tablette dont l'excipient est du chlorure de sodium. Aussi, dans un deuxième essai, nous avons recherché si l'addition de Na Cl au lait permettait l'utilisation du sublimé.

2) Influence du chlorure de sodium additionné au sublimé

Essai 3 : Sur 30 laits de mélange additionnés de 0,7 p. 1000 de sublimé, nous avons ajouté des doses croissantes de Na Cl, allant

TABLEAU 3

Influence de l'addition de Na Cl sur les dosages M.T.A. de laits conservés avec 0,7 p. 1000 de Hg Cl₂ (essai 3)

Concentration en Na Cl (p. 100)	Résultats M.T.A. (g/kg)	
	$\bar{x}$ corrigé	σ
0	— 1,41	0,58
0,5	— 1,45	0,70
1	— 0,29	0,39
2	+ 0,01	0,30
3	+ 0,04	0,44
5	— 0,16	0,36

$\bar{x}$ corrigé : Moyenne des écarts M.T.A. - Gerber corrigée en fonction de la dilution due à l'addition de sel.

σ : Ecart-type des écarts.

de 0,5 à 5 p. 100. Les laits sont dosés au M.T.A. après 8 jours de conservation.

Résultats : Les résultats (tab. 3) montrent que le sel présent dans le lait à une concentration au moins égale à 2 p. 100 annule l'action du sublimé : la moyenne des écarts entre le M.T.A. et le Gerber est voisine de zéro et la précision est semblable à celle qu'on obtient avec du lait non conservé. Le chlorure de sodium agit, ici, comme inhibiteur des lipases du lait (Webb et Johnson, 1965).

D'après ces premiers essais, le chlorure mercurique doit pouvoir être utilisé pour le dosage de la matière grasse par le M.T.A. à condition d'ajouter au lait 2 p. 100 de Na Cl. Nous avons essayé de préciser ce résultat au cours de l'essai 4.

2° COMPARAISON DES DIFFÉRENTS PRODUITS DE CONSERVATION

Essai 4 : 30 laits d'étables et 30 laits individuels sont dosés au M.T.A. après 3, 7 et 21 jours de conservation à 4° C. Les produits de conservation utilisés sont les suivants :

- 1) Mélange bichromaté [$K_2 Cr_2 O_7$ (5 parties) + $Hg Cl_2$ (1 partie) + $H_2 BO_3$ (1 partie)] à la concentration de 1,4 p. 1000.
- 2) Sublimé pur : $Hg Cl_2$ à la concentration de 0,7 pour 1000.
- 3) Sublimé en pastille : $Hg Cl_2$ à la concentration de 0,7 p. 1000 + Na Cl à la concentration de 2 p. 100.

Résultats : Après 21 jours de conservation avec du sublimé pur, le dosage M.T.A. sous-estime (par rapport au dosage Gerber) la teneur en matière grasse de 3,60 g pour les laits individuels et de 2,10 g pour les laits de mélange. Avec la pastille de sublimé et le mélange bichromaté, l'écart M.T.A. - Gerber ne dépend pas du temps de conservation (tab. 4). Cet essai confirme donc que l'hydrolyse de la matière grasse est favorisée par l'addition du sublimé pur et inhibée par le Na Cl.

On remarque aussi que la variabilité des écarts entre les dosages M.T.A. et Gerber est beaucoup plus grande avec les laits conservés avec du sublimé pur qu'avec ceux conservés avec une pastille ou avec du mélange bichromaté ; pour les laits conservés avec du sublimé, cette variabilité est plus élevée avec les laits individuels qu'avec les laits de mélange (tab. 4) : l'action du sublimé est donc variable suivant la nature et la concentration des lipases du lait.

En conclusion, on peut utiliser soit le mélange bichromaté, soit le sublimé, en pastille ou accompagné de chlorure de sodium, comme produit de conservation. Le mélange bichromaté étant essentiellement constitué de bichromate de potassium, il est vraisemblable que ce dernier peut être utilisé seul, c'est d'ailleurs ce que préconise le constructeur. Appleman et Laden (1968), ont cependant trouvé que

TABLEAU 4

Influence de la nature, du produit et du temps de conservation, sur les dosages
M.T.A. de 30 laits d'étables et de 30 laits individuels (essai 4)

Temps de conservation	Laits individuels						Laits d'étables					
	Mélange bichromaté		Sublimé pur		Sublimé en pastille		Mélange bichromaté		Sublimé pur		Sublimé en pastille	
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
3 jours	— 0,10	0,64	— 1,10	1,30	— 0,38	0,63	— 0,48	0,36	— 1,23	0,82	— 0,74	0,39
7 jours	— 0,58	0,63	— 2,56	1,86	— 0,84	0,59	— 0,10	0,45	— 1,29	1,00	— 0,34	0,32
21 jours	— 0,29	0,59	— 3,60	2,45	— 0,49	0,63	— 0,34	0,38	— 2,10	1,35	— 0,62	0,35

Différence M.T.A. - Gerber. $\bar{x}$: moyenne (g/kg).
 σ : écart-type (g/kg).

TABLEAU 5

Analyse de la variance des dosages M.T.A. sur une période de 19 jours
(12 répétitions sur 30 laits d'étables) (essai 5)

Source de variation	Somme des carrés centrés	Degré de liberté	Variance	F
Totale	16 531,26	359		
Entre laits	16 434,24	29	568,7668	++
Entre dates	19,97	11	1,8154	++
Intra-laits (résiduelle + entre dates)	37,02	330	0,112	
Résiduelle	17,05	319	0,0534	

Essai 6 : Prélèvement régulier de 13 séries de laits sur lesquels les dosages M.T.A. sont effectués après 48 heures de conservation.

Essai 7 : Prélèvement régulier de 9 séries de laits dosés le même jour et dans un ordre tel qu'on élimine l'influence de toute variation d'étalonnage de l'appareil.

Chaque série comprend environ 30 laits d'étables. Tous les échantillons sont conservés à 4° C avec addition de 1,4 p. 1000 de mélange bichromaté. Les dosages de référence par la méthode Gerber sont faits en double sur le lait frais.

Résultats

— *Essai 5* : La moyenne des dosages M.T.A. varie de 36,7 à 37,5 g/kg (fig. 3, essai 5). Cette variation est relativement faible mais significative comme l'indique l'analyse de variance (tab. 5). L'écart-type intra-lait, qui mesure la reproductibilité de l'appareil, est globalement de 0,34 g/kg ; il n'est plus que de 0,23 g/kg après élimination de l'effet date. Cette erreur de 0,23 g/kg est à rapprocher de l'erreur calculée dans l'essai 1, qui était de 0,27 g/kg. Cet effet « date » significatif peut avoir une double origine : soit une influence des variations d'étalonnage de l'appareil, soit une influence de la durée de conservation des échantillons.

— *Essai 6* : Au moment du dosage M.T.A., tous les échantillons de lait ont le même temps de conservation (48 h), les seules variations résultent donc du réglage de l'appareil. Sur la période des 3 semaines considérées, la moyenne algébrique des écarts entre les dosages M.T.A. et Gerber oscille entre $-0,84$ et $+0,45$ g/kg, ce qui correspond à une amplitude de 1,29 g (fig. 3, essai 6). Normalement, avec un appareil correctement étalonné et en admettant une erreur

moyenne (écart-type des écarts entre dosages M.T.A. et Gerber) de 0,5 g/kg, l'intervalle de confiance à 95 p. 100 de la moyenne d'une série de 30 laits de mélange devrait être de $\pm 0,2$ g/kg ($\pm 2 \sigma_{\bar{x}}$). Pendant cette période, il y a donc eu des variations dans l'étalonnage de l'appareil, variations qu'il faut s'efforcer de déceler et de corriger pour réduire les erreurs systématiques.

fig. 3

Essai 5 : Variation de la moyenne des résultats M.T.A. de 30 laits d'étables (cf. fig. 2).

Essai 6 : Variation des écarts M.T.A. - Gerber de 13 séries de 30 laits dosés après 48 heures de conservation (cf. fig. 2).

Essai 7 : Variation des écarts M.T.A. - Gerber de 9 séries de 30 laits chacune âgées de 0 à 18 jours et dosés le même jour (cf. fig. 2).

— *Essai 7 :* Dans l'essai 4, nous avons vu que la précision de la méthode M.T.A. ne dépendait pas de la durée de conservation des échantillons, en particulier lorsqu'ils sont conservés avec du mélange bichromaté. Nous répétons ici un essai à peu près analogue, mais avec un nombre plus important de dosages et selon un schéma qui élimine toutes variations d'étalonnage, ce qui permet de mettre en évidence la seule influence de l'âge des échantillons.

Les résultats (fig. 3, essai 7) montrent que la moyenne des écarts entre le M.T.A. et la méthode Gerber n'est pratiquement pas influencée par l'âge des échantillons. Sauf pour la série de 24 h, la moyenne est comprise dans un intervalle environ de $\pm 0,2$ g/kg.

TABLEAU 6

Influence de l'acidité du lait au moment du dosage sur les dosages M.T.A.
(essai 9)

N° échantillons	Acidité au moment du dosage (degré Dornic)	Dosage M.T.A. (g/kg)	
		Lait frais	Lait acide
1	18	32,7	32,7
2	18	34,8	34,7
3	18	34,8	34,7
4	19	33,6	33,5
5	19	36,8	36,7
6	20	34,0	33,9
7	20	33,8	33,8
8	20	40,4	40,3
9	20	35,1	35,1
10	21	33,0	32,7
11	21	33,5	33,9
12	21	35,9	35,8
13	21	41,7	42,0
14	21	32,5	32,2
15	25	34,0	34,0
16	26	33,8	33,9
17	26	36,2	36,4
Moyenne... ..	—	35,09	35,08

fig. 4

Variation des mesures M.T.A. au cours des premières 48 h de conservation
(moyenne de 10 laits d'étables conservés à 4° C)

□ : sans produit de conservation.

■ : avec un produit de conservation ($\text{Hg Cl}_2 + \text{Na Cl}$).

TABLEAU 7

Résultats obtenus avec le M.T.A. au cours des différents essais

Conditions expérimentales							Résultats			
Nature des laits	N	Conditions de conservation			Période des dosages M.T.A.	n	Reproductibilité σ (g/kg)	Précision		
		Durée (jour)	Température (° C)	Conservateur				r	σ (g/kg)	Méthode de référence
I	70	0	—	sans	2 h	2	0,27	0,996 0,996	0,75 0,75	Röse-Gottlieb Gerber
M	236	2	4	m. bichr.	10 j	1	—	0,990	0,50	Gerber
M	30	1 à 19	4	m. bichr.	19 j	12	0,34	—	—	—
M	234	1 à 18	4	m. bichr.	1 j	1	—	0,981	0,49	Gerber
	233		4	Hg Cl ₂ + Na Cl		1	—	0,981	0,49	
	263		20	m. bichr.		1	—	0,983	0,47	
	263			Hg Cl ₂ + Na Cl		1	—	0,981	0,51	
I. ch.	62	4	4	m. bichr.	2 h	2	—	0,997	0,76	Gerber

 σ : écart-type.

r : coefficient de corrélation.

I : laits individuels de vache.

I.ch : laits individuels de chèvre.

M : laits de mélange de vache (troupeau).

N : nombre de laits analysés.

m bichr. : mélange bichromaté (K₂Cr₂O₇ + HgCl₂ + H₃BO₃).

n : nombre de répétition des dosages M.T.A.

Ces derniers résultats ne concernent que des échantillons de lait conservés au froid avec du mélange bichromaté. Le même essai, réalisé avec du sublimé en pastille et conservation des échantillons à la température ordinaire, a donné des résultats identiques (tab. 7).

Nous devons cependant faire une petite remarque : les dosages obtenus avec les échantillons conservés à $+ 4^{\circ}\text{C}$ sont, quel que soit le produit de conservation, plus faibles de 0,15 à 0,20 g/kg par rapport aux dosages obtenus avec les échantillons conservés à température ambiante.

D'autre part, la baisse des mesures entre 0 et 24 ou 48 h de conservation notée dans l'essai 7 et qu'on peut observer aussi sur la figure 3, essai 5, est précisée dans l'essai 8.

Essai 8 : 10 laits de mélange gardés à 20°C avec et sans produit de conservation, sont dosés au M.T.A. à intervalles rapprochés jusqu'à 48 h de conservation.

Résultats : La figure 4 montre que les lectures M.T.A. baissent en moyenne de 1 g/kg au cours des 15 premières heures de conservation. Dans les essais 5 et 7 la baisse observée entre 0 et 1 jour de conservation est plus faible (0,5 g/kg environ). Cette différence entre les essais 5 et 7 et l'essai 8 au sujet de la baisse des mesures dans les premières heures qui suivent la traite, peut s'expliquer par le fait que les dosages M.T.A. du jour zéro des essais 5 et 7 n'ont pas été faits immédiatement après la traite mais au cours de la journée (donc plusieurs heures après la traite), réduisant de ce fait l'écart entre le premier dosage et le dosage à 1 jour.

En conclusion, ce sont essentiellement les dérives de l'appareil qui affectent la précision et la reproductibilité des dosages. Les variations observées au cours des premiers jours de conservation sont comparativement moins importantes. Quant à l'âge des échantillons, il n'a pratiquement aucune influence sur les résultats, dans les limites fixées par nos essais.

d) Influence de l'acidité du lait

Essai 9 : Le dosage des laits acides préoccupe beaucoup les utilisateurs d'appareils de mesure. Dans un essai portant sur 15 laits d'étables que nous avons laissé acidifier pendant 24 h (après y avoir ajouté quelques gouttes de ferments lactiques), nous avons comparé les résultats des dosages M.T.A. faits sur laits gardés à 4°C et sur laits acidifiés. L'acidité des laits frais est de 15°D environ et celle des laits acides varie entre 19 et 26°D .

Résultats : Nous n'avons trouvé aucune différence entre laits frais et laits acides (tab. 6). La détermination du taux butyreux par le M.T.A. n'est donc pas influencée par l'acidité du lait, à condition toutefois que le lait acide ne soit pas conservé.

e) Dosage des laits de chèvre

Essai 10 : 62 laits individuels de chèvre provenant d'une seule traite et dont le taux de matière grasse varie entre 17 et 42 g/kg ont été dosés par la méthode Gerber et le M.T.A.

Résultats : La précision des dosages des laits de chèvre (écart-type résiduel de 0,76 g/kg et coefficient de corrélation de 0,997) est du même ordre de grandeur que celle des laits de vache. L'équation de régression Gerber/M.T.A. calculée pour les laits de chèvre n'est pas significativement différente, au seuil de 0,05, de l'équation calculée pour les laits de vache. Le M.T.A. peut probablement être utilisé sans modification d'étalonnage pour le dosage de la matière grasse des laits de chèvre.

III. - UTILISATION DE L'APPAREIL. FIABILITE

a) Personnel

Dans sa conception actuelle, l'utilisation du M.T.A. est relativement simple, il ne nécessite pas de la part du personnel une très grande qualification professionnelle. En revanche, la présence dans un laboratoire possédant un tel appareil d'un technicien hautement qualifié est indispensable. Ce technicien doit avoir une bonne connaissance théorique et pratique de l'appareil et doit être capable de prévenir ou déceler tout incident de fonctionnement de façon à intervenir rapidement et avec efficacité.

b) Pannes

Au cours de nos essais, qui ont porté sur environ 40 000 dosages, nous n'avons eu aucune panne importante de l'appareil nécessitant l'intervention du réparateur.

c) Coût du dosage

Il est très difficile de donner une valeur exacte du prix de revient du dosage, car, en plus des éléments fixes comme le prix de l'appareil et celui des réactifs, les cadences, etc., interviennent la structure propre de chaque laboratoire et les conditions d'utilisation de l'appareil.

Dans ce paragraphe, nous nous bornerons à donner les éléments nécessaires pour faire ce calcul.

- Cadence de l'appareil : 1 100 dosages par jour (8 h).
- Prix de l'appareil (novembre 1969) : 95 500 F H.T.

— Personnel : 3/4 à 1 technicien à un salaire net mensuel moyen de 900 à 1 100 F et 1/10 de technicien supérieur à un salaire net mensuel moyen de 1 700 à 2 200 F.

— Produits chimiques + eau distillée : environ 0,04 F par dosage.

IV. - DISCUSSION

L'examen de nos résultats et l'expérience que nous avons acquise au cours de 8 mois d'utilisation du Milko-Tester Automatique, nous permettent dès à présent de formuler quelques jugements.

Nous résumons dans le tableau 7 les principaux résultats obtenus au cours des différents essais. Ils confirment les valeurs annoncées par le constructeur et se rapprochent souvent de celles obtenues dans des conditions très variables par les auteurs étrangers (tab. 8).

TABLEAU 8

Précision et reproductibilité obtenues avec le Milko-Tester par différents auteurs

Auteurs	Nature du lait	Reproductibilité	Précision		
			r	σ	Méthode de référence
Brems (1965)	—	—	—	0,058	Röse-Gottlieb
Murphy et al. (1967) ..	M	0,016	—	0,071	Gerber
	I			0,107	
Sherbon et al. (1967)	I	0,063	—	—	—
O'Keeffe (1967)	M	—	0,985	0,085	Gerber
Curtis et al. (1968) ..	M	0,02	—	—	—
Appleman et al. (1968)	I	0,032	—	0,057	Babcock
Oura et al. (1968) ..	I	très bonne	0,978	—	Babcock
Bakke (1968)	—	0,012 à 0,025	—	—	—
Shipe (1969)	—	—	—	0,045	Babcock

σ : écart-type en p. 100.

r : coefficient de corrélation.

M : laits de mélange.

I : laits individuels.

Pour Senft et al. (1965), les résultats sont assez moyens puisque 56,3 p. 100 des écarts par rapport à la méthode Gerber sont supérieurs à $\pm 0,05$ p. 100 (écart maximum de 0,5 p. 100). Pour Hedrick et Koch (1967), qui utilisent la méthode Babcock comme référence, 10 p. 100 seulement des mesures effectuées sur 155 laits frais présentent une erreur supérieure à 0,05 p. 100. Laskowski et Luczak

(1969) ont obtenu des moyennes identiques avec le Milko-Tester et le Gerber. Et si l'on prend un intervalle de confiance à 95 p. 100 de $\pm 0,1$ p. 100, la proportion des écarts supérieurs à cet intervalle est de 7 p. 100 pour Schmidt (1966), 3,6 p. 100 pour Bergmann et Gigger (1968) et 3,6 p. 100 pour Ford et al. (1968). Lorsque ces derniers auteurs utilisent non plus du lait frais, mais du lait conservé avec du sublimé, la proportion des erreurs passe à 20,7 p. 100. En respectant certaines conditions de prélèvement et de conservation du lait, Mc Dowell (1968) obtient 90 p. 100 des écarts inférieurs à $\pm 0,10$ p. 100 par rapport à la méthode Werner-Schmidt.

La reproductibilité et la précision de la méthode sont en définitive comparables à celles des méthodes usuelles de dosage de la matière grasse (cf. tab. 1 et 2) ; sur ce point, l'appareil M.T.A. est donc satisfaisant. Mais c'est au niveau des conditions d'utilisation qu'apparaissent quelques difficultés :

1) Tout d'abord, nous avons observé des variations d'étalonnage du Milko-Tester, dues certainement au mauvais fonctionnement d'un organe quelconque de l'appareil, mais que les moyens de contrôle dont est muni l'appareil ne nous ont pas permis de déceler. Il n'est pas question d'extrapoler, cependant, ces observations montrent que l'utilisateur doit rester vigilant et surveiller constamment et si besoin est, modifier l'étalonnage de son appareil. Cette surveillance doit se faire avec un lait de contrôle dont la valeur en matière grasse est déterminée avec précision par une méthode chimique de référence.

Cette précaution étant prise, la précision de l'appareil reste tout à fait acceptable, avec cependant une réserve en raison de la baisse de 0,5 à 1 g/kg des lectures M.T.A. au cours des premiers jours de conservation.

2) Actuellement, l'utilisation du sublimé n'est autorisée en France que sous la forme de solution alcoolique ; or nous avons montré que le sublimé employé sous cette forme favorise la lipolyse du lait. Pour pallier cet inconvénient, il faut ajouter du chlorure de sodium au lait. En revanche, on peut utiliser un conservateur à base de bichromate de potassium, mais ce dernier ne peut malheureusement pas être employé pour le dosage de la matière azotée du lait par la méthode au Noir Amido sauf si, dans la méthode utilisée, le temps de réaction et de contact du lait avec la solution colorante est très bref (2 secondes environ), comme c'est le cas pour l'appareil Pro-Milk (Grappin et Jeunet, 1969) .

Dans l'immédiat, l'utilisation du M.T.A. posera quelques problèmes aux laboratoires puisqu'ils devront ajouter, en plus du sublimé, une pastille de chlorure de sodium au lait si les dosages de matière grasse et de matière azotée doivent être faits sur les mêmes échantillons.

D'après nos résultats (fig. 1), nous avons vu que le chlorure mercurique à forte dose (5 fois la concentration normale), n'entraî-

nait apparemment pas de lipolyse. Néanmoins, il ne paraît pas souhaitable de préconiser cette dernière formule car nous ne connaissons pas exactement tous les facteurs qui interviennent dans la lipolyse du lait, ni le mode d'action du sublimé. De plus, les dangers que représente l'utilisation de ce produit toxique sont accrus.

3) Nous savons que les mesures données par l'appareil dépendent de plusieurs facteurs et, en particulier, de la structure physico-chimique du lait. Aussi, tout facteur (individu, race, saison, alimentation, etc.) qui tend à modifier momentanément ou en permanence les propriétés du lait influencera les résultats donnés par l'appareil.

Si l'influence des variations saisonnières peut être mesurée exactement et éliminée en réajustant périodiquement l'étalonnage de l'appareil, il n'en est pas de même pour les variations qui dépendent de l'individu, de l'alimentation ou même de la race. Au cours de différents essais (Grappin, 1969), nous avons observé que le taux de matière grasse de certains troupeaux était surestimé ou sous-estimé de façon à peu près constante par le M.T.A. Nos observations sont trop peu nombreuses pour tirer des conclusions définitives, cependant, il serait intéressant de savoir si les différences enregistrées sont constantes et traduisent une caractéristique individuelle, raciale ou alimentaire et si l'amplitude de ces écarts est compatible avec les objectifs de sélection et le paiement du lait. A priori, il ne semble pas que l'amplitude de ces différences dépasse les limites de la précision de la méthode, c'est-à-dire $\pm 1,5$ g/kg environ dans le cas des laits individuels et $\pm 1,0$ g/kg dans le cas des laits d'étables (dans 95 p. 100 des cas).

Soulignons que ce problème existe avec toutes les méthodes indirectes de dosage et en particulier avec les autres méthodes de dosage de la matière grasse : Gerber et I.R.M.A. En effet, chaque méthode est en général basée sur la mesure d'une propriété ou caractéristique particulière de la matière grasse du lait : nombre de liaisons carbonyle des triglycérides pour I.R.M.A., mesure de la turbidité pour le M.T.A., mesure volumétrique pour la méthode Gerber ; aussi, tout facteur qui influence par exemple le poids moléculaire des triglycérides, l'indice de réfraction ou la densité du lait, etc., aura une incidence sur les mesures données par une ou plusieurs de ces méthodes. Il serait intéressant de savoir si ces facteurs agissent de la même façon sur les différentes méthodes de dosage. Dans le tableau 9, nous donnons les corrélations obtenues entre plusieurs méthodes de dosage de la matière grasse. Si par rapport aux méthodes Röse-Gottlieb et Gerber, la précision des deux appareils (I.R.M.A. et M.T.A.) est semblable, par contre la corrélation entre les résultats donnés par ces deux appareils est moins bonne. Cet exemple, confirmé par d'autres essais au niveau des laits d'étables (Grappin, 1969), montre que la « nature » du lait peut influencer les mesures M.T.A. et I.R.M.A. dans des sens opposés. Biggs (1969) a lui aussi observé une corrélation relativement moyenne entre le M.T.A. et I.R.M.A. Walstra

TABEAU 9
Coefficient de corrélation entre x et y et écarts-type résiduels

Coefficient de corrélation au-dessus de la diagonale				
y \ x	Röse-Gottlieb	Gerber	M.T.A.	I.R.M.A.
Röse-Gottlieb	—	0,998	0,996	0,994
Gerber	0,45	—	0,996	0,994
M.T.A.	0,75	0,75	—	0,986
I.R.M.A.	0,92	0,88	1,39	—
Ecart-type résiduels en dessous de la diagonale (g/kg)				

(1969), en se basant sur des considérations théoriques et expérimentales, montre qu'une augmentation de l'indice de réfraction de la matière grasse, due à la mise à l'herbe par exemple, a des effets opposés sur les résultats donnés par le M.T.A. et I.R.M.A.

Ces différentes observations posent le problème suivant : si deux méthodes « réagissent » différemment à certains facteurs de variation, l'utilisation simultanée de ces méthodes ne va-t-elle pas entraîner une disparité très grande des résultats de dosage et rendre toute comparaison délicate ? Il est difficile de répondre dès maintenant à cette question, mais il est certain que la multiplication des méthodes de dosages à laquelle nous assistons actuellement, va poser de nombreux problèmes auxquels il faudra trouver une solution.

CONCLUSION

En dehors des différents aspects techniques ou théoriques que nous venons d'évoquer, ce sont, en dernier ressort, les considérations d'ordre économique qui interviennent dans le choix d'une méthode de dosage. Il ne faut pas oublier toutefois que l'utilisation d'un appareil automatique améliore beaucoup les conditions de travail et permet l'enregistrement des résultats sur documents mécano-graphiques. Ce dernier point est important, mais il ne peut être réalisé que si l'organisation des prélèvements de lait et l'exploitation des résultats sont conçues dans ce but.

Sur le plan économique, signalons que la société A/S. N. Foss-Electric a construit un appareil de dosage de la matière azotée du lait, le Pro-Milk Automatique (Grappin et Jeunet, 1969), qui peut être couplé au M.T.A. Les deux appareils travaillant à la même cadence, il est possible, à partir d'un seul échantillon de lait et avec un seul opérateur, de faire simultanément les dosages de matière azotée et de matière grasse.

D'une façon générale, la nécessité d'avoir au laboratoire du personnel qualifié, la possibilité de panne qu'il ne faut pas exclure et l'utilisation de moyens modernes de traitement des résultats, rendent souhaitable l'utilisation des matériels automatiques d'analyses dans des laboratoires équipés au moins de 3 ou 4 appareils.

Un autre avantage des appareils automatiques réside dans le fait qu'il n'y a pratiquement aucune intervention manuelle au cours du dosage. En conséquence, si l'on admet que les appareils mis sur le marché sont fiables, ils doivent donner des résultats meilleurs et surtout plus uniformes que les méthodes chimiques classiques dont les résultats dépendent beaucoup du degré de technicité et de la compétence du personnel du laboratoire ; l'appareil automatique supprime en particulier les erreurs de lectures, beaucoup trop fréquentes lorsque les cadences de dosages sont trop élevées.

Mais, dans le domaine des dosages en série, il faut veiller tout particulièrement à l'uniformité des résultats, aussi, il serait souhaitable comme cela se fait déjà dans d'autres domaines, que l'étalonnage de tous les appareils et le contrôle périodique des résultats soient réalisés par un laboratoire central.

Sommaire

Une étude a été entreprise pour déterminer la valeur et les conditions d'utilisation de l'appareil Milko-Tester Automatique. La précision (écart-type résiduel) par rapport aux méthodes Röse-Gottlieb et Gerber est de $\pm 0,75$ g/kg pour les laits individuels ($n = 70$) et le coefficient de corrélation de 0,996. Pour les laits d'étables ($n = 236$), on obtient un écart-type de $\pm 0,50$ g/kg et un coefficient de corrélation de 0,990.

La reproductibilité est de $\pm 0,27$ g/kg. L'analyse de la variance de 12 répétitions sur une période de 19 jours donne un écart-type intra-lait de 0,34 g/kg ($n = 30$). Des variations assez importantes de l'étalonnage de l'appareil ont été observées au cours de cette période.

L'addition de Hg Cl_2 au lait, à la concentration de 0,7 p. 1000, entraîne une forte lipolyse qui se traduit par une baisse moyenne du taux de matière grasse de 3,6 g/kg après 3 semaines de conservation à 4° C. Cette lipolyse est arrêtée par l'addition de 2 p. 100 de Na Cl au lait.

Il n'y a pratiquement aucune influence de la température (4° C ou 20° C) et de la durée (jusqu'à 3 semaines) de conservation, lorsque le lait est conservé avec un produit à base de $\text{K}_2 \text{Cr}_2 \text{O}_7$ ou avec le mélange $\text{Hg Cl}_2 + \text{Na Cl}$.

La fiabilité de l'appareil est satisfaisante. Mais pour assurer de bons résultats, il est indispensable d'utiliser régulièrement un lait de contrôle.

Les problèmes posés par l'influence de différents facteurs (individu, troupeau, alimentation, etc.) et par la multiplication des méthodes rapides de dosage de la matière grasse sont évoqués.

Summary

The value and the reliability of the Milko-Tester Automatic instrument have been studied. Compared to Röse-Gottlieb and Gerber results, a standard deviation of estimate of $\pm 0,075$ with $r = 0,996$ for individual milk ($n = 70$) is found. For herd milks the standard deviation is $\pm 0,05$ with $r = 0,990$ ($n = 236$).

The reproducibility given by the standard deviation of duplicate samples is $\pm 0,027$. A variance analysis of 12 déterminations made during a 19 days-period give an intra-milk standard deviation of $\pm 0,034$. Some important drift of the calibration was noted.

A very high fat hydrolysis is observed when milk is preserved with Hg Cl_2 (0,07 p. 100 concentration). There is a decrease of about 0,36 p. 100 fat after 3 weeks of storage with Hg Cl_2 . By adding 2 p. 100 of Na Cl, the lipolysis does not occur.

No practical influence of temperature (4°C or ambient) and duration of storage (until 3 weeks) have been found when milk is preserved with $\text{K}_2 \text{Cr}_2 \text{O}_7$ or $\text{Hg Cl}_2 + \text{Na Cl}$.

The instrument is quite reliable. For practical purpose, the use of a standard milk is necessary.

The influence of different sources of variation (individual, season, feeding, etc.) and problems resulting from the multiplication of different methods for routine estimation of fat content are discussed.

Reçu pour publication en février 1970.

Références bibliographiques

- ADDA (J.), BLANC-PATIN (E.), JEUNET (R.), GRAPPIN (R.), MOCOQUOT (G.), POUJARDIEU (B.), RICORDEAU (G.) (1968). — Essais d'utilisation de l'Infra-Red Milk Analyser. *Le lait*, 48, 145-153, 293-302.
- APPLEMAN (R. D.), LADEN (R. C.) (1968). — Milk fat determinations in dairy herd improvement association. *J. Dairy Sci.*, 51, 615-17.
- ARMANDOLA (P.) (1969). — Preservation of milk samples for analytical purpose. *Industria Latte*, 5, 33-38. Réf. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 3144.
- BAKKE (F.) (1968). — Testing the Milko-Tester M.K. II for milk fat determination. *Meieriposten*, 57, 565-72, 594-601. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 3146.
- BERGMANN (J.), GIGER (W.) (1968). — Accuracy of fat determination with the Milko-Tester Automatic in comparison with the Gerber method. *Milchwissenschaft*, 23, 731-34. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 2318.

- BIGGS (D.) (1969). — Communication personnelle.
- BREMS (N.) (1965). — Fat estimation in 33 sec. *Nordisk Mejeri-Tidsskrift*, 31, 61-64.
- CERNA (Eva), PISECKY (J.) (1966). — Determination of butter fat content of milk by Milko-Tester. *Prum. Potravin.*, 17, 298-300. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1966, 3312.
- CURTIS (I. C.), NEFF (E.) (1968). — Application of the Milko-Tester to routine testing composite samples. *Aust. J. Dairy Technol.*, 23, 166-71.
- MC DOWELL (A. K. R.) (1968 a). — Errors in fat testing of composite milk samples. *J. Dairy Res.*, 35, 171-79.
- MC DOWELL (A. K. R.) (1968 b). — Fat testing of composite milk samples with the Milko-Tester. *J. Dairy Res.*, 35, 181-89.
- FORD (H. F.), PRITCHETT (P. E.), MYERS (M. E.), DILLON (W. M.) (1968). — Comparaisons of the Milko-Tester and Babcock test for determining fat in commercial samples. *J. Dairy Sci.*, 51, 928.
- GINN (R. E.), PACKARD (V. S.) Jr. (1969). — Comparisons of milk fat tests on commercial milk samples determined by the Milko-Tester and Babcock methods. *J. Milk. Fd. Technol.*, 32, 203-05.
- GRAPPIN (R.) (1969). — Résultats non publiés.
- GRAPPIN (R.), JEUNET (R.) (1969). — Essais de l'appareil Pro-Milk Automatique destiné au dosage en série de la matière azotée du lait (à paraître).
- HANNI (H.) (1966). — A new method of fat determination. *Lait Romand*, 92, 667-68. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1967, 1667.
- GRUBB (H.) (1966). — Afprøvning of Milk-Tester M. K. II. *Statens Forsøgsmøjeri*. Hillerød, 160. Beretning.
- HAUGAARD (G.), PETTINATI (J. D.) (1959). — Photometric milk fat determination. *J. Dairy Sci.*, 42, 1255-75.
- HEDRICK (T. I.), KOCH (U.) (1967). — *Rapid Milk fat testing*. *Milk. Der.*, 57, 23-24. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 1513
- INSTITUT DE RECHERCHE LAITIÈRE FINLANDAIS. — Testing the Milk-Tester II. apparatus. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1968, 716.
- O'KEEFEE (M. G.) (1967). — Accuracy and reliability of the Milko-Tester. *Nord. Mejeritidsskr.*, 33, 25-26. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1968, 350.
- O'KEEFEE (M. G.) (1968). — Automatic milk fat and protein testing in Scotland. *Dairy Indus.*, 33, 683-84.
- LASKOWSKI (R.), LUCZAK (M.) (1968). — Apparatus for rapid milk fat determination : the Milko-Tester. *Przegl. Mlecz.*, 17, 17-18. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 1931.
- MURPHY (M. F.), MC GANN (T. C. A.) (1967). — Investigations on the use of the Milko-Tester for routine estimation of fat content in milk. *J. Dairy Res.*, 34, 65-72.
- OURA (Y.), SASAND (M.), TAWAKA (S.) (1968). — Accuracy and practicability of the Milko-Tester. *Anim. husb. Tokyo*, 22, 1553-56. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 728.
- SCHMIDT (P.) (1966). — Rapid photometric methods for the estimation of the estimation of butterfat content in milk, etc. Experiences with the Milko-Tester. *Dte Molk. Ztg.*, 87, 1423-24. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1968, 1666.
- SENFT (B.), GROCHOWALSKI (K.), CIESLA (P.) (1965). — Untersuchungen über die Verwendung des Milkotesters bei der Milchfettbestimmung. *Milchwissenschaft*, 20, 494-96.

- SHERBON (J. W.), SHIPE (W. F.), TYRRELL (M. F.), BURKE (J. O.) (1967). — Comparison of rapide methods for determining fat in milk. *J. Dairy Sci.*, 50, 936.
- SHERBON (W. J.), SHIPE (W. F.), TYRRELL (H. F.) (1969). — Rapid methods compared for determining fat in milk. *N.Y. Fd Life Sci.*, 2, 19-21. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 2717.
- SHIPE (W. F.) (1969). — Collaborative study of the Babcock and Foss Milko-Tester methods for measuring fat in cow milk. *J. Ass. Off. Analyst. Chem.*, 52, 131-38. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 3145.
- TORRENT MATEO (L.), PAOLO CAMARASA (J. M.) (1968). — Technical study of milk fat determination with the Milko-Tester. *Revto, esp. Lech.*, 70, 213-20. Ref. : *Dairy Sci. Abstr.*, 1969, 1932.
- TERROINE (E. F.) (1951). — Dosage de la matière grasse du lait. *Ann. Nutr. Alim.*, 5, 6.
- WALSTRA (P.) (1965). — Turbidimetric determination of the fat content of milk. *Neth. Milk and Dairy J.*, 19, 266-82.
- WALSTRA (P.) (1969). — Communication personnelle.
- WEBB (B. H.), JOHNSON (A. H.) (1965). — Fundamentals of dairy chemistry. *The Avi Publishing Company, Inc. Westport, connecticut.*

Remerciements

Nous remercions vivement M. MOCQUOT qui a suivi attentivement le déroulement de ces essais, ainsi que M. RICORDEAU pour les précieuses critiques et corrections qu'il a apportées au manuscrit.