

NORME  
INTERNATIONALE

ISO  
21543

FIL  
201

Première édition  
2006-09-01

---

---

**Produits laitiers — Lignes directrices  
pour l'application de la spectrométrie  
dans le proche infrarouge**

*Milk products — Guidelines for the application of near infrared  
spectrometry*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 21543:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006>



Numéros de référence  
ISO 21543:2006(F)  
FIL 201:2006(F)

© ISO et FIL 2006

**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO et la FIL déclinent toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO et les comités nationaux de la FIL. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central de l'ISO à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 21543:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006>

© ISO et FIL 2006

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit soit de l'ISO soit de la FIL à l'adresse respective ci-après.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Fédération Internationale de Laiterie  
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Bruxelles  
Tel. + 32 2 733 98 88  
Fax + 32 2 733 04 13  
E-mail [info@fil-idf.org](mailto:info@fil-idf.org)  
Web [www.fil-idf.org](http://www.fil-idf.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
<b>1</b> <b>Domaine d'application.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Termes et définitions.....</b>	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Principe.....</b>	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Réactifs.....</b>	<b>2</b>
<b>5</b> <b>Appareillage.....</b>	<b>2</b>
<b>6</b> <b>Étalonnage et validation initiale.....</b>	<b>2</b>
<b>6.1</b> <b>Sélection des échantillons d'étalonnage.....</b>	<b>2</b>
<b>6.2</b> <b>Analyses de référence et mesurages NIR.....</b>	<b>3</b>
<b>6.3</b> <b>Étalonnage.....</b>	<b>4</b>
<b>6.4</b> <b>Valeurs aberrantes dans l'étalonnage.....</b>	<b>5</b>
<b>6.5</b> <b>Validation des modèles d'étalonnage.....</b>	<b>6</b>
<b>6.6</b> <b>Changements des conditions de mesurage et d'utilisation des appareils.....</b>	<b>6</b>
<b>6.7</b> <b>Recherche de valeurs aberrantes.....</b>	<b>7</b>
<b>7</b> <b>Statistiques pour le mesurage des performances.....</b>	<b>7</b>
<b>7.1</b> <b>Erreur type de prédiction (SEP) et biais.....</b>	<b>7</b>
<b>7.2</b> <b>Erreur quadratique moyenne de prédiction (RMSEP).....</b>	<b>8</b>
<b>7.3</b> <b>Erreur quadratique moyenne par validation croisée (RMSECV).....</b>	<b>8</b>
<b>8</b> <b>Échantillonnage.....</b>	<b>8</b>
<b>9</b> <b>Mode opératoire.....</b>	<b>8</b>
<b>9.1</b> <b>Préparation de l'échantillon d'essai.....</b>	<b>8</b>
<b>9.2</b> <b>Mesurage.....</b>	<b>9</b>
<b>9.3</b> <b>Évaluation des résultats.....</b>	<b>9</b>
<b>10</b> <b>Vérification de la stabilité de l'appareil.....</b>	<b>9</b>
<b>10.1</b> <b>Échantillon de contrôle.....</b>	<b>9</b>
<b>10.2</b> <b>Diagnostic des appareils.....</b>	<b>10</b>
<b>11</b> <b>Contrôle de performance de l'étalonnage.....</b>	<b>10</b>
<b>12</b> <b>Fidélité et exactitude.....</b>	<b>11</b>
<b>12.1</b> <b>Répétabilité.....</b>	<b>11</b>
<b>12.2</b> <b>Reproductibilité intralaboratoire.....</b>	<b>11</b>
<b>12.3</b> <b>Exactitude.....</b>	<b>12</b>
<b>13</b> <b>Rapport d'essai.....</b>	<b>12</b>
<b>Annexe A (informative) Exemples de valeurs SEP et RMSEP.....</b>	<b>13</b>
<b>Annexe B (informative) Exemples de figures.....</b>	<b>15</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>23</b>

## Avant-propos

L'ISO (**Organisation internationale de normalisation**) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 21543|FIL 201 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

[ISO 21543:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006>

## Avant-propos

La **FIL (Fédération internationale de laiterie)** est une fédération mondiale du secteur laitier avec un Comité National dans chacun de ses pays membres. Chaque Comité National a le droit de faire partie des Comités permanents de la FIL auxquels sont confiés les travaux techniques. La FIL collabore avec l'ISO pour l'élaboration de méthodes normalisées d'analyse et d'échantillonnage pour le lait et les produits laitiers.

Les projets de Normes internationales adoptés par les Équipes d'Action et les Comités permanents sont soumis aux Comités Nationaux pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 50 % au moins des Comités Nationaux de la FIL votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. La FIL ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 21543|FIL 201 a été élaborée par la Fédération internationale de laiterie (FIL) et le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Elle est publiée conjointement par la FIL et l'ISO.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'Action mixte ISO-FIL du Comité permanent chargé de *Méthodes Automatisées du comité permanent Assurance Qualité*, sous la conduite de son chef de projet, Mr. L. Sørensen (DK).

ISO 21543:2006  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 21543:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-347fa86b572f/iso-21543-2006>

# Produits laitiers — Lignes directrices pour l'application de la spectrométrie dans le proche infrarouge

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale fournit des lignes directrices pour l'application de la spectrométrie dans le proche infrarouge pour la détermination

- de la teneur en matières solides totales, en matières grasses et en protéines dans le fromage,
- de la teneur en humidité, en protéines et en lactose dans le lait en poudre, dans le lactosérum concentré et dans la poudre de babeurre, et
- de la teneur en humidité, en matières grasses, en matières sèches non grasses et en sel dans le beurre.

iTeh STANDARD PREVIEW

## 2 Termes et définitions (standards.iteh.ai)

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

[ISO 21543:2006](#)

### 2.1 <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1b4c1c96-8deb-4b3f-b66e-57fa86b572f/iso-21543-2006> instrument de proche infrarouge (NIR) spectromètre NIR

appareillage propriétaire qui, lorsqu'il est utilisé dans les conditions définies dans la présente Norme internationale, permet d'estimer les fractions massiques des substances spécifiées dans l'Article 1

### 2.2

#### teneurs en matières solides totales, en humidité, en matières sèches non grasses, en matières grasses, en lactose et en sel

fraction massique des substances déterminée à l'aide de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

NOTE Ces teneurs sont exprimées sous forme de pourcentage.

## 3 Principe

L'échantillon est prétraité afin d'obtenir un échantillon d'essai homogène représentant la composition chimique du matériau d'échantillon et est chargé dans le porte-éprouvette du spectromètre NIR. L'absorbance aux longueurs d'onde du spectre dans le proche infrarouge est mesurée et les données spectrales sont transformées en concentrations des composants à l'aide de modèles d'étalonnage développés sur des échantillons représentatifs de la population devant être soumise à essai.

## 4 Réactifs

Sauf spécification contraire, utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée, déminéralisée ou de pureté équivalente.

**4.1 Éthanol**, ou autre solvant approprié ou mélange de détergents, pour le nettoyage des béciers à échantillons réutilisables.

## 5 Appareillage

**5.1 Instrument de proche infrarouge (NIR)**, basé sur les mesurages de réflexion diffuse ou de transmission dans l'ensemble du spectre de proche infrarouge de 700 nm à 2 500 nm, ou segments de ce dernier ou à des longueurs d'onde sélectionnées.

Le principe de fonctionnement optique peut être dispersif (par exemple monochromateurs à réseau), interférométrique ou non thermique (par exemple diodes électroluminescentes, diodes laser et lasers). Il convient que l'instrument soit doté d'un système d'essai diagnostique pour soumettre à essai le bruit des appareils photométriques, ainsi que l'exactitude et la fidélité des longueurs d'onde (pour les spectrophotomètres à balayage). Il convient que l'exactitude des longueurs d'onde soit supérieure à 0,5 nm et que l'écart-type de répétabilité soit supérieur à 0,02 nm.

Il convient que l'instrument soit muni d'un porte-éprouvette permettant le mesurage d'un volume ou d'une surface d'échantillon suffisamment importants pour éliminer toute influence significative de l'inhomogénéité dérivée de la composition chimique ou des propriétés physiques de l'échantillon d'essai. Il convient d'optimiser la longueur de cheminement des échantillons (épaisseur des échantillons) dans les mesurages de transmission conformément aux recommandations du fabricant en ce qui concerne l'intensité du signal pour l'obtention de la linéarité et du rapport signal/bruit maximal. Dans les mesurages de réflexion, une fenêtre en quartz ou en un autre matériau adéquat pour éliminer les effets de séchage doit de préférence recouvrir la surface d'interaction de l'échantillon.

Le bécier à échantillons (cuvette) peut être réutilisable ou en matériau jetable.

**5.2 Dispositif pour broyer ou râper**, approprié pour la préparation de l'échantillon (par exemple un robot de cuisine pour du fromage à pâte demi-dure).

Des changements dans les conditions de broyage ou de râpage peuvent influencer les mesurages NIR.

## 6 Étalonage et validation initiale

### 6.1 Sélection des échantillons d'étalonage

Il convient d'étalonner l'instrument avant de l'utiliser. En raison de la nature complexe des données du spectre de proche infrarouge, qui sont principalement des fréquences partielles et des bandes de combinaisons de vibrations fondamentales dans le spectre infrarouge moyen, il convient d'étalonner l'appareil sur une série d'échantillons naturels (souvent au moins 120 échantillons).

L'exactitude et la robustesse des modèles d'étalonage dépendent des stratégies utilisées pour la sélection des échantillons et l'étalonage. Les modèles d'étalonage développés s'appliquent uniquement aux échantillons représentés par le domaine des échantillons d'étalonage. La première étape du développement de l'étalonage consiste donc à définir l'application (par exemple les types d'échantillons et les gammes de concentration). Lorsque les échantillons d'étalonage sont sélectionnés, il convient de s'assurer que tous les principaux facteurs influençant l'exactitude de l'étalonage sont représentés dans les limites du domaine d'application défini. Ceux-ci incluent:



- a) les combinaisons et les gammes de composition des composants principaux et secondaires d'échantillon dans le fromage: les analytes (par exemple matière solide totale, matière grasse et protéines) et les non-analytes;
- b) les effets saisonniers, géographiques et génétiques sur la composition du lait;
- c) les techniques et les conditions de transformation des fromages;
- d) les étapes d'affinage des fromages;
- e) la conservation et les conditions de conservation.

L'étendue des variations dans le matériau d'échantillon et la gamme de concentration de l'analyte influencent l'exactitude de l'étalonnage. Une variation modérée est généralement plus simple à ajuster qu'une variation importante. S'il n'est pas possible d'obtenir l'exactitude requise à l'aide d'un seul étalonnage, il convient de répartir le domaine d'application en sous-domaines statiques ou dynamiques, chacun avec un étalonnage associé, afin de satisfaire aux exigences. Les sous-domaines dynamiques sont utilisés dans des algorithmes de régression pondérés localement dans lesquels les échantillons d'étalonnage proches dans le spectre de l'échantillon de prédiction actuel sont sélectionnés à partir d'une population importante pour créer une équation d'étalonnage locale.

En général, il est préférable de représenter uniformément l'ensemble de la gamme d'étalonnage, avec des échantillons présentant des concentrations d'analytes faibles à élevées. Il convient également que la répartition de l'échantillon soit aussi uniforme que possible en ce qui concerne les autres variables, notamment celle mentionnées ci-avant. En outre, il convient de récupérer et de mesurer les échantillons sur une certaine durée pour garantir l'intégration des effets temporels. Cette conception va améliorer la robustesse et permettre des performances plus uniformes de l'étalonnage sur l'ensemble de la gamme de concentration de l'analyte.

Il est possible d'utiliser des méthodes à plusieurs variables [1], [2] comme outil de sélection des échantillons pour garantir un ensemble d'étalonnage homogène représentant toutes les variations des données spectroscopiques provoquées par des facteurs chimiques, biologiques et physiques sans duplication d'échantillons dont les informations sont identiques. En pratique, une population d'échantillons plus importante est mesurée par spectroscopie NIR pour la récupération des données NIR uniquement. Les échantillons dont les informations spectrales diffèrent sont ensuite sélectionnés pour des analyses de références. Les échantillons différents sont identifiés par inspection des graphiques de résultats provenant de l'analyse en composants principaux (PCA) à l'aide des trois premiers composants par exemple. Cela peut se révéler moins pratique avec plusieurs échantillons. Cependant, il est recommandé de toujours réaliser une analyse PCA et d'inspecter les graphiques de résultats pour obtenir un aperçu de l'ensemble des échantillons. Il est possible d'obtenir des analyses de groupement plus formelles à l'aide de techniques basées sur les mesurages des distances [2]. Des échantillons supplémentaires peuvent être ajoutés pour une durée donnée à cet ensemble d'échantillons sélectionnés. Le mesurage des distances ou des espaces par PCA est alors utilisé pour identifier les échantillons différents.

## 6.2 Analyses de référence et mesurages NIR

Il convient d'utiliser des méthodes de référence reconnues à l'échelle internationale pour la détermination de la teneur en analytes. Pour l'étalonnage, il convient d'utiliser la méthode de référence en contrôle statistique, c'est-à-dire qu'il convient que la variabilité consiste en un système constant de variations aléatoires. Pour prendre en charge l'évaluation des valeurs aberrantes, il peut se révéler utile de réaliser des analyses dupliquées en séries indépendantes (analytes différents, appareillage différent, etc.).

Il convient d'intégrer au modèle d'étalonnage toutes les variations importantes des conditions de mesurages NIR pouvant apparaître en pratique. La température de l'échantillon est un facteur important.

Le mode opératoire d'échantillonnage utilisé et la taille de l'échantillon mesurée par spectroscopie NIR peuvent être des facteurs essentiels pour l'exactitude obtenue [3]. Il convient que le volume ou la surface de l'échantillon d'essai interagissant avec le mesurage soit assez important pour éviter une influence significative de l'inhomogénéité de l'échantillon. Le mesurage de réflexion à des longueurs d'onde plus élevées requiert

normalement une surface d'échantillon plus importante que le mesurage de transmission à des longueurs d'onde plus courtes en raison de la pénétration de la lumière moins importante. Il convient de déterminer la taille d'échantillon optimale à partir d'expériences dans lesquelles le matériau d'échantillon préparé (voir 9.1) est mesuré de façon répétée après le regarnissage du bécher à échantillons.

Il convient de prendre garde d'éviter les effets de séchage en surface, notamment dans les mesurages de réflexion.

Il est préférable de réaliser les mesurages NIR et les analyses de référence sur le même échantillon pour essai afin d'éliminer les effets relatifs à l'incertitude d'échantillonnage. Il convient également de réaliser les mesurages NIR et l'amorçage des analyses de référence avec un délai minimal (moins d'une journée de préférence). La bonne pratique recommande de rendre aléatoire l'ordre de présentation des échantillons pour l'analyse de référence et le mesurage NIR.

### **6.3 Étalonnage**

En raison des différents systèmes d'étalonnage des spectromètres NIR, aucun mode opératoire spécifique ne peut être indiqué pour l'étalonnage. Cependant, il convient que la personne qui réalise l'étalonnage connaisse les principes statistiques de l'algorithme d'étalonnage utilisé.

Il est possible de réaliser l'étalonnage à l'aide de différentes techniques, telles que la régression linéaire multiple (MLR), des algorithmes à plusieurs variables tels que la régression aux moindres carrés (PLS), la régression localement pondérée (LWR) ou des réseaux neuronaux artificiels (ANN). Ces dernières techniques peuvent être recommandées en cas de problèmes de linéarité entre la réponse spectrale et le composant. Au moins 120 échantillons d'étalonnage sont généralement nécessaires à l'obtention d'étalonnages robustes avec les techniques MLR et PLS. Lorsqu'un réseau ANN réalise l'étalonnage, un nombre sensiblement plus important d'échantillons est requis afin d'éviter la surdétermination des données puisque les fonctions du réseau ANN sont flexibles et présentent plusieurs paramètres qui sont à définir. Trois ensembles de données différents sont requis pour définir l'étalonnage, l'apprentissage et la validation. Le concept de LWR requiert également une base de données considérablement plus importante à partir de laquelle des échantillons d'étalonnage locaux peuvent être sélectionnés.

Il convient normalement que les spectres soient prétraités avant l'étalonnage afin d'éliminer ou de réduire le poids attribué aux effets non relatifs à l'absorption chimique de la lumière. Les traitements fréquemment utilisés sont la correction de déviation (MSC) [4], la variable aléatoire normale standard (SNV) [5], le traitement de la dérive [5] et les dérivations simples ou doubles [2]. Il convient de déterminer la transformation optimale et les autres pré-traitements des spectres, tels que le lissage, à partir d'essais. Plusieurs techniques donnent souvent des résultats équivalents. Il convient d'évaluer les techniques optimales à partir d'une validation croisée dans laquelle les modèles sont par la suite développés sur une partie des données et soumis à essai sur une autre [6]. Il est possible d'obtenir des informations supplémentaires à partir d'essais sur un ensemble d'essais indépendants.

La sélection du nombre optimal de variables (pour la MLR) ou de facteurs (pour les étalonnages à plusieurs variables) est un élément important. Si les variables ou les facteurs utilisés ne sont pas assez nombreux, une solution sous-déterminée est obtenue, ce qui signifie que le modèle n'est pas assez important pour reproduire la variabilité importante des données. Lorsque les variables ou les facteurs utilisés sont trop nombreux, il est possible qu'une solution surdéterminée soit obtenue dans laquelle la plupart de la redondance des données NIR est modélisée. Les deux cas peuvent entraîner de mauvaises prédictions sur les échantillons futurs. Il convient de déterminer le nombre optimal en traçant la RMSECV (erreur quadratique moyenne par validation croisée) (voir Article 7) obtenue à partir de la validation croisée ou la RMSEP (erreur quadratique moyenne de prédiction) (voir Article 7) obtenue à partir d'un ensemble d'essais indépendants par rapport au nombre des variables ou des facteurs (Figure B.1). En général, la RMSECV (RMSEP) est élevée lorsque les facteurs sont peu nombreux et diminue lorsque le nombre des facteurs augmente. Elle augmente à nouveau lorsque le nombre de facteurs devient trop important. En général, la meilleure solution est celle avec la RMSECV (RMSEP) la plus faible et le plus petit nombre de variables ou de facteurs.

Il convient de tracer les résultats de référence par rapports aux valeurs estimées obtenues par validation croisée. Il convient de rechercher des valeurs aberrantes dans le graphique. Il convient également de

rechercher dans le graphique des zones présentant différents niveaux d'exactitude de prédiction, aléatoire ou systématique, pouvant indiquer que davantage d'échantillons d'étalonnage ou une segmentation de la zone d'étalonnage sont nécessaires.

## 6.4 Valeurs aberrantes dans l'étalonnage

### 6.4.1 Généralités

Les valeurs aberrantes peuvent concerner des données NIR (valeurs aberrantes  $x$ ) ou des erreurs dans les données ou les échantillons de référence avec une relation différente entre les données de référence et les données NIR (valeurs aberrantes  $y$ ).

### 6.4.2 Valeurs aberrantes $x$

Pour obtenir un modèle prédictif robuste, un ensemble d'étalonnage homogène d'échantillons spectralement similaires est requis. Il peut également servir de base à un système de détection des valeurs aberrantes. Il convient donc d'éliminer les valeurs aberrantes  $x$  avant l'étalonnage. Les projections des cinq premiers axes PCA peuvent être utiles pour détecter les valeurs aberrantes  $x$  situées soit globalement en dehors de la population, soit hors de l'espace PCA. Une identification plus formelle des valeurs aberrantes peut, par exemple, être réalisée à l'aide du principe de la distance Mahalanobis appliqué aux données réduites PCA [7] ou de ladite valeur de levier [8].

La Figure B.2 illustre un cas pratique sans valeurs aberrantes. Une valeur aberrante  $x$  est présente dans la Figure B.3.

### 6.4.3 Valeurs aberrantes $y$ (standards.iteh.ai)

Lorsqu'une valeur aberrante  $y$  est observée dans l'ensemble d'étalonnage, il convient de vérifier si les données de référence comportent des erreurs dans l'identification de l'échantillon, les analyses de référence, les calculs, les transferts de données, etc. Cependant, il peut être difficile d'établir le rapport entre les valeurs aberrantes et les erreurs dans les analyses de référence car l'étape d'étalonnage doit généralement être réalisée lors d'une étape ultérieure aux analyses de référence, ce qui peut rendre impossible la répétition des analyses en raison de l'instabilité des échantillons. Il n'existe aucun moyen correct de traiter les valeurs aberrantes  $y$ ; toutefois, il convient généralement de supprimer les valeurs aberrantes si la différence entre les résultats NIR et les résultats de référence dans la validation croisée est plus de trois fois supérieure à la RMSECV (voir Article 7).

Il est important de noter que la suppression des valeurs aberrantes peut influencer sur la prédiction d'échantillons similaires. Il convient de supprimer les valeurs aberrantes en tant que lot avant de créer un modèle d'étalonnage. Il convient d'exécuter uniquement une ou deux fois l'étape de suppression des valeurs aberrantes afin de ne pas réduire la robustesse de l'étalonnage et de ne pas surestimer l'exactitude. Il convient de prendre garde de préserver la distribution optimale de l'ensemble d'étalonnage lorsque les valeurs aberrantes sont supprimées.

La Figure B.2 illustre un cas pratique sans valeurs aberrantes. Une valeur aberrante  $y$  est présente dans la Figure B.4.

### 6.4.4 Combinaison de valeurs aberrantes $x$ et $y$

Les échantillons qui sont à la fois des valeurs aberrantes  $x$  et  $y$  (valeurs influentes) ont une grande influence sur l'équation de régression et peuvent être très préjudiciables. De telles valeurs aberrantes peuvent donner des effets de pente et augmenter considérablement les erreurs de prédiction.

La Figure B.2 illustre un cas pratique sans valeurs aberrantes. Les Figures B.5 et B.6 présentent un échantillon qui est à la fois une valeur aberrante  $x$  et une valeur aberrante  $y$ .

## 6.5 Validation des modèles d'étalonnage

Après leur développement, il convient de valider les équations d'étalonnage sur un ensemble d'essais indépendants, échantillonné de préférence après une période d'étalonnage. Il convient que l'ensemble d'essais représente toutes les variations dans la population de l'échantillon et qu'il contienne au moins 25 échantillons. L'utilisation de la validation croisée dans le mode opératoire d'étalonnage, dans laquelle les parties subséquentes de l'ensemble d'étalonnage sont réservées pour la validation, peut donner une bonne estimation de l'incertitude de la méthode lorsque les échantillons d'étalonnage sont correctement sélectionnés.

Cependant, les échantillons de validation croisée étant prélevés dans l'ensemble d'échantillons utilisé pour l'étalonnage, il existe un risque potentiel que la validation croisée sous-estime la robustesse de l'étalonnage et l'incertitude estimée.

Les résultats obtenus sur l'ensemble d'essais indépendants sont reportés sur un graphique (référence en fonction de NIR et résidus en fonction de référence) pour représenter visuellement les performances de l'étalonnage. La SEP est calculée (voir Article 7) et les valeurs aberrantes, telles que des échantillons avec un résidu dépassant  $3 \times \text{SEP}$ , sont recherchées sur le graphique résiduel des données corrigées pour l'erreur systématique moyenne (biais). Si une valeur aberrante, qui ne peut pas être classifiée en tant que valeur aberrante  $x$ , se produit et qu'une nouvelle analyse de l'échantillon par des méthodes NIR et de référence confirme les résultats, il convient de ne pas supprimer la valeur aberrante.

Dans ce cas, la robustesse de l'étalonnage n'est pas suffisante et il convient d'élargir l'ensemble d'étalonnage. L'étape suivante consiste à ajuster les données NIR et les données de référence par régression linéaire (référence =  $b \times \text{NIR} + a$ ) pour créer une représentation visuelle. Si la pente ( $b$ ) est significativement différente de 1, l'étalonnage est faussé. L'ajustement de la pente de l'étalonnage n'est généralement pas recommandé. Si une nouvelle étude de l'étalonnage ne permet pas de détecter de valeurs aberrantes, notamment des valeurs influentes, il est préférable d'élargir l'ensemble d'étalonnage pour inclure davantage d'échantillons. Cependant, si la pente est ajustée, il convient de soumettre à essai l'étalonnage sur un nouvel ensemble d'essais indépendant. Un biais entre les méthodes est également recherché dans les données. Une ordonnée à l'origine ( $a$ ) significativement différente de 0 indique que l'étalonnage est biaisé. Il est possible de supprimer un biais en ajustant la constante de l'équation d'étalonnage. Cependant, si l'exactitude de l'étalonnage ajusté par rapport au biais est significativement inférieure par rapport à celle estimée à partir de la validation croisée sur l'ensemble d'étalonnage (la SEP est largement plus élevée que la RMSECV, par exemple), il convient d'élargir l'ensemble d'étalonnage pour inclure davantage d'échantillons. Dans tous les cas, lorsqu'un nouvel étalonnage est développé sur un ensemble d'étalonnage élargi, il convient de répéter le mode opératoire de validation sur un nouvel ensemble d'essais indépendants. Si nécessaire, il convient de répéter l'élargissement de l'ensemble d'étalonnage jusqu'à ce que des résultats acceptables soient obtenus sur un ensemble d'essais indépendants.

## 6.6 Changements des conditions de mesurage et d'utilisation des appareils

Sauf si une validation supplémentaire est effectuée, une validation locale d'une méthode NIR indiquant l'exactitude de la méthode ne peut généralement pas être considérée comme valide si les conditions d'essai ont changé.

Par exemple les étalonnages développés pour une certaine population d'échantillons ne peuvent pas être valides pour des échantillons en dehors de cette population, même si la concentration de l'analyte n'a pas changé. Il est possible qu'un étalonnage développé sur des fromages provenant d'une laiterie ne donne pas la même exactitude que celle développée sur des fromages produits dans une autre laiterie si les paramètres de transformation et d'affinage sont différents.

Des changements de technique de présentation des échantillons ou de conditions de mesure (par exemple la température) non compris dans l'ensemble d'étalonnage peuvent également influencer les résultats analytiques.

En outre, les étalonnages développés sur un appareil spécifique ne peuvent pas toujours être transférés directement vers un appareil identique fonctionnant selon le même principe. Il peut s'avérer nécessaire d'effectuer des ajustements du biais ou de la pente dans les équations d'étalonnage. Dans certains cas, il