

NORME
INTERNATIONALE

ISO
21543

FIL 201

Deuxième édition
2020-10

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

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 21543:2020](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-f28358157506/iso-21543-2020)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-
f28358157506/iso-21543-2020](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-f28358157506/iso-21543-2020)



Numéros de référence
ISO 21543:2020(F)
FIL 201:2020(F)

© ISO et FIL 2020

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 21543:2020](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-f28358157506/iso-21543-2020)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-f28358157506/iso-21543-2020>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO et FIL 2020

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11

E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

International Dairy Federation
Silver Building • Bd Auguste Reyers 70/B
B-1030 Brussels
Tél.: + 32 2 325 67 40
Fax: + 32 2 325 67 41
E-mail: info@fil-idf.org
Web: www.fil-idf.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
4.1 Généralités.....	2
4.2 Principes de mesurage.....	2
4.2.1 Transmittance (transmission).....	2
4.2.2 Réflectance diffuse (réflexion).....	2
4.2.3 Transflectance (transflexion).....	2
5 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Étalonnage et validation initiale	3
7.1 Sélection des échantillons d'étalonnage.....	3
7.2 Analyses de référence et instruments NIR.....	5
7.3 Étalonnage.....	5
7.4 Valeurs aberrantes dans l'étalonnage.....	6
7.4.1 Généralités.....	6
7.4.2 Valeurs aberrantes x	7
7.4.3 Valeurs aberrantes y	7
7.4.4 Combinaison de valeurs aberrantes x et y	7
7.5 Validation des modèles d'étalonnage.....	8
7.6 Changements des conditions de mesurage et d'utilisation des appareils.....	8
7.7 Recherche de valeurs aberrantes.....	9
8 Statistiques pour le mesurage des performances	9
8.1 Erreur type de prédiction (SEP) et biais.....	9
8.2 Erreur quadratique moyenne de prédiction (RMSEP).....	10
8.3 Erreur quadratique moyenne de validation croisée (RMSECV).....	10
9 Échantillonnage	10
10 Mode opératoire	10
10.1 Préparation des échantillons d'essai.....	10
10.1.1 Aspects généraux.....	10
10.1.2 Lait et produits laitiers liquides.....	11
10.1.3 Fromage.....	11
10.1.4 Lait en poudre, lactosérum, poudre de babeurre et protéine de lactosérum en poudre.....	11
10.1.5 Beurre.....	11
10.1.6 Yaourt.....	12
10.2 Mesurage.....	12
10.3 Évaluation des résultats.....	12
11 Vérification de la stabilité de l'appareil	12
11.1 Échantillons de contrôle.....	12
11.2 Diagnostic des appareils.....	13
12 Contrôle de performance de l'étalonnage	13
13 Fidélité et exactitude	14
13.1 Répétabilité.....	14
13.2 Reproductibilité intralaboratoire.....	14
13.3 Exactitude.....	14
14 Rapport d'essai	15

Annexe A (informative) Exemples de valeurs SEP et RMSEP	16
Annexe B (informative) Exemples de figures	19
Bibliographie	24

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 21543:2020](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-f28358157506/iso-21543-2020)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-f28358157506/iso-21543-2020>

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération Internationale du Lait (FIL). Il est publié conjointement par l'ISO et la FIL.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 21543 | FIL 201:2006), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

- les principes de mesure «Transmittance» et «Transflectance» ont été ajoutés et définis;
- tous les types d'échantillons ont été couverts: liquides, solides et semi-solides;
- les articles sur l'étalonnage et la validation ont été revus et mis à jour;
- l'article sur les valeurs aberrantes a été révisé et les graphiques ont été renouvelés;
- les modes opératoires de manipulation et de mesure des échantillons ont été élargis pour inclure les échantillons liquides et d'autres exemples;
- l'[Annexe A](#) a été élargie pour inclure les références pour l'analyse du lait cru.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

ISO 21543:2020(F)
FIL 201:2020(F)

La **FIL (Fédération internationale du lait)** est une organisation privée à but non lucratif qui représente les intérêts des divers acteurs de la filière laitière au niveau international. Les membres de la FIL sont organisés en comités nationaux, qui sont des associations nationales composées de représentants de groupes d'intérêt nationaux dans le secteur des produits laitiers, incluant des producteurs laitiers, des acteurs de l'industrie de transformation des produits laitiers, des fournisseurs de produits laitiers, des universitaires et des représentants des gouvernements/autorités chargées du contrôle des aliments.

L'ISO et la FIL collaborent étroitement sur toutes les activités de normalisation concernant les méthodes d'analyse et d'échantillonnage du lait et des produits laitiers. Depuis 2001, l'ISO et la FIL publient conjointement leurs Normes internationales en utilisant les logos et les numéros de référence des deux organisations.

L'attention est attirée 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/patents).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Le présent document a été élaboré par le Comité permanent de la FIL chargé des *Statistiques et de l'automatisation* ainsi que par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Il est publié conjointement par la FIL et l'ISO.

Le travail a été confié à l'Équipe d'action (FIL/ISO (S16), du Comité permanent chargé des *Statistiques et de l'automatisation*, sous la conduite de son chef de projet, M. A. Niemoeller (DE).

ISO 21543:2020

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf845e6a-2e35-462b-9080-f28358157506/iso-21543-2020>

Lait et produits laitiers — Lignes directrices pour l'application de la spectrométrie dans le proche infrarouge

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des lignes directrices pour l'utilisation de la spectrométrie dans le proche infrarouge (NIR) dans le cadre de l'analyse du lait et des produits laitiers sous forme liquide, semi-solide et solide. Selon la forme de l'échantillon et l'application, différents montages d'instrument peuvent être utilisés pour la transmittance, la réflectance diffuse ou la transflectance.

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

3.1

spectroscopie dans le proche infrarouge **spectroscopie NIR**

méthode spectroscopique de mesure des spectres dans la région NIR du spectre électromagnétique (de 780 nm à 2 500 nm, de 12 800 cm⁻¹ à 4 000 cm⁻¹)

3.2

spectrométrie dans le proche infrarouge **spectrométrie NIR**

application de *spectroscopie dans le proche infrarouge* (3.1) donnant des résultats quantifiables ou d'autres évaluations des spectres NIR liées à l'application

3.3

paramètre **composant**

composé majeur (par exemple, teneur totale en solides, humidité, solides non gras, matières grasses, protéines, lactose et sel) ou autre propriété (par exemple, valeur du pH) des échantillons applicables aux méthodes d'analyse NIR

Note 1 à l'article: La plupart des paramètres sont mesurés en fractions massiques, exprimées en pourcentage, mais certains paramètres seront déterminés en pourcentage par volume ou avec des unités spécifiques, telles que le pH et l'équivalent du point de congélation.

4 Principe

4.1 Généralités

Une méthode NIR comprend les étapes suivantes:

- un échantillon est présenté sur un instrument NIR;
- si nécessaire, l'échantillon est prétraité afin d'obtenir un échantillon d'essai homogène représentatif de la composition chimique de l'échantillon;
- il est ensuite chargé dans le porte-échantillon du spectromètre NIR et, lors de la mesure spectroscopique, l'absorbance aux longueurs d'onde du spectre dans le proche infrarouge est mesurée;
- les données spectrales sont transformées en concentrations des composants à l'aide de modèles d'étalonnage développés sur des échantillons de la population à soumettre à essai (voir 7.1).

4.2 Principes de mesurage

4.2.1 Transmittance (transmission)

Lors des mesurages par transmittance, la lumière est dirigée vers un échantillon avec un faisceau focalisé ou parallèle. La partie transmise est détectée une fois passée à travers l'échantillon. Ce montage n'est pas seulement utilisé pour les liquides transparents: les échantillons dispersés sous forme liquide (par exemple, lait, crème) ou sous forme semi-solide (par exemple, yaourt, fromage) peuvent également être analysés par détermination de la transmittance diffuse en appliquant un réglage optique approprié. Le trajet optique est un paramètre important et il convient de l'optimiser et d'assurer la constance de sa longueur conformément aux recommandations du fabricant.

4.2.2 Réflectance diffuse (réflexion)

Lorsque la lumière est dirigée directement sur un échantillon, elle est réfléchi et transmise en quantités différentes en fonction des propriétés globales du matériau. Les échantillons solides et semi-solides réfléchissent la lumière en réflexion diffuse, c'est-à-dire sous tous les angles selon une répartition égale ou quasi égale. Différents montages d'instrument peuvent être utilisés pour capter et détecter la lumière réfléchi de manière diffuse. Les instruments disposant de deux principes d'éclairage de l'échantillon dans un récipient et de captage de la lumière réfléchi soit du dessus (montage descendant) soit du dessous à travers une fenêtre (montage ascendant) sont courants.

4.2.3 Transflectance (transflexion)

Lorsque des échantillons partiellement transparents sont analysés, les propriétés de réflectance et de transmittance ne sont pas suffisantes pour utiliser l'un de ces principes de mesurage dédiés. En sélectionnant un trajet optique approprié et en plaçant une surface réfléchissante (réflecteur, miroir) de l'autre côté de l'échantillon, la lumière incidente est transmise à travers l'échantillon, réfléchi, puis transmise en sens inverse pour être détectée. La lumière réfléchi de manière diffuse puis transmise est ainsi mesurée dans un rapport dépendant des propriétés optiques de l'échantillon.

Si un instrument NIR fournit des mesurages de réflectance, des liquides transparents ou troubles peuvent également être analysés en transflectance.

5 Réactifs

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

5.1 Éthanol, ou un autre solvant approprié ou mélange de détergents, pour le nettoyage des récipients à échantillons réutilisables.

5.2 Solutions de nettoyage

Pour l'analyse de liquides dans les cellules à circulation, il convient d'utiliser des solutions de nettoyage appropriées et des protocoles de maintenance conformément aux recommandations du fabricant.

6 Appareillage

6.1 Instrument de proche infrarouge (NIR)

Les instruments NIR sont basés sur le principe de mesurage par réflectance diffuse, par transmittance ou par transfléctance par spectroscopie NIR dans l'ensemble du spectre NIR de 780 nm à 2 500 nm ($12\,800\text{ cm}^{-1}$ à $4\,000\text{ cm}^{-1}$) ou secteurs 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, lasers). Il convient que l'instrument soit doté d'un système de diagnostic, par exemple pour déterminer le bruit du montage photométrique, ainsi que l'exactitude et la fidélité/répétabilité des longueurs d'onde/nombres d'ondes (pour les spectrophotomètres à balayage), conformément aux recommandations du fabricant.

Il convient que l'instrument soit équipé de contenants permettant de placer l'échantillon (bêchers, boîtes de Petri en verre ou en polystyrène, cellules à circulation, etc.) qui permettent la répétabilité du remplissage de l'échantillon. Il est important que le matériau de la fenêtre, de la boîte de Petri ou de la cellule à circulation qui permet à la lumière NIR d'interagir avec l'échantillon soit conçu selon une norme cohérente par le fabricant ou le fournisseur afin d'éviter tout biais des résultats, voire la nécessité d'un réétalonnage. Un volume ou une surface d'échantillon suffisamment importants sont requis pour éliminer toute influence de la non-homogénéité provenant de la composition chimique ou des propriétés physiques de l'échantillon d'essai. Il convient d'optimiser le trajet optique des échantillons (épaisseur des échantillons) dans les mesurages par transmittance 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 réflectance selon un montage d'instrument descendant, il convient qu'une fenêtre en quartz ou en un autre matériau adéquat pour éliminer les effets de séchage recouvre de préférence la surface d'interaction de l'échantillon. Dans un montage ascendant d'instrument, le récipient et l'échantillon sont couverts et protégés contre l'assèchement par la fenêtre de mesure.

Les récipients à échantillons peuvent être réutilisables ou en matériau jetable.

6.2 Instrument de broyage ou de râpage

Un dispositif approprié pour la préparation de l'échantillon (par exemple, un robot de cuisine pour du fromage à pâte mi-dure) peut être nécessaire. Il convient de mettre en place un mode opératoire afin d'assurer la cohérence dans le temps et avec les différents opérateurs.

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

7 Étalonnage et validation initiale

7.1 Sélection des échantillons d'étalonnage

Il convient d'étalonner l'instrument avant de l'utiliser ou de l'installer pré-étalonné. En raison de la nature complexe des données du spectre NIR, qui se composent principalement d'harmoniques et de bandes de combinaisons de vibrations fondamentales dans la région moyen infrarouge, il convient d'étalonner l'appareil sur une série d'échantillons naturels (souvent au moins 120 échantillons). Aucun

mode opératoire spécifique pour l'étalonnage d'une application spécifique ne peut être donné en raison de la diversité des différents types d'échantillons, composants, gammes de concentration, montages d'instrument et algorithmes d'étalonnage possibles. Des exemples et résultats sont publiés dans un bulletin de la FIL^[1].

L'exactitude et la robustesse des modèles d'étalonnage dépendent des stratégies utilisées pour la sélection des échantillons et l'étalonnage. Les modèles d'étalonnage développés s'appliquent uniquement aux échantillons représentés par la gamme de concentration et les variations des échantillons d'étalonnage. La première étape du développement de l'étalonnage consiste donc à définir l'application (par exemple, les types d'échantillons et les gammes de concentration). Lorsque les échantillons d'étalonnage sont sélectionnés, il convient de s'assurer que tous les principaux facteurs influençant l'exactitude de l'étalonnage 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, incluant:
 - 1) la gamme de composition des analytes (par exemple, matière solide totale, matière grasse et protéines) et des non-analytes;
 - 2) les recettes contenant des ingrédients laitiers et non laitiers et des additifs (herbes, noix, épices, chocolat, etc.);
- b) les effets saisonniers, géographiques et génétiques sur la composition du lait et autres matières premières;
- c) les techniques et les conditions de transformation;
- d) les étapes d'affinage des fromages;
- e) la conservation et les conditions de conservation;
- f) les températures de l'échantillon et de l'instrument, ainsi que leurs variations;
- g) les fluctuations de l'instrument.

L'étendue des variations dans le matériau d'échantillon et la gamme de concentration de l'analyte influencent l'exactitude des étalonnages. Une variation modérée peut être plus facile à ajuster qu'une variation importante, mais cela dépend des matrices de l'analyte et de l'échantillon. S'il n'est pas possible d'obtenir l'exactitude requise à l'aide d'un seul étalonnage, l'évaluation graduelle est alors une option ou il convient de répartir l'ensemble de données d'étalonnage en sous-domaines statiques ou dynamiques, chacun avec un étalonnage associé.

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 celles mentionnées ci-avant. En cas de lacunes dans certaines zones de la gamme d'étalonnage, il convient de prendre toutes les mesures possibles pour combler ces zones, par exemple en mélangeant des échantillons ou en utilisant des échantillons de début ou de fin de production. 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 admis d'utiliser des méthodes à plusieurs variables^{[2][3]} comme outil de sélection des échantillons avant le processus d'étalonnage pour garantir un set 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 peuvent être identifiés par inspection des graphiques de résultats provenant de l'analyse en composantes principales (PCA) à

l'aide, par exemple, des trois premières composantes. 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 important de vérifier quelles variations spectrales influencent les coefficients des variables et, par conséquent, les graphiques de résultats PCA; par exemple, de fortes variations dans la teneur en eau ou en matières grasses peuvent prédominer dans les résultats PCA, tandis que les variations des protéines peuvent être plus faibles tout en revêtant également de l'importance. Il est permis d'obtenir des analyses par groupe plus formelles à l'aide de techniques basées sur les mesurages des distances^[3]. Des échantillons supplémentaires peuvent être ajoutés pour une durée donnée à cet ensemble d'échantillons sélectionnés en utilisant le mesurage des distances ou des espaces des résultats PCA pour identifier les échantillons différents.

7.2 Analyses de référence et instruments 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 que la méthode de référence soit sous contrôle statistique, c'est-à-dire qu'il convient que la variabilité soit 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 (analystes différents, appareillage différent, etc.).

Il convient de prendre en compte et 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, notamment pour les mesurages par transmittance des liquides aqueux tels que le lait, etc.

Le mode opératoire d'échantillonnage, la présentation de l'échantillon sur l'instrument et l'échantillon d'essai réel mesuré par spectroscopie NIR peuvent être des facteurs essentiels pour l'exactitude obtenue^[4]. 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 la non-homogénéité de l'échantillon. Le mesurage par réflectance à des longueurs d'onde plus élevées requiert normalement une surface d'échantillon plus importante que le mesurage par transmittance à des longueurs d'onde plus courtes en raison de la pénétration de la lumière moins importante. Si possible avec l'instrument NIR, il convient de déterminer la taille d'échantillon optimale à partir d'expériences dans lesquelles le matériau d'échantillon préparé (voir [10.1](#)) est mesuré de façon répétée après le nouveau remplissage du récipient à échantillons. La rotation des échantillons solides et semi-solides aide à obtenir un résultat NIR moyen pour la réflectance et la transmittance diffuse.

Il est recommandé de réaliser de préférence les mesurages NIR et les analyses de référence sur le même échantillon afin d'éliminer les effets relatifs à l'incertitude d'échantillonnage. L'échantillon peut être divisé pour les mesurages NIR et il convient de réaliser les 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.

Les effets physiques et chimiques utilisés pour l'analyse d'un paramètre donné doivent être pris en compte pour la méthode de référence et la méthode NIR correspondante étalonnée selon les valeurs de référence. Les résultats de référence et NIR peuvent présenter un biais dû aux différents principes de mesure.

7.3 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 existe des modèles d'étalonnage disponibles dans le commerce, fournis avec les instruments en tant que partie intégrante de solutions clés en main. Il est nécessaire de tenir compte des principes présentement décrits lors de la mise en œuvre de ces étalonnages. Une étape de validation initiale est requise pour vérifier si les méthodes disponibles dans le commerce sont applicables aux échantillons analysés. Dans certains cas, il peut être nécessaire d'ajuster le biais afin de mieux s'adapter aux besoins

présents. Les échantillons et les conditions pouvant être spécifiques, une adaptation ou une extension de l'étalonnage peuvent être requises.

Il est permis 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) [2], la régression locale pondérée (LWR) [5][6][7] ou des réseaux neuronaux artificiels (ANN) [7][8]. 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 principe ANN est utilisé pour l'étalonnage, un nombre sensiblement plus important d'échantillons est requis afin d'éviter la surdétermination des données puisque les fonctions des réseaux ANN sont flexibles et présentent plusieurs paramètres qui doivent être définis. Trois ensembles de données différents (étalonnage, essai ou apprentissage et validation) sont requis pour déterminer l'architecture, ajuster les paramètres et valider l'étalonnage ANN. 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 pour l'étape de prédiction.

Il convient normalement que les spectres soient prétraités avant l'étalonnage afin d'éliminer ou de réduire le poids attribué aux effets non reliés à l'absorption de la lumière par des composés chimiques. Les prétraitements fréquemment utilisés sont la normalisation «Multiplicative Scatter Correction» (correction de diffusion — MSC) [9], la normalisation «Standard Normal Variate» (variable aléatoire normale — SNV) [10], la correction de la ligne de base «de-trending» [10] ainsi que les dérivations simples ou doubles [3]. Il convient de déterminer la transformation optimale et les autres prétraitements des spectres, tels que le lissage, à partir d'essais. Plusieurs techniques peuvent souvent donner des résultats équivalents. Il convient d'évaluer les techniques optimales à partir d'une validation croisée ou d'ensembles d'essais indépendants dans laquelle les modèles sont par la suite développés sur une partie des données et soumis à essai sur une autre [11]. L'étape de prétraitement est importante afin de garantir la robustesse de l'étalonnage et constitue l'un des aspects à vérifier et à prendre en compte pour le processus de validation.

ISO 21543:2020

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, un modèle non suffisamment ajusté est obtenu, ce qui signifie que le modèle n'est pas suffisamment représentatif de la variabilité des données importante et associée à l'analyse. Lorsque les variables ou les facteurs utilisés sont trop nombreux, un modèle trop ajusté peut être obtenu, lequel intègre le bruit et des variations mineures ou insignifiantes. Les deux cas peuvent entraîner de mauvaises prédictions sur les échantillons futurs. Le nombre optimal peut être déterminé en traçant une erreur de prédiction [erreur quadratique moyenne de prédiction (RMSEP) (voir 8.2) obtenue à partir d'un ensemble d'essais indépendants ou erreur quadratique moyenne de validation croisée (RMSECV) (voir 8.3)] par rapport au nombre des variables ou des facteurs (voir Figure B.1). En général, la RMSECV ou la RMSEP sont élevées lorsque les variables ou facteurs sont peu nombreux et diminuent lorsque le nombre des facteurs augmente. Elles augmentent à nouveau lorsque le nombre de facteurs devient trop important. En général, la meilleure solution est celle qui donne la plus faible RMSEP ou RMSECV avec le plus petit nombre de variables ou de facteurs possible.

Il convient de tracer les valeurs estimées obtenues par validation croisée ou sur un set d'essai par rapport aux résultats de référence (voir Figure B.2). Il convient également, dans le graphique, d'identifier les valeurs aberrantes et de rechercher 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 gamme d'étalonnage sont nécessaires.

7.4 Valeurs aberrantes dans l'étalonnage

7.4.1 Généralités

Les valeurs aberrantes peuvent concerner des spectres 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 spectres NIR (valeurs aberrantes y).