

Méthode d'analyse du Microtraceur Rf Bleu Lake après extraction en milieu aqueux

1. Objectif

Il s'agit d'extraire d'un mélange pulvérulent un microtraceur métallique à l'aide d'un aimant. L'analyse par spectrophotomètre permet ensuite de déterminer la quantité de microtraceurs initialement présente dans ce mélange. Dans le cas du traitement de granulés, la préparation des échantillons comprendra un broyage.

Cette méthode constitue le dernier développement des travaux menés par Tecaliman (i'Doc_T9) afin de pouvoir utiliser la méthodologie des microtraceurs dans les plus vastes configurations possibles de fabrication des aliments et notamment dans les cas problématiques de l'utilisation de quantités notables de liquides, de tests sur des pré-mix sur bases minérales ou de la granulation des aliments.

2. Préparation des échantillons

2.1. Mélanges pulvérulents

Les échantillons de mélanges pulvérulents sont préparés en utilisant des étapes comme le prémélange individuel des échantillons, des regroupements et/ou des divisions.

2.2. Broyage de granulés ou de miettes

Pour extraire le microtraceur de granulés ou de miettes, il est nécessaire de réaliser au préalable un broyage des granulés. Les granulés/miettes broyés sont ensuite soumis au même protocole d'extraction du microtraceur que les mélanges pulvérulents.

Il est certain que l'absence de broyage ne permet pas l'assurance de l'extraction de la totalité du microtraceur présent.

Ce broyage doit être effectué sans augmentation de température.

Plusieurs méthodes de broyage ont été testées et celles qui donnent les meilleurs résultats d'extraction sont les suivantes :

Broyeur à cylindre avec deux passages ou deux rangs

Broyeur à café

Broyeur/concasseur Kenwood

Broyeur Retsch GM 200 ou 300

Le Tableau 1 présente les modes d'utilisation, les avantages et inconvénients de ces 4 types de broyage

Type de broyeur	Mode d'utilisation	Avantages	Inconvénients
Broyeur à cylindre	Passage sur au moins 2 cylindres avec serrage progressif	En continu - Nettoyage rapide Pas de limite à la taille des échantillons	Broyage long Type de broyeur peu disponible sur le marché
Moulin à café classique	Durée de broyage : 2 x 5 secondes	Rapide Nettoyage rapide	Echantillon de petite taille (max 100 g) Nettoyage difficile - Echauffements possibles
Broyeur/concasseur Kenwood	Ecartement : 2 – Vitesse : 3	En continu - Pas de limite à la taille des échantillons	Broyage long et nettoyage long
Broyeur Retsch GM 200 ou 300	10 s. à 10 000 tr/mn	Rapide – facilement nettoyable	Echantillon de 500 g

Tableau 1 : Conditions d'utilisation et avantages/inconvénients de chacun des broyeurs possibles

3. Extraction d'un aliment en farine ou de granulés broyés

3.1. Matériel

- 2 pots de 1.5 l avec un volume prédéfini de 1.4 marqué à l'intérieur de ceux-ci

- 1 bécher de 3 l avec poignée
- 1 pompe à vide
- 1 fiole à vide de 1000 ml
- Tuyaux
- 1 support de filtration
- 1 entonnoir de filtration
- 1 pince à épiler

- 1 fouet inox
- 1 mixeur
- 1 statif
- 1 piédestal
- 1 pince pour tenir le mixeur
- 1 pissette d'eau du robinet
- 1 sonde aimantée MSP 100 de marque SETEM
- 1 chronomètre à rebours
- Balances de précision à 0.01g
- Soufflette

3.2. Consommables

Eau du robinet
 Tween 20
 Filtres en nitrate de cellulose (marque Sartorius) 0.8 μm
 Petits sachets mini-grip
 Pots à échantillons de 350 ml

3.3. Montage

Le montage utilisé est schématisé dans la Figure 1 ci-dessous.

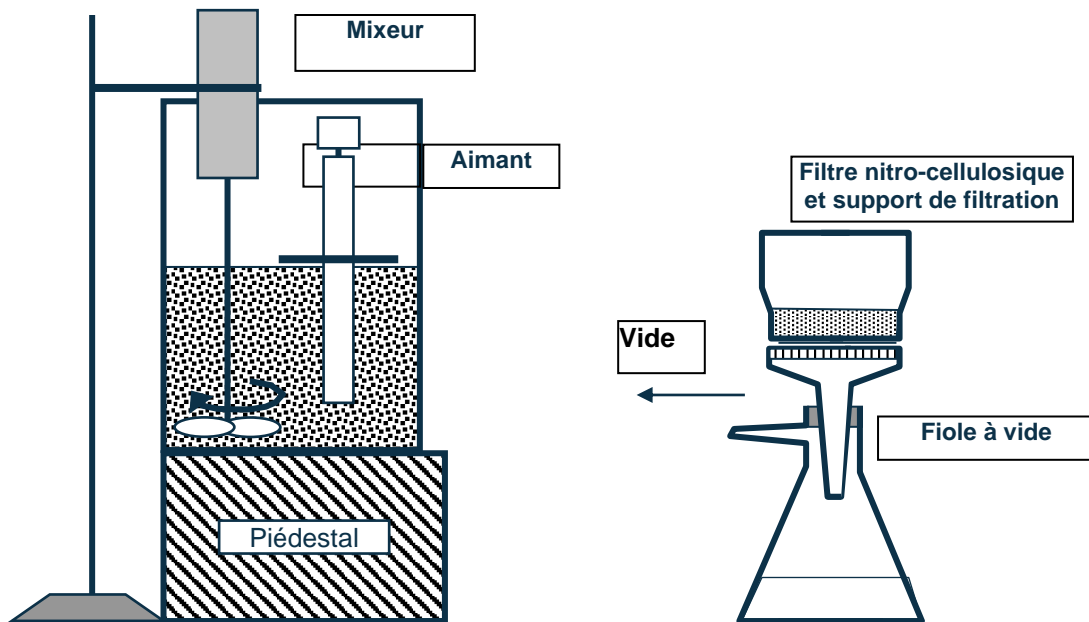


Figure 1 : Schéma du montage

3.4. Méthode

1. Mettre en place le filtre en nitrate de cellulose sur le support de filtration.
2. Remplir d'eau les 2 pots de 1.5 l jusqu'au volume prédéfini (1.4l)
3. Ouvrir le pot contenant l'échantillon contenant le microtraceur.
4. Poser le pot sur la balance et faire la tare.
5. Verser l'échantillon dans le bécher de 3 litres.
6. Repeser le pot vide et noter la masse.
7. Nettoyer le pot et son couvercle à la soufflette.
8. Vider un pot d'eau sur l'échantillon.
9. disperser l'échantillon à l'aide du fouet en inox dans l'eau et rincer le fouet dans le 2ème pot d'eau (pot de rinçage).
10. Placer le bécher sur le piédestal de manière à y faire plonger l'hélice du mixeur.
11. Mettre en place la sonde aimantée à l'intérieur du bécher.
12. Mixer pendant 30 secondes.
13. Retirer la sonde aimantée du bécher.
14. Placer la sonde aimantée dans le pot de rinçage.
15. Libérer les particules en remontant l'aimant dans la sonde et en agitant légèrement.
16. Redescendre l'aimant dans la sonde et agiter afin de reprendre des particules.
17. Placer la sonde aimantée au-dessus du support de filtration.
18. Libérer les particules en remontant l'aimant dans la sonde.
19. Faire migrer délicatement les particules présentes sur la sonde vers le support de filtration à l'aide d'un jet de pissette d'eau.
20. Mettre la pompe à vide en marche afin d'aspirer l'eau présente sur le filtre.
21. Redescendre l'aimant dans la sonde.
22. Ajouter quelques gouttes de Tween 20 dans le bécher.
23. Pour la seconde extraction répéter les étapes 10 à 20.
24. Rincer la sonde aimantée pour la prochaine analyse.
25. Rincer le bol de filtration afin que toutes les particules se déposent sur le filtre.
26. Attendre que le filtre soit « asséché » à l'aide du vide.
27. Retirer le bol du support de filtration.
28. Nettoyer le rebord du bol de filtration avec un doigt.
29. Rincer son doigt au-dessus du filtre à l'aide d'un jet de pissette d'eau.

30. Arrêter la pompe à vide.
31. À l'aide de la pince à épiler, plier le filtre en 2, le retirer du support de filtration et le placer dans le récipient prévu pour la mise en solution : le pot ayant contenu l'aliment si le volume de solvant est supérieur ou égal à 5 ml, ou un sachet mini-grip pour des volumes inférieurs à 5 ml.
32. Nettoyer le bêcher à l'eau afin de le préparer pour l'analyse suivante.

4. Analyse

4.1. Matériel

Doseur automatique de 10 à 50 ml
 Fiole jaugée de 50 ml
 Micropipette manuelle
 Pipette automatique de 5 ml
 Chronomètre
 Entonnoir plastique
 Support pour cuves
 Spectrophotomètre fonctionnant au minimum dans le visible.

4.2. Consommables

Micro-cuves de 1.5 ml pour spectrophotomètre
 Cônes de pipettes de 1 et 5 ml
 Filtre papier Whatman code 2 filtration à 8 µm
 Filtres pipette adaptables au bout des cônes silex de 1 ml (External filter tips 20 µm)
 Solvant (50% d'alcool surfin à 96% / 45% d'eau distillée / 5% de soude à 1 mol/litre)

4.3. Méthode

1. Mettre sous tension le spectrophotomètre
2. Régler la longueur d'onde sur 629 nm si le microtraceur employé est bleu
3. Procéder à la mise au point du « zéro » du spectrophotomètre avant toute analyse :
 - Prélever à la pipette 1 ml de solution servant de référence.
 - Placer un filtre pipette au bout du cône silex.
 - Installer une cuve dans le spectrophotomètre en prenant soin de ne pas souiller les parois.
 - Filtrer le 1 ml de la solution prélevée dans la cuve.
 - Faire le « zéro » du spectrophotomètre
 - Retirer la cuve, le spectrophotomètre est prêt pour analyse.
4. Contrôler et ajuster le doseur automatique à l'aide d'une fiole jaugée de 50 ml, soit en début de journée d'analyse ou après avoir rempli la bombonne du doseur automatique.
5. Ajouter la quantité nécessaire de solvant dans le récipient contenant le filtre portant le microtraceur ; ce volume de solvant aura été préalablement déterminé en fonction de la concentration prévisionnelle de l'échantillon :
 - Ajouter 50 ml de solvant à l'aide du doseur automatique pour tous les échantillons d'homogénéité (environ 100 g à 250 g/t)

- Ajouter 10 ml à l'aide de la pipette automatique (2 x 5ml) pour tous les échantillons de transfert inter-lots (ou de faibles concentrations).
6. Lancer le chronomètre pour 2 minutes
 7. Agiter manuellement et vigoureusement pendant cette durée.
 8. Pour les tests d'homogénéité :
 - Ouvrir le pot et prélever environ 1 ml de liquide à l'aide de la micropipette manuelle.
 - Placer un filtre pipette au bout du cône silex.
 - Filtrer les 1 ml dans une cuve à spectrophotomètre.
 9. Pour les faibles concentrations (transferts inter-lots) :
 - Filtrer au moins 5 ml de liquide sur papier filtre Fisher en utilisant le support à cuve ainsi que les entonnoirs plastiques.
 10. Placer la cuve dans le spectrophotomètre.
 11. Lire la densité optique à 629 nm et noter la valeur.
 12. En cas de valeur de densité optique > à 1.5, une dilution au demi peut être effectuée ou une analyse sur un échantillon de masse réduite

NB : une fois le microtraceur mis en solution dans votre solvant la mesure au spectrophotomètre doit être faite dans les 5 min.

4.4. Préparation et analyse de la gamme étalon

Les courbes étalons sont établies dans les conditions d'extraction et d'analyse décrites ci-dessus.

Le matériel nécessaire est identique à celui employé pour l'extraction et l'analyse. Il convient de rajouter : Rotary detector

Balance de précision 0.1 mg pour la pesée du microtraceur pur ou en prémélange.

Cupules plastiques numérotées pour les pesées du microtraceur

Pour être dans les mêmes conditions pour la gamme étalon et les analyses, il est préférable que le microtraceur pesé pur ou en prémélange soit ajouté en quantités croissantes à des échantillons de 100 g de mélange pulvérulent dit « blancs » c'est-à-dire exempt de microtraceur.

Ce mélange « blanc » peut être obtenu soit directement auprès du site industriel, ce qui est toujours préférable, soit par extraction à sec du microtraceur à l'aide du rotary detector. Cette opération n'est performante que dans le cas de mélange de farine sans liquides. Dans tous les autres cas, seule l'obtention de mélange « blanc » auprès de l'industriel sera possible.

Il est recommandé d'établir la gamme étalon à partir de 5 mélanges contenant les quantités croissantes de microtraceur et d'un blanc de lecture élaboré à partir de 100 g d'aliment blanc sans microtraceur.

Les masses de microtraceur ou de prémélange ciblées sont données dans le Tableau 2 pour des mises en solution dans 50 ml. Elles permettent

d'obtenir des densités optiques s'étalant entre 0.15 et 1.5 en utilisant 50 ml de solvant, mais ces valeurs peuvent varier en fonction de la teneur en colorant du microtraceur.

Microtraceur RF bleu lake pur	Prémélange à 5 % de Microtraceur RF bleu lake	Prémélange à 12.5 % de Microtraceur RF bleu lake
0.00000 g	0.00000 g	0.00000 g
0.00500 g	0.10000 g	0.05000 g
0.01500 g	0.30000 g	0.15000 g
0.02500 g	0.50000 g	0.25000 g
0.03500 g	0.70000 g	0.35000 g
0.04500 g	0.90000 g	0.45000 g

Tableau 2 : Masses traditionnellement ciblées pour établir les courbes étalons

Les pesées doivent être faites dans les cupules sur une balance de haute précision : 0.1mg de précision d'affichage.

En cas d'utilisation d'un prémélange, il est préférable d'établir la gamme directement sur la base de ce prémélange. Cette méthodologie permet alors de se placer dans les mêmes conditions que celles pratiquées pour la fabrication du mélange et de vérifier indirectement l'homogénéité du prémélange sur des quantités très faibles.

Un mélange sommaire du microtraceur/prémélange et de l'aliment blanc est effectué dans chaque pot avant extraction.

L'élaboration du « blanc de lecture » dans des conditions similaires aux échantillons avec de l'aliment sans microtraceur ajouté permet de corriger l'éventuelle présence d'un reliquat de microtraceur. A défaut, la gamme sera lue sur un blanc constitué de solvant pur. Si le blanc de référence est différent entre la gamme et les analyses, l'éventuelle différence de densité optique doit être mesurée.

La quantité de solvant est toujours de 50 ml et est ajoutée au moyen d'un doseur automatique.

4.5. Traitement des résultats

La courbe étalon permet de déterminer la relation linéaire entre une masse de microtraceur (m) et une densité optique (D.O.) : $m = a \text{ D.O.} + b$.

Le coefficient b traduit l'écart qui peut exister entre le blanc constitué de solvant et le blanc comprenant de l'aliment. A l'aide de cette relation, il est possible de déterminer la masse de microtraceur présente dans la masse d'un échantillon déterminé.

La qualité de la droite peut être évaluée en calculant la quantité de microtraceur correspondant au D.O. de la gamme sur la base de l'équation et à les comparer aux valeurs réelles. Des écarts de 10 % sont tolérés aux deux points inférieurs (5 et 15 mg) puis 5 % au-dessus.

La concentration en microtraceur est alors déterminée en reportant la masse de microtraceur à la masse de l'échantillon correspondant.

5. Fraction soluble

Pour les laboratoires qui souhaiteraient tester la fraction de colorant soluble dans un lot de microtraceur pour en faire un critère de qualité, ce critère est obtenu de la manière suivante :

Prélever 2 fractions d'environ 0.025 g de microtraceur et noter les masses

Faire subir à l'une d'entre elle l'extraction en voie liquide pour une analyse dans 50 ml de solvant L'autre est introduite directement dans 50 ml de solvant

Rapporter les deux densités optiques obtenues à la même quantité de microtraceur

Fraction libre obtenue par la formule suivante :

$$\text{Fraction libre} = 100 \times \frac{\text{DO sans extraction} - \text{DO avec extraction}}{\text{DO sans extraction}}$$

6. Fournisseurs du matériel

Matériel	Référence / Fournisseur
Mixeur	Mixer Bamix Gastro / La Bovida (18 - Bourges) Fax : 02.48.66.73.06
Sonde d'échantillonnage	MSP 100 / SETEM (80 - Lamotte) Fax : 03.22.42.37.33
Spectrophotomètre	Bioblock Scientific (67 - Illkirch) Fax : 03.88.67.11.68
Pompe à vide	Mini pompe à membrane N735 KNF - Grosseron (44 - St Herblain) Fax : 02.40.92.07.10
Porte filtre	Entonnoir de filtration gravisseal M26 999 / Bioblock Scientific (67 - Illkirch) Fax : 03.88.67.11.68
Filtres nitrates de cellulose	Filtres Sartorius 113 04 050N Seuil de rétention 0.8µm - Diamètre 50 mm / Sartorius Division filtration (91 - Palaiseau) Fax : 01.60.11.26.44
Externals filters tips	OFT 2002-20-MIC / Labsience, Inc - Mme Sorrentino www.labsience.com Fax : 001 775 747 9584

7. Bibliographie

i'Doc_T9, 2003 - Elaboration d'une nouvelle technique d'extraction du microtraceur RF Bleu lake