

Valider ou comparer les comportements de produits actifs d'homogénéisation, de démélange et de transferts inter-lots

Dans le cadre du développement d'un produit actif, les producteurs (dossier d'homologation) ou les utilisateurs peuvent être intéressés de caractériser plusieurs comportements de ce produit actif dans un ou plusieurs aliments. La caractérisation de la dispersion homogène d'un produit actif dans les aliments ciblés et la stabilité de cette répartition (absence de démélange) font souvent partie des dossiers d'homologation. La limitation de la génération de transferts inter-lots en usine par ce produit actif peut être une donnée utile au choix de ce produit plutôt qu'un autre, par un client.

Ces trois comportements sont étudiés selon le protocole décrit ci-dessous dans le cadre de l'obtention du « label » Tecaliman Performance produit T3P.

1. Principe

Le commanditaire choisit un ou plusieurs aliments dans lequel ces comportements vont être caractérisés. Le même aliment est employé pour constituer les lots mélangés, les lots traceurs ou les lots collecteurs.

Le comportement du produit actif ciblé est systématiquement comparé à un produit de référence incorporé à 250 ppm (Microtraceur RF blue lake). Ce produit de référence sert :

- dans le cas de l'homogénéisation, à valider la performance du mélangeur et être ainsi certain qu'une éventuelle hétérogénéité du produit actif n'aurait pas pour origine un dysfonctionnement du mélangeur
- à tester la répétabilité des essais lorsqu'ils sont répétés dans le cadre du démélange ou des transferts inter-lots.

2. Matériel

2.1. Mélangeur

Il s'agit d'un mélangeur à pales d'une capacité de 100 litres de marque Théaudin conçu sous licence Buhler ayant une forme analogue à celle du mélangeur speed mix (Figure 1).

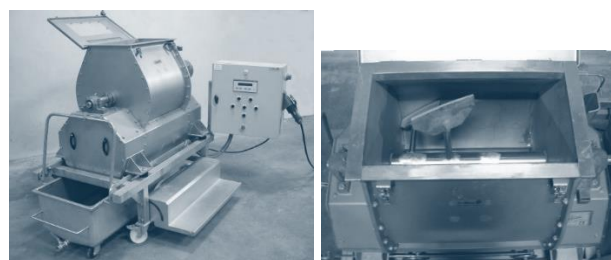


Figure 1 : Photographie de l'extérieur et de l'intérieur du mélangeur

2.2. Colonne d'élutriation

Il s'agit d'un tube de 5.5 m en PVC de 80 mm de diamètre en 3 éléments.

La partie sommitale est pourvue d'un entonnoir et un pot peut être placé à son extrémité inférieure.

2.3. Pilote de manutention

Une station pilote est employée (Figure 2). Dans le sens du parcours du produit, elle comprend :

- Une trémie d'alimentation
- Une vis d'alimentation
- Un élévateur (4 m de haut)
- Une boîte de dérivation à 2 directions :
 - Une première orientation vers une trémie supérieure qui s'ouvre sur la trémie d'alimentation par une vanne papillon
 - Une seconde orientation vers la sortie du pilote

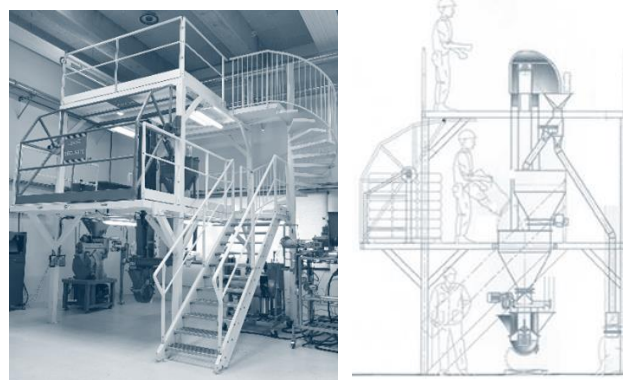


Figure 2 : Photographie et dessin de la station

Durant un test, le débit est d'environ de 2.5 t/h pour

un aliment standard.

3. Méthodes

3.1. Homogénéité

Classiquement, les essais sont réalisés sur des mélanges d'aliment de 50 kg :

- Introduction de 25.0 kg d'aliment
- Introduction de la quantité souhaitée de produit étudié et de 12.5 g de traceur de référence
- Introduction d'aliment nécessaire pour arriver à une taille de lot de 50 kg
- Mélange de 300 s. (5 minutes) à 60 tr/mn
- Vidange

La capacité de mélange du mélangeur utilisé est régulièrement validée dans ces conditions et le traceur de référence sert de contrôle supplémentaire dans les conditions exactes de l'essai.

Pour l'échantillonnage, 20 prélèvements sont réalisés directement dans le bac situé en dessous du mélangeur (Figure 3) : 10 dans la couche supérieure et 10 dans la couche inférieure.

Dix de ces 20 échantillons sont employés pour les analyses :

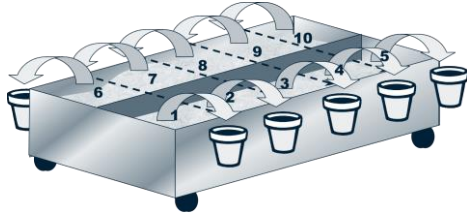
- 5 prélevés au-dessus : 1, 3, 5, 7 et 9
- 5 prélevés en dessous : 12, 14, 16, 18 et 20

Les dix autres sont placés en réserve et utilisés en cas d'analyses supplémentaires.

Chacun des 10 échantillons pour analyses sont divisés en deux :

- Une fraction est envoyée à un laboratoire externe pour l'analyse du produit étudié
- Une fraction est employée en interne pour l'analyse du traceur de référence

Prélèvements au-dessus



Prélèvements en dessous

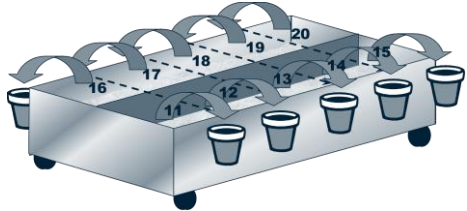


Figure 3 : Procédure d'échantillonnage des tests d'homogénéité

Les résultats des analyses sur les 10 échantillons sélectionnés sont utilisés pour le calcul du coefficient de variation (CV_{total}) par un calcul de la variance (V) et de la moyenne (m). Ce coefficient de variation est dit « total », car il tient compte de toutes les sources de variation.

$$CV_{total} = \frac{\sqrt{V_{total}}}{m}$$

Le résultat est interprété par :

- La comparaison avec la dispersion du traceur de référence dans les mêmes conditions
- Les références professionnelles

3.2. Démélange par élutriation

Si ce test est indépendant d'autres tests, au laboratoire, un mélange d'au moins 1 kg est fabriqué à l'aide d'un mélangeur de laboratoire. Chaque mélange contient l'aliment ou la matrice ciblée, le traceur de référence à une concentration attendue de 250 ppm et le produit étudié à la concentration choisie par le commanditaire. Le mélange est effectué pendant 2 minutes à la vitesse de rotation minimum. Si le test est combiné à un test d'homogénéité, un échantillon d'au moins 1 kg est obtenu à partir de multiples incréments prélevés dans le mélange réalisé pour le test d'homogénéité.

Dans les deux cas, le kilogramme de produit obtenu est divisé en quatre fractions égales. Trois fractions sont employées pour effectuer les tests d'élutriation, le dernier est placé en réserve. Chaque échantillon doit avoir un volume d'environ 500 ml soit environ 300 g du mélange pour remplir le réservoir de départ.

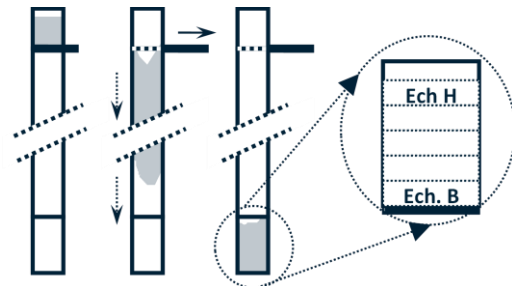


Figure 4 : Schéma du protocole d'essai et de prélèvement pour l'élutriation

Le protocole suivant est utilisé pour chaque essai à partir des échantillons (Figure 4) :

- Nettoyage de la colonne
- Placement du pot de réception en bas de la colonne assurant son étanchéité
- Placement du « clapet » sur le sommet du réservoir de départ et retournement de l'ensemble.
- Positionnement du tout sur l'entonnoir du sommet de la colonne
- Retrait du clapet pour permettre la chute brusque du mélange et récupération du mélange dans le pot de réception.
- Retrait du pot de réception

Cette opération est reconduite trois fois pour tenir compte de sa variabilité. Sur chaque échantillon obtenu après la chute :

- Réalisation des prélèvements correspondant chacun à une couche de mélange dans le réservoir de réception (1/5 du volume initial) : Sous-Echantillon H en haut et Sous-Echantillon B en bas.
- Division de chaque sous-échantillon en deux
- Expédition d'une fraction aliquote de 25 g de chacun des sous-échantillons à un laboratoire externe pour l'analyse du produit étudié
- Re-division de chaque sous-échantillon en deux pour l'analyse du traceur de référence

Les résultats des analyses du produit étudié et du traceur de référence sont exprimés sous la forme d'un indice d'éluatriation (IE) :

$$IE = \frac{C_H - C_B}{\frac{C_H + C_B}{2}} \cdot 100$$

Avec C_H : concentration en principe actif dans l'échantillon du haut
 C_B : concentration en principe actif dans l'échantillon du bas

Ce calcul conduit à :

- des valeurs limites : + 200 et de - 200. En effet, si la totalité du produit ciblé est transféré dans un échantillon (haut ou bas), alors sa concentration est de 100 % contre 0 % pour l'autre. L'indice IE est alors égal à +/-10000 divisé par 50 soit +/- 200 (Voir formule).
- un indice négatif (de 0 à -200) quand le produit est majoritairement au fond et a donc chuté plus vite. Il a alors tendance à migrer avec la fraction la plus grossière.
- un indice positif (de 0 à +200) quand le produit est majoritairement en surface et a donc chuté moins vite. Il a alors tendance à migrer dans la fraction la plus fine.
- un indice proche de zéro démontre que la répartition du produit reste stable lors de la chute.

Le calcul d'une moyenne entre les deux valeurs extrêmes ne permet pas toujours de trouver la concentration moyenne de l'aliment d'origine, car la migration dans l'échantillon n'est pas proportionnelle et qu'une majorité des actifs peut se retrouver au centre.

L'analyse des résultats est faite sur les bases suivantes :

- la répétabilité des essais évaluée par les deux traceurs (Produit étudié et traceur de référence)
- l'indice d'éluatriation du produit étudié et sa comparaison avec ceux d'autres produits dans les mêmes conditions ainsi qu'à celui du traceur de référence.

3.3. Transferts inter-lots

Trois mélanges sont fabriqués dans les mêmes conditions que le test d'homogénéité (Voir § 3.1) pour réaliser 3 fois l'essai, afin de tenir compte d'une certaine variabilité du comportement. Le traceur de référence sert à tester cette variabilité. Chacun de ces mélanges constituera un lot dit « traceur ». Des charges équivalentes (50 kg) d'aliment sans traceur sont préparées pour servir de lots collecteurs.

Chaque essai est réalisé de la manière suivante :

- Nettoyage total préalable de la station
- Introduction du lot traceur de 50 kg dans la trémie d'entrée
- Transfert du lot traceur vers la trémie supérieure (Vitesse vis : 35 Hz – Vitesse élévateur : 40 Hz)
- Arrêt du transfert après passage de la totalité du lot
- Vidange de la trémie supérieure et nettoyage pour ramener le maximum du lot dans la trémie inférieure
- Changement de direction de la boîte de dérivation
- Transfert du lot traceur vers l'extérieur dans un bac de collecte (Vitesse vis : 35 Hz – Vitesse élévateur : 40 Hz)
- Arrêt du transfert après passage de la totalité du lot
- Introduction du lot collecteur de 50 kg dans la trémie d'entrée (Inférieure)
- Passage du lot 1 fois dans la station (arrêt de l'élévateur puis de la vis 30 secondes après la vidange de la vis)
- Récupération de la totalité du lot collecteur dans un second bac et mise en sacs
- Nettoyage par aspiration de l'ensemble de la station

Chacun des lots traceur et collecteur est ensuite :

- Divisé dans leur totalité par 2 à sept reprises pour obtenir 2 sous échantillons de 400 g environ
- Re-division de ces sous échantillons de 400g pour envoi au laboratoire pour l'analyse du produit tracé sur 100 g et analyse du traceur de référence

Pour chaque essai, le taux de transfert inter-lot est calculé en pourcentage de la concentration dans le lot collecteur ramené à la concentration initiale dans le lot traceur. Les valeurs sont comparées entre elles et évaluées par rapport aux références professionnelles.

4. Exemple de résultats

Les résultats présentés ici sont donnés à titre d'exemple et issus de prestations de service anonymisées réalisées sur cette base. Les résultats de chaque chapitre n'ont pas de rapport entre eux.

4.1. Homogénéité

Sur cet exemple (Tableau 1), si le traceur de référence apparaît comme distribué de manière homogène, sur la base d'une cible à 5%, les deux actifs ne sont pas distribués de la même manière et l'un des deux apparaît comme distribué de manière plus hétérogène. Le test permet bien de statuer sur le comportement des deux actifs testés.

Produits	Mélange 1		Mélange 2	
	Traceur de Référence	Actif 1	Traceur de Référence	Actif 2
CV_{total} (%)	3.7	6.8	4.0	5.3

Tableau 1 : Exemple de résultats de test d'homogénéité sur 2 actifs testés

4.2. Démélange par élutriation

Un fabricant d'actif a souhaité tester la stabilité au mélange de 3 de ces produits actifs dans deux matrices d'aliment. Le traceur de référence dans les mêmes conditions (mais sur 9 essais par matrice) montre une variation des indices d'élutriation avec les coefficients de variation de 5.3 et 5.7 % dans les 2 matrices (Tableau 2).

Indice d'élutriation	Aliment Matrice M1	Aliment Matrice M2
	Ecart-type	6.6
Coefficient de variation	5.3 %	5.7 %

Tableau 2 : Exemple de résultats de répétabilité

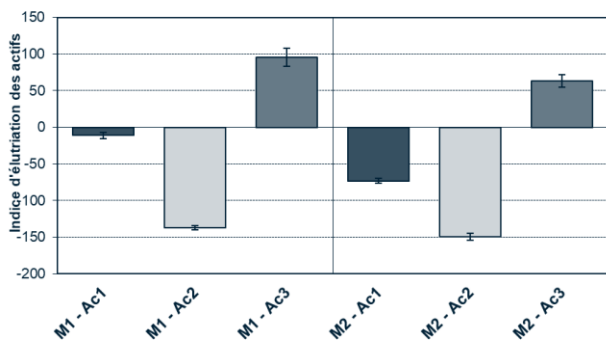


Figure 5 : Exemple de résultats d'élutriation dans 2 aliments matrices (M1 et M2) pour 3 produits actifs

Les résultats des 3 produits actifs (Figure 5) mettent en évidence des comportements globalement similaires pour les 3 actifs dans les 2 matrices : relative stabilité de l'actif Ac1 dans le mélange 1 mais pas dans l'aliment 2, migration vers le bas pour l'actif Ac2 dans les 2 matrices, et migration vers le haut pour le dernier produit (Ac3).

Ce test permet donc de tester et de comparer des produits ou des relations produits/matrice entre eux tout en validant statistiquement ces comportements.

4.3. Transferts inter-lots (TIL)

Dans le dernier exemple, le client veut comparer le comportement des deux actifs concurrents dans un même aliment. Le comportement du traceur de référence est donc testé 6 fois dans les mêmes conditions et chacun des actifs, 3 fois. Un coefficient de variation peut être calculé sur la base de ces répétitions, mais celui du traceur de référence a plus de validité, car il est obtenu sur la base de 6 mesures. Ces conditions permettent de distinguer une différence significative de comportement entre les deux produits actifs.

Produits	Traceur de Référence	Actif 1	Actif 2
Niveau TIL	4.6 %	1.1 %_a	3.7 %_b
CV TIL (%)	8.2	9.1	12.1

Tableau 3 : Exemple de résultats de test de transfert inter-lots sur 2 actifs testés (Les lettres mettent en évidence l'existence d'une différence significative au risque de 5 %)

5. Conclusion

Ces tests de comparaison ou de validation du comportement de produits actifs dans un environnement choisi permettent de bien mettre en évidence des différences de comportements éventuelles avec une validation statistique. Ces protocoles sont l'une des bases de la validation comportementale des produits dans le cadre du « label » Tecaliman Performance Produit T3P.

6. Bibliographie

i'Tec_H8 : Méthodes d'évaluation du démélange des additifs en laboratoire testées à Tecaliman

i'Tec_H11 : Démélange des aliments sur des sites industriels

i'Tec_H14 : Résultats d'essais pilotes sur le démélange par élutriation

i'Tec_T12 : Etude pilote sur les transferts inter-lots des micro-ingrédients au niveau d'un élévateur à godets : méthode