

## Méthode d'analyse des microtraceurs

Cette méthode d'analyse a été élaborée dans le cadre d'études menées sur l'homogénéisation des aliments, puis adaptée à la problématique des contaminations croisées.

La méthode utilise comme traceur des particules métalliques magnétisables de faibles tailles enrobées d'un colorant. Ces deux caractéristiques sont à l'origine des possibilités de dosage. L'aimantation permet l'extraction des particules du mélange.

Après extraction, la société commercialisant ces traceurs (Microtracer Inc.) réalise un comptage des particules après leur séparation (démagnétisation) et leur décoloration sur des feuilles de papier filtre. Cette méthode n'autorise pas des taux d'incorporation élevés afin de pouvoir réaliser ce comptage des particules.

C'est en raison de cette dépendance vis-à-vis du taux d'incorporation que Tecaliman a développé une méthode de dosage colorimétrique de la concentration en microtraceurs ( $\mu T$ ). De

nombreuses études ont permis de la valider.

Ses modalités pratiques ont évolué au cours des années, mais son principe général n'a pas été fondamentalement modifié.

### 1. Principe de la mesure

Le principe de l'analyse est le suivant (Figure 1) :  
Pesée précise de l'échantillon.

Extraction magnétique du  $\mu T$ .

Transfert du  $\mu T$  dans un récipient.

Mise en solution, Agitation et Filtration.

Lecture de la densité optique à la longueur d'onde correspondant au colorant du  $\mu T$ .

Calcul de la quantité de  $\mu T$  correspondant par référence à une gamme étalon.

Calcul de la concentration massique du  $\mu T$  dans le mélange par référence au poids de l'échantillon.

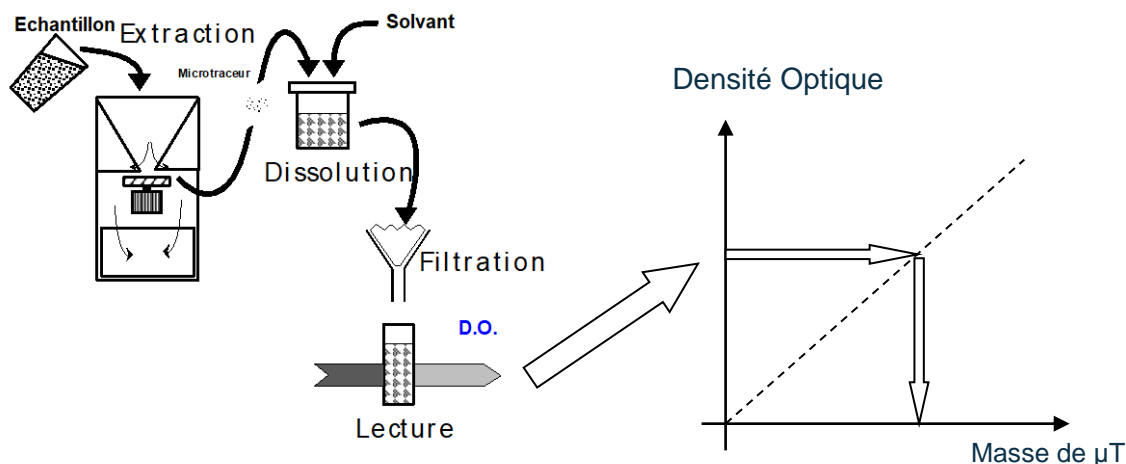


Figure 1 : Schéma du principe de l'analyse

### 2. Caractéristiques des microtraceurs

Différents types de  $\mu T$  sont commercialisés. La dénomination commerciale de ces  $\mu T$  définit en premier la taille des particules (Tableau 1). En second lieu, elle donne la couleur du colorant porté par ces particules.

Il s'agit toujours de colorants alimentaires.

Type de $\mu T$	Taille
F	300 $\mu m$
FS	220 $\mu m$
RF	90 $\mu m$
RF super fin	30 $\mu m$

Tableau 1

Ainsi, le bleu, très utilisé par Tecaliman, correspond à du Bleu brillant (E 133). Enfin, l'indication lake précise que le colorant est fixé sur les particules et qu'il ne peut être mis en solution que dans un solvant alcoolique et alcalin. L'absence de cette indication signifie l'absence de fixation et la certitude d'une perte de colorant dans le mélange rendant difficile la liaison entre la masse de  $\mu\text{T}$  et la coloration développée après extraction. Le  $\mu\text{T}$  utilisé par Tecaliman est le RF bleu lake dont les caractéristiques physiques sont données dans le Tableau 2.

Diamètre médian (diffraction laser)	92 $\mu\text{m}$
Masse volumique apparente	2.7 g/l
Masse volumique tassée	2.9 g/l
Masse volumique particulaire	6.6 g/l
Nombre de particule/g (Calcul)	7.0 $10^6$
Indice d'Hausner	1.06
Angle de talus par éboulement	35.6°
Plus petit diamètre d'écoulement	< 4
Emission de poussières (mg/25 g)	1.5

Tableau 2 : Caractéristiques du  $\mu\text{T}$  RF bleu lake

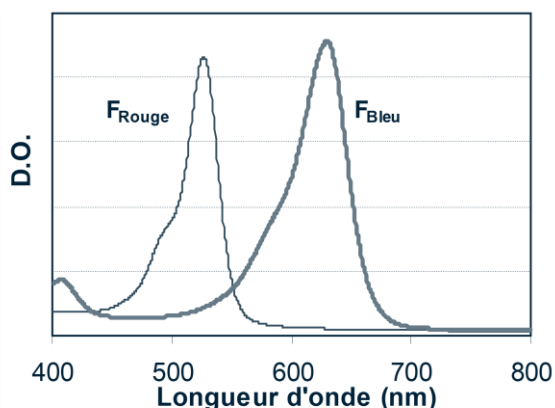


Figure 2 : Spectre d'absorption des  $\mu\text{T}$  rouge et bleu

Les spectres d'absorption des colorants utilisés pour les  $\mu\text{T}$  rouge et bleu ont des pics aux longueurs d'ondes respectives suivantes : 525 nm et 629 nm (Figure 2). En cas d'utilisation combinée des deux traceurs dans un même mélange, il est possible de suivre le  $\mu\text{T}$  bleu sans perturbations, par contre, la détection du rouge est alors légèrement perturbée par la présence de l'autre.

### 3. Protocole d'analyse

Il s'agit de celui pratiqué par Tecaliman pour doser le  $\mu\text{T}$  RF bleu lake lors des essais d'homogénéité et de contaminations croisées.

#### 3.1. Taux et mode d'incorporation

Ce taux a été fixé à 250 ppm. Le  $\mu\text{T}$  est mélangé à du rofelys à raison de 12.5 % pour une introduction du prémélange à 2 kg/t en rapport avec la réglementation.

#### 3.2. Traitement des échantillons au laboratoire

Aucun broyage ni remélange des échantillons n'est réalisé, car dans le cas d'analyses en simple sur des échantillons pour l'étude de l'homogénéité, la prise d'essai correspond à la totalité de la masse de l'échantillon. Pour des analyses en double, les échantillons sont directement divisés sur un diviseur à rifles. Pour les contaminations croisées, des regroupements sont pratiqués conformément au protocole établi (Voir i'Tec\_T2).

#### 3.3. Pesée et Extraction

La masse d'échantillon est pesée avec précision (0.1 g). Pour des essais d'homogénéité, elle est souvent comprise entre 250 et 300 g.

L'extraction est pratiquée à l'aide d'un appareil conçu par Microtracer Inc. pourvu d'un aimant rotatif de 70 mm de diamètre sur lequel passe sous forme d'un lit de 1.5 cm d'épaisseur, la totalité de la masse d'échantillon.

Avant le passage de l'échantillon, un fin disque de plastique est déposé à la surface de l'aimant. Ce disque permet d'extraire le  $\mu\text{T}$  récupéré sur l'aimant de son attraction et de le transférer dans un récipient. L'opération d'extraction peut être répétée plusieurs fois (2 à 4) jusqu'à épuisement de la quantité de  $\mu\text{T}$  extraite.

#### 3.4. Mise en solution et filtration

Le solvant utilisé dans le cas du microtraceur de qualité Lake a la composition suivante :

- 50 % d'éthanol
- 45 % d'eau
- 5 % d'hydroxyde de sodium à 1 mol/l
- 50 ml de solvant sont classiquement utilisés, mais un volume moins important peut l'être (jusqu'à 2 ml) afin d'obtenir une densité optique dans la gamme.

Pour contribuer à la solubilisation du colorant, le mélange  $\mu\text{T}$ /solvant est agité pendant 45 sec. La lecture doit être faite rapidement, car la coloration évolue dans le temps. Une stabilisation de cette dernière peut être obtenue par neutralisation de la soude après la solubilisation du colorant. Une quantité de 0.2 ml d'acide sulfurique à 25 % est nécessaire pour 50 ml de solvant. Une filtration de la fraction de solution soumise à la lecture optique est pratiquée pour éliminer les particules au dessus de 20  $\mu\text{m}$ .

#### 3.5. Lecture de la densité optique (D.O.)

La lecture de lumière absorbée à 629 nm permet de déduire la quantité de  $\mu\text{T}$  présente dans l'échantillon, et donc la concentration, en appliquant la régression établie entre ces deux variables (Figure 3). Des corrections peuvent être apportées dans le cas de l'utilisation d'un volume

de solvant différent de celui utilisé pour l'établissement de la gamme.

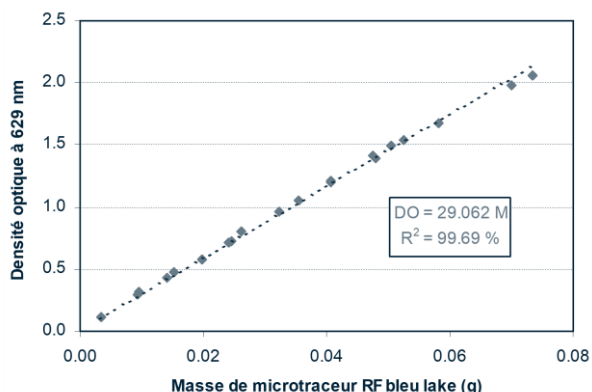


Figure 3 : Exemple de relation entre la D.O. et la masse de  $\mu$ T RF bleu lake (50 ml)

D'autres gammes ont démontré que la relation se dégradait au dessus d'une D.O. de 2. Compte tenu du taux d'incorporation, les masses standards d'échantillon conduisent à des D.O. comprises entre 0.5 et 2.

## 4. Facteurs de variations

### 4.1. Gamme colorimétrique

Plusieurs essais ont mis en évidence que la mesure de la détermination de la pente de la relation entre la densité optique et la masse de  $\mu$ T pouvait légèrement osciller avec un coefficient de variation proche de 3 %. Cette variation peut avoir pour origine différents facteurs tels que :

- Erreur de pesée
- Erreur de volume de solvant
- Dissolution incomplète du colorant
- Mauvaise filtration
- Erreur de mesures de la D.O.

Elle est à mettre en correspondance avec celle qui existe lors de la réalisation d'analyses en double sur un même échantillon. Les nombreux essais pratiqués par Tecaliman ont montré que le coefficient de variation résiduel qui existait alors était souvent également proche de 3%.

### 4.2. Les approvisionnements

L'une des sources de variation les plus importantes reste la quantité de couleur fixée sur les particules métalliques comme le montrent les courbes établies, à titre d'exemple, sur deux approvisionnements différents (Figure 4). Cette variation contraint à réaliser le tracé d'une gamme colorimétrique sur chaque approvisionnement de  $\mu$ T.

Il a également été démontré que la qualité de l'éthanol avait une incidence sur la relation.

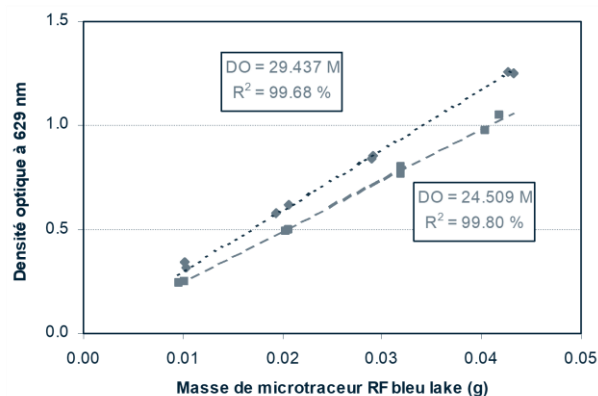


Figure 4 : Exemple de relations entre la D.O. et les masses de 2 sources de  $\mu$ T RF bleu lake (pesé après extraction du prémix - 50 ml)

### 4.3. Difficultés d'extraction

Cette difficulté a en partie été mise en évidence par l'essai suivant : des masses de  $\mu$ T ont été introduites dans des pots, puis mélangées à 100 g d'aliment introduits dans chacun des pots, et enfin extraites (Figure 5).

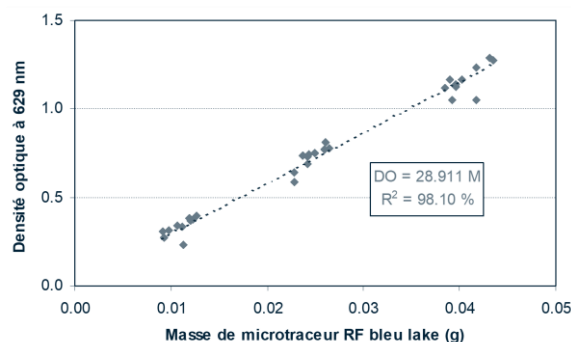


Figure 5 : Relation entre la D.O. et la masse de  $\mu$ T RF bleu lake (pesée du  $\mu$ T - mélange avec aliment et extraction - 50 ml de solvant)

Ce simple essai met en évidence des densités optiques inférieures aux valeurs attendues pour plusieurs points qui correspondent donc à des défauts d'extraction.

Dans certains essais industriels, comme par exemple ceux de la campagne d'évaluation de l'homogénéité des aliments pondéreuses en sortie d'usine (Rapport n° 166. 2000), réalisés avec le RF bleu lake (90  $\mu$ m), trois résultats ont dû être écartés en raison de taux de récupération compris entre 60 et 70 %.

Dans le cadre des essais sur les contaminations croisées, quelques taux de récupération plus faibles (50 %) ont pu être notés avec le  $\mu$ T RF super fin (30  $\mu$ m) rouge, mais les résultats n'ont pas été écartés, car cette perte de traceur pouvait être expliquée par le comportement de contamination qui était mesuré.

#### 4.4. Présence de liquides

Une étude a été effectuée sur trois mélanges de 100 kg d'un aliment bovin (280  $\mu$ m) contenant 250 ppm de  $\mu$ T RF bleu lake auxquels de l'eau, de l'huile de soja ou de la mélasse sont ajoutées. Après un prémélange d'une minute, 1 % de liquide est pulvérisé dans la mélangeuse, l'agitation est maintenue pendant 5 minutes, puis 10 prélèvements sont effectués dans la mélangeuse. L'opération est répétée 5 fois afin d'ajouter environ 1, 2, 3, 4, 5 % de liquides.

Les analyses des microtraceurs sont faites sur 10 échantillons de 100 g sans répétitions.

Avec logique, le taux de récupération du traceur s'est avéré sensible à la quantité de liquide ajoutée pour les trois liquides (Figure 6).

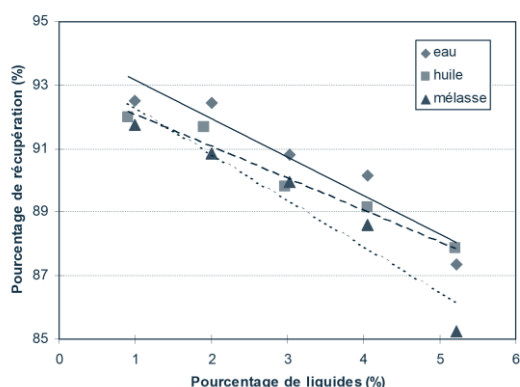


Figure 6 : Pourcentage de traceur récupéré en fonction du taux d'incorporation des liquides

Sans liquides, le taux de récupération est voisin de 94 %, ce qui est la valeur trouvée si les droites sont poursuivies pour le zéro d'incorporation de liquides. Si les liquides sont comparés, il faut noter que les taux sont toujours plus faibles avec les produits les plus visqueux que sont la mélasse, puis l'huile, l'eau arrivant en meilleure position. Pour l'eau et la mélasse, le taux de récupération semble subir une baisse plus nette lors de l'augmentation du pourcentage de liquide de 4 à 5 %. Toutefois, les taux de récupération les plus bas sont voisins de 85 % et ne peuvent pas être considérés comme très mauvais. En effet, ils sont de l'ordre de ce qu'il est possible d'avoir avec certains additifs sans addition de liquides dans les mélanges.

De plus, le coefficient de variation n'était pas modifié par cette incorporation de liquide.

Des résultats récents en matière de contaminations croisées permettent de penser que cette sensibilité à la présence des liquides pourrait être plus importante en milieu industriel ou avec un  $\mu$ T plus fin.

#### 5. Conclusions

Cette méthode développée depuis près de 10 ans par Tecaliman possède des avantages et des inconvénients.

#### Inconvénients

- Il ne faut pas qu'un magnétique soit installé sur le site industriel entre le lieu d'incorporation du traceur et le lieu de prélèvement.
- Elle n'est pas adaptée à des tests sur des granulés ou des aliments à teneurs élevées en liquides.
- Il existe une variation de la quantité de colorant selon les lots de  $\mu$ T
- Il existe des problèmes d'extraction

#### Avantages

Le faible coût d'analyse (environ 100 F) qui la rend compétitive avec celle des oligo-éléments.

Le  $\mu$ T est inerte et compatible avec la consommation des aliments.

Avec l'utilisation du type Lake, il n'y a pas de perte de colorant même en présence d'eau libre dans l'aliment (passage à la presse) ce qui évite la coloration de ce dernier.

Le  $\mu$ T est un traceur externe qui n'est jamais présent dans les matières premières. Il est donc absent des usines avant son introduction pour l'essai, ce qui limite les risques de perturbation des résultats par une éventuelle contamination aléatoire ou un « bruit de fond » important.

L'analyse se réfère à la totalité de la masse des échantillons, ce qui limite les risques d'erreur analytique qui existent lors du passage de la taille de l'échantillon collecté en usine à celle de la prise d'essai.

Une adaptation possible (mais difficile à mettre en place dans la pratique) à la taille de l'échantillon pour correspondre à la ration alimentaire de l'animal peut être réalisée en faisant varier le taux d'incorporation ou la quantité de solvant.

Cette adaptation est également utilisée dans le cas des contaminations croisées en permettant de moduler la taille de l'échantillon et la quantité de solvant pour la recherche de traces avec fiabilité.

#### 6. Bibliographie

i'Tec\_T2. Fév. 2000. Règles techniques pour l'évaluation du niveau de contaminations croisées entre aliments.

Rapport Interne n° 166. Janv. 2000. Essais industriels d'évaluation de l'homogénéité d'aliments pondéreux en farine à la sortie de 16 sites industriels.