

Comment les progrès en technologie des instruments d'analyse améliorent l'efficacité du secteur de la lyophilisation

Lyophilisation des jus de fruits pour un transport facile et un stockage longue conservation

Raison

La lyophilisation est un processus de déshydratation qui est utilisé depuis longtemps pour éviter la détérioration des matériaux périssables (les Incas conservaient les pommes de terre à haute altitude où la pression et la température basses les séchaient leur évitant de s'endommager) 1. Tout d'abord mentionné dans une brochure par Altman en 1890, elle a été développée par d'Arsonval en 1906 et plus tard par Harris et Shackell qui l'ont utilisée sur le virus vivant de la rage pour le premier vaccin lyophilisé, avant d'être totalement développée comme un processus de conservation à long terme des cellules sanguines vers la fin de la deuxième guerre mondiale.

La lyophilisation est conçue pour éliminer plus de 99% du contenu en eau d'un produit afin d'augmenter sa stabilité et de maintenir une grande activité entre 6 mois et 10 ans. Le matériau est congelé à une température limite prédéfinie et il y est maintenu afin que la température s'équilibre. Une fois que le matériau a atteint sa température limite, un vide est appliqué pour commencer le processus de sublimation.

Il existe deux phases au processus de séchage, le séchage primaire et le séchage secondaire. En général, pendant le séchage primaire, une pression inférieure à 2/3 de la valeur de la pression de la glace est sélectionnée comme point de consigne de la pression et cela est contrôlé pendant le cycle de séchage alors que l'eau est éliminée. L'eau en grande quantité constitue entre 95 et 99% de l'eau totale avec le contenu en eau restante venant de l'humidité absorbée. L'humidité chimiquement liée (absorbée) est éliminée pendant la phase de séchage secondaire où la température augmente jusqu'à un point où il est peu probable que le matériau fonde et qu'il reste relativement stable, et où la pression est réduite au minimum. La durée du séchage secondaire est proportionnelle au contenu en humidité désiré (le degré de sécheresse du produit final) par conséquent le processus de séchage secondaire peut être assez long et lent.

Pendant le processus de séchage primaire, des températures plus élevées entraînent des cycles plus efficaces. Pour chaque degré supérieur, un produit permet 13% d'économie en termes d'efficacité² cependant la lyophilisation à des températures trop élevées peut entraîner de gros écarts dans l'apparence et la stabilité du produit. Cela peut en général être amélioré sur une base essai/erreur, cependant il s'agit d'un processus long avec de nombreuses répétitions.

Des instruments d'analyse peuvent être utilisés pour déterminer les températures critiques pour le produit pour qu'il puisse être lyophilisé sans risquer de l'endommager. La microscopie de lyophilisation est utilisée pour observer visuellement la rupture du produit pendant la lyophilisation alors que les analyses thermiques servent à observer tout changement dans la structure (changements exothermiques ou endothermiques) du produit comparé au matériau de référence. Une connaissance de ces températures donne une indication de la limite de la température de séchage primaire pour que le risque d'endommager le produit soit moindre.

Pendant le processus de sublimation, la température du produit diminue au fur et à mesure que la glace est éliminée, en-dessous de la température du point de consigne : cela est connu comme le refroidissement par sublimation. La quantité de refroidissement par sublimation peut être attribuée au fait que, pendant la lyophilisation, bien que la température des étagères puisse être supérieure à la température critique du produit, la température du produit reste toujours en-dessous de ce point.

La lyophilisation est aussi largement utilisée pour la conservation des aliments. Traditionnellement, la manière de conserver des jus de fruits est l'Ultra-haute température (UHT) pour stériliser le produit et éliminer toute contamination, cependant, le coût d'envoi des liquides dilués reste élevé à cause du fort contenu en eau du produit. Les coûts associés au transport et au stockage avant l'emballage final ont été réduits par le développement des méthodes de concentration bien qu'il existe toujours des risques pour le produit de dommage thermique et de contamination croisée.

En ce sens, une étude a été réalisée utilisant le smoothie 'Green Machine' pomme, ananas et kiwi de PepsiCo car il contient tous les ingrédients naturels ainsi que des suppléments de vitamine A et C.

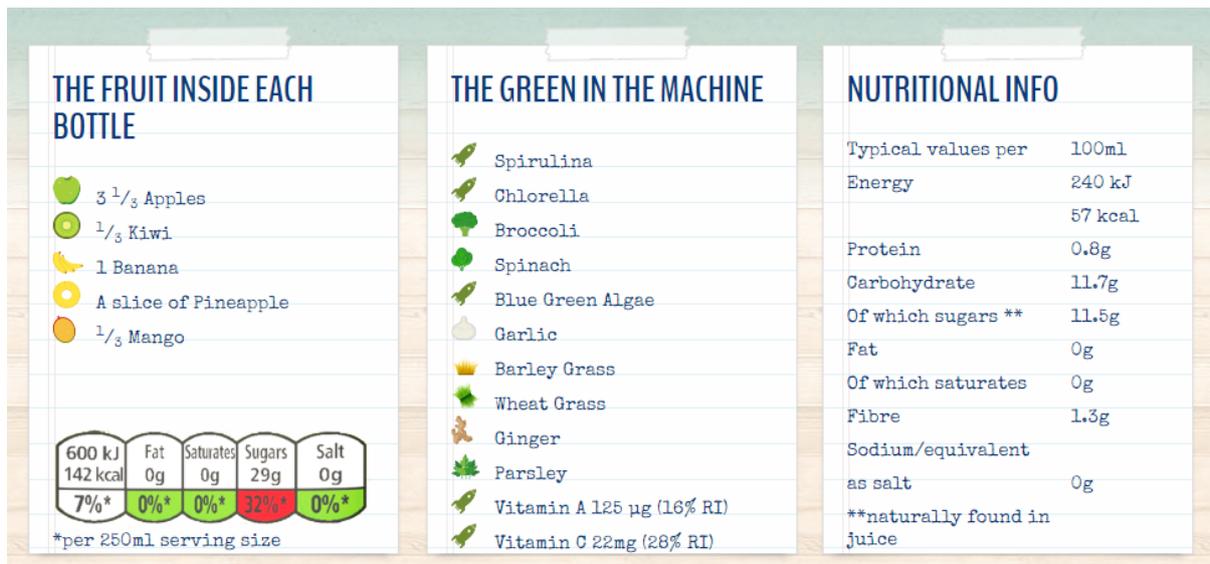


Figure 1: Valeurs nutritionnelles et ingrédients du smoothie 'Green Machine'.

Méthodes

Un échantillon de 2 µL de jus de fruits a été analysé à l'aide d'un microscope à lyophilisation Lyostat5 (Biopharma Process Systems Ltd, Winchester, 2016). L'échantillon a été chargé dans la chambre d'analyse selon la FIGURE X. La température a été réduite à -40°C à une vitesse de 20°C/minute. Une fois que la phase a atteint -40°C l'échantillon a été immobilisé 5 minutes pour équilibrer la température avant d'appliquer le vide. La pression a été réduite à 3 µBar et maintenue pour sécher le produit et, une fois qu'une bonne quantité de matériau sec a été formée, la température a été augmentée à une vitesse de 1°C/minute jusqu'à la rupture du matériau. Le début de la rupture s'est produit à la température critique (c'est-à-dire avant d'observer tout effondrement de la structure).

De plus, un échantillon de 6 mL a été analysé avec un analyseur d'impédance et thermodifférentiel Lyotherm3 (Biopharma Process Systems Ltd, Winchester, 2016). L'échantillon de 3 mL a été placé dans une cuvette à échantillon et une sonde Pt100 a été insérée dans l'échantillon, 3 mL supplémentaires ont été placés dans une deuxième cuvette et une sonde d'impédance a été placée dans l'échantillon. Enfin, 3 mL de matériau de référence (eau Analar) ont été placés dans une troisième cuvette et une sonde Pt100 a été insérée dans la référence. Les sondes ont été fixées en place par une fixation et l'ensemble de l'échantillon a été plongé dans 1,5 l d'azote liquide. Les échantillons et la référence ont été refroidis à -100°C, une fois en-dessous de ce point, de la chaleur a été appliquée (48W, 1A) jusqu'à ce que les échantillons et la référence soient chauffés à plus de 0°C. Les températures de l'échantillon et de la référence et l'impédance de l'échantillon ont été relevées lors du chauffage au-dessus de la fourchette de température.

Résultats

Le début de la température de rupture obtenue par le Lyostat pour le jus de fruits était $-37,0^{\circ}\text{C}$, cela est devenu plus apparent lorsque la température a augmenté ($-33,6^{\circ}\text{C}$) avant la rupture totale du produit ($-22,0^{\circ}\text{C}$).

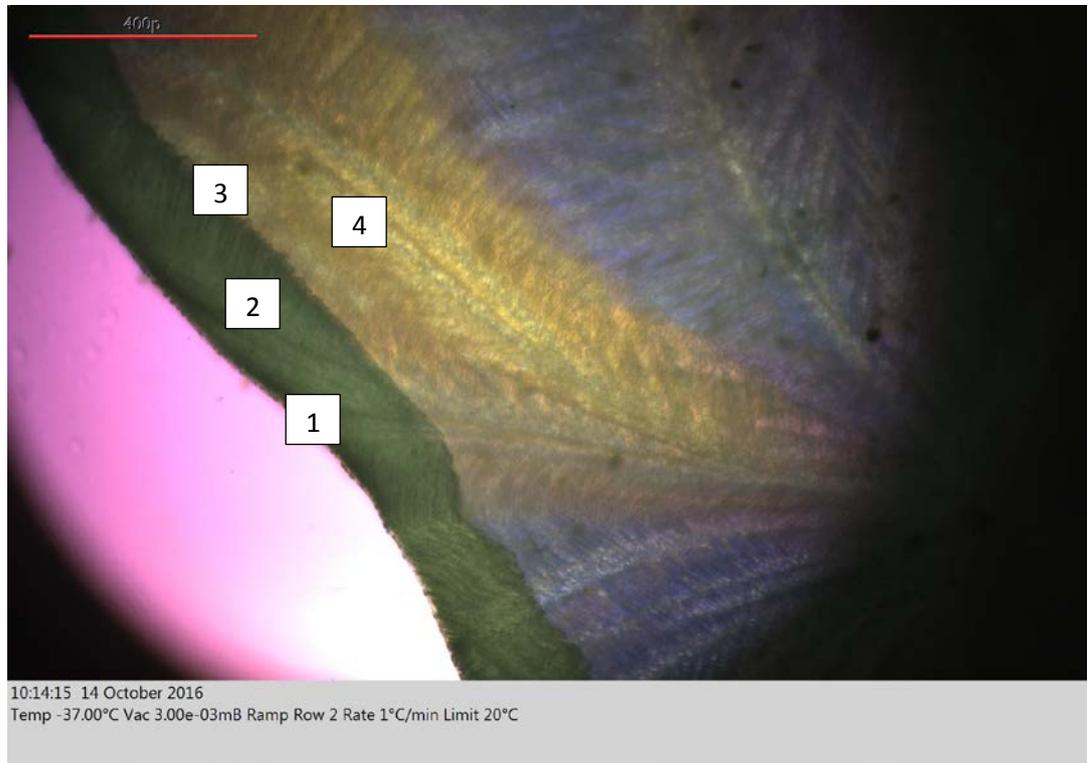


Figure 2: Début de la rupture du jus de fruit.

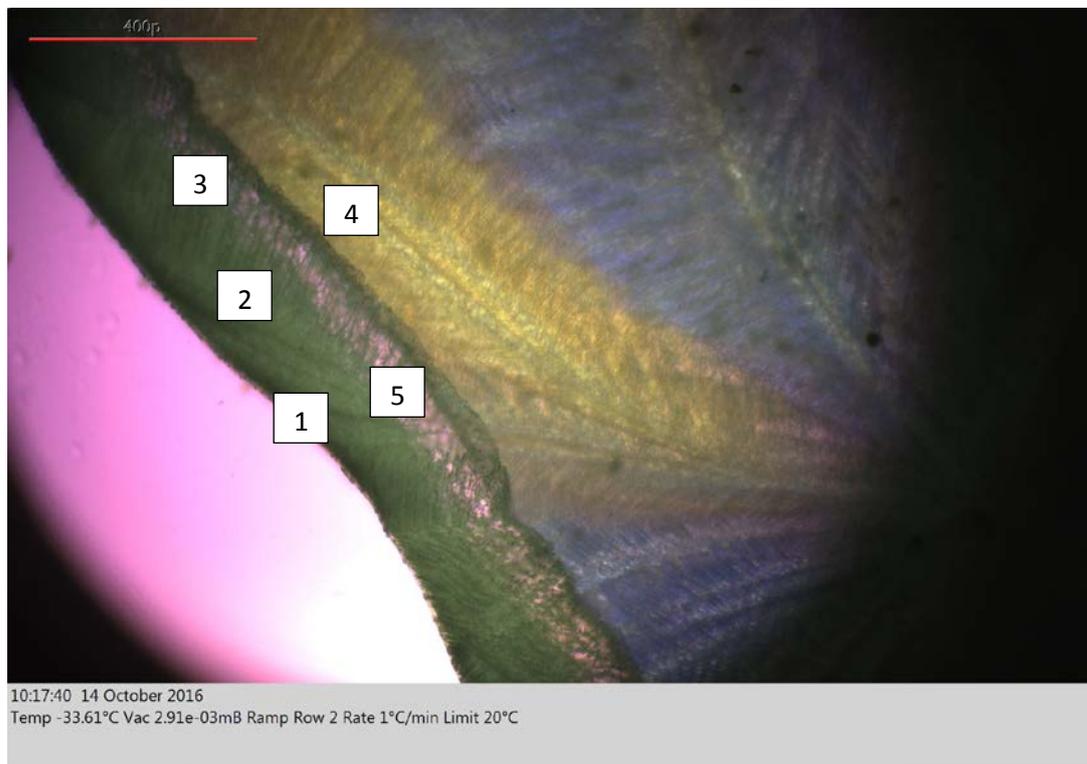


Figure 3: Rupture plus apparente du jus de fruit.

L'analyse Lyotherm a montré des transitions à la fois sur la DTA et les lignes d'impédance qui ont été résumées dans le tableau ci-dessous.

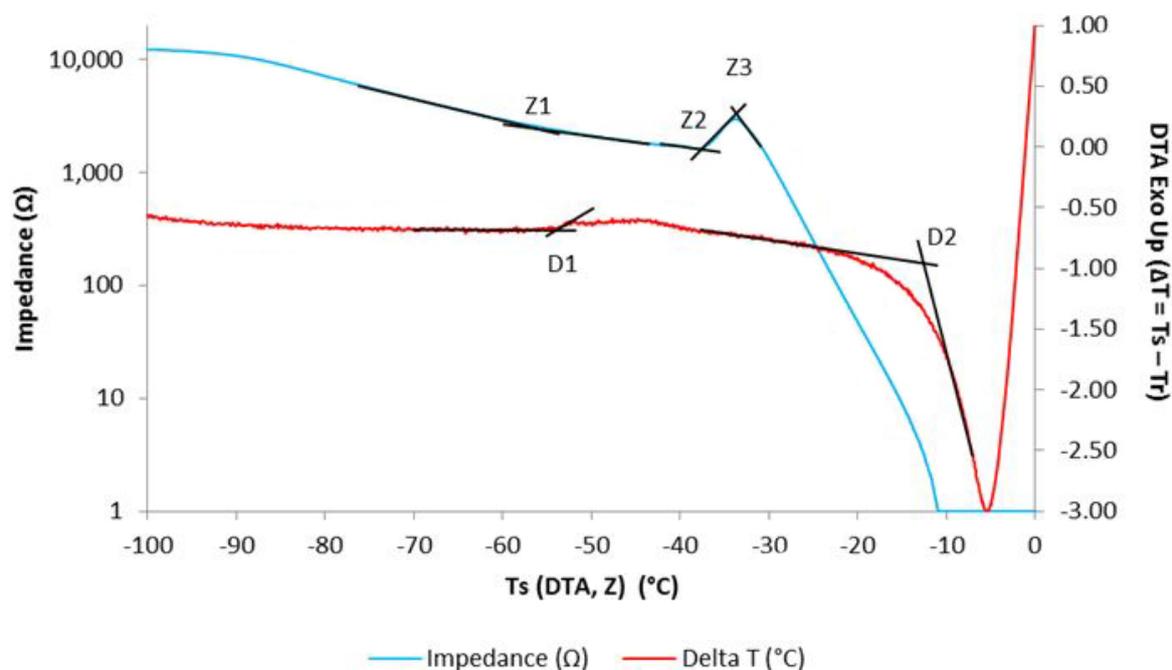


Figure 4: Résultat graphique de l'analyse Lyotherm3 du jus de fruit.

Table 1: Lyotherm3 Results

Analysis	Event	Temperature	Description
Impedance	Z1	-56.2	Decrease in the downward of the gradient of the Impedance line indicating stabilisation of the material.
	Z2 to Z3	-37.6 to -34.1	Increase in impedance indicative of a stabilisation within the frozen material.
DTA	D1	-54.5	Onset of Crystallisation of one or more components within the formulation.
	D2	-13.8	Onset of significant endotherm indicating bulk solvent melt of the sample

Discussion

Entre $-37,6^{\circ}\text{C}$ et $34,1^{\circ}\text{C}$ une augmentation de l'impédance est observée, suggérant qu'une stabilisation ou une réorganisation de la structure congelée se produit à ce point. Cet événement est associé à un événement exothermique étendu présenté dans la DTA entre $-54,5^{\circ}\text{C}$ et $-37,2^{\circ}\text{C}$, qui indique aussi une augmentation dans l'ordre au sein de la structure congelée. Cet événement pourrait être associé à la cristallisation d'un des composants amorphes de la formulation. Une diminution considérable de l'impédance est observée, commençant à $34,1^{\circ}\text{C}$, signifiant le début du ralentissement substantiel du matériau et l'augmentation de la mobilité moléculaire dans la structure congelée. L'impédance continue ensuite de tomber rapidement jusqu'à $-11,1^{\circ}\text{C}$ où l'impédance minimum est atteinte. Ceci est associé à un événement endothermique observé dans la DTA à $13,8^{\circ}\text{C}$, qui indique également un événement de ralentissement.

L'analyse FDM montre la progression du front de sublimation [3] au fur et à mesure qu'il se déplace du bord de l'échantillon [1] et continue à sécher [2] en direction du matériau non sec [4]. Ces données correspondent aux données obtenues dans l'analyse FDM, qui montre que le début de la rupture du matériau sec [4] commence à $-37,0^{\circ}\text{C}$ et progresse jusqu'à la rupture totale alors que la température augmente [5]. Une augmentation de l'impédance est aussi observée entre $-37,6^{\circ}\text{C}$ et $-34,1^{\circ}\text{C}$, ce qui est probablement la conséquence du mélange complexe des molécules organiques présentes dans la formulation. Le grand pic endothermique observé à $13,8^{\circ}\text{C}$ est associé à la fusion de la glace présente, et il est communément appelé 'endotherme de fusion de la glace'.

Conclusions

Les résultats de l'analyse DTA et d'impédance sur le Lyotherm, ont à la fois corroboré les observations de l'analyse Lyostat et ils ont fourni une image plus complète du comportement du matériau congelé. L'expérience suggère que les produits qui présentent une 'zone de rupture', affichent significativement des preuves de rupture lorsque le matériau a été lyophilisé avec des températures de produit maintenues dans la zone de rupture. Cependant, pour certains produits, une structure suffisante est maintenue pour produire un gâteau séché esthétiquement acceptable.

Afin d'obtenir un maintien de structure complet, la température du produit devrait idéalement être maintenue en-dessous de sa limite de zone de rupture inférieure respective, pendant le séchage primaire, afin d'éviter la rupture du produit.

Pour une qualité et une sécurité du produit supplémentaire, il est recommandé, conformément à la pratique courante, que les cycles de lyophilisation soient développés pour le produit qui comprend une « marge de sécurité » d'entre 2°C et 7°C pour ce qui est de la température du produit, afin de permettre de légères variations pouvant être subies pendant l'extrapolation, le transfert de technologie et l'utilisation de différents lyophilisateurs.

Ainsi, selon la pratique commune actuelle, il est recommandé que les formulations soient congelées en-dessous des températures résumées (température du produit actuelle) et maintenues en-dessous de ces températures jusqu'à la fin du processus de séchage primaire.

Si une solution est traitée avec une température de produit maintenue dans la fourchette de la zone de rupture pendant le séchage primaire, l'activité du produit final devra être analysée même si le produit est esthétiquement acceptable.

References

- 1) M. Willard, Potato processing: Past, present and future, American Potato Journal May 1993, Volume 70, Issue 5, 405–418.
- 2) M. J. Pikal. Freeze-drying of proteins. Part I: process design, BioPharm 3:18–28 (1990).