

Ecole Nationale Polytechnique



Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des Biotechnologies et Génie des Procédés

THESE

Présentée à l'Ecole Nationale Polytechnique pour l'obtention du diplôme de

Doctorat d'Etat

Spécialité : Génie de l'Environnement

SEPARATION ET CONCENTRATION DES ACIDES AMINES PAR TECHNIQUES MEMBRANAIRES

Par
Hocine GRIB

Soutenue le 12 septembre 2002 devant le jury composé de :

M. R. KERBACHI	Professeur – ENP	Président
M. N.MAMERI	Professeur – ENP	Directeur de Thèse
M ^{lle} A. BENMAILI	Professeur – USTHB	Examinatrice
M ^{me} D.HARIK	Maître de conférences – ENP	Examinatrice
M. M. KERKAR	Professeur – U.Bejaia	Examinateur
M. O. AHMED ZAID	Maître de conférence – ENP	Invité

REMERCIEMENTS

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire des Biotechnologies et Génie des Procédés de l'Ecole Nationale Polytechnique – Alger et au Laboratoire des Matériaux et des Procédés Membranaires (LMPM) UMR 9987 du Centre National de la Recherche Scientifique CNRS de Montpellier.

J'ai le plaisir d'exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur N. MAMERI, Professeur à l'ENP, pour la confiance qu'il m'a accordé et de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être mon directeur de thèse. Que sa patience remarquable, sa disponibilité constante puissent être rappelées ici. L'intérêt de mes travaux et ses conseils précieux ont largement contribué à la réalisation de ma thèse.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur C. GAVACH, Directeur de recherche au CNRS pour toute la confiance qu'il m'a porté en m'acceptant dans son laboratoire, pour toute l'aide et les orientations judicieuses qu'il m'a apporté et pour sa grande contribution à la réalisation de ce travail..

J'adresse mes remerciements à Mr R. KERBACHI, Professeur à l'ENP, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de thèse.

Je remercie Madame A. BENSMAILI, Professeur à l'USTHB, de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury.

Je remercie Madame D. HARIK, Maître de Conférence à l'ENP d'avoir accepté de faire partie du jury.

Je remercie Mr KERKAR, Professeur à l'Université de Bejaia, de participer à ce jury.

Mes remerciements s'adresse à Monsieur O. AHMED-ZAID, Maître de Conférence à l'ENP, pour sa participation à ce jury en tant qu'invité.

Qu'il me soit permis de remercier très sincèrement, Madame J. SANDEAUX et Monsieur feu R. SANDEAUX, Maîtres de Conférences à l'IUT de Montpellier, pour leurs aides si efficace et pour m'avoir fait profiter de leurs conseils éclairés et de leurs grandes compétences sans jamais se départir de leur bonne humeur et de leur gentillesse, je leur apporte ici le témoignage de mes sentiments reconnaissants.

Je ne saurais oublier Monsieur CHERIF, Maître de Conférence à l'USTHB, pour toute l'aide qu'il m'a apporté durant mes séjours en France.

Que ceux enfin qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail trouvent ici l'expression de toute ma gratitude, particulièrement H. LOUNICI, A. ABDI, M. DROUCHE.

Enfin je remercie toute ma famille et tous mes amis pour m'avoir soutenue et encouragée pendant toutes ces années.

INTRODUCTION GENERALE.....	01
Chapitre I : LES TECHNIQUES A MEMBRANES.....	04
I.1- Définition.....	05
I.2- Historique.....	06
I.3- L'Electrodialyse	06
I.3.1- Principe de l'électrodialyse	07
I.3.2- Les membranes d'électrodialyse.....	08
I.3.3- Les membranes bipolaires.....	12
I.3.4- Propriétés essentielles des MEI.....	14
a- Capacité d'échange.....	15
b- Permselectivité.....	15
c- Résistance électrique.....	15
d- Résistance mécanique.....	15
e- Stabilité chimique	16
f- Résistance aux températures.....	16
g- Conductivité.....	16
h- Gonflement des membranes.....	17
i- Potentiel de Donnan et pouvoir d'exclusion d'une MEI	18
I.3.5- Généralités sur le transfert de masse.....	20
a- Equation générale sur le transfert de masse.....	20
b- Diffusion et autodiffusion.....	21
c- Le flux.....	22
I.3.6- Les limites de l'electrodialyse.....	22
a- Polarisation primaire.....	22
b- Polarisation secondaire.....	24
b.1- Emposonnement	24
b.2- Formation de dépôt	24
b.3- Colmatage	24
b.4- Formation d'un biofilm.....	24

I.3.7- Technologie de l'électrodialyse.....	24
a- Empilement des membranes d'électrodialyse.....	24
b- Electrodes.....	26
b.1- Electrodes métalliques.....	26
b.2- Electrodes en graphite.....	26
c- Réactions aux électrodes.....	26
c.1- R réactions anodiques.....	26
c.2- R réactions cathodiques.....	26
I.3.8- Différents procédés électromembranaires.....	27
I.3.9- Pilote de laboratoire à 4 compartiments (P4).....	29
I.3.10- Prétraitement d'un électrodialyseur.....	30
a- Du point de vue des matières en suspensions.....	30
b- Du point de vue des éléments entartrants (Ca, Mg).....	30
I.4- La Nanofiltration	31
I.4.1- Historique.....	31
I.4.2- Principe et équations régissant la nanofiltration.....	32
I.4.3- Membranes et technologies de la nanofiltration.....	33
I.5- Les Acides aminés	34
I.5.1- Généralités.....	34
I.5.2- Quelques domaines d'applications des acides aminés.....	35
I.5.3- Classification des acides aminés.....	35
I.5.4- Propriétés physico-chimiques des acides aminés.....	38
a- Propriétés acido-basiques.....	38
b- Propriétés spectrales.....	38
c- Solubilité et point de fusion.....	39
d- Réactions chimiques des acides aminés.....	39
I.5.5- Méthodes de séparation et de dosage des acides aminés.....	39
a- Electrophorese sur papier.....	40
b- Techniques chromatographiques.....	40
b.1- Chromatographie sur papier.....	40
b.2- Chromatographie sur couche mince.....	40
b.3- Chromatographie sur résine échangeuse d'ions.....	41
b.4- Chromatographie en phase liquide à haute performance.....	41
c- Séparation des acides aminés par électrodialyse.....	41
I.5.6- Méthodes de production des acides aminés.....	42
a- Méthode par fermentation.....	42
b- Méthode enzymatique.....	42
c- Méthodes chimiques.....	43

I.5.7- Extraction des acides aminés à partir d'hydrolysats de protéines	43
a- Bref historique.....	43
b- Extraction par hydrolyse acide.....	44
b.1- Par l'acide chlorhydrique.....	44
b.2- Par l'acide sulfurique.....	45
c- Extraction par hydrolyse alcaline.....	45
d- Extraction par hydrolyse enzymatique.....	45
I.6- Le sang d'abattoir.....	46
Chapitre II: PARTIE EXPERIMENTALE.....	47
II.1- Concentration et séparation des acides aminés d'hydrolysats de sang d'abattoirs par ED.....	48
II.1.1- Electrodialyse équipée de membranes monopolaire.....	48
a- Electrodialyseur micropilote de laboratoire.....	48
b- Electrodialyseur à deux compartiments «P1».....	50
c- Electrodialyseur à quatre compartiments «P4».....	50
II.1.2- Electrodialyse équipée de membranes bipolaires.....	50
II.1.3- Membranes et acides aminés utilisés.....	52
II.1.4- Méthode.....	52
II.1.5- Techniques d'analyses.....	53
II.1.6- Extraction des acides aminés.....	53
II.2- La Nanofiltration.....	54
II.2.1- Matériel et Méthodes.....	54
a- Appareillage expérimental.....	54
b- Mode experimental.....	56
Chapitre III : RESULTATS.....	57
III.1-Concentration et séparation des acides aminés par ED équipés de membranes monopolaires.....	58
III.1.1- Déminéralisation des hydrolysats.....	58
III.1.2- Extraction des acides aminés par groupes de familles.....	62
III.1.3- Séparation des acides aminés basiques.....	63
III.1.4- Séparation des acides aminés neutres.....	64

III.2- Utilisation des membranes bipolaires en vue de la séparation des acides aminés neutres.....	68
III.2.1- Variation du pH dans les compartiments alimentation et récupération	69
III.2.2- Rendement d'extraction.....	74
III.2.3- Rendement faradique.....	77
III.2.4- Fuite de l'acide aminé à travers la membrane bipolaire.....	78
III.3- Application de l'électrodialyse au dessalement de solutions industrielles de phénylalanine	81
III.3.1- Concentration d'acides aminés produits par synthèse organique.....	81
III.4- Rétention des acides aminés avec la membrane de nanofiltration alumine γ	86
III.4.1- Influence des conditions expérimentales sur le régime permanent de la nanofiltration	86
III.4.2- Taux de rejet observé lors de la nanofiltration des acides aminés.....	93
IV- CONCLUSION.....	97
V- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	100
VI- ANNEXE.....	110

- Figure n°1** : *Application des techniques membranaires en tant que techniques séparatives dans l'agroalimentaire et la pharmacie.*
- Figure n°2** : *Principe de l'Electrodialyse*
- Figure n°3** : *Fonctionnement d'une membrane Cationique*
- Figure n°4** : *Les différents types de Membranes Echangeuses d'Ions.*
- Figure n°5** : *Vue éclatée et fonctionnement d'une membrane bipolaire.*
- Figure n°6** : *Propriétés des membranes échangeuses d'ions.*
- Figure n°7** : *Paramètres influençant la conductivité électrique*
- Figure n°8** : *Profils de concentration d'un ion marqué dans les couches non agités et dans la membrane.*
- Figure n°9** : *Courbe intensité/Potentiel. Illustration du phénomène de polarisation primaire.*
- Figure n°10** : *Vue éclatée du module de l'électrodialyseur type Aqualiser.*
- Figure n°11** : *Empilement des membranes d'électrodialyse à 4 canaux.*
- Figure n°12** : *Schéma de fractionnement du sang*
- Figure n°13** : *Electrodialyseur micropilote de laboratoire*
- Figure n°14** : *Plan des éléments du module d'électrodialyse de laboratoire.*
- Figure n°15** : *Principe de l'électrodialyse à membrane bipolaire*
- Figure n°16** : *Dispositif de l'unité de nanofiltration.*
- Figure n°17** : *Evolution des chlorures et de la tension durant la déminéralisation de l'hydrolysate H₃.*
- Figure n°18** : *Evolution de l'arginine, serine et acide aspartique du compartiment diluât en fonction de la concentration en chlorure*
- Figure n°19** : *Evolution des pertes en arginine, serine et acide aspartique dans le compartiment diluât en fonction de la concentration en chlorure durant la déminéralisation.*

- Figure n°20** : Evolution du nombre de mole de lysine, arginine, acide glutamique et acide aspartique en fonction de la quantité de courant durant la déminéralisation.
- Figure n°21** : Evolution du pH dans les compartiments D_1 , C_1 et C_2 durant la déminéralisation
- Figure n°22** : Evolution du pH dans le compartiment alimentation pour une densité de courant de 100 A/m^2
- Figure n°23** : Evolution du pH d'alimentation en fonction du temps pour différentes densités de courant et à pH initial de 8,5.
- Figure n°24** : Evolution du pH d'alimentation en fonction du temps pour
- Figure n°25** : Evolution du pH d'alimentation en fonction du temps pour différentes densités de courant et à pH initial de 10,5.
- Figure n°26** : Evolution du pH de réception en fonction du temps pour différentes densités de courant et à pH initial pour l'alimentation de 9,5.
- Figure n°27** : Evolution du rendement d'extraction de la serine en fonction du nombre total de charges électriques pour différentes densités de courant.
- Figure n°28** : Evolution du rendement d'extraction de l'alanine en fonction du nombre total de charges électriques pour différentes densités de courant.
- Figure n°29** : Influence du pH sur l'évolution du rendement faradique en fonction du temps.
- Figure n°30** : Influence de la densité de courant sur l'évolution du rendement faradique en fonction du temps
- Figure n°31** : Evolution de la fuite de la glycine à travers la membrane bipolaire pour différentes densités de courant.
- Figure n°32** : Pourcentage de perte de la Phénylalanine et des ions Na^+ , SO_4^{2-} et NH_4^+ utilisant une membrane non conditionnée.
- Figure n°33** : Pourcentage de perte de la Phénylalanine et des ions Na^+ , SO_4^{2-} et NH_4^+ utilisant une membrane pré-conditionnée.
- Figure n°34** : Pourcentage de perte en Phénylalanine et des ions Na^+ , SO_4^{2-} et NH_4^+ après traitement à la BSA

- Figure n° 35 :** *Evolution du flux de permeat de la L-arginine HCl par nanofiltration*
- Figure n° 36 :** *Evolution du flux de permeat de la L-phenylalanine par nanofiltration*
- Figure n° 37 :** *Evolution du flux de permeat de la L-alanine par nanofiltration*
- Figure n° 38 :** *Evolution du flux du permeat du L-Glutamique Na par nanofiltration*
- Figure n° 39 :** *Evolution du flux du permeat du mélange par nanofiltration*
- Figure n°40 :** *Evolution du coefficient de rétention en fonction du temps pour chaque acide aminé seul.*
- Figure n°41 :** *Evolution du coefficient de rétention en fonction du temps pour le mélange d'acides aminés.*
- Figure n°42 :** *Evolution du coefficient de rétention sur le mélange d'acide aminé*
- Figure n°43 :** *Evolution du coefficient de rétention en fonction de la pression transmembranaire du mélange d'acide aminé*

- Tableau n°1 :** *Principaux groupements fonctionnels fixés dans les MEI.*
- Tableau n°2 :** *Principales applications des MEI.*
- Tableau n°3 :** *Classification des acides aminés.*
- Tableau n°4 :** *Caractéristiques des membranes échangeuses d'ions utilisées.*
- Tableau n°5 :** *Pertes subit par les types d'hydrolysats lors de la déminéralisation pour $C_{Cl^-}=0,2 M$.*
- Tableau n°6 :** *Pourcentage d'extraction des acides aminés dans les fractions F_1 et F_2 pour chaque type d'hydrolysât*
- Tableau n°7 :** *Enrichissement de l'arginine, la lysine et l'histidine dans les hydrolysats H_1 et H_2 pour différentes fractions obtenues par électrodialyse.*
- Tableau n°8 :** *Enrichissement de la serine, glycine et proline dans les hydrolysats H_1 et H_3 pour différentes fractions obtenues par électrodialyse.*
- Tableau n°9 :** *Caractéristiques principales des acides aminés utilisés.*
- Tableau n°10 :** *Fractions (%) des acides aminés sous formes anioniques pour les différents pH dans le compartiment alimentation.*
- Tableau n°11 :** *Rendement d'extraction (%) par électrodialyse pendant 6 h.*
- Tableau n°12 :** *Rendement d'extraction obtenu pour un courant de 10800C et des pH initiaux de 9,5 et 2.*
- Tableau n°13 :** *Caractéristiques des acides aminés.*
- Tableau n°14 :** *Caractéristiques des acides aminés utilisés*
- Tableau n°15 :** *Taux de rejet calculé R_s de chaque acide aminé.*

Symboles

$a_m(M^+)$: Activité du cation dans la membrane
$a_s(M^+)$: Activité du cation en solution
C_i	: Concentration de l'ion i
dC_i/dX	: Gradient de concentration.
ΔC	: Nombre de moles de la substance transportée.
\bar{C}_{A^+}	: Concentrations du cation A dans la membrane.
\bar{C}_{B^-}	: Concentrations de l'anion B dans la membrane.
D_i	: Coefficient de diffusion de l'espèce i
d	: Epaisseur (en cm)
F	: Nombre de Faraday = 96500 Coulombs
F	: Résistance de la particule opposée au mouvement
F	: Coefficient de friction
Φ_m	: Potentiels électriques dans la membrane
Φ_s	: Potentiels électriques dans la solution
Φ_m	: Potentiel de Donnan dans la membrane
Φ_s	: Potentiel de Donnan dans la solution
I	: Intensité en Ampère
i_{lim}	: Courant limite
J_i	: Exprime le nombre de moles qui traverse 1 unité de surface/unité de temps
k	: Conductivité spécifique (en $\Omega^{-1}.cm^{-1}$)
K	: Conductivité spécifique de la membrane (en $\Omega^{-1}.cm^{-1}$)
λ_m	: Conductivité d'une MEA contenant un électrolyte AB totalement dissocié
M^+	: Cation M
$\mu_m(M^+)$: Potentiels électrochimiques au sein de la membrane
$\mu_s(M^+)$: Potentiels électrochimiques dans la solution
$\mu_m^\circ(M^+)$: Potentiel chimique standard de l'ion M^+ au sein de la membrane

$\mu_s^\circ(M^+)$:	Potentiel chimique standard de l'ion M^+ en solution
n	:	Nombre de cellules
P	:	Masse de la membrane hydratée
P_s	:	Masse à sec.
U_i	:	Mobilité de la molécule i
\bar{U}_{A^+}	:	Mobilité du cation A^+
\bar{U}_{B^-}	:	Mobilité de l'anion B^-
V_i	:	Vitesse de la particule i
R	:	Constante des gaz parfaits
\bar{R}	:	Résistance électrique spécifique de la membrane (en Ohms)
s	:	Surface (en cm^2)
S	:	Surface de la membrane.
T	:	Température absolue
t_m	:	Nombres de transport du contre ion dans la membrane
t_s	:	Nombres de transport du contre ion dans la solution.
T_w	:	Taux de gonflement
Δt	:	Temps nécessaire pour le transport.
V	:	Volume de la solution
z^+	:	Charge du cation

L'environnement est devenu un thème capital, car l'ensemble des constituants naturels de la vie de l'être humain est aujourd'hui gravement menacé à cause des rejets dans la nature d'effluents fortement chargés et cela se traduit par un grand problème de pollution.

Des recherches dans ce domaine ne cessent de se poursuivre pour trouver des méthodes efficaces permettant de réduire dans de larges proportions les effets néfastes des rejets polluants en les valorisant en produits à valeur ajoutée.

Un des problèmes le plus traité est la valorisation du sang des rejets d'abattoirs. Les quantités rejetées chaque année en Algérie ne sont pas connues faute de statistiques crédibles mais au vue du nombre d'animaux abattus chaque jour, ces quantités doivent être très importantes.

La récupération du sang s'impose du fait de la richesse du sang en protéines (environ 150 g de protéines par litre du sang) et de son grand pouvoir polluant car le sang possède une demande biologique en oxygène (D.B.O) de l'ordre de 167000 mg/l, c'est à dire un équivalent de pollution de deux à trois personnes par jour.

La production et la concentration des acides aminés par voies industrielles sont en plein essor dans les pays développés au vu de leurs importances aussi bien dans le domaine pharmaceutique que dans celui de l'agroalimentaire.

L'Algérie importe des quantités très importantes d'acides aminés essentiels pour l'enrichissement des ratios alimentaires du bétail. De même, l'industrie pharmaceutique est une grande consommatrice d'acides aminés.

De nouvelles voies ont été explorées ces dernières années par le biais de l'utilisation de techniques membranaires telle l'électrodialyse en vue de la production d'acides aminés. Cette technique suscite un grand intérêt du fait de sa simplicité pour la construction des installations à capacité énergétique et mécanique faibles ainsi qu'un grand rendement d'extraction.

Les enjeux sont à la fois économique et écologique car ces procédés permettent d'envisager une très forte réduction de la charge organique des rejets d'abattoirs.

Il apparaît ainsi que la maîtrise de la production des acides aminés par des technologies nouvelles sera d'un atout majeur pour notre pays.

Dans cette optique, nous avons opté pour les techniques électromembranaires pour l'extraction et la concentration des acides aminés. Nous avons effectué des opérations de séparation-concentration à partir de deux produits :

- un produit biologique: hydrolysât du sang ovin comparé à d'autres rejets tels l'hydrolysât obtenu à partir des rejets de poulet et des cheveux humains.
- un produit industriel de la synthèse organique (Phénylalanine).

Des essais à l'échelle laboratoire et pilote ont été effectués pour prouver la faisabilité de ce procédé. Différents types de membranes d'électrodialyses ont été utilisés et citons particulièrement les nouvelles membranes bipolaires. Nous avons effectué une optimisation des différents paramètres opératoires lors de l'utilisation des techniques électromembranaires à savoir l'électrodialyse à deux compartiments (P1), l'électrodialyse à quatre compartiments (P4), l'électrodialyse équipée avec des membranes bipolaires.

De même, il a été fait appel à une technique à membrane plus récente, à savoir : la nanofiltration pour évaluer les performances de cette dernière en vue de séparer et de concentrer les acides aminés.

Ces procédés nouveaux ont pu être ainsi développés et ont permis l'obtention de résultats plus performants par rapport aux techniques classiques.

I. 1- DEFINITION

La membrane est l'une des clés de plusieurs techniques de séparation, c'est le matériau au travers duquel a lieu le transport sélectif (Aptel, 1986). Rigides ou déformables, les membranes sont constituées de matériaux organiques ou inorganiques, naturels ou artificiels avec ou sans pores (Audinos *et al.*, 1986).

Les membranes artificielles sont obtenues soit par modification de substances naturelles plus ou moins proches du produit final, soit par synthèse à partir de composés connus. Certaines peuvent être caractérisées par la présence de sites chargés ou de groupements fixés et sont appelés membranes échangeuses d'ions (MEI). L'intérêt grandissant porté à des membranes artificielles tend à modéliser les membranes biologiques. Il existe une infinie variété de membranes et ceci est en accord avec la dispersion des domaines d'utilisation de ces matériaux (Brun, 1989).

Les procédés à membrane ont été utilisés comme techniques séparatives et cela dans différents domaines tels le traitement de l'air, les biotechnologies, le génie de l'environnement et d'autres industries (Storck *et al.*, 1993). Nous présentons sur la figure n°1, à titre d'exemple, l'application des techniques membranaires en tant que techniques séparatives dans l'agroalimentaire et la pharmacie.

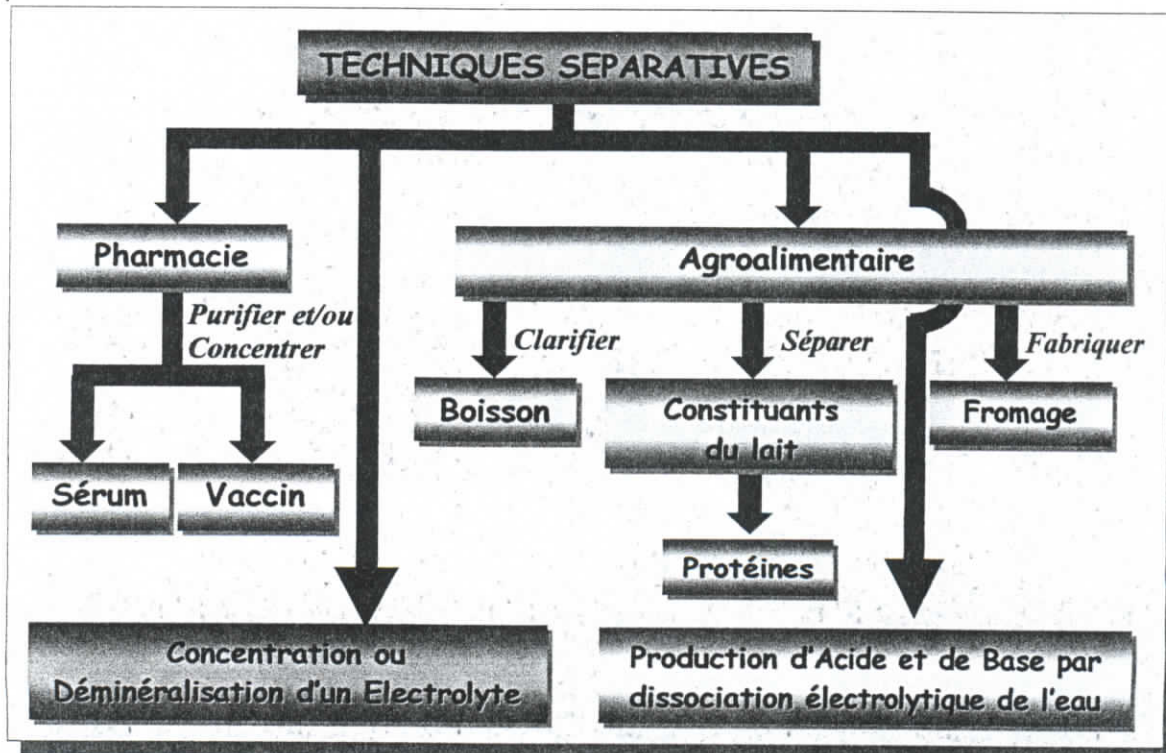


Figure n°1: Application des techniques membranaires en tant que techniques séparatives dans l'agroalimentaire et la pharmacie.

I.2- HISTORIQUE

Les diverses performances des membranes actuelles sont le résultat d'un passé chargé qui témoigne des hautes considérations, que de tout temps, les scientifiques leurs ont vouées. Alors que les propriétés des membranes naturelles sont utilisées depuis l'antiquité par l'homme, comme le mentionne Lucrèce (95-55 Avant. J.C.) dans le «De Natura Rerum» lorsqu'il cite à plusieurs reprises que l'eau s'épure et s'adoucit par filtration au travers du sol, les phénomènes qui en découlent ne sont analysés qu'à partir du XVII^{ème} siècle par P. La Hire (1640-1718). L'histoire des membranes s'honore de l'empreinte laissée par des grands noms d'hommes de science qui se succèdent, notamment: Graham (1805-1869), A. Fick (1829-1929), F. Raoult (1830-1901), J. Vant-Hoff, L. Pasteur, W. Nernst, F. Donnan (1870-1956), etc.

Le véritable démarrage des procédés à membranes est lié à la fabrication des membranes synthétiques en acétate de cellulose par Zsigmondy et Sartorius dans les années 1920–1930 (A. Storck *et al.*, 1993). Le point de départ du développement rapide des recherches et des applications peut être daté du milieu des années 1960 et lié à l'apparition de nouveaux matériaux composites et polymériques favorisant l'innovation de nouvelles membranes (Storck *et al.*, 1993).

I.3- L'ELECTRODIALYSE

L'électrodialyse est un procédé relativement ancien. Le premier brevet sur ce procédé date de 1940 ou Meyer a préparé une MEC par immersion d'un film de cellulose dans un bain de colorant acide et une MEA en traitant avec de l'iodure de méthyle une peau artificielle de saucisse elle-même commercialement préparée à partir de peau animale. (Wayne, 1994). Cependant, son développement date seulement d'une quinzaine d'années, date à laquelle sont apparues des membranes de bonne qualité.

L'électrodialyse est une technique électromembranaire séparative qui permet d'extraire des espèces ionisées minérales ou organiques contenues dans une solution (Lacey, 1972 ; Wilson, 1960 ; Mears, 1983). Elle met en œuvre les membranes échangeuses d'ions (M.E.I) et le champ électrique. Elle fut primitivement développée pour le dessalement des eaux saumâtres et la récupération du sel de mer. La découverte des membranes échangeuses d'ions et surtout l'élaboration de membranes ioniques homogènes, conductrices, peu perméables au solvant et fortement sélectives, a complètement renouvelé le procédé et a permis d'en élargir le domaine d'application (Mears, 1983). Elle a été

étendue à la déminéralisation de milieux très divers dans les domaines de l'industrie chimique, du traitement des eaux et de l'agroalimentaire.

Plus récemment, elle vient de trouver ses premières applications dans les biotechnologies :

- ▼ Déminéralisation de fluides contenant des biomolécules
- ▼ Extraction de molécules chargées obtenues par synthèse enzymatique ou par biosynthèse. Dans ce dernier cas, le procédé d'électrodialyse est couplé avec le fermenteur.

1.3.1- Principe de l'électrodialyse

L'électrodialyse est une technique qui a longuement mûri. Les progrès technologiques ont porté sur deux points essentiels: les membranes et le procédé.

Si l'on fait circuler une solution saline dans les compartiments anioniques et cationiques, le mouvement des ions, sous l'effet d'un champ électrique perpendiculaire aux membranes, provoque la concentration de ceux-ci dans les compartiments adjacents.

L'électrodialyse (Fig.2) fait appel au champ électrique et à deux types de membranes échangeuses d'ions à savoir:

- ▼ des membranes anioniques (perméable aux anions)
- ▼ des membranes cationiques (perméables aux cations)

Des membranes alternativement anioniques et cationiques délimitent des compartiments de dilution «D» et de concentration «C». Sous l'effet d'un champ électrique, les cations migrent vers la cathode et sortent des compartiments «D» en traversant une membrane cationique mais ne peuvent quitter les compartiments «C» car ils sont bloqués par une membrane anionique (M.E.A).

Simultanément, les anions migrent vers l'anode et sortent des compartiments «D» en traversant une membrane anionique mais ne peuvent quitter les compartiments «C» du fait de la présence d'une membrane cationique.

En conséquence, les compartiments «D» s'appauvrissent en sel, on les nomme compartiment de dessalement ou diluât et les compartiments «C» s'enrichissent en sel, appelés ainsi compartiment saumure ou concentrât.

Aux deux extrémités de l'appareil se trouvent les électrodes qui permettent de faire passer le courant électrique.

Seuls les compartiments en contact avec les électrodes sont contaminés par les produits d'électrolyse résultant du passage du courant. C'est la raison pour laquelle ces compartiments sont alimentés par un circuit de rinçage indépendant.

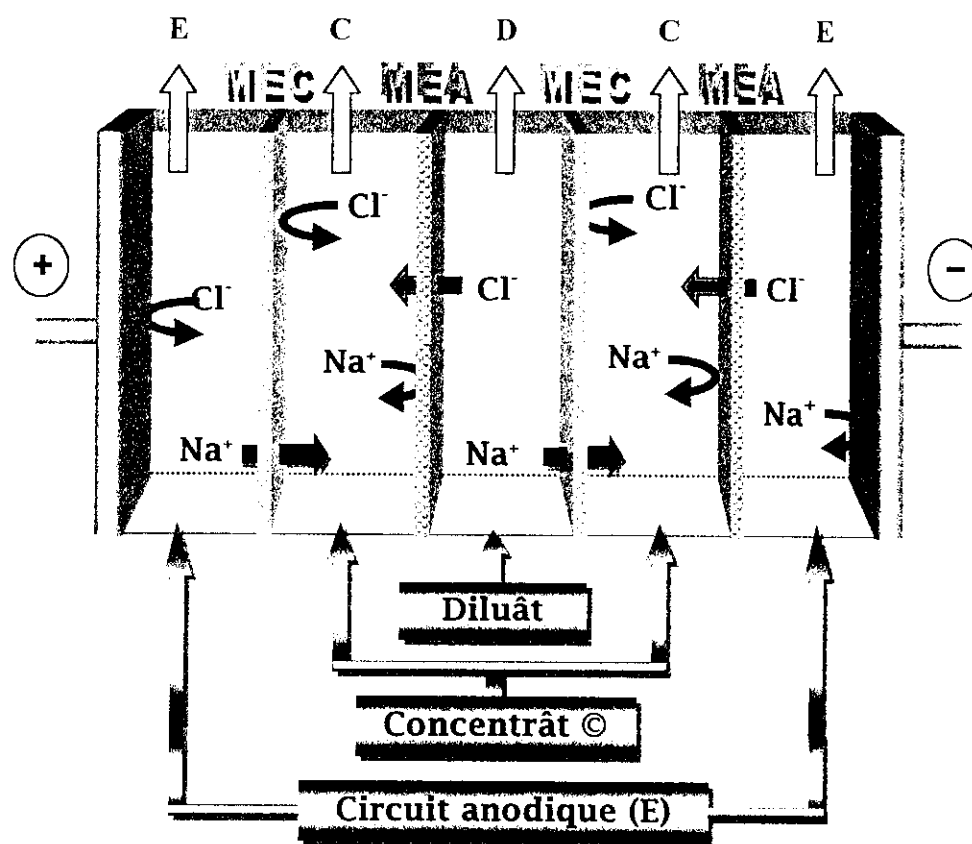


Figure n°2 : Principe de l'Electrodialyse

Il faut remarquer que les termes de «déméralisation» et de «concentration» ne s'appliquent qu'aux solutions ionisées, la concentration des autres substances que peut contenir le liquide n'étant pas modifiée par le procédé.

I.3.2- Les membranes d'électrodialyse

La meilleure terminologie scientifique les désigne sous le nom de membranes à exclusion ionique. Plus fréquemment, on utilise le terme de membranes permselectives ou membranes échangeuses d'ions "MEI".

Les membranes utilisées en électrodialyse sont des membranes échangeuses d'ions qui se présentent sous la forme de feuilles dont l'épaisseur est comprise entre 0,1 et 0,8 mm.

Ce sont des films polymères portant des groupes fonctionnels ioniques. Le polymère de base est généralement hydrophobe, mais la présence de groupements ioniques entraîne la pénétration d'eau dans la membrane (Raucq, 1992).

Une cohésion de l'échangeur est obtenue en reliant les chaînes macromoléculaires par des pontages chimiques: c'est la réticulation.

Quand ces membranes sont immergées dans une solution d'électrolyte et sont soumises à un champ électrique, elles laissent passer préférentiellement les anions ou les cations selon la charge des groupements ioniques fixés sur la matrice polymérisée.

Dans les membranes échangeuses d'anions, MEA, le tissu polymérisé porte des charges positives, formant ainsi un polycation insoluble. La dissociation d'un électrolyte MX au sein de la membrane produira des cations M^+ , appelés co-ions, et des anions X^- , appelés contre ions.

A l'inverse, une membrane échangeuse de cations, MEC, comporte des sites chargés négativement fixés sur sa matrice et qui forment ici un polyanion. La dissociation d'un électrolyte MX au sein de la membrane produira des anions X^- , appelés co-ions, et des cations M^+ , appelés contre ions (Fig. 3).

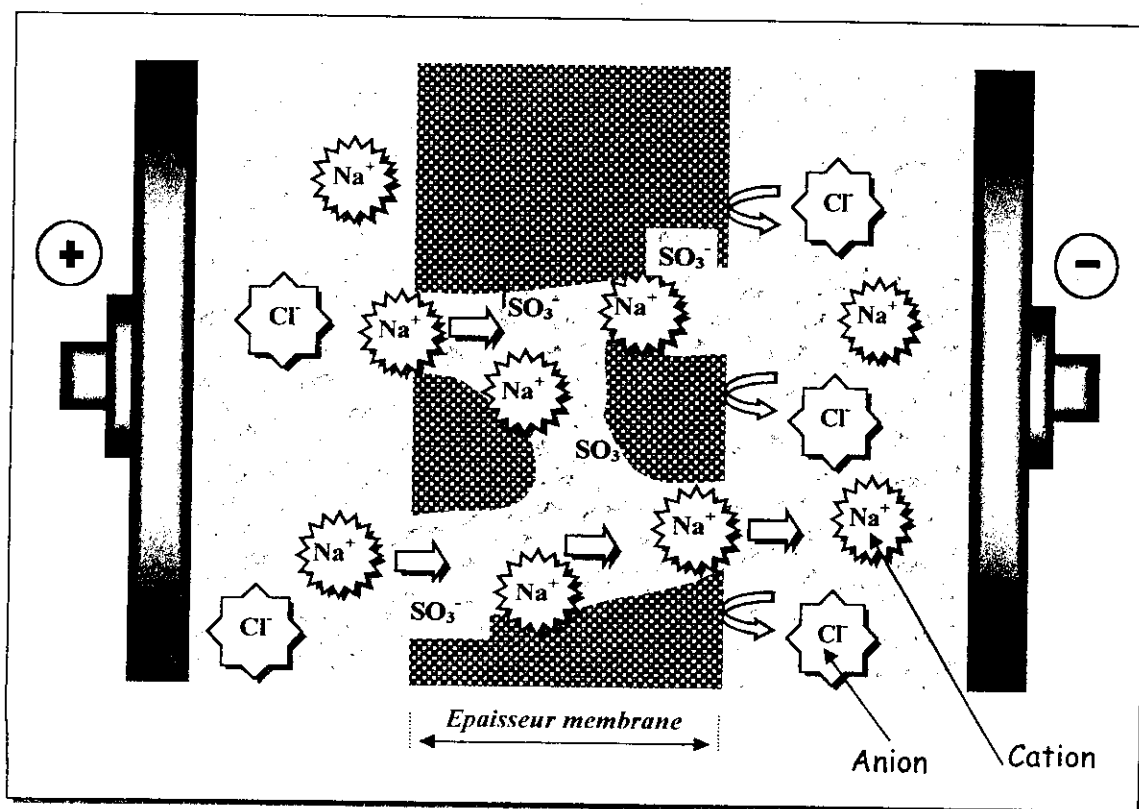


Figure n°3 : Fonctionnement d'une membrane Cationique

Suivant la nature des groupes fonctionnels fixés, On distingue :

- ▼ Des membranes perméables uniquement aux anions appelés membranes échangeuses d'anions (MEA) et dont le groupement fonctionnel est un groupement ammonium quaternaire ($-NR_3^+$), par exemple, le copolymère styrène-divinylbenzène ammonium quaternaire.
- ▼ Des membranes perméables seulement aux cations appelés membranes échangeuses de cations (MEC) et dont le groupement fonctionnel est en général un groupement acide sulfonique ($-SO_3^-$), par exemple, le copolymère styrène-divinylbenzène sulfoné,

Les principaux groupements ioniques fixés dans les MEI sont répertoriés dans le tableau 1.

Tableau .1 : Principaux groupements fonctionnels fixés dans les MEI.

Type de Membrane	Groupement		Caractère de la membrane
MEC	Sulfonique	$(-SO_3^-)$	<i>Acide fort</i>
	Phosphorique	$(-PO_3^{=})$	<i>Acide faible</i>
	Carboxylique	$(-COO^-)$	
	Arsénique	$(-AsO_3^{=})$	
MEA	Alkyl ammonium	$(-NR_3^+)$	<i>Base forte</i>
		$(-NHR_2^+)$	<i>Base faible</i>
		$(-NH_2R^+)$	
	Vinylpyridinium	$(-C_5H_4NH)$	
	Alkyl phosphonium	$(-PR_3^+)$	
	Alkyl sulfonium	$(-SR_2^+)$	

Selon leur nature acide ou basique, les groupements fixés confèrent à la membrane un caractère acide ou basique, fort ou faible.

Le greffage de sites échangeurs de cations ou d'anions ou encore des deux à la fois, conduit à des MEI de différents types (Fig. 4) que l'on distingue de la façon suivante :

- Membranes homopolaires, Membranes Echangeuses d'Anions (MEA) et membranes Echangeuses de Cations (MEC)
- Membranes bipolaires : composés d'une couche échangeuse de cations et d'une échangeuse d'anions avec une interface neutre entre les deux.
- Membranes mosaïques : matériaux hétérogènes comprenant des sites positifs et négatifs disposés les uns à côté des autres et perpendiculaires au plan de la membrane.
- Membranes amphotères : MEI comprenant à la fois des sites positifs et des sites négatifs entremêlés à l'échelle moléculaire.

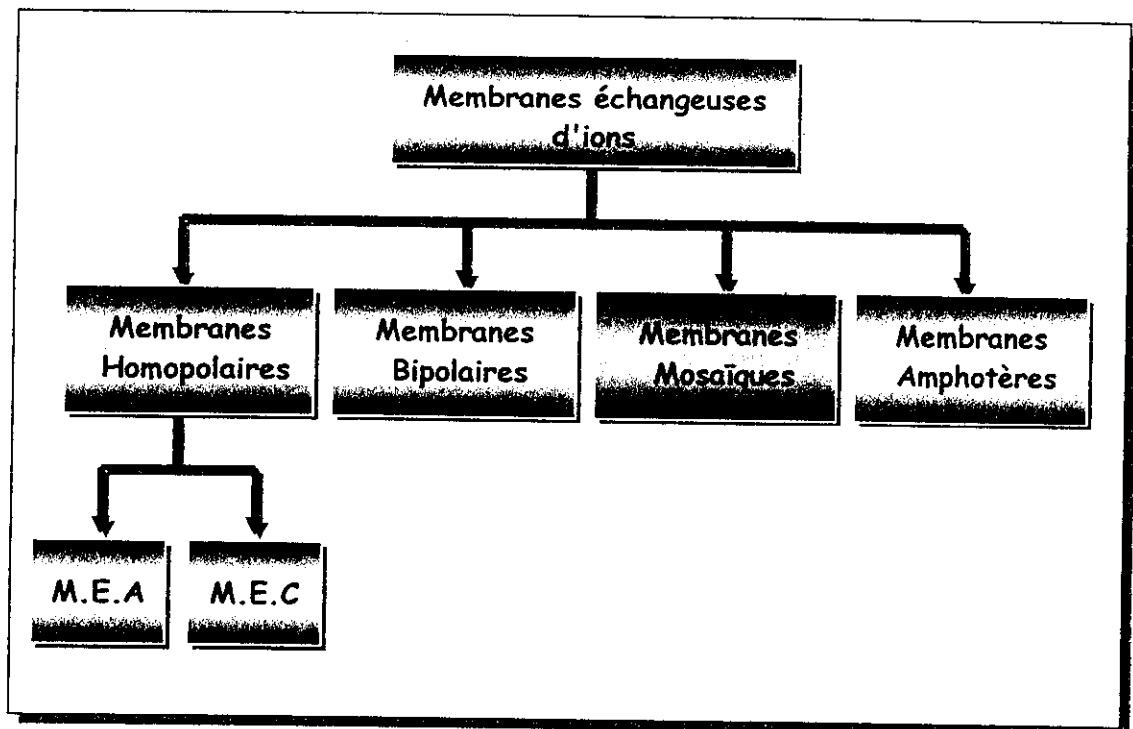


Figure n°4: Les différents types de Membranes Echangeuses d'Ions.

Du point de vue fabrication, on distingue deux types de membranes (Bonnin, 1988 ; Audinos, 1983):

• **Les Membranes Hétérogènes** qui sont constituées par des résines échangeuses d'ions enrobés d'un liant polymère (chlorure de polyvinyle (PVC), polyéthylène, polystyrène, etc.) inerte (Guillet *et al.*, 1955). Les résines utilisées sont du type Acide fort et Base forte. Dans la plupart des cas, ce sont des copolymères styrène-divinylbenzène sur lesquels on a fixé des groupements fonctionnels (SO_3^- ou NR_3^+).

Les Membranes Homogènes qui sont obtenues par greffage d'un groupement fonctionnel sur un support inerte (chlorure de polyvinyle, polyéthylène, téflon). Ce greffage peut être soit chimique, soit radiochimique (Kaufman, 1974).

Que les membranes soient homogènes ou hétérogènes, elles doivent pour être utilisées avec succès en électrodialyse, posséder les qualités principales suivantes :

- ✓ *très grande sélectivité ionique,*
- ✓ *faible résistance électrique*
- ✓ *bonne résistance mécanique.*

I.3.3- Les membranes bipolaires

Sous l'effet d'un champ électrique, une membrane bipolaire (MBP) permet de dissocier des molécules d'eau, générant ainsi des protons et des ions hydroxyles. La membrane bipolaire est constituée de deux couches de matériaux échangeurs d'ions de polarité différente. Elle peut être assimilée à l'assemblage de deux membranes, l'une cationique et l'autre anionique (Fig. 5).

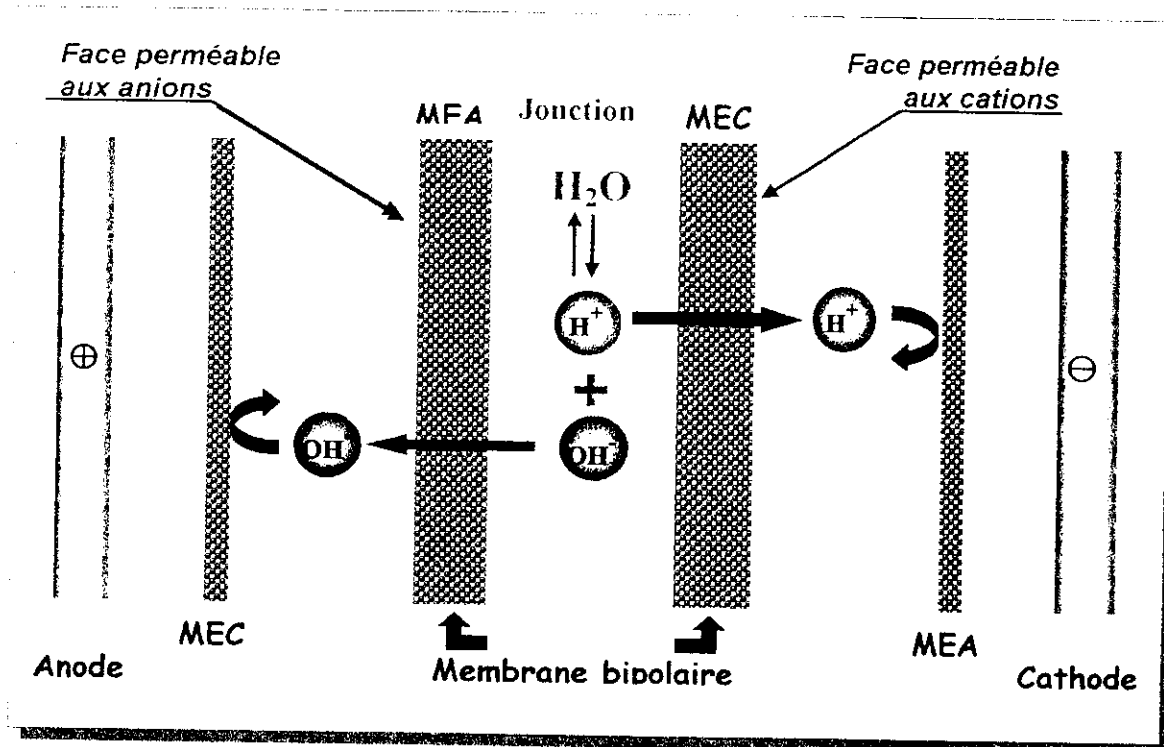


Figure n°5 : Vue éclatée et fonctionnement d'une membrane bipolaire.

L'électrodialyse utilisant les membranes bipolaires (MBP) est connue pour être un procédé économique pour le traitement d'eaux concentrées en sels de l'industrie chimique (Mani *et al.*, 1988 ; Mani, 1991 ; Strathmann, 1993). Il est capable de transformer directement un sel sous ses formes acides et basiques. Cette technique, basée sur la possibilité de la membrane de produire des ions H^+ et OH^- est utilisée pour former des acides organiques tels que acétique (Mani, 1991), propionique (Boyaval, 1993), lactique (Czytko, 1987) et salicylique (Alvarez, 1997), produits initialement sous leur forme sel par fermentation ou synthèse chimique conventionnelle. Pendant cette étude, l'électrodialyse à membrane bipolaire a été utilisée pour l'extraction et la concentration d'acides aminés non chargés initialement. L'utilisation de la membrane bipolaire transforme les charges électriques des acides aminés qui se retrouvent sous formes anioniques et, par conséquent, peuvent être extraits à travers une membrane échangeuse d'anions sous un champ électrique. Le but de ce travail est de proposer une alternative dans l'ajustement du pH par addition d'acide ou de base.

I.3.4- Propriétés essentielles des MEI

Quelque soit le type de MEI considéré, elles doivent répondre aux propriétés suivantes (Strathmann, 1981 ; Cohen, 1988):

- ▼ Capacité d'échange élevée
- ▼ Grande permselectivité
- ▼ Faible résistance électrique
- ▼ Bonne résistance mécanique
- ▼ Bonne stabilité chimique
- ▼ Bonne résistance aux températures

L'ensemble de ces propriétés est représenté sur le schéma suivant (Fig.6) :

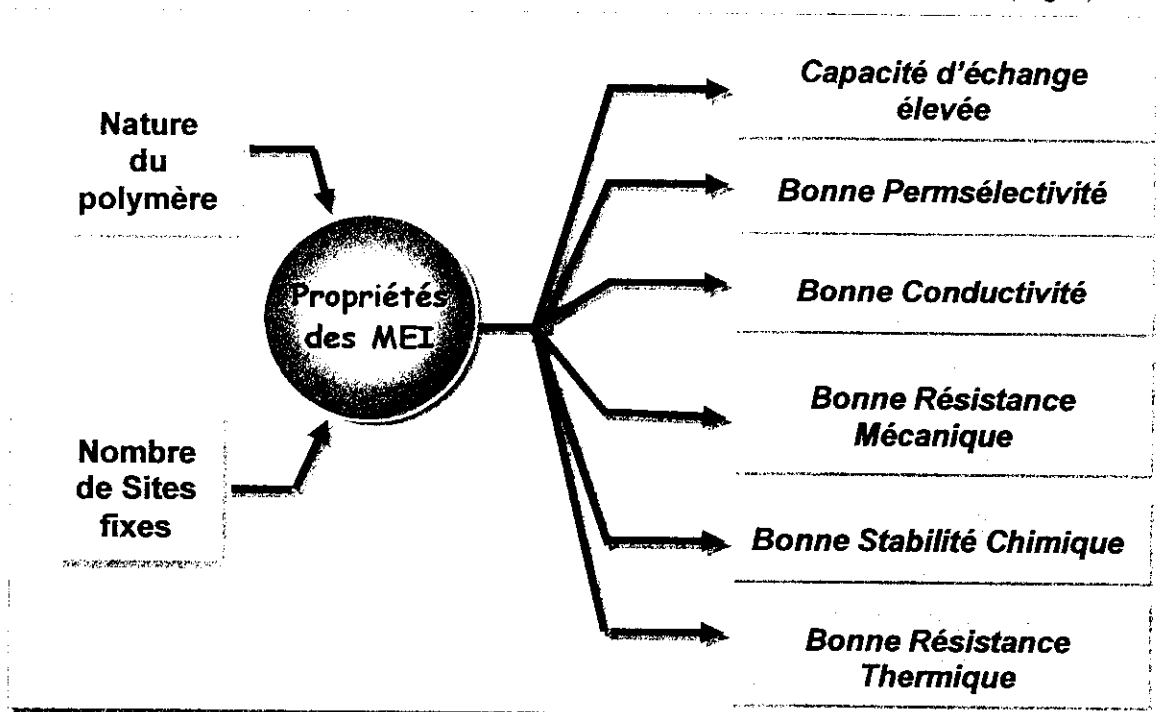


Figure n°6 : Propriétés des membranes échangeuses d'ions.

Ces propriétés sont liées à deux paramètres :

- ▼ *La nature du polymère de base*: Influence sur la résistance mécanique et chimique de la membrane
- ▼ *La nature et le nombre de sites fixes* (capacité d'échange): déterminent les propriétés physico-chimiques de la membrane (Goerge *et al.*, 1967).

a- Capacité d'Echange

Elle représente le nombre de groupements fonctionnels que contient un échangeur d'ions par unité de masse. En général elle est exprimée en milliéquivalents par gramme de membrane sèche sous forme Na^+ pour les MEC et sous forme Cl^- pour les MEA. Elle est représentée par \bar{X} .

b- Permsélectivité

La sélectivité d'une membrane est l'une des propriétés les plus importantes. Elle est définie à partir du nombre de transport du contre ion. Ce nombre de transport peut être déterminé par la différence de potentiel qui s'établit entre deux compartiments séparés par la membrane et contenant le même électrolyte à deux concentrations différentes (A. Maurel).

La membrane idéale doit être perméable aux contre ions, mais aussi imperméable que possibles aux co-ions et à l'eau.

L'expression de la permsélectivité (P) est donnée par la relation suivante :

$$P = \frac{t_m - t_s}{1 - t_s} \quad (01)$$

Où t_m et t_s sont respectivement les nombres de transport du contre ion dans la membrane et dans la solution.

Pour une membrane idéale : $P = 1$ ($t_m = 1$)

c- Résistance électrique :

La résistance électrique de la membrane doit être la plus faible possible pour ne pas entraîner une trop grande consommation d'énergie électrique qui constituerait un obstacle économique.

La membrane échangeuse d'ions doit assurer une bonne perméabilité des contre ions, donc une mobilité où conductivité électrique élevée des contre ions au sein de la membrane sous l'effet d'une différence de potentiel électrique ou électrochimique (Rosenberg *et al.*, 1957 ; Masson *et al.*, 1959 ; ; Anabreska *et al.*, 1987 ; A. Maurel).

d- Résistance mécanique :

Les membranes échangeuses d'ions doivent résister aux différentes contraintes subies au cours des manipulations, dues d'une part, à des différences de pression et d'autre part, au montage et démontage du module d'électrodialyse.

e- Stabilité chimique :

Les membranes doivent fonctionner dans un domaine de pH allant de 0 à 14, en présence d'agents oxydants.

f- Résistance aux températures :

Les membranes doivent supporter des températures assez élevées (de l'ordre de 50°C) nécessaires dans certaines applications.

g- Conductivité :

La Conductivité électrique dans les MEI est assurée par le déplacement des ions mobiles. Le courant est transporté par les contre-ions et les co-ions libres dans la membrane (Hefferich, 1962). En général, la conductivité électrique dépend des paramètres suivants (Fig.7) :

- ▼ La structure de la membrane (taux de réticulation, taux de greffage)
- ▼ La nature de l'électrolyte, la taille des contre ions ainsi que leur valence. En général, plus l'ion est petit et plus la conductivité de la membrane est grande (Maurel ; George *et al.*, 1967)
- ▼ La concentration de la solution dans laquelle la membrane est immergée: la conductivité membranaire augmente avec la concentration de l'électrolyte (Maurel ; Masson *et al.*, 1959)
- ▼ La température

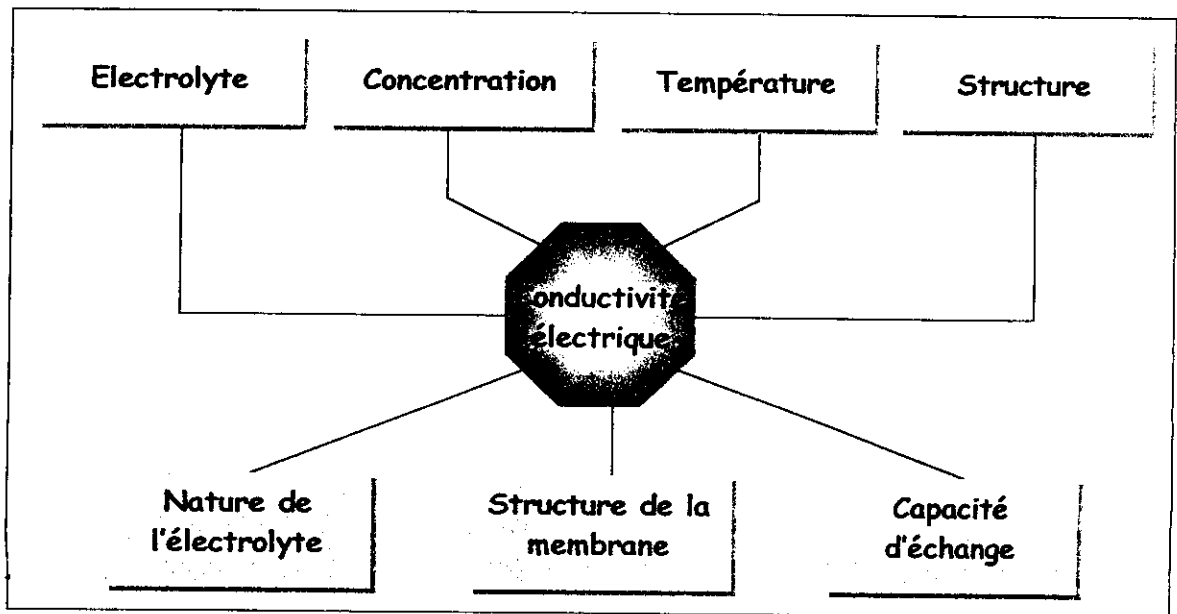


Figure n°7 : Paramètres influençant la conductivité électrique

La Conductivité spécifique d'une membrane k est définie (comme tous les matériaux conducteurs) par la relation suivante :

$$k = \frac{d}{R \cdot s} \quad (02)$$

Où \bar{R} est la résistance électrique spécifique de la membrane en Ohms. d est l'épaisseur en cm, s sa surface en cm^2 , k s'exprime en $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Afin de comparer les différentes membranes, on mesure la conductivité dans des solutions de même nature et de même concentration. On détermine la conductivité spécifique de la membrane, k , qui permet de tenir compte de son épaisseur.

Elle dépend de la mobilité des ions dans la membrane. Tout facteur susceptible de modifier cette mobilité interviendra sur la conductivité de la membrane, par exemple :

- La capacité d'échange
- Le taux de réticulation.
- La taille des contre ions ainsi que leur valence
- La température de la solution d'équilibre

La membrane est un conducteur électrique. Le courant est transporté par les contre ions et les co-ions libres dans la membrane. La conductivité λ_m d'une MEA contenant un électrolyte AB totalement dissocié, s'exprime par la relation suivante (Hefferich, 1962):

$$\lambda_m = F(\bar{U}_{B^-} \bar{C}_{B^-} + \bar{U}_{A^+} \bar{C}_{A^+}) \quad (03)$$

avec :

\bar{U}_{B^-} et \bar{U}_{A^+} sont les mobilités des deux ions

\bar{C}_{B^-} et \bar{C}_{A^+} sont les concentrations de l'espèce A et B dans la membrane.

h. Gonflement des membranes :

Les échangeurs d'ions sont des matériaux insolubles dont le réseau macromoléculaire est lacunaire. Le solvant pénètre à l'intérieur et provoque un gonflement.

Le caractère hydrophile des sites échangeurs et des contre ions est responsable de la pénétration de la majeure partie de l'eau dans la membrane lorsque celle-ci est en contact avec une solution aqueuse. Les chaînes polymériques quant à elles, ont tendance à expulser l'eau. La réticulation chimique entre les chaînes polymériques permet de réduire le taux de gonflement.

Le taux de gonflement, T_w s'obtient par pesée de la membrane humide et séchée entre deux feuilles de buvard, en appliquant la relation suivante :

$$T_w = \frac{P - P_s}{P_s} 100 \quad (04)$$

Où P représente la masse de la membrane hydratée et P_s sa masse à sec.

Le flux de gonflement est favorisé principalement par (Hefferich, 1962; Kaufman, 1974):

- ▼ un faible taux de réticulation,
- ▼ une forte densité de sites échangeurs,
- ▼ une importante solvatation du contre ion,
- ▼ une faible concentration de la solution externe et
- ▼ une faible valence du contre ion.

La réticulation est la formation de liaisons chimiques suivant les différentes directions de l'espace au cours d'une polymérisation, d'une polycondensation ou d'une polyaddition et qui conduit à la formation d'un réseau solide.

i- Potentiel de DONNAN et Pouvoir d'exclusion d'une MEI :

Considérons un échangeur de cations sous forme M^+ placée au contact d'une solution diluée d'un électrolyte fort : M^+A^- . La concentration en cations dans la membrane est largement supérieure à celle de la solution, et inversement pour les anions. Il en résulte une migration des cations de la membrane vers la solution et des anions de la solution vers la membrane, afin de rétablir les concentrations. Il se crée alors une accumulation de charges à l'interface membrane-solution, négative dans la membrane et positive dans la solution. Cette accumulation de charge crée alors une différence de potentiel (ddp) électrique entre les deux phases, appelée potentiel de Donnan. Ce champ électrique s'oppose à la diffusion ionique, en maintenant les cations dans la membrane et les anions dans la solution externe. L'existence de cette différence de potentiel limite alors la

pénétration ou sorption de l'électrolyte dans la membrane. La concentration en co-ions A^- y sera alors largement inférieure à celle des contre ions M^+ , voire nulle. Par suite, en raison de l'électroneutralité, l'électrolyte est partiellement exclu de la membrane.

Ce comportement spécifique des membranes échangeuses d'ions a été analysé pour la première fois par Donnan en 1911 (Donnan, 1911, traduite en 1995).

Les potentiels électrochimiques du cation M^+ , de charge $z^+=1$, au sein de la membrane $\mu_m(M^+)$ et en solution $\mu_s(M^+)$ s'écrivent selon les expressions suivantes :

$$\mu_m(M^+) = \mu_m^0(M^+) + R.T.\ln [a_m(M^+)] + F\Phi_m \quad (05)$$

$$\mu_s(M^+) = \mu_s^0(M^+) + R.T.\ln [a_s(M^+)] + F\Phi_s \quad (06)$$

où $\mu_m^0(M^+)$ et $\mu_s^0(M^+)$ représentent respectivement le potentiel chimique standard de l'ion M^+ au sein de la membrane et en solution/. Les activités des cations dans la membrane et en solution sont notées respectivement $a_m(M^+)$ et $a_s(M^+)$. Φ_m et Φ_s sont les potentiels électriques dans la membrane et dans la solution. R est la constante des gaz parfaits et T la température absolue.

A l'équilibre, l'égalité des potentiels électrochimiques permet de déterminer l'expression du potentiel de, $\Phi_m - \Phi_s$, en assimilant les activités des ions à leurs concentrations et en considérant les états standards identiques dans les deux phases.

$$\Phi_m - \Phi_s = \frac{RT}{F} \ln \frac{[M^+]_s}{[M^+]_m} \quad (07)$$

De même, l'égalité des potentiels électrochimiques de l'anion dans les deux phases nous conduit à l'expression suivante :

$$\Phi_m - \Phi_s = \frac{RT}{F} \ln \frac{[A^-]_s}{[A^-]_m} \quad (08)$$

La combinaison de ces deux équations donne la relation :

$$\frac{[A^-]_m}{[A^-]_s} = \frac{[M^+]_s}{[M^+]_m} \quad (09)$$

Le potentiel présente un effet sur la sorption de l'électrolyte: la concentration en co-ion sera extrêmement faible par rapport à celle des contre ions et par suite,

pour des raisons de neutralité électrique, l'électrolyte sera partiellement exclu de la phase membrane : c'est l'exclusion de Donnan.

I.3.5 Généralités sur le transfert de masse :

a- Equation générale sur le transfert de masse :

Lorsqu'une particule i se déplace dans un fluide, elle est soumise de la part de ce fluide à une résistance F opposée au mouvement, proportionnelle à sa vitesse V_i , par l'intermédiaire d'un coefficient de friction f (loi de Stokes).

$$F = - f \cdot V_i \quad (10)$$

Où F est la résistance de la particule opposée au mouvement, f est le coefficient de friction, V_i est la vitesse de la particule i .

Sous l'effet de la force motrice, la vitesse de la molécule augmente rapidement, par conséquent, la résistance F équilibre la force motrice de transport et la vitesse de la molécule reste alors constante.

$$V_i = U_i \cdot F_i \quad (11)$$

U_i étant la mobilité de la molécule i .

Il existe aussi une relation linéaire entre la force motrice et la vitesse, la constante de proportionnalité est la mobilité U_i (Brun, 1989):

On peut ainsi déduire le flux molaire local J_i :

$$J_i = C_i \cdot V_i = U_i \cdot C_i \cdot F_i \quad (12)$$

Où J_i exprime le nombre de moles qui traverse 1 unité de surface / unité de temps, C_i est la concentration locale.

Si le milieu est un fluide en mouvement animé localement d'une certaine vitesse V , il faut tenir compte du terme convectif au transport, le flux molaire locale s'exprime alors par :

$$J_i = U_i \cdot C_i \cdot F_i + V \cdot C_i \quad (13)$$

b- Diffusion et auto-diffusion:

En l'absence de champ électrique, une membrane échangeuse d'ions séparant deux solutions d'un même électrolyte sera traversée par les ions (Fig.7).

On parle de diffusion ionique lorsque l'électrolyte est à des concentrations différentes de part et d'autre de la membrane, le transfert ionique s'effectuant alors du milieu concentré vers le milieu dilué afin d'établir un équilibre de concentration.

Dans les mesures d'auto diffusion, on s'intéresse au flux de diffusion d'un isotope radioactif qui se trouve initialement présent d'un seul côté de la membrane, cette méthode est décrite par F. Helfferich

Le flux d'une espèce à travers une zone où existe un gradient de concentration de cet ion est donné par la première équation de Fick :

$$J_i = -D_i \frac{dC_i}{dx} \quad (14)$$

D_i est le coefficient de diffusion de l'espèce i et $\frac{dC_i}{dx}$ est le gradient de concentration.

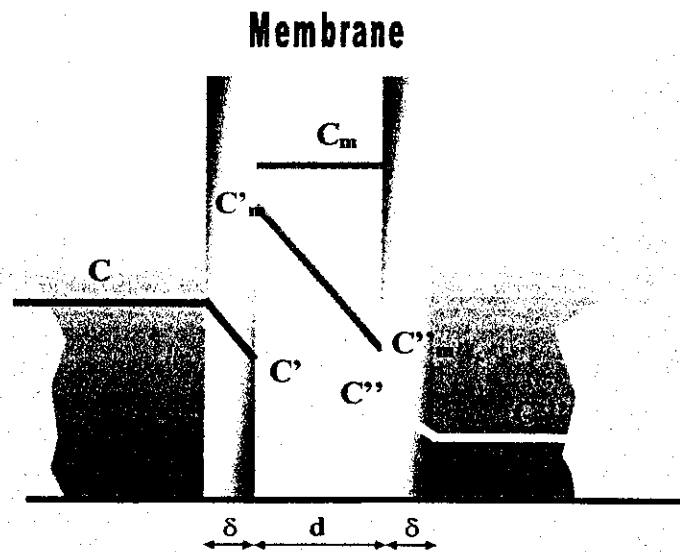


Figure n°8 : Profils de concentration d'un ion marqué dans les couches non agitées et dans la membrane.

c. Le flux :

Il est défini comme étant le nombre de moles d'une substance transportée par unité de temps et de surface, il est donné par la relation:

$$J = \frac{\Delta C}{\Delta t \cdot S} \quad (15)$$

ΔC exprime le nombre de moles de la substance transportée, Δt le temps nécessaire pour le transport et S la surface de la membrane.

1.3.6 - Les limites de l'Electrodialyse:

Lorsque une tension est appliquée à une cellule d'électrodialyse dans le compartiment de dilution, les cations migrent à travers la solution transportant ainsi une partie de courant (l'autre partie étant transportée par les anions).

Simultanément, dans la membrane cationique, seuls les cations assurent la quasi-totalité du courant. La disposition en série électrique de ces zones implique qu'elles soient traversées par la même quantité de courant. Il en résulte que le flux de cations à travers la membrane cationique est à peu près le double du flux dans la solution créant ainsi un déficit en cations qui doit être compensé par un flux complémentaire amené au voisinage de l'interface solution-membrane. Ce raisonnement s'applique également aux anions, ainsi qu'aux compartiments de concentration.

a- Polarisation primaire :

La polarisation de concentration décrite ci-dessus est dite totale lorsque la concentration à l'interface solution-membrane devient nulle. L'intensité correspondant à cet état de polarisation est appelée intensité limite ou courant limite (I_{lim}).

$$I_{lim} = \frac{K \cdot F \cdot t \cdot C_0}{t_s - t_m} \quad (16)$$

où K est le coefficient de transfert de matière, F est la constante de Faraday, C_0 est la concentration initiale, t_s est le nombre de transport dans la solution et t_m est le nombre de transport dans la membrane

La figure n°9 nous permet de déterminer la valeur de la densité du courant limite i_{lim} .

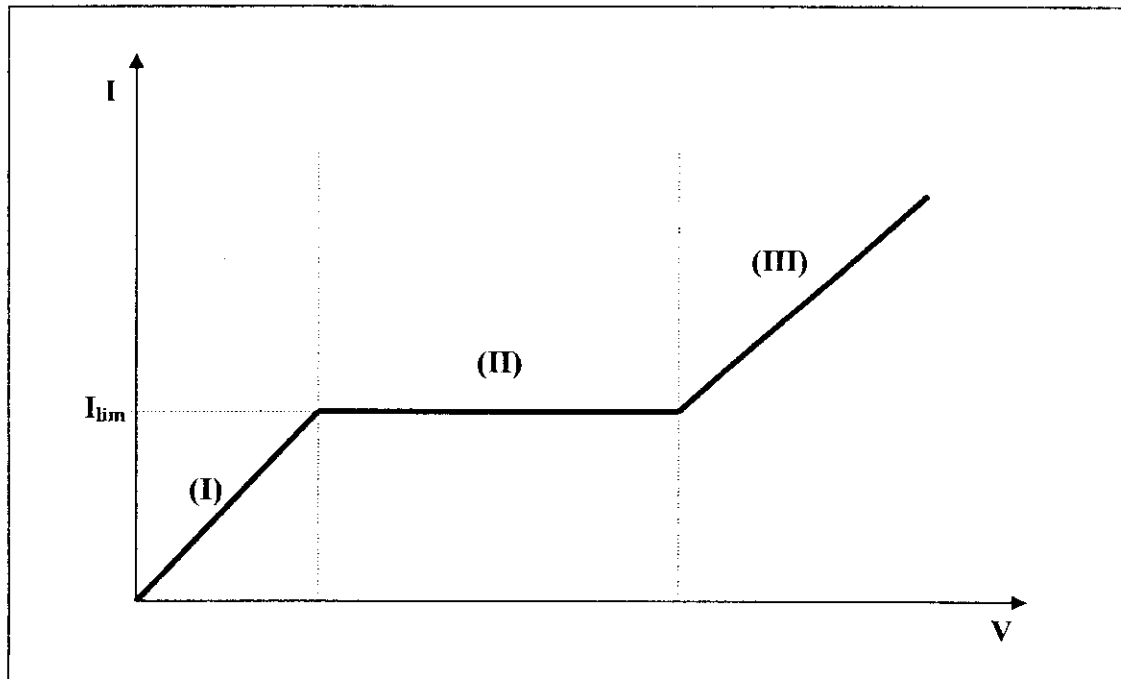


Figure n°9 : Courbe intensité/Potentiel. Illustration du phénomène de polarisation primaire.

On distingue trois régions (R. Audinos):

- ▶ Une première région (I) linéaire qui correspond à la variation de la densité de courant i en fonction de la tension appliquée V . La pente de cette droite représente la somme des résistances de l'électrolyte et des membranes.
- ▶ Une deuxième région (II) correspond à un palier qui représente la polarisation totale de la cellule de l'électrodialyseur, le flux ionique traversant la membrane atteint sa valeur maximale, et la densité de courant reste constante quand la tension augmente.
- ▶ Une troisième région (III) où l'on constate une croissance au-delà du palier, ce phénomène correspond au transfert des ions OH^- et H^+ issus de la dissociation de l'eau causée par l'augmentation de la tension. Le fonctionnement de l'électrolyseur en cette troisième région réduit considérablement la durée de vie de la membrane (Blook *et al*, 1966; Tanaka *et al*, 1986; Rubinstein *et al.*, 1979).

Il faut pour cela, travailler avec des densités de courant inférieures à celle de la densité limite.

b- Polarisation secondaire :

Les membranes se trouvent dénaturées par suite d'utilisation de produits chimiques. La vitesse de cette dénaturation dépend des produits en présence et de la densité du courant électrique qui les traversent (A. Maurel). Le phénomène est la conséquence de quatre causes différentes (Korngold *et al.*, 1970):

b.1 Empoisonnement :

Il s'agit de réactions chimiques entre la membrane et les ions présents dans la solution (par exemple : phénols, polyphénols, ions de fer, du manganèse, etc.) qui entraînent soit la neutralisation de sites actifs, soit la fixation définitive de molécules ou de radicaux.

b.2 Formation de dépôts :

L'existence de zones appauvries en ions du soluté au voisinage des membranes contenant le diluât peut provoquer une augmentation locale de la concentration soit en ions OH^- ou en ions H^+ .

Ces variations de pH conduisent alors à la formation de précipités et notamment à des dépôts d'hydroxydes sur les membranes.

b.3 Colmatage :

Parfois de grosses molécules, telles que les protéines, peuvent rester fixées, par suite de l'existence de forces électrolytiques ou de phénomènes d'absorption, ce qui va engendrer la formation d'une couche colmatante augmentant la résistance électrique du système et diminuant les propriétés d'échange des membranes.

b.4 Formation d'un biofilm :

Les solutions de l'électrodialyseur représentent dans certains cas, un milieu de culture favorable au développement de certains micro-organismes qui, par suite de leur fixation sur une face d'une membrane, constituent un écran isolant au passage des ions et donc du courant électrique.

1.3.7. Technologie de l'électrodialyse

a. Empilement des membranes d'électrodialyse

Les membranes anioniques et cationiques sont disposées alternativement dans un système de type filtre-presse (Fig.10). Entre chaque membrane, un *cadre séparateur* permet l'écoulement des fluides.

L'ensemble constitué par une membrane anionique, un cadre séparateur, une membrane cationique et un cadre séparateur, délimite deux compartiments: Diluât et Concentrat. Cette paire de compartiments représente le motif élémentaire.

Le système de serrage type filtre-presse équipé d'un grand nombre de cellules est appelé «*empilement*». Aux extrémités du dispositif sont placées des électrodes balayées par un électrolyte.

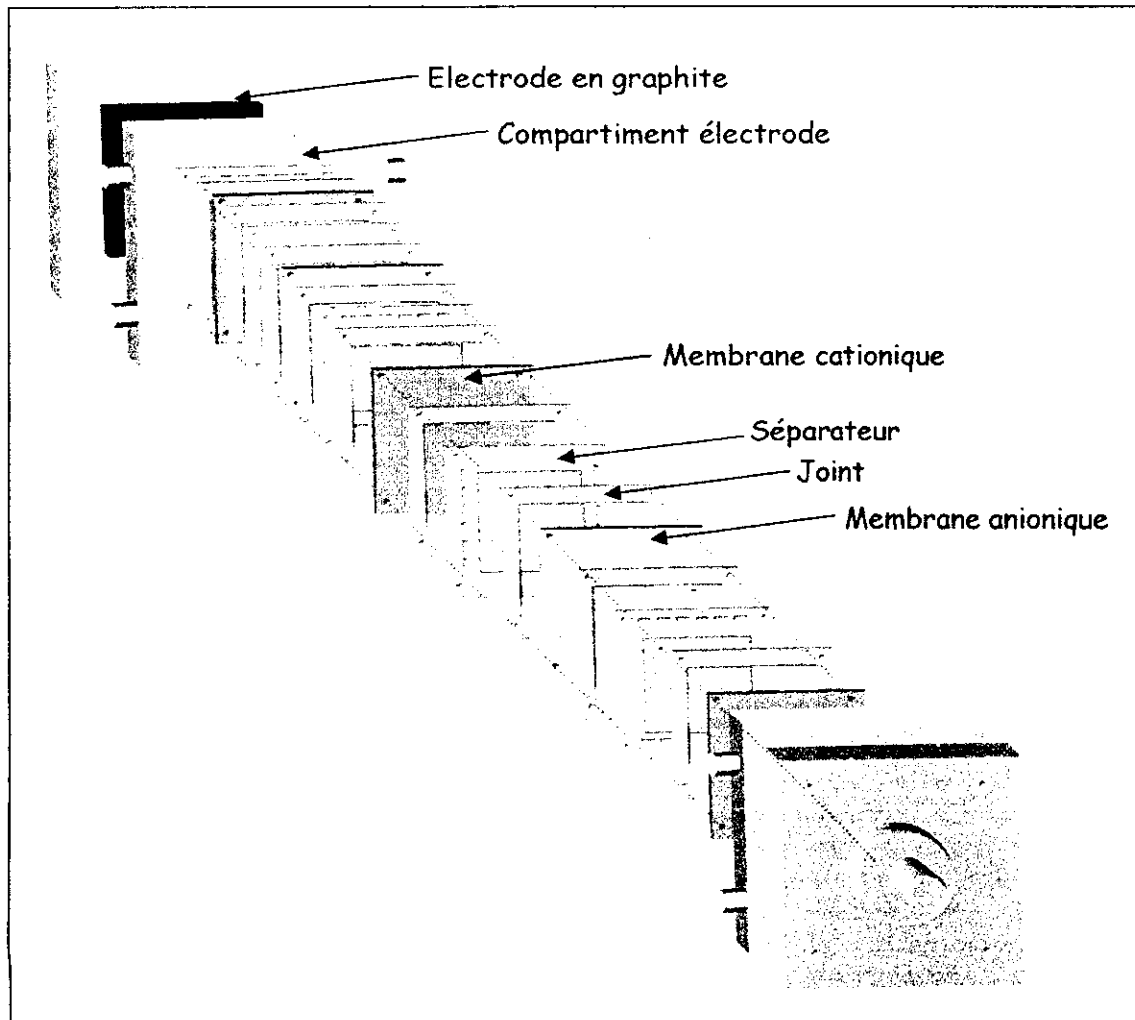


Figure n°10: Vue éclatée du module de l'électrodialyseur type Aqualiser.

Un Electrolyseur est constitué par la répétition d'un motif de plusieurs compartiments de divers types. Ce motif est appelé «*cellule*».

Pratiquement, la quasi-totalité des installations industrielles met en oeuvre l'architecture simple présentée par la figure 10 «empilement du type filtre-pressé».

Des membranes alternativement anioniques et cationiques et deux circuits hydrauliques alimentent respectivement en parallèle l'ensemble des compartiments de même type. Un troisième circuit alimente les électrodes qui produisent le courant traversant en série l'ensemble des compartiments.

b - Electrodes

Les *électrodes* sont des *plaques métalliques* ou en *graphite*. Elles fournissent le courant d'alimentation de Electrolyseur, mais les réactions électrochimiques dont elles sont le siège se produisant dans un circuit séparé (électrolyte) n'interviennent pas dans le processus de séparation où de transformation chimique qui se déroulent dans l'électrolyseur.

b.1 - Electrodes métalliques

Ce sont des électrodes à longue durée de vie, constituées en général d'un métal de base (titane, niobium) recouvert de platine ou d'oxyde de ruthénium.

b.2 - Electrodes en Graphite

Ce sont des électrodes de moindre coût, mais d'une durée de vie plus faible. Elles doivent être considérées comme consommables. Leurs emplois sont indiqués lorsque la présence de produits très corrosifs interdit l'emploi d'électrodes métalliques.

c- Réactions aux électrodes :

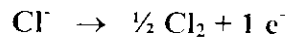
Les réactions qui se produisent au niveau des électrodes sont :

c.1- Réactions anodiques:

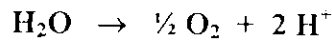
Si une saumure est utilisée, les ions chlorures peuvent être oxydés pour produire de l'hypochlorite:



Le chlorure peut aussi se dégager:

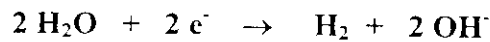


Si une solution d'acide sulfurique est utilisée, il se produit un dégagement d'oxygène selon la réaction:



c.2- Réactions cathodiques :

A la cathode, la réaction la plus importante est la formation d'hydrogène avec augmentation du pH :



Cette augmentation de pH peut entraîner la précipitation de divers hydroxydes tels que $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ou $\text{Fe}(\text{OH})_3$ si le milieu n'est pas assez acide où si l'on a une mauvaise circulation de la solution de rinçage. Les membranes doivent donc supporter les variations de pH et avoir une bonne résistance en milieu oxydant.

I.3.8- Les différents procédés électromembranaires :

Le tableau n°2 récapitule les différents procédés à membranes échangeuses d'ions en les répertoriant selon la nature de la force de transfert et les types de membranes utilisées.

Dans le cadre de ces travaux de recherche, nous avons opéré avec un électrodialyseur classique à deux compartiments (préalablement présenté) et avec un électrodialyseur pilote à 4 compartiments que nous présentons ci-après le principe.

Tableau n°2 : Principales applications des MEI.

Procédés	Cellule élémentaire et membranes	Force de transfert	Principales applications
Electrodialyse conventionnelle	2 compartiments MEA, MEC	Différence de potentiel électrique	<ul style="list-style-type: none"> - Production de sel de table à partir d'eau de mer - Dessalement d'eaux saumâtres - Dénitration des eaux potables - Déminéralisation de lactosérum - Désacidification de jus de fruits
	4 compartiments MEA, MEC	Différence de potentiel électrique	<ul style="list-style-type: none"> - Double décomposition de sel
	2 compartiments MBP & MEA ou MEC	Différence de potentiel électrique	<ul style="list-style-type: none"> - Purification d'acide ou de base - Etc
Electrodialyse à membranes bipolaires	3 compartiments MBP, MEA, MEC	Différence de potentiel électrique	<ul style="list-style-type: none"> - Régénération d'acide sulfurique et de soude à partir de sulfate de sodium - Traitement de bains de décapage d'inox (bains fluo nitriques) - Etc.
			<ul style="list-style-type: none"> - Récupération des acides et des métaux par dépôt - Production d'acides et de bases à partir d'un sel (Na_2SO_4) - Etc.
Electro-Electrodialyse	3 compartiments MEA, MEC	Différence de potentiel électrique	<ul style="list-style-type: none"> - Séparation d'électrolytes : - Electrolyse de l'eau - Procédé chlore-soude - Etc.
Electrolyse	MEA, MEC	Différence de potentiel électrique	<ul style="list-style-type: none"> - Séparation d'électrolytes : - Electrolyse de l'eau - Procédé chlore-soude - Etc.
Dialyse acide	MEA	Gradient de concentration	<ul style="list-style-type: none"> - Séparation acide-base pour récupérer l'acide
Dialyse basique	MEC	Gradient de concentration	<ul style="list-style-type: none"> - Séparation acide-base pour récupérer la base

I.3.9- Pilote de laboratoire à 4 compartiments (P4)

La figure n°11 présente une configuration de l'empilement d'un électrodialyseur à 4 compartiments ou l'on remarque deux circuits de dilution et deux circuits de concentration. Cette configuration permet d'obtenir les électrolytes C_1A_2 et C_2A_1 dans les circuits de concentration 2 et 4 respectivement à partir des électrolytes C_1A_1 et C_2A_2 introduits dans les circuits de dilution 1 et 3 respectivement.

Chaque cellule de cet appareil de marque EURODIA est constituée de quatre types de compartiments, C_1 , D_1 , C_2 , D_2 . Les membranes qui délimitent ces compartiments ont une surface utile de 200 cm^2 . L'ensemble constitué de cinq cellules élémentaires développe une surface totale de 1000 cm^2 .

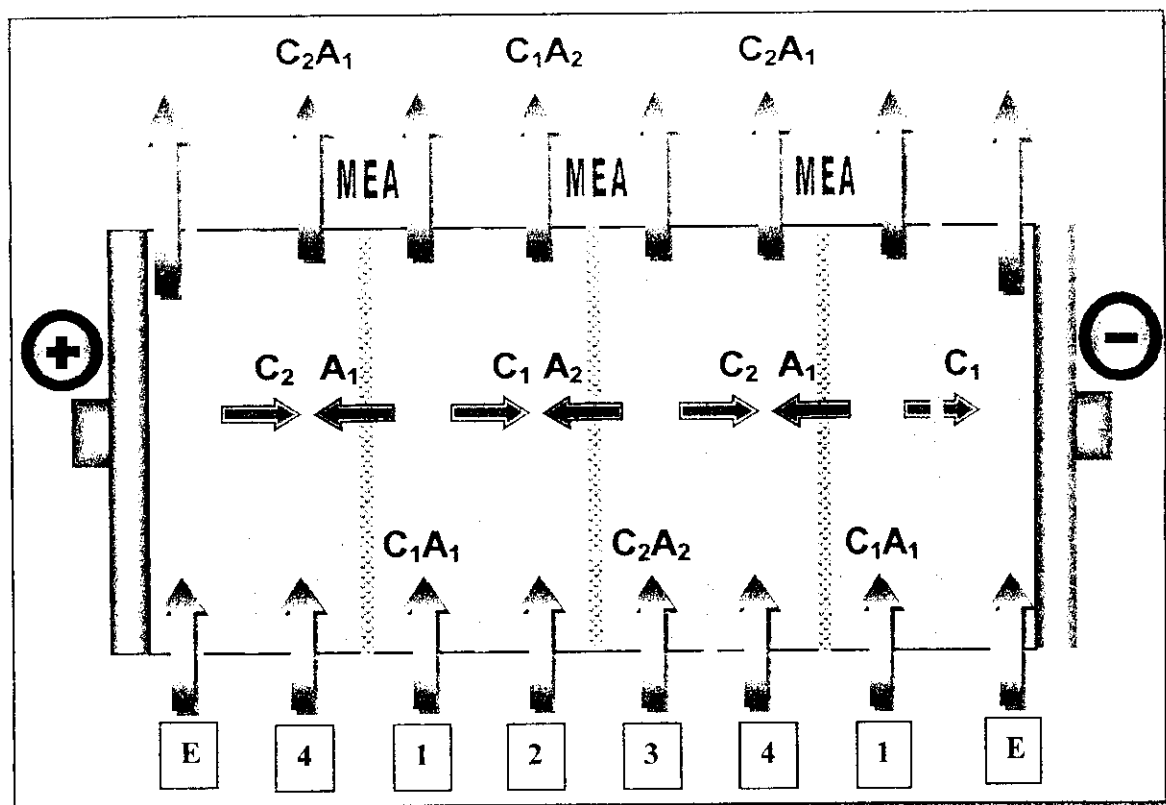


Figure n°11: Empilement des membranes d'électrodialyse à 4 canaux.

1.3.10- Prétraitement d'un électrodialyseur

a - Du point de vue des matières en suspension :

Une pré filtration sur filtre à sable où filtre à diatomées suffit en général. Il est toutefois prudent de prévoir en sécurité une filtration sur cartouches aux environs de 50 microns.

b - Du point de vue des éléments entartrant (Ca, Mg) :

Il faut éviter en électrodialyse comme dans tout autre procédé de dessalement de fonctionner dans les conditions de précipitation de composés tels que CaCO_3 , Mg(OH)_2 ou CaSO_4 . Toutefois, si accidentellement un entartrage se produit dans un module d'électrodialyse, il est possible d'effectuer un nettoyage chimique énergétique par suite de la bonne tenue des membranes dans une zone de pH comprise entre 1 et 13. Dans des cas extrêmes, il est possible de démonter un module électrodialyse pour effectuer un nettoyage mécanique.

I.4 - LA NANOFILTRATION:

La nanofiltration est un procédé de séparation membranaire récent (Erikson, 1988) qui couvre un domaine de séparation intermédiaire entre l'ultrafiltration et l'osmose inverse. Le nom de nanofiltration fait référence à la taille des molécules séparées (de l'ordre du nanomètre), ce qui correspond à une gamme de seuils de coupure comprise entre 200 et 1000 Daltons.

I.4.1- Historique

La nanofiltration est apparue il y a moins de 15 ans sur le marché des technologies membranaires, en raison de ses potentialités liées à sa double sélectivité: celle basée sur la taille des membranes présentant des seuils de coupure compris entre 200 et 1000 g.mol⁻¹ et celle découlant de la réactivité électrochimique des composants de la membrane.

Quelques travaux consacrés à la séparation par nanofiltration de solutions simples d'acides aminés et de di- et tri-peptides (Tsuru *et al.*, 1994 ; Masawaki *et al.*, 1994), avaient en effet montré que ces membranes permettaient de séparer sélectivement les acides aminés et les peptides chargés (transmission nulle) des acides aminés et peptides non chargés (transmission totale), sur la base des principes de la théorie de Donnan (Donnan, 1911).

On assiste actuellement à la commercialisation d'une première génération de membranes organiques spirales dérivées des membranes d'osmose inverse. Elles font l'objet d'installations industrielles visant à fractionner, déminéraliser et concentrer en une étape les fluides traités. A ce jour, 150.000 m² sont installés en industrie alimentaire, dont 20.000 m² en industrie laitière (Van Der Horst, 1995) et 100.000 m² pour le traitement de l'eau.

Le marché de la nanofiltration augmentera encore fortement dans les prochaines années, mais ce développement dépend de la mise au point de nouvelles membranes caractérisées par une meilleure tenue thermique et chimique. Cette dernière génération de membranes pourrait être utilisée dans des secteurs comme le traitement des effluents (Treffy-Goatley *et al.*, 1993), l'industrie chimique ou la pétrochimie qui constituent des marchés potentiels importants.

I.4.2- Principe et équations régissant la nanofiltration

La sélectivité des membranes de nanofiltration peut être caractérisée par le coefficient de rétention (R), basé sur la dimension et charge de solutés (Yaroshechuk *et al.*, 1994 ; Guizard, 1988). Pour les produits organiques non chargés de faibles poids moléculaires, ils montrent un passage moléculaire caractéristique typique trouvé dans ultrafiltration. La rétention d'acides aminés neutres est uniquement dépendante sur les effets de l'exclusion de la dimension de la membrane, et peut être exprimé par le rapport de Paine et Sherr (Paine *et al.*, 1975):

$$R = R_s = (1 - \lambda(\lambda - 2)^2) \exp(-0.7146\lambda^2) \quad (17)$$

où: $\lambda = r_s/r_p$

Cette équation a été établie en supposant que la membrane est composée de pores parfaitement cylindriques et parallèles avec un rayon r_p pour que la vitesse du solvant suit la loi de Poiseuille avec un profil parabolique. Les acides aminés sont considérés comme des sphères dures de rayon r_s . Certains auteurs préconisent cependant l'utilisation du rayon hydraté du soluté. Macoun *et al.* (1991), Fane *et al.* (1992) et Alami-Younsi *et al.* (1995) montrèrent en effet que la rétention stérique des ions minéraux est essentiellement dépendante du degré d'hydratation des solutés.

Deux étapes peuvent être impliqués pour expliquer le transfert de l'acide aminé chargé: en premier, une distribution d'espèces ioniques à l'interface sélective, d'après leur charge, et la seconde est le transfert par une combinaison de diffusion/convection/mobilité électrophorétique à travers la membrane (Martin-Orue *et al.*, 1998 & Bowen *et al.*, 1996). Dans ce cas, la répulsion électrique peut être impliquée pour expliquer leur rétention. La partie de rétention relatif à la charge (R_c) peut être décrit d'après la théorie de Donnan (Martin-Orue *et al.*, 1998 ; Bowen *et al.*, 1996 & Garem *et al.*, 1997):

$$R_c = 1 - \left[\frac{v_{ct} Z_{ct} C_o}{M} \right]^{Z/Z_{ct}} \quad (18)$$

où V_{ct} et Z_{ct} représentent le coefficient stochiométrique et la charge du contre ion à l'intérieur de la membrane, respectivement. M et Z sont la densité de charge de la

membrane et la charge de l'acide aminé, respectivement. C_0 est la concentration de l'acide aminé dans la solution.

Pour un acide aminé chargé (AA) confronté avec une membrane chargée, la détermination du coefficient de rétention R doit prendre en considération la dimension et la rétention du coefficient de la charge (Garem *et al.*, 1997) et peut être exprimé par l'équation suivante:

$$R = R_s + R_c - R_c R_s \quad (19)$$

1.4.3- Membranes et Technologie de la nanofiltration

La nanofiltration, technique membranaire de pores compris entre 1,5 et 2,5nm est devenue un procédé intéressant pour plusieurs applications (Van Der Horst *et al.*, 1995). Les membranes de nanofiltration (organiques et inorganiques) sont constituées d'une structure asymétrique comportant trois niveaux :

- ▼ un support macroporeux, offrant une bonne résistance mécanique et des flux de permeation élevés
- ▼ une couche intermédiaire mésoporeuse assurant la liaison entre le support et la couche active
- ▼ une peau active microporeuse dont les deux caractéristiques principales sont d'une part, une faible épaisseur, inférieure au micron et d'autre part, des diamètres de pores de l'ordre du nanomètre.

De plus, les membranes de nanofiltration ont une grande différence comparée avec l'osmose inverse et les membranes de l'ultrafiltration. La plupart d'entre elles ont une couche chargée sur la zone de séparation, depuis que cette couche est faite en polyelectrolytes pour les membranes organiques et d'oxydes minéraux amphotères pour les membranes minérales (Tsuru *et al.*, 1994 ; Petersen *et al.*, 1993 ; Martin-Orue *et al.*, 1998 & Alami-Younsi *et al.*, 1994).

I.5- LES ACIDES AMINES

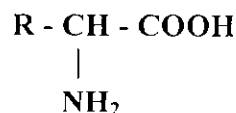
I.5.1- Generalites

Les cellules vivantes produisent une grande variété de macromolécules et principalement des protéines qui sont des polymères fabriqués à partir d'unités élémentaires de construction appelées «acides aminés».

La valeur nutritionnelle des protéines alimentaires dépend de leur teneur en acides aminés dits essentiels (ex : Lys, Thr, Trp, Met, Ile, Leu, Phe) parce que non synthétisables par les êtres vivants. En dehors des protéines de référence, lait et œuf, la plupart des autres sources de protéines alimentaires sont déficientes en un ou plusieurs acides aminés essentiels et doivent donc être supplémentées. Les acides aminés sont aussi des exhausteurs de goût et des agents de sapidité (Linden *et al.*, 1994) de plus en plus utilisés comme ingrédients dans les industries agroalimentaires. Enfin, certains acides aminés (Cys, Arg, Trp) constituent les principes actifs de médicaments prescrits dans de multiples thérapies (Marshall, 1994).

Les acides aminés les plus importants sont ceux qui proviennent de l'hydrolyse des protéines du règne animal et végétal. Leurs formules développées portent le radical $-NH_2$ qui est situé sur le carbone voisin du groupement $-COOH$. (Greenstein, 1961, Gray *et al.*, 1985 & Lehninger, 1979)

Leur formule générale est donc:



R pouvant être un radical cyclique ou aliphatique.

I.5.2 - Quelques domaines d'applications des acides aminés

Les acides aminés occupent une place d'une importance primordiale dans bien des domaines de la biologie. Ils entrent dans la composition de nombreuses substances biologiques telles que les protéines, les hormones peptidiques, les neurotransmetteurs. Ce sont aussi les composants d'un grand nombre d'antibiotiques d'origine microbienne:

- ▼ L'arginine est souvent prescrit lors des traitements des désordres hépatiques et de la stérilité masculine.
- ▼ La phénylalanine est utilisée en combinaison avec l'acide aspartique pour fabriquer l'aspartame qui est un édulcorant fréquemment employé de nos jours.
- ▼ Le tryptophane peut servir d'inducteur de sommeil et d'antidépresseur.

Outre cette abondance de rôles biologiques, les acides aminés non associés sont d'importants constituants de nombreuses denrées alimentaires et de boissons:

- ▼ L'alanine donne aux aliments une saveur fraîche et sucrée de crustacés où de fruits de mer.
- ▼ La quantité de lysine, d'arginine et d'histidine influence le goût de la bière. Les acides aminés non associés dans le vin réagissent lentement avec les sucres résiduels pour former des composés qui affectent également le goût, mais aussi la couleur, ce sont des éléments importants dans le mûrissement des vins.

I.5.3 - Classification des acides aminés

Sur une centaine d'acides aminés isolés à partir des substances naturelles, on ne retrouve qu'une vingtaine d'entre eux parmi les éléments constitutifs des protéines courantes (Percheron *et al.*, 1991).

Les acides aminés possèdent des structures diverses et peuvent être repartis en sept groupes suivant que **R** soit un radical aliphatique, aromatique ou hétérocyclique (Tybor *et al.*, 1975).

La classification, la structure et les abréviations utilisées sont résumées dans le tableau 3.

Tableau n°3: Classification des acides aminés.

Acides aminés	L-AA	pI	Structure chimique	
PREMIER GROUPE: ACIDES AMINES ALIPHATIQUES				
Les acides aminés simples	<i>Glycine</i>	Gly	6.10	$\begin{array}{c} \text{H} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Alanine</i>	Ala	6.15	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Valine</i>	Val	6.00	$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Leucine</i>	Leu	6.00	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Isoleucine</i>	Ile	6.05	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$
Les acides aminés hydroxylés	<i>Serine</i>	Ser	5.70	$\begin{array}{c} \text{HO} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Thréonine</i>	Thr	5.60	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Méthionine</i>	Mét	5.70	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{S} - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Les acides aminés soufrés	<i>Cystéine</i>	Cys	5	$\begin{array}{c} \text{HS} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Cystine</i>	Cys		$\begin{array}{c} \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$

	<i>Acide Aspartique</i>	<i>Asp</i>	2,98	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Acide Glutamique</i>	<i>Glu</i>	3,22	$\begin{array}{c} \text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Les acides aminés dicarboxyliques	<i>Asparagine</i>	<i>Aspa</i>		$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N-C-CH}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Glutamine</i>	<i>Glut</i>	5,60	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N-C-CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Les acides aminés possédant plusieurs groupements basiques	<i>Lysine</i>	<i>Lys</i>	9,75	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N-CH}_2-\text{CH-(CH}_2\text{)}_2-\text{CH-COOH} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{OH} \qquad \qquad \qquad \text{NH}_2 \end{array}$
	<i>Arginine</i>	<i>Arg</i>	10,75	$\begin{array}{c} \text{HN=C-NH-(CH}_2\text{)}_3-\text{CH-COOH} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{H}_2\text{N} \qquad \qquad \qquad \text{NH}_2 \end{array}$

SECOND GROUPE: ACIDES AMINES AROMATIQUES

<i>Phénylalanine</i>	<i>Phe</i>	5,70	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
<i>Tyrosine</i>	<i>Tyr</i>		$\begin{array}{c} \text{HO-C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$

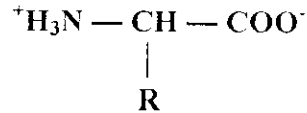
TROISIEME GROUPE: ACIDES AMINES HETEROCYCLIQUES

<i>Tryptophane</i>	<i>Try</i>	5,90	$\begin{array}{c} \text{Indole ring}-\text{CH}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
<i>Histidine</i>	<i>His</i>	7,60	$\begin{array}{c} \text{Imidazole ring}-\text{CH}_2-\text{CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
<i>Proline</i>	<i>Pro</i>	7,19	$\begin{array}{c} \text{Pyrrolidine ring}-\text{COOH} \end{array}$
<i>Hydroxyproline</i>	<i>Hpro</i>		$\begin{array}{c} \text{HO-Pyrrolidine ring}-\text{COOH} \end{array}$

1.5.4 - Propriétés physico-chimiques des acides aminés

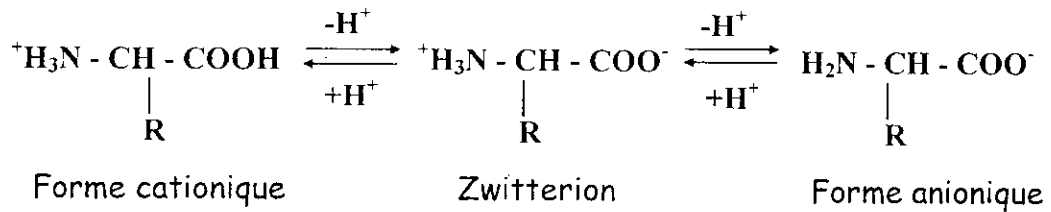
a - Propriétés Acido-basiques :

D'un point de vue général, un acide aminé contient un groupe carboxylique donneur de protons en milieu alcalin et un groupe amine accepteur de protons en milieu acide.



Cette espèce chimique dipolaire ne porte donc pas de charge électrique nette. On l'appelle : Zwitterion.

En solution aqueuse, un acide α -aminé est le siège de deux équilibres acido-basiques:



Les acides aminés possèdent à la fois des propriétés acides et basiques. Ce sont des composés amphotères.

Le pH pour lequel l'ionisation des deux fonctions d'un acide α -aminé est égale, est appelé point isoélectrique (pH_i). Il correspond à l'existence du Zwitterion et se calcule de la façon suivante:

$$\text{pH}_i = \frac{\text{pK}_1 + \text{pK}_2}{2} \quad (20)$$

b - Propriétés Spectrales

Les acides aminés présentent une absorption importante à une longueur d'onde inférieure à 230 nm, mais les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la tyrosine, l'histidine et la phénylalanine absorbent les radiations ultraviolettes entre 260 et 280 nm.

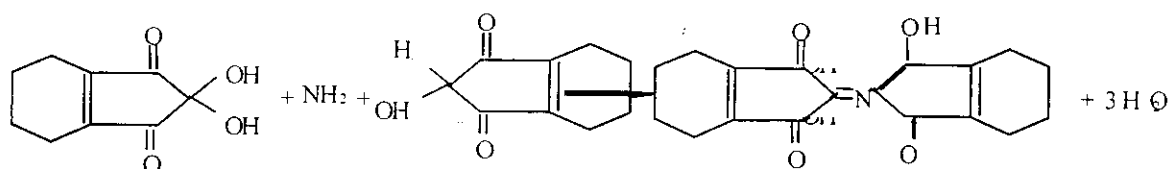
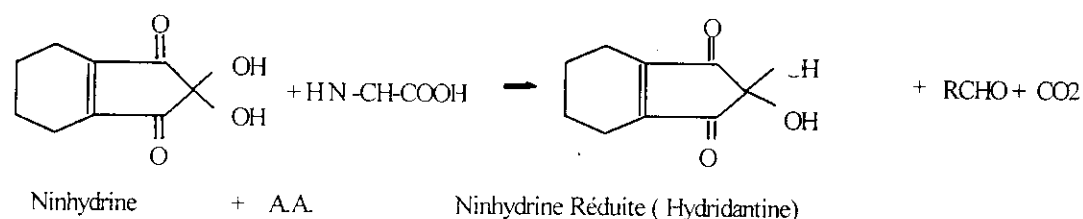
c - Solubilité et Point de fusion

Les acides aminés sont solubles dans les solvants polaires comme l'eau où l'alcool. Ils sont insolubles dans les solvants apolaires comme le benzène ou l'hexane. Leur point de fusion est supérieur à 200°C.

d - Réactions chimiques des Acides Aminés

Outre les réactions classiques des groupements carboxyliques et amines, il existe des réactions chimiques propres aux acides aminés que l'on retrouve dans la plupart des méthodes d'identification et d'analyse de ces molécules organiques.

Une des réactions la plus caractéristique et la plus utilisée est la réaction à la ninhydrine qui peut être appliquée à la mesure quantitative des acides aminés. Le produit final obtenu est coloré en violet et permet une mesure directe de la concentration en acides aminés avec une grande sensibilité (jusqu'à 1 µg).



I.5.5- Méthodes de séparation et de dosage des acides aminés

Il existe plusieurs méthodes d'identification et de dosage des acides aminés telles que la chromatographie ou l'électrophorèse, mais avant l'apparition de ces dernières, des méthodes classiques étaient employées comme la gravimétrie ou la colorimétrie, mais elles furent abandonnées par ce qu'elles nécessitent des prises d'essais importantes de protéines et étaient particulièrement longues.

a- Electrophorèse sur Papier

Elle est considérée comme la méthode la plus simple. Elle permet la séparation des acides aminés suivant leurs charges électriques.

Une goutte d'un mélange d'acides aminés est séchée sur le papier. La bande de papier est humidifiée avec un tampon à un pH donné et placée entre les plaques de refroidissement. Les extrémités des bandes sont immergées dans les compartiments des électrodes.

L'application d'un champ électrique par courant continu sépare les acides aminés selon leurs charges électriques nettes au pH utilisé.

Les acides aminés qui sont des cations au pH utilisé migrent vers la Cathode et les acides aminés anioniques vers l'Anode. Une fois le papier séché, ce dernier reçoit une pulvérisation d'une solution de ninhydrine, puis chauffé, ce qui révèle la localisation des acides aminés qui sont alors identifiés par comparaison avec la position de la migration d'acides aminés.

b-Techniques Chromatographiques

Toutes les techniques chromatographiques ont été utilisées pour l'analyse des acides aminés dans les milieux biologiques et dans les hydrolysats de protéines ou plus d'une vingtaine d'acides aminés contenus dans un hydrolysât de protéines ont pu être séparés et quantifiés (Imai, 1982 ; Boudah, 1991).

b.1- Chromatographie sur papier

Elle présente un intérêt historique puisqu'elle est considérée comme une technique moderne d'analyse biochimique. Elle est basée sur la différence de solubilité des substances entre une phase stationnaire généralement aqueuse et une phase organique se déplaçant par capillarité au sein d'une feuille de papier.

b.2- Chromatographie sur couche mince

Plus rapide et plus sensible que la chromatographie sur papier, la chromatographie sur couche mince atteint une précision de 3 % pour le dosage quantitatif des acides aminés. Cependant, cette dernière est moins sensible que la chromatographie sur résines échangeuses d'ions.

b.3 - Chromatographie sur résines échangeuses d'ions

Cette méthode est basée sur deux étapes (Helfferrich, 1962 ; Major, 1977)

- ▼ La première est la séparation du mélange d'acides aminés à travers une résine échangeuse de cations. Les acides aminés élués dans la colonne en fonction de leur acidité se retrouvent bien séparés dans l'effluent.
- ▼ La deuxième étape est la détection et la quantification de ces acides aminés.

L'effluent de la colonne après addition de la ninhydrine passe dans un colorimètre, les acides aminés seront identifiés par la position de leur pic d'absorption. L'analyse complète d'un hydrolysât de protéines peut être réalisée avec cet appareil en 24 heures avec une précision de 1% et 0,1µmole de chaque acide aminé.

b.4 - Chromatographie en phase liquide à haute performance

Cette technique est basée sur la migration différentielle des divers solutés contenus dans les échantillons à analyser. Chaque soluté est soumis à deux forces: l'une de rétention exercée par la phase stationnaire et l'autre d'entraînement exercée par la phase mobile. Chaque soluté présente un temps de rétention qui lui est spécifique selon son affinité avec la phase stationnaire.

Si à un instant donné on injecte un soluté, un équilibre de partage s'établit entre la phase mobile et la phase fixe défini par le facteur de capacité K.

c - Séparation des acides aminés par électrodialyse

Les acides aminés symbolisés par $R-CHNH_2-COOH$ peuvent exister en solution sous trois formes selon le pH. Les propriétés ioniques qu'ils possèdent ont guidé les chercheurs à développer les techniques de purification à membranes et en faire l'application dans la séparation des acides aminés.

Certains ont fait appel à la micro (Belhocine *et al.*, 1996) et à l'ultrafiltration (Piot, 1988 ; Pouliot *et al.*, 1990 & 1993 ; Nau *et al.*, 1995), d'autres ont pensé à l'électrodialyse (Ryazanov *et al.*, 1974 ; Golubev *et al.*, 1991, Martinez *et al.*, 1992 & Engel *et al.*, 1994.). Cette dernière technique est présentée en détail dans le paragraphe II.1.

Elle présente l'avantage par rapport aux autres techniques d'exclure les réactifs chimiques et aussi dans la simplicité de construction des installations dont

la capacité énergétique et métallique est faible à comparer à son haut rendement de séparation.

1.5.6 – Méthodes de production des acides aminés

La production des acides aminés s'effectue par des méthodes microbiologiques, enzymatiques (Bernardi, 1948 ; Goldnik *et al.*, 1983 ; CPE, 1986), chimique ou par extraction à partir d'hydrolysats de protéines d'origine animale ou végétale (Toromanoff, 1986)

a- Méthodes par fermentation

La connaissance des circuits métaboliques, des effets de recontrôle, l'utilisation de souches sauvages, de souches sélectionnées et de mutants sont autant d'atouts qui peuvent être joués pour une préparation industrielle efficace d'acides aminés (Toromanoff, 1986 & Malaney *et al.*, 1991).

La production de l'acide L-aspartique peut être réalisée à partir d'une matière première chimique, le fumarate d'ammonium. La préparation de l'acide L-glutamique par fermentation est réalisée à partir de glucose avec des souches sauvages de *Corynebacterium glutamicum* ou de *Brevibacterium flavium*. La technique industrielle utilise des mélasses de betterave ou de canne à sucre.

Ces méthodes bénéficieront des progrès de la génétique des micro-organismes et de ceux du génie génétique (Naoto *et al.*, 1992).

b- Méthodes enzymatiques

La production des acides aminés peut être réalisée par la mise en œuvre de certaines enzymes microbiennes immobilisées ou non sur le support. Ces méthodes enzymatiques se prêtent à une production en continue, c'est ainsi qu'au Japon, l'acide L-aspartique est produit en faisant passer la solution réactionnelle à travers des colonnes garnies de cellules microbiennes immobilisées (Toromanoff, 1986 ; Naoto *et al.*, 1992). La synthèse enzymatique du tryptophane à partir d'indole et de pyrovate est effectuée avec une tryptophanase.

Les pertes progressives d'activité des enzymes immobilisées sont les principaux défauts de telles méthodes.

c- Méthodes chimiques

La production de la glycine, DL-alanine et DL-méthionine est réalisée généralement par synthèse chimique. Les méthodes de synthèse peuvent apparaître dans certains cas plus économiques pour la production des acides aminés. En effet, les technologies et les appareillages sont adaptés à la production de masse au moindre coût. Néanmoins, les méthodes chimiques restent tributaires de la disponibilité de matières premières ou d'intermédiaires à des prix compétitifs.

1.5.7- Extraction des acides aminés à partir d'hydrolysats de protéines

Cette méthode consiste à extraire des acides aminés par hydrolyse chimique ou enzymatique des protéines (Goldnik *et al.*, 1983 ; Trocchi *et al.*, 1985) et également par précipitation, particulièrement l'acide glutamique qui précipite à pH=3,2 (Doya *et al.*, 1985) ou par chromatographie d'échange d'ions (Goldnik *et al.*, 1983 ; Grego *et al.*, 1984 ; Hughes *et al.*, 1987). Cette dernière est utilisée pour la séparation industrielle des acides aminés (Martinez, 1990). L'importance de ces méthodes dépendent d'une part de la disponibilité de la matière première à faible coût, et d'autre part, de la simplicité des méthodes d'extractions et de purification.

a- Bref historique

Les propriétés ioniques des acides aminés ont guidé ces dernières années les chercheurs à développer les techniques à membranes (Kimura *et al.*, 1984 ; Tone *et al.*, 1984 ; Doya *et al.*, 1985 ; Rumeau *et al.*, 1988 ; Martinez, 1990 ; Gavach, 1990) pour l'extraction et la séparation des acides aminés.

En 1984, S. Tone *et al.* (1984) ont présenté les résultats d'une étude effectuée sur la séparation des acides aminés à partir de la solution aqueuse de l'acétyle DL-méthionine, en utilisant une membrane formée de : Enzyme-PVC attaché à une membrane échangeuse d'anions. Ils ont observé que pour un pH de la solution voisin du point isoélectrique de l'acide aminé, le flux de ce dernier passe par un maximum. S. Kimura *et al.* (1984) ont conclu que la séparation entre les acides aminés à pH différents, est possible sur une membrane d'ultrafiltration chargée.

En 1988, M. Rumeau *et al.* (1988) ont utilisé l'électrodialyse pour l'extraction de la glycine à partir d'une solution. Ils ont pu vérifier le passage des acides aminés à travers les membranes échangeuses d'ions pour des pH différents de leurs points isoélectriques.

Deux ans plus tard, D. Martinez (1990) a montré que le flux de diffusion d'un acide aminé amphotère (alanine) à travers les membranes échangeuses d'ions sont négligeables devant ceux de l'électro-migration. L'auteur a étudié aussi l'extraction de l'arginine (acide aminé basique) à partir d'un mélange d'acides aminés provenant d'un hydrolysate de protéines issues de plume de poulet. Il a conclu que l'électrodialyse est une technique bien adaptée à l'extraction et à la séparation des acides aminés. Néanmoins, les produits obtenus ne sont pas purs du point de vue pharmaceutique. Cette méthode doit être donc complétée par d'autres procédés classiques.

En 1990, C. Gavach (1990) a conclu à partir d'une étude effectuée sur un mélange d'acides aminés issu de l'hydrolyse acide de protéines, que l'électrodialyse est une technique bien adaptée au fractionnement des acides aminés.

Les méthodes d'extractions sont développées brièvement ci-dessous.

b- Extraction par hydrolyse acide

b.1- par l'Acide chlorhydrique

C'est l'agent d'hydrolyse des protéines et des peptides le plus couramment employé. En général, on utilise de l'acide chlorhydrique entre 5,5 à 6 N en quantité correspondante à environs 10 fois le poids de la protéine, une température comprise entre 100 et 110 °C et un temps d'hydrolyse de 24 h en tubes scellés où à reflux (Lederer, 1960).

L'acide chlorhydrique a l'avantage sur l'acide sulfurique de ne provoquer que de faibles destructions de certains acides aminés.

L'ampleur de ces différentes destructions dépend beaucoup de la pureté de l'acide utilisé, de la composition de la protéine hydrolysée et des impuretés qui l'accompagnent.

b.2- Par l'acide sulfurique

A 8 N, il est employé comme agent d'hydrolyse des protéines. Son avantage est que l'on peut facilement s'en débarrasser par précipitation au moyen d'une solution de baryte saturée à chaud.

c – Extraction par hydrolyse alcaline

La baryte (8 à 14 %) et la soude 2 à 4 N à 100°C, sont utilisées en tant qu'agents d'hydrolyse surtout quand il s'agit d'éviter la destruction du tryptophane et des iodotyrosines.

Les alcalis conduisent à une destruction considérable des acides aminés. Cette destruction affecte surtout les hydroxyaminoacides et la cystine. Ces remarques ont une certaine importance car les alcalis sont capables non seulement de provoquer la disparition de certains acides aminés mais également de conduire à des transformations d'un acide aminé en un autre.

Un autre inconvénient de l'hydrolyse alcaline est qu'elle provoque la racémisation des acides aminés et des peptides. Les résultats obtenus à l'aide d'une hydrolyse alcaline doivent donc être interprétés avec une certaine prudence.

d – Extraction par hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique est rarement totale. De plus, les enzymes sont des réactifs plus ou moins spécifiques d'un certain type de liaisons peptidiques (Fercheron *et al.*, 1991). Parmi les enzymes actuellement connus, six ont été utilisés de façon intensive. Ce sont dans l'ordre de leurs importance: la trypsine, la chymotrypsine, la pepsine, la carboxypeptidase, la papaïne et la subtilysine.

Du point de vue pratique, trois facteurs conditionnent essentiellement la vitesse et par conséquent le degré d'une hydrolyse enzymatique: ce sont le pH, la température et la proportion enzyme-substrat. Pour la température, elle est généralement utilisée à 37°C, et pour la proportion enzyme-substrat elle est comprise entre 0,5 et 5 %. Les pH approximatifs d'activité sont pour la trypsine entre 7 et 8, la chymotrypsine compris entre 7,5 et 8, la pepsine 1,8 à 2, la carboxypeptidase: 7,5, la papaïne entre 7 et 7,5 et la subtilysine 7,5.

Comme source d'acides aminés, notre choix s'est porté sur l'hydrolysât acide du sang d'abattoir. Nous nous sommes engagés donc dans la voie de la valorisation du sang d'abattoir par le biais du couplage de l'hydrolyse acide avec les procédés membranaires en vue de la production d'acides aminés. Nous présentons ci-après quelques notions générales sur le sang d'abattoir.

I.6- LE SANG D'ABATTOIR

Parmi les sous-produits d'abattage, le sang est sans doute l'un de ceux présentant la plus haute valeur potentielle: il contient en effet environ 150 g de protéines par litre, c'est-à-dire qu'il y a autant de protéines dans un litre de sang que dans un kilo de viande maigre. Or ce sang est très mal valorisé puisque, une infime quantité est récupérée. Cette non récupération et cette mauvaise valorisation s'expliquent par les particularités du produit et de sa production:

- ▼ le sang s'altère rapidement, ce qui rend difficiles et onéreux son stockage et sa conservation;
- ▼ la production est relativement faible: le sang représente 6 % du poids de l'animal vivant, mais 2 à 3 % seulement peuvent être récupérés facilement; par conséquent les tonnages produits dans les petits abattoirs ne sont pas suffisants pour permettre une transformation poussée;

Le sang est composé d'un liquide biologique : le plasma, dans lequel baignent des éléments figurés qui sont essentiellement les hématites (globules rouges), les leucocytes (globules blancs) et les plaquettes sanguines (Bourgeois *et al.*, 1982).

Le sang est un liquide très riche en eau (80 à 82 %) et en protéines (16 à 18 %). Après action d'un anticoagulant, la centrifugation permet de recueillir d'une part le plasma (60 à 65 % du total), d'autre part les éléments figurés qui constituent le cruor (35 à 40 % du total). Après coagulation à l'air, on recueille un caillot et le sérum (Quebriac *et al.*, 1985) (Fig.12).

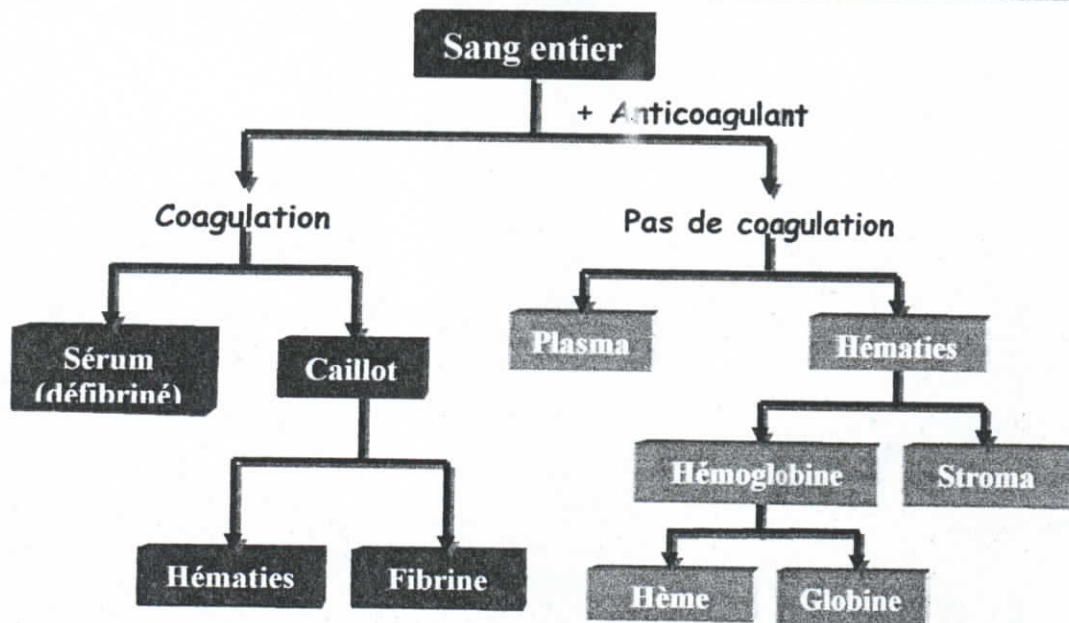


Figure n°12 : Schéma de fractionnement du sang

II.1- CONCENTRATION ET SEPARATION DES ACIDES AMINES D'HYDROLYSATS ACIDES DE SANG D'ABATTOIR PAR ELECTRODIALYSE

Comme nous l'avons mentionné préalablement, nous avons opéré avec trois types d'électrodialyseur que nous présentons ci-dessous. En ce qui concerne les techniques d'analyses des acides aminés, elles sont identiques indépendamment du procédé utilisé et seront présentées ci-après.

II.1.1- Electrolyseur équipé de membranes monopolaires

Nous avons opéré avec trois types d'électrodialyseurs: un électrodialyseur de laboratoire, un électrodialyseur à 2 compartiments et enfin un à 4 compartiments.

α -Electrodialyseur micropilote de laboratoire:

Il a été réalisé par le laboratoire des matériaux et procédés membranaires (LMPM) du Dr. Claude Gavach du CNRS de Montpellier (France). Il est composé de trois compartiments :

- ▼ un compartiment diluât où circule la solution à traiter, délimité par une membrane anionique (AMV) et une membrane cationique (CMV),
- ▼ un compartiment concentrât (C_A et C_B) où circule la solution de concentration de part et d'autre du compartiment central,
- ▼ un compartiment électrode où circule l'électrolyte de rinçage des électrodes.

Le module d'électrodialyse est fabriqué en polytétrachlorofluoroéthylène (PTCFE), couramment appelé Kel'FTM (Fig. 13).

Dans tous les compartiments, la circulation des solutions sont en circuit fermés utilisant des pompes Asti.

Un courant constant a été appliqué à l'aide d'un générateur de courant P. Fontaine FTN 6070.

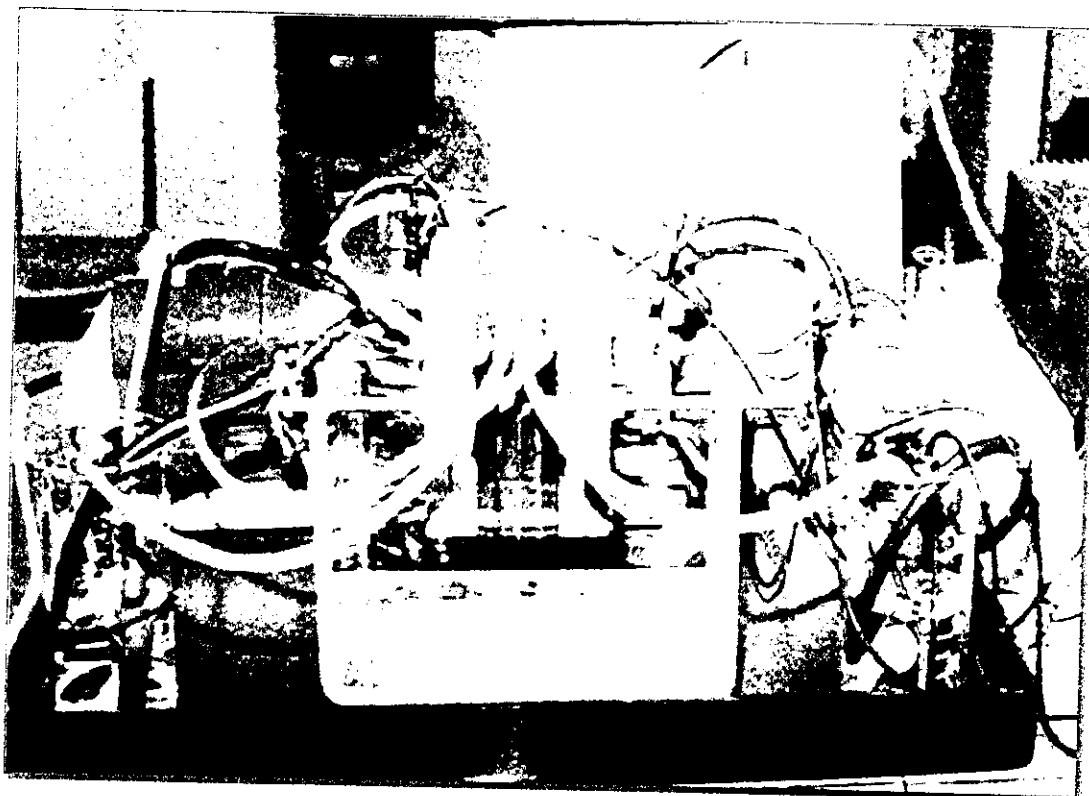


Figure n°13 : Electrodialyseur micropilote de laboratoire

Afin d'éviter les fuites de l'électrolyte à travers l'espace entre les membranes et le cadre en PTFCE, des joints en viton ont été utilisés. L'espace entre les membranes est de 12 mm dans tous les compartiments. Chaque électrode est recouverte en titane platiné avec une surface de travail de 50 cm² correspondant à la région des membranes (Fig. 14).

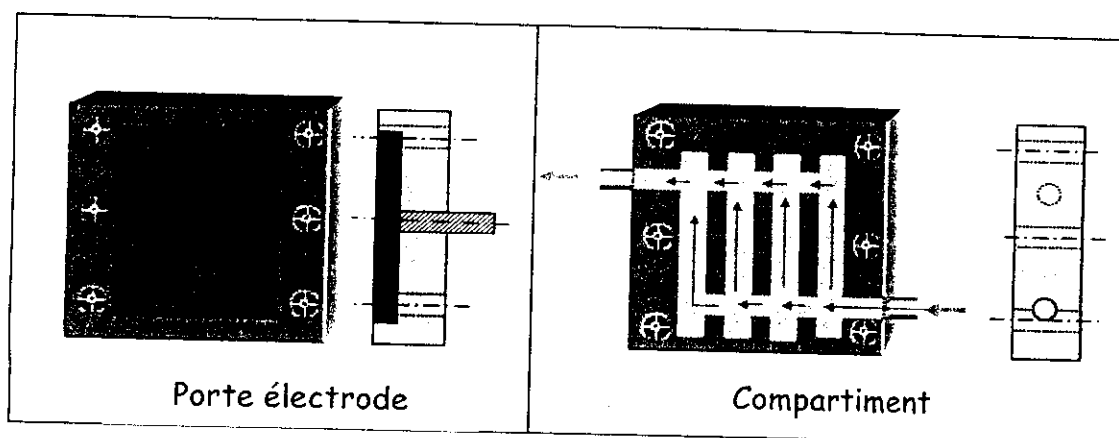


Figure n°14 : Plan des éléments du module d'électrodialyse de laboratoire.

b- Electro dialyseur à deux compartiments «P1»

Cet électrodialyseur est de type aqualiseur de la société Corning. La vue éclatée est représentée par la figure n°9 p.26. il est constitué d'un empilement de 19 membranes anioniques « AMV » et 20 membranes cationiques « CMV », la surface utile de chaque membrane est de de 69 cm². à chaque électrode de l'empilement se trouve une électrode en graphite.

c- Electro dialyseur à quatre compartiments «P4»

Il est fabriqué par Eurodia modèle EUR2D-5p9. Le principe de fonctionnement de cet appareil est représenté sur la figure n°10, page 30. les membranes qui délimitent ces compartiments ont une surface utile de 200 cm². L'ensemble constitué de cinq cellules à une surface utile de 1000 cm². Les membranes échangeuses d'ions utilisées sont du fabricant de membranes Neosepta-Tokoyama Soda et suit l'empilement suivant :

- ▼ membranes cationiques : 5 CR2 - 7 CMX Sb
- ▼ membranes anioniques : 10 AMX Sb

Les acides aminés ont été fournis par la firme Sigma. Leur concentration a été mesurée par HPLC qui utilise les Eaux AccQ.Tag® acide aminé Analyse Méthode.

II.1.2- Electro dialyse équipée de membranes bipolaires

L'électrodialyse à membranes bipolaires (MBP) a été appliquée pour l'extraction des acides aminés non chargés électriquement. En appliquant une tension, les membranes bipolaires produisent des ions H⁺ et OH⁻ à partir de l'eau et vont migrer respectivement vers les côtés anodique et cathodique. L'usage de ces membranes est une méthode originale transformant l'espèce neutre en espèce électriquement chargée qui est capable de traverser les membranes d'électrodialyse homo polaires. Les essais d'électrodialyse ont été réalisés à l'aide d'une cellule de laboratoire avec une surface de la membrane de 50 cm². Un mélange contenant cinq acides aminés, à savoir: glycine, serine, alanine, valine et phénylalanine a été réalisé. La concentration utilisée pour chaque acide aminé est de 100 mmol/l.

Les opérations d'électrodialyse ont été réalisées avec un mélange synthétique contenant cinq acides aminés (Gly, Ser, Ala, Val, Phe) lesquels sont dans une forme du zwitterion à pH 5-6, après neutralisation des hydrolysats de protéine.

L'efficacité du procédé a été testée sous plusieurs conditions expérimentales de densité de courant et de pH dans les compartiments alimentation et récupération.

L'arrangement des cellules de l'électrodialyseur est représenté schématiquement sur la figure n°15.

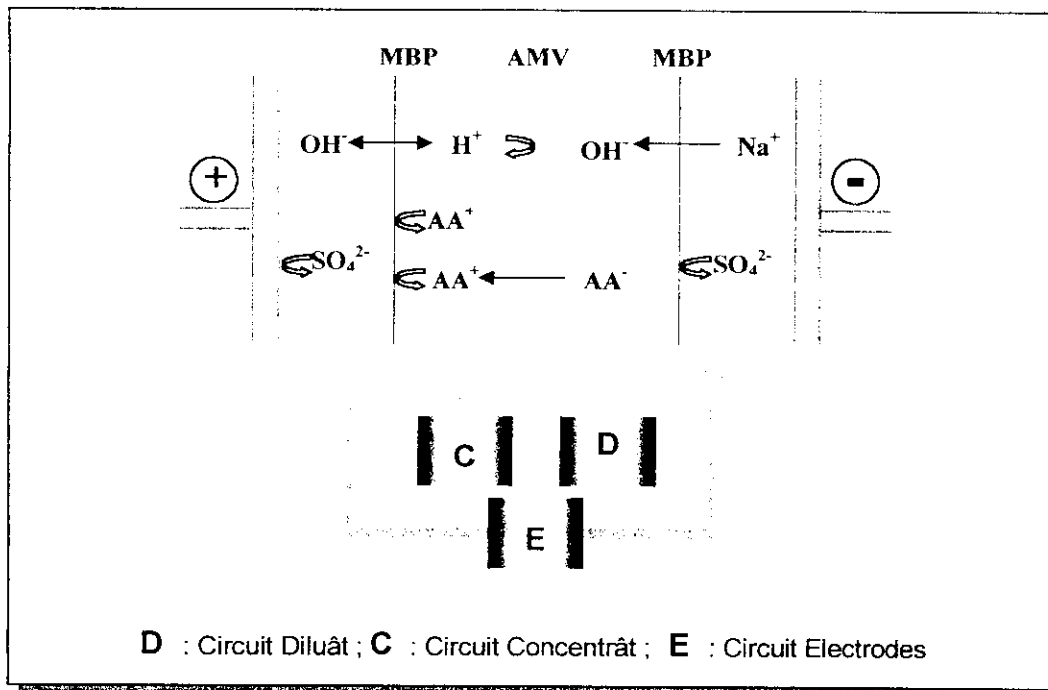


Figure n°15 : Principe de l'électrodialyse à membrane bipolaire

Il est composé de quatre compartiments individuels: deux compartiments centraux, à savoir l'alimentation «D» et récupération «C», compartiments séparés par une membrane échangeuse d'anions, et deux compartiments latéraux «E» utilisés pour le rinçage des électrodes, séparés des compartiments centraux par les membranes bipolaires.

Ces dernières sont introduites dans l'électrodialyseur en faisant attention de placer la face cationique vers la cathode et la face anionique vers l'anode. La solution circulant dans le compartiment d'alimentation contient les acides aminés neutres. Par réaction avec les ions OH^- produits par la membrane bipolaire, les acides aminés sont transformés sous leurs formes basiques (AA^-), lesquels migrent vers l'anode à travers la membrane échangeuse d'anions. Dans le compartiment de récupération, les espèces AA^- sont neutralisées par les protons fournis par la seconde membrane bipolaire qui donne des espèces neutres et peuvent ainsi être reconcentrés dans ce circuit. Donc, l'électrodialyse à membrane

bipolaire paraît être une technique originale pour l'extraction d'acides aminés neutres sans le besoin d'additions de réactifs.

Le module d'électrodialyse utilisé est le micropilote de laboratoire Kel'FTM décrit précédemment (Fig. 13).

II.1.3 - Membranes et acides aminés utilisés

- Les membranes bipolaires utilisées dans ce travail sont des Neosepta, fabriquées par Tokoyama Soda alors que la membrane échangeuse d'anions est une Selemion-AMV, fabriqué par Asahi glass.

Tableau n°4 : Caractéristiques des membranes échangeuses d'ions utilisées.

Code	Fabriquant	Marque	Type	R (Ωcm^{-2})	C_E (méq/g)	e (μm)
AMV	Asahi Glass	Sélémion	MEA	2	1,2	110-150
CMV	Asahi Glass	Sélémion	MEC	2,7	2,4	110-150
MBP	Tokoyama soda	Neosepta	MBP	-	-	-
ADP	Solvay	Morgane	MEA	1,5 à 4,5	0,9 à 1,3	160
CDS	Solvay	Morgane	MEC	1 à 3	1,7 à 2,2	160

R : Résistance surfacique C_E : Capacité d'échange e : épaisseur

- Tous les acides aminés utilisés proviennent de la firme "Sigma" sauf la phénylalanine qui est commercialisée par la firme "Jansen chimia".
- Le sulfate de sodium et le sulfate d'ammonium sont commercialisés par la firme "Merck".

II.1.4- Méthode

La variation de la concentration des différentes solutions circulant dans l'électrodialyseur a été mesurée en prélevant des échantillons à intervalles de temps réguliers. Un suivi du pH et de la conductivité a été opéré pendant toute la durée des expériences.

La composition initiale des solutions dans chaque compartiment est comme suit:

- 250 ml de solution d'acides aminés sont introduits dans le compartiment alimentation. La solution contient les cinq acides aminés: glycine, serine, alanine, valine et phénylalanine. La concentration de chaque acide aminé est de 100 mmol/l, par conséquent la concentration du mélange est égale à 500mmol/l.
- Avant les opérations d'électrodialyse, nous avons ajouté du NaOH pour obtenir une solution alcaline. Trois valeurs de pH initiales ont été étudiées: 8,5; 9,5; et 10,5.
- 200 ml d'une solution d'acide chlorhydrique sont introduits dans le compartiment récupération. Trois valeurs du pH initiales ont été étudiées: 1, 2 et 3.
- 100 ml à 500 mmol/l de sulfate de sodium (Na_2SO_4) sont introduits dans le compartiment de rinçage des électrodes anodique et cathodique.
- Le débit de circulation est de 180 l/h pour tous les compartiments.
- Trois densités de courants ont été étudiées: 50, 100 et 200 A/m^2 .

Toutes les opérations d'électrodialyse ont duré 6 h.

II.1.5-Techniques d'analyses

- Le dosage du sodium est réalisé à l'aide du photomètre à flamme "Hycel Phf 106".
- La phénylalanine est analysée par colorimétrie à l'aide du spectrophotomètre de type "UVIKON 940" de la firme "Kontron Instruments".
- Les ions ammonium sont dosés par colorimétrie à l'aide de la méthode de Nesler. En présence d'un excès d'hydroxyde de sodium ou de potassium, le mercuri-iodure de potassium K_2HgI_4 donne avec l'ion NH_4^+ une coloration rouge orangé ou un précipité rouge-brun.
- Les ions sulfates sont analysés par néphélométrie à l'aide du spectrophotomètre "DR/2000 Hach".

II.1.6- Extraction des acides aminés

L'extraction des acides aminés a été effectuée à partir de solutions d'hydrolysats obtenues par acidification de différents rejets (sang de bovin, rejet

solide de poulet et cheveux humains). La composition de ces hydrolysats est de 1,7 mol/l pour les rejets de poulet (H₁), 0,8 mol/l pour le sang ovin (H₂), et 2,4 mol/l pour les cheveux humains (H₃). La teneur en sel (NaCl) après neutralisation de l'hydrolysât acide par la base (NaOH) est de 2,5 mol/l.

Les solutions d'hydrolysats ont subi ensuite une décoloration par le biais d'un passage sur charbon actif. Elle est réalisée dans le but d'éliminer les résidus humiques de coloration brune contenues dans les hydrolysats de cruor. Cette opération de décoloration de 90 % de substances colorantes est nécessaire pour éviter le colmatage susceptible d'empoisonner les membranes d'électrodialyse (Van Duin, 1993). Les conditions expérimentales utilisées sont celles obtenues par D. Martinez (1990).

Durant cette opération de décoloration, de faibles pertes en acides aminés de l'ordre de 5 à 8 % ont été constatées. Exception faite, pour la phénylalanine ou des pertes avoisinantes les 20 à 30 % ont été atteintes.

Une fois la décoloration réalisée, nous nous sommes intéressés à la déminéralisation de la solution, pour se pencher sur l'extraction des acides aminés par groupe de famille (acide, basique et amphotère) et enfin, aborder la séparation d'acide aminé d'une même famille en privilégiant la concentration d'un acide aminé choisi.

II.2- LA NANOFILTRATION

II.2.1- Matériel et méthodes

a- Appareillage expérimental

Le schéma du dispositif de l'unité de nanofiltration est présenté sur la figure n°15.

Ce dispositif est composé d'un circuit d'alimentation du module de nanofiltration. Ce module est équipé avec une membrane céramique alumine γ avec un rayon moyen des pores de 2.5 nm. La membrane alumine possède une surface de filtration de 28 cm². Elle a été fabriquée par le laboratoire LPMP-Montpellier. Cette membrane a un point de charge nul de l'ordre de pH 8 à pH 9 (Guizard, 1998). La membrane est trempée dans le solvant pendant 18 heures avant d'être insérée dans le module de nanofiltration.

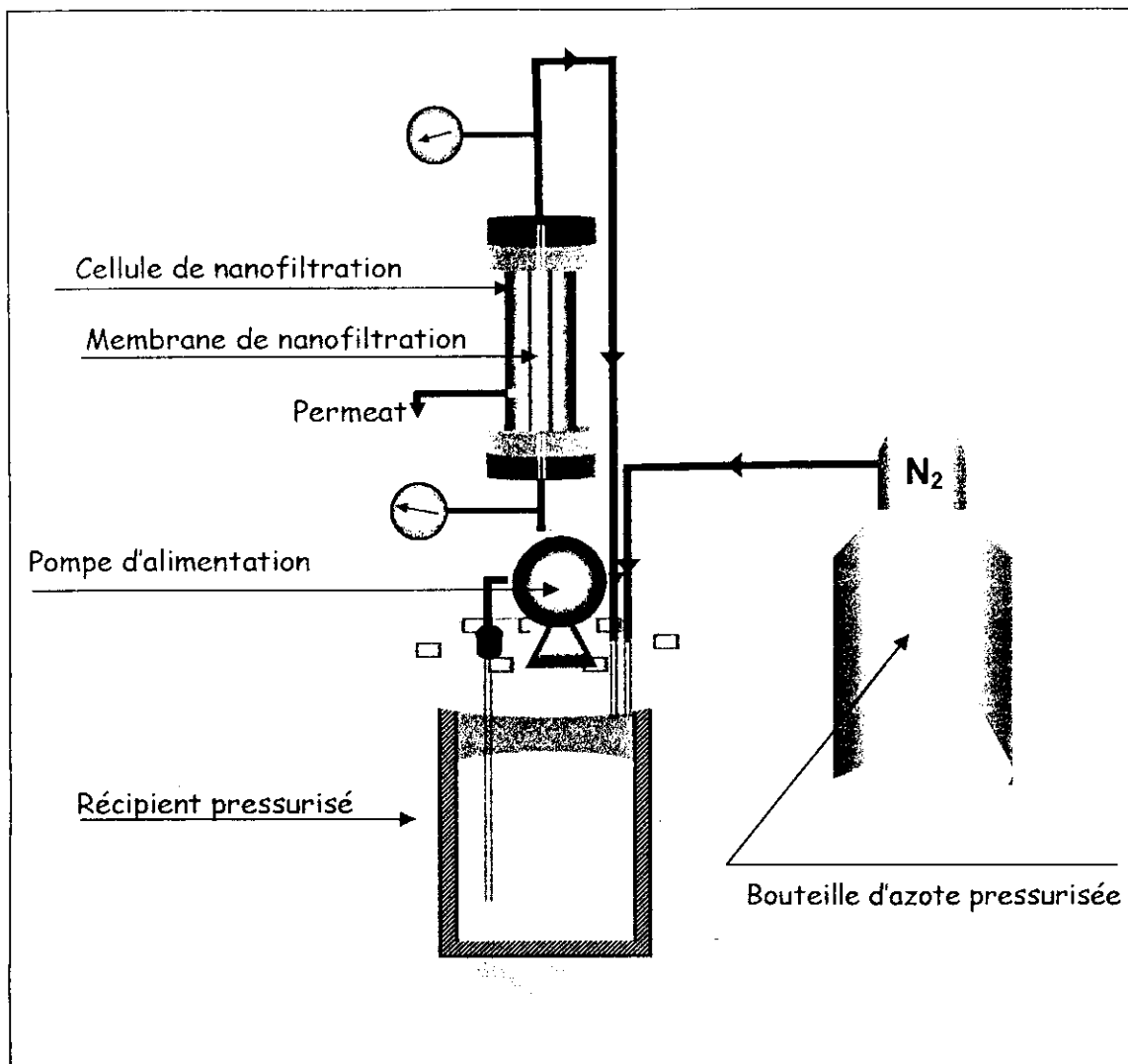


Figure n°16: Dispositif de l'unité de nanofiltration.

Les acides aminés ont été fournis par Sigma Co. (St Louis, USA). Leurs caractéristiques sont données sur le tableau 1.

Les acides aminés ont été dosés par Chromatographie Liquide à Haute performance, par le biais de la technique de Waters AccQ.Tag® (voir annexe). Les acides aminés ont été préparés dans des solutions salines de 0.1 M NaCl. La variation de la concentration du permeat et du concentrât ont été déterminés à des intervalles de temps réguliers.

Le taux de rejet observé R_o représente la proportion du soluté qui traverse la membrane comparativement à ce qui a été retenue par cette dernière. Ce paramètre, caractéristique de la membrane, est défini comme il suit :

$$R_o = 1 - C_p/C_o \quad (21)$$

L'azoture de sodium à une concentration de 0.012 % est ajouté comme agent antibactérien.

b- Mode opératoire

Nous avons opéré en nanofiltration avec recyclage du perméat. Ce qui a permis de travailler à concentration constante en acide aminé ($C_o = 10^{-2}$ M).

La cellule de nanofiltration opère en mode tangential par l'alimentation du circuit à l'aide d'une micropompe centrifuge de type U62B1. Les expériences de nanofiltration ont été réalisées à 20 ± 2 °C à des pressions transmembranaires de l'ordre de $[\Delta P = (P_1 + P_2)/2]$ comprises entre 0,6 et 1,2 Mpa. Cette dernière a été assurée par une bouteille d'azote comprimé.

III.1. CONCENTRATION ET SEPARATION DES ACIDES AMINES PAR ELECTRODIALYSE EQUIPE DE MEMBRANES MONOPOLAIRES.

De part la différence de mobilité des ions inorganiques Na^+ et Cl^- par rapport aux acides aminés, les membranes échangeuses d'ions vont permettre le passage de ces ions préférentiellement aux acides aminés. La déminéralisation des hydrolysats acides s'imposent avant de commencer les opérations d'extraction et concentration.

III.1.1 Déminéralisation des hydrolysats:

La déminéralisation a été effectuée sur le pilote P1 à deux compartiments préalablement présentés. La Figure 17 donnant l'évolution des chlorures dans la solution à déminéraliser, indique une nette augmentation du potentiel électrique appliqué en fin de manipulation de déminéralisation.

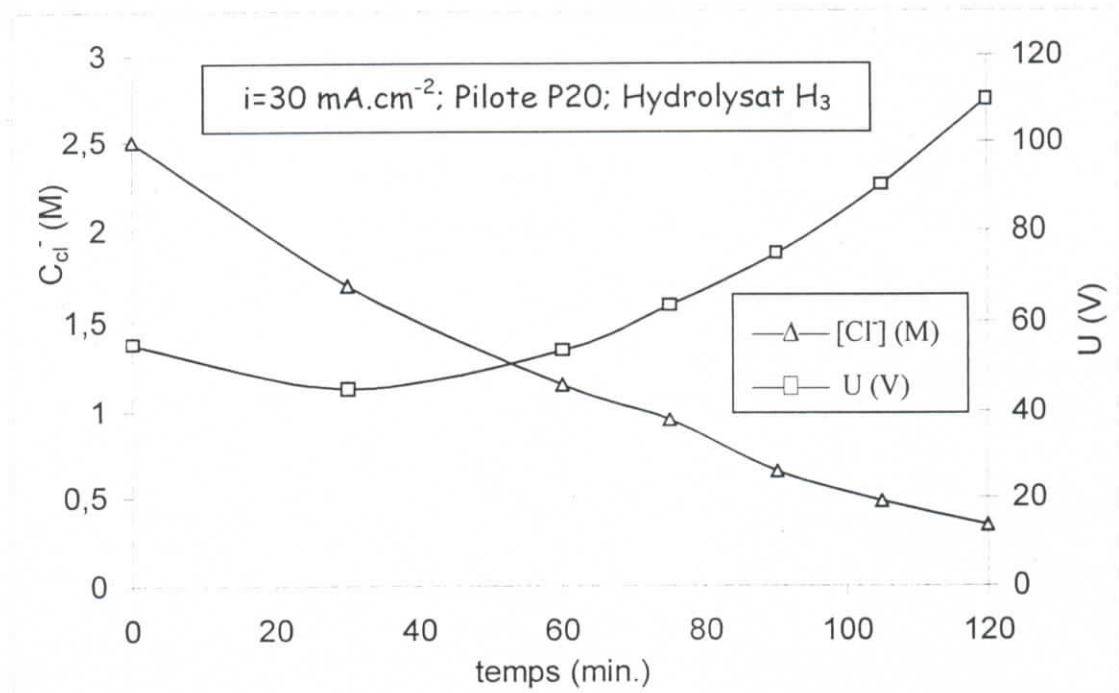


Figure n°17 : Evolution des chlorures et de la tension durant la déminéralisation de l'hydrolysate H₃.

Pour l'hydrolysât à faible concentration en acides aminés, une déminéralisation avec intensité de courant décroissante a été utilisée en vue d'éviter une brusque augmentation de la tension qui risque de détériorer les membranes échangeuses d'ions.

Il est important de suivre l'évolution de la concentration des acides aminés dans le compartiment diluât lors de la déminéralisation des 3 types d'hydrolysats. La figure 18 présente l'évolution de trois acides aminés du compartiment diluât en fonction de la concentration en chlorure, à savoir : l'acide aspartique, l'arginine et la sérine qui se trouvent respectivement sous la forme anionique, cationique et neutre. Nous constatons que les acides aminés ont une concentration constante lors de la déminéralisation des hydrolysats et où par contre la concentration des chlorures passe d'une concentration initiale $C_0=2,5 \text{ mol/l}$ à une concentration finale $C_f=0,5 \text{ mol/l}$.

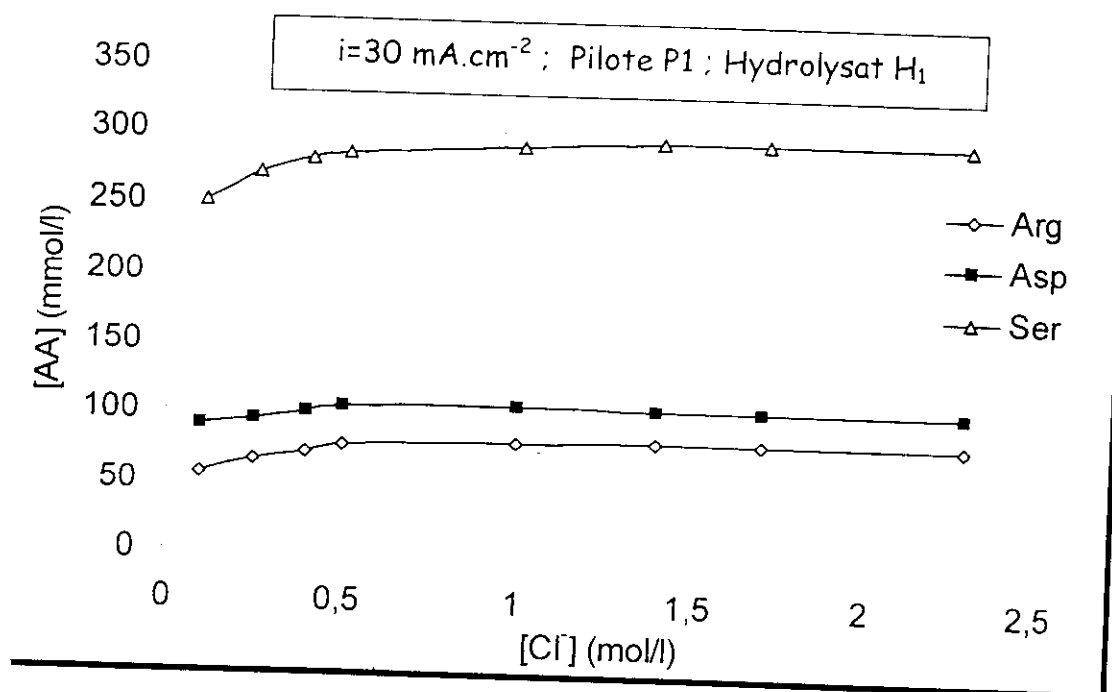


Figure 18 : Evolution de l'arginine, serine et acide aspartique du compartiment diluât en fonction de la concentration en chlorure

Cette dernière concentration sera retenue comme concentration limite de déminéralisation car en dessous de cette concentration, les acides aminés commencent à électromigrer à travers les membranes d'électrodialyse (Fig. 19).

En effet, à une concentration de chlorure inférieure à 0,5 mol/l, les pertes en acides aminés sont estimées à plus de 25 % pour l'arginine pendant que pour l'acide aspartique et la sérine les pertes restent en dessous de 10 %.

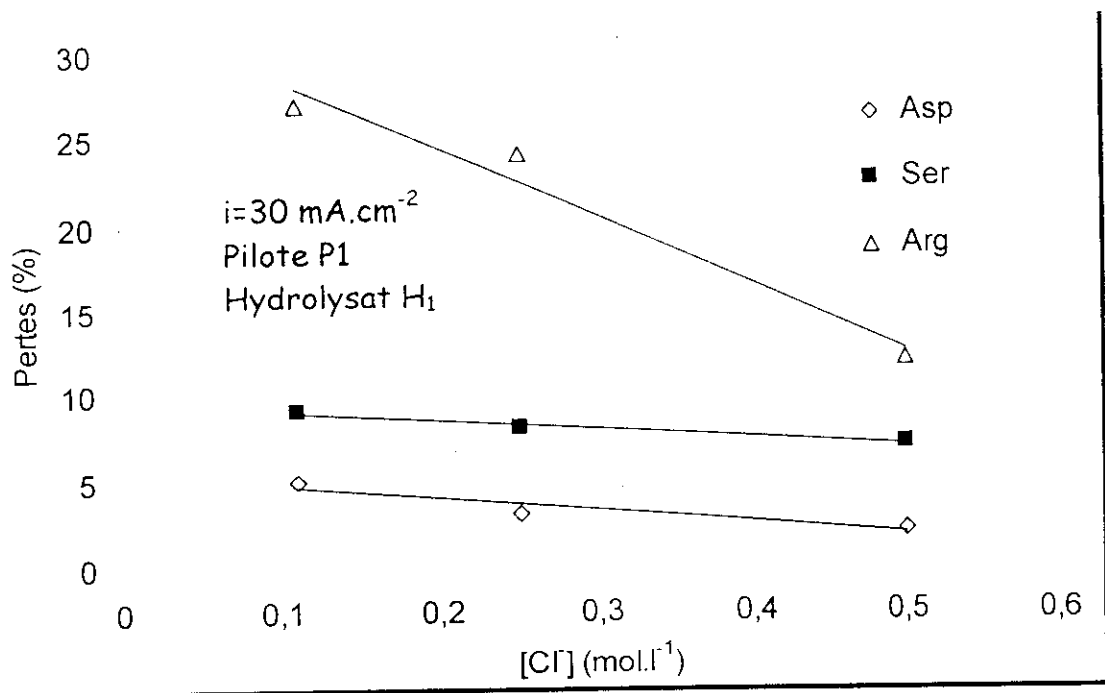


Figure 19 : Evolution des pertes en arginine, sérine et acide aspartique dans le compartiment dilué en fonction de la concentration en chlorure durant la déminéralisation.

Le tableau 5 donne un aperçu sur les pertes subies par les trois types d'hydrolysats lors de la déminéralisation avec une concentration finale en chlorure de 0,2 mol/l.

Ces résultats ont été obtenus avec le pilote P1 avec les échantillons H₁ et H₂ et enfin avec le pilote P20 pour l'hydrolysât H₃. De ces résultats, nous constatons que quelque soit la nature de l'hydrolysât les pertes en acides aminés basiques sont les plus importantes.

Il est aussi constaté que les pertes d'acides aminés de l'échantillon H₂ sont les plus fortes et cela malgré l'utilisation d'un courant décroissant lors de l'électrodialyse. La déminéralisation des échantillons a pu être réalisée avec des taux d'extraction de 90% et des rendements faradiques de 80%.

Tableau n°5 : Pertes subit par les types d'hydrolysats lors de la déminéralisation pour $C_{Cl^-}=0,2 M$.

Acides aminés	Pertes en acides aminés et en chlorures (%)		
	H ₁	H ₂	H ₃
Asp	3	21	3
Glu	33	23	4
Ser	7	17	5
Gly	14	20	5
His	24	64	4
Arg	23	40	11
Thr	4	22	6
Ala	14	23	4
Pro	9	21	3
Val	10	11	9
Ile	15	22	4
Leu	14	21	1
Phe	18	22	28
Lys	27	32	10
Cl ⁻	95	90	90

Toutefois, l'extraction du chlorure de sodium durant la déminéralisation s'accompagne d'un transport d'eau du compartiment diluât vers le compartiment concentrât. Le volume d'eau transporté dans ce cas est de l'ordre de 20 à 30 % du volume initial de l'hydrolysât. C'est ainsi que pour l'ensemble des trois échantillons, la concentration finale est plus importante que la concentration initiale et cela malgré les pertes de ces derniers durant l'expérience.

III.1.2 Extraction des acides aminés par groupes de famille:

L'extraction des acides aminés par groupe de famille a nécessité l'utilisation d'un électrodialyseur à quatre compartiments Eurodia 2D-5P9 préalablement présenté. L'hydrolysât déminéralisé est introduit dans le compartiment D₁ à un pH de 5 à 6 où les amphotères sont neutres et les autres acides aminés (acides et basiques) sont chargés. Ces derniers vont électromigrer, respectivement, vers les compartiments C₁ et C₂.

A la fin de l'expérience, les mélanges d'acides aminés sont séparés en trois familles d'acides aminés : F₁ qui contient essentiellement des acides aminés sous forme anionique, F₂ sous la forme cationique et enfin F₃ les acides aminés sous la forme neutre.

La figure 20 indique la décroissance du nombre de moles d'acides aminés chargés durant l'opération d'électrodialyse. Notons que la concentration de l'histidine est trop faible pour être représentée sur la figure.

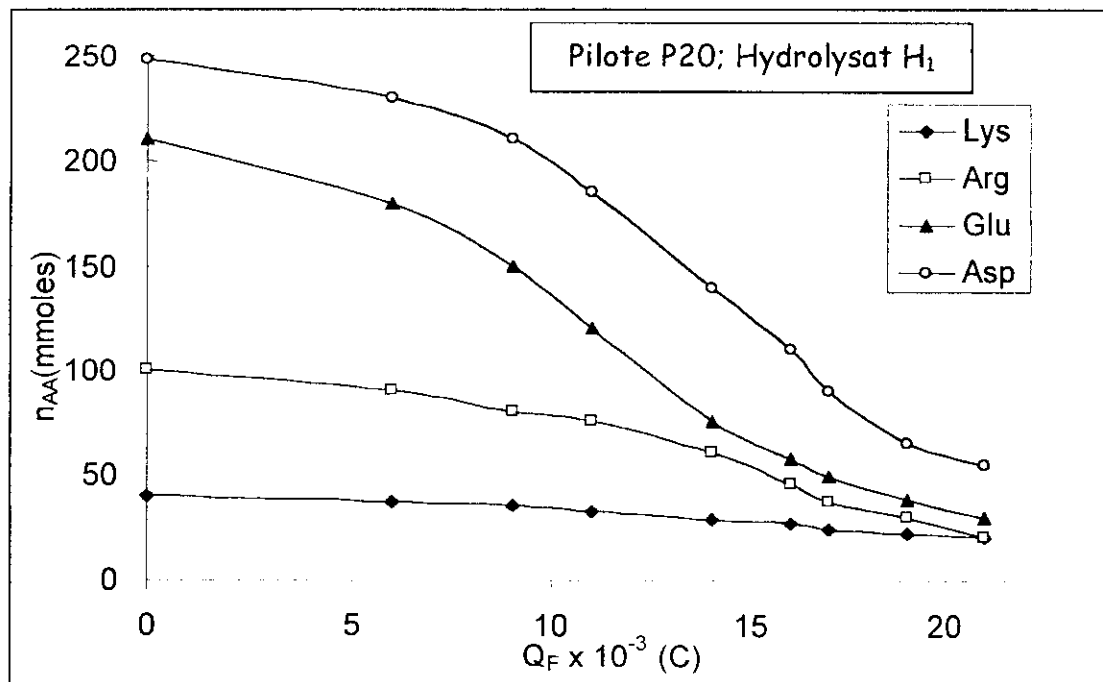


Figure 20 : Evolution du nombre de mole de lysine, arginine, acide glutamique et acide aspartique en fonction de la quantité de courant durant la déminéralisation.

Les courbes obtenues indiquent de faibles pentes au début de l'opération d'électrodialyse et cela durant les 5 premières minutes. Ce résultat peut s'expliquer par le fait de la présence des ions Na⁺ et Cl⁻, certes en faibles

quantités, mais qui au vu de leurs plus importantes mobilités ioniques sont les premiers à électromigrer. Une fois ces ions minéraux transportés, les acides aminés chargés sont à leur tour électrotransportés permettant ainsi la séparation de ces derniers en trois familles préalablement citées.

Kikuchi *et al.* (1995) ont étudié l'influence du pH sur l'électrotransport de l'acide glutamique et de la lysine et ont pu démontrer que le flux des acides aminés est maximum à des pH de l'ordre de 6. Au cours de l'opération de déminéralisation, nous avons opéré à un pH constant allant de 5 à 6. Cela indique donc que nous avons opéré dans des conditions de pH optimales qui correspondent aux points isoélectriques (pI) des acides aminés neutres.

Le suivi de l'évolution du pH dans ces compartiments lors de cette opération a permis de constater une faible augmentation du pH dans les compartiments D₁ et C₁. Pour le compartiment C₂, une nette décroissance du pH a été observée atteignant des valeurs proches de pH=2. Cela est probablement dû à la dissociation de l'eau dans les membranes (Fig.21).

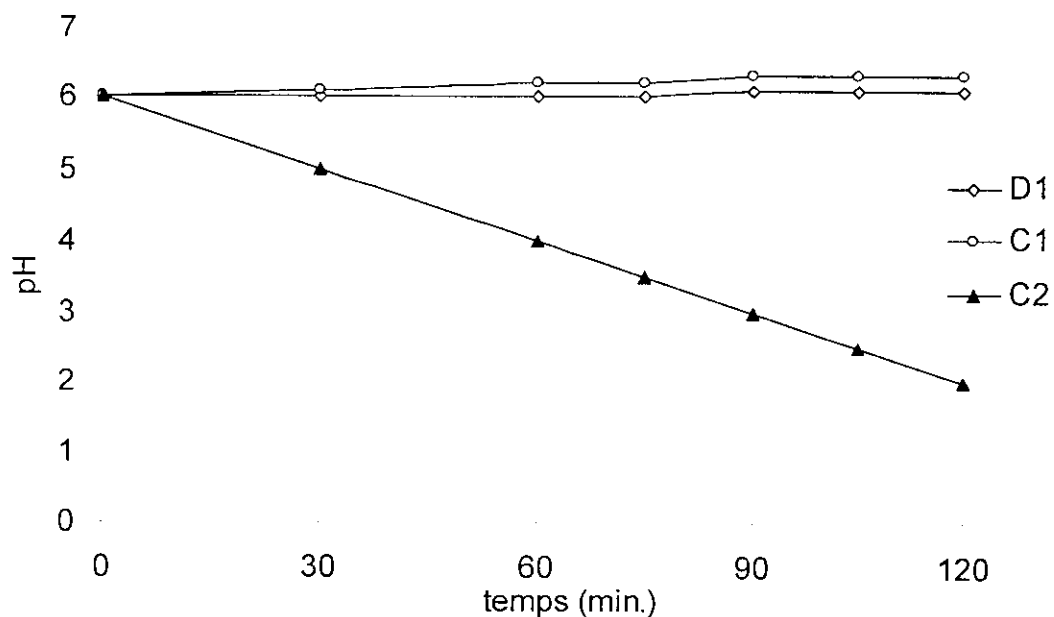


Figure 21 : Evolution du pH dans les compartiments D₁, C₁ et C₂ durant la déminéralisation

Les ions hydroniums ainsi formés de par leur mobilité ionique très élevée comparativement aux acides aminés chargés positivement vont plus facilement électromigrer à travers la membrane échangeuse de cations. Cela se traduit par

une acidification du compartiment C₂ et une croissance du transport des acides aminés cationiques.

L'opération d'extraction des acides aminés exprimé par le pourcentage de chaque acide aminé des fractions F₁ et F₂ a donné les résultats présentés sur le tableau 6 et cela pour chaque type d'hydrolysât. La séparation des acides aminés ayant une charge électrique a pu être réalisée efficacement pour l'hydrolysât obtenu à partir des rejets de poulet et des cheveux humains. Pour l'hydrolysât du sang bovin, un taux moyen d'extraction des acides aminés sous forme cationique de l'ordre de 50% a été obtenu.

Tableau n°6 : Pourcentage d'extraction des acides aminés dans les fractions F₁ et F₂ pour chaque type d'hydrolysât

Acides aminés	Rendement d'Extraction (%)					
	H ₁		H ₂		H ₃	
	F ₁	F ₂	F ₁	F ₂	F ₁	F ₂
Anionique						
Asp	98	-	100	-	100	-
Glu	88	-	98	-	92	-
Cationique						
His	-	100	-	15	-	50
Arg	-	100	-	33	-	93
Lys	10	80	4	51	-	85
Zwitterion						
Ser	11	5	14	6	4	8
Gly	13	9	14	4	5	12
Thr	10	2	2	2	2	4
Ala	23	7	4	4	10	6
Pro	5	5	2	2	2	7
Val	4	6	2	2	1	4
Leu	6	4	2	2	-	-
Phe	-	4	1	1	-	-

Toutefois, il a été constaté, avec l'hydrolysât H₂, que le nombre de mole d'acides aminés cationiques disparu du compartiment D₁ est plus important que celui mesuré au compartiment C₂. Cet écart peut s'expliquer par l'adsorption d'acides aminés chargés positivement sur la membrane échangeuses de cations.

Ce phénomène a été déjà obtenu par d'autres équipes de recherche (Sandeaux *et al.*, 1994 ; Fares *et al.*, 1994). Ce phénomène d'adsorption induit un colmatage de la membrane et une réduction considérable de la capacité d'électrotransport par les membranes échangeuses d'ions.

III.1.3- Séparation des acides aminés basiques:

Les acides aminés basiques F₂ récupérés lors de précédentes opérations d'électrodialyse, ont été traités une nouvelle fois à l'aide d'un électrodialyseur quatre compartiments (Eurodia 2D-5P9) en vue de la séparation des trois acides aminés basiques présents dans cette fraction F₂, à savoir l'histidine, l'arginine et la lysine.

Les expériences dans ce cas ont été menées à différents pH avec des valeurs allant de 10 à 12. A pH 10, la lysine et l'arginine étant sous forme de cation, sont transportées vers le compartiment C₂. A pH 11.3, la lysine et l'histidine étant sous formes d'anions, sont transférées vers le compartiment C₁.

Suivant la valeur du pH, nous avons pu orienter l'électro-transport de l'acide aminé suivant sa charge. Les résultats obtenus présentés sur le tableau 7, montrent qu'on arrive à obtenir une solution contenant pas moins de 95 % d'arginine pour l'hydrolysât de rejet de poulet et 80% de lysine pour l'hydrolysât du sang ovin (H₂).

Ces résultats intéressants permettent d'entrevoir une possibilité de concentration d'un acide aminé basique à partir d'un rejet de l'industrie agroalimentaire.

Tableau n°7: Enrichissement de l'arginine, la lysine et l'histidine dans les hydrolysats H_1 et H_2 pour différentes fractions obtenues par électrodialyse.

Acides aminés	Enrichissement (%)							
	Hydrolysats H_1				Hydrolysats H_2			
	H_1	F_2 (pH=11,3)	F_4	F_5	H_2	F_2 (pH=10)	F_4	F_5
His	0.4	7	28	-	7	16	38	2
Arg	4	71	8	95	3	12	-	18
Lys	2	21	64	5	6	49.5	6	80

III.1.4- Séparation des acides aminés neutres:

Enfin, la dernière étape de séparation des acides aminés neutres (fraction F_3) a été réalisée à l'aide du pilote P1 de Corning. La fraction F_3 , constituée essentiellement des acides aminés suivants : serine, glycine, thréonine, alanine, proline, valine et leucine, est introduite dans le compartiment diluât. A des pH basiques, l'ensemble des acides aminés neutres vont se transformer sous forme anionique mis à part la proline qui de part son important pKa (NH_3^+) sera sous la forme anionique à des pH plus élevés.

A un pH de 8,6, il a été possible dès le début de l'opération pour la fraction F_3 (échantillons H_1 et H_3), de séparer la sérine et la glycine du mélange F_3 d'acides aminés. Il s'en est suivi un enrichissement en ces deux acides d'une solution ainsi obtenue (fraction F_6). Ce résultat peut s'expliquer par la valeur faible du pKa (NH_3^+) de la sérine et la faible masse moléculaire de la glycine (Lehninger *et al.*, 1975). Les autres acides aminés électromigrent ensuite vers le compartiment concentrât laissant ainsi la proline seule dans le compartiment diluât.

Le tableau 8 indique que la fraction F_6 contient 60% de sérine et de glycine représentant la solution restante du diluât F_7 . On constate un enrichissement en proline dont la concentration est passée de 14 à 78%.

Tableau n°8: Enrichissement de la serine, glycine et proline dans les hydrolysats H₁ et H₃ pour différentes fractions obtenues par électrodialyse.

Acides aminés	Enrichissement (%)							
	Hydrolysat H ₁				Hydrolysat H ₃			
	H ₁	F ₃	F ₆	F ₇	H ₃	F ₃	F ₆	F ₇
Ser	18	21	33	-	19	25	46	-
Gly	14	17	27	-	11	14	21	-
Pro	13	16	-	55	14	18	-	78

Lors de l'étude de la séparation et de la concentration des acides aminés de différents hydrolysats de rejets, il est apparu que la technique d'électrodialyse conventionnelle, c'est-à-dire, équipée de membrane bipolaire pouvait très bien atteindre l'objectif d'extraire les acides aminés et les concentrer avec un degré de pureté intéressant.

Il a été aussi possible de déminéraliser et de décolorer les différentes solutions de mixtures d'acides aminés avec des pertes acceptables. De même, la concentration et la séparation des acides aminés par famille ont été réalisées permettant ainsi l'obtention des fractions contenant un à deux acides.

Enfin la séparation des acides aminés neutres a été réalisée mais où l'ajout d'acide et de base était nécessaire pour faire évoluer la charge électrique de l'acide aminé suivant la séparation que l'on désirait réaliser. Pour pallier à cet inconvénient, il a été envisagé de faire appel aux membranes bipolaires qui pourront apporter une solution à ce problème. Cette nouvelle voie a été explorée et cela s'est traduit par une nouvelle étude présentée ci-après.

III.2- UTILISATION DES MEMBRANES BIPOLAIRES EN VUE DE LA SEPARATION DES ACIDES AMINES NEUTRES

Plusieurs études (Sikdar, 1985 ; Alonso, 1986 ; Yoshikawa *et al.*, 1987 ; Rumeau *et al.*, 1988 ; Tichy *et al.*, 1990 ; Martinez *et al.*, 1992 ; Kikuchi *et al.*, 1995) ont montré que l'électrodialyseur conventionnel pourrait aussi être utilisé pour l'extraction des acides aminés. Dans cette étude, nous décrivons une méthode alternative pour l'extraction des acides aminés par électrodialyse.

L'originalité de cette méthode consiste à transformer les acides aminés électriquement neutres sous leurs formes ioniques au moyen d'une membrane bipolaire. Le but de ce travail est de proposer une alternative dans l'ajustement du pH par addition d'acide ou de base

A cause de leur nature amphotères, les acides aminés se comportent comme des cations, des anions ou des zwitterions. La glycine, serine, alanine, valine et la phénylalanine sont sous formes neutres (non chargées) à pH 5-6 (M. Greenstein, 1961)]. A pH alcalin, les espèces neutres anioniques sont en équilibre, la proportion de chaque espèce dépend des valeurs de pKa de NH_3^+ (Tab.9).

Tableau n°9. Caractéristiques principales des acides aminés utilisés.

Nom	Formule chimique	Masse molaire (g)	pK ₁ (COOH)	pK ₂ (NH ₃ ⁺)	pI
Gly	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{NH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \end{array}$	89,10	2,34	9,69	6,00
Ser	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{NH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \end{array}$	75,07	2,34	9,78	6,06
Ala	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \end{array}$	165,20	2,16	9,18	5,67
Val	$\begin{array}{c} \text{HO-CH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \end{array}$	105,09	2,19	9,21	5,70
Phe	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-CH}_3 \\ \\ \text{NH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \end{array}$	117,15	2,32	9,62	5,96

Au début des expériences, les ajustements de pH sont opérés dans les compartiments alimentation et récupération pour obtenir des solutions conductrices (chargées). Donc, la solution traitée par électrodialyse est un mélange alcalin contenant les cinq acides aminés précédemment mentionnés. La concentration de chaque acide aminé est de 100 mmol/l. D'après la valeur du pH initiale, les différentes fractions de la quantité totale d'acides aminés sont sous formes anioniques (Tab.10).

Tableau n°10 : Fractions (%) des acides aminés sous formes anioniques pour les différents pH dans le compartiment alimentation.

pH Alimentation	Pourcentage des fractions d'acides aminés (%)		
	8.5	9.5	10.5
Gly ⁻	7.5	44	88
Ser ⁻	16	64.5	95
Ala ⁻	7.5	44	88
Val ⁻	7.5	44	88
Phe ⁻	16	67	95

Un suivi du pH et de la concentration dans tous les compartiments est effectué en fonction du temps. L'efficacité du procédé a été exprimée en rendement d'extraction rendement faradique.

III.2.1- Variation du pH dans les compartiments alimentation et récupération

Le mélange d'acides aminés neutres a été introduit dans le compartiment d'alimentation pendant qu'une solution acide circulait dans le compartiment récupération. Trois pH alcalins: 8,5 ; 9,5 ; 10,5 et trois pH acides: 1, 2, 3, ont été étudiés.

La figure n°22 présente la variation du pH dans le compartiment d'alimentation pour une densité de courant de 100 A/m². Aucun changement du

pH n'a été observé pour le pH initial de 8,5. Avec des pH initiaux de 9,5 et 10,5 , les courbes obtenues sont semblables à celles de la neutralisation.

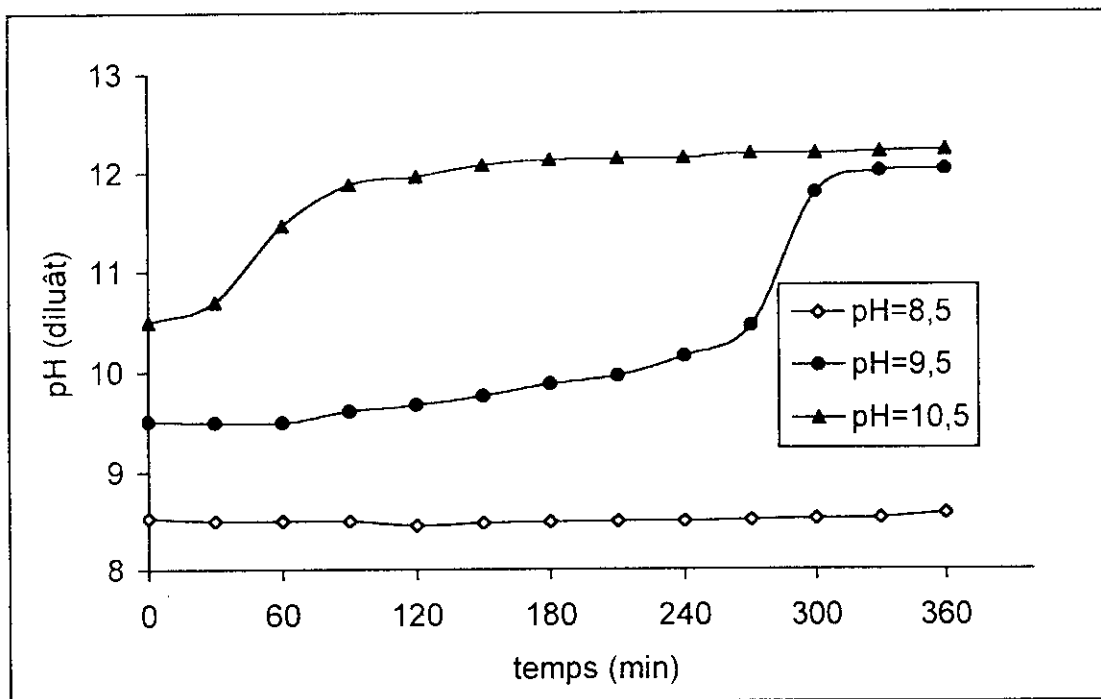


Figure n°22 : Evolution du pH dans le compartiment alimentation pour une densité de courant de 100 A/m^2

Au début de l'expérience, les ions hydroxyles (OH^-) fournis par la membrane bipolaire sont neutralisés par les acides aminés qui, simultanément, vont migrer dans le compartiment récupération, d'où le pH augmente légèrement. Lorsque la quantité en ions OH^- devient plus importante que celle des acides aminés, le pH augmente de façon significative. Pour une densité de courant donnée, l'augmentation du pH observé est obtenue pour un temps plus court avec un pH initial de 10.5 plutôt qu'avec un pH de 9.5.

Pour les membranes bipolaires, la production des ions H^+ et OH^- dépend de l'intensité de courant. Le pH change dans le compartiment d'alimentation peut être en rapport avec la densité du courant. À un pH initial de 8.5 (Fig.23), une légère augmentation du pH est observée seulement avec la plus haute densité de courant (200 A/m^2).

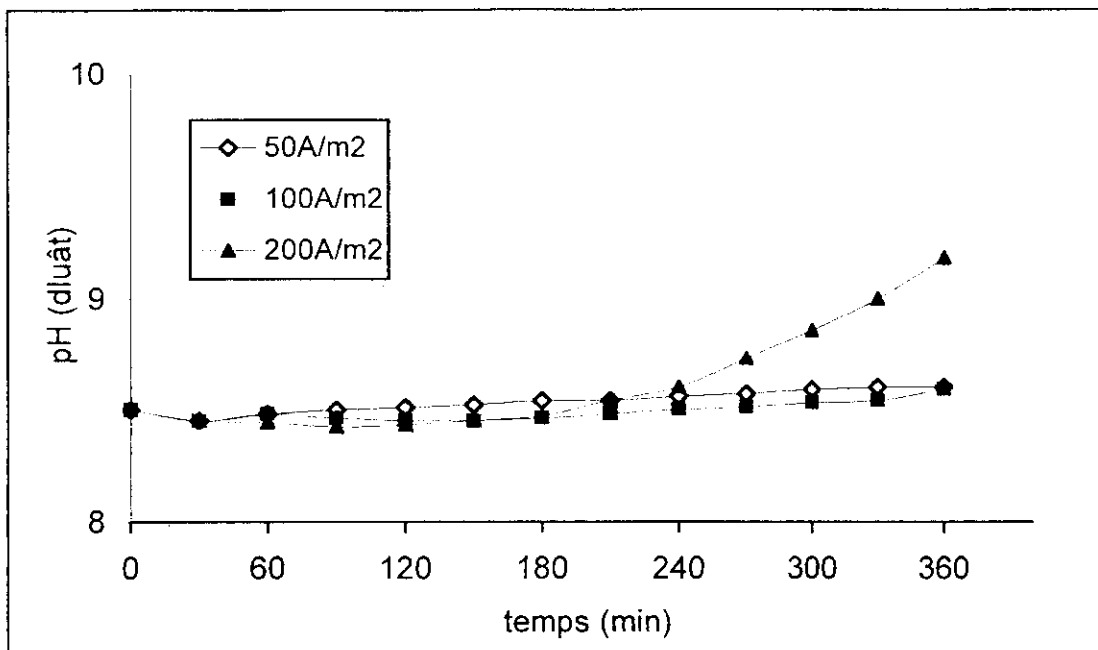


Figure n°23 : Evolution du pH d'alimentation en fonction du temps pour différentes densités de courant et à pH initial de 8,5.

Pour un pH initial de 9,5 (Fig.24), le pH augmente très légèrement pour la densité de courant de 50 A/m² pendant que les courbes de neutralisation sont obtenues pour 100 et 200 A/m².

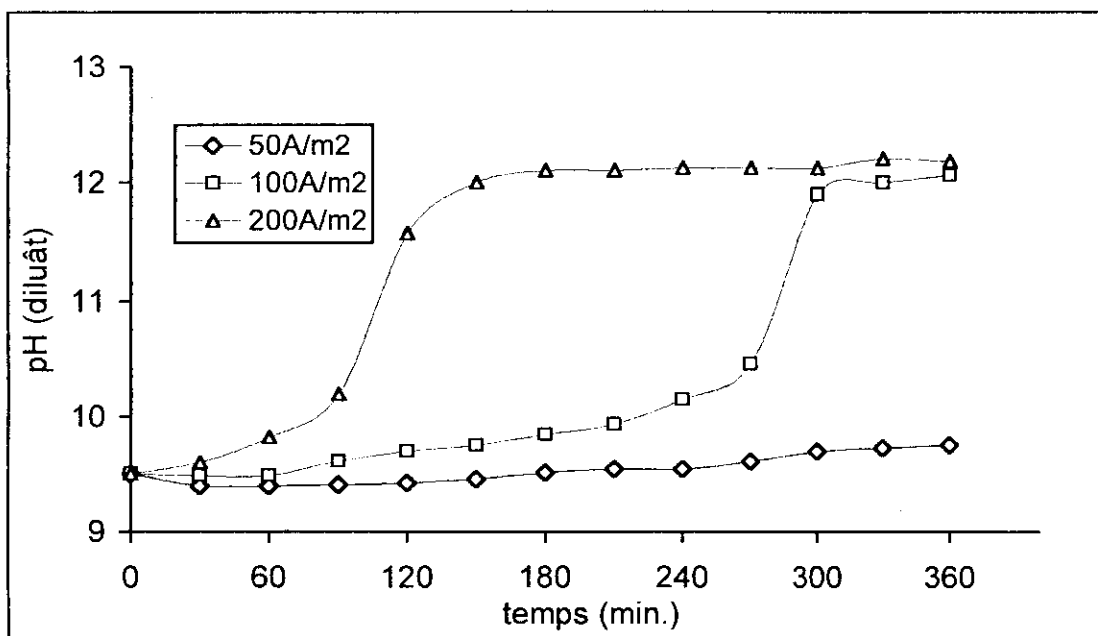


Figure n°24 : Evolution du pH d'alimentation en fonction du temps pour différentes densités de courant et à pH initial de 9,5.

A pH initial de 10.5 (Fig.25), la neutralisation de l'acide aminé est atteinte avec les trois densités de courants utilisées. Ces résultats montrent que le temps pour que le pH du diluât augmente de façon significative, devient plus court et plus important avec l'augmentation du pH initial et de la densité de courant.

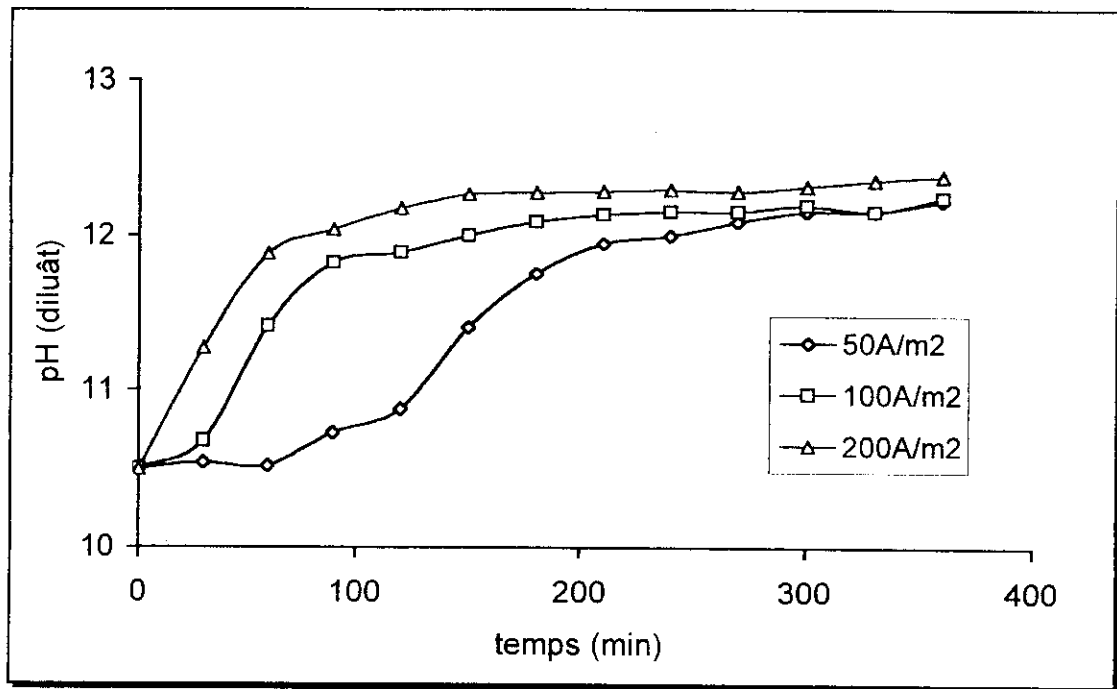


Figure n°25 : Evolution du pH d'alimentation en fonction du temps pour différentes densités de courant et à pH initial de 10,5.

Durant toutes les expériences, le pH augmente avec le temps dans le compartiment réception en dépit de la production de protons par la membrane bipolaire dans ce compartiment (Fig.26).

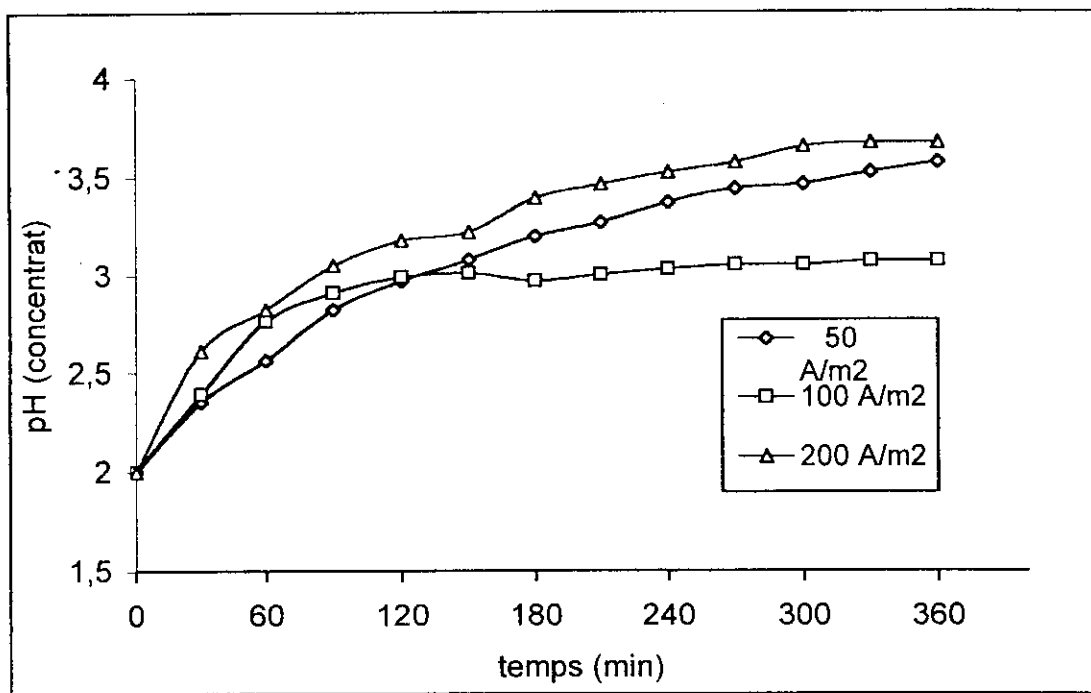


Figure n°26 : Evolution du pH de réception en fonction du temps pour différentes densités de courant et à pH initial pour l'alimentation de 9,5.

Ce résultat peut s'expliquer par le fait qu'il y a une fuite de protons à travers la membrane échangeuse d'anions vu que la concentration en ions H^+ est relativement élevée (10^{-2} M) au début de l'expérience. Un équilibre entre la production des ions H^+ et OH^- et les réactions de neutralisation est alors atteint. Les figures 25 et 26 montrent que des valeurs constantes du pH ont été atteintes dans les deux compartiments pour les temps suivants: approximativement 300 et 100 min pour respectivement, 100 et 200 A/m^2 . Néanmoins, aucune influence considérable du pH dans le compartiment récepteur n'a été observée sur le rendement faradique, comme sur le pourcentage d'extraction des acides aminés. Par conséquent, seule l'influence du pH dans l'alimentation sera discutée plus tard.

III.2.2 Rendement d'extraction

L'étude du rendement d'extraction est exprimée par la relation suivante:

$$R_{\text{ext}} = \frac{n_{\text{AA}}^i(\text{Récupération})}{n_{\text{AA}}^o(\text{Alimentation})} \quad (22)$$

où n_{AA}^i et n_{AA}^o sont respectivement le nombre de moles d'acides aminés dans le compartiment réception au temps t et dans le compartiment alimentation à temps 0.

Les rendements d'extractions, déterminés à partir des mesures de concentration de chaque acide aminé, sont rassemblés dans le tableau 11. En prenant en considération la densité de courant et le temps de l'expérience, 45% et 90% seulement des acides aminés pourraient être extraits pour respectivement 50 et 100 A/m². Pour 200 A/m², la totalité des acides aminés pourrait être extrait.

Tableau n°11. Rendement d'extraction (%) par électrodialyse pendant 6 h.

pH alimentation	% des fractions d'acides aminés								
	8.5			9.5			10.5		
I (A.m ⁻²)	50	100	200	50	100	200	50	100	200
Gly ⁻	36.4	66.8	78.4	45.2	87.6	92.4	45.2	76	68.8
Ser ⁻	28.8	58.4	72.8	36.8	83.2	87.2	40.8	77.2	58
Ala ⁻	20.4	39.6	34	23.6	71.6	59.2	23.6	54	47.6
Val ⁻	13.6	32.8	31.6	20.4	44.8	39.2	20.4	30.4	30.8
Phe ⁻	26	45.2	29.2	36.4	64.2	55.6	36.4	42.8	40.8

Les valeurs de rendement d'extraction sont exprimées comme une fonction du nombre total de charges électriques qui ont migré à travers la membrane d'échangeuse d'anions. La forme des courbes de la serine et glycine d'un côté, et alanine, phénylalanine et valine de l'autre, est différente. Les Figures 27 et 28 illustrent les différentes courbes obtenues à pH 9.5 pour trois densités de courant. Dans chaque cas, les meilleurs rendements d'extraction ont été obtenus pour une densité de courant de 100 A/m². Pour 50 A/m², le taux de production d'ions OH⁻ n'est pas suffisant pour permettre la neutralisation totale des acides aminés. Par contre, pour 200A/m² un excès d'ions OH⁻ est produit.

A cause de leurs plus grandes mobilités comparées avec ceux des acides aminés, les ions hydroxyles traversent la membrane échangeuse d'anions plus facilement. Une compétition dans l'électro-transport entre les ions hydroxyles et les acides aminés enregistrent une diminution du rendement d'extraction.

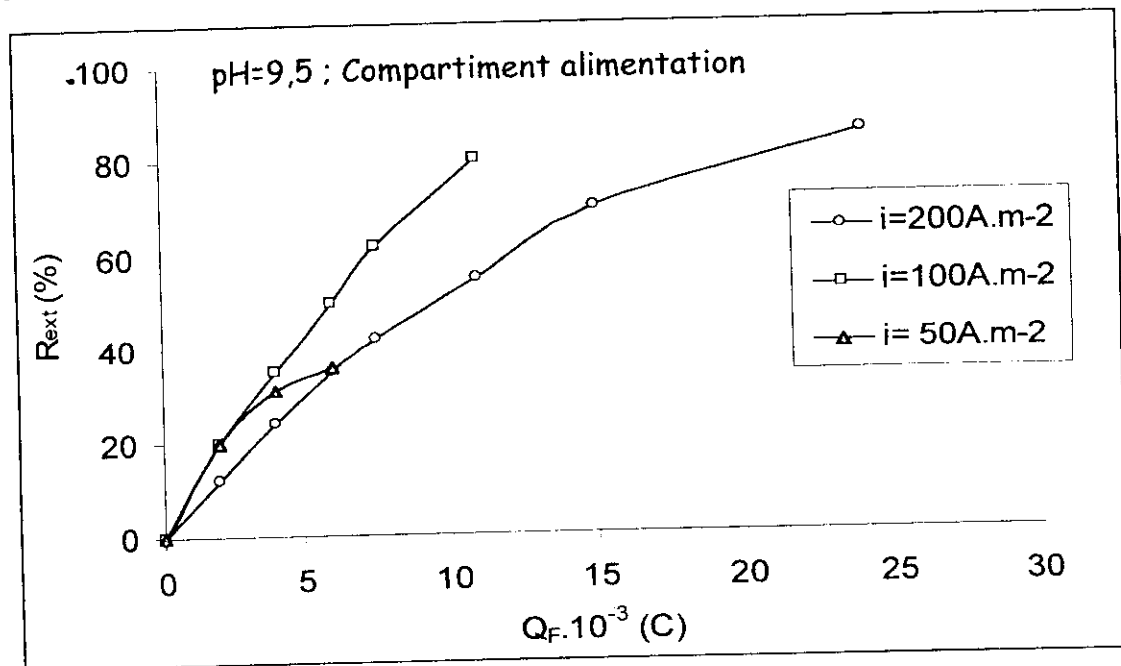


Figure n°27 : Evolution du rendement d'extraction de la serine en fonction du nombre total de charges électriques pour différentes densités de courant.

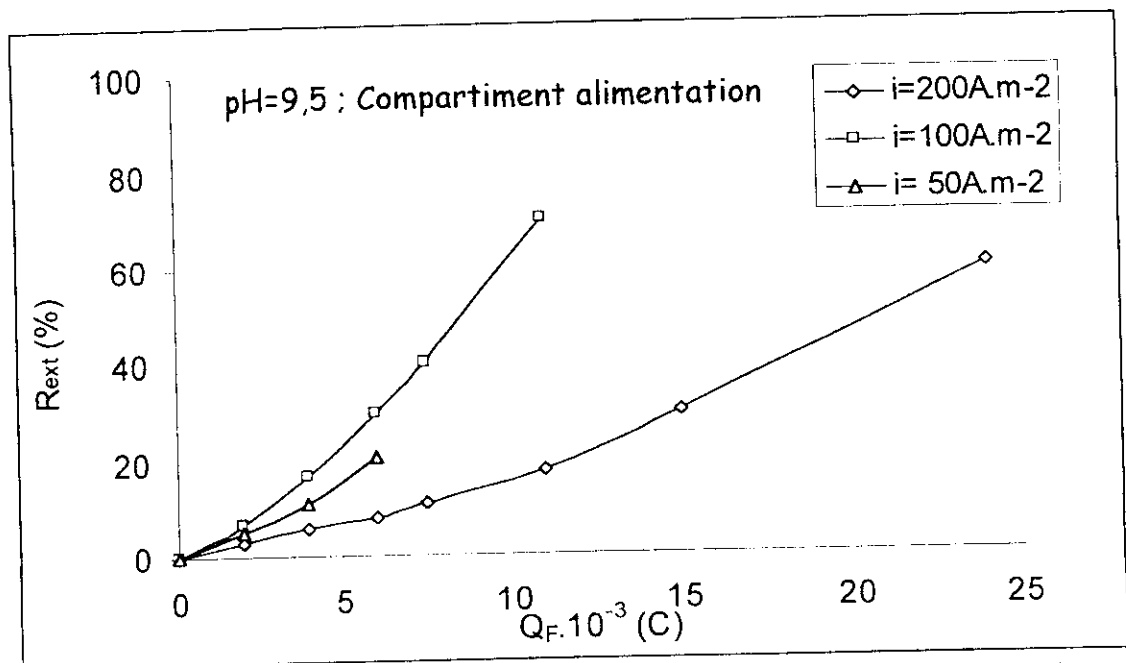


Figure n°28 : Evolution du rendement d'extraction de l'alanine en fonction du nombre total de charges électriques pour différentes densités de courant.

De plus, les figures 27 et 28 montrent que la serine et la glycine sont mieux extraites que les autres acides aminés. Les rendements d'extraction obtenus pour un courant de 10800 C et des pH initiaux de 9.5 et 2 dans les compartiments alimentation et récupération sont les suivants (Fig. 12):

Tableau n°12: Rendement d'extraction obtenu pour un courant de 10800C et pH initiaux de 9,5 et 2.

Acides aminés	Rendement d'extraction (%)
Glycine	87,6
Serine	83,2
Alanine	71,6
Valine	44,8
Phénylalanine	64,2

La migration de ces acides aminés peut être déterminée en rapport avec leurs masses molaires et le pKa (NH₃⁺) (Tab. 13).

Tableau n°13 : Caractéristiques des acides aminés.

	<i>Ala</i> CH ₃ - CH(NH ₂)COOH	<i>Gly</i> H- CH(NH ₂)COOH	<i>Phe</i> C ₆ H ₅ -CH ₂ - CH(NH ₂)COOH	<i>Ser</i> HO-CH ₂ - CH(NH ₂)COOH	<i>Val</i> (CH ₃) ₂ -CH- CH(NH ₂)COOH
Masse Molaire	89.1	75.07	165.2	105.09	117.15
pK ₁ (COOH)	2.34	2.34	2.16	2.19	2.32
pK ₂ (NH ₃ ⁺)	9.69	9.78	9.18	9.21	9.62
pI	6.00	6.06	5.67	5.70	5.96

D'un côté, la migration augmente si la quantité d'anions augmente. De l'autre côté, la perméabilité de la membrane est plus grande pour des anions plus petits. Le plus haut rendement d'extraction a été obtenu pour la glycine à cause de sa masse moléculaire qui est la plus basse des cinq.

La quantité de sérine extraite, malgré que sa masse moléculaire soit plus grande, est plus importante que celle de l'alanine: ce résultat peut s'expliquer par le fait que le pKa (NH₃⁺) de la sérine est plus faible. Pour les mêmes raisons, la quantité d'extraction de la phénylalanine est plus importante que celle de la valine.

III.2.3 Rendement faradique:

Le rendement faradique est un paramètre important dans les procédés d'électrodialyse. Il est donné par la relation suivante:

$$R_F = \frac{z_{AA} \times n_{AA}^t \times F}{i \times t} \quad (23)$$

Où z_{AA} est la valence électrochimique de l'acide aminé, n_{AA}^t est le nombre de mole d'acide aminé dans le compartiment récupération au temps t , F est la constante de Faraday et i est l'intensité de courant.

Si n_{AA}^t est la quantité en moles des cinq acides aminés dans le compartiment récupération, R_F représente le rendement faradique de la totalité des acides aminés. Comme illustré dans les Figues 29 et 30, le meilleur R_F , approximativement 80 %, a été obtenu avec un pH d'alimentation de 9.5 et une densité de courant de 100 A/m². Cela confirme les résultats des rendements d'extraction.

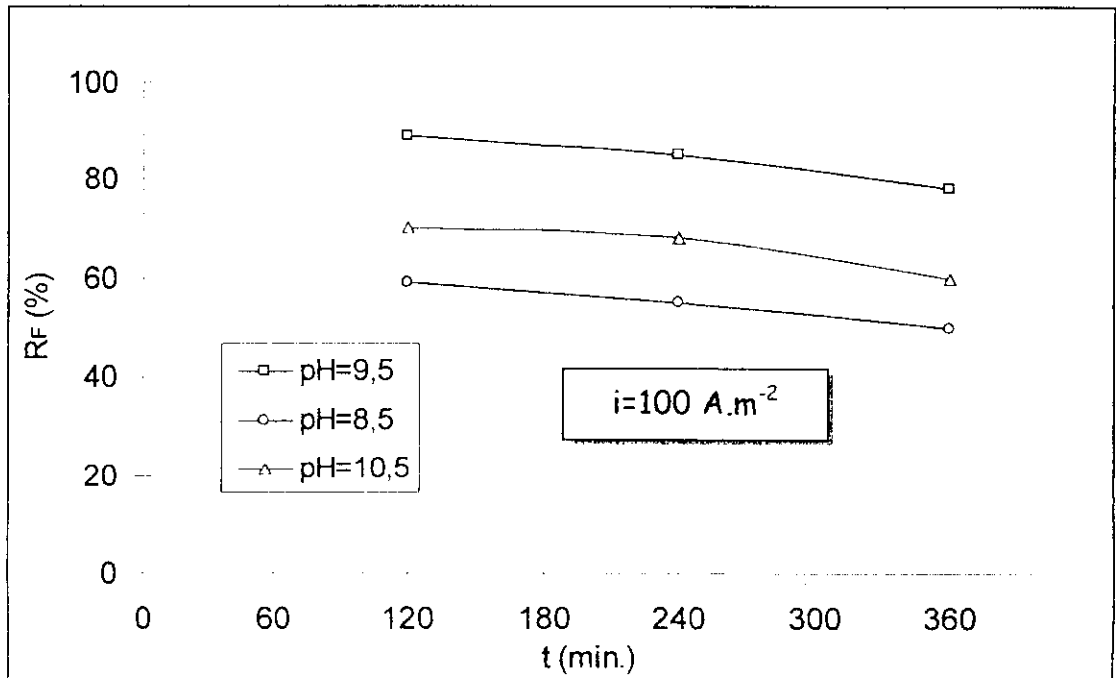


Figure n°29 : Influence du pH sur l'évolution du rendement faradique en fonction du temps.

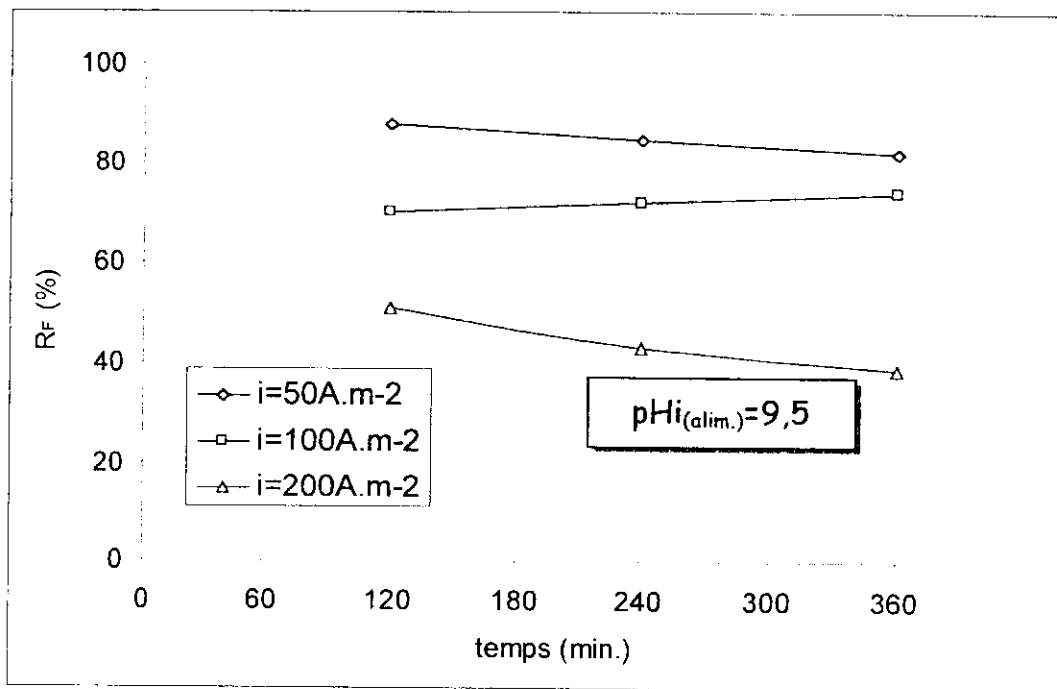


Figure n°30 : Influence de la densité de courant sur l'évolution du rendement faradique en fonction du temps

Si le pH et la densité de courant sont trop bas, la quantité d'ions OH^- produite est trop faible pour transformer la totalité des acides aminés sous leurs formes anioniques. Par conséquent, le courant électrique est porté par les ions hydroxyles et diminue en partie le rendement faradique.

Si par contre, le pH et la densité de courant sont trop forts, la conductivité électrique peut être obtenue par le transport d'ions hydroxyles qui résulte de leur grande mobilité. Le rendement faradique est ainsi réduit en dépit de la neutralisation totale de l'acide aminé de cette façon.

III.2.4. Fuite de l'acide aminé à travers la membrane bipolaire

L'efficacité du processus peut aussi être réduite par les pertes d'acides aminés qui traversent les membranes bipolaires. Dans des travaux antérieurs (El-Moussaoui *et al.*, 1994 ; Gineste, 1996), les fuites du sodium et des chlorures à travers les membranes bipolaires ont été étudiées. Une fuite de quelques pour cent a été obtenue en fonction de la concentration de NaOH et/ou de HCl. Les pertes peuvent être aussi importantes pour des petites molécules faiblement ionisées tels que SO_2 , NH_3 et HF (Mani, 1991).

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent qu'une fuite de l'acide aminé se produit à travers la membrane bipolaire qui sépare le compartiment d'alimentation du compartiment cathodique. La plus grande valeur (6 %) a été obtenue avec le plus petit acide aminé ; à savoir la glycine (Fig.31).

La fuite maximale s'effectue à un pH de 8,5 parce que la plupart des acides aminés sont sous forme neutre et peuvent ainsi diffuser à travers la membrane bipolaire.

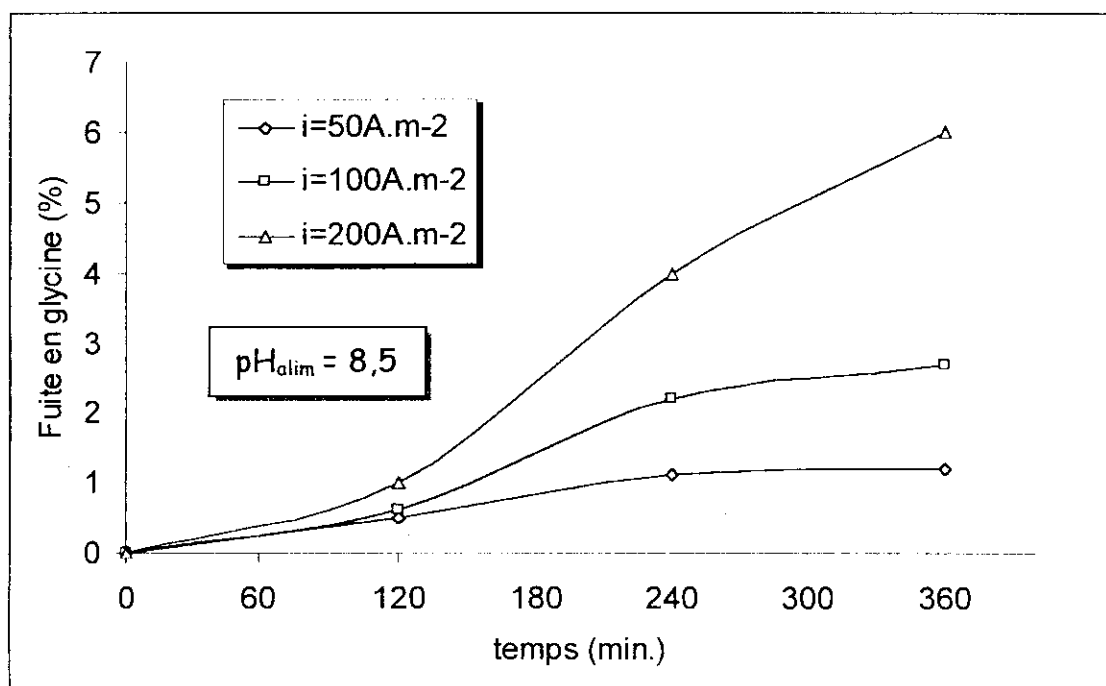


Figure n°31: Evolution de la fuite de la glycine à travers la membrane bipolaire pour différentes densités de courant.

Comme mentionné précédemment, lorsque le pH ou la densité de courant augmente, les acides aminés sont transformés sous la forme basique qui migre à travers la membrane échangeuse d'anions préférentiellement vers le compartiment récupération. Sous les conditions optimales d'extraction, c'est à dire: $pH=9.5$ et $i=100 A/m^2$, la fuite est approximativement de 2 % pour la glycine, 0.6 % pour la serine et l'alanine et 0.04 % pour la valine et la phénylalanine.

Les résultats obtenus lors de cette étude réalisée à l'échelle laboratoire sont très prometteurs. Le pH initial dans le compartiment alimentation et la densité de courant sont des paramètres très importants sur le rendement de l'opération. S'ils sont trop faibles, la quantité d'ions hydroxyles formée n'est pas suffisante pour transformer toute la quantité d'acides aminés sous la forme anionique.

Si par contre, ils sont trop forts, les ions OH^- sont présents en excès dans le compartiment alimentation et une compétition a lieu entre l'électro-transport des ions OH^- et AA^- . Et dans ce cas, l'extraction des acides aminés diminue et diminue les performances du procédé.

Lors de cette étude, les conditions optimales de pH et de densité de courant sont respectivement 9,5 et 100 A/m^2 .

L'usage de la membrane bipolaire améliore le procédé d'électrodialyse parce qu'il fournit une méthode pour transformer l'ionisation de ces espèces seulement avant et après leur extraction, sans le besoin d'ajouter des réactifs. Donc, les acides aminés sont récupérés sous la forme neutre et pas sous la forme sel.

Enfin, une application de l'électrodialyse classique a été réalisée en vue de concentrer un acide aminé produit par voie de synthèse, à savoir la phénylalanine et cela en vue de tester l'opportunité de l'utilisation de cette technique dans des procédés industriels. Une étude a été réalisée en vue d'évaluer les performances de ce procédé dans le dessalement et la concentration de solutions contenant la phénylalanine.

III.3- APPLICATION DE L'ELECTRODIALYSE AU DESSALEMEMENT DE SOLUTION INDUSTRIEL DE PHENYLALANINE

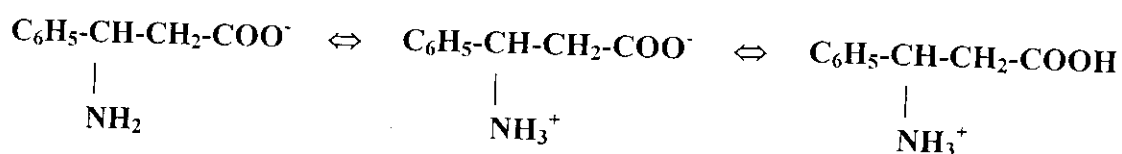
Les acides aminés produits par synthèse organique sont souvent dilués dans des solutions salines. Le problème de déminéralisation des solutions salines se pose avec acuité pour les industriels.

Dans le cadre de nos travaux de recherche, nous nous sommes intéressés à la déminéralisation d'une solution industrielle contenant de la phénylalanine et du sulfate d'ammonium et de sodium.

La phénylalanine est un acide aminé possédant une fonction carboxylique, une fonction amine et un radical aliphatique dont les pK ont les valeurs suivantes:

$$pK_1 = 2,16 \qquad pK_2 = 9,18 \qquad pI = 5,67$$

L'équilibre ionique de la phénylalanine selon qu'il est en milieu acide, basique ou neutre est le suivant:



Porteuse d'une charge positive en milieu acide, la phénylalanine devient électriquement neutre par la présence simultanée d'une charge négative et d'une charge positive appelée communément zwitterion ou Amphion. En milieu basique, la fonction amine perd son proton ainsi que la fonction carboxylique.

III.3.1- Concentration de l'acide aminé produit par synthèse organique :

L'acide aminé produit par synthèse organique est extrait par le biais d'un électrodialyseur à 5 compartiments équipés de membranes échangeuses d'ions CDS-Morgane-solvay et ADP-Morgane-Solvay (préalablement présentés).

Dans une première étape, la déminéralisation de la solution a été réalisée sur des membranes non préconditionnées. Les résultats obtenus, présentés sur la figure 32, indiquent une perte en acide aminé de 25 % après 10 heures de déminéralisation. Cette perte trop élevée en phénylalanine, rend inefficace le procédé d'électrodialyse dans ces conditions.

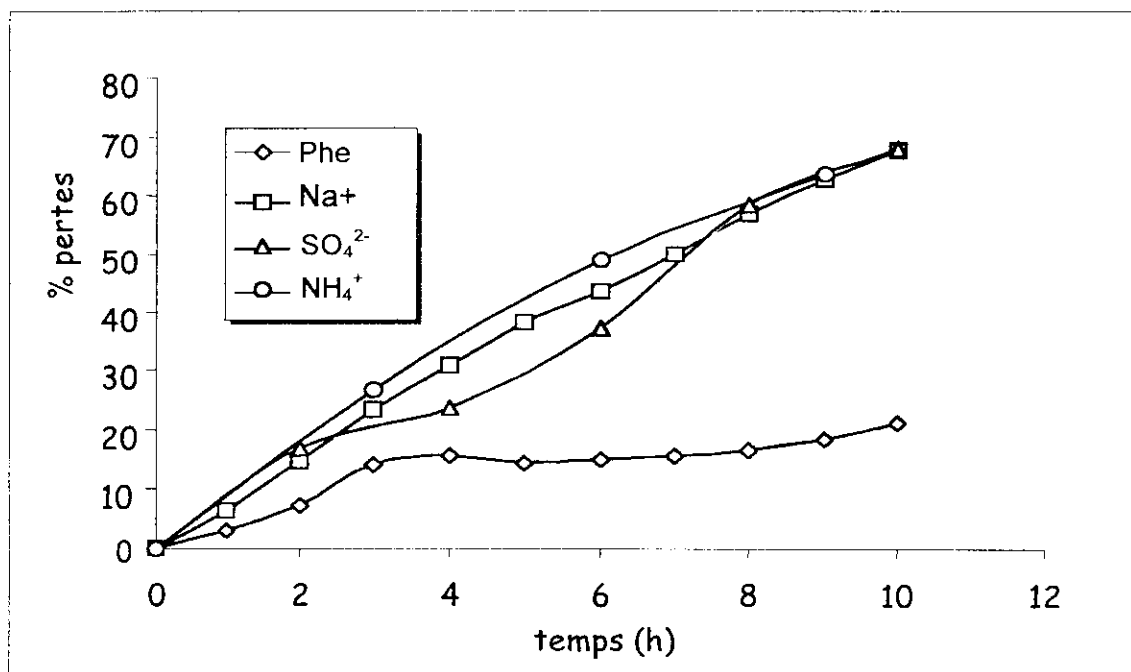


Figure n°32 : Pourcentage de perte de la Phénylalanine et des ions Na^+ , SO_4^{2-} et NH_4^+ utilisant une membrane non conditionnée.

Dans une deuxième étape, nous avons pré conditionné les membranes d'électrodialyse en les trempant dans la solution à traiter pendant 18 heures avant l'opération de déminéralisation.

Les résultats obtenus après ce premier pré conditionnement, ont permis de constater une nette amélioration des performances du procédé d'électrodialyse (Fig.33). En effet, les pertes en phénylalanine sont passées de 25% à 13 %.

Dans ce cas, la déminéralisation des ions NH_4^+ et SO_4^- est pratiquement totale. Le rendement faradique de cette opération est de l'ordre de 96 %.

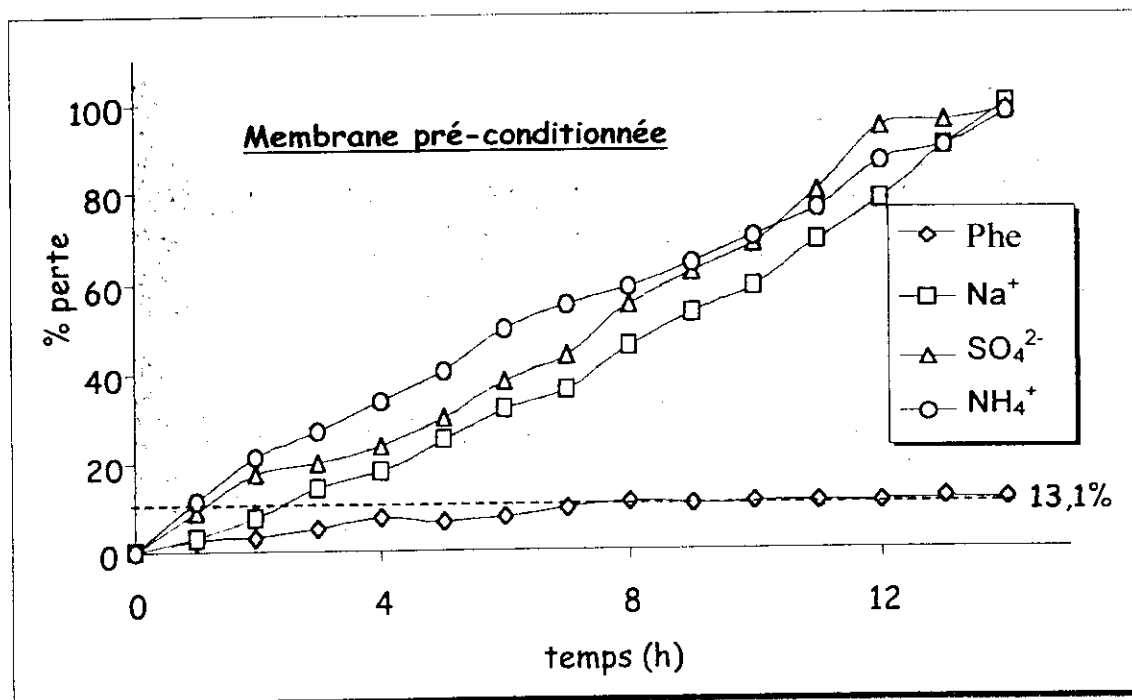


Figure n°33 : Pourcentage de perte de la Phénylalanine et des ions Na⁺, SO₄²⁻ et NH₄⁺ utilisant une membrane pré-conditionnée.

Dans une troisième étape, nous avons opéré à un pré conditionnement original de la membrane qui consiste à la modification de la surface des membranes échangeuses d'ions par adsorption de BSA (Co=10 g/l) durant deux heures. Les résultats obtenus avec ces nouvelles membranes pré conditionnées ont permis de limiter les pertes en acides aminés à 5 % pour une déminéralisation pratiquement totale des sels contenus dans la solution (Fig.34). Un rendement faradique de 98 % a été obtenu lors de cette dernière opération.

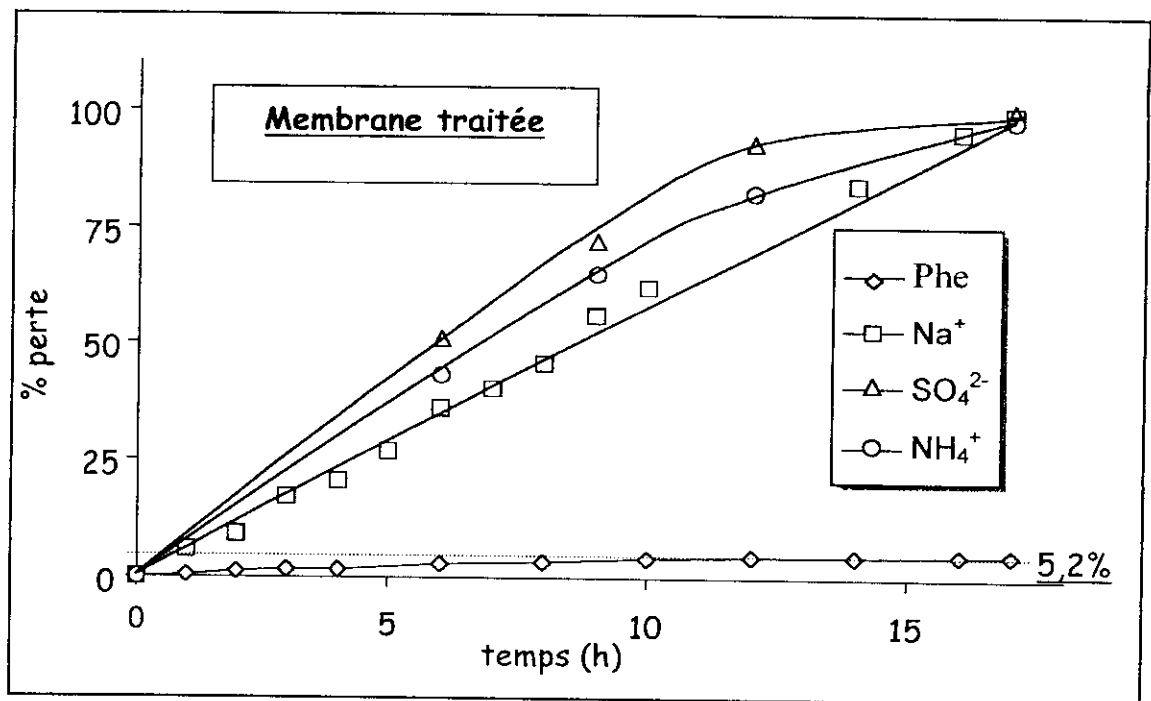


Figure n°34: Pourcentage de perte en Phénylalanine et des ions Na⁺, SO₄²⁻ et NH₄⁺ après traitement à la BSA

Avec des conditionnements de membranes d'électrodialyse judicieusement choisies, l'électrodialyseur s'est avéré très efficace pour la déminéralisation d'un produit de la synthèse organique de la phénylalanine dans un procédé industriel. Dans ce cadre, un original pré conditionnement des membranes échangeuses d'ions à l'aide de la BSA a été proposé et a ouvert un champ d'application de l'électrodialyse dans ce domaine.

En conclusion des travaux de recherche réalisés à l'aide de procédés électromembranaires, nous pouvons affirmer avoir confirmé l'efficacité de ces procédés lors de la concentration et séparation des acides aminés, une fois les paramètres opératoires optimisés. Le choix des membranes et du procédé se sont avérés très importants et déterminant lors de la prise de décision des industriels. En effet, Les procédés électromembranaires ont pu résoudre les problèmes de séparation et de concentration de ces acides aminés provenant aussi bien de produits biologiques issus des rejets d'industries agroalimentaires que d'un produit industriel de synthèse organique d'acide aminé.

Enfin, plus récemment une nouvelle technique membranaire, à savoir la nanofiltration (Rauntenbach *et al.*, 1990 ; Tsuru *et al.*, 1994 ; Martin-Orue *et al.*, 1998 ; Guizard, 1998), a fait son apparition sur le marché. L'application de cette dernière technique pour la concentration des acides aminés nous est apparue

intéressante sachant que de plus hauts débits sont obtenus avec la nanofiltration comparativement à l'électrodialyse. Notre intérêt s'est porté sur l'utilisation de cette dernière technique afin de déterminer son potentiel d'application dans le domaine de la concentration et séparation des acides aminés.

III.4. RETENTION DES ACIDES AMINÉS AVEC UNE MEMBRANE DE NANOFILTRATION D'ALUMINE γ

La nanofiltration est un procédé membranaire permettant la concentration de peptides des acides aminés (Martin-Orucet *al.*, 1998 ; Garcin *et al.*, 1997). Lors de cette étude, notre intérêt s'est porté sur l'étude de l'influence de différents paramètres tels le pH, la pression transmembranaire et la concentration en sel sur le taux de rejet observé (R_o) de quatre acides aminés pour une membrane minérale. Le comportement de chacun des acides aminés étant seul ou dans le mélange d'acides aminés a été analysé. Quatre acides aminés ont été utilisés lors de cette étude : L-alanine, phénylalanine, L-glutamique et arginine. Les caractéristiques de ces derniers sont présentées sur le tableau n°14 décrit précédemment dans la partie expérimentale.

Tableau 14: Caractéristiques des acides aminés utilisés

Acide aminé	Abréviation	Point Isoélectrique	Masse Moléculaire	Rayon (nm)
L- Alanine	Ala	6.00	89.1	0.238 ^a
Phénylalanine	Phe	5.69	165.2	0.293 ^a
L-Glutamique	Glu	3.22	147.1	0.28 ^b
Arginine	Arg	10.75	174.2	0.30 ^b

a : En utilisant la relation $r_s = r_p (M_w/M_{wCo100})^{1/3}$ (C. Martin-Oruc-1998)

b : (R. Schnabel *et al.*-1988)

III.4.1- Influence des conditions expérimentales sur le régime permanent de la nanofiltration

L'influence des conditions expérimentales sur le régime permanent a été étudié en déterminant la variation du flux de perméat durant la nanofiltration.

Les résultats présentés sur les figures 35 à 39 indiquent que le flux de perméat de la nanofiltration pour des solutions contenant seulement un acide aminé (avec une concentration initiale de 10^{-2} M) et une mixture d'acides aminés (ayant chacun une concentration de 10^{-2} M dans le mélange) a atteint le régime permanent à un temps expérimental de 60 minutes et cela indépendamment de la valeur du pH allant de 4 à 8.

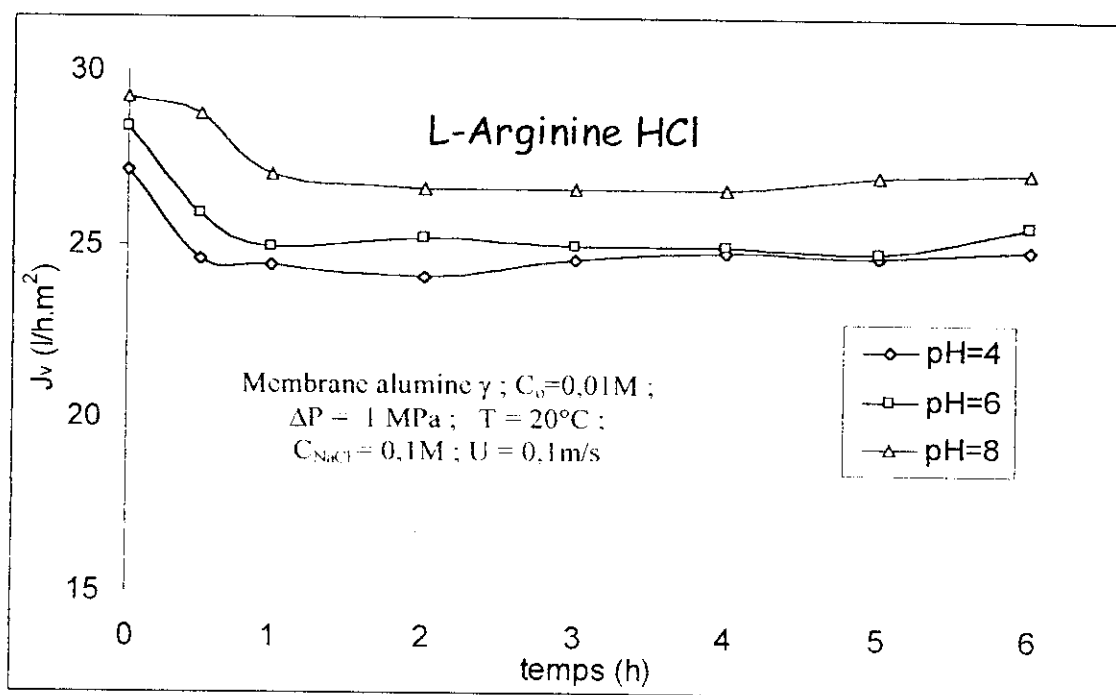


Figure n° 35: Evolution du flux de perméat de la L-arginine HCl par nanofiltration

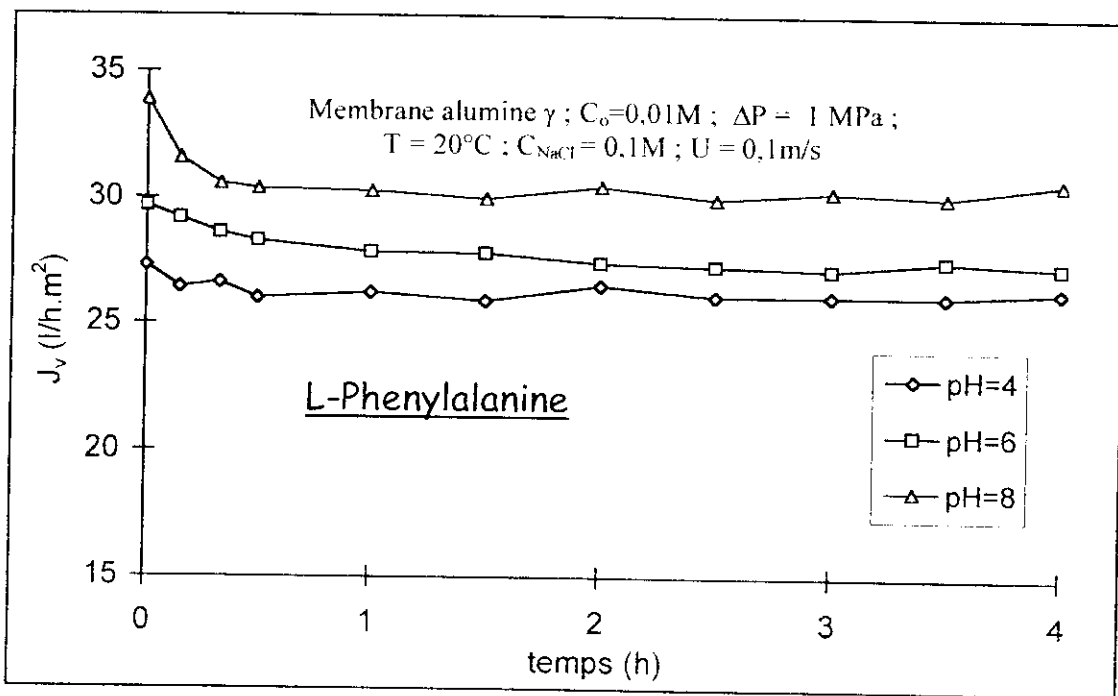


Figure n° 36: Evolution du flux de permeat de la L-phenylalanine par nanofiltration

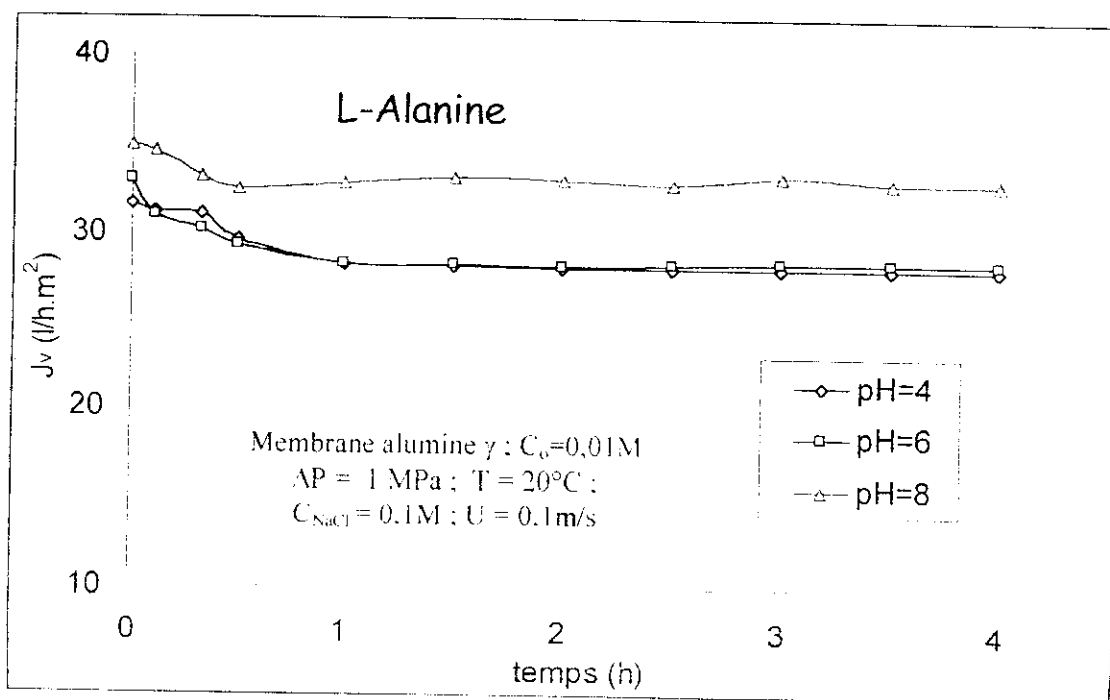


Figure n° 37: Evolution du flux de permeat de la L-alanine par nanofiltration

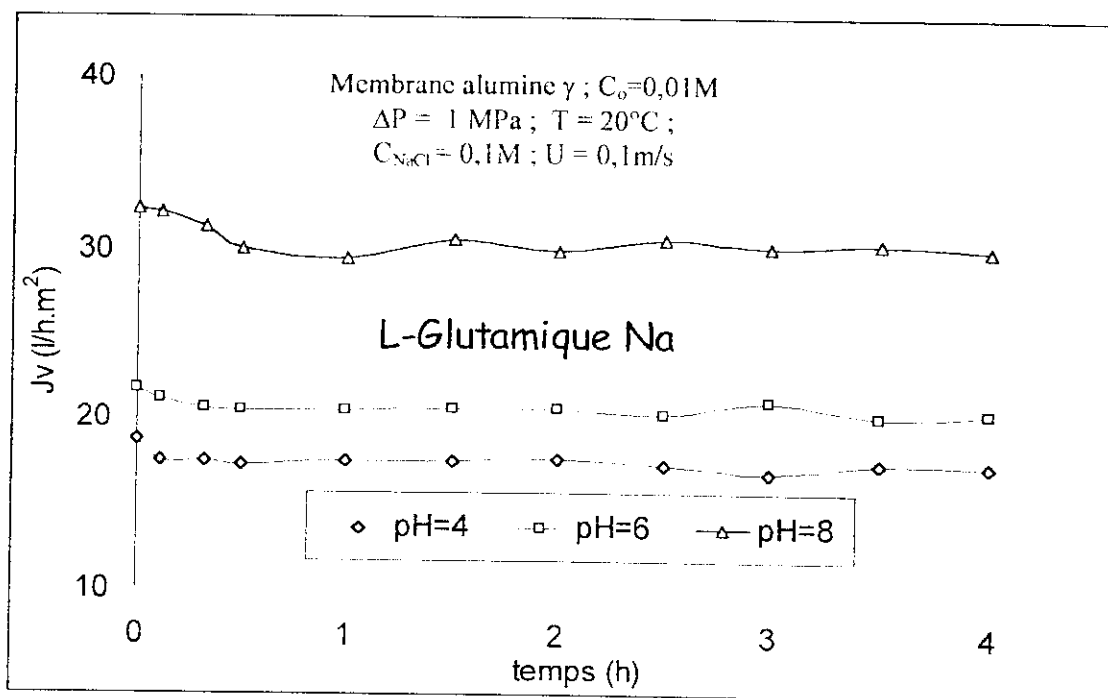


Figure n° 38: Evolution du flux du permeat du L-Glutamique Na par nanofiltration

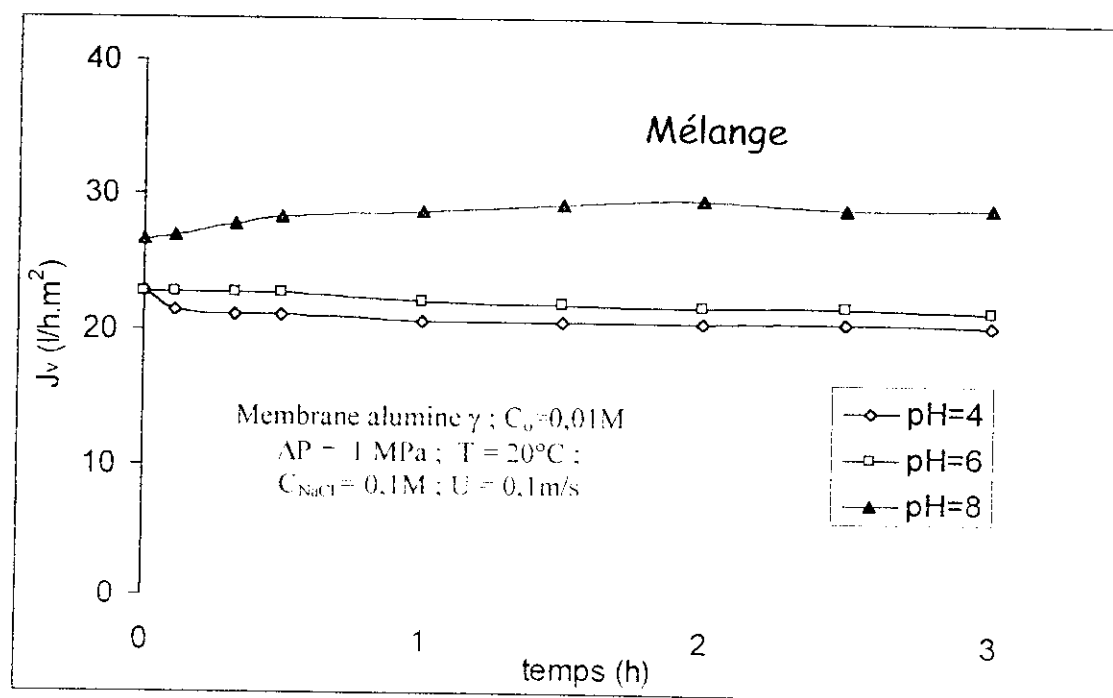


Figure n° 39: Evolution du flux du permeat du mélange par nanofiltration

Une augmentation du pH des solutions contenant les acides aminés induit une augmentation du flux de perméat de la membrane minérale et cela quelque soit la solution utilisée. Le flux de perméat est légèrement influencé lorsque le pH varie de 4 à 6 comparativement au pH 8. Ce résultat peut s'expliquer par le fait qu'à pH 8, nous sommes pratiquement dans la zone du point de charge zéro pour la membrane minérale. Ces résultats sont en accords avec ceux obtenus par Guizard (1998) qui a démontré qu'un flux maximum d'une membrane minérale à base de zircone est obtenu pour des valeurs de pH proches de la zone du point de charge zéro.

Les résultats obtenus avec les solutions contenant un seul acide aminé sont pratiquement similaires avec le mélange des acides aminés (Fig. 40 et 41). En effet, dans les deux cas l'équilibre est atteint au bout de 60 minutes. Le flux de perméat obtenu pour le mélange d'acides aminés est du même ordre de grandeur que le plus faible flux de perméat obtenu avec la solution contenant uniquement l'acide glutamique. Le transfert de solvant à travers la membrane peut être expliqué par le couplage des effets de la formation de la couche de polarisation et des phénomènes électrocinétiques rencontrés sur la membrane.

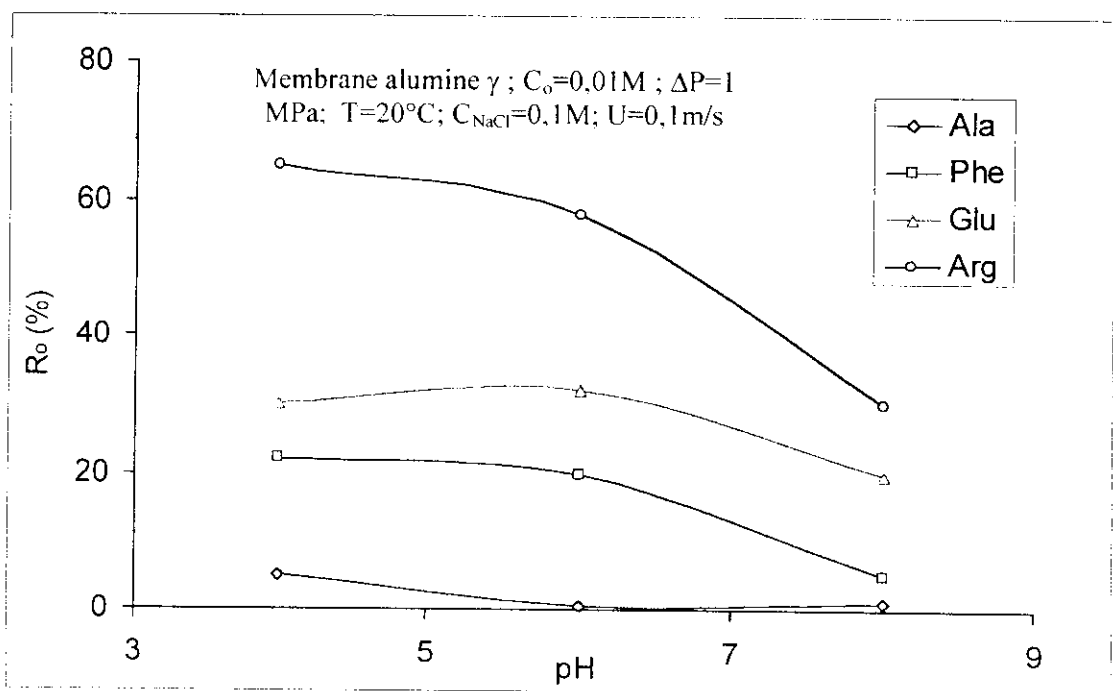


Figure n°40 : Evolution du coefficient de rétention en fonction du temps pour chaque acide aminé seul.

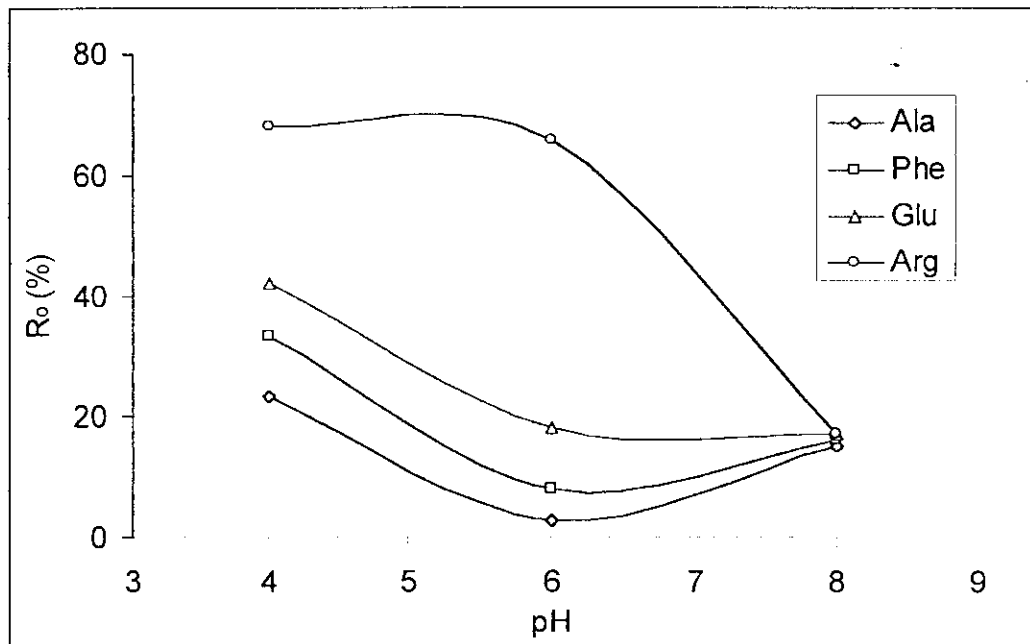


Figure n°41 : Evolution du coefficient de rétention en fonction du temps pour le mélange d'acides aminés.

Les effets de ces derniers sur la résistance de la membrane au passage du solvant à travers les pores sont dépendants de la modification de la longueur de Debye avec la force ionique et le pH de la solution (Masawaki *et al.*, 1994).

L'effet de la force ionique sur le flux de perméat de nanofiltration a été étudié à l'aide de trois solutions de NaCl à un pH 6 ayant des concentrations allant de 10^{-3} à 10^{-1} M. La nanofiltration d'une mixture d'acides aminés à différentes concentrations de NaCl (Fig.42) a confirmé que le régime d'équilibre est atteint au bout de 60 minutes et cela indépendamment de la valeur de la force ionique. Il a été aussi observé que la concentration de sel influe peu sur la valeur du flux de perméat.

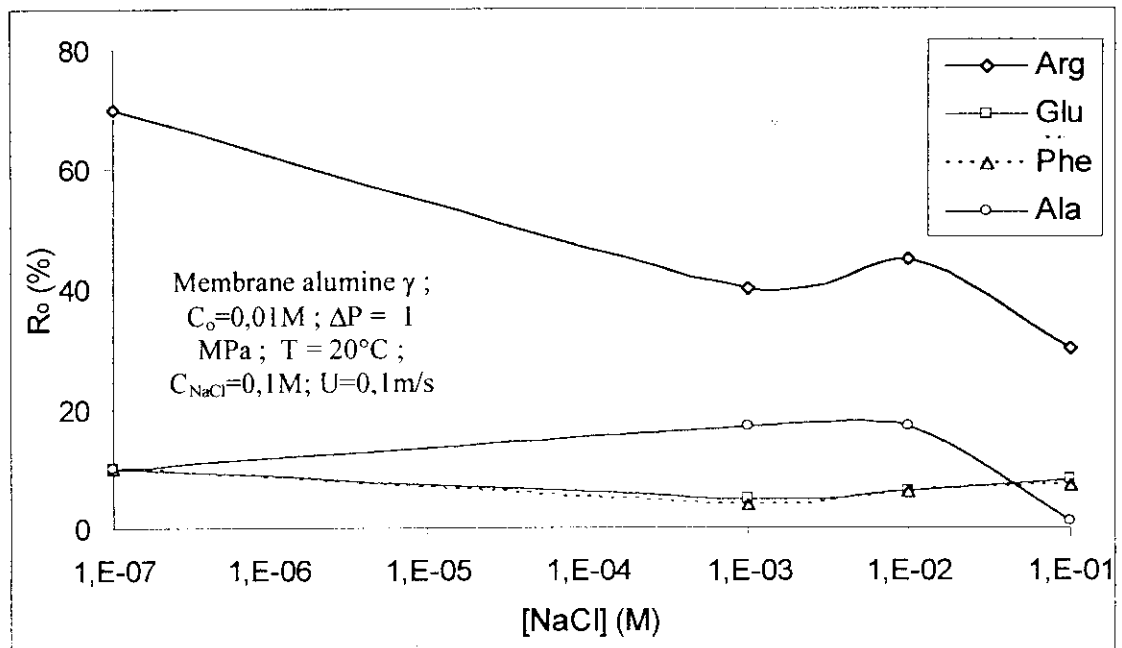


Figure n°42 : Evolution du coefficient de rétention sur le mélange d'acide aminé

L'effet de la pression transmembranaire (ΔP) sur le flux de perméat lors de la nanofiltration des acides aminés une autre fois que le régime permanent est atteint au bout de 1 heure pour ΔP variant de 0.6 à 1.2 MPa (Fig.43). La croissance de la pression transmembranaire induit une augmentation du flux de perméat indiquant que le gel ne s'est pas formé sous ces conditions opératoires. Ces résultats sont en accords avec le modèle des pores (Paine *et al.*, 1975).

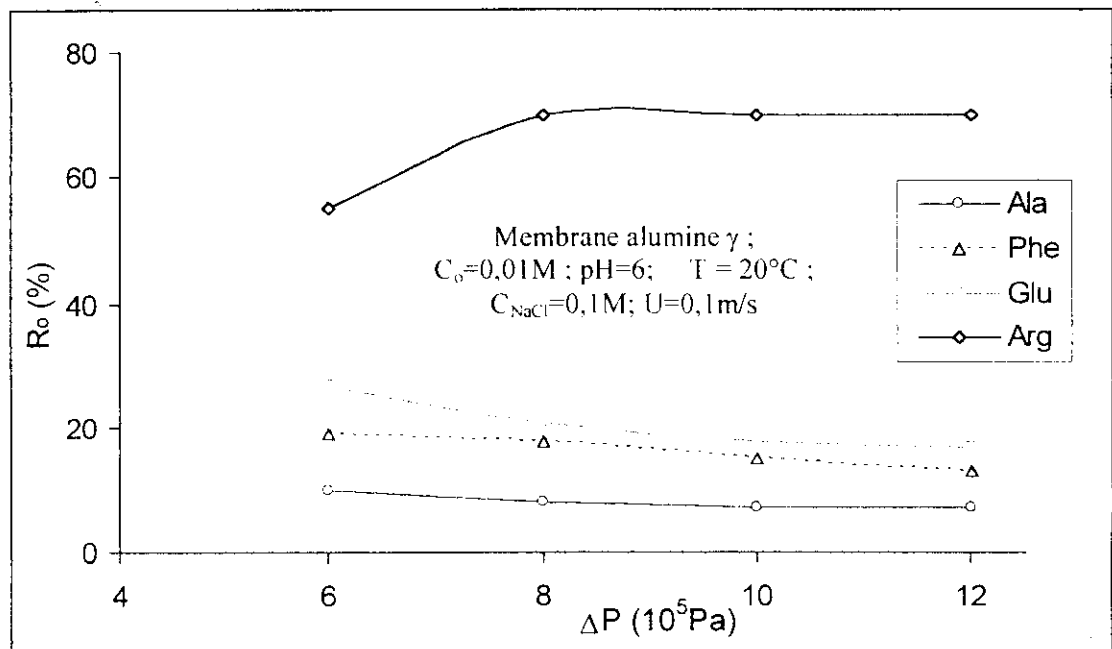


Figure n°43 : Evolution du coefficient de rétention en fonction de la pression transmembranaire du mélange d'acide aminé

III.4.2 Taux de rejet observé lors de la nanofiltration des acides aminés

Les performances de la nanofiltration en vue de la concentration ou séparation des acides aminés ont été évaluées par le biais de la détermination du taux de rejet observé (R_o). Ces taux déterminés expérimentalement ont été comparés aux taux de rejet calculés (R_s) obtenus par la relation de Paine et Sherr :

$$R = R_s = (1 - \lambda(\lambda - 2)^2 \exp(-0.7146\lambda))^2 .$$

Les taux de rejet calculés R_s , de chaque acide aminé utilisé sont présentés sur le Tableau 15. Les valeurs obtenues indiquent que pour l'ensemble des acides aminés le taux de rejet R_s est inférieur à 5%. Ces faibles valeurs de R_s indiquent que le phénomène de rétention par effet stérique aura peu d'influence sur le taux de rejet observé R_o .

Tableau 15 : Le taux de rejet calculé R_s de chaque acide aminé

Acide aminé	R_s (%)
L- Alanine	3.3
L-Phenylalanine	4.8
L-Glutamic	4.4
L-Arginine	5.0

La variation du taux de rejet observé pour différents pH et acides aminés a été déterminée durant la nanofiltration. Les résultats obtenus, permettent de constater que la valeur stable du taux de rejet R_o est atteinte au bout de 60 minutes. Ce temps correspond au temps nécessaire pour l'obtention du régime permanent de la nanofiltration.

Nous pouvons aussi constater que les valeurs de R_o pour l'ensemble des acides aminés sont différentes des valeurs calculées par le biais de la relation de Paine et Sherr basée sur l'effet stérique. Il en ressort ainsi que ce phénomène à lui seul n'est pas représentatif du transport à travers la membrane minérale de nanofiltration. Ce qui nous ramène à considérer que les effets de charge électriques, phénomène basé sur la répulsion des charges électriques et cela en conformité avec la théorie de Donnan : $R_c = 1 - (v_{ct} Z_{ct} C_o / M)^{Z/Z_{ct}}$.

Les taux de rejet observé déterminés après quatre heures de manipulation pour chacun des acides aminés utilisés sont présentés en fonction du pH sur la figure n°40. Ces résultats indiquent que l'augmentation du pH induit une décroissance du taux de rejet observé et cela quelque soit l'acide aminé utilisé. Toutefois, il est apparu que indépendamment de la valeur du pH, le taux de rejet observé de la phénylalanine est plus important que celui de l'alanine. Ce résultat peut s'expliquer par la présence du groupement phényle au niveau de la molécule de phénylalanine permettant ainsi d'avoir un volume plus important pour cette molécule que celle alanine. Les valeurs des taux de rejets calculés R_s basés sur la gêne stérique (Tab.15) ont montré que le taux de la phénylalanine ($R_s = 5\%$) est légèrement supérieur à celui de l'alanine (3%).

Sachant que la région du point de charge zéro de l'alumine γ est de l'ordre de pH 8, une croissance du pH 4 au pH proche de la région du point de charge zéro de l'alumine γ induit une réduction de la densité de la charge électrique positive de la membrane et sur les pores de la membrane de nanofiltration.

Il a été aussi constaté que bien que l'acide glutamique et l'arginine ont la même taille en termes de diamètre (Tab.14), les taux de rejet observé ont été très différents pour ces deux acides aminés. En effet, le taux de rejet observé de l'arginine est pratiquement le double par rapport à celui de l'acide glutamique. Ce résultat peut s'expliquer par le phénomène de répulsion dû aux charges électriques conformément à la théorie de Donnan. Cela peut s'expliquer, d'une part, par le fait que l'arginine, en tenant compte de son point isoélectrique (Tab. 14), est totalement sous forme de cation. D'autre part la croissance du pH diminue la densité de charge positive de la membrane de nanofiltration jusqu'à la neutralisation de cette dernière dans la région du point de charge zéro. Le phénomène de répulsion électrostatique est moins important au fur et mesure que l'on se rapproche de région du point de charge zéro

A un pH de l'ordre de 8, correspondant à la région du point de charge zéro (Guizard, 1998), l'effet de la répulsion électrostatique peut être considéré comme négligeable. Le taux de rejet observé des acides aminés dans ce cas peut être considéré comme résultant de l'effet stérique, c'est à dire $R = R_s$. Les résultats obtenus pour les solutions contenant un seul acide aminé indiquent que les taux de rejet observé déterminé expérimentalement sont supérieurs aux valeurs des taux de rejet R_s . Ces résultats peuvent être du au fait que la présence d'acides aminés pourrait donner à la membrane leur propre signe (Masawaki *et al.*, 1994). Des résultats similaires ont été déjà obtenus par Alami *et al.* (1994) avec une membrane de nanofiltration en alumine γ .

Le taux de rejet observé des acides aminés sous forme basique et acide est d'une manière générale gouvernée par le phénomène de répulsion par les charges électriques avec la surface de la membrane. Toutefois une différence a été observée entre les taux de rejet obtenus pour les acides aminés seuls dans la solution et ceux déterminés dans la mixture des acides aminés. Cela peut s'expliquer par la présence des nombreux acides aminés dans la mixture qui réduisent la répulsion membrane / co-ion. Cette réduction peut provoquer un accroissement de la force ionique locale ou par annulant la charge de la membrane (C. Martin-Orue *et al.*, 1998 ; C. Guizard, 1998). Signalons toutefois pour les acides aminés neutres tels l'alanine et phénylalanine la croissance de leur taux de rejet dans la mixture par rapport à ceux obtenus dans la solution avec un seul acide aminé, et cela indépendamment de la valeur du pH. Cela peut s'expliquer par le fait que le transport de ces acides aminés est dépendant de la rétention des co-ions et par la présence des contre ions dans la mixture. Il faut toutefois noter que dans la région du point de charge zéro, l'ensemble des acides aminés contenus dans la mixture ont pratiquement le même taux de rejet.

L'influence de la pression transmembranaire sur le taux de rejet observé dans la mixture des acides aminés est présentée sur la figure 43. Nous remarquons que les acides aminés neutres ont un taux de rejet indépendant de la pression transmembranaire allant de 0.6 à 1.2 MPa. En effet, une faible décroissance du taux de rejet n'excédant pas 3% a été mesurée avec l'augmentation de la pression transmembranaire. Pour l'acide glutamique chargé négativement à un pH = 6, une augmentation de ΔP se traduit par une réduction du taux de rejet de la membrane de 7%.

Une augmentation de ΔP de 0.6 à 0.8 MPa durant la nanofiltration de l'arginine (chargé positivement) dans la mixture se traduit par une croissance du taux de rejet. Cette amélioration des performances de la membrane peut être expliquée par la pénétration et/ou l'adsorption des acides aminés chargés positivement à l'intérieur des pores fins sous une importante pression ce qui induit une augmentation de l'influence de l'effet de répulsion par charges.

A des pressions ΔP supérieure à 0.8 MPa, le taux de rejet observé tend vers un palier à 70 %.

L'influence de la force ionique de la solution sur le taux de rejet observé de la membrane minérale est représentée sur la. La variation de la force ionique est assurée par différentes concentrations de NaCl allant de 0 à 0,1 M. Les résultats obtenus pour les deux acides aminés neutres (alanine et phénylalanine) indiquent que l'effet de la concentration du sel est négligeable.

Toutefois, pour les acides aminés chargés (acides et basiques) une augmentation de la concentration en sel induit une décroissance du taux de rejet observé de la membrane de nanofiltration. L'adsorption de contre ions présents dans la solution peut résulter par la neutralisation de la surface de la membrane et de plusieurs sites ioniques de la membrane d'alumine (Guizard, 1998 ; Bardot *et al.*, 1995).

En conclusion de cette partie, il est apparu que la nanofiltration avec une membrane chargée et aux conditions optimales peut être utilisée pour la séparation des acides aminés ayant une masse moléculaire du même ordre. De même, l'effet de la gêne stérique est peu importante comparé aux techniques d'ultrafiltration et microfiltration. La nanofiltration des acides aminés dépend fortement de la composition de la solution et des conditions hydrodynamiques.

Pour comprendre les mécanismes de la nanofiltration des acides aminés il a été nécessaire de tenir compte de l'effet des charges électriques et de la présence des co-ions et des contre ions.

L'objectif principal de cette recherche, à savoir la maîtrise d'une technologie simple à mettre en œuvre en vue de produire des acides aminés concentrés à partir de rejets agroalimentaires a été atteint. En effet, les travaux de recherche réalisés ont permis de mettre en évidence l'efficacité des procédés électromembranaires lors de la concentration et la séparation des acides aminés, une fois les paramètres opératoires optimisés. Le choix des membranes et du procédé sont très importants et peuvent s'avérer déterminant lors de la prise de décision des industriels.

Pour aussi bien un produit biologique issu des rejets d'industries agroalimentaires que d'un produit industriel de synthèse organique d'acide aminé, les procédés électromembranaires ont pu résoudre aussi bien les problèmes de séparation de ces acides aminés que ceux de la concentration de ces derniers. Des essais à l'échelle pilote ont pu être réalisés et des résultats très encourageants ont pu être obtenus.

De plus, avec des conditionnements de membrane d'électrodialyse judicieusement choisis, l'électrodialyse s'est avérée très efficace pour la déminéralisation d'un produit de la synthèse organique de la Phénylalanine dans un procédé industriel. Dans ce cadre, un pré conditionnement original des membranes échangeuse d'ions à l'aide de la BSA a été proposé et a ouvert un champ d'application de l'électrodialyse dans ce domaine à l'échelle industrielle.

Enfin, la nanofiltration avec une membrane chargée peut être utilisée pour séparer les acides aminés ayant des poids moléculaires similaires dans des conditions opératoires bien choisies. La nanofiltration des acides aminés est fortement influencé par l'environnement et par les paramètres hydrodynamiques. Cette nouvelle technique est en plein essor et des

recherches dans le domaine s'avèrent encore nécessaire en vue d'exploiter cette technique.

Des essais à l'échelle industrielle s'avèrent nécessaire en vue de quantifier de manière plus précise l'opportunité et les performances économiques des procédés membranaires utilisés.

ALAMI-YOUNSSI S., LARBOT A., PERSIN M., SARRAZIN J., COT L. (1994) ; *Gamma alumina nanofiltration membrane. Application to the rejection of metallic cations*, J. Membr. Sci., 91, 87.

ALONSO K.(1986); *The transport of amino acids, amino acid derivatives and ions across ion-exchange membranes*. Biochimica Biophysica Acta, 860 , 484-490.

ALVAREZ, F., ALVAREZ, R., COCA, J., SANDEAUX, J., SANDEAUX, R. & GAVACH C. (1997); *Salicylic acid production by electrodialysis with bipolar membranes*. J. Membrane Sci., 123, 61-69.

APTEL P. (1986) ; *Les procédés de séparation par membrane*, La houille blanche, n°7/8, p.524-529.

AUDIGIE R., DUPONT G., ZONZAIN F., (1983) ; *Principes des méthodes d'analyses biochimiques*, Tome 2, Ed. Doin, p.66-69.

AUDIGIE R., DUPONT G., ZONZAIN F., (1983) ; *Principes des méthodes d'analyses biochimiques*, Tome 1, Ed. Doin, p.70-107.

AUDINOS R. (1983) ; *Les membranes artificielles*, Presses Universitaires de France, Collection Que sais-je, N°2096, Paris.

AUDINOS R. (1986) ; Isoard P., *Glossaire des termes techniques à membranes*, Ed. Idexpo – ISBN 2 – 903714 -003.

AUDINOS R. ; *Séparations électrochimiques: électrodialyse*, Techniques de l'Ingénieur, p.1825.4

BARDOT C., GAUBERT E., YAROSHCHUK A.E. (1995) ; *Unusual mutual influence of electrolytes during pressure-driven transport of their mixtures across charged porous membranes*, J. Membr. Sci. 103, 11.

BELHOCINE D., MOKRANE H., GRIB H., LOUNICI H., PAUSS A. & MAMERI N. (1996) ; *Optimisation of enzymatic hydrolysis of haemoglobin in a continuous membrane bioreactor*, Chem. Eng. J., vol.76, n°3, p.189-196.

BERNARDI S. (1948) ; *Separation of amino acids from proteins hydrolysates*, Interchemical corp. US.

- BLOOK M., KITCHENER J.A. (1966)** ; *Electrochem J., Soc.*, 113, 947.
- BOUDAH-KHELLAF F. (1991)** ; *Utilisation de méthodes chromatographiques dans l'analyse des acides aminés et applications*, Thèse de Doctorat es-science, USTHB.
- BONNIN A. (1988)** ; *Opérations unitaires-Electrodialyse*, Techniques de l'ingénieur, J2840, pp.1-21.
- BOURGEOIS C.W., LEROUX P. (1982)** ; *Protéines animales extraits, concentrés et isolats en alimentation*. Ed. Technique et Documentation.
- BOYAVAL, P., SETA J. & GAVACH, C. (1993)** ; *Concentrated propionic acid production by electrodialysis*. *Enzyme Microb. Technol.*, 15, 683-686.
- BOWEN W.R. AND MUKHTAR H. (1996)** ; *Characterisation and prediction of separation performance of nanofiltration membranes*, *J. Membr. Sci.*, 112, 263.
- BRUN J.P. (1989)** ; *Procédés de séparation par membranes*, Ed. Masson, Paris.
- COHEN T. (1988)** ; Thèse de Doctorat, Paris XII.
- CPE (1986)** ; *Production des acides aminés. Etat de recherche*. Bulletin CPE, n°25, p.39-40, mars 86.
- CZYTKO, M., ISHII K. & KAWAI K. (1987)** ; *Continuous glucose fermentation for lactic acid production : recovery of acid by electrodialysis*, *Chem. Ing. Tech.*, 59, 952-954.
- DONNAN F.G. (1911)** ; *Theory of membrane equilibria and membrane potentials in the presence of non dialysing electrolytes. A contribution to physico-chemical physiology*, (traduction intégrale). *J. Membrane Sci.*, 100,45-55, 1995
- DOYA M., KONDO T., IGARASHI H., UCHIYAMA T. (1985)** ; *Recovery of alpha-aminoacids*, Eur. Patent Ep. 156513A₂.
- EL MOUSSAOUI, R., POURCELLY, G., MAECK, M., HURWITZ, H.D. & GAVACH, C. (1994)** ; *Co-ion leakage through bipolar membranes. Influence on I-V responses and water-splitting efficiency*. *J. Membrane Sci.*, 90, 283-292.
- ENGEL D., LEHMANN T., WEISSLAND G., PICCARI J. (1994)** ; *Electrodialysis with bipolar membranes. Recovery of acids and bases from salt-containing wastewater* *Chem.-Ing.-Tech.*, 66(5), 686-9..

- ERIKSON P. (1988)** ; *Nanofiltration extends in the range of membrane filtration*. Environ. Prog., 7 (1), 88-62
- FARES A., SANDEAUX J., SANDEAUX R. & GAVACH C. (1994)** ; *Transport properties of electrodialysis membranes in the presence of arginine. II. Competition between the electro-transport of organic and inorganic ions through a cation exchange membrane in an aqueous solution of arginine chlorhydrate and sodium chloride*. J. Membrane Sci., 89, p.83-91.
- FRIEDLANDER H.Z., RICKLES R.N. (1965)** ; *Analytical Chemistry*, 37 (8), 27A.
- HEFFERICH F. (1962)** ; *Ion exchange*, Editions Mc Graw – Hill, New York.
- GAREM A., DAUFIN G., MAUBOIS J.L. AND LÉONIL J. (1997)** ; *Selective separation of amino acids with a charged inorganic nanofiltration membrane : Effect of physicochemical parameters on selectivity*, Biotechnol. and Bioeng., 54, 4,291.
- GAVACH C. (1990)** ; *Demineralisation, extraction and separation of amino-acids by electrodialysis*. 5th World Filtration Congress.
- GINESTE, J.L., POURCELLY, G., LORRAIN, Y., PERSIN, F. & GAVACH, C. (1996)** ; *Analysis of factors limiting the use of bipolar membranes: a simplified model to determine trends*. J. Membrane Sci., 112, 199-208.
- GOLDNIK A., GASEWSKA M. (1983)** ; *Isolation of L-Aminoacids from protein hydrolysates from coaste bovine skins*, Acta pol. Pharm. 40,3, p.377-382.
- GOLUBEV V. N., BENAMARA S. (1991)** ; *Membranes techniques in the purification and separation of amino acids*. Ind. Aliment. Agric., 108 (12), 1075-8.
- GOERGE J.H.B. (1967)** ; *Courant R.A. Conductance and water transfert in a leached cation-echange membrane*, J. Phys. Chem., vol. 71(2) p.246-249.
- GOLDNIK A., GASEWSKA M. (1983)** ; *Isolation of L-Aminoacids from protein hydrolysates from coaste bovine skins*. Acta Pharm., 40, 3, p.377-382.
- GRAILLON S. (1985)** ; *Contribution à l'étude du traitement d'effluent nitrates par électrodialyse à membrane bipolaire*. Thèse de Doctorat présentée à l'Université de Montpellier II Science et Technique du Languedoc.
- GRAY H.B., HAIGHT G.P. (1985)** ; *Principes en chimie*, Ed. Inter éditions.
- GREENSTEIN M.W. (1961)** ; *Chemistry of the amino-acids*, 3^{ieme} volume, Ed. Wiley.

- GREGO B. & HEARN M.T.W. (1984)** ; *High-performance liquid chromatography of amino acids, peptides and proteins: LXIII. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic characterisation of several polypeptide and protein hormones*; J. Chromatography, 336, 25-40.
- GUILLET J.E., NORRISH R.G.W. (1955)** ; Proc. Roy. Soc., A 233, p.172.
- GUIZARD C. (1988)** ; *Principes de synthèse et caractéristiques des membranes céramiques de nanofiltration*. Proceedings 2nd nanofiltration and applications workshop, May 25-27 Bordeaux, France, p.1-8.
- HUGHES G.J., FRUTIGER S., FONCK C. (1987)** ; *Quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of Dabsyl-amino acids within 14 min.*, J. Chromatography, 389, p.327-333.
- KAUFMAN W.J. (1974)** ; Water technology and quality, pp.152-159.
- IMAI K., WATANABE Y., TAYOOKA T. (1982)** ; *Fluorimetric assay of amino acids and amines by use of 7-fluoro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD-F) in high-performance liquid chromatography*, Chromatographia, 16, pp.214-15.
- KIKUCHI K.I., GOTOH, T., TAKAHASHI, H., HIGASHINO, S. & DRANOFF, J. S. (1995)** ; *Separation of amino acids by electrodialysis with ion-exchange membranes*. J. Chem. Eng. of Japan, 28, 1, 103-9.
- KIMURA S., TAMANO A. (1984)** ; *Separation of amino-acids by charged ultrafiltration membrane*. Abstract Europe Japan Congress in membranes and process, p.69, Stresa.
- KORNGOLD E., KOROSY E., RAHAV F. AND TABOCH M.F. (1970)** ; *Fouling anion selective membrane in electrodialysis*, Desalination, 8, p.195.
- LACEY R.E. (1972)** ; *Industrial Processes with membranes*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- LEDERER E. (1960)** ; *Chromatographie et application en chimie biologique*, Ed. Masson, Paris.
- LEHNINGER A.L. (1975)** ; *Biochemistry, the molecular basis of cell structure and function*. Worth publishers, Inc., New York, pp.69-91.
- LEHNINGER A.L. (1979)** ; *Biochimie*, Ed. Flammarion.

LINDEN G., LORIENT D., *Valorisation alimentaire de la production agricole*, Ch.14. Biochimie agro-industrielle. Masson, Paris, 313-333.

MAJORS R.E. (1977) ; *J. Chromatogr. Sci.*, 15, 342.

MALANEY G.W., TANNER R.D., RODRIGUES A.M. (1991) ; *The production of extracellular and intracellular free amino acids during aerated fermentation of glucose by baker's yeast (saccharomyces cerevisiae)*. *Folia Microbiol.*, 36, 5, p.468-477.

MAOTO, T., HIROYUKI K. HIROCHI. (1982) ; *Recombinant DNA sequence encoding feedback inhibition released enzymes, plasmids comprising the recombinant DNA sequences, transformed microorganisms useful in the production of aromatic amino acids, and a process for preparing aromatic amino acids by fermentation*. European Patent Application, n°0488 428 A2.

MANI, K.N., CHLANDA, F.P. & BYSZEWSKI, C.H. (1988) ; *Aquatech membrane technology for recovery of acid/base values from salt streams*. *Desalination*, 68, 149-166.

MANI, K.N., CHIAO, Y.C. & CHLANDA, F.P. (1991) ; *Recovery of carboxylic and amino acids via membrane water splitting*, Technical report from Aquatech Systems, Allied-Signal Inc. Warren, USA. *AIChE Annual Meeting in Los Angeles*, November.

MANI K.N. (1991) ; *Electrodialysis water splitting technology*. *J. Membrane Sci.*, 58, 117-138.

MARSCHALL W. ; *New separation technique for the CPI*. *Chem. Eng. Prog.* 64 (12), 31-43.

MARTIN-ORUE C. , BOUHALLAB S. AND GAREM A. (1998) ; *Nanofiltration of amino acid and peptide solutions: mechanisms of separation*, *J. Membr. Sci.*, 142, 25.

MARTINEZ D. (1990) ; *Electrotransport des acides aminés dans les membranes échangeuses d'ions*. Thèse de Doctorat présentée à l'Université de Montpellier II Science et Technique du Languedoc.

MARTINEZ D., SANDEAUX R., SANDEAUX J., GAVACH C. (1992) ; *Electrotransport of alanine through ion-exchange membranes* *J. Membr. Sci.*, 69(3), 273-81.

MASAWAKI T., TONE S. (1994) ; *Permeation model of amino acid ions through charged ultrafiltration membranes*. Proceedings of the 7th International Symposium on Synthetic Membranes in Science and Industry. Tübingen, Germany, 262-265.

- MASSON E.A. & SCHUBERT T.A. (1959)** ; *Design of electrodialysis equipment*, Chem. Eng. Progress. Symposium Series. Adsorption, dialysis and ion exchange, 55, n°24, p.173-189.
- MAUREL A.** ; *Dessalement des eaux par électrodialyse*, Technique de l'ingénieur, J.2850-1. J.2852-11.
- MEARES P. (1983)** ; *Ion exchange membranes*; Martinus Nijhoff, 329.
- NAOTO T., HIROYUKI K., HIROCHI M. (1992)** ; *Recombinant DNA sequences encoding feedback inhibition released enzymes, plasmids comprising the recombinant DNA sequences, transformed microorganisms useful in the production of aromatic amino acids and a process for preparing aromatic amino acids by fermentation*. European Patent Application, n°0488, 424 A2.
- NAU F., KERHERVÉ F.L., LÉONIL J., DAUFIN J. (1995)** ; *Selective separation of tryptic and casein peptides through ultrafiltration membranes: influence of ionic interactions*. Biotechnol. Bioeng. 46, 246-253.
- NEREBSKA A., KOTTER S., (1987)** ; *Electrochimica Acta*, Vol.32, n°3, pp.449-453.
- PAINE P.L. ET SHERR P. (1975)** ; *Drug coefficient for the movement of rigid spheres through liquid filled cylindrical pores*, Biophys. J., 15, 1087.
- PAMBOUTZOGLOU G. (1989)** ; Thèse de doctorat. Montpellier II.
- PERCHERON F., PERLES R., FOLGLIETTI M.J. (1991)** ; *Biochimie structurale et métabolique*. 3^{ème} édition, Ed. Masson.
- PETERSEN R.J. (1993)** ; *Composite reverse osmosis and nanofiltration membranes*. J. Membr. Sci., 83, 81.
- PIOT J.M., GUILLOCHON D., LÉCONTE D. (1988)** ; *Application of ultrafiltration to the preparation of defined hydrolysates of bovine haemoglobin*, J. Chem. Tech. Biotechnol., 42, 147-156.
- POULIOT Y., GAUTHIER S. (1990)** ; *Effect of selected physico-chemical parameters on the flux decline of casein hydrolysates on polysulfone ultrafiltration membranes*. Proc. ICOM'90, August 20-24, Chicago, 273-275.
- POULIOT Y., GAUTHIER S., BARD C. (1993)** ; *Fractionnement of casein hydrolysates using polysulfone ultrafiltration hollow fiber membranes*. J. Membranes Sci. 80, 257-264.

O. QUEBRIAC, C.M. BOURGEOIS (1985) ; *Valorisation du sang animal*, Ed. Apria.

RYAZANOV A.I., ANDRONOVA L.G., KHLEBORODOVA R.T., VARSHAVSKAYA N.Z., BUTORINA L.M. (1974) ; *Electrodialysis methods for the separation of hydrolysates of protein raw material into amino acid fractions and the isolation of some individual amino acids from the fraction. 3. Electrodialysis methods for the isolation of L-arginine, L-proline, and L-hydroxyproline*. Tr. VNII Khim. Reaktivov I Osobo Chist. Khim. Veshchestv, (36), 63-7

RAUCQ D. (1992) ; *Dissociation de l'eau par les procédés électromembranaires : applications aux solutions de sulfate de sodium et d'hydrogénosulfite de sodium*, Thèse de Doctorat présentée à l'Université de Montpellier II Science et Technique du Languedoc.

RAUNTENBACH R., GROSCHI A. (1990) ; *Separation potential of nanofiltration membranes*, *Desalination* 77, 73.

ROSENBERG N.W., GEORGE J.H.B., POTTER W.D. (1957); *Electrochemical properties of cation-transfer membrane*, *Electrochemical Soc. J.*, 104, n°2, p.111-115.

RUBINSTEIN I., SHTILMAN L., CHEM J. (1979) ; *Soc., Faraday Trans.*, 2, 75, 281.

RUMEAU, M. & MONTFORT, M. (1988) ; *Purification et possibilités de séparation des acides aminés par électrodialyse*. *Analisis*, 16, 4, 221-6.

SANDEAUX J., FARES A., SANDEAUX R. & GAVACH C. (1994) ; *Transport properties of electrodialysis membranes in the presence of arginine. I. Equilibrium properties of a cation exchange membrane in an aqueous solution of arginine chlorhydrate and sodium chloride*. *J. Membrane Sci.*, 89, p.73-81.

SIKDAR, S.K. (1985) ; *Amino acid transport from aqueous solutions by a perfluorosulfonic acid membrane*. *J. Membrane Sci.*, 24, 59-72.

STORCK A., GREVILLOT G. (1993) ; *Récent progrès en génie des procédés*. Tech. et Doc. V.2, pp.93-98.. Ed. Lavoisier.

STRATHMANN H. (1981) ; *Journal of membrane science*. 5. 121.

STRATHMANN, H., RAPP, H.J., BAUER, B. & BELL, C.M. (1993) ; *Theoretical and practical aspects of preparing bipolar membranes*. *Desalination*. 90, 303-323.

TANAKA Y., SENO M., CHEM J. (1986) ; *Soc., Faraday trans.*, 1. 82, p.2065-2077.

- TICHY, S., VASIC-RACKI, D. & WANDREY, C. (1990)** ; *Electrodialysis as an integrated downstream process in amino acid production*. Chem. Biochem. Eng. Q., 4, 3, 127-135.
- TONE S. & NAKAMURA H. (1984)** ; *Pression driven separation of aminoacids from acetyl DL amino-acid solution through anion exchange enzyme bending composite membranes*. Abstract Europe-Japan Congress on membranes and membranes process, p.191, Stresa Italy.
- TOROMANOFF E. (1986)** ; *Substances naturelles. La compétition chimie-biotechnologies, le cas des acides aminés*. Biofutur, p.39-46.
- TREFFY-GOATLEY K., GILRON J. (1993)** ; *The application of nanofiltration membranes to the treatment of industrial effluent and process streams*. Filtr. Sep., 1, 63-66.
- TROCCHI S., RAGO D. (1985)** ; *Isolation of Arginine and Lysine from protein hydrolysates by ions exchange resins.*, Ann. Chem. Rome, 45, 304-311.
- TSURU T., SHUTOU T., NAKAO, S & KIMURA, S. (1994)** ; *Peptide and amino acid separation with nanofiltration membranes*, Separation Sci. and Technol., 29, 8, 971-984.
- TYBOR P.T., DILL C.W., LANDMANN W.A. (1975)** ; *Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process*, J. Food Sci., vol.40, pp.155-159.
- VAN DER HORST H.C. (1995)** ; *Fouling of organic membranes during processing of dairy liquids*. In: *Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes*. Int Dairy Fed Special Issue 9504, 36-52.
- VAN DER HORST H.C., J.M.K. TIMER AND R.J. LEENDERS (1995)** ; *Use of nanofiltration for concentration and demineralization in the dairy industry: Model for mass transport*. J. Membr. Sci., 104, 205.
- VAN DUIN P.T. (1993)** ; *Poisoning of electro dialysis membranes*, 4th Inter. Symp. On fresh Water from the sea, Vol. 3, p.253-259.
- WAYNE A. (1994)** ; *Applications of ion exchange membranes, current state of the technology after 45 years*.
- WILSON J.R. (1960)** ; *Desalination by electro dialysis*, Butterworths, London.

YAROSHCHUK A.E., VOVKOGON Y.A., (1994), *Phenomenological theory with a common co-ion and its specification for capillary space-charge model.* J. Membrane Sci., 86, 1.

YOSHIKAWA, M., SUZUKI, M., SANUI, K. & OGATA, N. (1987) ; *Transport of amino acids through synthetic polymer membranes containing pyridinium cationic charge sites.* J. Membrane Sci., 32, 235-249.

VI.1- MODE OPERATOIRE LORS D'UNE ELECTRODIALYSE :

Les opérations successives à mener en vue de réaliser une électrodialyse sur un produit donné sont comme il suit :

- ▼ Vider l'eau de l'ensemble des circuits hydrauliques.
- ▼ Remplir respectivement les bacs produit, saumure et électrolyte à l'aide de solutions adéquates
- ▼ Mettre en fonctionnement l'ensemble des trois pompes
- ▼ Régler les débits du Concentrât et diluât en affichant la valeur désirée sur le débitmètre
- ▼ Mettre le générateur en marche
- ▼ Suivre l'évolution des concentrations dans les compartiments produits et saumure.
- ▼ Une fois la concentration du compartiment produit atteinte, arrêtez le générateur et les pompes de recirculation.
- ▼ Récupérer les solutions produit et saumure
- ▼ Effectuer des lavages successifs des compartiments produits et saumure à l'eau distillée (voir annexe)
- ▼ Laisser toujours l'appareillage rempli d'eau pour éviter la détérioration des membranes par séchage.

VI.2.3 - Analyse des Acides Aminés :

a - par la Ninhydrine :

La détermination des concentrations des acides aminés a été effectuée à l'aide de la ninhydrine comme révélateur suivie d'une lecture au spectrophotomètre (MILTON-ROY Spectronic). Toutefois, il est important de signaler que cette technique est quantitative et non qualitative.

Le mode opératoire est le suivant :

- ▼ Dissoudre 0,4g de ninhydrine dans 2 ml d'ether monoéthylique de l'éthylène glycol.
- ▼ Dissoudre 50 mg d'hydridantine dans 2 ml d'ether monoéthylique de l'éthylène glycol.
- ▼ Mélanger les deux solutions avec 50 ml de tampon pH=5,5 (4M).
- ▼ Mettre dans un tube à essai.
 - 0,5 ml de solution à analyser
 - 1 ml de solution tampon pH=5,5 (1M)
 - 2 ml de la solution de ninhydrine
- ▼ Chauffer dans un bain marie pendant 15 min.
- ▼ Laisser refroidir à l'obscurité pendant 30 minutes.
- ▼ Faire la lecture au spectrophotomètre à $\lambda=570$ nm.

b- par Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance :

Cette technique permet l'identification et la quantification des acides aminés. La méthode AccQ-Tag développée par la firme Waters a été utilisée pour identifier les acides aminés à l'aide d'un appareillage Waters (détecteur fluorescence ou Ultraviolet) en se basant sur la méthode de dérivation.

L'intérêt de la technique AccQ-Tag est que les dérivés formés peuvent être détectés par fluorescence à 395 nm ou par Ultraviolet à 254 nm. Cette technique de détection est très spécifique et très sensible allant jusqu'à 25 pMoles pour chaque acide aminé (Fig. 45).

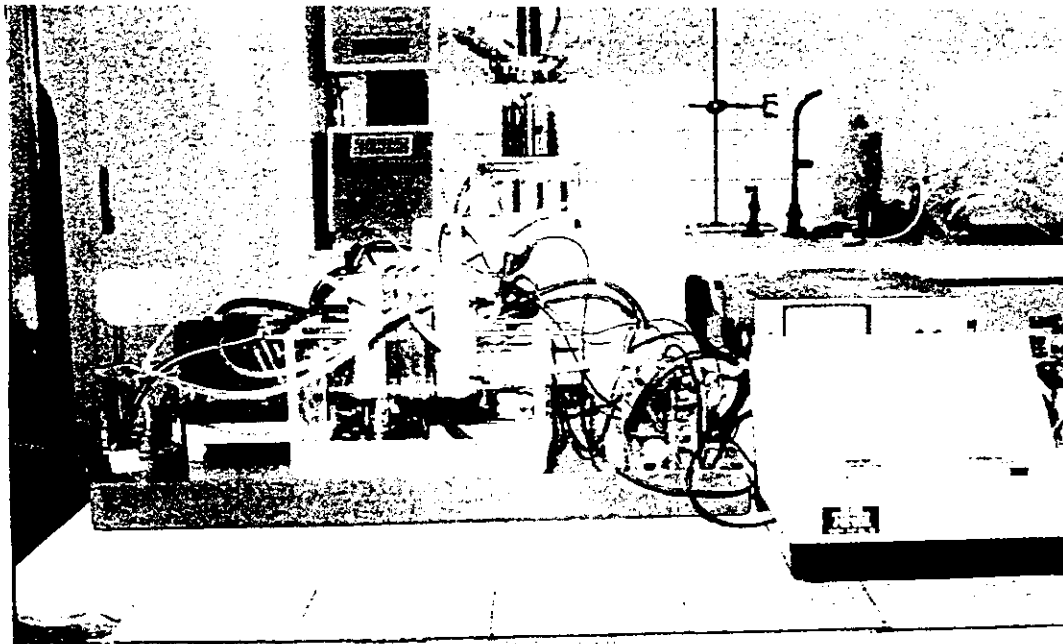


Figure n°44 : Vue d'ensemble de l'électrodialyseur de laboratoire

VI.2- TECHNIQUE D'ANALYSE :

VI.2.1 – Dosage des chlorures:

Les ions chlorures ont été dosés par la méthode électrochimique selon la méthode ampérométrique à électrode d'argent (C. Audigie *et al.*, T.2, 1983) utilisant un titrateur automatique TACUSSEL, type TACL2.

VI.2.2 – Dosage du Sodium:

Les ions sodium ont été dosés par spectroscopie d'émission. Le principe consiste à porter à haute température une substance par nébulisation à l'intérieur d'un mélange d'acétylène et d'air. En arrivant à la flamme, les substances ainsi chauffées émettent des radiations qui dépendent de leur nature. Les transitions électroniques, consécutives à l'excitation des atomes sodium émettent à la longueur d'onde de 589 nm (C. Audigie *et al.*, T.1, 1983).

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre d'absorption atomique, le AA 20 de varian.

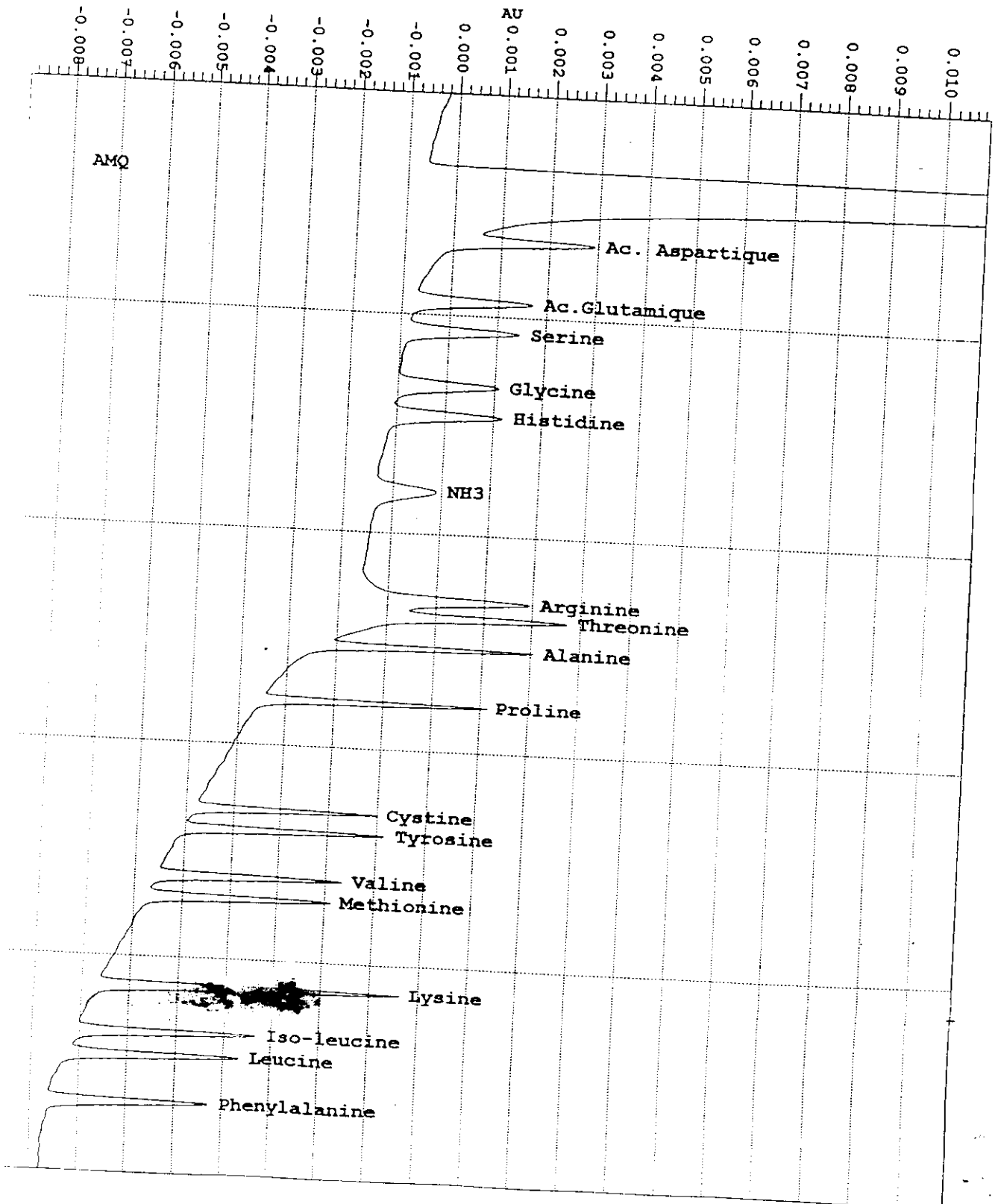
DOSAGE DES ACIDES AMINES
TECHNIQUE AccQ-Tag

IDENTIFICATION DE L'ANALYSE

Standard1

Volume injecté (ul): 2.5

Détecteur: 486



- Introduire dans chaque tube à essai 10 µl d'étalon interne
- Ajouter dans chaque tube :
 - 25 µl de produit de dérivation (Acq-Tag)
 - 50 µl de tampon phosphaté (Acq-Tag)
- Chauffer à 50°C pendant exactement 10 minutes.
- Injecter dans la HPLC.