

وزارة التربية الوطنية  
MINISTRE DE L'EDUCATION NATIONALE

LABORATOIRE DES BIOTECHNOLOGIES

المدرسة الوطنية المتعددة التخصصات  
المكتبة - BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE  
en vue de l'obtention du Diplôme  
D'INGENIEUR D'ETAT EN GENIE DE  
L'ENVIRONNEMENT

SUJET

ETUDE ET CONCEPTION  
D'UN ELECTRODIALYSEUR  
APPLICATION A LA CONCENTRATION  
DES ACIDES AMINES

SOUTENUE LE 07 / 07 / 93 Etudie par M<sup>elle</sup> Benkherouf  
Nabila

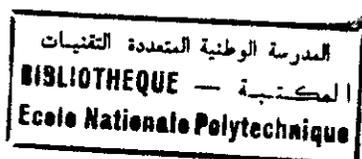
Devant le Jury composé de :

MM.: A.T. CHERIF . . . . . Président  
N. MAMERI . . . . . Promoteur  
H. GRIB . . . . . Promoteur  
M. DEROUICHE . . . . . Examineur  
H. LOUNICI . . . . . Examineur  
M<sup>elle</sup> D. ARRAR . . . . . Examinatrice

Promotion 1993



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE  
DEPARTEMENT "GENIE DE L'ENVIRONNEMENT"  
LABORATOIRE DES BIOTECHNOLOGIES



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE  
en vue de l'obtention du Diplôme  
d'INGENIEUR D'ETAT EN GENIE DE  
L'ENVIRONNEMENT

SUJET

**E**TUDE ET CONCEPTION  
D'UN ELECTRODIALYSEUR  
APPLICATION A LA CONCENTRATION  
DES ACIDES AMINES

SOUTENUE LE 07 / 07 / 93

Devant le Jury composé de :

MM.:	A.T. CHERIF . . . . .	Président
	N. MAMERI . . . . .	Promoteur
	H. GRIB . . . . .	Promoteur
	M. DEROUICHE . . . . .	Examineur
	H. LOUNICI . . . . .	Examineur
M <sup>elle</sup>	D. ARRAR . . . . .	Examinatrice

Promotion 1993

## AVANT - PROPOS

*D*e nombreuses personnes m'ont aidée dans l'élaboration de ce modeste travail, et je tiens à les remercier toutes pour leur collaboration directe, leur conseils, l'appui technique et/ou le soutien moral qu'elles m'ont prodigué .

En premier lieu, Messieurs N. MAMERI et H. GRIB mes promoteurs qui m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions au Laboratoire des Biotechnologies du département Génie de l'Environnement. Je suis heureuse de leur témoigner ma gratitude .

Malgré ses multiples activités, le Docteur N. MAMERI, a bien voulu se pencher sur mon travail et me faire subir l'épreuve de sa critique rigoureuse et constructif. Je l'en remercie vivement

Je suis très reconnaissante à Monsieur H. GRIB pour m'avoir fait bénéficier de son expérience et de son savoir au cours de fréquentes et longues discussions . En plus de me faire bénéficier de son soutien scientifique, il s'est toujours efforcé de me faciliter et de guider mes travaux en m'apportant sans compter aide et encouragement. Il m'est impossible en ses quelques lignes d'exprimer tous ce que je lui dois.

Monsieur A.T. CHERIF, Maître de Conférences à l'U.S.T.H.B, m'a fait l'honneur de présider le Jury. Je l'en remercie vivement.

Je suis très honorée de compter parmi les membres du Jury, Mademoiselle D. ARRAR et Messieurs M. DEROUCHE et H. LOUNICI que je remercie vivement .

*Ma gratitude s'adresse également à Monsieur DJEMAI de l'U.S.T.H.B pour les traductions d'articles russes qu'il m'a aimablement effectué .*

*Mes remerciements s'adresse à tous les membres des Laboratoires Physico-Chimiques et Galénique de l'Unité de Recherche en Médicaments et Techniques Pharmaceutiques (U.R.M.T.P-SAIDAL) pour leur accueil chaleureux et l'aide précieuse qu'ils m'ont apporté et en particulier :*

- Monsieur M. FERKIOUI, Docteur d'Etat en Pharmacie et Directeur du Laboratoire Physico-Chimie
- Monsieur M. AZOUG , Ingenieur Chimiste,
- Mademoiselle K. BELHOCINE , T.S en Chimie
- Monsieur Abdeldjalil, T.S en Maintenance

*Je remercie également Monsieur M.K. BERRAH pour m'avoir donné libre accès au laboratoire du département en dehors des heures régulières de travail, ce qui a permis la mise au point définitive de ce mémoire.*

*Je suis très reconnaissante au corps enseignant qui a contribué à ma formation dans la spécialité , en particulier :*

- Mme D. MAMERI
- Mr M. KERBACHI
- Mr M. MAZIGHI
- Mr A.E.K. NAMANE

*Je veux assurer de mon amitié tous mes camarades au sein et en dehors de l'U.S.T.H.B et de l'Ecole Polytechnique et les remercier du soutien et des encouragements qu'ils m'ont apporté.*

*Enfin s'ajoutent à la liste de tous ceux qui m'ont apporté leur aide, les membres de ma famille qui ont dû subir les contre coups des difficultés que j'ai rencontré .*

*A mes très Chers Parents qui m'ont assuré sans relache durant ces Dix Huit années d'études leur soutien moral et materiel, Je dédie ce mémoire .*

# S O M M A I R E

## I- INTRODUCTION .....01

### CHAPITRE A : PARTIE THEORIQUE

#### I- LES ACIDES AMINES

I.1- Introduction .....	03
I.2- Classification des Acides Aminés .....	04
I.3- Propriétés physico-chimiques des Acides Aminés .....	11
a - Propriétés optiques .....	11
b - Propriétés spectrales .....	11
c - Propriétés acido-basique .....	11
d - Solubilité et Point de Fusion .....	12
e - Réactivité Chimique .....	12
e.1- Réaction des groupements carboxyliques .....	12
e.2- Réaction des groupes de la fonction $\alpha$ -aminé .....	13
I.4- Méthodes de séparation et de dosage des Acides Aminés .....	13
a- Electrophorèse sur papier .....	14
b- Techniques chromatographiques .....	15
b.1- Chromatographie sur papier .....	15
b.2- Chromatographie sur Couche Mince .....	15
b.3- Chromatographie sur Résines Echangeuses d'Ions .....	16
b.4- Chromatographie en Phase Liquide à Haute performance .....	17
1- Définition et Principe .....	17
2- Appareillage .....	17
3- Bases théoriques de la chromatographie .....	19
c- Dosage des Acides Aminés par Electrodialyse .....	21

#### II- L'ELECTRODIALYSE

II.1- Principe de l'Electrodialyse .....	22
a- Theorie de la densité de courant .....	23
b- Transport d'eau .....	25
II.2- Les Membranes de l'Electrodialyse .....	26
a- caractéristiques générales .....	26
b- Sélectivité .....	28
c- Résistance électrique .....	28

II.3 - Les conditions de fonctionnement . . . . .	30
a- Procédé discontinu . . . . .	30
b- Procédé continu . . . . .	31
c- Procédé continu à recirculation . . . . .	31
d- Facteurs limitant l'electrodialyse . . . . .	32
II.4- L'Electrodialyseur à Inversion . . . . .	33

### III TECHNOLOGIE D'UN ELECTRODIALYSEUR

III.1 Description générale et Technologie d'un Electrodialyseur . . . . .	35
III.2 Electrodes . . . . .	35
a) Electrodes Métalliques . . . . .	37
b- Electrodes en Graphite . . . . .	37
III.3 Réactions aux Electrodes . . . . .	38
a- Réactions anodiques . . . . .	38
b- Réaction cathodiques . . . . .	39
III.4 Compartiments . . . . .	39
a- Ecoulement labyrinthe . . . . .	39
b- Ecoulement en nappe . . . . .	40
III.5 Caractéristiques des modules . . . . .	42
a- Critères mécaniques . . . . .	42
b- Critères hydrodynamiques . . . . .	43
c- Critères électriques . . . . .	44
III.6 Problèmes de prétraitement . . . . .	44
a- Du point de vue matières en suspension . . . . .	44
b- Du point de vue éléments entartrant . . . . .	44

### CHAPITRE B : PARTIE EXPERIMENTALE

I Synthèse Bibliographique . . . . .	45
II Réalisation et optimisation d'un Module d'Electrodialyse . . . . .	52
II.1- Module d'Electrodialyse et réalisation . . . . .	52
a- Plaques de modules . . . . .	53
b- Les electrodes . . . . .	53
c- Les membranes . . . . .	53
II.2- Les Annexes . . . . .	56
a- Dispositif d'alimentation en fluide . . . . .	56
b- Dispositif d'alimentation électrique . . . . .	56
c- Dispositif d'alimentation de mesure et de contrôle . . . . .	56

II.3 Evaluation du courant critique . . . . .	57
II.4 Optimisation et détermination des performances de l'E.D . . . . .	58
a- Optimisation de la vitesse de passage . . . . .	59
b- Optimisation de la concentration initiale sur le rendement . . . . .	67
b.1- Influence sur le rendement faradique . . . . .	69
b.2- Influence sur le taux de déminéralisation . . . . .	73
c- Optimisation de la Densité de Courant . . . . .	74
III- Application de la technique mise au point dans la séparation d'un mélange d'Acides Aminés . . . . .	77

## CONCLUSION

## ANNEXES

## BIBLIOGRAPHIE

## SUMMARY :

There are many techniques to separate the "Amino-Acids" currently only precepitation methods, *Ultrafiltration* and *Chromatography* allow a production in large quantities.

It seemed interesting to use the electro dialysis to determine "Aminoacids" concentration. For this aim, a *laboratory electro dialyser* has been conceived and realized .

The optimisation of hydraulic and electrical capabilities of the apparatus has given excellent results as concerns separation using a passage speed of 24,3 m/s, a current density of 11,76A/m<sup>2</sup> and of an initial concentration of 8g/l.

The following experimentals are based on the previous results. These were carried out on solutions containing "Aminoacids" mixtures having different pH. The High Performance Liquid Chromatography is then used for the quantification of the separation.

This way, we showed it was possible to concentrate aminoacids solutions as far as the aminoacids were in isoelectric zone of pH.

## RESUME 3

Il existe de nombreuses techniques de séparation des Acides Aminés . Actuellement, seules les méthodes par précipitation, Ultrafiltration et Chromatographie permettent la production de grandes quantités.

Il nous a semblé intéressant d'utiliser l'Electrodialyse pour effectuer la concentration des Acides Aminés.

Dans ce but, un Electrodialyseur de Laboratoire a été conçu et réalisé.

L'étude d'optimisation des performances hydrauliques et électriques, de l'appareil a révélé d'excellents résultats de séparation pour une vitesse de passage de 24,3m/s, une densité de courant de 11,6A/m<sup>2</sup> et une concentration initiale de 8g/l.

Les expériences suivantes viennent à exploiter les résultats précédents. Elles ont été réalisées sur des solutions de mélanges d'Acides Aminés amenées à différents pH.

La Chromatographie en Phase Liquide à haute performance est ensuite mise en oeuvre pour la quantification de la séparation.

De cette façon, nous avons pu mettre en évidence des possibilités de concentration d'Acides Aminés à partir de solutions portées à des pH proches de leur point isoélectrique.

## I- / INTRODUCTION 3

L'un des problèmes essentiels pour les prochaines années sera la recherche de méthodes efficaces favorisant l'augmentation des ressources alimentaires sur la planète.

Des procédés industriels de production d'aliments sur la base de la synthèse chimique et microbiologique ont été développés. Toutefois, lors de la production d'assortiments artificiels semblables aux produits d'origine animale, leur valeur biologique ne répond pas toujours aux critères des aliments analogues naturels, en particulier en acides aminés, essentiels aussi bien pour la nourriture humaine que pour celle de l'élevage ou de l'aviculture .[01]

La production et l'extraction d'acides aminés par voie industrielle à partir de rejets d'industries agro-alimentaires est en plein essor. 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, de conserveries de poissons, de laiteries ou d'industries sucrières.

La production d'acides aminés par voie fermentaire ou par hydrolyse enzymatique constitue un sujet de recherche largement développé dans les pays du Nord. De plus, ces derniers appliquent de plus en plus les techniques membranaires telles que la micro et l'ultra-filtration ainsi que l'électrodialyse en les couplant aux réacteurs enzymatiques et fermenteurs.

Il existe de nombreuses techniques de séparation des acides aminés permettant l'extraction, la séparation et la purification des protéines contenues dans diverses sources naturelles ou d'origine biologique.[02]

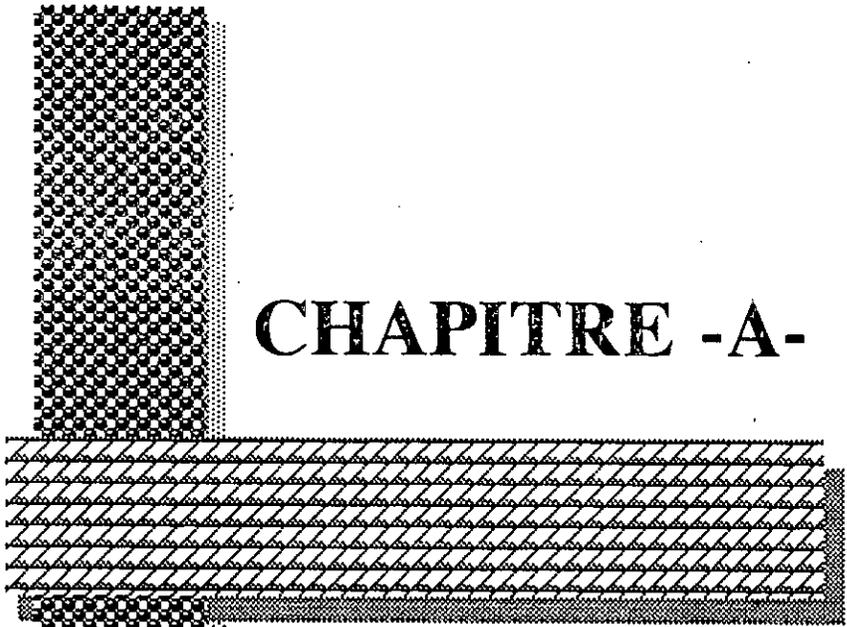
Actuellement, les techniques de séparation à membranes comme l'électrodialyse suscitent un grand intérêt du fait de la simplicité de construction des installations à capacité énergétique et métallique faibles, ainsi qu'un haut rendement d'épuration [01]

Le but de notre étude a pour objectif de mettre au point une méthode de séparation des acides aminés par électrodialyse.

De ce fait, la première étape consistera à élaborer et réaliser un électrodialyseur;

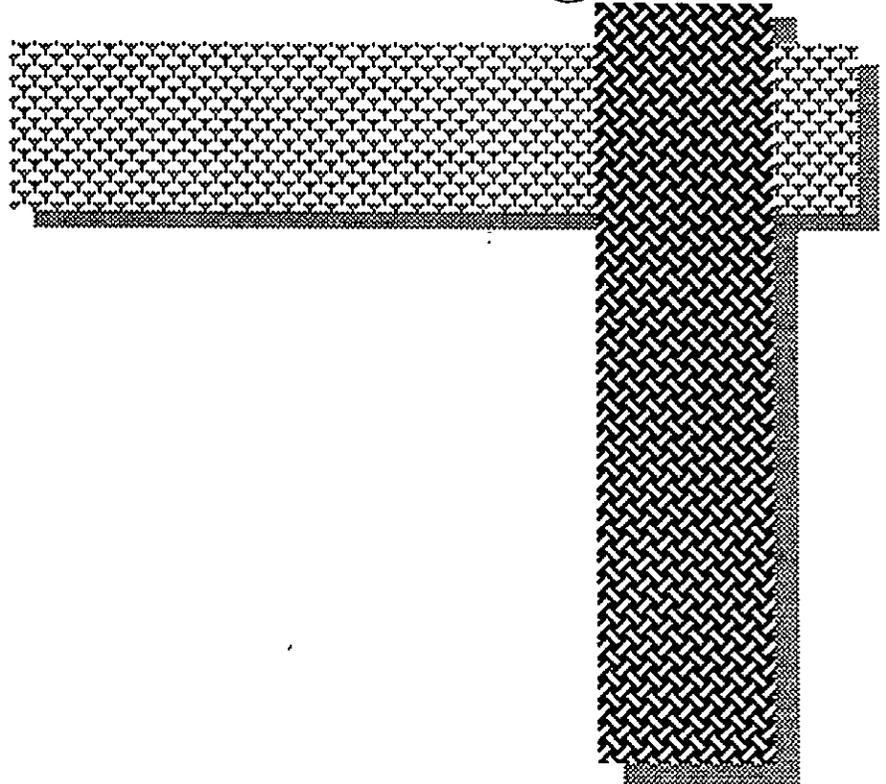
La deuxième partie sera consacrée à la détermination des paramètres hydrodynamiques et électriques de fonctionnement d'un électrodialyseur expérimentale et à leur optimisation en utilisant une solution de chlorure de sodium de composition similaire à celle d'une eau saumâtre, du moins pour les ions d'intérêt principales.

En troisième partie, nous appliquerons les paramètres optimisés dans la séparation des acides aminés et enfin, nous mettrons en oeuvre la chromatographie en phase liquide à Haute Performance pour l'identification et le dosage des acides aminés .



**CHAPITRE -A-**

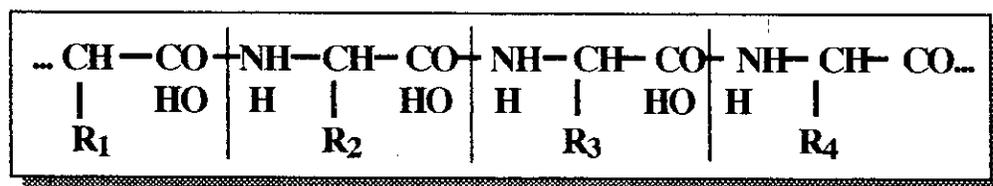
PARTIE  
THEORIQUE



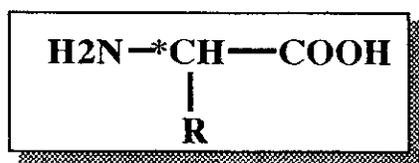
## I / LES ACIDES AMINES :

### I.1- INTRODUCTION :

Les acides aminés, appelés aussi Amino-Acides, à partir desquels la nature fabrique toutes les protéines du règne végétal et animal, contiennent dans leur formule développée un ou plusieurs carboxyles  $\text{COOH}$  et un ou plusieurs groupements amines, généralement primaires  $\text{NH}_2$ . Un grand nombre sont les produits de l'hydrolyse des protéides qui coupent les chaînes peptidiques.



L'hydrolyse chimique ou enzymatique des protéines conduit à la formation d'acides aminés libres de structure générale:

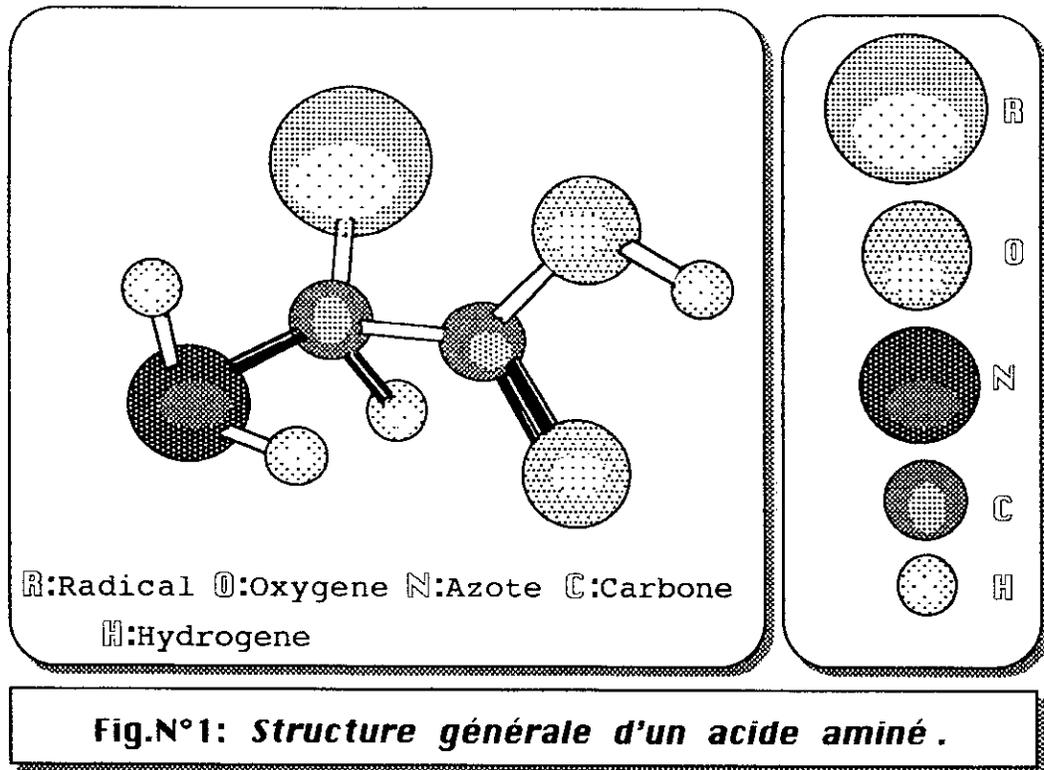


Les acides aminés (Proline exceptée) ont donc en commun une fonction amine primaire et une fonction carboxyle portées toutes deux par le carbone central ou  $\text{C}^*$ .

On classe les acides aminés selon la nature de leur radical  $\text{R}$ , ce dernier pouvant être :

- Un atome d'hydrogène, comme dans le cas de la Glycine
- Une chaîne aliphatique, un cycle ou un hétérocycle [03].

la réaction entre le groupement carboxyle (COOH) d'un amino-acide et le groupement amine (NH<sub>2</sub>) d'un autre amino-acide, conduit à la formation d'une liaison amide entre ces deux acides aminés. Dans ce cas particulier, la liaison est appelée liaison peptidique.



## I.2-1 CLASSIFICATION DES ACIDES AMINES :

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 proteines courantes.

Les amino-acides possèdent des structures diverses et peuvent être répartis en sept (07) groupes suivant que R soit un radical aliphatique, aromatique ou hétérocyclique. Le premier groupe, celui des acides aminés aliphatiques comprend :

- **Les acides aminés simples:**  
Glycine, Alanine, Valine, Leucine et Isoleucine
- **Les acides aminés hydroxylés:**  
Sérine et Thréonine
- **Les acides aminés soufrés:**  
Méthionine, Cysteine et Cystine
- **Les acides aminés dicarboxyliques:**  
Acide Aspartique, Acide Glutamique, Asparagine et Glutamine.
- **Les acides aminés possédant plusieurs groupements basiques:**  
Lysine et Arginine.

Le second groupe est composé d'**acides aminés aromatiques** tels la Phénylalanine et la Thyrosine.

Le troisième groupe se compose d'**acides aminés hétérocycliques** comme la Tryptophane, l'Histidine, la Proline et l'Hydroxyproline.

La classification, la structure et les abréviations utilisées sont mentionnées au tableau N°1.

Certains acides aminés doivent être apportés par l'alimentation car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme . Chez l'homme, huit acides aminés semblent être essentiels, ce sont la Leucine, l'Isoleucine, la Lysine, la Méthionine, la Phénylalanine, la Thréonine, le Tryptophane et la Valine. [04]

Signalons aussi, qu'en plus des vingt Amino-acides communs, il existe des amino-acides rares qui ont été isolés de l'hydrolysats de protéines très spécialisées et qui apparaissent par modifications des acides aminés communs.

Dans les cellules vivantes, il existe aussi environ 150 autres amino-acides se présentant soit à l'état libre, soit à l'état combiné mais qui n'existent dans aucune protéine.

Tableau N°1 (Suite)

N o m
A
Sérine
Thréonine
Méthionine
Cystéine
Cystine

Tableau N°1 : Classification et Structure des Acides Aminés .

N o m	Abrev.	Structures chimiques	Pt. I.	Solubilité dans l'eau	Observation
<b>ACIDES AMINES ALIPHATIQUES</b>					
Glycine	GLY	$\begin{array}{c} \text{H} - \text{CH} - \text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	5,9	22,5g/l	Acide Aminé non chargé
Alanine	ALA	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} - \text{CH} - \text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	6,1	Soluble	Acide Aminé non chargé
Valine	VAL	$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	6,0	6,8g/l	Acide Aminé non chargé
Leucine	LEU	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	6,0	2,4g/l	Acide Aminé non chargé
Isoleucine	ILEU	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	6,0	2,1g/l	Acide aminé non chargé

Tableau N°1 (Suite) : Classification et Structure des Acides Aminés .

N o m	Abrev.	Structures chimiques	P.I	Observation
<b>ACIDES AMINES DICARBOXYLIQUES ET LEURS AMIDES</b>				
Acide Aspartique	ASP	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	3	Acide Aminé chargé négativement à pH=6
Acide Glutamique	GLU	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	3,1	Acide Aminé chargé négativement à pH=6
Asparagine	ASP-NH <sub>2</sub>	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$		Acide Aminé non chargé
Glutamine	GLU-NH <sub>2</sub>	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	5,6	Acide Aminé non chargé

Tableau N°1 (Suite) : Classification et Structure des Acides Aminés .

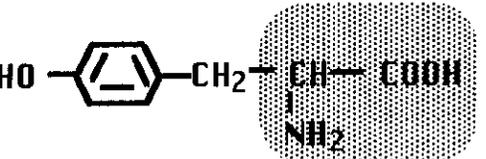
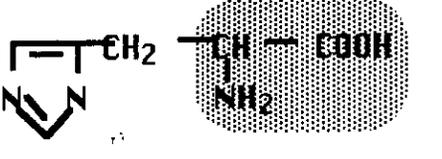
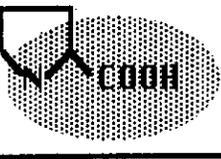
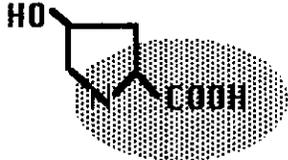
N o m	Abreu.	Structures chimiques	Pt. I.	Solubilité dans l'eau	Observation
<b>ACIDES AMINES POSSEDANT PLUSIEURS GROUPEMENTS BASIQUES</b>					
Lysine	LYS	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	9,5	Très Soluble	Acide Aminé chargé positivement à pH=6
Arginine	ARG	$\text{HN}=\underset{\text{H}_2\text{N}}{\text{C}}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	11,2	Très Soluble	Acide Aminé chargé positivement à pH=6
<b>ACIDES AMINES AROMATIQUES</b>					
Phénylalanine	PHE		5,9	2,7g/l	Acide Aminé non chargé
Tyrosine	TYR		5,6		Acide Aminé non chargé

Tableau N°1 (Suite) : Classification et Structure des Acides Aminés .

N o m	Abrev.	Structures chimiques	Pt. I.	Solubilité dans l'eau	Observation
<b>ACIDES AMINES HETEROCYCLIQUES</b>					
Tryptophane	TRY		5,9	Soluble	Acide Aminé non chargé
Histidine	HIS		11,2	Très Soluble	Acide Aminé chargé positivement à pH=6
Proline	PRO		6		Acide Aminé non chargé
Hydroxyproline	HYDRO				

### I.3 - PROPRIETES PHYSICO-CHEMIQUES DES ACIDES AMINES :

La plus grande partie des aminoacides naturels sont des  $\alpha$ -aminoacides (le groupe amino est directement adjacent au groupe carboxylique).

#### a - PROPRIETES OPTIQUES :

A l'exception de la Glycine, tous les acides aminés ont un carbone asymétrique. Ils présentent donc un pouvoir rotatoire.

Les acides aminés naturels ont la même configuration que le L-glycéraldéhyde. On dit qu'ils sont de la série L quelque soit le sens de leur pouvoir rotatoire. Certains acides aminés possèdent un deuxième carbone asymétrique.

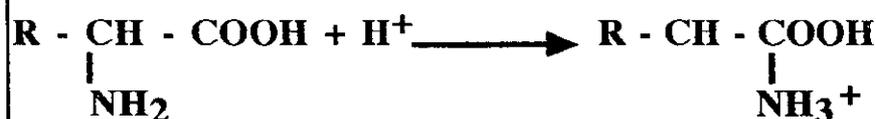
#### b- PROPRIETES SPECTRALES:

Alors qu'aucun des 20 aminoacides trouvés dans les protéines n'absorbent la lumière dans le visible (400 à 750nm), trois aminoacides : tyrosine, tryptophane et phénylalanine, absorbent fortement dans l'ultraviolet et présentent un maximum à 280nm et ceci en raison de la présence d'un cycle dans leurs structures .

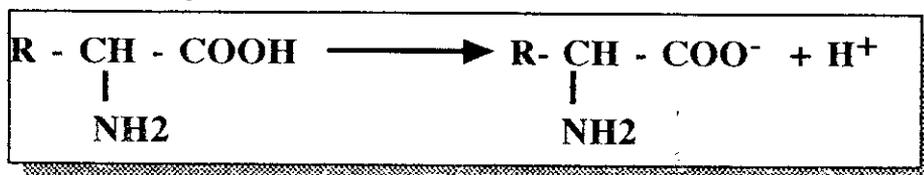
Tous les acides aminés absorbent dans l'ultra-violet (<220nm).

#### c- PROPRIETES ACIDO-BASIQUES :

Les acides aminés ont des groupements ionisables pour la plupart au voisinage dans la molécule d'un groupe carboxyle COOH et d'un groupe amine. Leur ionisation varie avec le pH. Ainsi, en milieu acide, l'amine s'ionise tandis que la dissociation du carboxyle rétrograde.



En milieu basique, le carboxyle s'ionise mais l'ionisation de l'amine rétrograde



**Remarque:**

*Les aminoacides possèdent à la fois des propriétés acides et basiques, ce sont des composés amphotères.*

*Aux pH intermédiaires, la dissociation des deux groupements polaires varie en fonction du pH. Le pH pour lequel les deux dissociations sont égales est appelé point isoélectrique et est noté  $pH_i$ . A ce  $pH_i$ , il se forme un ion mixte ou Zwitterion ( $^+NH-CH_2-COO^-$ ), de charge nulle. Cet ion ne migre donc pas lorsqu'il est placé dans un champ électrique.*

**d - SOLUBILITE ET POINT DE FUSION :**

Les acides aminés possèdent des groupements ionisables, ils sont solubles dans les solvants polaire tels que l'eau ou l'alcool et insolubles dans les solvants apolaires tels que le benzene , l'hexane ou l'ether.

Le point de fusion des acides aminés est élevée (superieure à 200°C). [03]

**e - REACTIVITE CHIMIQUE :**

La réactivité chimique des acides aminés est due à la présence de la fonction carboxylique et de la fonction amine du carbone  $\alpha$ . La nature du radical R peut toutefois intervenir.

**e.1 - Réactions des groupes carboxyliques:**

La fonction  $\alpha$ -carboxylique de tous les  $\alpha$ -amino-acides subit des réactions organiques bien connu conduisant à la formation d'amides, d'esters et d'halogénures d'acides.

Une réaction souvent utilisée dans l'analyse des amino-acides et des polypéptides est la réduction de la fonction carboxylique qui aboutit à la formation de l'alcool  $\alpha$ -aminé correspondant , grâce à un agent de réduction : le borohydrure de sodium.

## e.2 - Réactions de la fonction $\alpha$ -aminée :

Une des réactions les plus caractéristiques et les plus utilisées est la réaction à la ninhydrine qui peut être appliquée à la mesure quantitative des acides aminés, même à des concentrations faibles. Par chauffage, un acide  $\alpha$ -aminé réagit avec deux (02) molécules de ninhydrine pour donner un composé intensément coloré. Une couleur pourpre obtenue par réaction de la ninhydrine avec tout les acides aminés, les péptides ayant une fonction  $\alpha$ -aminé libre, alors que la proline et l'hydroxyproline dans lesquels la fonction  $\alpha$ -aminé est substituée fournissent des dérivés quelques peu différents, qui possèdent une couleur Jaune caractéristique.

Les fonctions  $\alpha$ -aminé des amino-acides réagissent réversiblement pour former des composés appelés base de Schiff. Les bases de Schiff sont des composés intermediaires se formant dans un grand nombre de réactions enzymatiques où une enzyme agit sur une fonction amine ou carboxyl d'un substrat.

Une autre réaction importante de la fonction aminée est celle où intervient le cyanate avec formation de dérivée carbamoyl.

Les acides aminés peuvent également donner des réactions caractéristiques des fonctions présentes dans leurs chaînes latérales [05]

## I.4 - METHODES DE SEPARATION ET DE DOSAGE DES ACIDES AMINES :

L'identification et le dosage des acides aminés existant à l'état libre dans les liquides biologiques ou obtenus après hydrolyse acide des protéines présentent des difficultés insurmontables jusqu'à l'apparition de la Chromatographie et de l'Electrophorèse .

Avant l'introduction de ces méthodes, des méthodes classiques comme la Gravimétrie ou la Colorimétrie étaient employées. Seulement, les méthodes Gravimétriques nécessitaient au départ des prises d'essais importantes de protéines pour une analyse complète et étaient particulièrement longues, et les méthodes Colorimétriques en présence de Ninhydrine ou de Fluoro-2,4 Nitrobenzène furent abandonnées pour des techniques plus précises et plus rapides.

## a - ELECTROPHORESE SUR PAPIER :

C'est la méthode la plus simple. Elle permet la séparation des aminoacides selon leur 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 des 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 aminoacides selon leur charge électrique nette au pH utilisé. Les aminoacides qui sont des cations au pH utilisé, migrent vers la cathode, pôle négatif et les aminoacides anioniques migreront vers l'anode, pôle positif, comme cela est indiqué dans la figure N°2 au temps T<sub>1</sub>. Une fois le papier séché, ce dernier reçoit une pulvérisation d'une solution de Ninhydrine, puis est chauffé, ce qui révèle la localisation des aminoacides qui sont alors identifiés par comparaison avec la position de la migration d'acides aminés utilisés comme marqueurs.[05]

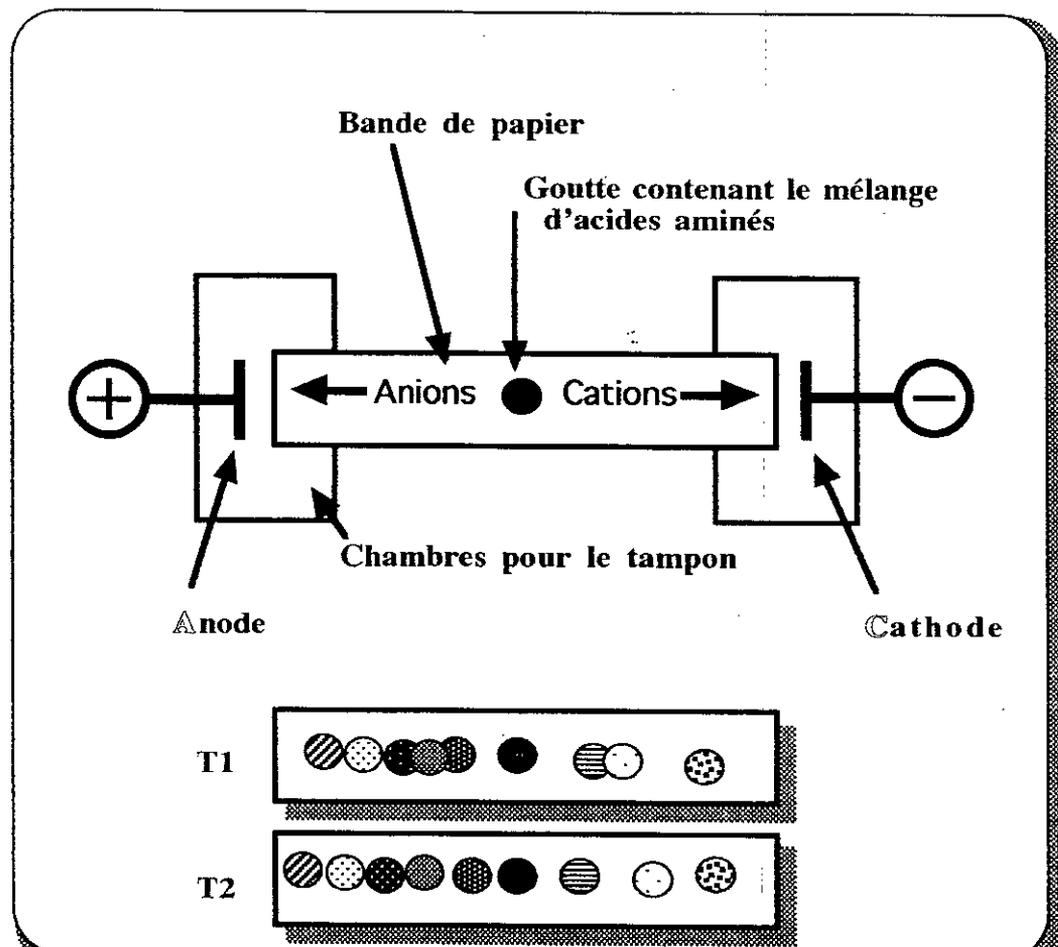


Fig.N°2 : Séparation des Acides Aminés par Electrophorèse sur papier

(L. Lehninger.)

## **b - TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES :**

Au début, les *chromatographies sur papier* et sur *couche mince* ont été les plus utilisées. Elles ont été supplantées ensuite par la *Chromatographie sur résine échangeuse d'ions* qui est encore actuellement très répandue.

L'application de la *Chromatographie en Phase gazeuse et en phase liquide à haute performance* à l'analyse des *Acides Aminés* dans les milieux biologiques et dans les hydrolysats de protéines a connu son plein développement qu'il y'a une dizaine d'année lorsque Gehrke et ses collaborateurs ont réussi une séparation de vingt aminoacides contenus dans un hydrolysats de protéines. [04]

### **b.1 - Chromatographie sur papier :**

La chromatographie sur papier présente un intérêt historique puisqu'elle préfigure les techniques modernes d'analyses biochimiques. Elle est fondée 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.

Malgré toutes les améliorations portées à cette technique et l'introduction de dispositifs perfectionnés de révélation, la chromatographie sur papier reste en deçà des limites qu'offre dans les mêmes conditions la Chromatographie sur Couche Minces puisque la précision des dosages quantitatifs atteint 5% et même plus. [04]

### **b.2 - Chromatographie sur couches Minces :**

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 Chromatographie est moins sensible que la Chromatographie sur Résines Echangeuses d'Ions. [04]

### b.3 - Chromatographie sur Résines Echangeuses d'Ions:

Cette technique comporte deux étapes :

- La première consiste essentiellement en une filtration du mélange à analyser 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 celle de la détection et de l'analyse quantitative.

L'effluent de la colonne, après addition de la Ninhydrine, passe dans un Colorimètre, les Acides Aminés sont identifiés par la position de leurs pics d'absorption.

En 1958, Spackman, Moore et Stein ont obtenu une séparation complète d'hydrolysats de protéines en 48 heures. deux ans plus tard, Perez et Moris ont mis au point le premier appareil automatique pour le dosage des Acides Aminés. L'analyse complète d'un hydrolysat de protéines peut être réalisée avec cet appareil en 24 heures avec une précision de 1% et 0,1  $\mu$ mol de chaque aminoacide.

A partir de cette date, le but recherché était surtout d'analyser une grande gamme d'acides aminés en un minimum de temps. Les derniers auto-analyseurs d'acides aminés libres ont atteint les performances suivantes :

- Sensibilité : Jusqu'à 0,1 nmoles
- Temps d'analyse : de 1 à 3 heures

Malgré ces performances et bien que la méthode précédente soit actuellement la méthode de référence, elle semble être concurrencée par la Chromatographie en Phase Liquide, plus rapide et plus sensible qui allie à son coût bas et à la pluralité (non spécifique) de son appareillage, la possibilité de combinaison avec d'autres systèmes, comme la Spectroscopie Infra-Rouge, l'Ultra Violet ou la Spectrométrie de Masse. De ce fait, cette dernière technique sera retenue.

## **b.4 - La Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance :**

### **-1- Définition et principe :**

La chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance est une méthode basée sur la migration différentielle des divers solutés contenus dans les échantillons à analyser. Chaque soluté est soumis à deux forces : une force de rétention exercée par la phase stationnaire et une force 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  $K$ , unité de volume de phase fixe sur la masse de soluté par unité de phase mobile [04] [07] [32]

### **-2- Appareillage :**

La *Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance* est constituée essentiellement d' :

- Un système de pompage de la phase mobile
- Un injecteur
- Une colonne de séparation chromatographique
- Un détecteur
- Un intégrateur ou système informatique.

Le choix de la phase mobile est dicté par le système de détection et a une importance primordiale vu que la séparation est basée sur la différence de polarité de la phase stationnaire, de la phase mobile et des produits à séparer.

#### **-2.1- La colonne :**

C'est la partie la plus importante de l'appareil de chromatographie en phase liquide puisqu'elle est le siège des séparations des solutés.

Son choix est très important pour le succès de l'analyse.

Elle est de forme cylindrique, rectiligne, en acier inoxydable, de longueur allant de 10 à 50 cm et de section intérieure de 0,5 cm environ.

Leur domaine d'application est large : Acides gras, Stéroïdes, Métabolites de médicaments. Elles sont de plus en plus utilisées dans la chromatographie des acides aminés.

#### **α- Le support :**

Le support est constitué par des grains d'un solide de granulométrie bien définie

Un support idéal doit présenter les qualités suivantes :

- Une inertie physique et chimique (absence de propriétés analytiques).
- Une bonne résistance mécanique et une bonne stabilité thermique
- Une grande porosité afin de présenter une faible perte de charge
- Une adsorption nulle vis à vis des solutés.

#### **β- La phase stationnaire :**

La phase stationnaire quant à elle doit être stable et ne doit pas donner de combinaisons ou d'associations irréversibles avec l'un des constituants. Il est important de connaître sa température maximale d'utilisation et son pH critique à ne pas dépasser afin d'éviter sa dégradation thermique et chimique irréversible mais la caractéristique la plus importante d'une phase stationnaire est sa polarité, due aux forces intra et intermoléculaires la constituant.[04]

## -2.2- Bases théoriques de la Chromatographie : [06][07]

### -2.2.1- Paramètres caractérisant la rétention :

$\alpha$ - *Le temps de rétention* :  $t_R$

Il est égal au temps écoulé entre le moment de l'injection et celui de l'apparition du maximum du pic d'éluion . Il est directement mesurable sur le chromatogramme.

$\beta$ - *Le volume de rétention* :  $V_R$

Il représente le volume de la phase mobile nécessaire pour éluer chaque soluté.

$\gamma$ - *Le facteur de capacité* :  $K'$

Il permet de caractériser la rétention indépendamment des paramètres géométriques de la colonne .

$$K' = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

ou le  $t_R$  est le temps de rétention d'un élément et le  $t_M$  est le temps de rétention du solvant (temps mort)

Un produit non retenu sur la colonne aura un  $k' = 0$

### 2.2.2- Paramètres caractérisant la séparation :

a- *Facteur de Sélectivité* :  $\alpha$

Il caractérise la distance séparant les sommets de deux pics consécutifs :

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M} = \frac{k'_2}{k'_1} \quad \alpha \text{ doit être supérieur à } 1$$

**b - Efficacité de la colonne : N**

C'est l'aptitude de la colonne à donner des pics très fins. Elle est mesurée pour chaque composé par le nombre de plateaux théoriques de la colonne.

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{\omega} \right)^2$$

ou  $\omega$  est la largeur du pic

On définit également la hauteur équivalente à un plateau théorique :

$$\text{H.E.P.T} = \frac{L}{N}$$

ou L est la longueur de la colonne

La H.E.P.T est d'autant plus petite que la colonne est plus efficace.

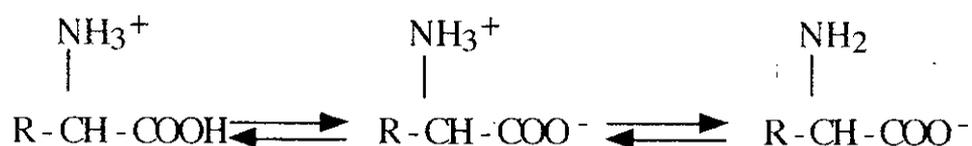
**c - La Résolution :**

Elle mesure le degré de séparation de deux pics voisins. Elle est définie par la relation :

$$R_s = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\omega_1 + \omega_2}$$

### c- Séparation des Acides Aminés par Electrodialyse:

Les Acides Aminés symbolisés par  $R-CHNH_2COOH$  peuvent exister en solution sous trois formes ioniques selon le pH :



Les propriétés ioniques qu'ils possèdent ont guidés les chercheurs à développer les techniques de purification à membrane et à en faire l'application dans la séparation des amino-acides. Certains ont fait appel à la micro et à l'ultra-filtration , d'autres ont pensé à l'Electrodialyse.

cette technique consiste en une migration à travers des membranes selectives sous l'action d'un champ électrique de particules ioniques. La concentration des acides aminés peut être réalisée à partir de solutions portées à des pH proches de leur points iso-électriques.

Cette methode 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.

Les paramètres et les détails de ce procédé seront traités dans le chapitre suivant.

## II / L'ELECTRODIALYSE :

### II.1 - PRINCIPE DE L'ELECTRODIALYSE :

Le terme dialyse désigne la diffusion d'un solide à travers une membrane qui lui est perméable tout en étant imperméable au solvant. L'électrodialyse désigne donc le transfert d'ions à travers une membrane qui leur est perméable, sous l'effet d'un champ électrique.

Sous l'effet de ce champ électrique, les anions vont être attirés vers l'anode et vont sortir du compartiment (a) en traversant la membrane anionique, les cations vont être attirés vers la cathode et vont également sortir du compartiment (a) en traversant la membrane cationique, par conséquent, le compartiment (a) va s'appauvrir en ions, on l'appellera de ce fait compartiment de déminéralisation ou "compartiment produit". Le compartiment (b) pour lequel les ions ne peuvent traverser les membranes va s'enrichir en ions, s'appellera compartiment de concentration ou "compartiment saumure". [08]

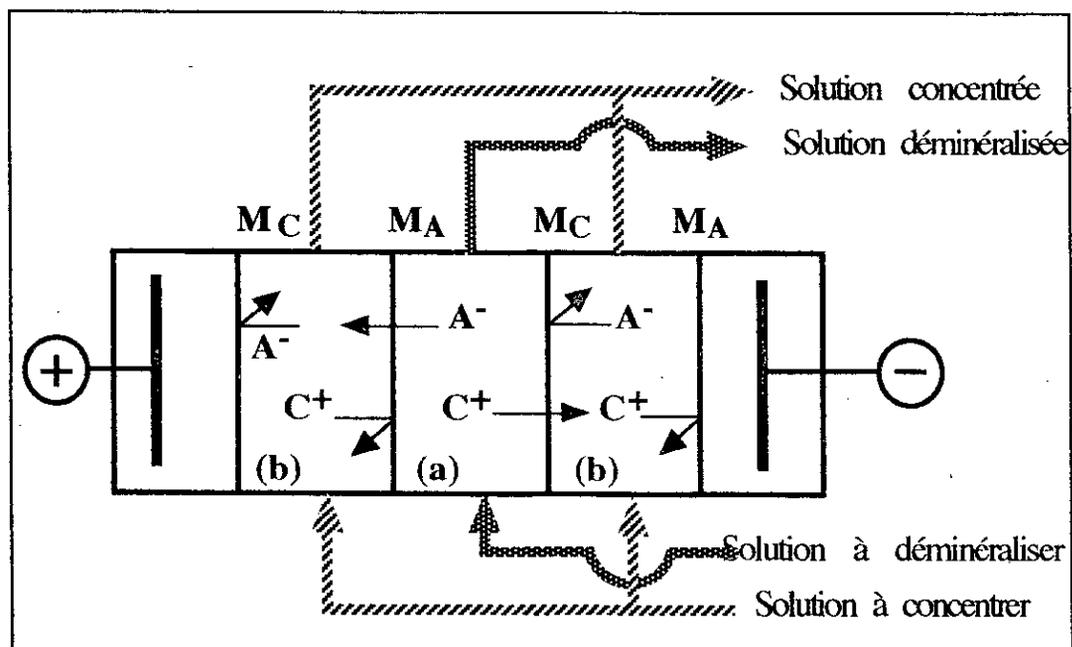


Fig.N°3: Principe de l'électrodialyse

L'Electrodialyse englobe le processus de l'electrolyse, de la dialyse, et de l'electro-osmose. C'est pourquoi le flux total des ions à travers les membranes, apparaissant au moment de l'electrodialyse, peut être observé comme la somme de trois courants :

- d'electromigration provoqué par le mouvement de ions sous l'action du pôle électrique.
- de diffusion, provoqué par le gradient des potentiels chimiques
- et enfin, le courant conventionnel conditionné par le phénomène de l'electro-osmose . [01]

#### a- Théorie de la densité de courant critique :

Soit une solution qui contient des ions, la concentration de la solution au niveau de la membrane est liée à la densité de courant  $J = I / S$  par la relation :

$$\frac{D_B (C_0 - C)}{\delta} = \frac{J (\bar{t}_B - t_B)}{F \cdot t_B} \quad (1) \text{ côté diluat}$$

ou  $\delta$  est l'épaisseur de la couche limite de diffusion ,  $D_B$  le coefficient de diffusion de l'ion  $B^+$  dans la solution ,  $F$  est la constante de Faraday (96500 coulomb / équivalent),  $t_B$  et  $\bar{t}_B$  sont les nombres de transport de l'ion  $B^+$  respectivement dans la solution et dans la membrane.

$$t_B = \frac{Z_B^2 \cdot U_B \cdot C_B}{\sum_i (Z_i^2 \cdot U_i \cdot C_i)} \quad (2)$$

$$\bar{t}_B = \frac{Z_B^2 \cdot \bar{U}_B \cdot \bar{C}_B}{\sum_i (Z_i^2 \cdot \bar{U}_i \cdot \bar{C}_i)} \quad (3)$$

ou  $U_B$ ,  $\bar{U}_B$  représentent la mobilité de l'ion  $B^+$  dans la solution et dans la membrane,  $Z_B$  la charge de l'ion  $B^+$ ,  $C_B$  et  $\bar{C}_B$  étant les concentrations de  $B^+$  dans la solution et dans la membrane.

D'après l'équation (1), si  $J$  augmente,  $C$  diminue et  $J$  atteint une valeur limite  $J_{crit}$  lorsque  $C=0$  : cette valeur limite est la densité de courant critique (en  $A/m^2$ ).

$$J_{crit.} = \frac{k \cdot A \cdot C_0}{t_B - t_B} \quad \text{avec} \quad k = D_B / \delta$$

$k$  : Coefficient de transfert de matière de B.

Pour une valeur de  $C_0$  donnée,  $J$  croît avec  $V$  (différence de potentiel entre les compartiments) jusqu'à  $J_{crit.}$  (zone 1), on observe ensuite une zone critique (zone 2), puis une zone surcritique (zone 3) avec électrolyse de l'eau, entraînant une augmentation du courant et une forte consommation d'énergie (Fig.4). Le fonctionnement de l'électrodialyseur (en zone 3) réduit notablement la durée de vie des membranes. [08]

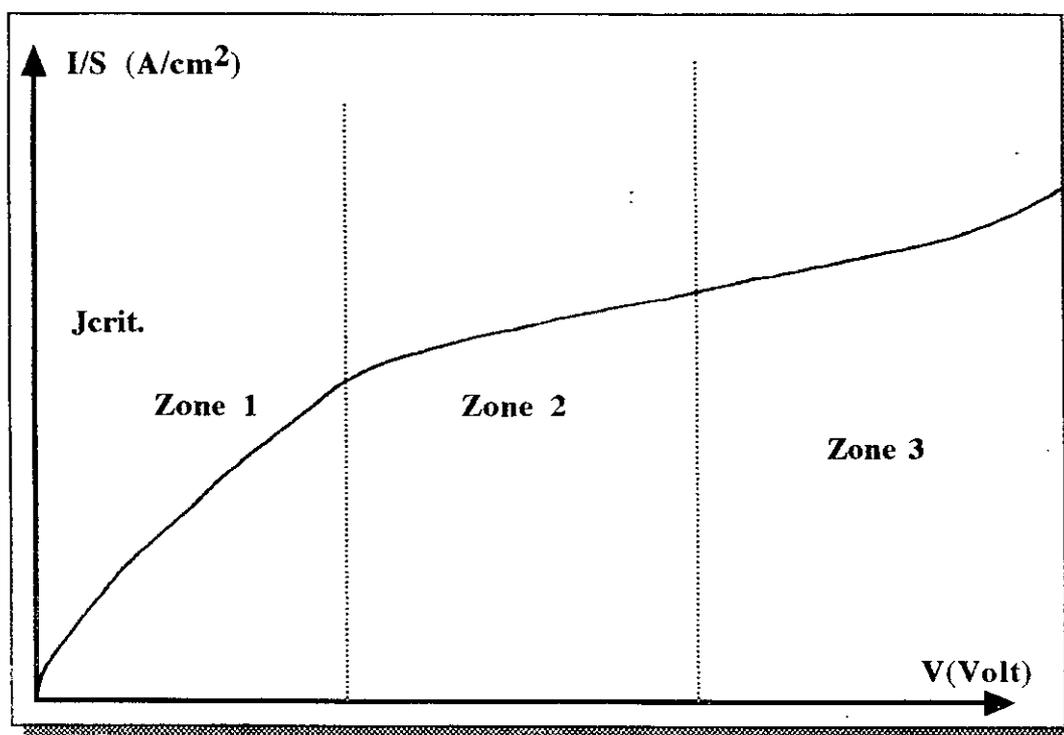


Fig.N°4: Courbe de variation du courant en fonction de la tension appliquée entre les compartiments

## b - Transport d'eau :

Le transport d'eau (Fig.N°5) par électro-osmose est lié au transfert des ions qui entraînent des molécules d'eau. On peut caractériser le transport d'eau par un nombre de transfert électroosmotique (moles d'eau par Faraday), le transport d'eau limite la valeur de la concentration maximale que l'on peut atteindre dans le circuit saumure. En effet, comme le transport électroosmotique d'eau se fait dans le même sens que celui des ions, on peut prévoir que l'électro-osmose conduit à un transfert net d'eau du circuit "produit" vers le circuit "Saumure". [08]

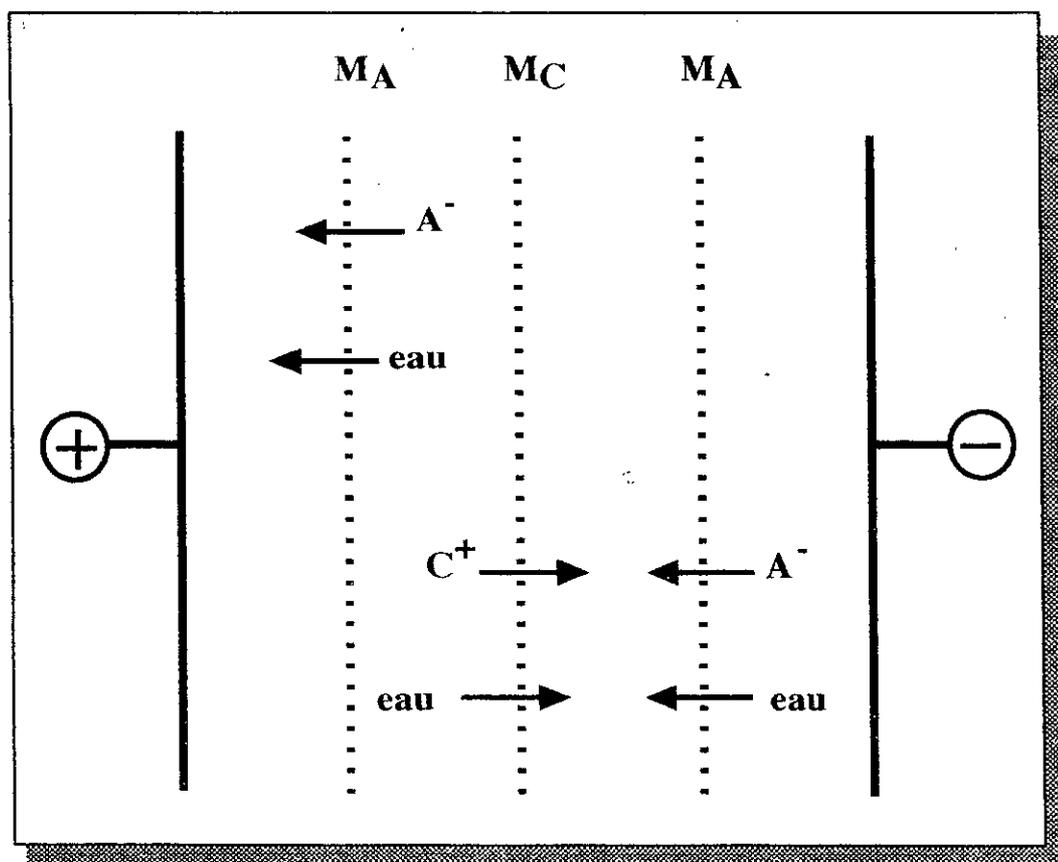


Fig.N°5: Principe de l'électro-osmose dans un Electro-dialyseur

## III.2: LES MEMBRANES D'ELECTRODIALYSE :

Pour séparer les ions, des membranes présentant des propriétés sélectives aux anions et aux cations sont utilisées. Il s'agit, comme pour les résines échangeuses d'ions, d'un support macromoléculaire sur lequel sont fixés des groupements ioniques. Ce support prend ici la forme d'un film. Les macromolécules utilisées sont généralement à noyaux aromatiques, ce qui présente certains inconvénients, particulièrement pour les membranes anioniques.

Le film constitue un réseau poreux, électriquement neutre c'est à dire contenant des anions et des cations . Pour une membrane anionique, les groupements cationiques sont fixés sur le réseau et les anions sont libres. Si la membrane est plongée dans un électrolyte, elle peut échanger ses anions avec ceux de la solution, dans le cas d'une membrane cationique, les dispositions sont inversées.

### a - Caractéristiques générales :

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 0,8mm.

Du point de vue propriétés, on distingue deux types de membranes :

- Les membranes cationiques qui sont perméables uniquement aux cations et dont le groupement fonctionnel est en général un groupement acide sulfonique ( $\text{SO}_3^-$ ), par exemple, le copolymère styrène-divinylbenzène sulfoné;

- Les membranes anioniques qui sont perméables uniquement aux anions et dont le groupement fonctionnel est un groupement ammonium quaternaire ( $\text{NR}_4^+$ ), par exemple, le copolymère styrène divinylbenzène ammonium quaternaire [09]

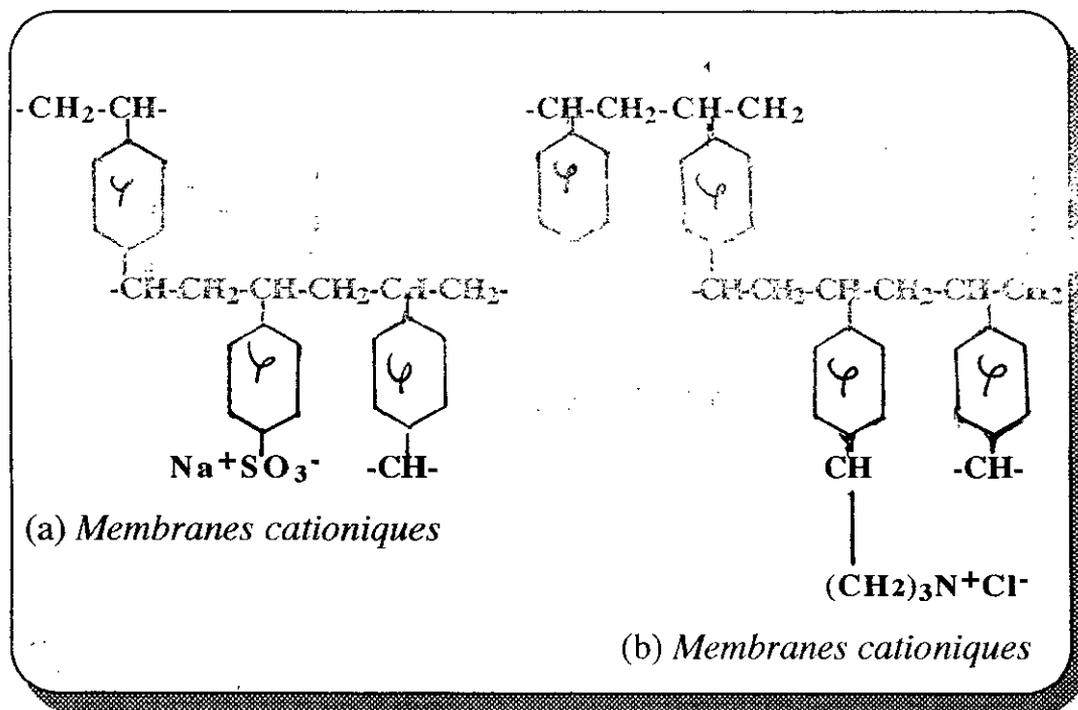


Fig. N°6: Structure des membranes .

Du point de vue fabrication, on distingue deux types de membranes :

- Les membranes hétérogènes qui sont constituées par des résines échangeuses d'ions mélangées à un liant (polychlorure de vinyle (PVC), polyéthylène, etc...). L'ensemble peut enduire ensuite une trame (tissus de polyacrylonitrile, de polyester, etc...). 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 ( $\text{SO}_3^-$  ou  $\text{NR}_3^+$ ).

- 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. [10]

Il existe un troisième type de membranes, dites membranes bipolaires qui apparaissent maintenant dans la pratique industrielle.

Ces membranes sont constituées de deux feuillets accolés, l'un anionique, l'autre cationique. Elles permettent la dissociation de l'eau en ses ions.

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

### b - Sélectivité :

La sélectivité est l'une des propriétés fondamentales d'une membrane échangeuse d'ions. Elle est caractérisée par la valeur du nombre de transport de l'ion mobil ou contre-ion ( $\bar{t}$ ) dans la membrane. Par définition, ce nombre de transport pour une membrane parfaitement sélective est égal à l'unité. En fait, il est plus exact de mesurer l'augmentation de la valeur du nombre de transport dans la membrane par rapport à sa valeur en solution, c'est pourquoi l'on a coutume de définir la sélectivité d'une membrane par la relation:

$$S = \frac{\bar{t} - t}{1 - t}$$

avec  $\bar{t}$  : nombre de transport du contre-ion dans la membrane  
 $t$  : nombre de transport de l'ion mobil dans la solution.

Rappelons que pour une membrane sélective, on appelle contre-ion l'ion qui normalement doit traverser la membrane et co-ion l'ion qui doit être arrêté par cette membrane.

### c- Résistance électrique :

La résistance électrique d'une membrane doit être la plus faible possible de manière à ne pas entraîner une consommation d'énergie trop importante.

En électrodialyse, on parle de résistance électrique spécifique plutôt que de résistivité, pour tenir compte de l'épaisseur de la membrane. On a :

$$r_M = \rho_M \cdot e$$

- avec:  $r_M$ (Ohm.cm<sup>2</sup>) : Résistance électrique spécifique de la membrane  
 $\rho_M$ (Ohm.cm) : Résistivité électrique de la membrane  
 $e$  (cm) : Epaisseur de la membrane

Le tableau N°2 donne les caractéristiques des principales membranes échangeuses d'ions disponibles sur le marché en 1979 [11]

Tab.N°2: Principales membranes d'électrodialyses commercialisées en 1979:

Pays d'Origine	Fabricant	References	
U . S . A	Ionics	Nepton CR61 AZ L386 AR163 QZL 386	
	Ionics chemical Corp.	Ionics MC 3470 MA3475 R	
	Dupont de Nemours	Nafion	
	Rai Research Corp.	Permion	
	JAPON	Asahi chemical Co.	Aciplex K101
Asahi Glass Co.		Selemion CMV Selemion AMV	
Tokuyoma Soda		Neosepta CMS Neosepta ACS	
U . R . S . S		Ministère des Indus. chim.	MA-MK
FRANCE		Rhône Poulenc	ARP-CRP

## II.3 - CONDITIONS DE FONCTIONNEMENT :

### a - Procédé discontinu :

Dans ce procédé (figure N°7), appelé aussi procédé par cuvette, l'eau brute à dessaler est stockée dans un réservoir d'où un groupe électro-pompe la fait circuler en circuit fermé dans les compartiments de déminéralisation du module d'électrodialyse.

Le temps de déminéralisation de la cuvette dépend de son volume, de la salinité initiale de l'eau brute, de la salinité de l'eau déminéralisée et de la différence de potentiel appliquée.

Ce procédé présente certains avantages:

- il permet de traiter une eau de n'importe quelle salinité sans modification,
- il permet d'obtenir une eau exactement à la salinité désirée (200ppm par exemple)
- les membranes travaillent dans de bonnes conditions ( la densité de courant diminuant au cours de la déminéralisation).

Toutefois, il ne peut être utilisé pour des installations de grande capacité (au-dessus de  $500\text{m}^3/\text{jour}$  environ) par suite de la nécessité des cuves de stockage de plus en plus importantes et des difficultés qu'il y'a à homogénéiser des volumes élevés.

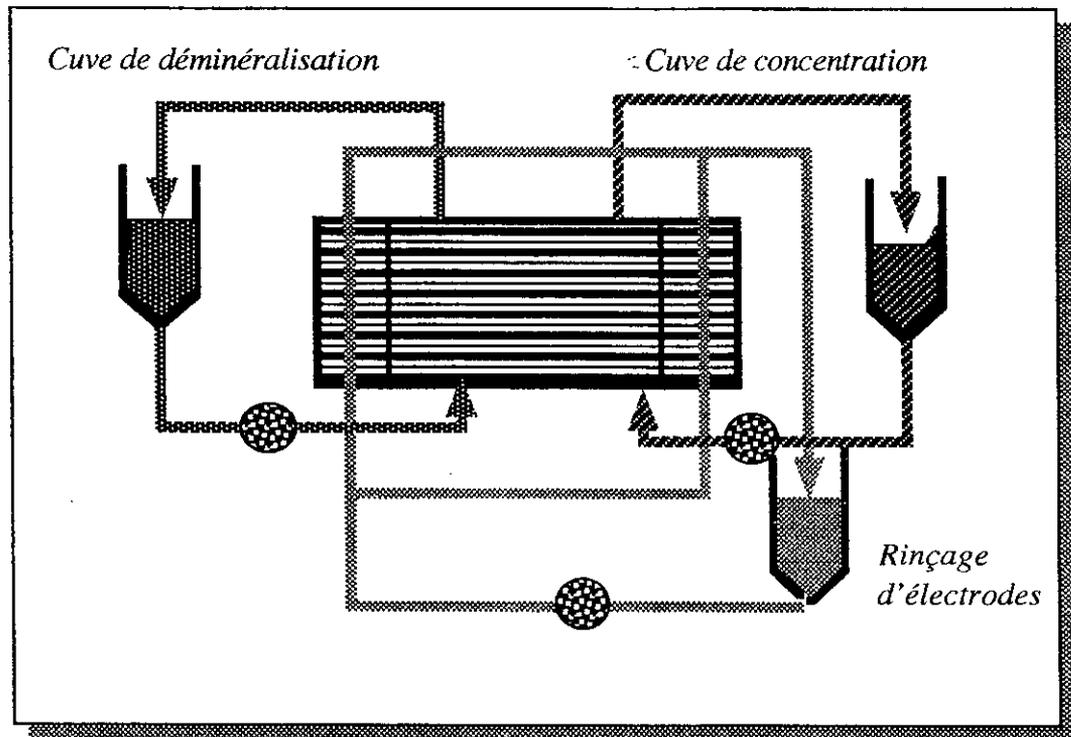


Fig.N°7 : Procédé discontinu

### b - Procédé continu :

Dans ce procédé, appelé aussi procédé à passage direct, la solution saline à déminéraliser ne passe qu'une seule fois dans un module d'électrodialyse. Pour obtenir des capacités de production élevées, il est souvent nécessaire de mettre plusieurs lignes en parallèle (voir figure N° 8 ).

Ce type de procédé est utilisé pour toutes les installations de grandes capacités (au dessus de 500m<sup>3</sup>/jour environ).

Par rapport au procédé discontinu, ce procédé présente quelques inconvénients :

- Toutes les membranes ne travaillent pas dans les mêmes conditions (concentrations différentes).
- Toutes variation de la salinité d'entrée entraine une variation de la salinité de sortie.

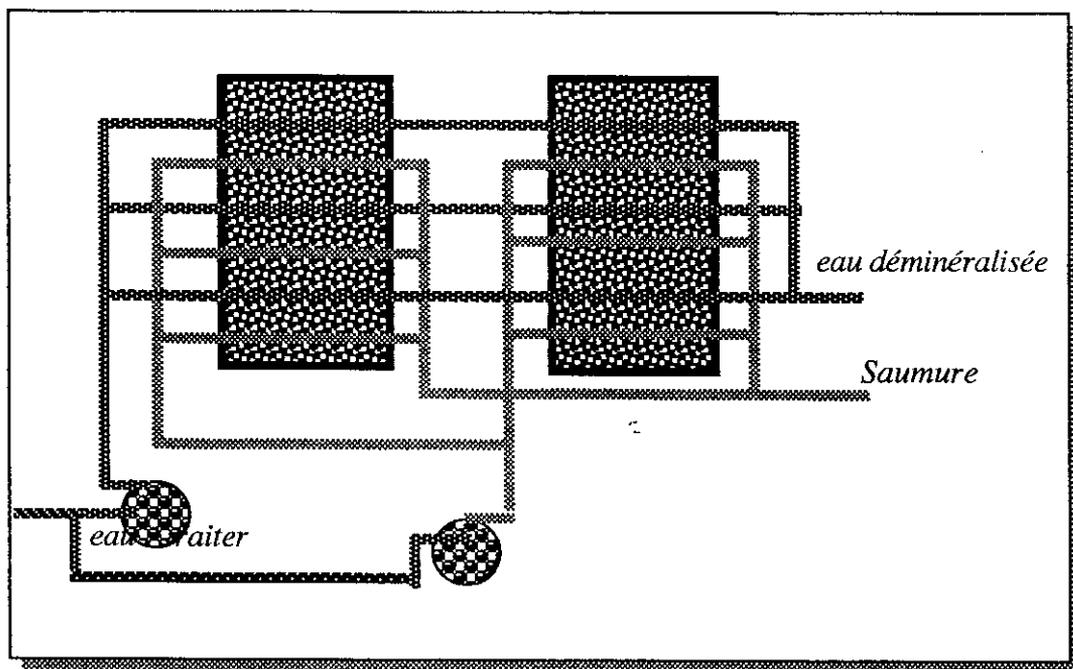


Fig.N°8 : Procédé Continu

### c - Procédé continu à recirculation :

Ce procédé (Figure N°9) consiste à renvoyer en tête du module d'électrodialyse une fraction plus ou moins importante de la production, de manière à obtenir des vitesses élevées. Si l'on compare ce procédé au procédé continu, la concentration du circuit de déminéralisation est toujours plus faible.

Il en résulte:

- un accroissement important de la résistance électrique du module et par la même une augmentation de la consommation d'énergie de désalement
- une diminution de la densité de courant limite et par suite une augmentation de la surface de membrane pour une production donnée [09]

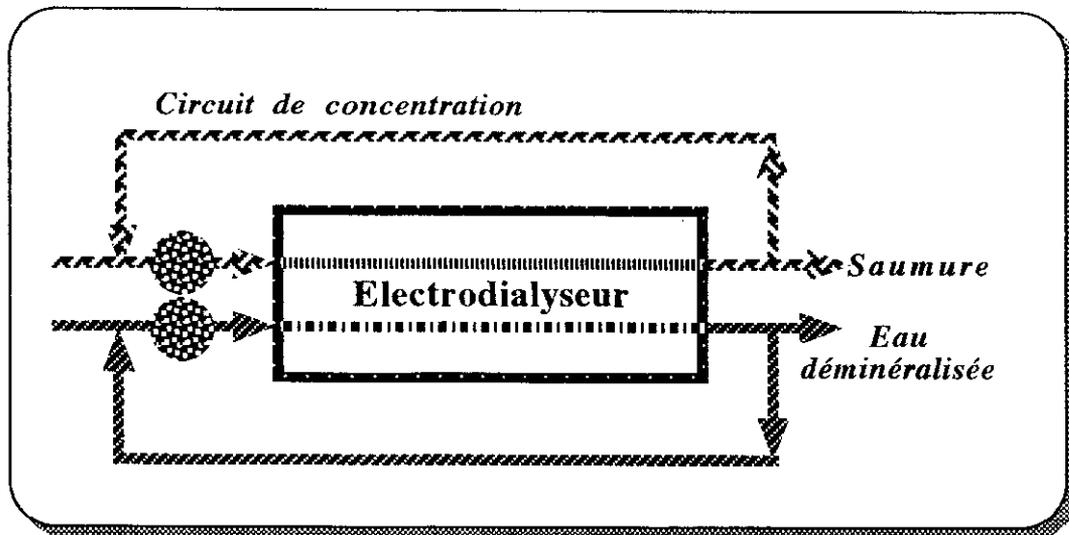


Fig.N°9 : Procédé continu à recirculation .

#### d - Facteurs limitant l'électrodialyse :

Il existe une différence entre les nombres de transport des ions dans la solution et dans la membrane. Ceux-ci étant plus élevés dans la membrane que dans la solution.

En suivant le parcours d'un anion, par exemple dans un compartiment d'électrodialyse, on constate un appauvrissement de la solution en anion au voisinage de la membrane anionique (puisqu'il accélèrent leur vitesse de migration dans la membrane), et pour la même raison un enrichissement de la solution en anions juste après la membrane .

Ce phénomène est appelé polarisation et se manifeste donc par la présence de deux couches limites de part et d'autre de la membrane, de concentration en ions différentes de celles de la solution.

Plus la densité de courant électrique augmente, plus l'effet décrit s'accroît : appauvrissement en ions côté entrée de la membrane, enrichissement côté sortie. Il arrive un moment où la concentration ionique côté entrée tend vers zéro (la densité du courant à cette étape est appelée densité limite), et où le courant tend à ioniser l'eau, libérant les ions  $H^+$  et  $OH^-$ , qui vont migrer à travers les membranes. Le phénomène de la densité de courant critique a été abordé précédemment.

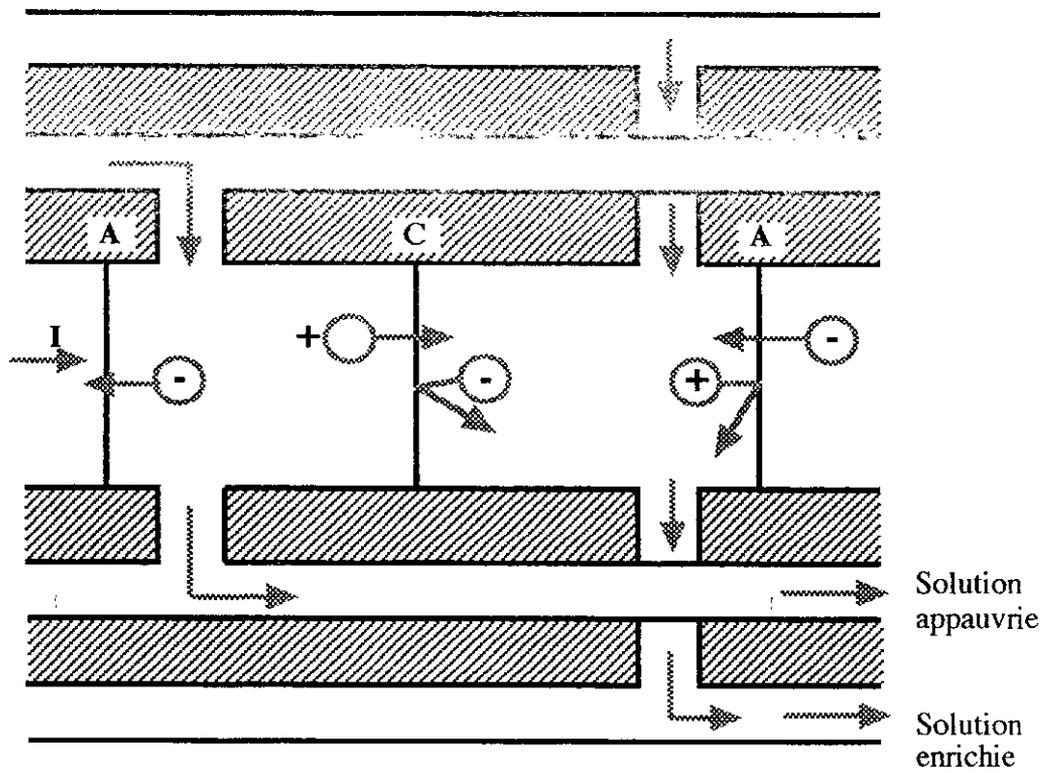
Les ions hydroxyliques traversant les membranes anioniques vont élever fortement le pH de l'électrolyte dans la membrane et dans les couches limites, et provoquent des précipitations.

Si la solution traitée contient des corps insolubles en milieu basique, des précipitations peuvent se produire qui obstruent gravement la membrane. Cet inconvénient peut être paré en acidifiant la solution, mais il est clair qu'au-delà de la densité de courant limite, le rendement décroît très rapidement, les ions à déplacer étant de moins en moins mobilisés, et l'ionisation de l'eau s'accroissant. [11]

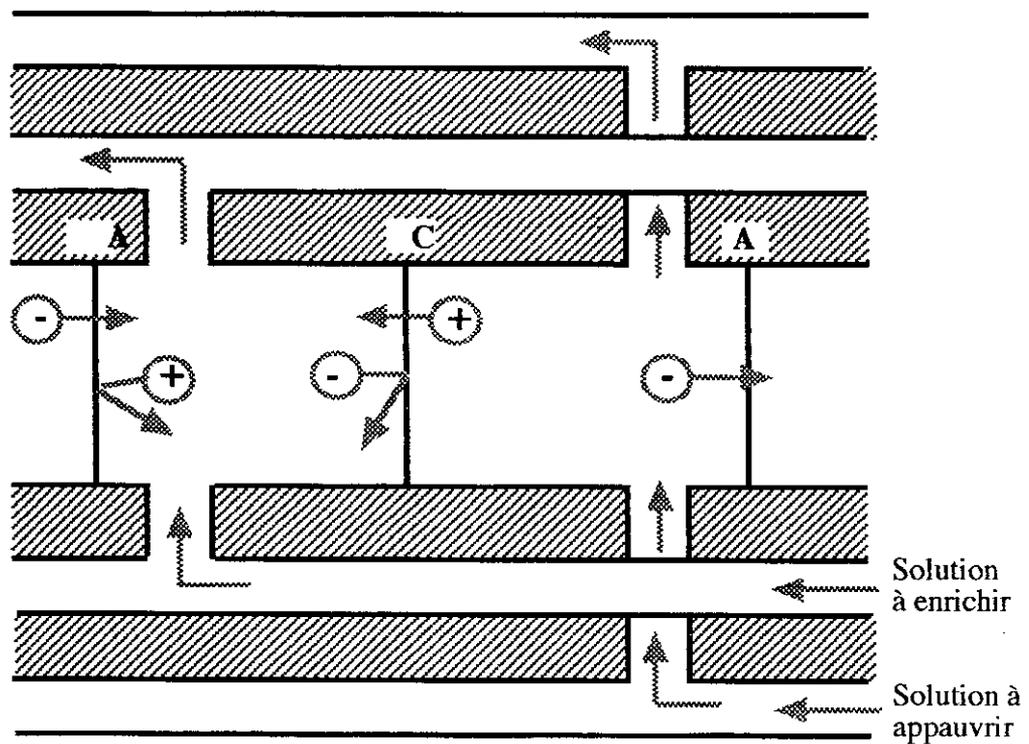
#### II.4 - ELECTRODIALYSE A INVERSION :

L'ampleur des problèmes posés par les phénomènes de polarisation et l'encrassement des membranes est très variée. La nature des solutions à leur apporter l'est également. Une réponse, partielle, largement développée est l'inversion périodique du courant électrique.

Cette inversion, comme le montre la figure N°10, transforme les compartiments de dilution en compartiment de concentration et vice-versa. Elle doit donc être accompagnée d'une inversion hydraulique, au prix d'une complication de l'alimentation en fluide de l'empilement de cellules. L'intervalle entre chaque inversion est généralement de vingt à trente minutes. [12]



a- Marche avant inversion



b- Marche après inversion

Fig.N°10: *Electrodialyse à inversion*

### III - TECHNOLOGIE D'UN ELECTRODIALYSEUR:

#### III.1 - DESCRIPTION GENERALE ET TECHNOLOGIE D'UN MODULE D'ELECTRODIALYSE :

Un appareil d'électrodialyse est constitué par un empilement alternatif de membranes anioniques et cationiques aux extrémités desquelles sont placées deux électrodes, l'anode et la cathode, soumises à une différence de potentiel. [13]

L'appareil est formé de compartiments où circulent alternativement les solutions à appauvrir et à enrichir en ions. Le module d'électrodialyse correspond à une succession de cellules unitaires.

Une cellule unitaire (figure N°11) étant l'ensemble constitué par :

- un compartiment de concentration (conc.)
- une membrane cationique (M.C)
- un compartiment de déminéralisation (Dem.)
- une membrane anionique (M.A)

La technologie est proche de celle des filtres presses. [11]

#### III.2 - ELECTRODES :

Un module d'électrodialyse dans le cas le plus simple possède deux électrodes placées à chacune de ses extrémités (une anode et une cathode). Mais il est possible, et parfois souhaitable, de placer à l'intérieur du module une ou plusieurs électrodes reliées chacune et alternativement à un pôle positif et négatif (branchement électrique parallèle).

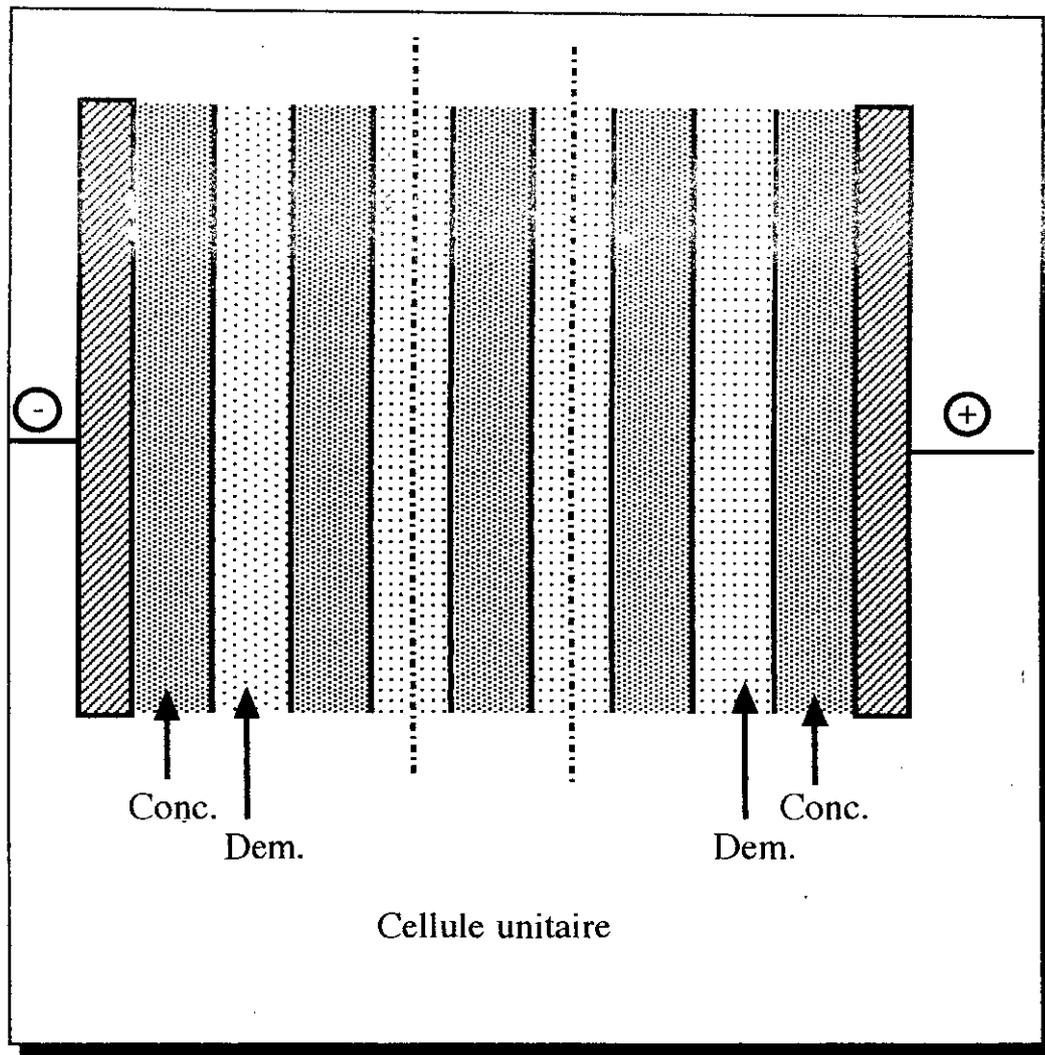


Fig.N°11 : Cellules unitaire .

Ce système à multi-électrodes est utilisé:

- soit lorsque le nombre de cellules unitaires est trop élevé, de manière à diminuer la tension électrique aux bornes du module;
- soit lorsque l'on veut faire travailler plusieurs paquets de membranes à des densités de courant différentes, ce qui permet d'améliorer les performances de l'appareil;
- soit lorsque l'utilisateur possède un redresseur ayant une tension de sortie trop faible [11]

Deux types d'électrodes sont utilisées électrodes métalliques et les électrodes en graphites.

#### **a - Electrodes métalliques :**

Ce sont des électrodes de longue durée de vie, constituées en général d'un métal de base (Titane, Niobium) recouvert de platine et/ou d'oxydes de Ruthénium.

Certains modèles mettant à profit les résultats de recherches effectuées sur les anodes (D.S.A) (Dimensionnally Stable Anodes) utilisées dans l'électrodialyse à inversion de polarité. Dans ce cas, elles jouent le rôle simultané d'anode et de cathode.

La société IONICS a retenu pour cet usage le Niobium platine.

#### **b- Electrodes en graphite :**

Ce sont des électrodes de moindre coût, mais d'une durée de vie plus faible, elles doivent être considérées comme consommables.

Leur emploi est indiqué quand la présence de produits très corrosifs interdit l'emploi d'électrodes métalliques, cas rencontré notamment dans les industries agro-alimentaires. [11]

### III.3 - LES REACTIONS AUX ELECTRODES :

Les diverses réactions d'électrodes qui sont nécessairement associées à tout procédé d'électrodialyse posent deux problèmes:

- elles entraînent une consommation d'énergie supplémentaire;
- les produits formés aux électrodes ( $\text{Cl}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{OH}$ ,...) peuvent entraîner des difficultés d'exploitation (tenue des membranes oxydant, entartrage de la cathode).

En général, un circuit de rinçage d'électrodes est prévu à cet effet :

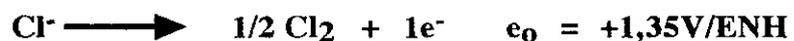
- soit par une partie du concentrat préalablement acidifié,
- soit par une solution d'acide sulfurique concentrée qui est recyclée.

#### a - Réactions anodiques :

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



le chlorure peut aussi se dégager :

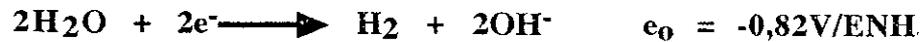


Si une solution d'acide sulfurique est utilisée ou si la teneur en sulfates de la saumure est élevée par rapport aux chlorures, il se produit un dégagement d'oxygène selon la réaction :



## **b - 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 ou 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. A cet effet, des placements de membranes cationiques plus robustes que les anioniques sont disposées aux extrémités proches des électrodes .[11]

## **III.4 - COMPARTIMENTS :**

Chaque module d'électrodialyse est caractérisé par le type de compartiment utilisé, et en particulier, par le système de distribution et de répartition du liquide entre les membranes. Il existe actuellement deux systèmes d'écoulement (écoulement labyrinthe et écoulement en nappe).

### **a - Ecoulement labyrinthe :**

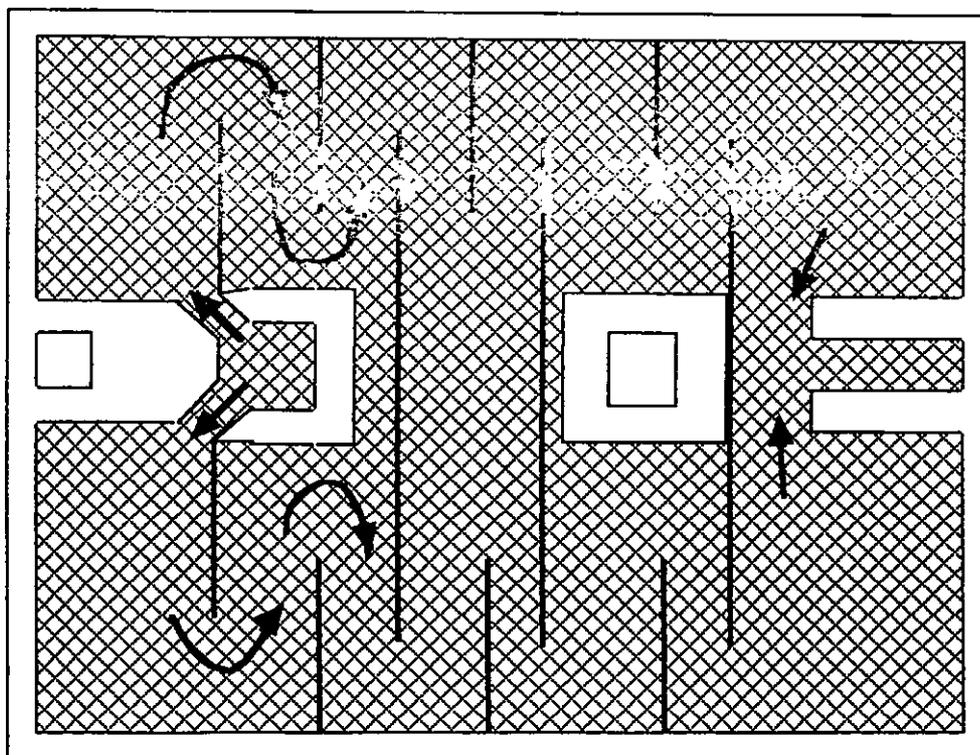
Ce système mis au point et breveté par la société américaine Ionics, permet de faire circuler les liquides à des vitesses élevées (jusqu'à 70 cm/s), tout en maintenant entre les membranes une distance uniforme, toutefois, il a l'inconvénient de créer des pertes de charge élevées.

## **b - Ecoulement en nappe :**

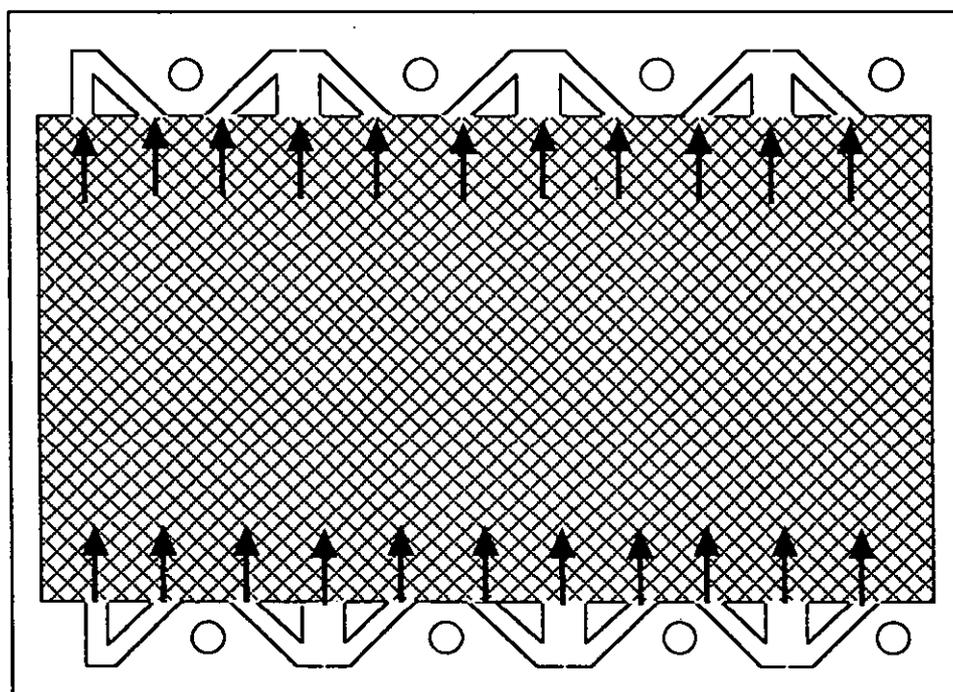
Ce système utilisé dans les modules CEA est constitué par un grillage plastique qui permet à la fois de soutenir les membranes et de créer une turbulence . Les vitesses de passage, toujours calculées pour un compartiment supposé vide, sont en général inférieures à 10cm/s et très souvent de l'ordre de 6 à 8cm/s. [09]

Les figures N°12 et 13 montrent deux types de séparateurs:

- Séparateurs de type labyrinthe
- Séparateurs de type laminaire



**Fig.N°12:** *Séparateur de type labyrinthe*



**Fig.N°13:** *Séparateur de type laminaire*

### III.5 - CARACTERISTIQUES DES MODULES : [10]

Tous les appareils d'électrodialyse présentent une configuration plane pour des raisons évidentes de conductibilité électrique.

L'écartement des membranes est généralement faible, de l'ordre du millimètre ou moins, afin de diminuer la résistance électrique de l'ensemble et de permettre le régime d'écoulement le plus propre à activer la diffusion des ions. L'épaisseur des membranes étant de 0,2mm, il est possible d'empiler 150 paires de cellules sur une épaisseur de 20cm.

La circulation de la solution dans un compartiment peut se faire soit dans des canaux tortueux, forçant la solution à sinuer, ces canaux étant en outre pourvus de promoteurs de turbulence (IONICS), soit plus généralement, en lame, la solution s'écoulant en couche étalée de l'orifice d'alimentation à l'orifice de sortie.

La structure interne du compartiment doit permettre d'obtenir la répartition la plus homogène possible des fluides et c'est sur cet élément que se porte l'essentiel des efforts des constructeurs.

Sa conception sera déterminante sur les performances des appareils. Pour cette raison, les firmes sont extrêmement discrètes sur les détails de construction dont la connaissance ne serait d'ailleurs pas utile aux utilisateurs.

#### a - Critères mécaniques :

- La surface des membranes utiles doit être maximum, puisque leur coût pèse lourdement sur celui de l'exploitation
- Le démontage et remontage de l'empilement doit être aisé et facile
- Des joints permettant l'étanchéité sans serrage excessif et ne se déformant pas sous l'effet de la température ou de la pression sont indispensables.
- Une bonne répartition des flux dans les divers compartiments et faibles risques d'obstruction sont exigés.

- Des interactions offrant de nombreux points de soutien à la membrane et une faible perte de charge ménageant un pourcentage d'ouverture important dans la direction perpendiculaire à la surface de la membrane sont nécessaires pour augmenter sa surface libre et diminuer la résistance électrique.
- Les joints et les intercalaires doivent impérativement être bien plans pour éviter les torsions des membranes.
- Ainsi que des plateaux de serrage qui doivent aussi être plans et également doivent présenter une grande rigidité.

## **b - Critères hydrodynamiques**

- L'introduction par plusieurs points de la solution si le compartiment est large, et par un seul point s'il est étroit est nécessaire pour obtenir une bonne répartition de la solution le long de la membrane.
- La vitesse de la solution doit être égale en tout point du compartiment et donc:
  - la résistance hydraulique des intercalaires est uniforme
  - l'épaisseur du compartiment est constante
  - pas d'espaces entre les joints du bord et les intercalaires
- La vitesse de la solution doit être égale dans les compartiments pour avoir à la fois :
  - l'alignement correct des orifices d'alimentation et de sortie, et faible perte de charge à ce niveau.
  - les résistances hydrauliques dans les conduites d'alimentation égales.
  - les résistances hydrauliques dans les canaux qui desservent individuellement chaque compartiment égales entre elles ou plus élevées que celles des compartiments eux-mêmes pour qu'ils déterminent la perte de charge globale.
- Des intercalaires favorisant le mélange de la solution au contact de la membrane avec le centre de la veine liquide pour diminuer l'épaisseur des couches de polarisation.
- La perte de charge globale de l'empilement doit être faible .

### **c - critère électrique :**

- Une faible fuite électrique est recommandée, ce qui nécessite une forte résistance des solutions contenues dans les tuyaux d'alimentation, et donc une faible section de ceux-ci.
- Une forte résistance électrique des canaux qui desservent individuellement chaque compartiment est non moins indispensable ce qui coïncide avec le besoin de leur conférer aussi une haute résistance hydrodynamique. 10

### III.6 - PROBLEMES DE PRETRAITEMENT :

L'électrodialyseur présente l'avantage de ne pas nécessiter de prétraitement important.

#### *a - Du point de vue matières en suspension :*

Une préfiltration sur filtre à sable ou filtre à diatomées suffit en général, il est toutefois prudent de prévoir en sécurité une filtration sur cartouches aux environs de 50 microns.

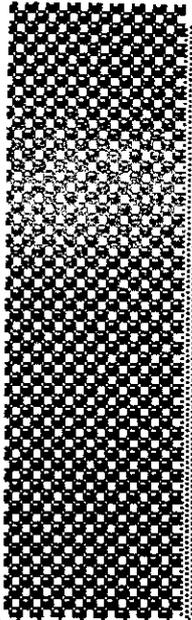
#### *b - Du point de vue éléments entartrants (Ca, Mg) :*

Il faut éviter en électrodialyse comme dans tout autre procédé de désailement, de fonctionner dans les conditions de précipitation de composés tels que  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{Mg(OH)}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$ .

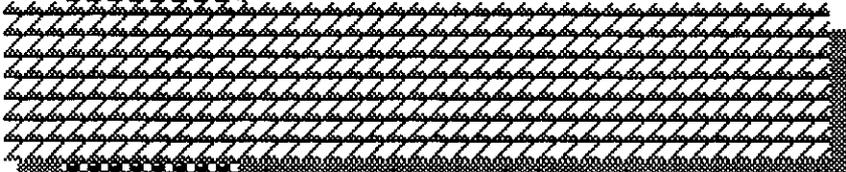
Toutefois si, accidentellement, un entartrage se produit dans un module d'électrodialyse, il est possible d'effectuer un nettoyage chimique énergétique par suite de la bonne tenue des membranes dans une zone de pH comprise entre 1 et 13.

Dans des cas extrêmes, il est possible de démonter un module d'électrodialyse pour effectuer un nettoyage mécanique. 09

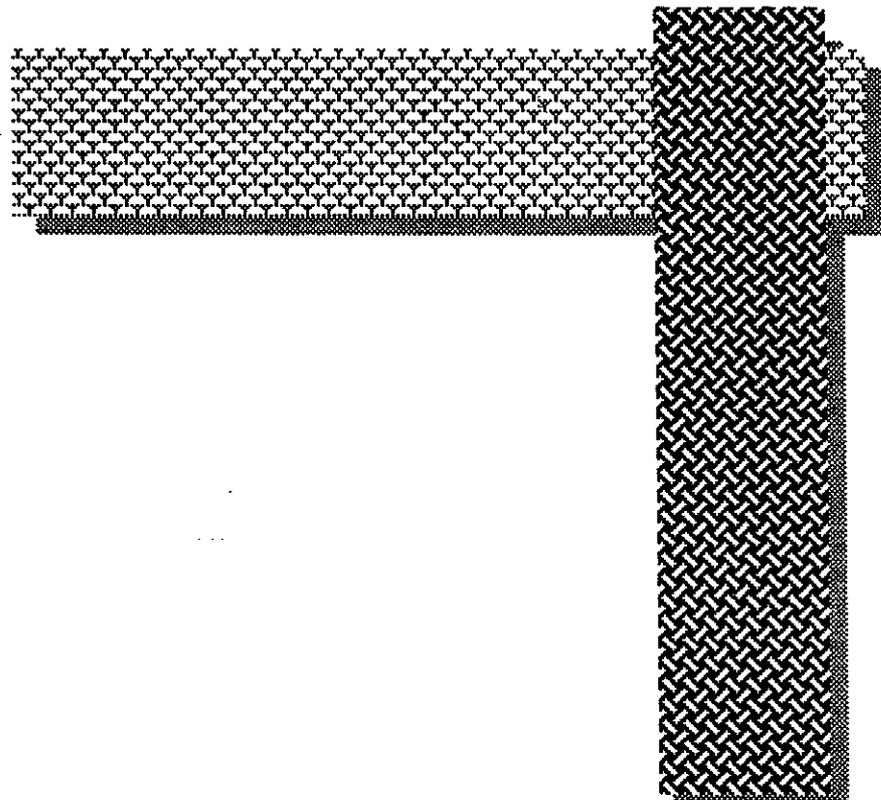
Les précipités pourraient être éliminés par microfiltration tangentielle. 02



**CHAPITRE -B-**



PARTIE  
EXPERIMENTALE



## I - SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE :

Une recherche bibliographique sur les techniques de séparation à membrane des acides aminés ainsi que les méthodes de dosage a été établie.

Concernant l'électrodialyse, les biologistes et les médecins sont parmi les premiers à avoir porté un vif intérêt aux membranes échangeuses d'ions.

Une étude sur la sélectivité des membranes de nitro-cellulose séchées a été réalisée par MICHAELIS (1923) .L'étude est devenue systématique afin de réaliser la synthèse. Le véritable bond en avant des membranes ioniques se situe au milieu des années trentes.

Un appareil très simple d'électrodialyse sans membranes sélectives a été étudié en Allemagne au début du siècle . et MANAGOLD et KALAUSH mirent en évidence leurs avantages .

Les techniques à membranes sont définis comme l'ensemble des méthodes et des procédés de perméation, c'est-à-dire le transfert de masse à travers des membranes de perméabilité sélective.

Depuis peu, l'électrodialyse est retenue pour traiter les effluents industriels ou les rejets de certains ateliers de traitement de surface, notamment ceux constitués par les bains de galvanoplasties [11].

Enfin, actuellement, le champ d'utilisation de l'électrodialyse a été élargit au domaine de l'agro-alimentaire et celui du génie des procédés [13].

Plusieurs techniques de séparation des acides aminés ont été décrites. Elles permettent l'extraction, la séparation et la purification des protéines contenues dans diverses sources naturelles ou d'origine biologique. [02]

Actuellement, seules les méthodes par précipitation, ultrafiltration et chromatographiques permettent la production de grandes quantités.

Divers types de chromatographies existent, basés sur les propriétés des acides aminés et des protéines comme :

- La taille moléculaire pour la chromatographie d'exclusion
- Les propriétés hydrophobes dues à la présence d'acides aminés non polaires inter-agissant avec des adsorbants hydrophobes;
- L'activité biologique spécifique sur des biomolécules [14].

M. RUMEAU et M. MONFORT ont utilisé l'électrodialyse pour effectuer la séparation des Acides Aminés . De cette façon, ils ont pu mettre en évidence les possibilités de concentration de ces derniers à partir de solutions portées à des pH proches de leurs points iso-électriques [02 ]

Plusieurs techniques de séparation à membrane ont été proposées depuis et en 1990, C. GAVACH a présenté les résultats d'extraction et de séparation des acides aminés provenant d'un mélange de protéines, de sels inorganiques et d'impuretés colorées lors du Congrès Mondial sur la Filtration [15]

Une année plus tard, S. BENAMARA et V. N. GOLUBEV démontrèrent l'efficacité de l'électrodialyse à trois (03) et à cinq (05) cellules pour la séparation des acides aminés suivants : Glycine, Alanine, L-Acide Aspartique, L-Acide Glutamique, L-Lysine et L-Arginine [01] .

Les résultats des travaux réalisés dans ce domaine, sont regroupés dans les tableaux ci-dessous .

Tab.N°3 : Travaux effectués sur les Acides Aminés :

Année	Méthode	Produits utilisés	Conditions chromatographiques	Résultats et Obs.	Ref
1968	C.P.G après silylation	Albumine et Ribonuclease	- Colonne: Silicone 5% - Detecteur: F.I.D - Température: Colonne: 160°C (isotherme) - Gaz vecteur: Azote - Longueur colonne: 1m x 4mm	Identifications de 11 acides aminés	16
		Serum humain	- Colonne: SE30 1,5% - Longueur : 4m x 3mm - TMS	Identification de 13 acides aminés et 3 derivatisés avec TMS	
	C.P.G	Plasma	- Colonne: OV-101 3,5% - longueur: 3m x 2,5mm - Gaz vecteur: Azote - debit: 19ml/min - Température injecteur: 210°C - Température detecteur: 250°C	19 acides aminés identifiés	
	C.P.G après dérivatisation	- L-Leucine	- Colonne: Silicone 20% - Detecteur: F.I.D - Température: Colonne: 160°C (isotherme) - Gaz vecteur: Helium - Longueur colonne: 3m x 4mm	Pics détectés: - Acetyl leucine TMS ester - TMS leucine TMS ester - TMS leucine ethyl ester	



Tab.N°3 : Travaux effectués sur les Acides Aminés (suite):

Année	Méthode	Produits utilisés	Conditions chromatographiques	Résultats et Obs.	Ref
1984	H.P.L.C	- Acides aminés	- Colonne: Microbandapack C18 - Eluant:A: 100mM Ac. Ammonium - Eluant:B: 50%(A)+50% CH3CN - Gradient: 0-100% B		20
1985	H.P.L.C	20 Acides Aminés	- Colonne: Microsorb C8 5µm - Phase mobile: CH3CN/Eau(20-80)% - Gradient: (0-100)%A - Detecteur : U.V (λ = 254nm) - Debit: 1,5 ml/min - Température: 43°C		21
1986	H.P.L.C	22 acides aminés. (1: Cya, 2: Asp, 3: Glu, 4: Cys 5:Hyp, 6:Ser, 7:Gly, 8:His, 9: Arg, 10:Thr, 11:Ala, 12: cyst, 13:Pro, 14:Met, 15:Tyr, 16:Val, 17:Met, 18:Trp, 19:Lys, 20:Ile, 21:Leu, 22:Phe)	- Colonne: Supelcosil LC 18 DB - Phase mobile: A = 0,7M NaOAc + 2,5ml TEA et HOAc B = H2O C = CH3CN-H2O(80-20) - Detecteur U.V (λ = 254 nm) - Debit : 1 ml/min	1:tr=4'; 2:tr=4'26" 3:tr=5'44"; 4:tr=8'8" 6 5:tr=9'48" 6:tr=12'57" 7:tr=14'3" 8:tr=15'54" 9:tr=16'50" 10:tr=17'23" 11:tr=18'30"; 12:tr=19'14" 13:tr=22'09"; 14:tr=22'34" 15:tr=23'18"; 16:tr=23'51" 17:tr=24'14"; etc...	22

Tab.N°3 : Travaux effectués sur les Acides Aminés (suite):

Année	Méthode	Produits utilisés	Conditions chromatographiques	Résultats et Obs.	Ref
1987	H.P.L.C	- Caseine	- Colonne : . . . . . Mono QHR 5/5 - Température: . . . . . 40°C - Détecteur: . . . . . U.V - $\lambda$ : . . . . . 280 nm - Débit: . . . . . 1ml/min - gradient: . . . . . 0,12 - 0,32M NaCl		23
		- Proteine du blanc d'oeuf	- Colonne: Supelguard LC-304(200x4,6mm) - Phase mobile: CH3CN /TFAc (10/90) - Gradient: (10-90)A et (90-10)B - Detecteur : U.V ( $\lambda$ = 215nm) - Debit: 2 ml/min		
	H.P.L.C	- Phenylthiohydantoine - 20 Acides aminés	- Colonne : Silica (Zorbax silica) 3 $\mu$ m - Phase mobile: Acetonitrile Methanol - pH: ajusté avec H3PO4		24

Tab.N°3 : Travaux effectués sur les Acides Aminés (suite):

Année	Méthode	Produits utilisés	Conditions opératoires	Ref
1988	Séparation des acides aminé par Electrolyse	Solution de glycine en présence ou non de sulfate d'ammonium	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Electrolyseur: "Aqualyser"</li> <li>- Cuve d'électrolyte 1,5l Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1M</li> <li>- Concentrat: Circuit de concentrat</li> <li>- Diluat: Circuit de déminéralisation</li> <li>- Electrolyte:Circuit de rinçage electrode</li> <li>- Pompes: 03</li> <li>- Membranes anioniques: 20</li> <li>- Membranes cationiques: 20</li> </ul>	02
1989	H.P.L.C	<ul style="list-style-type: none"> <li>- OPA</li> <li>- A. borique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonne : Hypersil ODS 3µm(250x4,6mm)</li> <li>- Phase mobile: Acetonitrile(B) 0,02M Na-Aceta (A)</li> <li>Détecteur: .....U.V</li> <li>- λ : ..... 330 nm</li> <li>- Débit: .....1,5ml/min</li> <li>- gradient: ..... 0,10- 0,35 % B</li> </ul>	25
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- PITC</li> <li>23 Ac. Aminés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonne: Spherisorb ODS2</li> <li>- Phase mobile: CH<sub>3</sub>CN/Eau(40-60)%</li> <li>- Gradient: (0-100)%A</li> <li>- Detecteur : U.V (λ = 254nm)</li> <li>- Debit: 1,5 ml/min</li> </ul>	

Tab.N°3 : Travaux effectués sur les Acides Aminés (suite):

Année	Méthode	Produits utilisés	Conditions opératoires	Observation	Ref
1989	H.P.L.C		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonne: Spherisorb ODS2</li> <li>- Eluant:A: 12,5mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH=6,5)</li> <li>- Eluant:B: 50%(A)+50% CH<sub>3</sub>CN</li> <li>- Gradient: 0-100% B</li> <li>- Débit: 1,2 ml/min</li> <li>- Detection: U.V</li> <li>- λ: 250nm</li> <li>- Injection: 20μl</li> </ul>		25
1976	Electrodialyse	Séparation des Proteines et du lactose du petit lait	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nombre de cellules : 7</li> <li>- Membranes: 89mm x 305mm</li> <li>- Tension: entre 30 et 40V</li> <li>- Intensité: 1,5 à 3,5A</li> <li>- Pression 170-800kPa</li> </ul>	Brevet d'Invention	26

## III - REALISATION ET OPTIMISATION D'UN MODULE D'ELECTRODIALYSE :

L'Appareil d'électrodialyse que nous avons réalisé comprend entre autre plusieurs annexes nécessaires au fonctionnement du module et à son pilotage (voir figure N°14).

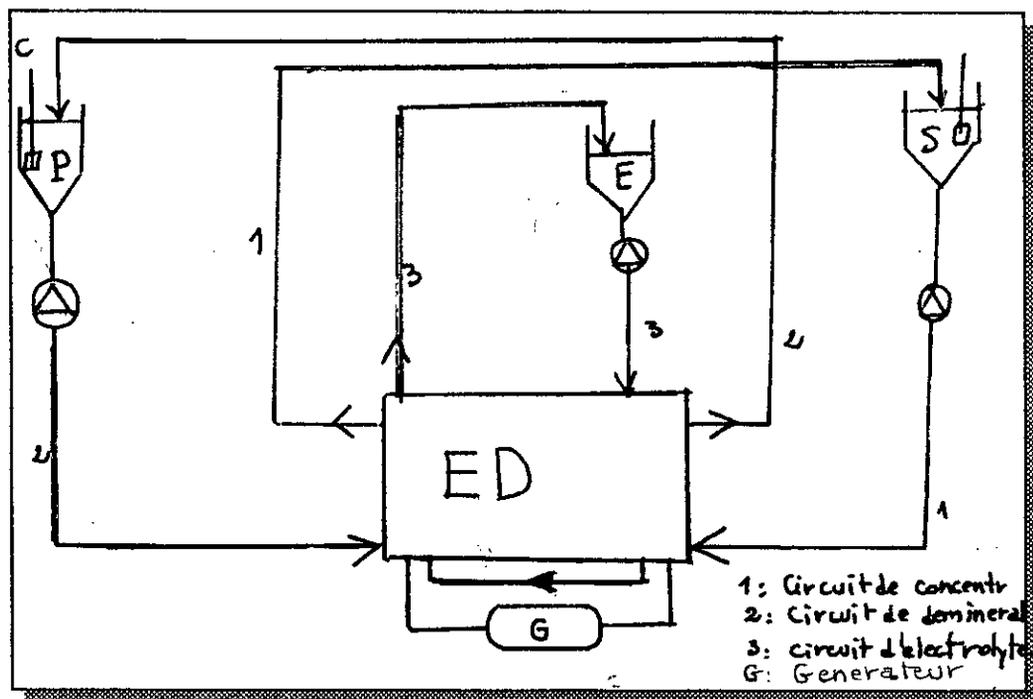


Fig.N°14 : Appareil d'Electrodialyse

### III.1 - MODULE D'ELECTRODIALYSE : CONCEPTION ET REALISATION :

L'électrodialyseur que nous avons réalisé comprend :

- 2 plaques du module
- 2 électrodes
- Des membranes cationiques et anioniques ainsi que des séparateurs .

### -a- Les plaques du module :

Les deux plaques du module sont réalisées en pléxiglass de 215 x 165 mm et 43 mm d'épaisseur. Elles sont percées de trous longitudinaux et verticaux respectivement pour les entrées ou les sorties de diluat ou de concentrat. Ces plaques supportent des dispositifs d'adjuction hydrauliques ainsi que des électrodes. Chaque plaque repose sur 2 barres en Bakelite percées d'orifices. Ces barres permettent le maintien et la fixation du module.

Un raccord reliant les électrodes des deux plaques est prévu. Il permet la circulation de la solution du circuit de rinçage des électrodes, généralement de l'acide sulfurique.

### -b- Les électrodes :

Ce sont des plaques de graphite de 85 x 80 mm placées dans des blocs porte électrodes. Elles présentent l'avantage d'être moins chères que les électrodes métalliques mais leur durée de vie est plus faible. Leur emploi est indiqué dans notre cas d'étude car nous travaillons dans des milieux très corrosif.

### -c- Les Membranes et les Séparateurs :

Les membranes que nous avons utilisé sont du type ADP et CDP. leurs caractéristiques sont les suivantes :

Caractéristiques des membranes		ADP	CDP
Lot		A226	91-10-03
Résistance de la membrane	dans $\text{CH}_2\text{O}_3\text{N}$	3,9 $\pm$ 0,5 Ohm.cm <sup>2</sup>	—
	dans $\text{NaCl}$ 0,1g/l	—	1,6 $\pm$ 0,3 Ohm.cm <sup>2</sup>

Elles ont pour dimensions 150 x 150 mm. Leur surfaces utiles est de 68 cm<sup>2</sup>. Elles sont séparées par des cadres séparateurs remplissant la double fonction de promoteur de turbulence et de support de membranes. Ces cadres présentent à leurs surfaces un grillage plastique tissé à partir d'un fil de 0,2 mm (voir figure N° 15: différents types de grillages plastiques)

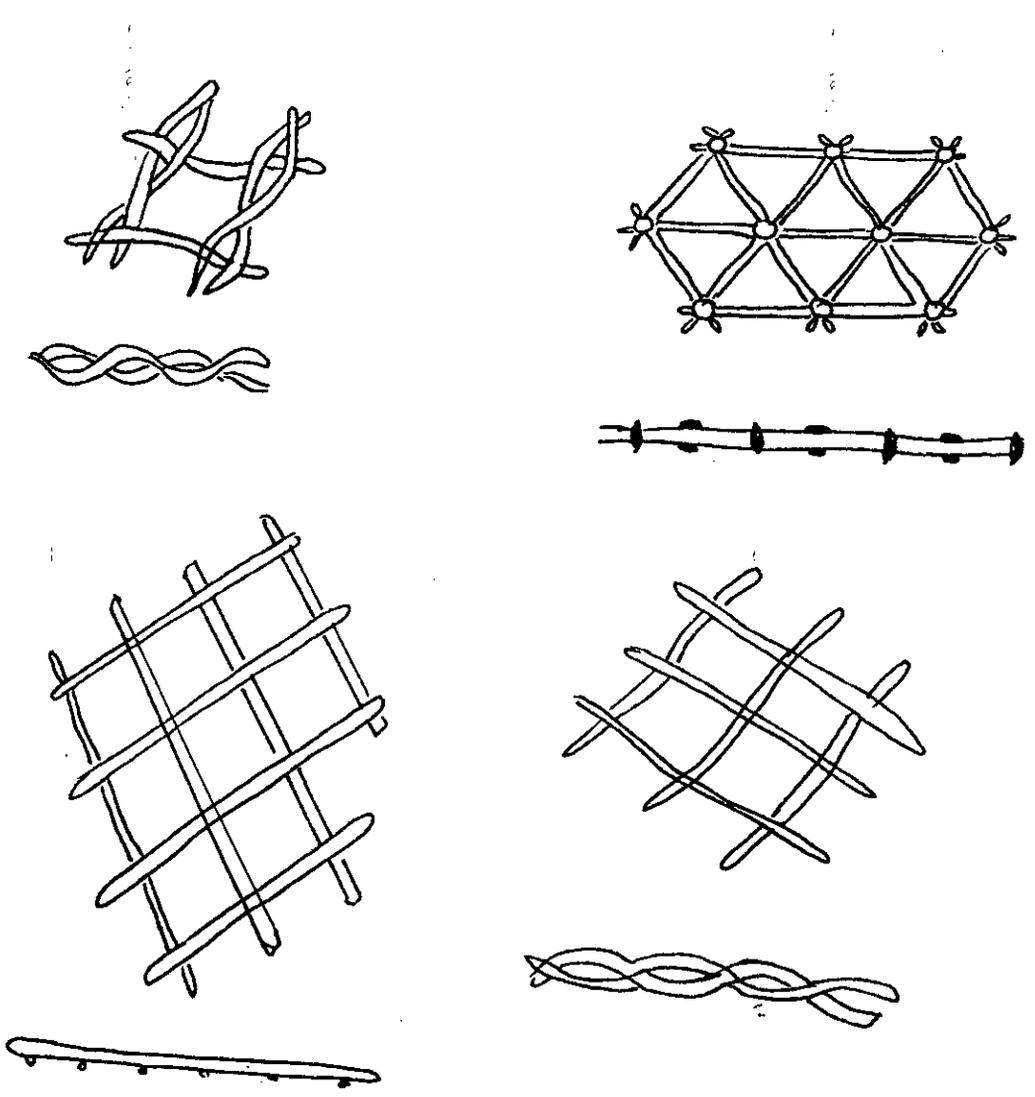


Fig 15 Different types de Grillage

L'épaisseur du compartiment est de 0,5mm. La périphérie du cadre constitue le joint d'étanchéité du compartiment. Les parties supérieures et inférieures de ces joints et des membranes sont percées de trous dont la superposition constitue les rampes d'alimentation et de collecte des solutions concentrées et diluées parcourant l'empilement.

Les canaux de chaque type dilué ou concentré communiquent avec les compartiments de même type.

Le débit nominal traversant un compartiment est de 35 l/h.

La tension appliquée à une cellule est comprise entre 0,7 et 2V et la densité de courant va jusqu'à 120 A/m<sup>2</sup>.

La vitesse linéaire moyenne de la solution en négligeant la présence du cadre séparateur est de 10cm/s.

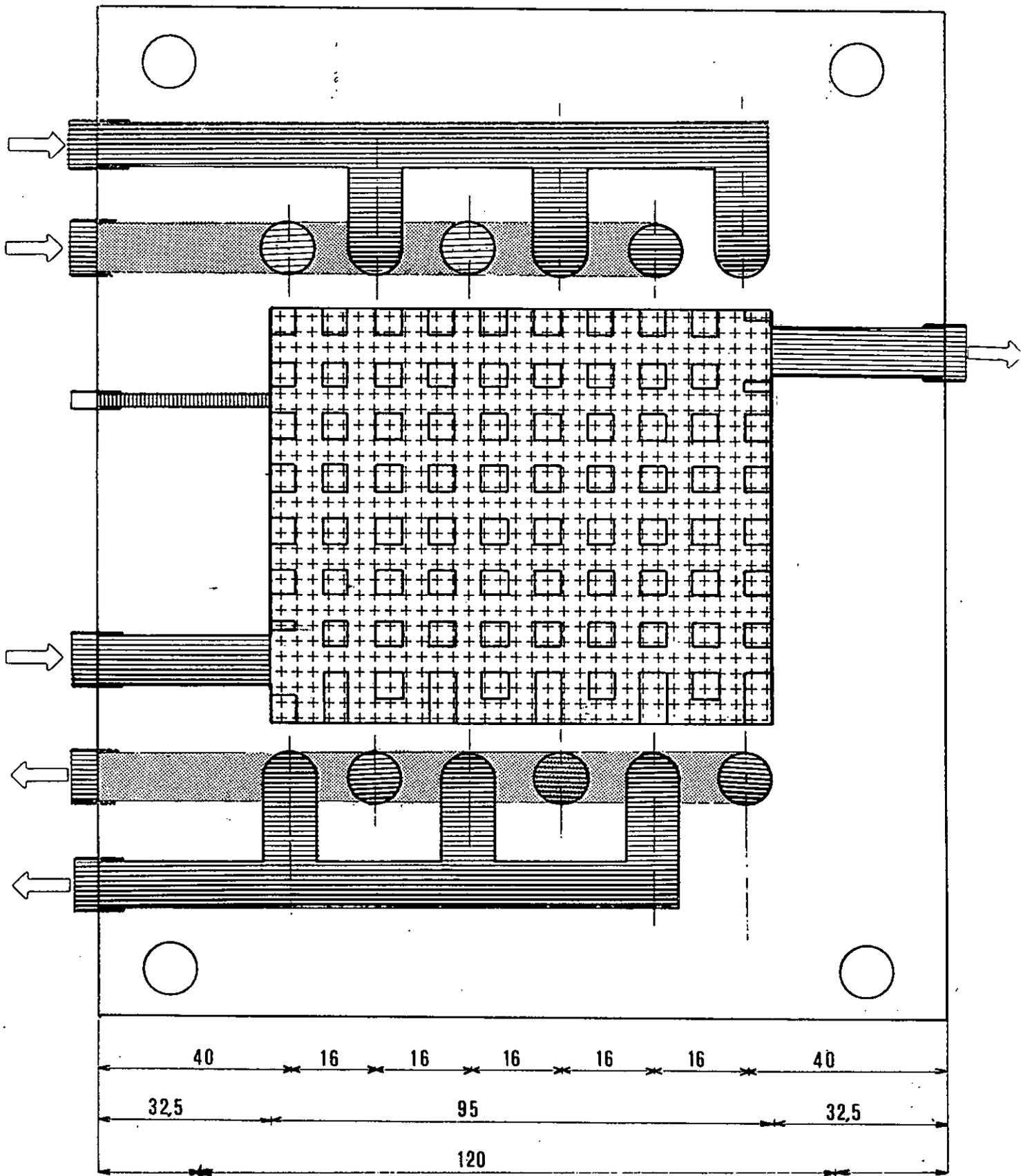
Au niveau des filtres transversaux du cadre séparateur, cette vitesse est approximativement doublée et atteint 20cm/s.

Les nombres de Reynolds correspondant sont voisins de 45 et 90 .

Les pertes de charges varient de 0,2 à 0,7 bar.

Le réacteur électrodialytique étant un empilement de cellule, un dispositif d'extrémité assurant la fonction mécanique de serrage a été indispensable lors de la réalisation. Ceci a été rendu possible grâce à des tige en inox à l'extrémité desquelles des écrous sont serrés par l'intermédiaire d'une clé dynamométrique. L'intérêt de cette solution est de garantir un effort, donc une pression prédéterminée sur l'empilement.

La figure N°16 montre une vue éclatée de l'Electrodialyseur conçu .



## **II.2 - LES ANNEXES :**

Les annexes sont constituées par :

### **-a- Un dispositif d'alimentation en fluide:**

Ce dispositif est constitué par :

- 3 bacs : un pour le diluat, le second pour le concentrat et le troisième pour le rinçage des électrodes .
- 3 pompes à eau de type M7 assurant la circulation du fluide à travers une tuyauterie appropriée en matière plastique car elle présente l'avantage d'être un isolant électrique.

### **-b- Un dispositif d'alimentation électrique:**

Ce dispositif comprend une alimentation du module en courant continu grâce à un potentiostat de type PRT-20-2X Tacussel ainsi qu'une alimentation des pompes et du dispositif de pilotage sous forme de courant alternatif.

### **-c- Un dispositif de mesure et de contrôle :**

Il est constitué par :

- Un pH-mètre
- Deux conductimètres du type OSK

Le pilotage de l'installation nous permet de contrôler les variables suivantes :

- Les débits du diluat, du concentrat et des circuits d'électrodes
- Les concentrations du diluat et du concentrat à l'entrée et à la sortie
- Le pH du diluat et de l'électrolyte
- La température

### **REMARQUE :**

Le contrôle des concentrations est effectué par des conductimètres préalablement étalonnés.

### II.3-EVALUATION DU COURANT CRITIQUE :

Nous avons déterminé le courant limite pour une concentration finale de 0,5 g/l et ce, afin de ne pas détériorer les membranes.

$$i_{\text{limite}} = \frac{Z + F.K_d}{t_+ - t_-} C_E(t)$$

avec  $C_E(t)$ , la concentration à l'entrée de l'électrodialyseur à l'instant  $t$  en équivalent gramme /m<sup>3</sup> et  $K_d$  représente le coefficient moyen de transfert de masse : il est donné par la relation

$$K_d = 1,62 \left[ \frac{(D_{Na^+} \cdot V)}{(L \cdot d_e)} \right]^{1/3}$$

Prigent et Coll ont calculé le coefficient de diffusion de l'ion sodium pour une membrane comparable à celle que nous avons utilisé. Ils ont  $D_{Na^+} = 2 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ .

$d_e$  étant le diamètre hydraulique  
 $d_e = 2 \cdot \text{surface mouillée} / \text{périmètre mouillé} = 2 \cdot l \cdot h / (l + h)$   
 $h$  est l'épaisseur d'un compartiment (égal à 0,5mm)  
 $l$  est la largeur de la membrane (égal à 80mm).

Nous voyons bien que  $h \ll l$  et donc  $d_e = 2 \cdot l \cdot h / l = 2 \cdot h = 10^{-3} \text{ m}$

La vitesse moyenne  $V$  est déduite du débit:

$$Q = V \cdot S = V \cdot l \cdot h$$

$$V = \frac{Q}{L \cdot h} = \frac{35 \cdot 10^{-3}}{3600 \cdot 80 \cdot 0,5 \cdot 10^{-3} \cdot 10^{-2}} = 0,24 \text{ m/s}$$

$$K_d = \frac{1,62 \cdot [(2 \cdot 10^{-9})^2 \cdot 0,24]^{1/3}}{(8,5 \cdot 10^{-2} \cdot 10^{-3})^{1/3}} = 3,6 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$$

Pour une membrane C.D.P , le nombre de transport ( $\bar{t}$ ) pris est égal à 1 et celui de l'ion  $\text{Na}^+$  dans la saumure ( $t$ ) est voisin de 0,5. (Nous avons supposé le cas idéal de perméabilité sélective).

Si nous fixons une concentration finale de 0,5 g/l, nous aurons une densité de courant de :

$$i_{\text{limite}} = \frac{96500 \cdot 3,6 \cdot 10^{-5} \cdot 0,5 \cdot 10^3}{(1 - 0,5) \cdot 58,5} = 6 \text{ mA/cm}^2$$

La surface utile des membranes étant de  $68\text{cm}^2$ , notre courant critique est d'environ 400mA . Ainsi, nous avons fixé notre courant opératoire à environ 200mA.

Remarque: Le coefficient de transfert de masse de notre appareil est approximativement le double de celui du module d'Electrodialyse conçu et réalisé il y'a 3 ans par des étudiants du département qui était d'environ  $2,1 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$

#### **II.4- OPTIMISATION ET DETERMINATION DES PERFORMANCES DE L'ÉLECTRODIALYSEUR :**

Après avoir réalisé le module d'Electrodialyse, nous avons optimisé les différents paramètres à savoir :

- La vitesse de passage
- La concentration initiale
- le courant.

### a- OPTIMISATION DE LA VITESSE DE PASSAGE :

Lors de cette expérience, nous avons étudié l'influence de la vitesse de passage de la solution sur l'évolution de la concentration de cette dernière.

Pour cela, nous avons travaillé à 4 débits différents: 20, 30, 35 et 40 l/h correspondant à des vitesses de passage respectives de 13.8 , 20.8 , 24.3 et 27.7 cm/s , en imposant une densité de courant de 29.4 A/m<sup>2</sup>.

Remarque : La vitesse de passage est déduite du débit :

$$Q_v = V.l.h$$

$$Q_v = \text{débit en m}^3/\text{s}$$

V = Vitesse de passage dans les circuits de concentrat ou de diluat

l = largeur du compartiment

h = épaisseur d'un compartiment

La concentration initiale de la saumûre et du diluat est de 2g/l.

A des intervalles de temps réguliers (15 mn environ), nous avons mesuré les conductivités correspondantes.

A l'aide de la courbe d'étalonnage représentant la conductivité en fonction de la concentration (figure N°20) et après avoir calculé l'équation de régression et obtenue une droite  $Y = 2,23x + 1,56$  avec un coefficient de corrélation égal à 1, nous avons calculé les concentrations correspondantes pour tous les débits étudiés.

Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux N°4 et N°5 représentant respectivement la variation de la conductivité et de la concentration en fonction du temps pour des débits différents.

Les figures N°21, N°22, N°23, et N°24, représentent la variation des conductivités en fonction du temps pour chaque débit.

D'après l'allure des courbes obtenues aussi bien pour le diluat que pour le concentrat, nous avons noté que ce qui est perdu par le circuit de dilution est récupéré dans le circuit de concentration, de ce fait, dans tout ce qui suivra, nous ferons les calculs uniquement pour le circuit de concentration .

Tab.N°4 : Variation de la conductivité en fonction du temps pour différents débits.

C O N D U C T I V I T E ( m s / c m )									
TEMPS (min)		Débit = 20 l/h		Débit = 30 l/h		Débit = 35 l/h		Débit = 40 l/h	
		Concentrat	Diluat	Concentrat	Diluat	Concentrat	Diluat	Concentrat	Diluat
1	0	6,2	5	6,2	5	6,3	4,3	6,2	5
2	15	6,4	4,3	6,4	4,3	6,4	4,25	6,4	4,9
3	30	6,6	4,25	6,7	4,2	6,85	4,4	6,5	4,8
4	45	6,9	4,1	6,8	4,15	7,1	4,15	6,7	3,9
5	60	7,1	3,85	7	4	7,25	3,85	6,85	3,85
6	75	7,4	3,55	7,2	3,8	7,6	3,55	7,1	3,8
7	90	7,55	3,3	7,5	3,75	8	3,2	7,5	3,5
8	105	7,65	3,05	7,8	3,7	8,55	2,85	7,9	3,2
9	120	7,9	2,8	8,2	3,8	8,85	2,65	8,4	2,8
10	135	8,2	2,6	8,4	3,5			8,7	2,7

Tab.N°5 : Variation de la concentration en fonction du temps pour différents débits.

C O N C E N T R A T I O N ( g / l )									
TEMPS (min)		Débit = 20 l/h		Débit = 30 l/h		Débit = 35 l/h		Débit = 40 l/h	
		Concentrat	Diluat	Concentrat	Diluat	Concentrat	Diluat	Concentrat	Diluat
1	0	2,08	1,54	2,08	1,54	2,21	1,22	2,08	1,54
2	15	2,17	1,22	2,17	1,22	2,17	1,2	2,17	1,49
3	30	2,26	1,2	2,3	1,18	2,37	1,18	2,21	1,45
4	45	2,39	1,13	2,34	1,16	2,48	1,16	3	1,04
5	60	2,48	1,02	2,43	1,09	2,55	1,02	2,37	1,02
6	75	2,61	0,89	2,52	1	2,7	0,89	2,48	1
7	90	2,68	0,78	2,66	0,98	2,88	0,73	2,66	0,86
8	105	2,73	0,66	2,97	0,95	3,13	0,57	2,84	0,73
9	120	2,84	0,55	2,97	0,91	3,26	0,5	2,93	0,55
10	135	2,97	0,5	3,06	0,86			3,2	0,51

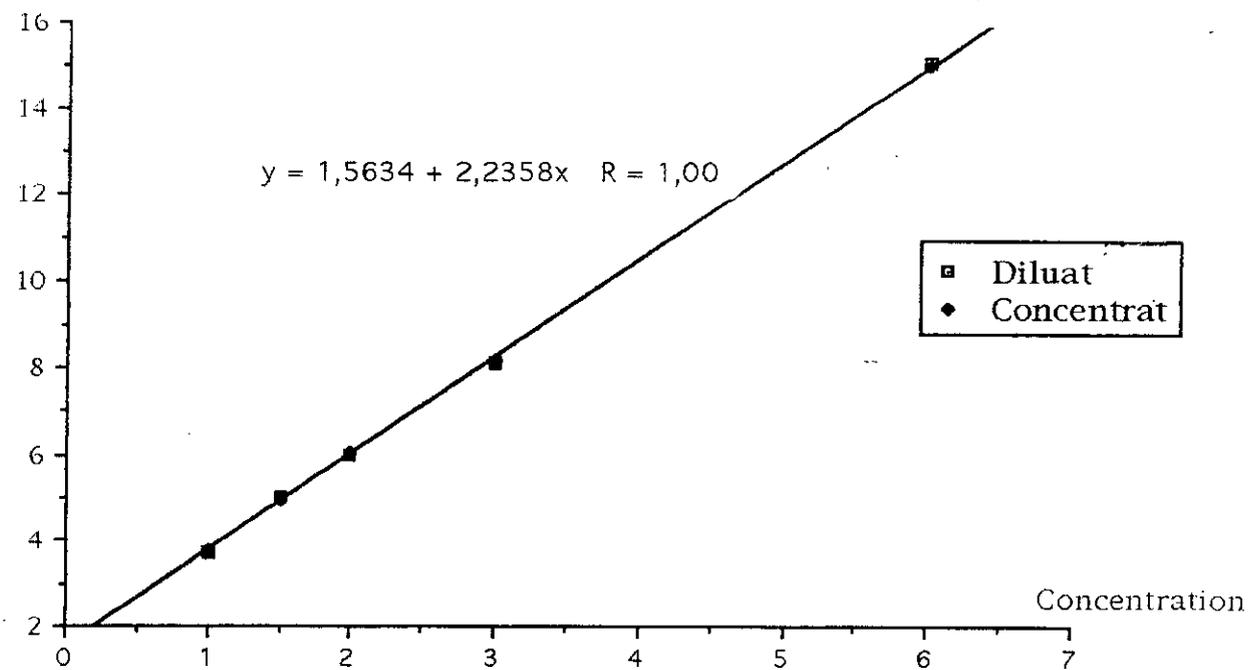


fig 20 courbe d etalonnage

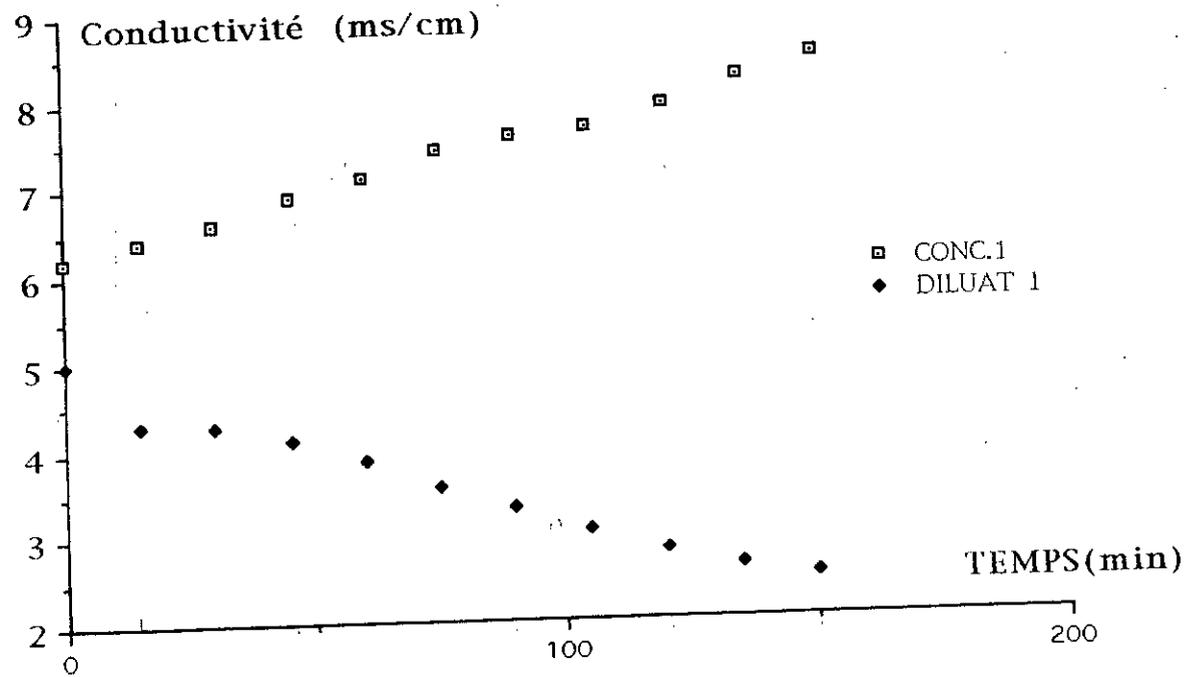


fig 21 variation de la conductivite  $D = 20 \text{ l/h}$

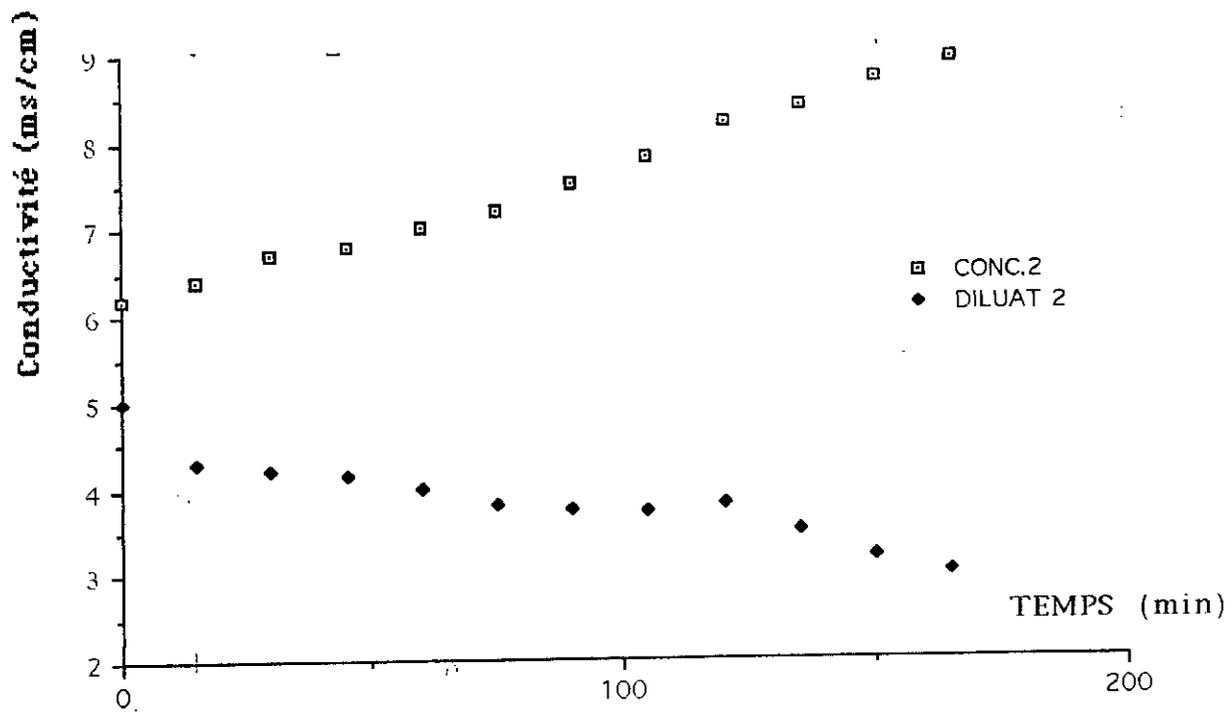


fig 22 variation de la conductivite  $D=30l/h$

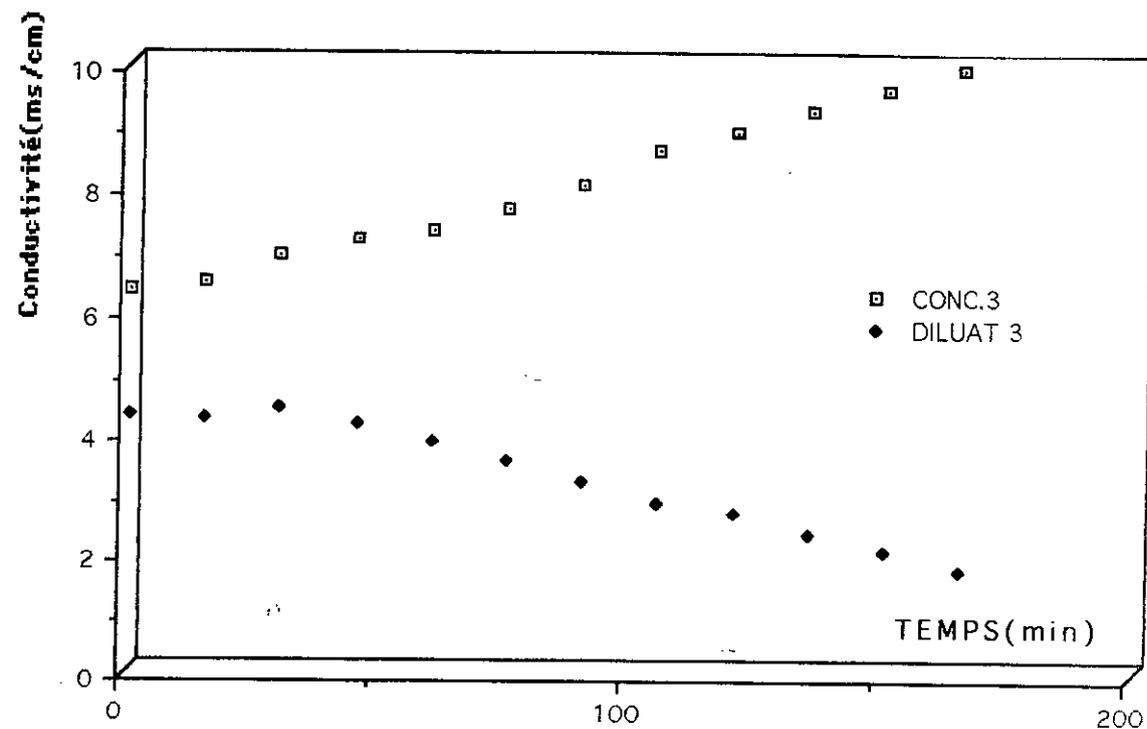


fig 23 variation de la conductivite  $D \approx 35$  l/h

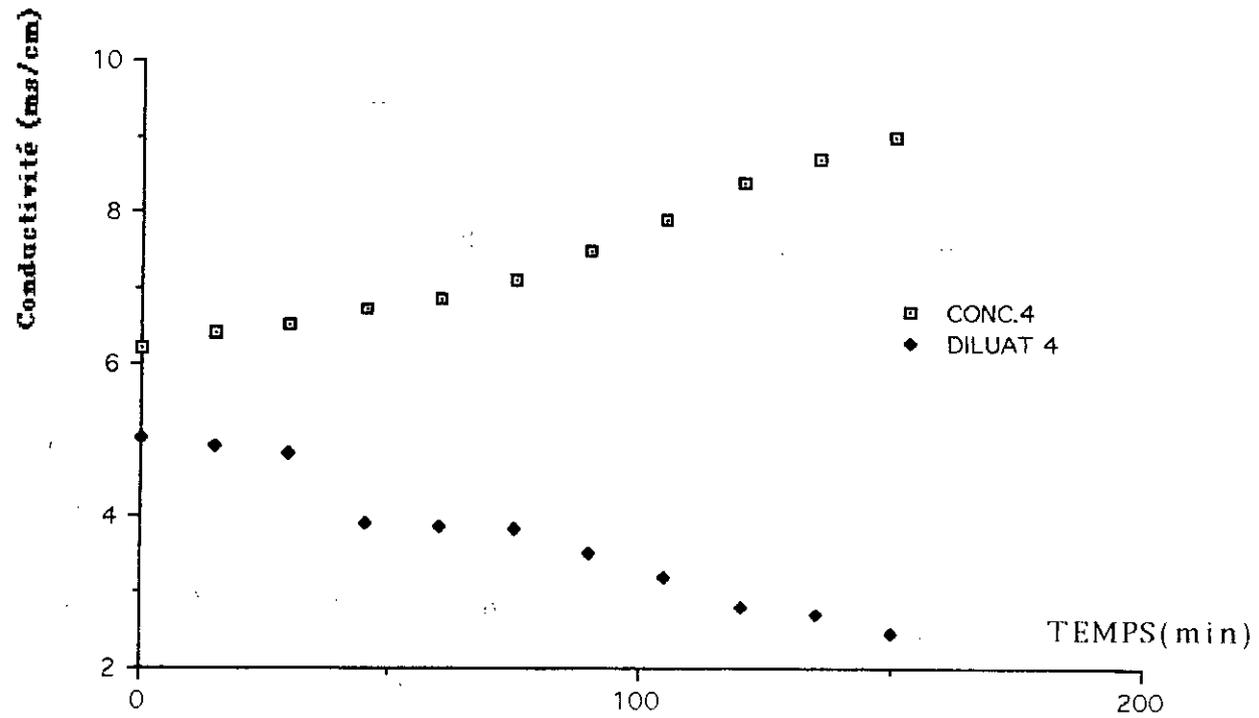


fig.24 Variation de la conductivite  $D=40 \text{ l/h}$

Si l'on représente la concentration dans le concentrat en fonction des débits pour des temps que nous fixerons, nous obtenons la courbe , figure N°25 obtenu grace au tableau N°6.

**Tab.N°6:** *Variation de la concentration en fonction des débits pour un temps fixé .*

CONCENTRATION ( g / l )					
DEBIT l/h)		20	30	35	40
T E M P S  (mn)	0mn	2,08	2,08	2,12	2,08
	15 mn	2,17	2,17	2,17	2,17
	30 mn	2,26	2,3	2,37	2,21
	45 mn	2,39	2,34	2,48	2,3
	60 mn	2,48	2,43	2,55	2,37
	75 mn	2,61	2,52	2,7	2,48
	90 mn	2,68	2,66	2,88	2,66
	105 mn	2,73	2,97	3,13	2,84
	120 mn	2,84	2,97	3,26	2,93

La figure N°25 montre bien que quelque soit le temps que nous avons fixé, la concentration dans le concentrat est maximal pour un débit de 35 l/h, ce qui coincide avec la valeur du débit nominal que nous avons calculé théoriquement.

Nous avons vérifié par les calculs des coefficients de transfert de masse (voir tableau N°7, figure N°26).

**Tab. N°7 :** *Variation du coefficient de transfert de masse en fonction des débits:*

Débit (l/h)	20	30	35	40
Vitesse(cm/s)	13,8	20,8	24,3	27,7
kd.10 <sup>5</sup> (m/s)	3,02	3,46	3,64	3,8

Le Coefficient de transfert augmente très rapidement jusqu'à un débit de 35l/h pour atteindre un palier au delà.

De ce fait, nous avons retenu ce débit dont la vitesse correspondante est de 24,3 cm/s.

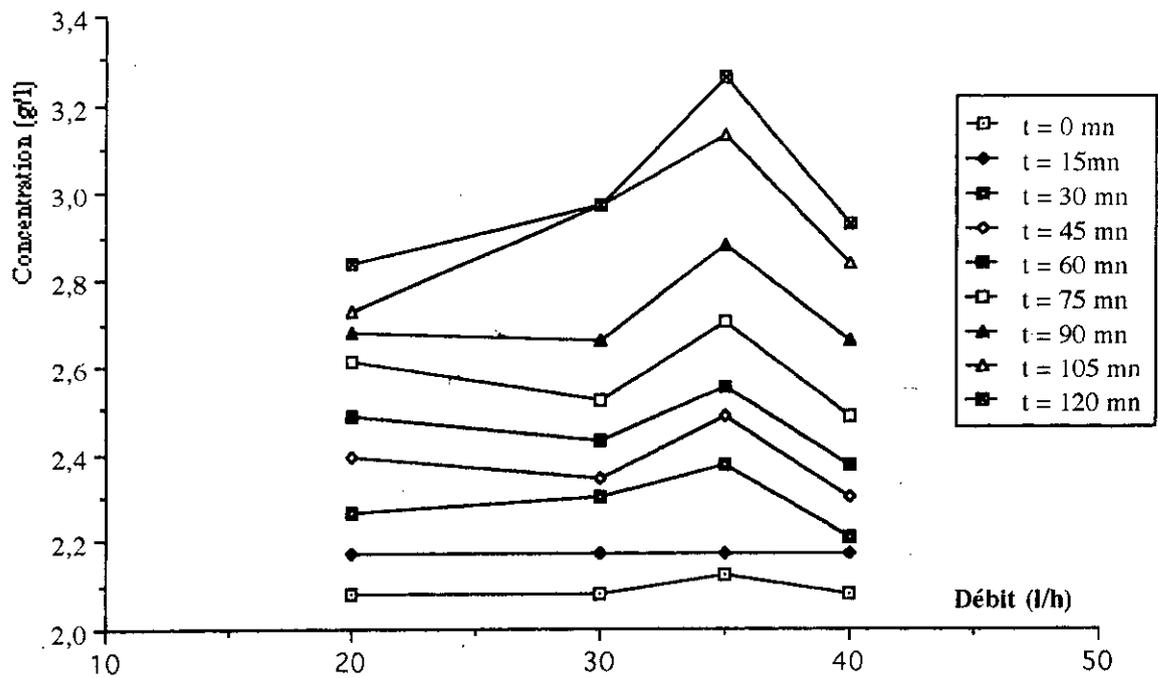
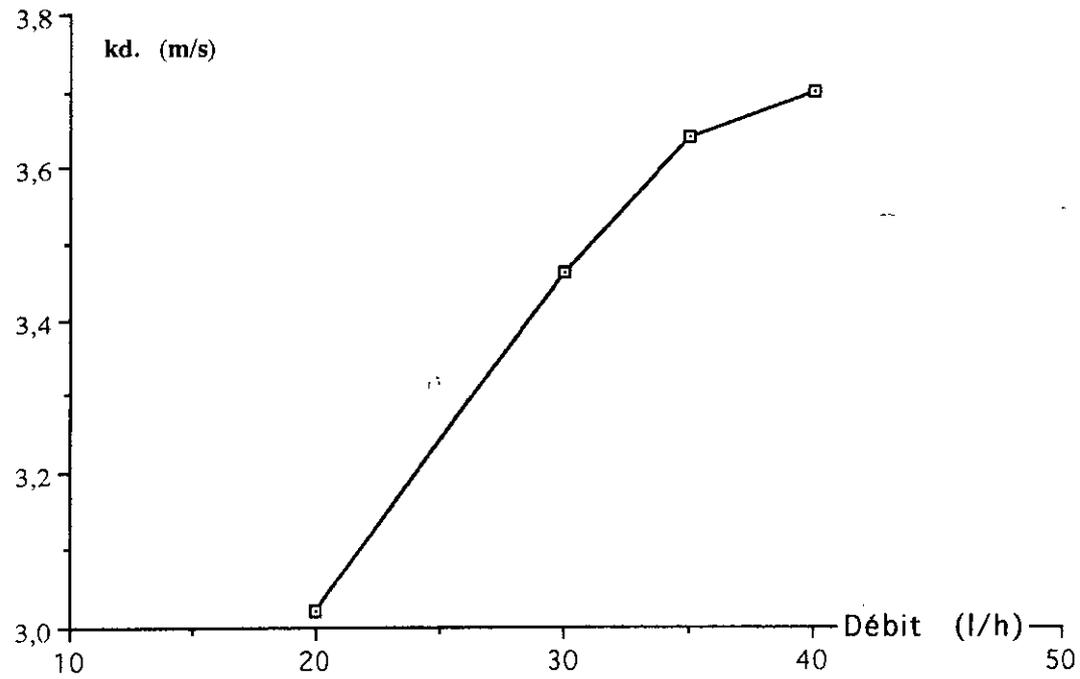


Fig.N°25: Variation de la concentration en fonction du débit pour des temps fixes



*Fig.N°26: Variation du coefficient de transfert en fonction du débit*

**b - INFLUENCE DE LA CONCENTRATION INITIALE SUR LE RENDEMENT DE SEPARATION :**

Le but de cette expérience est de déterminer le rendement faradique et le taux de déminéralisation et ce, en fonction de la concentration initiale de la solution à déminéraliser.

Nous avons fixé la vitesse de passage à 24,3 cm/s et la densité de courant à 29,4 A/m<sup>2</sup>. Nous avons noté la concentration du concentrat toutes les 15 minutes.

Les résultats obtenus lors de cette manipulation sont regroupés dans le tableau N° 8.

Tab.N°8 : *Variation de la Concentration en fonction du temps pour différentes concentrations initiales .*

Temps (minute)		Concentration (g / l)			
		Co = 2	Co = 4	Co = 6	Co = 8
1	15	2,13	3,97	5,99	7,91
2	30	2,16	3,99	6,01	7,91
3	45	2,21	4,03	6,1	7,95
4	60	2,27	4,07	6,2	7,99
5	75	2,34	4,13	6,35	8,05
6	90	2,43	4,19	6,53	8,12
7	105	2,52	4,27	6,72	8,19
8	120	2,62	4,36	6,88	8,29
9	135	2,72	4,45	7	8,39

La figures N°27 représente les variations des concentrations dans la saumûre en fonction du temps pour différentes concentrations initiales .

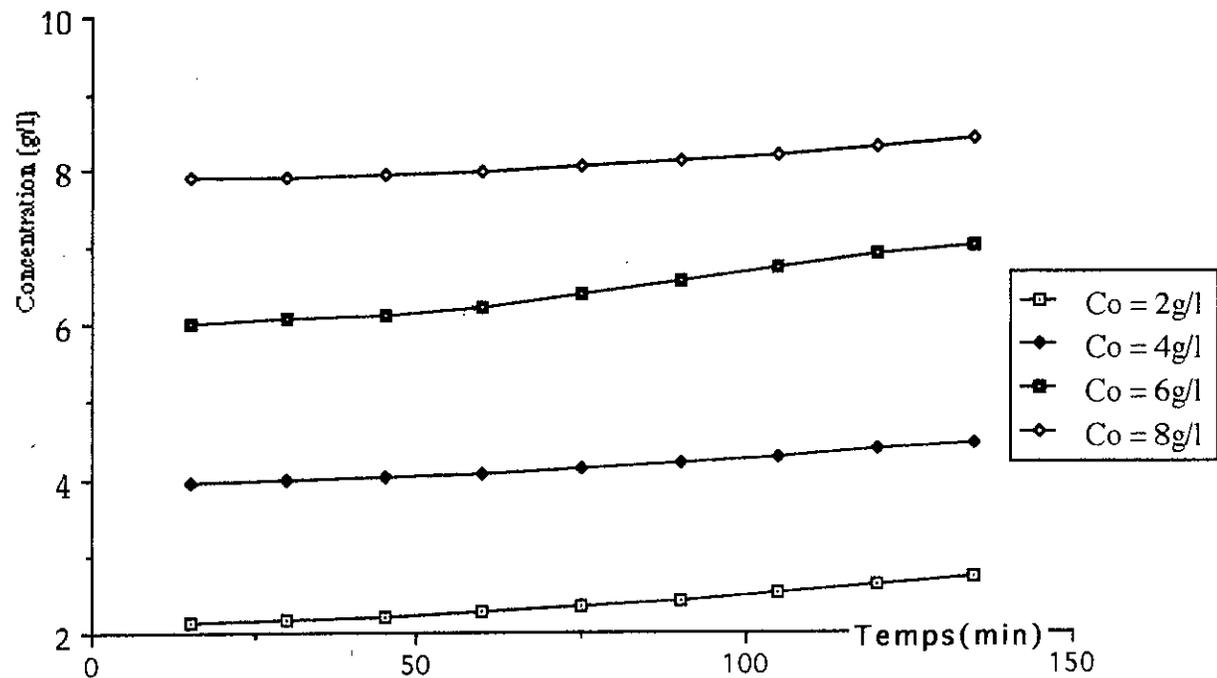


Fig.N°27: Variation de la concentration dans la saumure en fonction du temps

**b.1 - INFLUENCE DE LA CONCENTRATION INITIALE SUR LE RENDEMENT FARADIQUE :**

Le rendement faradique est donné par la relation :

$$R_F = \frac{N \cdot F}{n \cdot Q}$$

**N:** Quantité de matière transférée (moles)

**F:** Faraday = 96500 Cb

**n:** Nombre de cellules (4 dans notre cas)

**Q:** Quantité d'électricité mise en jeu (I.t)

**Tab.N°9 : Optimisation du Rendement faradique**

<b>Rendement Faradique . 10<sup>2</sup></b>					
<b>Temps (min)</b>		<b>C<sub>0</sub>=2g/l</b>	<b>C<sub>0</sub>=4g/l</b>	<b>C<sub>0</sub> = 6g/l</b>	<b>C<sub>0</sub> = 8g/l</b>
1	15	89	90,01	89,87	90,02
2	30	88,05	89,81	89,88	89,91
3	45	89,56	89,65	89	88,8
4	60	87,29	89,28	89,31	88,38
5	75	87,11	87,17	88,6	89,44
6	90	86,58	86,11	87,2	89,19
7	105	95,58	87,31	88,7	89,78
8	120	85,13	85,36	86,3	87,78
9	135	85,95	83,45	85,2	87,78

En traçant  $R_F=f(t)$  pour différentes concentrations initiales (figure N°28), nous avons constaté que le Rendement Faradique augmente avec la concentration initiale. Cela est en concordance avec la bibliographie. [12]

Le calcul de la constante de vitesse de disparition pour les différentes concentrations  $C_0$  pourra vérifier nos constatations.

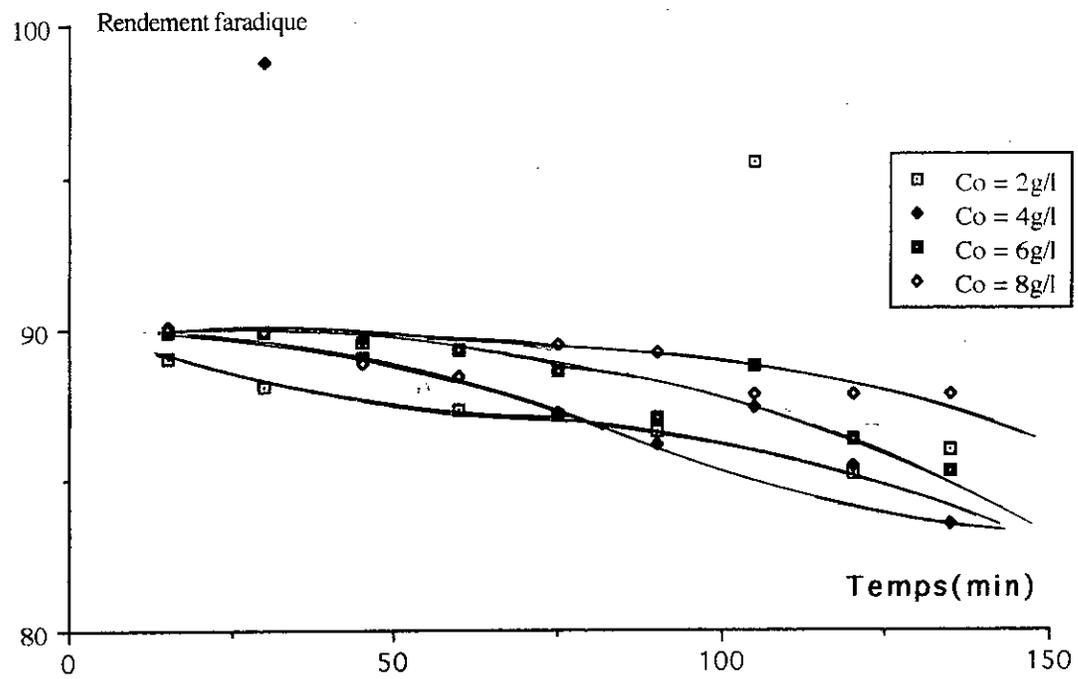


Fig.N°28: Optimisation du rendement faradique

Pour cela, si la réaction est d'ordre 1 ; la vitesse de disparition des ions du compartiment de dilution s'écrit :

$$-\frac{d C_E(t)}{dt} = k \cdot C_E(t) \quad \text{avec } k : \text{ Constante de vitesse .}$$

$$\int_{C_0}^{C_E(t)} \frac{dC_E(t)}{C_E(t)} = \int_0^t -k \cdot dt \quad \boxed{\text{Ln} \frac{C_E(t)}{C_0} = -k \cdot t}$$

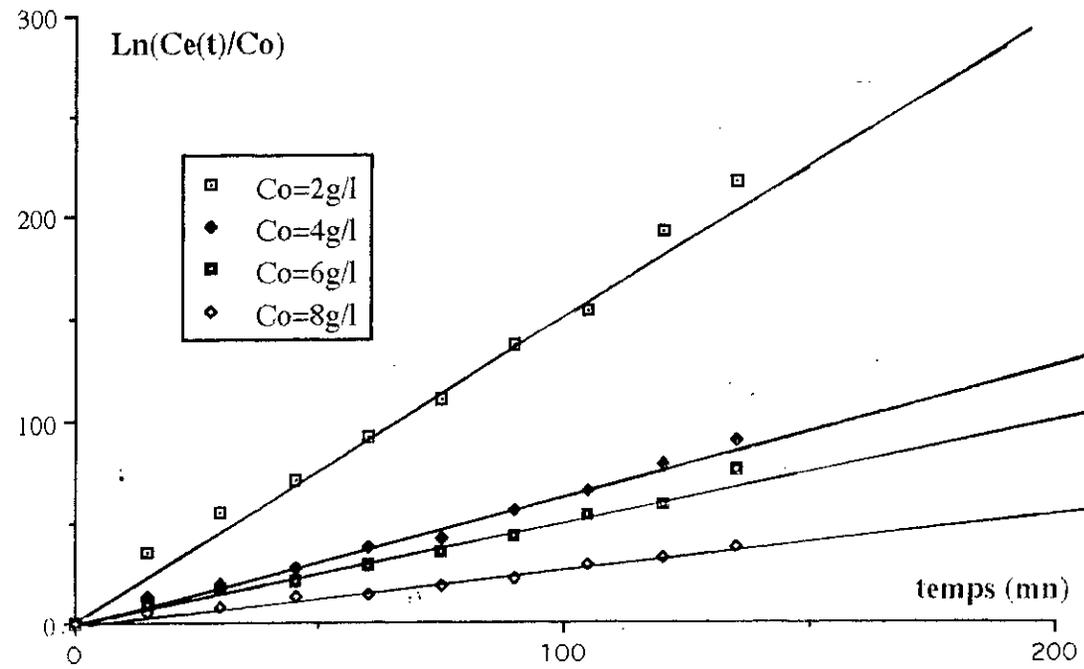
Nous avons reporté les valeurs dans le tableau N°10

**Tab. N°10:** Influence de la concentration initiale sur la constante de vitesse de disparition .

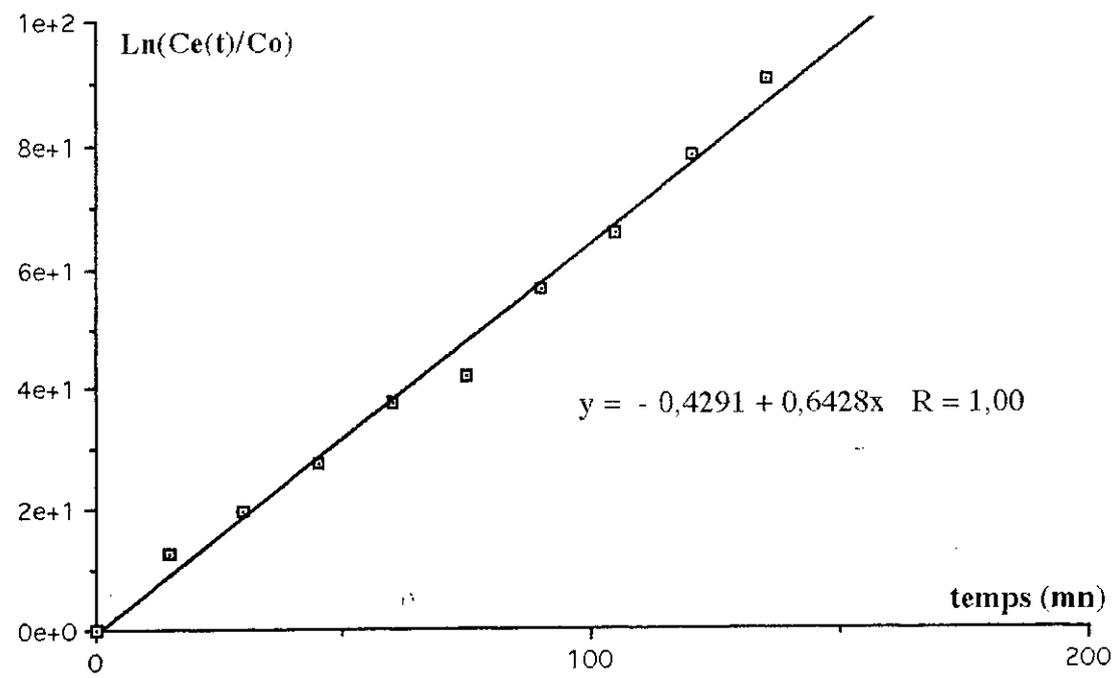
Ln (C <sub>E</sub> (t)/C <sub>0</sub> ) .10 <sup>3</sup>					
Temps (min)	C <sub>0</sub> = 2g/l	C <sub>0</sub> = 4g/l	C <sub>0</sub> = 6g/l	C <sub>0</sub> = 8g/l	
1	15	35,28	12,87	9,66	5,1
2	30	55,13	19,54	17,66	7,5
3	45	70,47	27,4	20,6	12,54
4	60	92,08	37,4	28,8	12,18
5	75	109,74	42,1	35,1	17,83
6	90	136,3	56,4	43,6	22,82
7	105	152,86	65,36	53,6	29,4
8	120	192,3	78,3	58,6	33,4
9	135	218,1	90,24	75,9	38,4

En traçant  $-\text{Ln}(C_E(t)/C_0)=f(t)$  pour chaque concentration initiale (voir figure N°29), nous avons obtenu des droites dont les pentes sont égales à  $k$ , déterminée à l'aide des droites de regression. Cela confirme notre hypothèse que la réaction est d'ordre 1 .

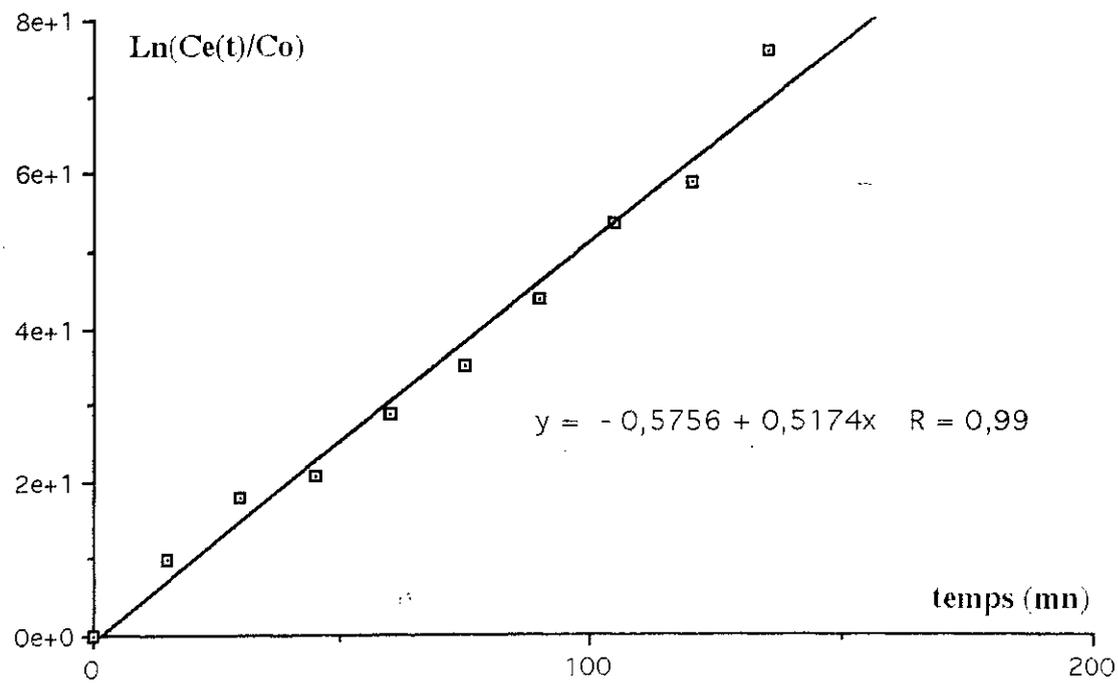
$$\begin{aligned} C_0 = 2\text{g/l} &\rightarrow k = 1,52\text{mn}^{-1} & C_0 = 6\text{g/l} &\rightarrow k = 0,64 \text{mn}^{-1} \\ C_0 = 4\text{g/l} &\rightarrow k = 0,52\text{mn}^{-1} & C_0 = 8\text{g/l} &\rightarrow k = 0,28 \text{mn}^{-1} \end{aligned}$$



*Fig. N°29: Influence de la Concentration initiale sur la constante de vitesse de disparition*



*Fig.N°29.2:Influence de la Concentration initiale sur le Constante de vitesse de disparition*



*Fig.N°29.3: Influence de la concentration initiale sur la constante de vitesse de disparition*

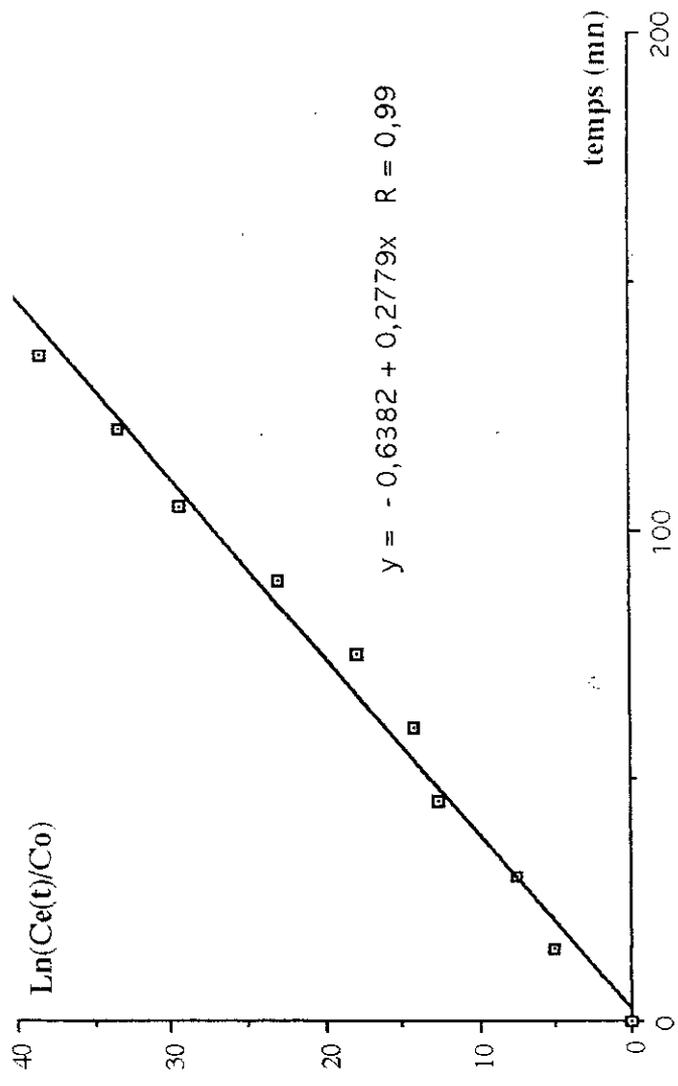
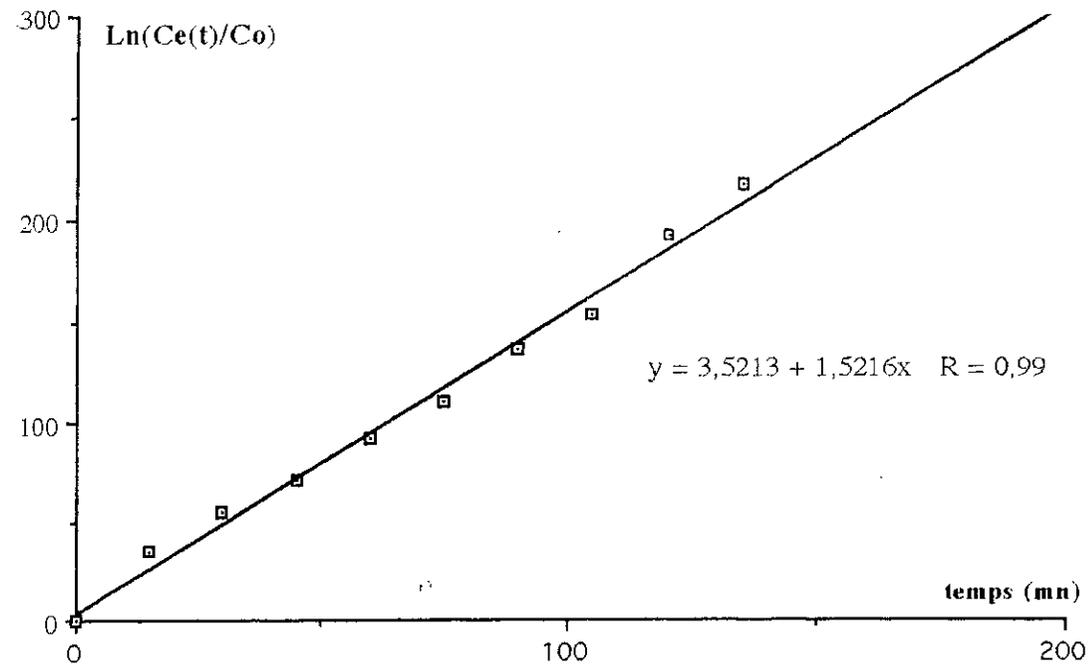


Fig.N°29.4: Influence de la concentration initiale sur la constante de vitesse de disparition



*Fig.N°29: Influence de la Concentration initiale sur la Constante de vitesse de disparition*

et d'autre part, que la vitesse de disparition est beaucoup plus importante lorsque la concentration initiale est élevée.

**b.2 - INFLUENCE DE LA CONCENTRATION INITIALE DE LA SAUMURE SUR LE TAUX DE DEMINERALISATION :**

Le taux de déminéralisation peut être calculé d'après la formule :

$$\tau = \frac{C_0 - C_E(t)}{C_0}$$

et ce grâce aux résultats précédents .

Nous avons reporté dans le tableau N°11, les résultats des taux de déminéralisation pour chaque temps et pour chaque concentration initiale.

**Tab. N°11:** *Influence de la concentration initiale sur le taux de déminéralisation :*

Taux de déminéralisation $\tau \cdot 10^3$					
Temps (min)		Co = 2g/l	Co=4g/l	Co=6g/l	Co=8g/l
1	<b>15</b>	5,33	2,87	1,67	0
2	<b>30</b>	18,9	7,6	5,7	0,38
3	<b>45</b>	37,73	17,7	11,7	4,55
4	<b>60</b>	71,7	27,8	18,9	10,24
5	<b>75</b>	106,13	42,9	86,95	17,7
6	<b>90</b>	145,75	58,08	139,9	26,16
7	<b>105</b>	188,67	78,3	152,17	35,4
8	<b>120</b>	231,13	100,25	167,22	47,53
9	<b>135</b>	281,6	124,5	184,11	60,17

Dans la figure N°30 représentant la variation du taux de déminéralisation en fonction du temps pour différentes concentrations initiales, nous avons remarqué que ce dernier augmentait lorsque la concentration initiale diminuait, ce qui est en accord avec la bibliographie.

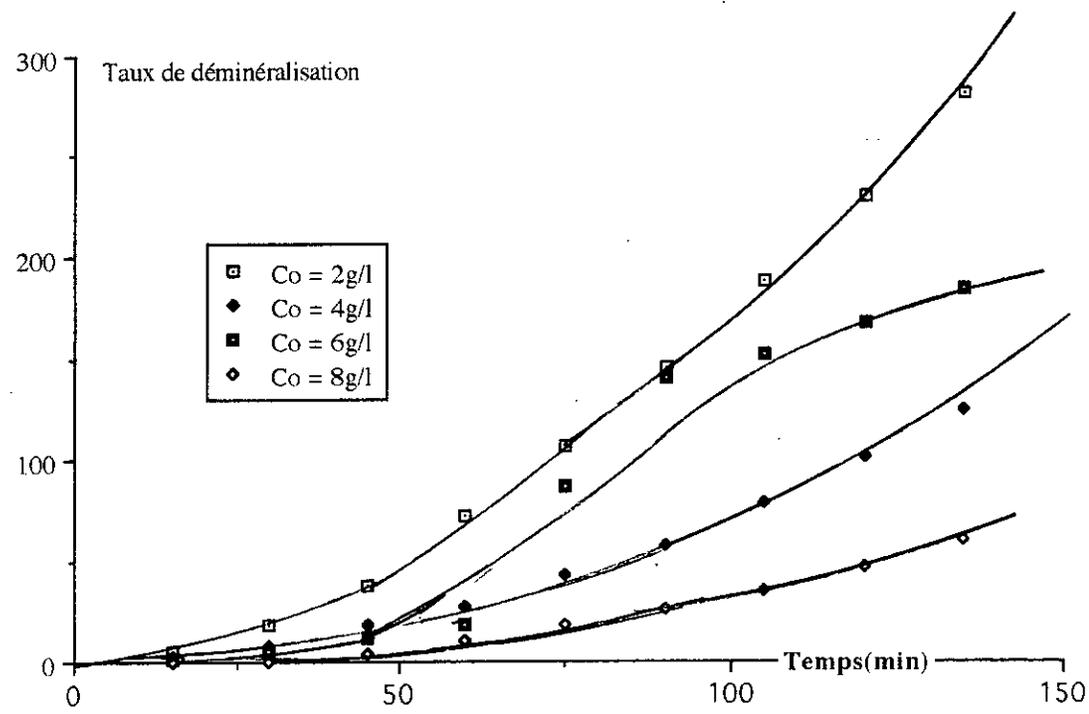


Fig.N°30: Influence de la concentration initiale sur le taux de déminéralisation.

### c - OPTIMISATION DE LA DENSITE DE COURANT :

Ayant fixé la vitesse de passage à 24,3 cm/s, la concentration initiale à 8g/l, nous nous sommes proposé d'étudier l'influence de la densité de courant sur la concentration finale de la saumûre après un temps fixé à 2 heures. Pour cela, nous avons travaillé à 4 intensités de courant différentes ( I=200mA, 400mA, 600mA, 800mA ).

Les résultats sont résumés dans le tableau N°12 .

**Tab.N°12:** *Influence de la densité de courant sur la concentration finale de la saumûre.*

		Concentration (g / l)			
Temps (min)		I=200mA	I=400mA	I=600mA	I=800mA
1	0	7,91	7,91	7,91	7,91
2	15	8	8,53	9,25	8,26
3	30	8,08	8,62	9,39	9,16
4	45	8,13	8,8	9,47	9,61
5	60	8,22	9,12	9,83	10,06
6	75	8,35	9,3	9,92	10,95
7	90	8,49	9,47	10,01	11,4
8	105	8,71	9,65	10,28	11,85
9	120	8,85	10,06	10,6	12,3
10	135	8,89	10,19	10,82	13,2

Nous avons tracé les courbes de concentration de saumûre en fonction du temps pour les différentes densités de courant (voir figure N°31).

#### REMARQUE :

*Nous avons manipulé à chaque fois prudemment en évitant les valeurs critiques du courant afin de ne pas altérer les membranes.*

La figure N°31 confirme à son tour que le transfert augmentait avec la densité de courant appliquée comme le prévoit la théorie.

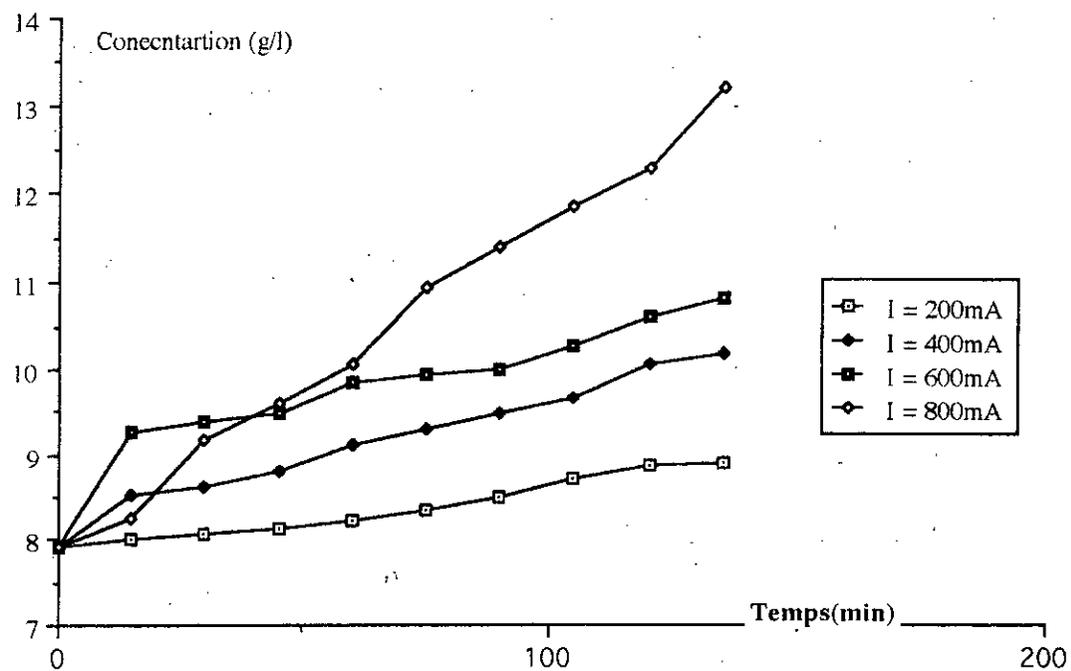


Fig.N°31: Influence de la Densité de courant sur la concentration finale de la Saunfir.

### III- Application de la technique mise au point dans la séparation d'un mélange d'Acides Aminés:

Les cuves de Diluat et de Concentrat sont remplies respectivement de :

- 100 ml d'un sérum synthétique composé par un mélange d'Acides Aminés dans les concentrations sont mentionnées dans le tableau N°13 . (Diluat)
- 100 ml d'eau distillée (concentrat)

La densité de courant opératoire est fixée à 44,11 A/m<sup>2</sup>, soit une intensité de courant de 300 mA.

Tab.N°13: *Composition en Acides Aminés dans la solution pharmaceutique*

	Acides Aminés	Concentration (g/l)
1	L-TRYPTOPHANE	0,16
2	L-ARGININE	0,2
3	L-ISOLEUCINE	0,27
4	L-THREONINE	0,27
5	L-PHENYLALANINE	0,37
6	L-VALINE	0,37
7	L-LEUCINE	0,43
8	L-METHIONINE	0,44
9	L-LYSINE	0,668
10	GLYCINE	5

Plusieurs expériences ont été réalisées à des pH de 2, 5.6, 8 et 10 dans les circuits de dilution. Nous avons noté les conductivités dans le diluat et le concentrat tout les 15 minutes. Les résultats figurent dans le tableau N°14.

Lors de cette dernière manipulation, nous avons essayé de concentrer une solution pharmaceutique riche en "Acides Aminés".

Plusieurs expériences ont été réalisées dans lesquelles nous avons fait varier le pH dans le Diluat de 2, 5 6 8 et 10.

Nous avons noté les conductivités du Diluat et du concentrat toutes les 15 minutes.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**Tab.N°14:** Variation de la conductivité du Diluat et du Concentrat en fonction du temps pour différents pH.

Conditions opératoires		Temps (mn)								
I = 300m		0	15	30	45	60	75	90	105	
pH = 2	CONDUCTIVITÉ (µs/cm)	C	0,8	2,5	4,6	7,5	9	9,3	14	16
		D	11,8	10,7	9,4	7,75	6,8	5,6	4,6	3,5
pH = 5,6		C	0,8	1,7	4,1	4,7	6,6	8,5	11,1	12,2
		D	10,6	10,6	10,3	8,9	7,7	6,8	6	5,5
pH = 8		C	0,8	1,3	2,3	2,8	3	3	3	3
		D	5	4,2	3	2	1,1	0,54	0,24	0,07
pH = 10		C	0,8	2,8	3	5	7	9	9	9
		D	16,2	14,6	13	11,4	9,9	8,6	7,3	6

Nous avons remarqué une baisse de la conductivité et une augmentation dans le concentrat, ce qui est déjà un premier résultat montrant le transfert des acides aminés du circuit de dilution vers le circuit de concentration.

Nous sommes passé par la suite au dosage de l'Azote totale par la méthode Kjeldahl (voir annexe I). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau N°15.

**Tab.N°15:** Composition des échantillons après électrodialyse (par détermination de l'azote total)

pH initial	2	5,6	8	10	
Temps (mn)	N ( % )				
1	15	40	35	24,5	21,02
2	30	38	36	24,5	24,5
3	60	35	32	22	21,02
4	105	43	40	21,5	21,02

D'après les résultats du tableau N°15, on observe une augmentation de la teneur en azote totale de l'ordre de 40% en moyenne dans le concentrat après une électrodialyse acide (pH 2 et 5,6).

En milieu basique (pH=8 - 10), la concentration a lieu mais beaucoup plus faible que celle réalisée en milieu acide.

Des matières en suspension probablement dues au passage sans formation d'acide aminés insolubles dans ces conditions sont apparues.

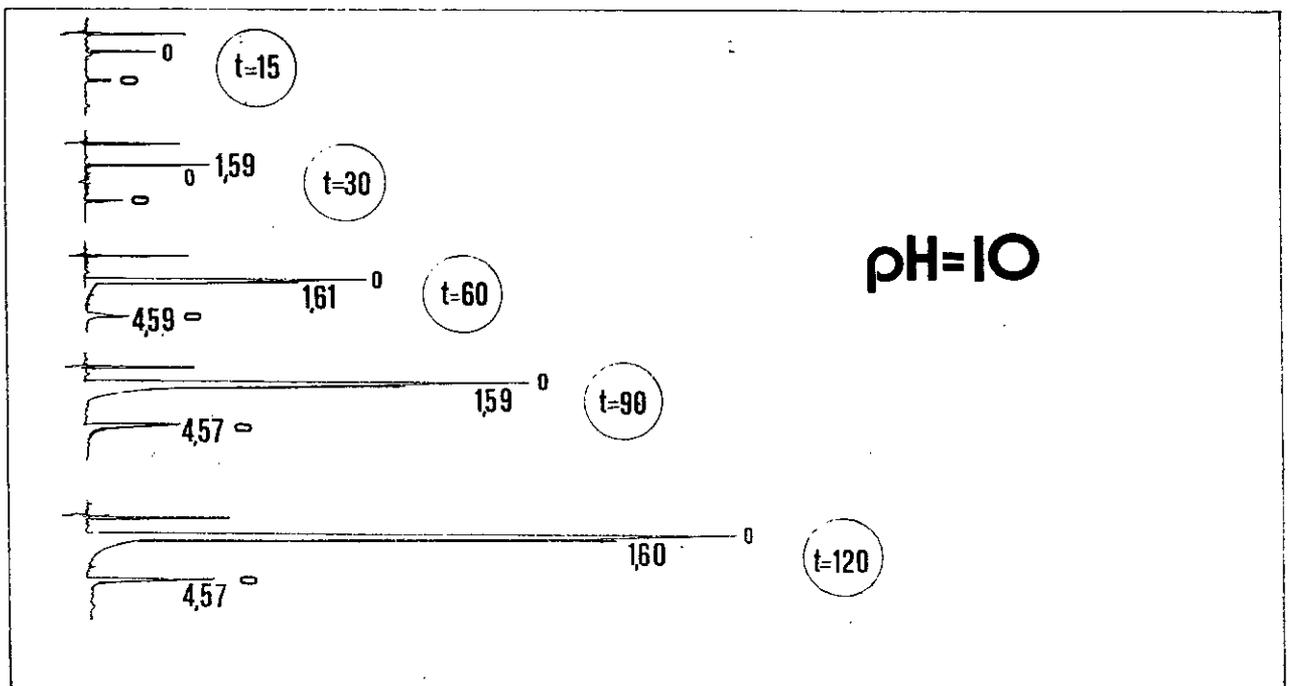
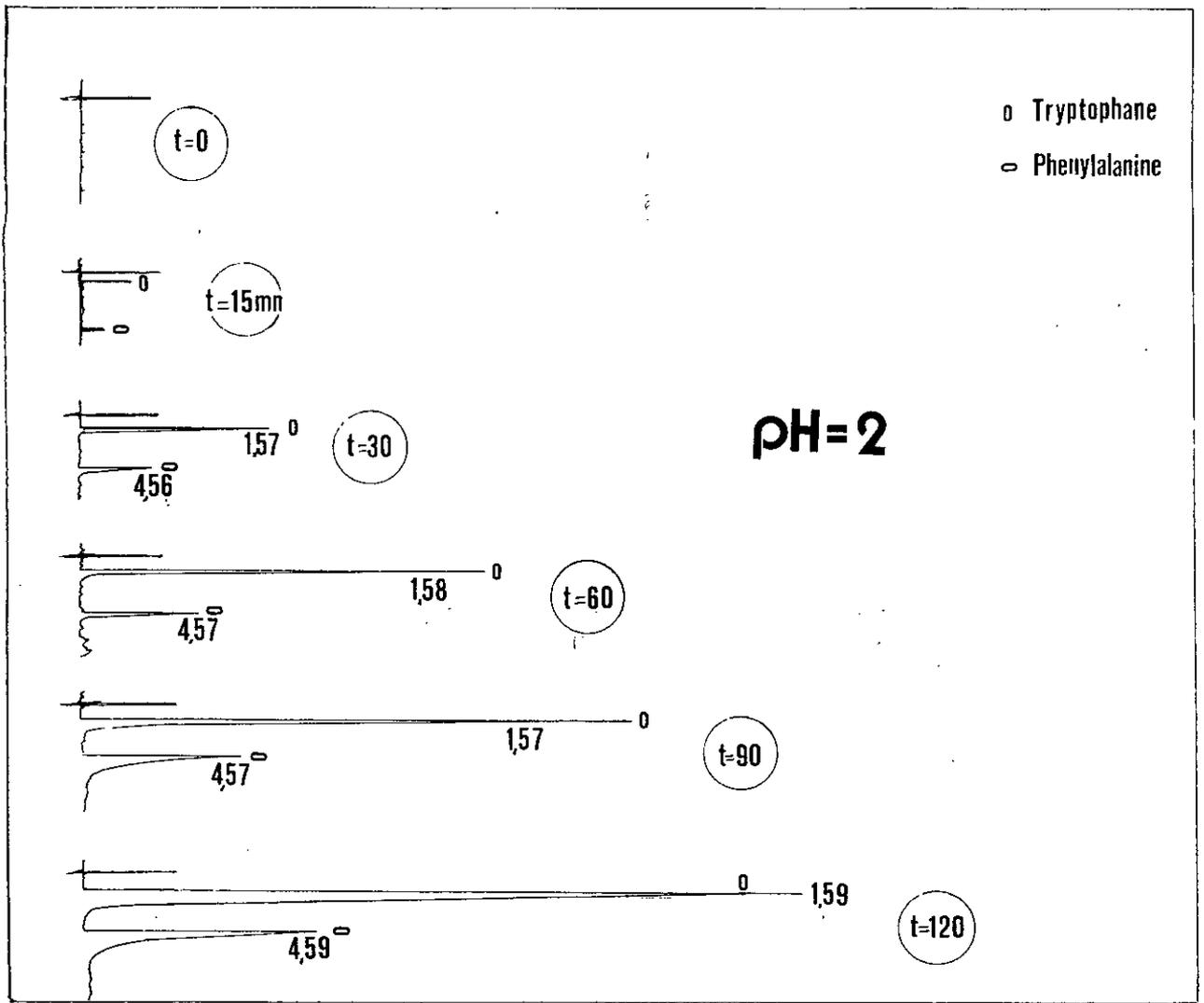
Nous avons utilisé la Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance pour identifier les acides Aminés et éventuellement les quantifier dans le concentrat. Pour cela, nous avons préalablement réalisé des spectres Ultra-violet sur 10 acides aminés étalons étudiés. Seules le Tryptophane et le L-Phénylalanine absorbent respectivement à 280nm et 252nm (voir annexe III). Tous les autres n'absorbent pas.

Nous avons utilisé les conditions chromatographiques suivantes:

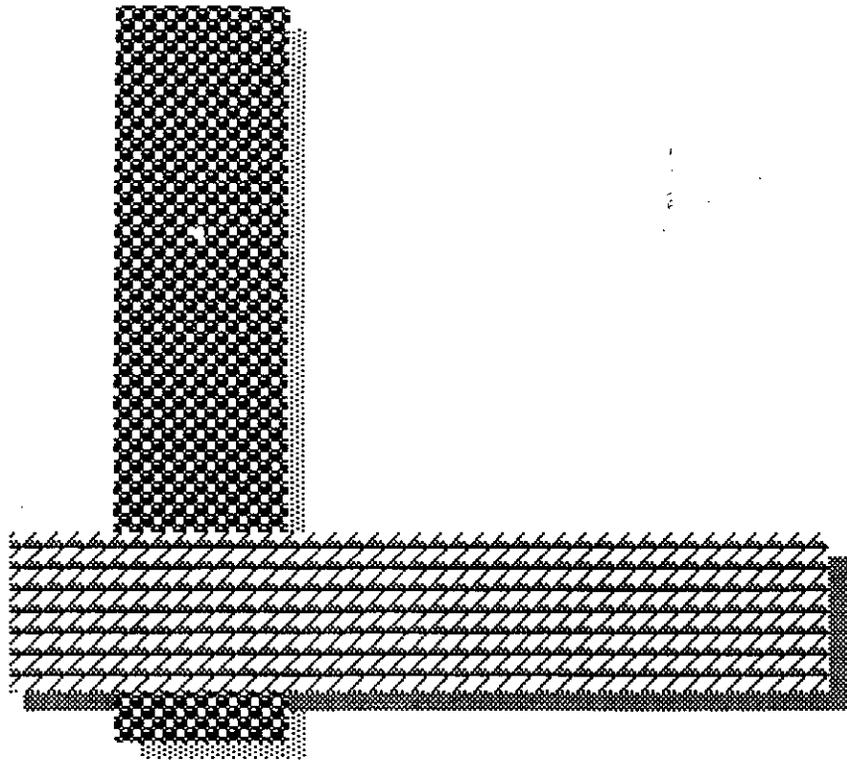
- Colonne : Microbandapack C18
- Phase mobile : Eau / Acetonitrile ( 50 / 50 )
- Detecteur : U.V
- $\lambda$  : 254 nm
- Volume d'inj. : 25  $\mu$ l

Après avoir injecté dans le chromatographe les solutions d'acides aminés prélevés à des intervalles de 15 minutes, nous avons remarqué que les pics des 2 acides aminés cités précédemment, augmentaient avec le temps de prelevement donc également la concentration. Cela nous montre la bonne efficacité de l'Electrodialyse .

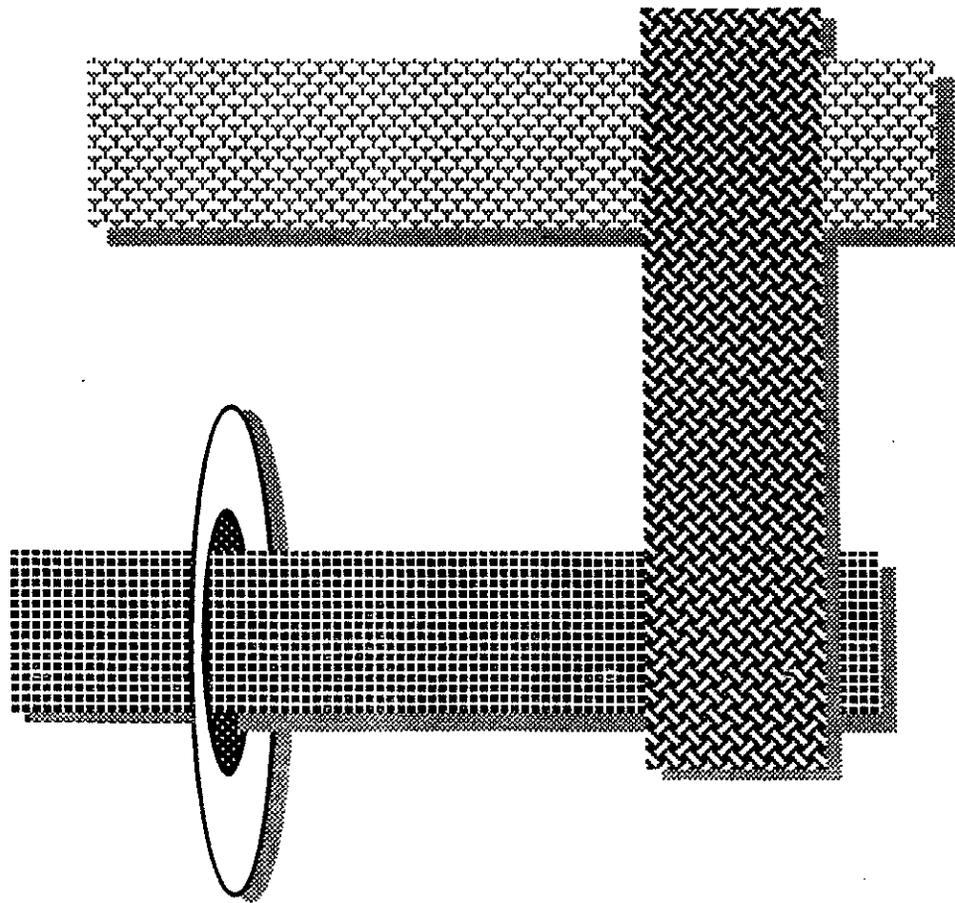
Pour detecter les autres acides aminés, nous devons utiliser la méthode de dérivation pour que les molécules d'acides aminés puissent absorber dans l'Ultra-Violet , mais faute de ce reactif, ce travail n'a pu être réalisé. Neanmoins, nous pouvons dire que la Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance est indispensable pour suivre la séparation des acides aminés et leur quantification.



Chromatogrammes des Acides Amines a pH=2 et 10



# CONCLUSION



## CONCLUSION :

L'objectif principal de notre travail a été atteint. En effet, nous avons conçu et réalisé un module d'*Electrodialyse à l'échelle Laboratoire*. Les paramètres de fonctionnement optimisés sont:

- 240 cm/s pour la vitesse de passage
- 11,76 A/m<sup>2</sup> pour la densité de courant
- 8 g/l pour la concentration initiale

Le Rendement de déminéralisation de l'Electrodialyse est de 30%. Ceci est dû à la faible surface utile des membranes.

Les résultats obtenus lors de l'application de la technique électrodialytique semblent cohérents et prévisibles. Ils nous ont permis de vérifier divers phénomènes prévisibles théoriquement, à savoir :

- Passage des espèces ionisées au travers des membranes
- Passage des Acides aminés à des pH différents de leur points isoélectriques
- Mise en évidence de l'influence nocive des précipitations sur la migration due au colmatage des membranes.

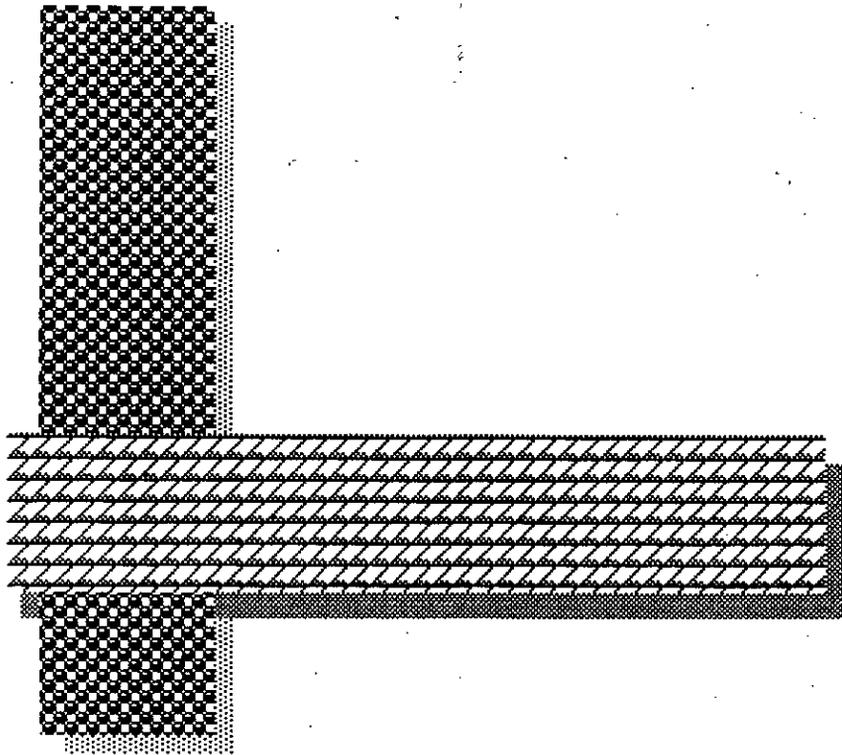
D'après les premiers résultats obtenus, nous avons pu vérifier une concentration des Acides Aminés qui sont passés du Diluat vers le Concentrat. Les membranes que nous avons utilisés se prêtent bien à ce type de technique.

Une séparation des Acides Aminés a été envisagée en opérant à des pH déterminés et l'utilisation de la Chromatographie Liquide à Haute Performance a pu nous donner des indications sur l'efficacité de l'Electrodialyseur sur la séparation et la concentration de ces derniers.

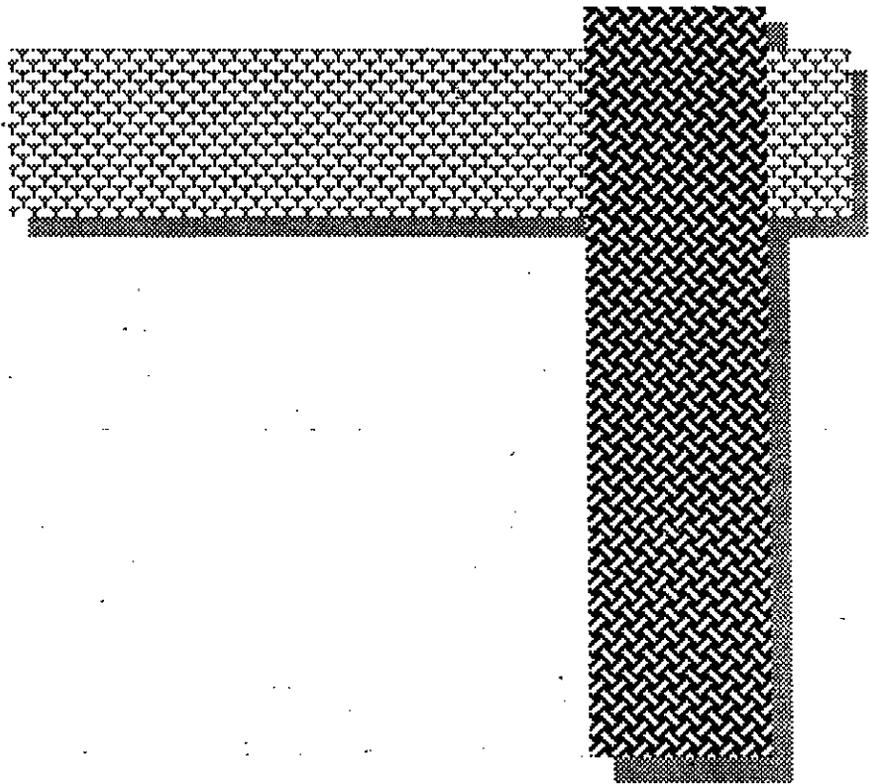
Enfin, nous pouvons dire que ce travail nous a initié dans un premier temps à la recherche dans le domaine de la Biotechnologie.

Un travail de modélisation de cette technique mise au point reste à faire, notamment dans la séparation des acides aminés.

Cette technique promet d'apporter des solutions élégantes et économiquement viables dans le domaine de la récupération et de recyclage en Bio-Industrie.



# ANNEXES



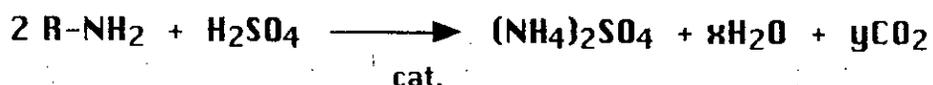
## ANNEXE. I -

### - DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL PAR LA METHODE KJELDAHL:

La méthode de dosage de l'Azote total dans les Acides Aminés est déterminée quantitativement par la méthode KJELDAHL.

La substance organique azotée est minéralisée par chauffage avec de l'acide sulfurique concentré en présence de catalyseurs de combustion.

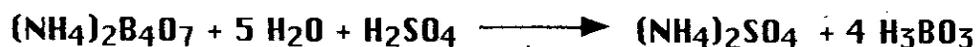
L'azote est transformé quantitativement en sulfate d'ammonium.



En ajoutant de la soude, le sulfate d'ammonium est transformé en ammoniac suivant la réaction ci-dessous et entraîné à la vapeur.



L'ammoniac libéré est absorbé par de l'acide borique puis dosé avec de l'acide sulfurique ou chlorhydrique.



## ANNEXE -II-

### PROTOCOLE DE NETTOYAGE D'UN ELECTRODIALYSEUR :

Avant et après chaque manipulation, nous devons procéder au lavage de l'électrodialyseur, pour cela, nous devons effectuer les opérations suivantes :

I = 0

#### A- Pour une solution aqueuse :

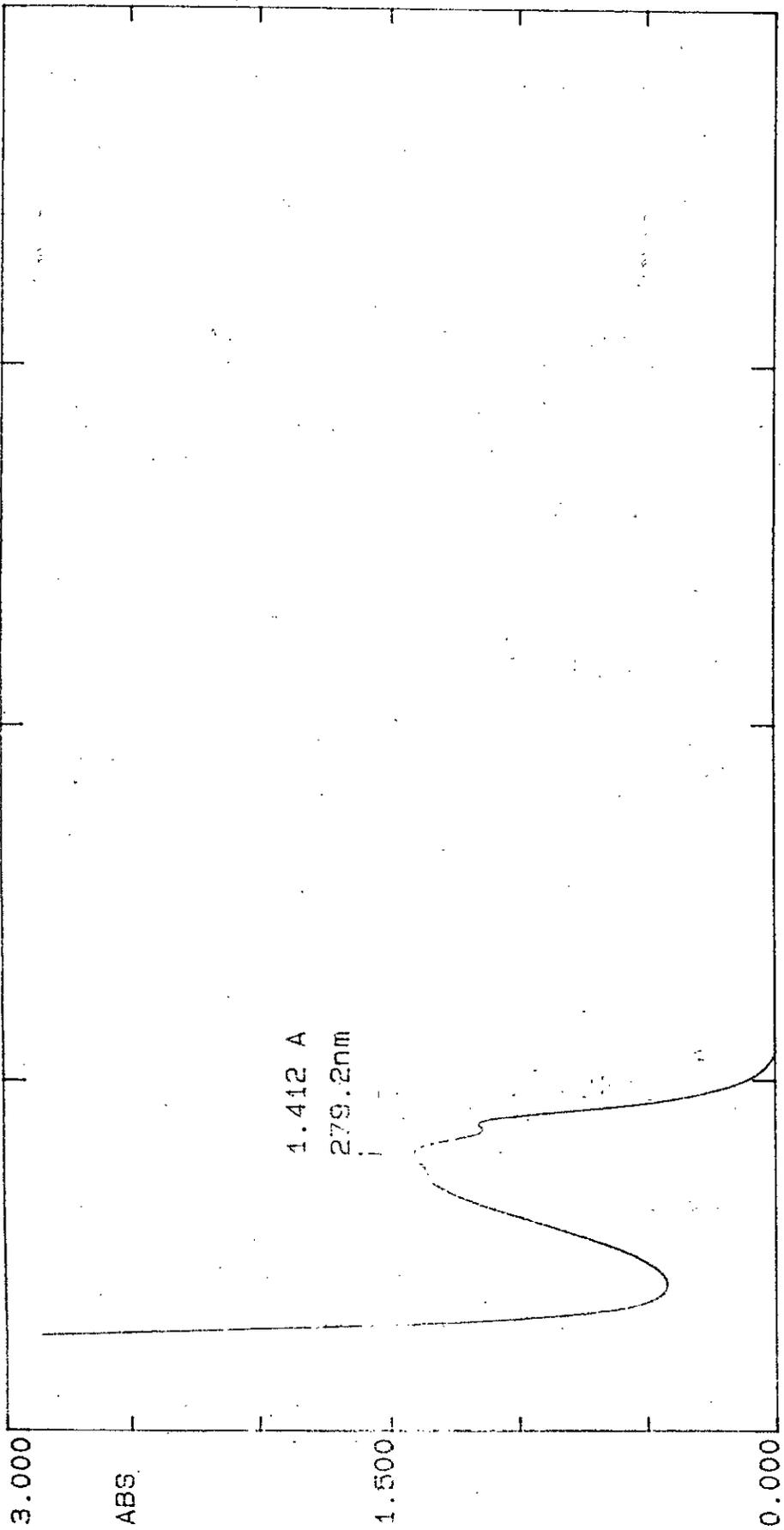
exemple : Acide,  $ZnSO_4$ ,  $FeSO_4$ ,  $Cr^{2+}$ , ...

- Remplir les réservoirs de saumure, de produit et d'électrolyte avec de l'eau et les faire circuler dans l'installation pendant 10 minutes puis arrêter les pompes et vider l'appareil.
- Recommencer la même opération avec HCl (1N) pendant 15 minutes
- Rincer à l'eau de robinet jusqu'au virage (pH neutre)
- Laver avec NaOH (0,1N) pendant 15 minutes
- Laver à l'eau distillée jusqu'à pH neutre
- Laver avec HCl (1N) pendant 15 minutes
- Laver à l'eau distillée jusqu'à pH neutre.

#### B- Si une solution contient des protéines et des acides aminés :

- Rincer avec du détergeant enzymatique.
- laver avec de l'eau du robinet pour permettre d'enlever toute la mousse .
- Rincer avec de l'eau distillée.
- Régénérer éventuellement les membranes par du HCl (1N) et rincer à l'eau distiller jusqu'à pH neutre.

**ANNEXE III - Spectres Ultra-Violet des Acides Aminés :**

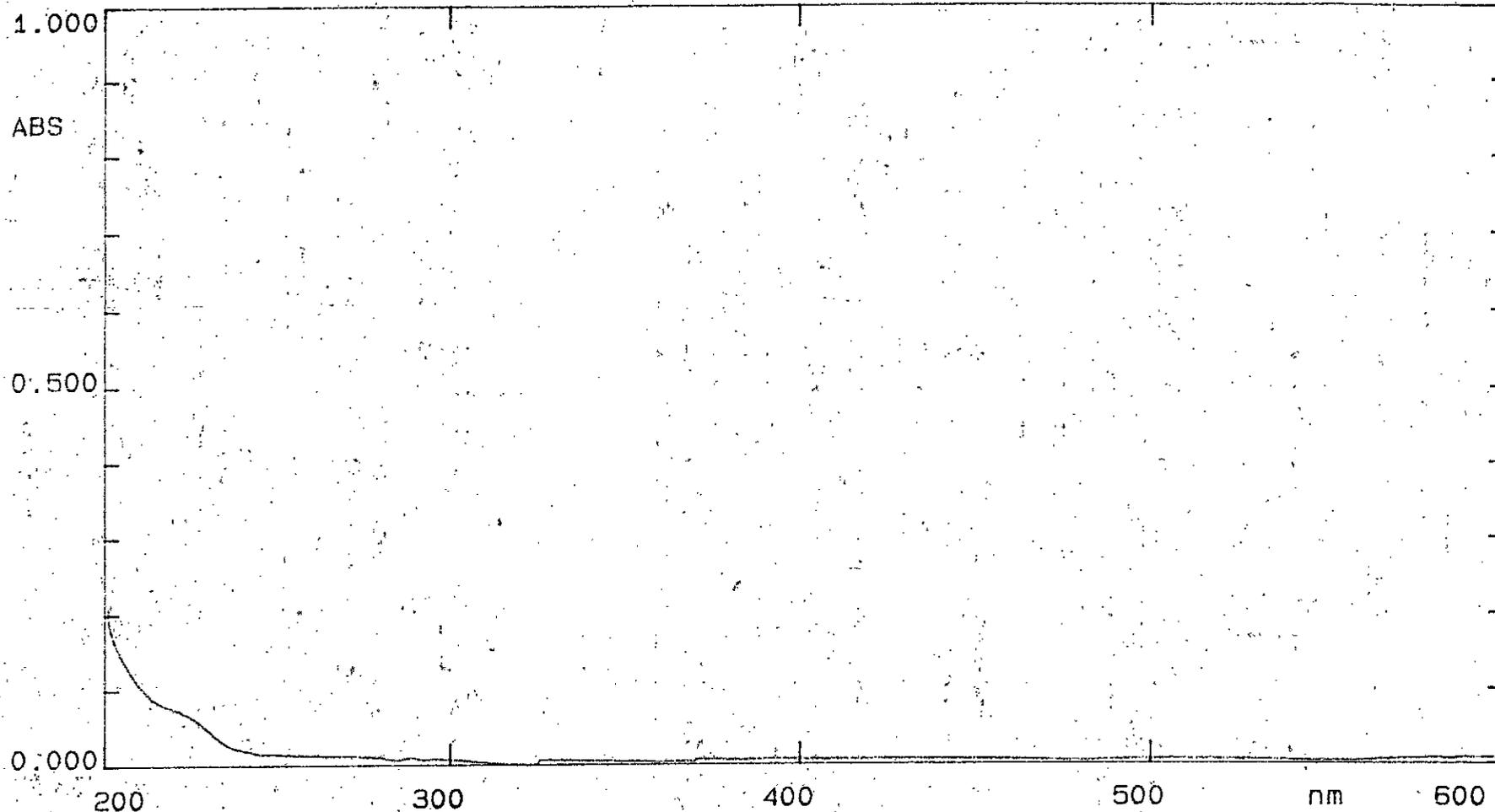


200 300 400 500 600 nm  
Filename: L-TRYPTOPHAN Scanned at: 09:10:47 Date: 08-06-99  
Bandwidth: 2.0 nm Data Int: 0.8nm Speed: 2000 nm/

Method:

Operator: RIAD/INSP

PHILIPS ANALYTICAL PU 8710 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER



Filename: L-ISOLEUCIN

Scanned at: 09:20:04

Date: 08-06-93

Bandwidth: 2.0 nm

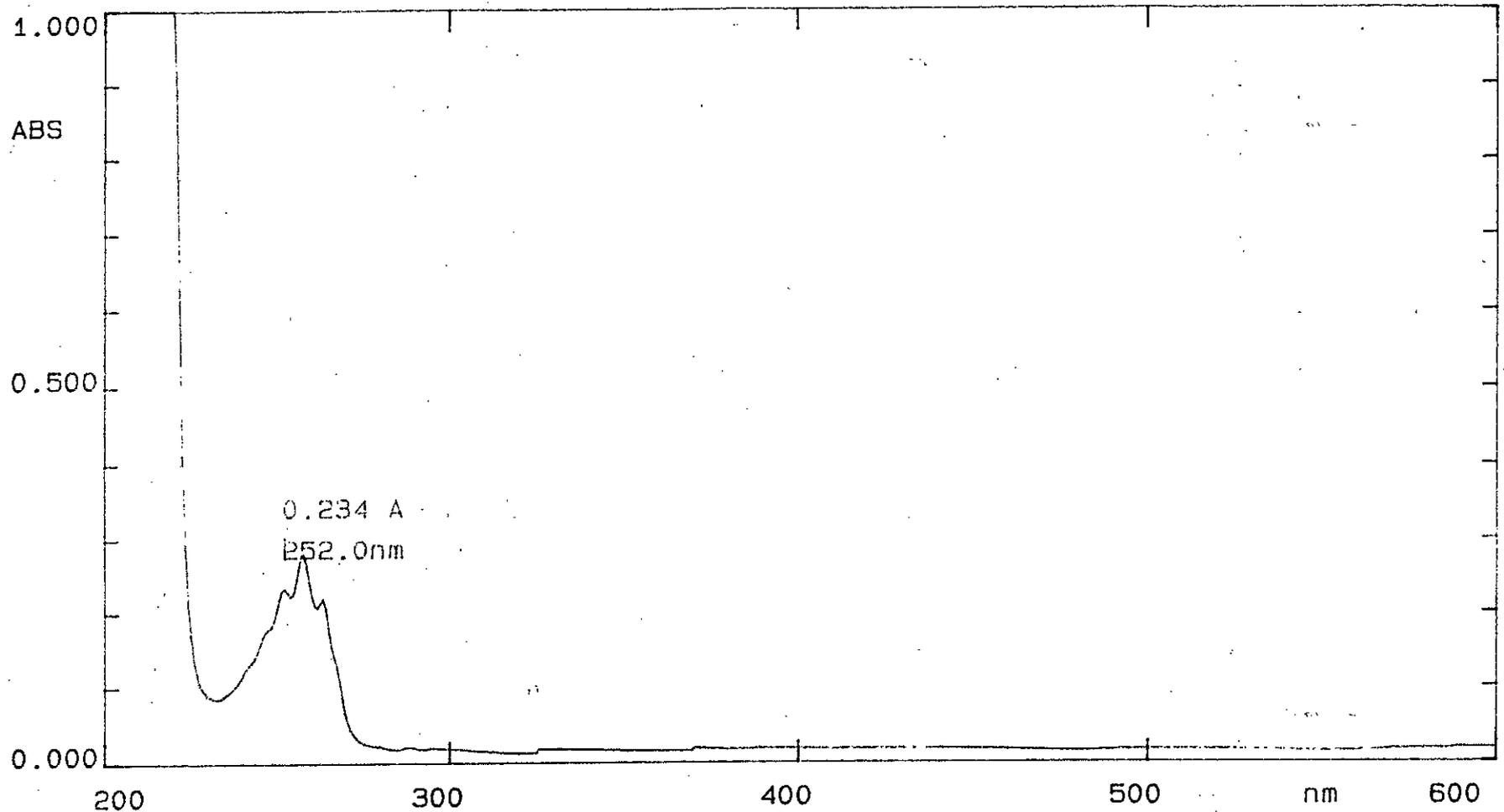
Data Int: 0.8nm

Speed: 2000 nm/

Memo:

Operator: RIAD/INSP

PHILIPS ANALYTICAL PU 8710 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER



Filename: L-PHENYLALANIN

Scanned at: 09:28:41

Date: 06-06-93

Bandwidth: 2.0 nm

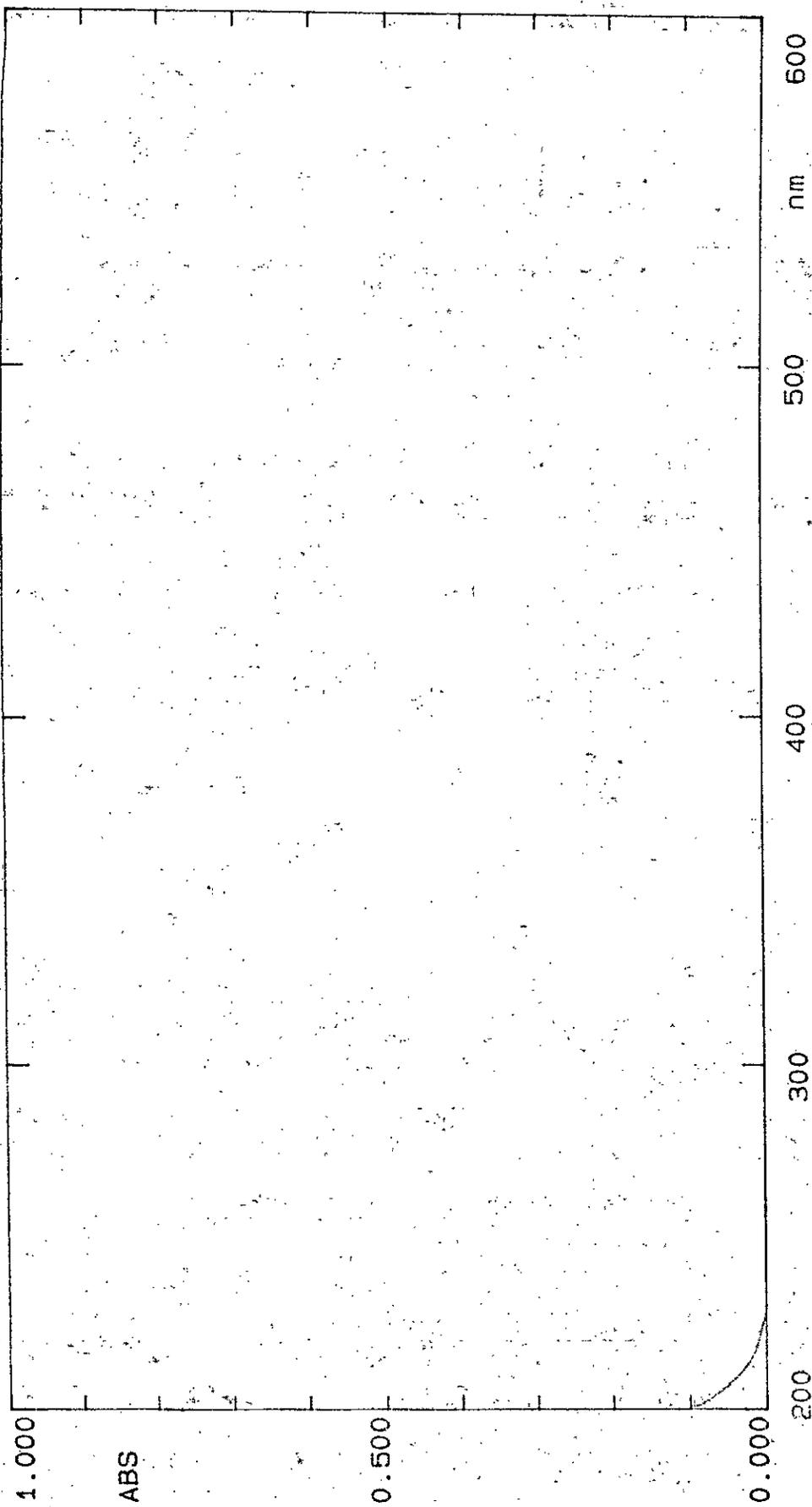
Data Int: 0.8nm

Speed : 2000 nm/

Memo: 3,4-BIHYDROXY

Operator: RIAD/INSP

PHILIPS ANALYTICAL PU 8710 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER

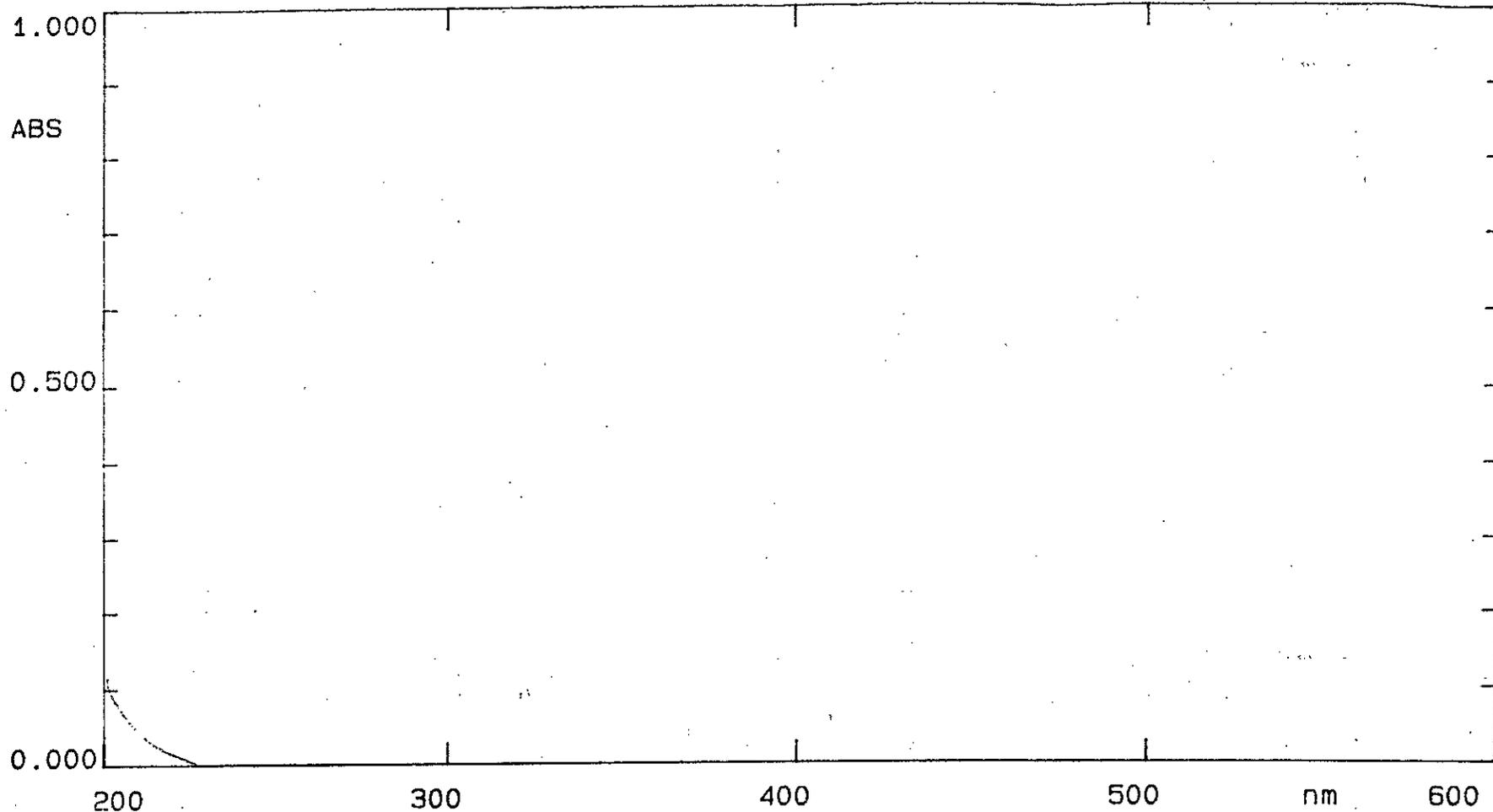


Filename: L-VALIN Scanned at: 08:54:19 Date: 04-06-93  
Bandwidth: 2.0 nm Data Int: 0.8nm Speed: 2000 nm/

Memo: SOLVANT: EAU DISTILLEE

Operator: BENKHOUF N.

PHILLIPS ANALYTICAL PU 8710 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER



Filename: L-LEUCIN

Scanned at: 08:50:43

Date: 08-06-93

Bandwidth: 2.0 nm

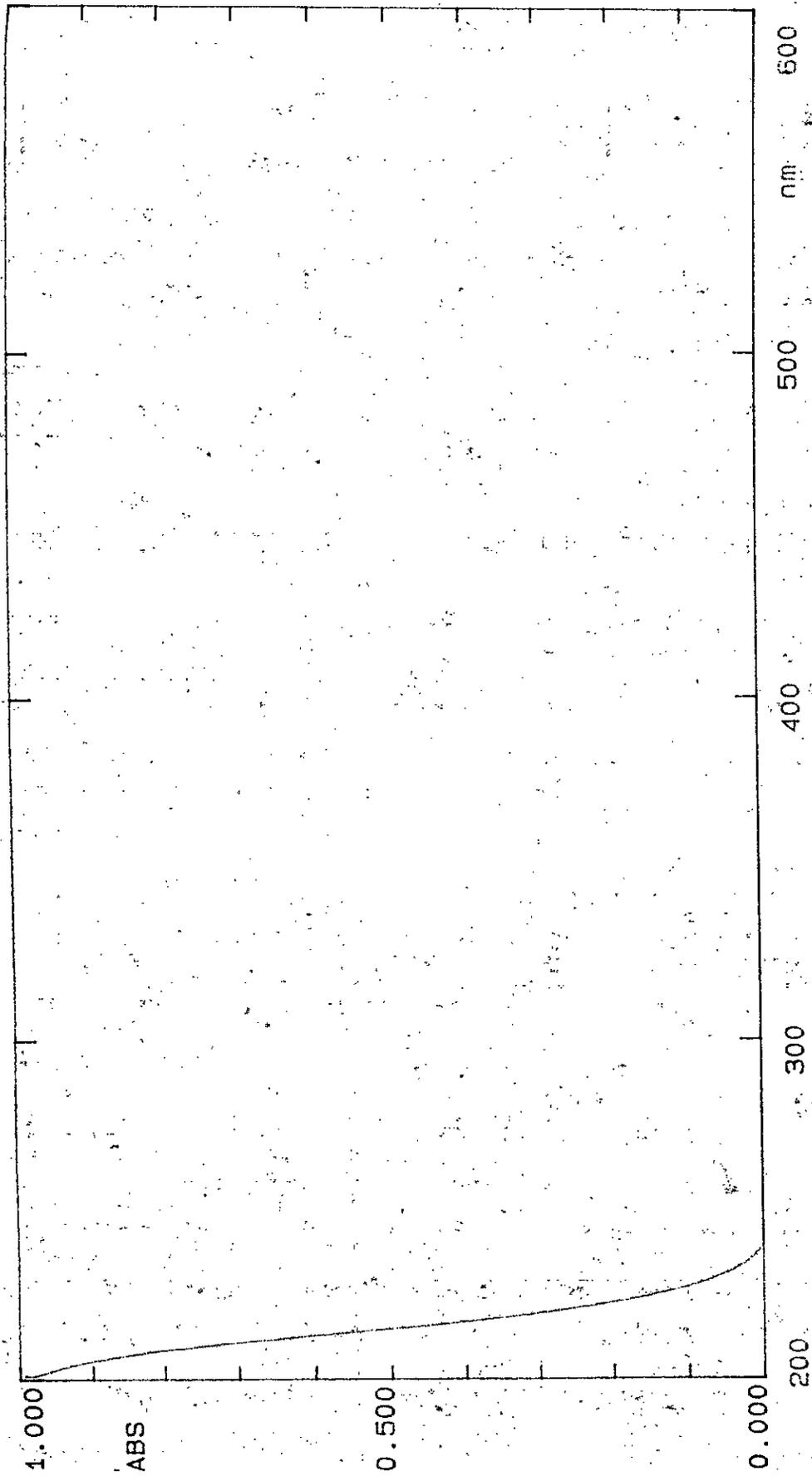
Data Int: 0.8nm

Speed : 2000 nm/

Method: SOLVANT: EAU DISTILLEE

Operator: BENKHOUF N.

PHILIPS ANALYTICAL PU 8710 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER



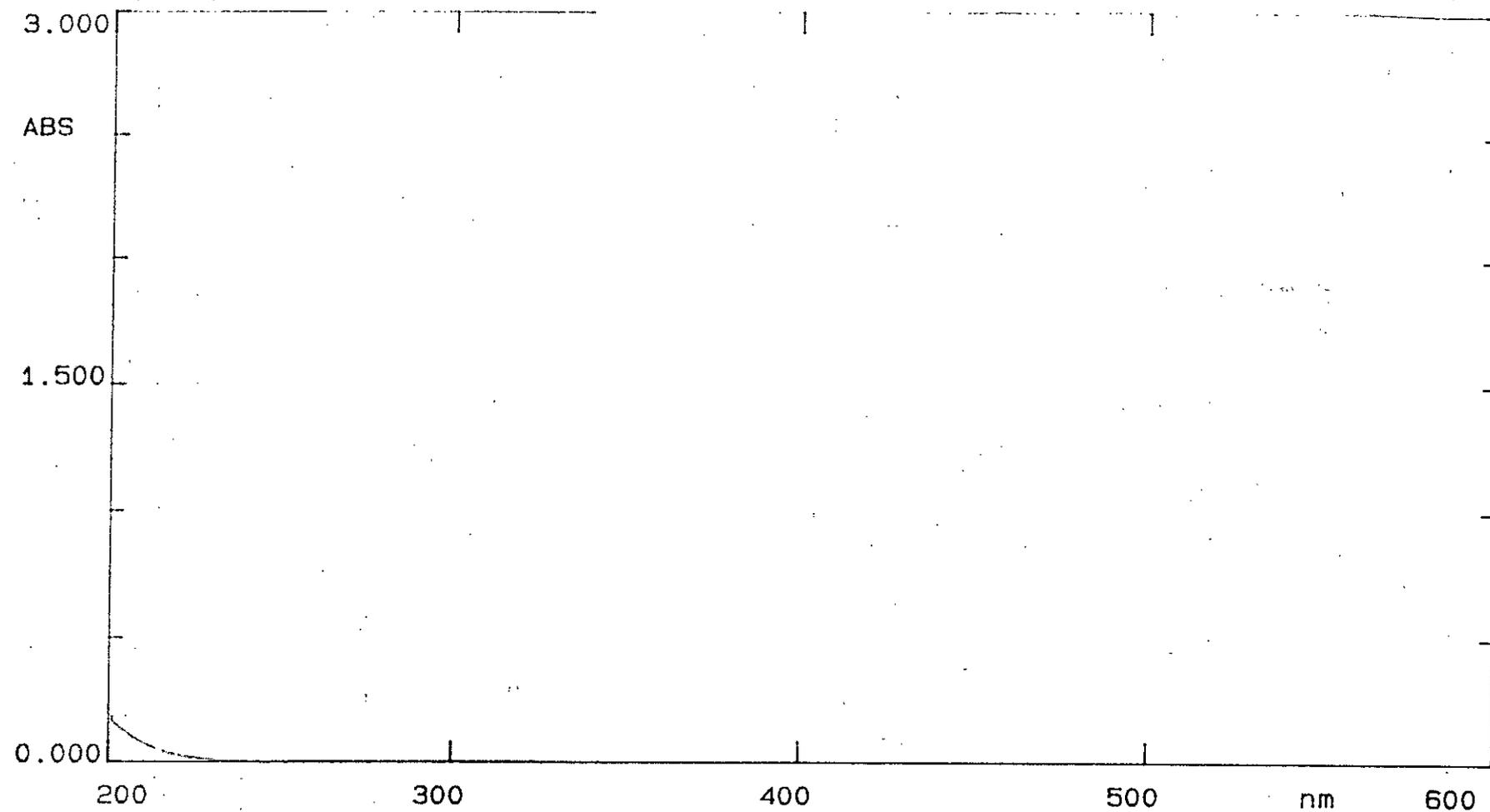
Filename: L-METHIONIN Scanned at: 08:43:41  
Bandwidth: 2.0 nm Data Int: 0.8nm

500 nm 500  
Speed: 2000 nm/

MEMO: SOLVANT: EAU DISTILLEE

Operator: BENKHOUF N.

PHILLIPS ANALYTICAL PU B710 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER



Filename: L-LYSINMONO-HCL

Scanned at: 10:08:34

Date: 29-06-93

Bandwidth: 2.0 nm

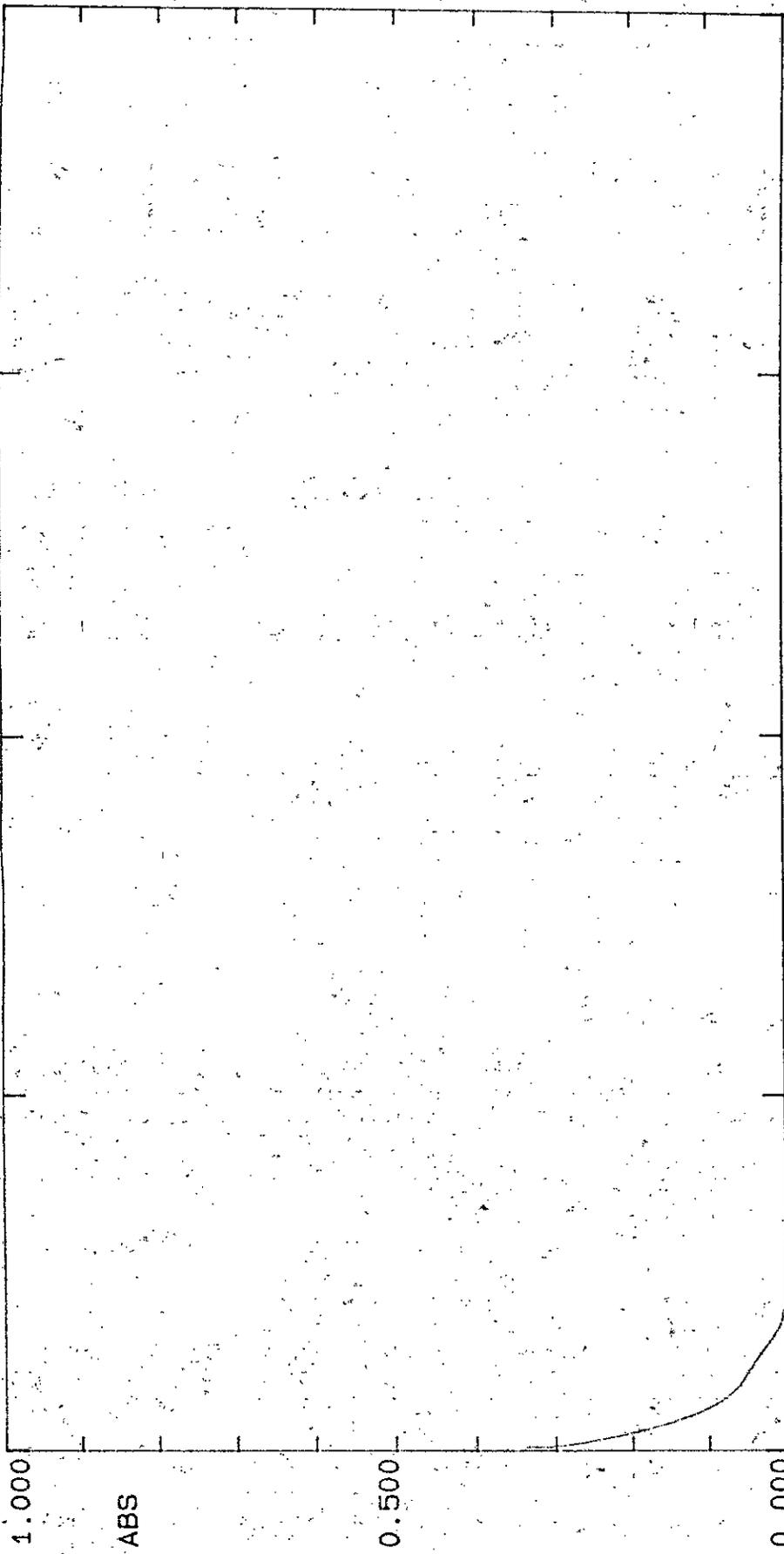
Data Int: 0.8nm

Speed: 2000 nm/

Memo: SOLV: H2O

Operator:

PHILIPP ANALYTICAL PH 8710 UV/VIS SPECTROPHOTOMETER

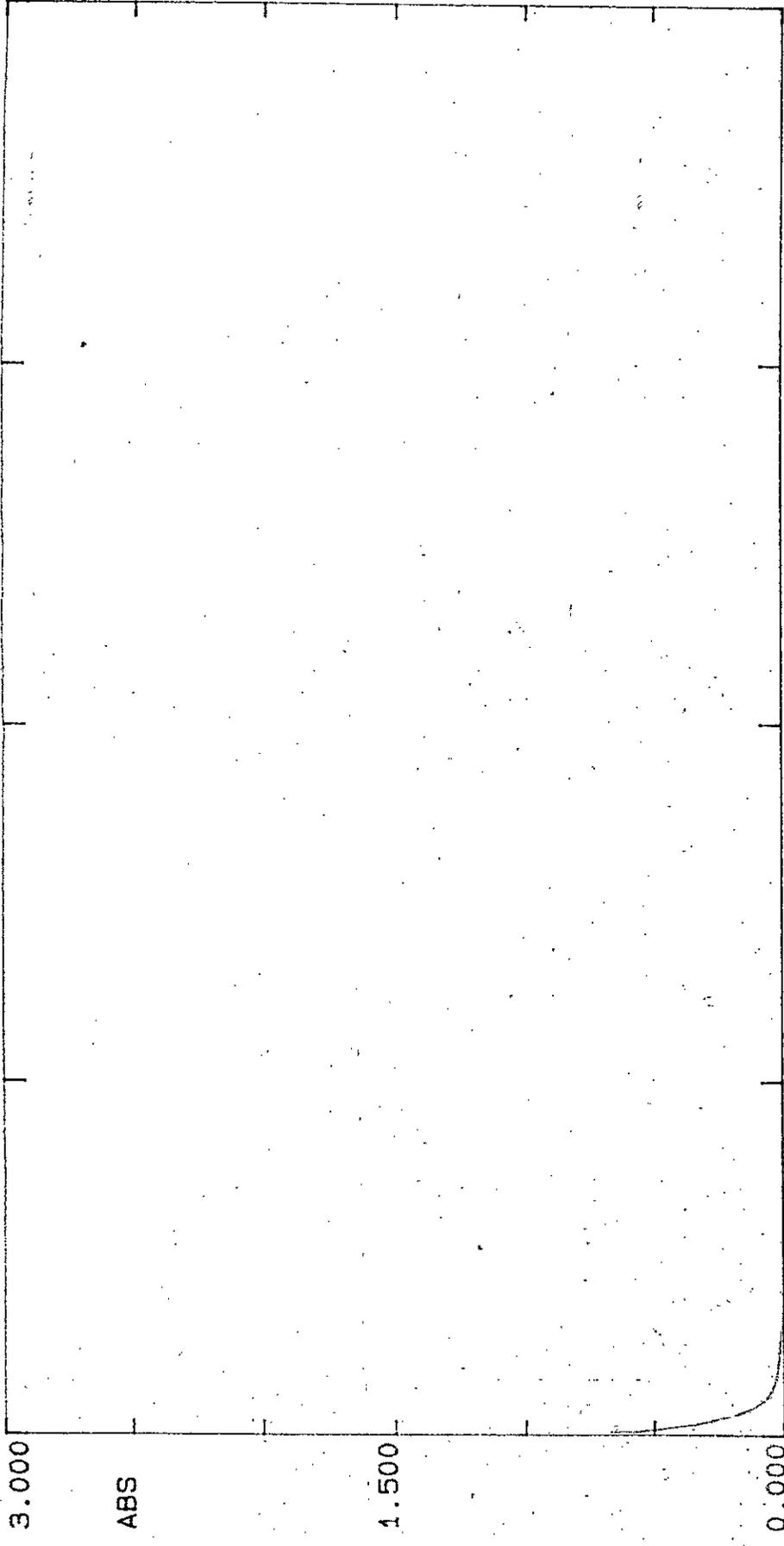


Filename: GLYCIN  
Bandwidth: 2.0 nm  
Scanned at: 09:04:09  
Date: 08-06-93  
Data Int: 0.8nm  
Speed : 2000 nm/

Memó:

Operator: RIAD/INSP

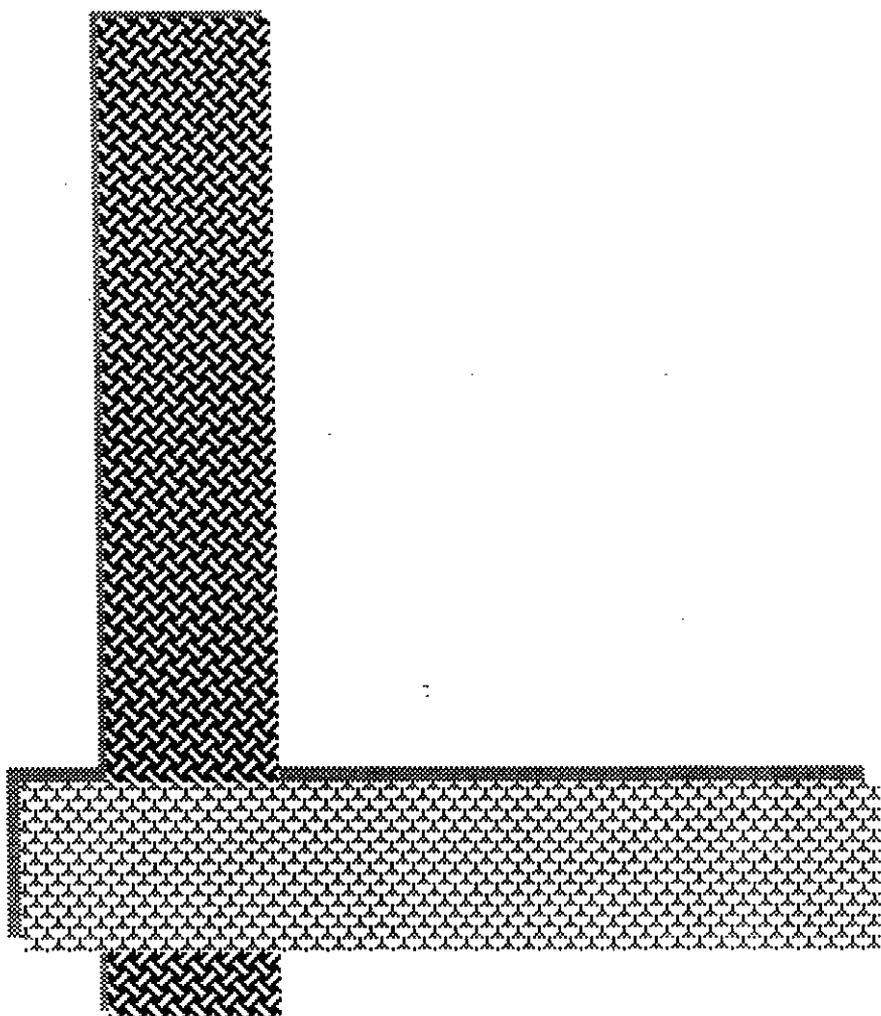
PHILIPS ANALYTICAL PU 8710 UV/VIS. SPECTROPHOTOMETER



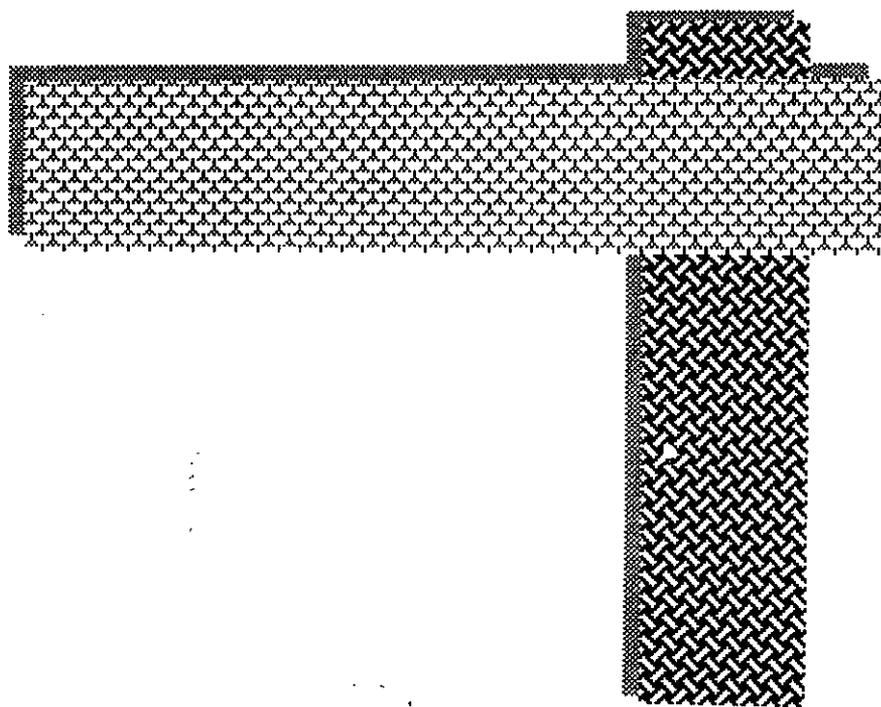
Filename: L-ARGININMONOHCL Scanned at: 10:16:03 Date: 29-06-93  
Bandwidth: 2.0 nm Data Int: 0.8nm Speed : 2000 nm/

Memo: SOLV: H2O

Operator:



BIBLIOGRAPHIE



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 01 V. N. GOLUBEV Et BENAMARA  
*"Méthodes d'épuration et de séparation à membranes des Acides aminés"*.  
Actualités des industries agro-alimentaires et  
agro-industrielle p.1075 1991
- 02 R. RUMEAU et M. MONFORT  
*"Purification et possibilités de séparation des Acides Aminés par électrodialyse"*.  
Analisis . Vol.16 ; N°4 ; p.221 1988
- 03 O. GAOUAR et S. FENNOUH  
*"Hydrolyse enzymatique des rejets de poissonnerie et ultrafiltration de la biomasse "*  
Memoire d'Ingeniorat (E.N.P) 1991
- 04 F. BOUDAH  
*"Etude comparative sur le comportement des acides aminés par C.P.G sur une série de phases stationnaires : les silicones O.V"*  
Thèse de Doctorat 3eme Cycle 1979
- 05 L. LEHNINGER  
*"Lehninger Biochimie"* Seconde édition p.82 1975
- 06 Cours de 4eme année Pr KERBACH  
*Méthodes physiques d'analyses.* 1990
- 07 A. AKKACHE  
*"Contribution de la Chromatographie en Phase Liquide à l'étude de la stabilité de la Vitamine A"*  
Thèse d'Ingéniorat - I.N.H 1992

- 08 Dj. BOUCHAFAA  
*"Etude du transport des ions sulfates et chlorures en Electro dialyse à 2 et 4 canaux"*  
 D.E.A RENNE 1991
- 09: A. MAUREL  
*"Déméralisation des eaux saumâtres par Electro dialyse"*  
 Document O.M.S
- 10 Association pour la promotion industrielle d'agriculture  
*"Les nouveaux procédés de séparation par membranes actives dans l'industrie alimentaire"*  
 1972
- 11 N. BELKOUS<sup>H</sup> et K. BENTALEB  
*"Contribution à l'échange d'ions par électrodialyse"*  
 Diplôme d'Ingenieur d'Etat en  
 Chimie Industrielle - U.S.T.H.B 1991
- 12 Dj. BOUCHAFAA et M. BENACHENHOU  
*"Réalisation et optimisation d'un module d'Electrodialyse"*  
 Thèse d'Ingenieur d'Etat en  
 Génie de l'Environnement - E.N.P 1990
- 13 A. BONNIN  
 Thechnique de l'Ingenieur
- 14  
*"Principe de Biochimie"*  
 L. LEHNINGER - 1ere édition 1989
- 15 C. GAVACH (CNRS)  
*"Demineratisation, extraction and separation of aminoacids by electro dialysis"*  
 5th World filtration Congress - Nice 1990
- 16 KARL BLAU  
*"Analysis of amino-acids by Gas Chromatography"*  
 Biomed. Appl. Gas Chromatogr.  
 Vol.2 , p.p : 1-52 1968

- 17 I. ABE et S. MUSTTA  
*"Capillary gas chromatography on easily prepared optically active stationary phases"*  
 Journal of Chromatography p.p:195-199 1986
- 18 Protein/Peptide purification for sequential analysis  
 Waters - Chemical Bulletin 82287/1 87 Sept.1981
- 19 J. C. HODGIN  
*"An automated device for in situ precolumn derivatization and injection of amino-acids for HPLC analysis"*  
 Chromatographic sciences; Vol.2, Nov. 1983
- 20 B. GREGO; MILTON T.W HERAN  
*"H.P.L.C of amino-acids peptides and proteines"*  
 Journal of Chromatography  
 Biomed application, 336: p.p:25-40 1984
- 21 H. RODRIGUEZ  
*"Automated on line identification of phenylthiohydantoin amino-acids from a vapor phases protein sequencer"*  
 Journal of chromatography 350; p.p: 217-225 1985
- 22 P.S.L. JANSEN ; J.W. VAN NISPEN ; P.A.T.A MELGERS  
*"HPLC analysis of (PTC) amino-acids. Evaluation and optimization of the procedure"*  
 Chromatographia; Vol.22; N°7-12 Dec.1986
- 23 H. GUILLOU ; G. MIRANDA et J.P. PELLISSIER  
*"Analyse quantitative des caseines dans le lait de vache par chromatographie liquide rapide d'échange d'ions"*  
 Le Lait; Vol.67; N°2; p.p:135-148 1987
- 24 J.L.GLAJEH et J.J. KIRKLAND  
*"Mobile phase optimisation in gradient-elution HPLC for the separation of the phenylhydantoin amino acids"*  
 Journal of chromatographic sciences  
 Vol.25 Janvier 1987
- 25 F. MOC  
*"Amino acids analysis with HPLC system 400"*  
 KONTRON Instruments

## RESUME 3

Il existe de nombreuses techniques de séparation des Acides Aminés . Actuellement, seules les méthodes par précipitation, Ultrafiltration et Chromatographie permettent la production de grandes quantités.

Il nous a semblé intéressant d'utiliser l'Electrodialyse pour effectuer la concentration des Acides Aminés.

Dans ce but, un Electrodialyseur de Laboratoire a été conçu et réalisé.

L'étude d'optimisation des performances hydrauliques et électriques, de l'appareil a révélé d'excellents résultats de séparation pour une vitesse de passage de 24,3m/s, une densité de courant de 11,6A/m<sup>2</sup> et une concentration initiale de 8g/l.

Les expériences suivantes viennent à exploiter les résultats précédents. Elles ont été réalisées sur des solutions de mélanges d'Acides Aminés amenées à différents pH.

La Chromatographie en Phase Liquide à haute performance est ensuite mise en oeuvre pour la quantification de la séparation.

De cette façon, nous avons pu mettre en évidence des possibilités de concentration d'Acides Aminés à partir de solutions portées à des pH proches de leur point isoélectrique.

## RESUME :

Il existe de nombreuses techniques de séparation des Acides Aminés. Actuellement, seules les méthodes par précipitation, Ultrafiltration et Chromatographie permettent la production de grandes quantités.

Il nous a semblé intéressant d'utiliser l'Electrodialyse pour effectuer la concentration des Acides Aminés.

Dans ce but, un Electrodialyseur de Laboratoire a été conçu et réalisé.

L'étude d'optimisation des performances hydrauliques et électriques, de l'appareil a révélé d'excellents résultats de séparation pour une vitesse de passage de 24,3m/s, une densité de courant de 11,6A/m<sup>2</sup> et une concentration initiale de 8g/l.

Les expériences suivantes viennent à exploiter les résultats précédents. Elles ont été réalisées sur des solutions de mélanges d'Acides Aminés amenées à différents pH.

La Chromatographie en Phase Liquide à haute performance est ensuite mise en oeuvre pour la quantification de la séparation.

De cette façon, nous avons pu mettre en évidence des possibilités de concentration d'Acides Aminés à partir de solutions portées à des pH proches de leur point isoélectrique.