

## Etude d'un fermenteur lactique à membranes

Extraction par ultrafiltration et électrodialyse  
du lactate de sodium contenu dans le jus de fermentation  
de lactose supplémenté

par

Y. PRIGENT et A. FRANCO\*

### Résumé

Il est possible d'extraire le lactate de sodium contenu dans le jus de fermentation de lactose supplémenté au moyen de la combinaison de deux procédés à membrane, l'ultrafiltration et l'électrodialyse. La pureté du produit ainsi préparé est satisfaisante.

En opération discontinue, le mélange de ferments choisis (*L. helveticus* + *S. thermophilus*) conduit à une vitesse d'acidification maximum de 5,28 g.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, et à une production maximale de 37,3 g.l<sup>-1</sup> (dont environ 40 % par un métabolisme de maintien).

Pour l'ultrafiltre à flux croisés travaillant sous des pressions de 0,37 à 0,45 bar, le débit de perméat est, de façon inattendue, élevé (42,5 g.mn<sup>-1</sup>) et pratiquement constant, même pour des jus très chargés en cellules (poids sec de 1,26 à 5,5 g.l<sup>-1</sup>).

En fonctionnement discontinu de l'électrodialyseur, optimisé par la méthode électrochimique, les flux de lactate et d'eau (électro-osmose) varient linéairement avec la densité de courant pour une concentration de lactate variant de 50 à 400 mM. Les concentrations critiques en lactate sont en bon accord avec les valeurs calculées à partir des coefficients globaux de transfert de masse.

Un modèle simplifié d'électrodialyseur continu avec recirculation a été élaboré et vérifié expérimentalement dans des conditions proches de celles calculées pour l'extraction de l'acide lactique produit par un fermenteur continu de deux litres.

---

\* C.N.R.S./E.N.S.C.R., avenue du Général-Leclerc - 35000 Rennes-Beaulieu.

Des travaux de modélisation analogues à ceux réalisés pour l'électrodialyse sont en cours pour la fermentation lactique continue, l'ultrafiltration, et pour le couplage fermenteur/ultrafiltre en boucle.

*Mots clés* : Membranes - Lactose - Séparation - Fermentation lactique - Ultrafiltration - Electrodialyse.

### Summary

*Sodium lactate can be easily extracted from supplemented lactose fermentation liquor by combining two membrane processes, ultrafiltration and electrodialysis, which may work continuously. The purity of the product prepared by this way is fairly good.*

*In batch process, the chosen ferment mixture (*L. helveticus* + *S. thermophilus*) results in a maximum acidification rate of 5,28 g.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, and a maximum production of 37,3 g.l<sup>-1</sup> (about 40 % by maintenance metabolism).*

*For the cross-flow ultrafilter working under pressures in the range 0,37-0,45 bar, the permeate rate flow is surprisingly high (42,5 g.mn<sup>-1</sup>) and nearly constant, even for high cell densities (dry weight : 1,26 to 5,5 g.l<sup>-1</sup>).*

*In batch operation, the electrodialyser, optimized by the electrochemical method, leads in lactate and electro-osmotic water fluxes varying in direct proportion to the current density for lactate concentrations in the range 50 to 400 mM. The observed lactate critical concentrations agree with the values calculated from the overall mass transfer coefficients.*

*A simplified model for continuous electrodialysis with recycling is developed, and experimentally checked under conditions closely related to the extraction of lactic acid from a two-liters continuous fermentor.*

*A similar work of modelization for a continuous lactic fermentor, a continuous ultrafilter and both systems associated in closed loop is in progress.*

*Key words*: Membranes - Lactose - Separation - Lactate - Lactic fermentation - Ultrafiltration - Electrodialysis.

### INTRODUCTION

Le développement rapide des industries fromagères françaises conduit à une production de plus en plus importante d'un sous-produit polluant, le lactosérum. Celui-ci, après extraction et valorisation de la fraction soluble des protéines, est essentiellement constitué d'un sucre fermentescible, le lactose, à la concentration d'environ 50 g/l.

La fermentation du lactose en acide lactique paraît être un moyen intéressant de valorisation du lactosérum, car il y aurait un vaste marché pour cet acide, en particulier dans l'industrie chimique de synthèse, si son coût de production pouvait être quelque peu réduit (Smith, Mc Bean et Cox, 1977).

Or, il se trouve que les éléments essentiels du coût de l'acide lactique de fermentation sont l'extraction du milieu réactionnel et la purification, qui demandent de nombreuses opérations (Smith, Mc Bean et Cox, 1977). De plus, une autre limitation du procédé classique de fermentation lactique provient de l'inhibition de la production d'acide par le métabolite accumulé (Luedeking et Piret, 1959).

Cette double constatation rend évidente la nécessité d'extraire l'acide lactique au fur et à mesure de sa production par un moyen de séparation continue.

Différents procédés mettant en jeu des séparations par membranes ont été essayés, et nous citerons à titre d'exemple les travaux suivants :

— l'extraction de l'anion lactate par électrodialyse directement sur le jus de fermentation conduit à un colmatage rapide des membranes échangeuses d'ions (Krumphanzl et Dyr, 1964). L'électrodialyse a par contre été utilisée avec succès pour la purification et la concentration d'acide lactique sur un jus de fermentation déféqué à la chaux (Jacquemet, 1970) ;

— la vitesse de production d'acide lactique a pu être considérablement augmentée en confinant les bactéries par une membrane de dialyse soit plane (Stieber et Gerhardt, 1981), soit en forme de fibre creuse (Vick Roy, Blanch et Wilke, 1982). Mais la dialyse reste un procédé de faible productivité, et l'acide sortant du dialyseur, bien que stérile, contient une bonne partie des éléments nutritifs non consommés ;

— enfin, de bons résultats ont été obtenus en fonctionnement discontinu par osmose inverse de solutions modèles et de jus de fermentation (Smith, Mc Bean et Cox, 1977). Mais la courte durée de ces essais (2 h) était insuffisante pour juger de la viabilité des cellules soumises à des sauts de pression répétés de 1 à 40 bars, et du colmatage des membranes par les suppléments nutritifs utilisés industriellement (sirop de maïs, etc.).

Au vu de ces résultats, il semble donc difficile d'extraire en continu l'acide lactique formé dans le fermenteur en n'utilisant qu'un seul procédé de séparation à membrane.

L'objectif du présent travail est de montrer que cela peut être par contre réalisé en combinant deux procédés à membranes :

— une étape d'ultrafiltration permet de séparer (et, éventuellement, de recycler) les bactéries, ainsi que les protéines et les débris cel-

lulaires : le perméat est ainsi débarrassé de toutes les macromolécules chargées pouvant encrasser les membranes échangeuses d'ions ;

— une étape d'électrodialyse sert à extraire du perméat le lactate de sodium, en laissant dans l'effluent des compartiments de dilution le lactose n'ayant pas réagi, que l'on peut recycler.

Nous allons tout d'abord présenter les résultats d'un cycle complet de travail en discontinu (fermentation, ultrafiltration et électrodialyse) afin de démontrer la faisabilité du procédé. Nous ferons ensuite le point des travaux effectués en vue de l'optimisation de chacune des trois opérations unitaires mises en jeu dans le procédé, qui a fait l'objet d'une demande de brevet (Prigent, 1983).

## MATERIEL ET METHODES UTILISES

### Fermentations

- Tous les ferments utilisés sont des ferments lyophilisés commerciaux. Les streptocoques ST33 à ensemencement direct ont été gracieusement fournis par la société Eurozyme ; les lactobacilles purs ou mélangés à des streptocoques ont été gracieusement fournis par la société Roger.

- Sauf précision contraire, le milieu contient initialement 4,86 % de lactose anhydre ; le supplément nutritif est constitué par 1,72 % (1,2 % sur sec) d'extrait de levure pour bactériologie Difco : ce supplément a été retenu pour les essais en dépit de son prix car il n'introduit aucune turbidité parasite dans le milieu, et permet donc de suivre par voie optique la croissance bactérienne.

- L'inoculum est préparé dans une cuve fermée de 100 ml thermostatée par jaquette à circulation et agitée magnétiquement à 600 T/min. Le pH est maintenu constant par un régulateur proportionnel actionnant une électrovanne branchée sur une burette graduée contenant de la soude 2 N.

- La fermentation est réalisée dans un réacteur fermé de 2 l de capacité utile, maintenu à température constante par immersion dans un bain thermostaté. Le couvercle du réacteur comporte un joint tournant au Téflon permettant le passage d'un axe muni d'une palette qui assure une agitation à la vitesse de 300 T/min. Le pH est maintenu constant par un régulateur proportionnel actionnant une pompe péristaltique (tube silicone  $\varnothing$  2mm) alimentée par une burette graduée de 600 ml contenant de la soude 2 N.

- La croissance bactérienne est suivie par mesure de l'absorbance à 500 nm en cuve de 1 cm (spectrophotomètre UV 25 Beckmann) après dilution convenable et correction pour l'absorbance du

milieu : pour les différentes espèces étudiées,  $A_{500}$  corrigée est une fonction linéaire du poids sec dans la domaine  $0 < A_{500} < 0,5$  au moins.

- Le poids sec est déterminé par filtration d'un échantillon de 50 à 100 ml sur membrane Durapore hydrophile de porosité  $0,45 \mu\text{m}$ , de diamètre 47 mm, et portant la référence HVLP (MILLIPORE). Les cellules sont lavées par 50 ml d'eau distillée sur filtre, séchées 16 h à  $105^\circ \text{C}$  et pesées après refroidissement en dessiccateur sous anhydride phosphorique.

- La production d'acide lactique est mesurée par le volume de soude 2 N consommée pour maintenir le milieu réactionnel à  $\text{pH} = 5,50$ .

### Ultrafiltration

- Les essais en statique sont réalisés dans une cellule modèle 400 (AMICON) munie d'une agitation magnétique, sous une pression d'azote de l'atmosphère. La membrane FS 81 PP (DDS) a un seuil nominal de coupure de 30 000, et une surface active de  $45,4 \text{ cm}^2$ .

- Les essais en dynamique sont menés dans une cellule à canal mince et à flux croisés, réalisée au moyen de 6 séparateurs de rétentat PSSPOOR et 5 séparateurs de filtrat PSSPOOF (MILLIPORE), intercalés alternativement entre 10 membranes IRIS 3038 A (Rhône-Poulenc) de seuil nominal de coupure 20 000, et de surface totale  $2\,300 \text{ cm}^2$ . Après serrage de l'ensemble entre deux flasques rigides, on mesure pour chaque canal une épaisseur de  $0,34 \text{ mm}$ . La circulation du rétentat est assurée par une pompe péristaltique Master-Flex (Cole-Parmer) équipée d'une tête débitant  $450 \text{ ml/min}$ . Deux manomètres mesurent la pression du rétentat à l'entrée et à la sortie de la cellule. La perte de charge dans la cellule est ajustée par une vanne à pointe, et le débit de rétentat est mesuré par un rotamètre de calibre  $25 \text{ l/h}$ .

### Electrodialyse

L'électrodialyseur fonctionne avec un écoulement en nappe. Les cadres séparateurs sont réalisés en grillage de polyéthylène moulé de maille  $1 \text{ mm}$  et d'épaisseur  $1,4 \text{ mm}$ , et sont munis en périphérie d'un joint en isoprène d'épaisseur  $1,5 \text{ mm}$  assurant à la fois la circulation et la distribution des fluides des circuits de concentration et de dilution (Makai et Turner, 1982). Chaque cellule mesure  $7,5 \times 13 \text{ cm}$ , et offre une surface utile de membrane de  $50 \text{ cm}^2$ . L'appareil est constitué par un empilement alterné de 11 membranes échangeuses de cations CMV et 10 membranes échangeuses d'anions AMV définissant 5 compartiments de dilution et 5 compartiments de concentration alternés. Les circuits de même type sont en parallèle hydrauliquement, et tous les circuits sont en série électriquement. A chaque extrémité de l'empilement se trouve une électrode de titane

platiné de 50 cm<sup>2</sup>, munie d'un circuit de rinçage d'électrode (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,2 M). Chacun des quatre circuits est alimenté en boucle fermée par un vase de charge de 1 litre, une pompe centrifuge à entraînement magnétique M6 (SIEBEC), et une vanne réglant le débit de fluide à 70 l/h. Les vases de charge des circuits de dilution et de concentration sont thermostatés par une jaquette à circulation, et le débit de chacun de ces fluides est contrôlé par un rotamètre de calibre 120 l/h ; le pH et la conductivité de la solution en cours de déminéralisation sont enregistrés en continu (pHmètre TS 60 et conductimètre CD 7 TACUSSEL, enregistreur SERVOTRACE PED SEFRAM). Dans ces conditions, les paramètres de fonctionnement pour un compartiment unitaire sont les suivants : épaisseur de canal  $e = 1,4$  mm, largeur = 55 mm, débit unitaire  $Q_v = 14$  l/h, vitesse moyenne du fluide  $\bar{u} = 0,05$  ms<sup>-1</sup> Nombre de Reynolds apparent  $Re = 140$ , perte de charge = 2,9 kPa, coefficient global de transfert de masse déterminé par la méthode électrochimique Winograd, Solan et Toren, 1973)  $\bar{k} = 1,95 \cdot 10^{-5}$  ms<sup>-1</sup>, nombre de Sherwood  $Sh = 130$ , épaisseur de la couche limite  $\delta = 21$  μm.

Pour une densité de courant de 20 mA/cm<sup>2</sup>, soit un courant total  $I = 1$  A, le flux total d'un ion monovalent serait, dans le cas d'un nombre de transport égal à l'unité, de 0,187 équivalent par heure.

### Techniques analytiques

- Dans les perméats d'ultrafiltration et les solutions modèles (mélanges d'acide lactique, de lactate de sodium et de lactose) soumis à l'électrodialyse, l'acide lactique total est déterminé par la mesure de l'absorbance à 425 nm du complexe lactate — Fe<sup>+++</sup> en milieu neutre (Ayroulet et Fournaud, 1979).

- Dans les solutions modèles, le lactose est mesuré par la méthode colorimétrique à l'orthotoluidine et à la thiourée à 630 nm (Desmaison et coll., 1970). L'analyse du lactose dans les jus de fermentation et dans les perméats correspondants est réalisée par colorimétrie à la méthylamine et à la soude à 520 nm (Malpress et Morrison, 1949).

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Démonstration de la faisabilité du procédé

La figure 1 montre la production exprimée en g/l d'acide lactique pour 700 ml de lactose à 5,38 % supplémenté comme indiqué en matériel et méthodes.

L'inoculum de 100 ml a été préparé par deux repiquages de la souche mixte *L. Helveticus* + *S. Termophilus* (mélange ROGER H.A)

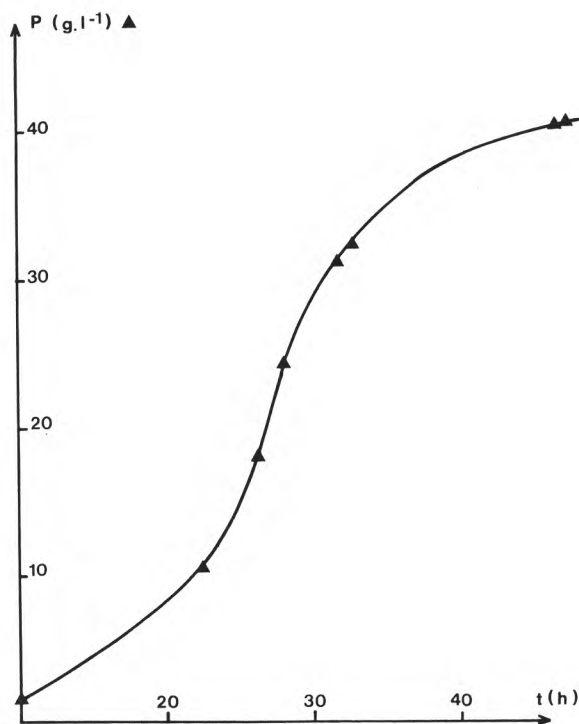


fig. 1

Production d'acide lactique par *L. helveticus* + *S. thermophilus* à partir d'une solution de lactose à 5,38 % supplémentée avec 1,72 % d'extrait de levure, à 46° C et pH = 5,5.

*Lactic acid production by L. helveticus + S. thermophilus from a 5,38 % lactose solution supplemented by 1,72 % yeast extract, at 46° C and pH = 5,5.*

dans le même milieu ; son absorbance à 500 nm est de 2,73 (poids sec = 0,45 g/l). La fermentation est arrêtée au bout de 48,5 h, et le volume final du milieu est de 890 ml (concentration de la soude ajoutée : 4,46 M).

La vitesse d'acidification maximum est observée au bout de 27,5 h, et vaut 3,5 g l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, tandis que l'acidification maximale, obtenue au bout de 48,5 h, vaut 40,5 g l<sup>-1</sup>. L'analyse du milieu donne les résultats suivants exprimés en mmol l<sup>-1</sup> :

	Inoculum	Milieu initial	Milieu final
Lactose	140	161	3,4
Lactate	63,5	7,9	451



Le rendement de transformation du lactose en acide lactique est donc de 78,2 %, et la vitesse moyenne de production de 0,835 g l<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>.

La figure 2 montre les résultats de l'ultrafiltration en statique d'une charge de 375 g du jus de fermentation sous une pression de 1 bar, et avec agitation magnétique. On a ainsi obtenu 300 g de perméat avec un flux de 44 g h<sup>-1</sup> (9 kg h<sup>-1</sup>m<sup>-2</sup>bar<sup>-1</sup>), soit un peu plus du tiers du flux en eau observé dans les mêmes conditions (128 g h<sup>-1</sup>, soit 28 kg h<sup>-1</sup>m<sup>-2</sup>bar<sup>-1</sup>). Ce résultat assez satisfaisant dissipe donc les craintes que l'on pouvait avoir d'un colmatage important de la membrane par les débris membranaires et des macromolécules chargées libérées par la lyse cellulaire. Qui plus est, il semble même que les cellules intactes jouent le rôle de promoteur de filtration.

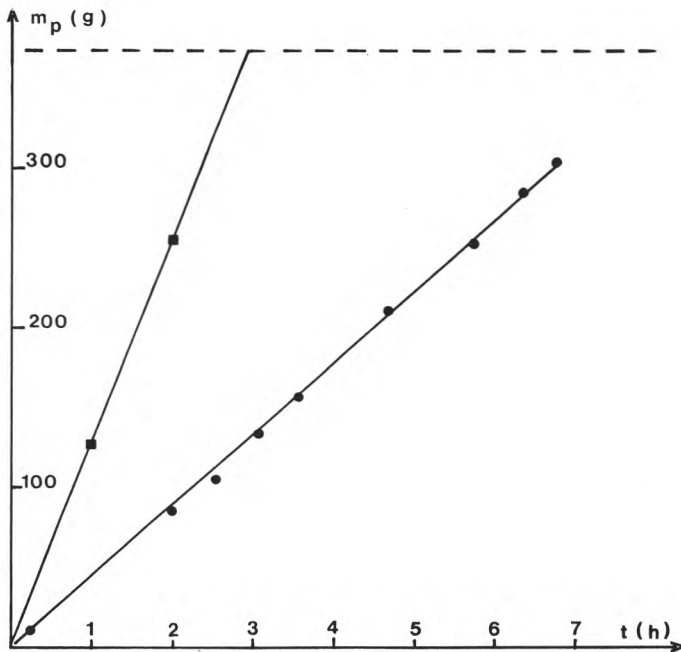


fig. 2

Flux de perméat lors de l'ultrafiltration du jus de fermentation (fig. 1) en cellule statique. Pression : 1 bar, membrane : FS 81 PP (45,4 cm<sup>2</sup>), charge : 375 g.  
 ■ eau ; ● jus de fermentation.

Permeate rate of flow during the ultrafiltration of the fermentation mash (fig. 1) in a static cell. Pressure: 1 bar, membrane: FS 81 PP (45,4 cm<sup>2</sup>), feed: 375 g.  
 ■ water; ● fermentation mash.



Le reste du jus de fermentation a été chargé en deux fois par dessus le rétentat de la première opération, ce qui conduit, après les prélèvements pour analyses, à 770 ml de perméat qui sont chargés dans le compartiment de dilution D de l'électrodialyseur. Le compartiment de concentration C contient initialement 1 litre de lactate de sodium 50 mM.

La figure 3 montre les variations de concentration en lactate observées en C et en D pour une densité de courant de 20 mA/cm<sup>2</sup>, ainsi que la variation du pH en D. L'expérience a été arrêtée au bout

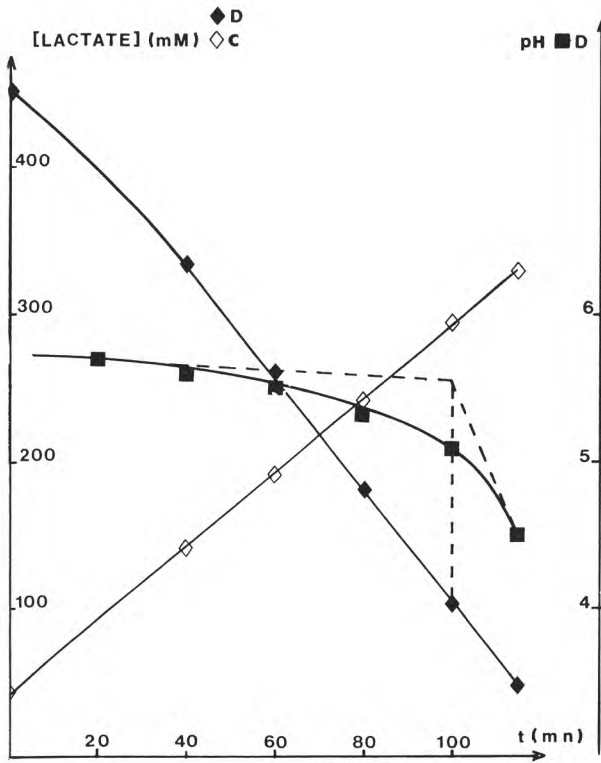


fig. 3

Electrodialyse du perméat (fig. 2) à la densité de courant de 20 mA/cm<sup>2</sup>.

- ◆ concentration en lactate dans le diluat ;
- pH du diluat ;
- ◇ concentration en lactate dans le concentrat.

Electrodialysis of the permeate (fig. 2) at 20 mA/cm<sup>2</sup> current density.

- ◆ lactate concentration of the diluate;
- pH of the diluate ;
- ◇ lactate concentration of the concentrate.



Pour toutes les espèces testées, réputées hautement acidifiantes, les meilleurs résultats ont été obtenus, pour un premier ensemencement, de l'ordre de 150 mg de ferment lyophilisé pour 100 ml de milieu. Les repiquages suivants ont été réalisés par 5 % de culture en fin de phase exponentielle et d'absorbance  $A_{500}$  de l'ordre de 10.

Les performances des différentes espèces testées sont comparées dans le tableau 1, tandis que les cinétiques de croissance et de production sont illustrées par les figures 4 à 7.

TABLEAU 1 — TABLE 1

Comparaison de quelques ferments lactiques

S :	nature de la souche.
$t_{11}$ :	temps de latence au premier ensemencement (h).
$\mu_{max}$ :	constante spécifique maximum de croissance ( $h^{-1}$ ).
$(dP/dt)_{max}$ :	vitesse d'acidification maximale ( $g.l^{-1}.h^{-1}$ ).
$P_{max}$ :	concentration maximale en acide lactique ( $g.l^{-1}$ ).
$Y_{P/S}$ :	rendement de transformation du lactose en acide lactique.

*Comparison of some lactic ferments*

S :	<i>strain.</i>
$t_{11}$ :	<i>lag time for the first inoculation (h).</i>
$\mu_{max}$ :	<i>maximum specific growth rate (<math>h^{-1}</math>).</i>
$(dP/dt)_{max}$ :	<i>maximum acid production rate (<math>g.l^{-1}.h^{-1}</math>).</i>
$P_{max}$ :	<i>maximum lactic acid concentration (<math>g.l^{-1}</math>).</i>
$Y_{P/S}$ :	<i>lactic acid yield.</i>

S	$t_1$	$\mu_{max}$	$dP/dt \text{ max}$	P max	Y P/S
Streptococcus ST 33	0	0,53	4,17	17,9	37
Lactobacillus YDF 1	15	0,32	3,39	16,9	35
ST 33 + YDF 1	2	0,42	3,66	17,2	35
L. Helveticus + S. Thermophilus	10	0,84	5,28	37,3	77

Le streptocoque ST 33 pour ensemencement direct, dont le temps de latence est pratiquement nul, a une production presque totalement liée à la croissance, et le rendement de transformation du lactose est faible (fig. 4). Nous n'avons donc pas retenu cette espèce, en dépit de sa bonne vitesse d'acidification. Pour le Lactobacille YDF 1, on observe une vitesse d'acidification maximum et un rendement

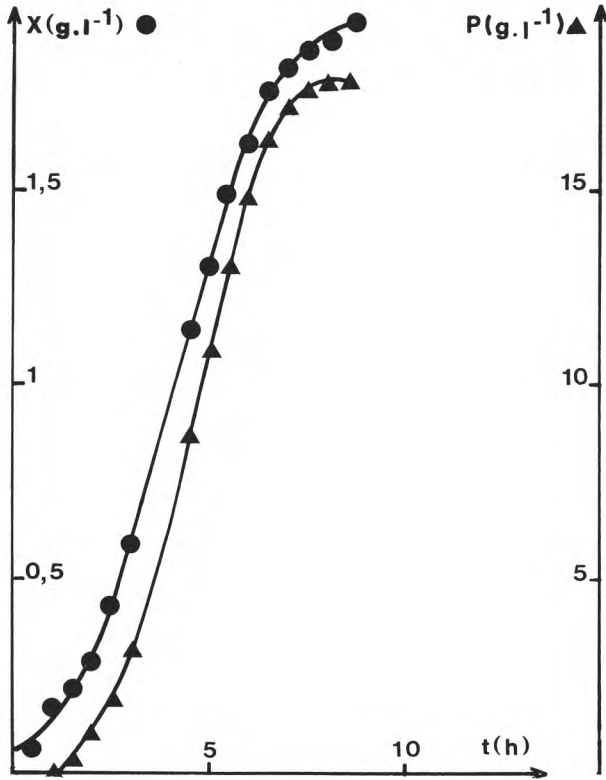


fig. 4

Fermentation de lactose à 4,86 % supplémenté par 1,72 % d'extrait de levure, à 46° C et pH = 5,5.

X = poids sec ; P = concentration en acide lactique.  
*Streptococcus ST 33.*

Fermentation of a 4,86 % lactose solution supplemented with 1,72 % yeast extract, at 46° C and pH = 5,5.

X = dry weight; P = lactic acid concentration.  
*Streptococcus ST 33*

un peu plus faible que pour le ST 33, mais il apparaît une petite production par mécanisme de maintien (fig. 5).

Le fait de mélanger ST 33 et YDF 1 n'améliore de façon sensible que le temps de latence (fig. 6). Comme le montre la comparaison des figures 1 et 7, les performances du mélange *L. helveticus* + *S. thermophilus* (mélange H.A) ont été nettement améliorées par un choix judicieux de niveaux d'ensemencement : en particulier, la vitesse d'acidification passe de 3,5 à 5,28 g l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, et 40 % de

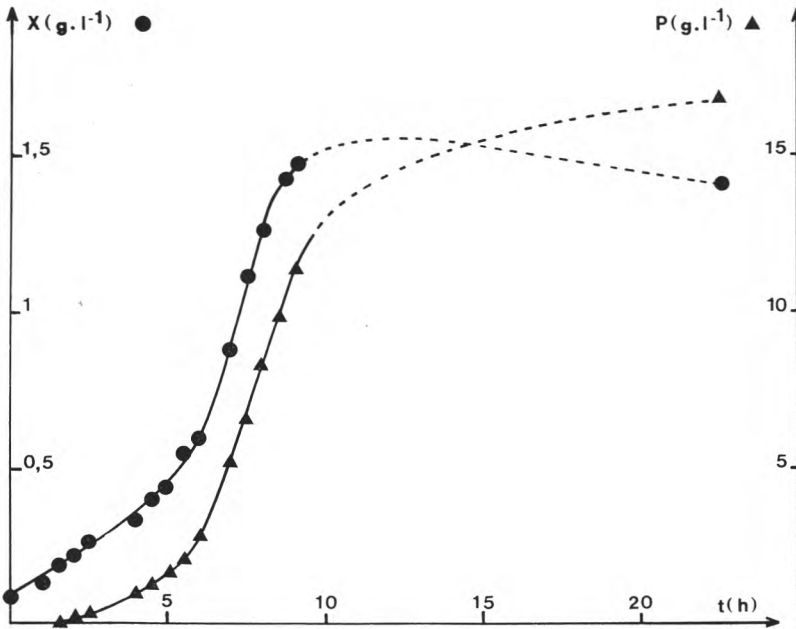


fig. 5

Fermentation de lactose à 4,86 % supplémenté par 1,72 % d'extrait de levure, à 46° C et pH = 5,5.

X = poids sec ; P = concentration en acide lactique.  
*Lactobacillus YDF 1*

*Fermentation of a 4,86 % lactose solution supplemented with 1,72 % yeast extract, at 46° C and pH = 5,5.*

X = dry weight; P = lactic acid concentration.  
*Lactobacillus YDF 1*

la production d'acide lactique est réalisée par un mécanisme de maintien : il en résulte un bon rendement d'utilisation du lactose pour la production (77 %). Ce mélange semble donc le mieux approprié pour la production d'acide lactique en bioréacteur à membrane ; nous l'avons retenu pour les essais en cours.

### 3. Amélioration de l'ultrafiltration

Les résultats de la figure 8 ont été obtenus par ultrafiltration de 1 litre (1 080 g) de jus obtenu dans l'expérience de fermentation décrite par la figure 7, au moyen de l'ultrafiltre dynamique utilisé en concentration de cellules (le rétentat étant remélangé avec la charge). Pendant toute la durée de l'expérience, le débit de rétentat

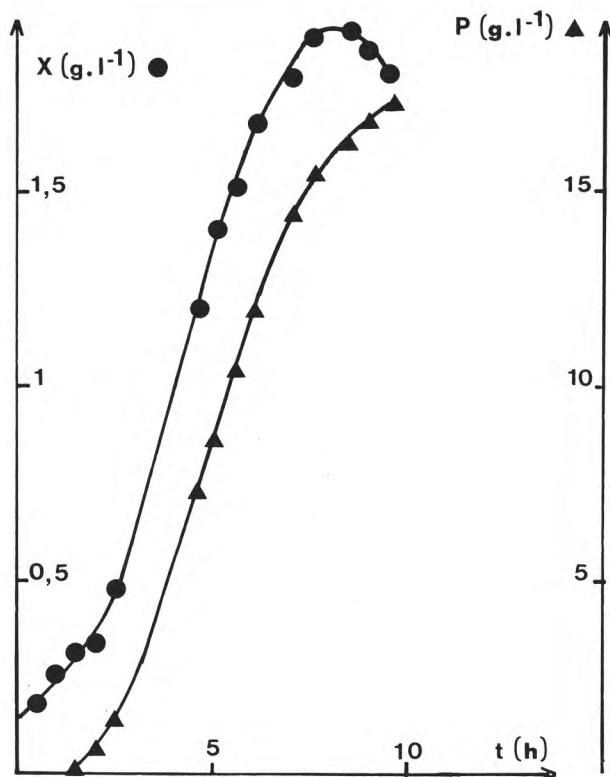


fig. 6

Fermentation de lactose à 4,86 % supplémenté par 1,72 % d'extrait de levure, à 46° C et pH = 5,5.

X = poids sec ; P = concentration en acide lactique.  
ST 33 + YDF 1

*Fermentation of a 4,86 % lactose solution supplemented with 1,72 % yeast extract, at 46° C and pH = 5,5.*

*X = dry weight; P = lactic acid concentration.  
ST 33 + YDF 1*

s'est maintenu dans la zone 407-412 ml.min<sup>-1</sup>, et sa pression en sortie de l'appareil était égale à la pression atmosphérique (vanne de sortie complètement ouverte). Dans ces conditions, la perte de charge observée pour le rétentat était pendant les quinze premières minutes de l'expérience de 0,37 bar, et montait progressivement jusqu'à 0,45 bar pendant les cinq dernières minutes : cette variation de perte de charge est due à l'augmentation de viscosité du rétentat, pour lequel le poids sec varie de 1,26 à 5,5 g l<sup>-1</sup> pendant l'expérience.

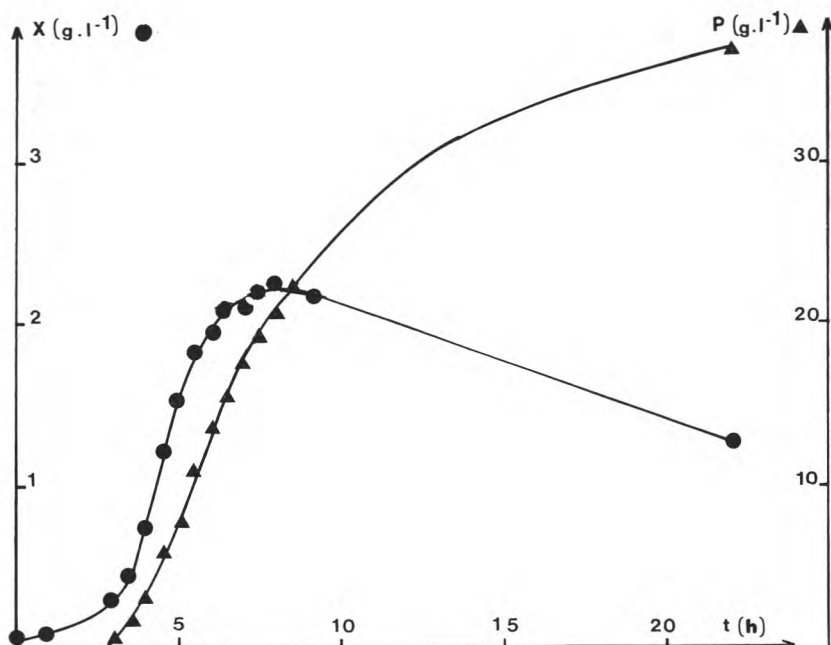


fig. 7

Fermentation de lactose à 4,86 % supplémenté par 1,72 % d'extrait de levure, à 46° C et pH = 5,5.

X = poids sec ; P = concentration en acide lactique.

*L. helveticus* + *S. thermophilus*

Fermentation of a 4,86 % lactose solution supplemented with 1,72 % yeast extract, at 46° C and pH = 5,5.

X = dry weight; P = lactic acid concentration.

*L. helveticus* + *S. thermophilus*

La légère augmentation de débit de perméat en fin d'expérience montre bien l'aptitude de l'appareil à ultrafiltrer des solutions très chargées, et, dans une certaine limite, les possibilités d'autorégulation du circuit : quand la viscosité du rétentat augmente, la perte de charge augmente aussi, ce qui tend à compenser la baisse attendue du débit de perméat.

La moyenne du débit en perméat sur toute la durée de l'expérience s'établit à 42,5 g.min<sup>-1</sup>. Si l'on prend pour différence de pression efficace la moitié de la valeur moyenne de la perte de charge, soit P = 0,2 bar, le débit normalisé en rétentat vaut 55 kg.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>. bar<sup>-1</sup>, soit une amélioration des performances dans un rapport 6 par rapport à la cellule statique. Il faut enfin noter que l'ultrafiltre opérant dans les conditions décrites plus haut a un débit de perméat



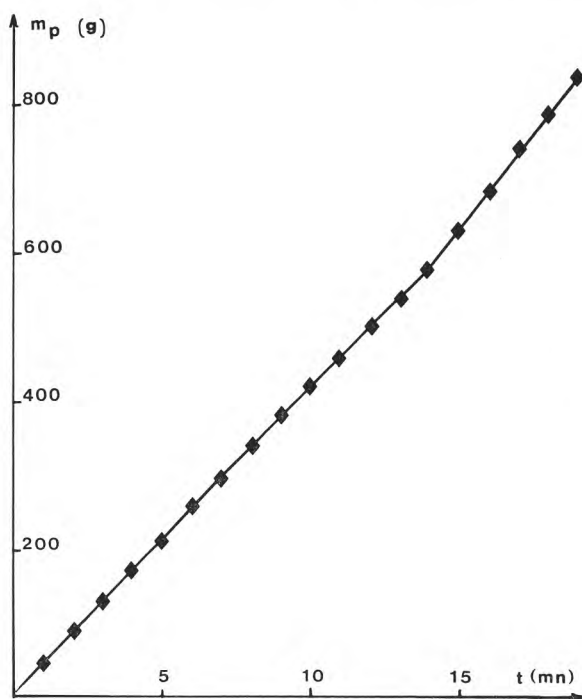


fig. 8

Flux de perméat lors de l'ultrafiltration du jus de fermentation (fig. 7) en cellule dynamique. Pression : 0,35-0,47 bar ; membrane : IRIS 3038 A (2 300 cm<sup>2</sup>) ; débit de rétentat : 407-412 ml/min ; charge : 1 080 g.

*Permeate rate of flow during the cross-flow ultrafiltration of the fermentation mash (fig. 7). Pressure : 0,37-0,45 bar; membrane: IRIS 3038 A (2 300 cm<sup>2</sup>); retentate rate of flow: 407-412 ml/min; feed: 1 080 g.*

suffisant (42,5 g.min<sup>-1</sup>) pour maintenir à volume constant un fermenteur continu de volume utile 2 litres ayant une production de 5,3 g.l<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> d'acide lactique : un tel fermenteur produit 10,6 g d'acide lactique par heure, soit 0,112 mole.h<sup>-1</sup>, ce qui nécessite un débit de soude 2 N de 56 ml.h<sup>-1</sup> ; si l'on fait fonctionner ce fermenteur avec un taux de dilution de 1 (en pratique, ce taux est plutôt de l'ordre de 0,6), le débit de milieu doit être de 2 000 ml.h<sup>-1</sup>, soit un débit total en entrée de 2 056 ml.h<sup>-1</sup>, ou encore 34 ml.min<sup>-1</sup>.

#### 4. Amélioration de l'électrodialyse : passage au fonctionnement continu

Comme le montre la figure 3, le flux de l'anion lactate reste bien constant et égal à 0,162 mole.h<sup>-1</sup> (compte tenu de l'électro-

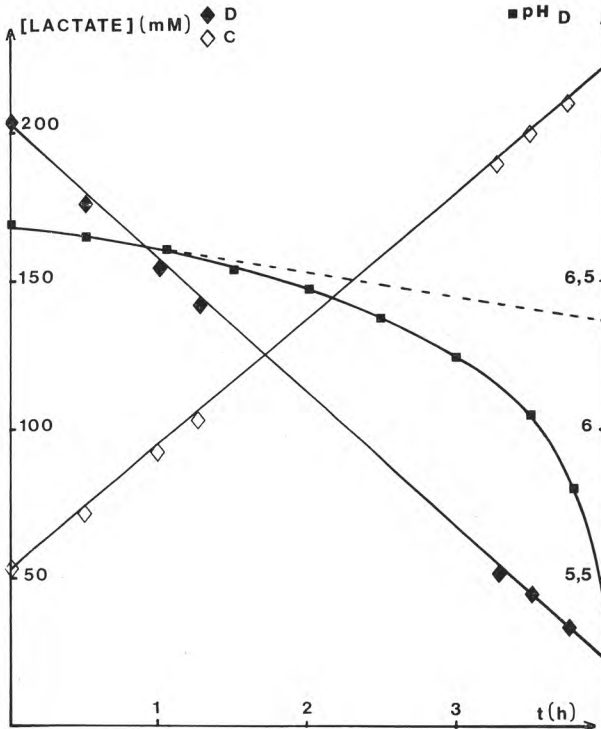


fig. 9

Electrodialyse d'une solution de lactate de sodium 200 mM à la densité de courant 5 mA/cm<sup>2</sup>. Symboles : comme fig. 3.

*Electrodialysis of a 200 mM sodium lactate solution at 5 mA/cm<sup>2</sup> current density. Symbols: as in fig. 3.*

osmose) pour une densité de courant de 20 mA.cm<sup>-2</sup> et ce, sur une gamme de concentration allant de plus de 400 à moins de 50 mM. Ce flux est largement suffisant pour absorber la production de notre réacteur de 2 litres fonctionnant en continu (0,112 mole.h<sup>-1</sup>) si bien qu'il sera possible de travailler à une densité de courant plus faible (de l'ordre de 15 mA/cm<sup>2</sup>) pour réduire la valeur de la concentration critique dans le compartiment de dilution.

Le moment d'apparition du régime critique est donné par le point d'intersection des asymptotes de la courbe pH = f(t) (Clifton, 1980).

Sur la figure 3, la concentration critique ainsi déterminée vaut de l'ordre de 100 mM, tandis que l'on trouve à partir du coefficient

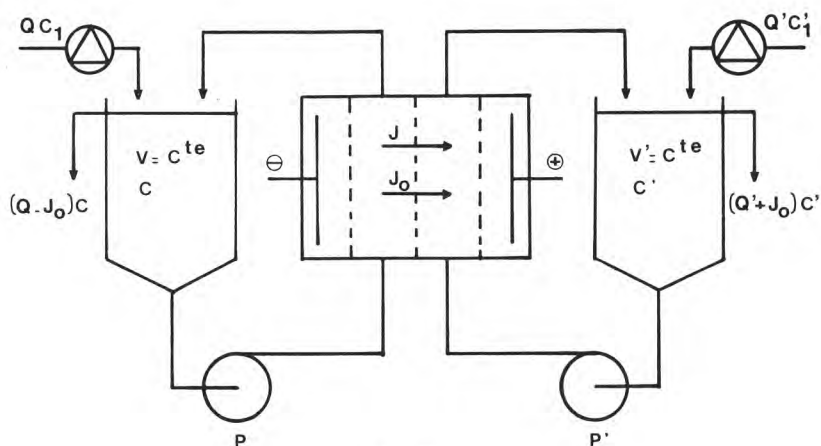


fig. 10

Représentation simplifiée de l'électrodialyseur continu à recirculation.  
*J* : flux de lactate ; *J*<sub>0</sub> : flux électro-osmotique d'eau.

*Simplified diagramm of the continuous electrolyzer with recirculation.*  
*J*: lactate flux; *J*<sub>0</sub>: electro-osmotic water flux.

global de transfert de masse, mesuré indépendamment par la méthode électrochimique ( $k = 1,95 \cdot 10^{-5} \text{ms}^{-1}$ ) :

$$C_{\text{crit}} = \frac{I_{\text{crit}}}{nF\bar{k}S} = 106 \text{ mol.m}^{-3} = 106 \text{ mM.}$$

Pour une densité de courant de 5 mA/cm<sup>2</sup>, la figure 9 montre que la concentration critique est de l'ordre de 25 mM, c'est-à-dire quatre fois plus petite que celle observée pour une densité de courant de 20 mA/cm<sup>2</sup>.

Les points expérimentaux se placent bien sur les droites calculées pour un flux de lactate de 0,045 éq.h<sup>-1</sup> et un flux d'eau de 0,013 l.h<sup>-1</sup>, soit des valeurs peu différentes du quart de celles observées (fig. 3) pour la densité de courant de 20 mA/cm<sup>2</sup>.

On peut donc conclure de ces essais que, aux erreurs d'expérience près, les flux de lactate et d'eau sont proportionnels à la densité de courant dans le domaine que nous avons exploré.

Ces résultats nous ont permis d'élaborer un modèle pour un électrodialyseur destiné à l'extraction en continu de l'ion lactate, dont la figure 10 donne une représentation schématique (on a en particulier omis de représenter les circuits de rinçage d'électrodes). Les hypothèses admises sont les suivantes :

1. Les deux bacs tampons travaillent à volume constant.

2. Le débit des pompes de recirculation P et P' est suffisamment grand pour que les deux bacs soient parfaitement agités, et que le temps de séjour dans l'électrodialyseur soit petit devant le temps de séjour dans les bacs.

3. L'électrodialyseur fonctionne à courant constant, et donc à flux de lactate J et à flux d'eau  $J_0$  constants.

4. Les débits Q et Q', ainsi que les concentrations  $C_1$  et  $C_1'$  des charges sont constants.

Dans ces conditions, pendant l'intervalle de temps dt, le bilan différentiel dans le compartiment de gauche s'écrit :

$$VdC = QC_1dt - (Q - J_0) Cdt - Jdt \quad (1).$$

Cette équation a pour solution :

$$C = \frac{QC_1 - J}{Q - J_0} + \left( C_0 - \frac{QC_1 - J}{Q - J_0} \right) e^{-\frac{Q - J_0}{V} \cdot t} \quad (2)$$

Dans le compartiment de droite, il suffit de changer les signes de J et  $j_0$ , et de remplacer Q, C et  $C_1$  par leurs homologues :

$$C' = \frac{Q'C_1 + J}{Q' + J_0} + \left( C'_0 - \frac{Q'C_1 + J}{Q' + J_0} \right) e^{-\frac{Q' + J_0}{V'} \cdot t} \quad (3).$$

Ce modèle a été testé dans les conditions expérimentales suivantes :

$$V = V' = 1 \text{ litre}$$

$$C_0 = 313 \text{ mM}, C'_0 = 104 \text{ mM}$$

$$C_1 = 270 \text{ mM}, C'_1 = 74 \text{ mM}$$

$$Q = 0,996 \text{ l.h}^{-1}, Q' = 0,576 \text{ l.h}^{-1}$$

$$I = 1 \text{ A.}$$

Ces valeurs portées dans les équations (2) et (3), en prenant pour J et  $J_0$  les valeurs de 0,18  $\text{ég.h}^{-1}$  et 0,047  $\text{l.h}^{-1}$  déterminées en discontinu, donnent pour l'évolution de C et C' en fonction du temps les courbes en traits pleins (fig. 11).

On remarque que les concentrations déterminées expérimentalement sont en bon accord avec les valeurs calculées, ce qui justifie les hypothèses faites pour l'élaboration du modèle (fig. 11).

L'exemple choisi pour le test du modèle correspond bien au traitement d'un fermenteur à membrane de 2 litres produisant de l'acide lactique dans les conditions précisées plus haut. On voit donc que, dans ce cas réel, le temps nécessaire pour arriver au régime permanent de l'électrodialyseur est de l'ordre de 5 à 6 h. Ce temps d'établissement de l'état permanent peut être réduit en diminuant le

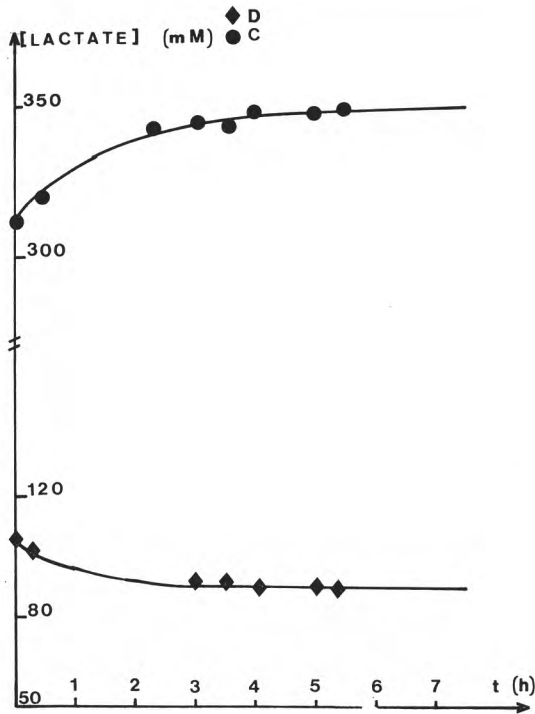


fig. 11

Test du modèle d'électrodialyseur continu à recirculation en régime transitoire et en régime quasi-stationnaire.

- ◆ concentration du lactate dans le diluat ;
- concentration du lactate dans le concentrat.

*Test of the model for the continuous electrodyalyzer with recycling in the transient and steady states.*

- ◆ lactate concentration in the diluate;
- lactate concentration in the concentrate.

volume  $V$  et  $V'$  des bacs tampons ; mais cela se fait au détriment de la sécurité de fonctionnement de l'ensemble.

## CONCLUSION

Les résultats exposés plus haut montrent qu'il est possible de préparer par fermentation du lactose du lactate de sodium de bonne pureté au moyen de deux procédés à membrane (ultrafiltration et électrodialyse) en discontinu ; même pour une grande densité cellulaire, l'ultrafiltration permet de séparer dans de bonnes conditions

les cellules entières et les débris provenant de la lyse, qui sont éventuellement recyclables dans le fermenteur, et conduit à un perméat contenant le lactate de sodium formé, ainsi que le lactose, ses produits d'hydrolyse et une partie des suppléments nutritifs non consommés. L'étape d'électrodialyse permet de séparer et de concentrer un lactate de sodium de bonne pureté, en laissant un diluat qui contient les sucres et une forte proportion des suppléments nutritifs non consommés : ces produits peuvent aussi être recyclés dans le fermenteur.

Les essais préliminaires ont permis de choisir un mélange de bactéries ayant une bonne vitesse d'acidification, avec une contribution importante d'un mécanisme de maintien dans la production, ce qui est important pour le travail en cellules confinées. Ces bactéries transforment le lactose en acide lactique avec un bon rendement.

A l'aide de ces résultats, on a pu dimensionner l'ultrafiltre et l'électrodialyseur de manière à ce qu'ils puissent absorber, avec une marge de sécurité convenable, la production d'un fermenteur en continu de deux litres.

Les valeurs de flux en ion lactate et en eau tirées des expériences d'électrodialyse en discontinu aussi bien sur des solutions modèles que sur des jus de fermentation ultrafiltrés ont été introduites dans les équations élaborées pour décrire un électrodialyseur en continu. Les concentrations en lactate calculées dans le diluat et le concentrat sont en bon accord avec les valeurs mesurées.

Des travaux de modélisation analogues à ceux réalisés pour l'électrodialyse sont en cours pour la fermentation continue, l'ultrafiltration, et pour le couplage fermenteur/ultrafiltre associés en boucle.

En ce qui concerne la fermentation lactique, les travaux en cours portent sur la substitution de l'extrait de levure par une source d'azote moins coûteuse et conduisant à des performances de même niveau.

## Remerciements

*Nous remercions le C.N.R.S. pour son soutien financier, en particulier lors du dépôt de demande de brevet, et l'Etablissement Public Régional pour une bourse accordée à l'un d'entre nous (A. F.).*

## Bibliographie

- AYROULET-MARTIN (Michèle), FOURNAUD (Jeanne) (1979). — Application de la méthode de Ling au dosage de l'acide lactique dans les viandes. *Ann. Technol. Agric.*, 28 (3), 333-343.

- CLIFTON (M.) (1980). — Polarisation de concentration dans les procédés de séparation par membrane. Journée « Membranes artificielles et leurs applications » de la Société Française de Filtration à Toulouse le 8 mai 1980.
- DESMAYSON (Anne-Marie), BRETON (J. C.), TIXIER (M.), CHATELUT (J. C.) (1970). — Dosage colorimétrique du lactose dans le lait. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 109, 118-131.
- JACQUEMET (J. C.) (Rhône-Poulenc) (1970). — Procédé de purification de l'acide lactique. Brevet français n° 1 596 670 du 14 novembre 1970.
- KRUMPHANZL (V.), DYR (J.) (1962). — Continuous fermentations and isolation of lactic acid. In « Continuous cultivation of micro-organisms », Proceedings of the Second Symposium held in Prague June 18-23 1962, edited by Malek I., Beran K., Hospodka J., Academic Press, New York, 1964.
- LUEDEKING (R.), PIRET (E. L.) (1959). — A kinetic study of lactic acid fermentation. Batch process at controlled pH. *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.*, 1 (4), 393-412.
- MAKAI (A. J.), TURNER (J. C. R.) (1982). — Electrodialysis at high current density using a laboratory stack. *Trans. Inst. Chem. Eng.*, 10, 88-96.
- MALPRESS (F. H.), MORRISON (A. B.) (1949). — The semi-micro estimation of lactose alone and in presence of other sugars. *Biochem. J.*, 45, 445-459.
- PRIGENT (Y.) (C.N.R.S.-A.N.V.A.R.) (1983). — Procédé de préparation d'acide lactique par fermentation de lactosérum et installation pour la mise en œuvre en continu de ce procédé. Demande de Brevet français n° 83 18 631 déposée le 23 novembre 1983.
- SMITH (B. R.), Mc BEAN (R. D.), COX (G. C.) (1977). — Separation of lactic acid from lactose fermentation liquors by reverse osmosis. *Austr. J. Dairy Technol.*, 32, 23-26.
- STIEBER (R. W.), GERHARDT (P.) (1981). — Dialysis continuous process for ammonium lactate fermentation simulated and experimental dialysate-feed, immobilized-cell systems. *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 535-549.
- VICK-ROY (T. B.), BLANCH (H. W.), WILK (C. R.) (1982). — Lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* in a hollow fiber fermenter. *Biotechnol. Lett.*, 4 (8), 483-488.
- WINOGRAD (Y.), SOLAN (A.), TOREN (M.) (1973). — Mass transfer in narrow channels in the presence of turbulence promoters. *Desalination*, 13, 171-186.
-