

Nanofiltration d'acides aminés sur membranes organiques : influence des paramètres physico-chimiques et de la pression transmembranaire sur la sélectivité

A Garem, J Léonil, G Daufin, JL Maubois

*Laboratoire de recherches de technologie laitière,
Inra, 65, rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes cedex, France*

(Reçu le 21 juillet 1995 ; accepté le 3 novembre 1995)

Résumé – La nanofiltration (NF) est une technologie membranaire récente qui possède de très intéressantes potentialités dans le domaine du fractionnement des molécules organiques de masses molaires comprises entre 300 et 1000 Da. La très grande sélectivité de ce procédé est fondée à la fois sur la taille et sur la charge des solutés mais les mécanismes de la séparation sont encore peu connus. La sélectivité des membranes organiques de NF Nanomax 50 (Millipore, de seuil de coupure 500 Da) et CDUF003LA (Millipore, de seuil de coupure 1000 Da) a été étudiée avec une solution contenant 15 acides aminés. La membrane Nanomax 50 présentait de très hautes rétentions stériques pour tous les acides aminés qui la rendaient incapable de réaliser un fractionnement entre les solutés. Avec la membrane CDUF003LA, les transmissions excédaient 80 % et dépendaient fortement du pH et, dans une moindre mesure, de la force ionique (Γ) et de la pression transmembranaire (PT). Ces résultats peuvent être interprétés en s'appuyant sur les principes de la théorie de Donnan (1911). Un modèle statistique descriptif du transfert a été établi pour 3 des 15 acides aminés du mélange : Glu ($pI = 3,25$), Ser ($pI = 5,70$) et Arg ($pI = 10,75$). Le maximum de sélectivité était obtenu à pH 10, Γ inférieure à $10 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ et PT inférieure à $5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$.

nanofiltration / acide aminé / sélectivité / pH / force ionique / pression transmembranaire

Summary – **Nanofiltration of amino acids through organic membranes: influence of physico-chemical parameters and transmembrane pressure on selectivity.** *Nanofiltration (NF) is a new membrane technology that shows interesting potentialities for separating organic components in the range of 300 - 1000 Da molecular masses. The very high selectivity of NF is based on both solute size and solute charge, but the separation mechanisms are still a matter of debate. Selectivity mechanisms of NF organic membranes Nanomax 50 (Millipore, molecular mass cut-off: 500 Da) and CDUF003LA (Millipore, molecular mass cut-off: 1000 Da) were studied with a 15 amino acid mixture. The Nanomax 50 membrane showed very high steric rejections for all the amino acids that make it unable to fractionate the mixture. With the CDUF003LA membrane, amino acid transmission rates exceeded 80 % and were dependent on the pH, and to a lesser extent, on the ionic strength (Γ) and the transmembrane pressure (TP). Results can be interpreted by taking into account the Donnan (1911) theory principles. A statistic predictive transmission pattern was established for three of the*

15 amino acids : Glu ($pI = 3.25$), Ser ($pI = 5.70$), Arg ($pI = 10.75$). The maximum of selectivity was achieved at $pH = 10$, Γ below $10 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ and TP below $5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$.

nanofiltration / amino acid / selectivity / pH / ionic strength / transmembrane pressure

INTRODUCTION

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

Les acides aminés sont produits industriellement par synthèse chimique (Met), par génie microbiologique (Glu, Lys) et aussi par hydrolyse chimique ou enzymatique de sous-produits (peaux, plumes, cheveux). Dans ce dernier type de procédé, le fractionnement sélectif de l'hydrolysate complexe pour aboutir à des produits enrichis en tel ou tel acide aminé ne peut être basé que sur des différences de solubilité (Traxler, 1962) ou de charge, les masses moléculaires de ces molécules étant très voisines. La différence existant entre les points isoélectriques des acides aminés a été mise à profit par Kimura et Tamano (1986) pour étudier la perméation et la séparation sélective de solutions simples d'acides aminés (une à deux espèces moléculaires) à l'aide de membranes d'ultrafiltration chargées, obtenues par dépôt de polysulfone sulfonée sur des membranes minérales tubulaires. Les résultats obtenus par ces auteurs, bien que très pré-

liminaires, suggéraient une possible séparation sélective en fonction de la nature de l'acide aminé et du pH.

Le développement récent de la technologie de nanofiltration sur membrane (NF), procédé situé à l'interface de l'osmose inverse et de l'ultrafiltration a conduit cette même équipe (Tsuru et al, 1994) à étudier les mécanismes de séparation par cette technique des acides aminés et de di- et tripeptides. Les membranes de nanofiltration, de plus en plus utilisées en industrie laitière pour la déminéralisation des lactosérums (Kelly et Kelly, 1995) et dans diverses industries pour le traitement des effluents (Treffy-Goatley et Gilron, 1993) permettent en effet une séparation très sélective, basée à la fois sur la taille et sur la charge des solutés de faible masse moléculaire (Rautenbach et Gröschl, 1992 ; Garem et Jeantet, 1995). Les résultats observés lors du traitement par NF, à l'aide de six membranes commerciales, de solutions simples d'acides aminés et de di- et tripeptides (un à deux solutés) ont conduit Tsuru et al (1994) à conclure qu'une séparation sélective n'était observée qu'avec des membranes NF ayant un seuil de coupure de 2000 à 3000 Da et que l'intensité de la sélectivité entre acides aminés ou peptides neutres et chargés dépendait de la charge des solutés c'est-à-dire de l'écart pH de la solution - pI. Plus cet écart était élevé, plus les rétentions des acides aminés s'élevaient jusqu'à atteindre des valeurs voisines de 100 %.

Mais les travaux de Tsuru et al (1994) ne constituent qu'une première approche, fort éloignée de la complexité d'un hydrolysate de protéines, où 20 acides aminés différents peuvent être présents. De plus, les forces ioniques élevées ainsi générées et

l'environnement ionique inorganique de ces acides aminés ne sont pas pris en compte alors qu'ils sont susceptibles de modifier significativement les mécanismes de transfert en NF. Aussi, nous sommes-nous attachés, au cours du présent travail, à caractériser les transmissions obtenues lors de la nanofiltration d'une solution équimolaire de 15 acides aminés sous l'effet d'une variation de pH, de concentration en sels inorganiques et de pression transmembranaire. En raison de la complexité du système 15 acides aminés / membrane et de la multiplicité des paramètres, une étude statistique globale a tout d'abord été réalisée, sous la forme d'un plan d'expériences de type réseau de Doelherth (Doelherth, 1970) afin de faire ressortir les paramètres opératoires les plus influents sur le transfert ainsi que les éventuelles plages d'optimisation. Pour expliquer ces résultats et accéder à une meilleure compréhension des mécanismes de la sélectivité, la seconde partie de ce travail a été consacrée à l'étude de l'application des principes de la théorie de Donnan (1911) aux transmissions des acides aminés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Solutions étudiées

Les solutions étaient constituées de 15 acides aminés (Ajinomoto, Tokyo, Japon) à la même concentration ($1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Leurs caractéristiques physico-chimiques sont regroupées dans le tableau I. Avant la nanofiltration, les solutions étaient portées à 40 °C. Le pH était ensuite ajusté par addition de NaOH 5 N (Normapur, Prolabo, Fontenay/Bois, France) ou de HCl 5 N (Normapur, Prolabo).

Lors des essais du plan d'expériences, du chlorure de sodium (Normapur, Prolabo) a été ajouté, à des concentrations allant de $6,7 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ à $93,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Tableau I. Principales caractéristiques des acides aminés utilisés. pI = point iso-électrique. Mr = masse molaire (g mol^{-1}).

Characteristics of the used amino acids. pI = isoelectric point. Mr = molar mass (g mol^{-1}).

Catégorie	L-AA	pI^*	$Mr (\text{g mol}^{-1})^*$
Acides	Asp	2,00	133,10
	Glu	3,22	147,10
Basiques	Arg	10,75	174,20
	Lys	9,75	146,19
	His	7,60	155,16
Neutres	Val	6,00	117,15
	Leu	6,00	131,17
	Pro	7,19	115,13
	Ile	6,05	131,17
	Ala	6,15	89,09
	Gly	6,10	75,07
	Ser	5,70	105,09
	Thr	5,60	119,42
	Met	5,70	146,21
	Phe	5,70	165,19

* D'après Segel (1976).

Nanofiltration

Installation pilote

La nanofiltration était réalisée avec un équipement pilote MSP 006239 Prolab (Millipore, Molsheim, France) comportant un bac d'alimentation, une pompe à diaphragme (D10Wanner, Hydracell, Paris, France), un variateur électronique de fréquences (Altivar 151U15, Télémécanique, Bron, France), deux débitmètres électromagnétiques (Techmag DN4, $1\text{-}45 \text{ L h}^{-1}$ (précision, 0,1 %) et Picomag DN8, $60\text{-}450 \text{ L h}^{-1}$ (précision, 0,1 %), Hendress et Hauser, Huingue, France) placés en sortie nanofiltrat et dans le circuit rétentat, deux capteurs de pression (Cerax 10^5 Pa , $0\text{-}50 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (précision : 0,5 %), Hendress et Hauser) placés en entrée et en sortie de la cartouche de filtration, une vanne à pointeau (SSIR56A, Swagelok, Highland Heights, États-Unis) et un capteur de température avec transmetteur (PT100 et TMT147, (précision 0,1 %) Hendress et Hauser). Lors de chaque essai, la température (T), la pression transmembranaire (PT) et le débit de circulation (Q) étaient contrôlés et maintenus constants par régulation manuelle.

Deux membranes étaient utilisées :

– membrane Nanomax 50 (Millipore), de seuil de coupure 500 Da, constituée d'un support en polysulfone recouvert par une peau active en polyamide (aire filtrante : 0,37 m²) ;

– membrane CDUF003LA (Millipore), de seuil de coupure 1000 Da, constituée d'un support en polysulfone recouvert de polyether de cellulose (aire filtrante de 0,3 m²).

Protocole expérimental de nanofiltration

Avant et après chaque essai, l'installation et la membrane étaient nettoyées à T : 40 ± 1 °C, PT = 10,00 ± 0,02 10⁵ Pa, vitesse d'écoulement tangentiel V = 0,55 ± 0,02 m s⁻¹, suivant le protocole :

1) NaOH 10⁻² mol L⁻¹, pH 12, en recirculation pendant 30 min ;

2) Rinçage, à l'eau désionisée (conductivité inférieure à 5 µS cm⁻¹) en circuit ouvert, jusqu'à neutralité ;

3) HNO₃ 10⁻² mol L⁻¹, pH 2, en recirculation pendant 30 min ;

4) Rinçage à l'eau désionisée en circuit ouvert jusqu'à neutralité.

Cette séquence de nettoyage était renouvelée jusqu'à ce que la résistance initiale membranaire R_m soit retrouvée à ± 5 %.

Tous les essais ont été réalisés à T = 40 °C et V = 0,55 m s⁻¹. L'évacuation de l'eau résiduelle dans les compartiments rétentat et perméat était effectuée par la vidange de volumes égaux à deux fois le volume mort (soit 2,0 L pour le rétentat et 0,2 L pour le perméat). Le nanofiltrat était ensuite recyclé dans le réservoir d'alimentation afin de travailler à facteur de réduction volumique constant. La pression transmembranaire était amenée à la pression de travail à raison de +1,00 10⁵ Pa par minute.

Lors des essais préliminaires au plan d'expériences, la pression de travail était de 10,00 10⁵ Pa, elle était fixée à 3,10, 8,00 et 12,90 10⁵ Pa au cours du plan. Le système était maintenu en l'état pendant 45 min avec un contrôle périodique de tous les paramètres opératoires. À l'issue de ces 45 min, des échantillons de nanofiltrat et de rétentat étaient prélevés.

Les résistances hydrauliques de la membrane propre (R_m), de colmatage total (R_f), de colmatage irréversible (je non éliminé par un rinçage à l'eau désionisée) (R_{if}) et de colmatage réversible (R_{rf}) étaient estimées à partir de la mesure

des flux de perméation à T = 25 °C, V = 0,55 m s⁻¹, par les relations suivantes :

$$R_m = \frac{PT}{\mu_w J_w}$$

$$R_f = \frac{PT}{\mu_w J} - R_m$$

$$R_{if} = \frac{PT}{\mu_w J_w'} - R_m$$

$$R_{rf} = R_f - R_{if}$$

où : J_w = flux de perméation à l'eau désionisée avant essai (m⁻³ s⁻¹ m⁻²) ; J = flux de perméation pendant l'essai (m⁻³ s⁻¹ m⁻²) ; J_w' = flux de perméation à l'eau désionisée après rinçage à l'eau (m⁻³ s⁻¹ m⁻²) ; μ_w = viscosité dynamique de l'eau désionisée à la température considérée (Pa.s) ; μ = viscosité dynamique du perméat à la température considérée (Pa.s) ; PT = pression transmembranaire (Pa).

La variation maximale obtenue à partir de trois répétitions, pour le calcul de ces résistances était de 5 %.

Caractérisations analytiques

Les concentrations en chaque acide aminé (i), dans la solution initiale (C_{0i}), le rétentat (C_{ri}) et le nanofiltrat (C_{pi}), étaient déterminées par chromatographie d'échange de cations avec dérivation post-colonne à la ninhydrine comme décrit par Andrews et Baldar (1985). Les dosages ont été effectués sur l'autoanalyseur d'acides aminés Alpha Plus 4151 Pharmacia-LKB Série 2 (Pharmacia-LKB Biochem, Orsay, France). La précision sur les valeurs mesurées était de 2 %.

La transmission expérimentale, Tr_i (%) de l'acide aminé i était calculée par l'équation :

$$Tr_i = 100 \cdot \frac{C_{pi}}{C_{ri}} \quad (1)$$

Les prélèvements puis les analyses étaient effectués en double. Sur les quatre répétitions, la variation maximale était de 4 %.

La sélectivité du système entre deux acides aminés i et j, était donnée par l'équation :

$$S_{i/j} = \frac{Tr_i}{Tr_j} \quad (2)$$

Enfin, la transmission réelle des solutés, qui prend en compte C_w, concentration des solutés à la membrane et non pas C_r, concentration des

solutés dans le rétentat, est donnée par l'équation (3) :

$$Tr_{réelle} = \frac{C_p}{C_w} \quad (3)$$

Plan d'expériences

Présentation générale

Le plan d'expériences utilisé était un réseau uniforme de Doelhart (Doelhart, 1970). Les points expérimentaux étaient des variables centrées réduites qui se répartissaient dans un espace à trois dimensions, aux sommets d'un rhomboèdre lui-même centré sur une sphère de rayon unité. Les coordonnées de ces points, dans un repère orthonormé de centre O (point origine de l'espace expérimental) sont données par la matrice des valeurs codées (tableau II). Le point central du plan (correspondant au point O) était répété trois fois, pour vérifier la reproductibilité du modèle. Le premier facteur (pH) prenait cinq niveaux, le second (concentration en NaCl ajoutée [NaCl]) 7 et le dernier (PT) 3.

Les variables réponses étaient les transmissions de chaque acide aminé. Un essai était défini pour un niveau donné à chacun des trois facteurs suivant le tableau II. La liste des essais est présentée dans le tableau III.

Traitement statistique

Le traitement statistique des données du plan d'expériences était effectué au moyen du logiciel SAS (SAS Institute Inc, Cary, NC, États-Unis). Pour chaque acide aminé, un modèle polynomial exprimant sa transmission comme une fonction du second degré des facteurs X_k ($1 < k < 3$) était établi. La démarche du traitement était la suivante :

- pour rendre les effets factoriels comparables, nous n'avons pas utilisé directement les facteurs X_k mais leurs polynômes orthonormés (Kobilinski, 1988) à savoir :

$$P1 = X_k/\sigma_1 \text{ pour les effets linéaires ;}$$

$$P2 = (X_k^2 - \sigma_2^2)/\sigma_2 \text{ pour les effets quadratiques ;}$$

$P1(i,j) : P1(X_{ki}), P1(X_{kj})$ pour les interactions entre les facteurs i et j .

où σ_1 et σ_2 sont respectivement les écarts types de X_k et X_k^2 sur le domaine de variations étudié ;

- le traitement statistique consistait en une régression linéaire multiple des polynômes P et des variables réponses Y_k , au cours de laquelle, plusieurs sous-modèles étaient établis permet-

tant d'éliminer progressivement les coefficients non significatifs, sauf quand ils intervenaient également dans un terme d'interaction ou un terme quadratique ;

- seuls les coefficients du modèle, Tr_{av} , a_k , b_k et c_k , dont la probabilité sur le test de Fisher était inférieure à 0,85 étaient conservés pour le modèle final. Les intervalles de confiance proposés étaient : $< 1\%$ (***), $< 5\%$ (**) et $< 15\%$ (*). Le modèle final ainsi obtenu était de la forme suivante :

$$\begin{aligned} Tr = & Tr_{av} + a_1 \frac{pH}{0,707} + a_2 \frac{[NaCl]}{0,577} + a_3 \frac{PT}{0,666} \\ & + b_1 \frac{pH[NaCl]}{0,408} + b_2 \frac{pH.PT}{0,470} + b_3 \frac{[NaCl].PT}{0,320} \quad (4) \\ & + c_1 \frac{pH^2 - 0,500}{0,418} + c_2 \frac{[NaCl]^2 - 0,333}{0,292} + c_3 \frac{PT^2 - 0,444}{0,334} \end{aligned}$$

Théorie

Il est maintenant bien établi que la sélectivité des membranes de nanofiltration vis-à-vis des ions et des petites molécules organiques dépend à la fois de la taille et de la charge des solutés (Rauntenbach et Gröschl, 1990 ; Yaroshchuk et Staude, 1992 ; Shrig et Widmer, 1992 ; Tsuru et al, 1994). Nous avons donc considéré la transmission d'un acide aminé comme le produit de deux composantes indépendantes Tr_s et Tr_c liées respectivement aux effets stériques et aux interactions électrostatiques membrane/soluté. Ces interactions électrostatiques sont localisées à l'interface solide/liquide (Ikeda et al, 1988), les membranes organiques de nanofiltration portant en surface des groupements chargés (Petersen, 1993).

Il est possible d'établir une formalisation mathématique de la transmission d'un acide aminé seul en solution à partir des travaux de Kimura et Tamano, 1986 ; Yaroshchuk et Staude, 1992 et Tsuru et al, 1994.

Un acide aminé (AA) en solution est en effet caractérisé par sa masse molaire M_r et sa charge z , dans des conditions physico-chimiques données. La membrane NF est elle-même caractérisée par son seuil de coupure M_{rCO} et sa densité de charge membranaire M . En fonction des signes de z et de M , trois cas peuvent se présenter.

Tableau II. Matrice des valeurs codées des facteurs et correspondance avec les niveaux réels.
Coded value matrix of the experimental factors and correspondence with real levels.

Facteur		Niveau						
pH	Codé	-1	-0,5	0	0,5	1		
	Réel	2	4	6	8	10		
[NaCl] ajouté 10 ⁻³ mol L ⁻¹	Codé	-0,866	-0,577	-0,289	0	0,289	0,577	0,866
	Réel	6,7	21,1	35,5	50,0	64,4	78,8	93,3
PT 10 ⁵ Pa	Codé			-0,816	0	0,816		
	Réel			3,1	8	12,9		

Tableau III. Liste des points expérimentaux.
List of experimental plan essays.

Essai n°	pH	[NaCl] 10 ⁻³ mol L ⁻¹	PT 10 ⁵ Pa
1	6	50,0	8,0
2	10	50,0	8,0
3	2	50,0	8,0
4	8	93,3	8,0
5	4	6,7	8,0
6	8	6,7	8,0
7	4	93,3	8,0
8	8	64,4	12,9
9	4	35,5	3,1
10	8	35,5	3,1
11	6	78,8	3,1
12	4	64,4	12,9
13	6	21,1	12,9
14	6	50,0	8,0
15	6	50,0	8,0

Acide aminé zwitterion ou M nulle

Dans ce cas, la transmission de l'acide aminé est maximale et est uniquement dépendante des effets d'exclusion stérique entre la membrane et l'acide aminé. Par conséquent, $Tr = Trs$.

Afin de formaliser Trs , la transmission régie par effet stérique des acides aminés, le modèle de Ferry (1936) corrigé par Zeman et Wales (1981) a été utilisé bien que les hypothèses sur lesquelles il repose, n'aient jamais, à notre connaissance, clairement été vérifiées expérimentalement en nanofiltration. Ce modèle considère la membrane comme étant constituée d'un réseau

de pores parfaitement cylindriques, parallèles, de longueur l et de rayon r_p tel que $r_p \ll l$ et à l'intérieur desquels la vitesse du solvant obéit à la loi de Poiseuille avec un profil parabolique. Les acides aminés sont quant à eux assimilés à des sphères rigides homogènes de rayon r_s et Trs est liée à r_p et r_s par la relation :

$$Trs (\%) = 100 \cdot (1 - (\lambda(\lambda - 2))^2) \cdot e^{-0.7146\lambda^2(5)}$$

$$\lambda = \frac{r_s}{r_p} = \left(\frac{Mr}{MrCO} \right)^{1/3}$$

où r_s = rayon de Stokes du soluté (nm) ; r_p = rayon de pore moyen de la membrane (nm) ; Mr = masse molaire de l'acide aminé (g mol⁻¹) ; $MrCO$ = seuil de coupure de la membrane (g mol⁻¹).

Acide aminé co-ion de la membrane

$Tr = Trs \cdot Trc$

La composante Trc de la transmission des acides aminés, qui prend en compte exclusivement les effets de charge, peut être décrite à partir du principe fondamental de la théorie de Donnan (Rautenbach et Gröschl, 1990 ; Yaroshchuk et Staude, 1992 ; Shirk et Widmer, 1992 ; Tsuru et al, 1994) qui est le maintien de l'électroneutralité et l'égalité des potentiels électrochimiques dans tout le système (Donnan, 1911). En appliquant ces principes aux concentrations de l'acide aminé dans le rétentat et le perméat, on aboutit à l'expression de Trc (%) :

$$Trc = 100 \cdot \left(v_{ct} \cdot z_{ct} \frac{[AA]^r}{M} \right)^{z_{ct}} \quad (6)$$

où $\sqrt{z_{ct}}$ et z_{ct} sont respectivement le coefficient stoechiométrique et la charge nette du contre-ion et $[AA]_r$ est la concentration de l'acide aminé considéré dans le rétentat.

L'équation 6 montre que la transmission de l'acide aminé co-ion est d'autant plus faible que : M est élevée, z est élevée, $[AA]_r$ est faible, z_{ct} est faible.

Acide aminé contre-ion de la membrane

$$Tr = Trs + Trc$$

La transmission de l'acide aminé contre-ion dépend de la transmission du co-ion (Tsuru et al, 1994) et de sa mobilité propre dans la membrane (Yaroshchuk et Vovkogon, 1994 a et b).

Cependant, cette formalisation de la transmission est limitée au cas d'un seul acide aminé en solution car elle ne prend pas en compte des phénomènes importants qui se produisent lorsque plusieurs acides aminés à des concentrations voisines sont confrontés à une membrane de nanofiltration. Lorsque la solution d'acides aminés est complexe, il est en effet très difficile de prévoir :

- la contribution individuelle de chaque acide aminé (AA) à l'équilibre de Donnan en tant que co-ion ou contre-ion ;
- les interactions spécifiques entre AA et de chaque AA avec la membrane ;
- les couplages co-ion/contre-ion entre AA de charge opposée ;
- les couplages co-ion/contre-ion entre un AA et un ion inorganique ;
- la compétition entre contre-ions de mobilités différentes (Bardot et al, 1995).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Influence du seuil de coupure ($MrCO$) de la membrane

Les transmissions expérimentales des acides aminés neutres et chargés, obtenues lors d'essais préliminaires au plan d'expériences, avec les deux membranes organiques de NF à pH 6 et à $PT = 10 \cdot 10^5$ Pa, sont comparées aux Trs correspondantes sur la figure 1. Les résistances membranaires intrinsèques (R_m) et de colmatage réversible (R_{rf}) étaient respectivement $580 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$ et $55 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$ pour la

membrane Nanomax 50. R_{rf} étant plus de dix fois inférieur à R_m , nous avons fait l'hypothèse que le phénomène de polarisation de concentration était négligeable dans ces conditions et que les transmissions expérimentales, par conséquent peu différentes des transmissions réelles, pouvaient être directement comparées aux Trs. De la même façon, dans le cas de la membrane CDUFO03LA, R_m et R_{rf} étaient respectivement $402 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$ et $120 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$. Nous avons à nouveau négligé le phéno-

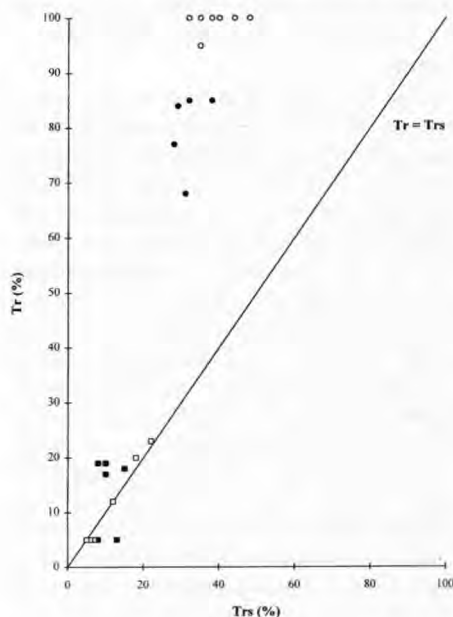


Fig 1. Transmission expérimentale (Tr %) des acides aminés en fonction des transmissions stériques (Trs %) pour les membranes Nanomax 50 (■) et CDUFO03LA (●). (○, □) : acides aminés neutres et (●, ■) : acides aminés chargés. $PT = 10^5$ Pa ; concentration = $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}/AA$; $pH = 6$; $\Gamma = 6 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; z = charge nette des acides aminés.

Experimental transmissions (Tr %) versus steric transmissions (Trs %) with Nanomax 50 (■) and CDUFO03LA (●) membranes. AA with no net charge: (○, □). Charged AA: (●, ■); $PT = 10^5$ Pa; concentration = $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}/AA$; $pH = 6$; $\Gamma = 6 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. z = amino acid net charge.

mène de polarisation de concentration car le rapport R_{rf}/R_m était faible devant 1.

Pour la membrane Nanomax 50, les valeurs des transmissions expérimentales sont faibles (< 25 %). Les rétentions stériques des acides aminés sont élevées. Les transmissions des AA neutres sont placées sur la droite d'équation $Tr = Trs$. Les écarts maximaux entre Tr et Trs pour les AA chargés, sont inférieurs à 10 %, c'est-à-dire proches de la limite de signification (8 %). Par conséquent, en raison de la forte rétention stérique de la membrane, les écarts de transmission sont trop faibles pour permettre d'étudier et d'exploiter les effets de charge.

C'est la raison pour laquelle les membranes NF à seuil de coupure élevé, telles que la membrane CDUF003LA, de seuil de coupure 1000 Da, semblent plus adéquates pour obtenir une séparation efficace entre les solutés. Avec cette membrane, les transmissions expérimentales sont comprises entre 95 et 100 % dans le cas des acides aminés neutres et entre 68 et 85 % dans le cas des acides aminés chargés négativement ou positivement. Cependant, pour tous les solutés, les transmissions expérimentales sont sensiblement supérieures aux transmissions stériques. De plus, dans ces conditions, il ne ressort aucune adéquation entre le modèle de Zeman et Wales (1981) (équation 5) et les transmissions des acides aminés neutres pour lesquels, par hypothèse, $Tr = Trs$. Il est clair que les hypothèses du modèle stérique ne sont pas vérifiées dans ces conditions. Néanmoins, l'écart entre les transmissions des solutés chargés et les transmissions des solutés neutres, compris entre 15 et 35 %, met en évidence l'influence non négligeable des effets de charge sur la transmission, non masquée par la rétention stérique de la membrane. Le plan d'expériences à trois facteurs (pH, [NaCl], PT) a donc été réalisé sur la membrane CDUF003LA dans l'objectif d'une appréhension globale de Trc .

Influence des paramètres opératoires sur le transfert

Les résultats des régressions linéaires multiples effectuées sur les variables réponses du plan d'expériences sont regroupés dans le tableau IV. L'adéquation entre le modèle statistique établi et les points expérimentaux est évaluée à partir du coefficient de corrélation multiple, r^2 . Nous n'avons considéré que les réponses pour lesquelles r^2 était supérieur ou égal à 0,85.

De plus, un écart type global (σ) a été estimé à partir des trois répétitions du point central, selon la méthode proposée par Goupy (1958). Pour simplifier la suite de notre étude et favoriser la compréhension des mécanismes, nous avons choisi trois acides aminés traceurs, pour lesquels le coefficient de corrélation linéaire multiple r^2 était maximal et l'écart type σ était minimal : Ser comme AA neutre, Glu comme AA acide et Arg comme AA basique. Le tableau V donne le modèle statistique général de leur transmission en fonction du pH, de la pression transmembranaire et de la force ionique ajoutée. Les différents coefficients représentent le poids de chacun des facteurs et de leurs interactions sur le transfert.

La force ionique ajoutée, dans la gamme étudiée, n'a aucune influence sur les transmissions de Ser et de Glu (coefficients a_2 , b_1 , b_3 et c_3 nuls). Son effet est très faible dans le cas de Arg, et les variations de Tr sont très proches de la variabilité expérimentale (+2 % entre 0 et 100 10^{-3} mol L^{-1} à $PT = 8 \cdot 10^5$ Pa et à $pH = 6$).

On n'observe aucun effet significatif des interactions $pH/[NaCl]$ et $[NaCl]/PT$ sur le transfert des trois acides aminés. Seules, les interactions pH/PT ont un effet significatif et négatif sur les transmissions de Ser et de Arg, qui renforce les effets du pH et de PT séparément. De plus, à PT élevée (> 8 10^5 Pa), le pH pour lequel les transmissions de ces deux acides aminés sont maximales est déplacé vers les pH acides

Tableau IV. Régressions linéaires multiples sur les transmissions des acides aminés. Membrane CDUF003LA, concentration : $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, Tr = transmission ; r^2 = coefficient de corrélation multiple ; Tr_{av} = Tr moyenne ; a_1, a_2, a_3 = effets linéaires des facteurs ; b_1, b_2, b_3 = effets des interactions entre les facteurs ; c_1, c_2, c_3 = effets quadratiques des facteurs ; seuils de signification : *** < 1 %, ** < 5 %, * < 15 %.

*Linear regressions on amino acids transmission rates. Membrane CDUF003LA, concentration : $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; Tr = transmission; r^2 = multiple correlation coefficient; Tr_{av} = average transmission; a_1, a_2, a_3 = linear effects, b_1, b_2, b_3 = interaction effects; c_1, c_2, c_3 = quadratic effects; significant levels: *** < 1 %, ** < 5 %, * < 15 %.*

Tr		pH	[NaCl]	PT	pHx[NaCl]	pHxP	[NaCl]xPT	pH^2	[NaCl] 2	pT^2	Écart	
%	r^2	Tr_{av}	a_1	a_2	a_3	b_1	b_2	b_3	c_1	c_2	c_3	type σ
Glu	0,88	85	-7		3				-7			2,9
		***	***		**				***			
Arg	0,96	93	-1	-1	-1		-2	3	-6	1		3,4
		***	**	**	*		**	***	***	**		
Ser	0,91	95	-2		-1		-2		-5			1,7
		***	**		**		**		***			
Ala	0,87	94	-1	-1					-5			4,5
		***	**	**					***			
Met	0,87	94	0	0	1		2	3	-5	1		2,9
		***					**	**	***			
Phe	0,85	95	0	1	1		-2	2	-4			10,1
		***		**	**		**	**	***			
Lys	0,89	92	-1	-2	0		-4	2	-6			4,5
		***		**			**		***			
Val	0,90	94	-1	-1	0			2	-5			2,9
		***	*	**				**	***			

(ce pH est égal à $6 \text{ à } 8 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ et à $4 \text{ à } 12,9 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) et la chute de la transmission est amplifiée ($-2 \text{ \% à } 2 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ et $-7 \text{ \% à } 12,9 \cdot 10^5 \text{ Pa}$). On n'observe pas d'influence significative des interactions PT/pH sur le transfert de Glu.

La pression transmembranaire seule a un effet uniquement sur la transmission de Glu qui augmente de $+5 \text{ \%}$ quand PT s'élève de $3,1 \text{ à } 12,9 \cdot 10^5 \text{ Pa}$, à pH et force ionique constants. L'effet de ce paramètre est né-

gatif et faiblement significatif sur les transferts de Ser et de Arg.

Finalement, le pH est le facteur prépondérant du transfert des trois AA (coefficients $a_1 + c_1$ maximaux). L'importance du terme quadratique (voisin de 5) révèle un pH pour lequel la transmission des trois acides aminés est maximale. Au centre du domaine expérimental, ce pH est compris entre 3 et 4 pour Glu et est voisin de 6 pour Ser et Arg. Ce facteur est un paramètre dé-

Tableau V. Modèle statistique général de transmission des trois acides aminés sélectionnés. r^2 = coefficient de corrélation multiple.

Statistic general transmission model of the three selected amino acids. r^2 = multiple correlation coefficient.

AA	Modèle général de transmission*	r^2 *
Glu	$Tr = 85 - 7pH + 3PT - 7pH^2$	0,88
Arg	$Tr = 93 - pH - [NaCl] - PT - 2pHPT + 3[NaCl]PT - 6pH^2 + [NaCl]^2$	0,96
Ser	$Tr = 95 - 2pH - PT - 2pHPT - 5pH^2$	0,91

* D'après le traitement statistique des données du plan d'expériences.

terminant pour optimiser le fractionnement, c'est-à-dire pour obtenir des sélectivités (S) maximales.

La figure 2 représente l'évolution des transmissions des trois acides aminés et des sélectivités acides/basiques ($S_{Arg/Glu}$), acides/neutres ($S_{Ser/Glu}$) et basiques/neutres ($S_{Ser/Arg}$) en fonction du pH et au centre du domaine expérimental ($[NaCl]$ ajoutée = $50 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ et $PT = 8 \cdot 10^5 \text{ Pa}$). L'effet du pH est plus marqué dans le cas de Glu dont la transmission chute de 15 % entre pH 6 et pH 10. Les transmissions de Arg et de Ser sont supérieures à celles de Glu et diminuent respectivement de 6 % et 7 % entre pH 6 et pH 10. Les sélectivités (acides/basiques) et (acides/neutres) augmentent de 1,05 à plus de 1,25 entre pH 2 et pH 10, alors que la sélectivité (neutres/basiques) est toujours voisine de 1 avec un minimum vers pH 6.

Interprétation du fractionnement des acides aminés et de l'influence des paramètres opératoires

Cette interprétation est fondée sur l'étude de l'application des principes de la théorie

de Donnan (Yaroshchuk et Staude, 1992). La transmission d'un acide aminé co-ion de charge z, en interaction électrostatique répulsive avec une interface de densité de charge M, peut être formalisée par l'équation 6 qui s'appuie sur le principe du maintien de l'équilibre de concentration des co-ions et des contre-ions de part et d'autre de la membrane et du maintien de l'électroneutralité en chaque point du système (théorie de Donnan, 1911). Pour un co-ion, la transmission régie par les effets de charge Tr_c augmente avec la charge du contre-ion, la concentration en co-ion et di-

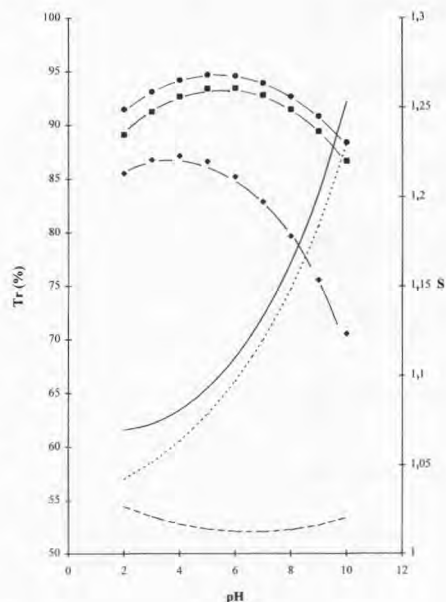


Fig 2. Transmissions (Tr %) de Glu (◆), Arg (■) et Ser (●) et sélectivités (S).

(Arg/Glu :.....), (Ser/Glu :—) et (Ser/Arg : - - -) en fonction du pH. Membrane CDUF003LA. Mélange de 15 AA ; concentration = $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}/AA$; $PT = 8 \cdot 10^5 \text{ Pa}$; $[NaCl] = 50 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Transmission (Tr %) of Glu (◆), Arg (■) and Ser (●) and selectivities (S) (Arg/Glu :.....), (Ser/Glu: —) et (Ser/Arg: - - -) versus pH. Membrane CDUF003LA. Mixed solution of 15 AA; concentration = $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $PT = 8 \cdot 10^5 \text{ Pa}$; $[NaCl] = 50 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

minue avec la charge du co-ion et celle de la membrane (équation 6). Trc, pour un contre-ion de la membrane est fortement influencée par la transmission du co-ion, par sa mobilité et éventuellement par la présence d'autres contre-ions de mobilité différente. Il était intéressant de voir en quoi les principes de la théorie de Donnan permettent d'expliquer le rôle du pH, de la force ionique et de la pression.

Influence du pH

Le pH conditionne à la fois la charge de l'acide aminé et la charge de la surface membranaire (Kimura et Tamano, 1986 ; Petersen, 1993). Le pH possède donc un poids considérable sur la transmission des acides aminés.

Nous avons comparé les évolutions de la charge et de la transmission de Glu, Ser et Arg en fonction du pH, à $PT = 8 \cdot 10^5$ Pa et $[NaCl] = 50 \text{ mmol l}^{-1}$ (fig 3). Dans ces conditions, on peut considérer que les ions Cl^- et Na^+ sont majoritaires en tout point par rapport aux AA ($[Na^+] \# [Cl^-] \# 50 \times [AA]$).

La figure 3 montre que les pH pour lesquels les transmissions de Ser et Glu sont maximales correspondent à leurs pI respectifs (entre 3 et 4 pour Glu et aux alentours de 6 pour Ser). Une charge nette nulle est la condition de transfert maximal comme l'ont montré Tsuru et al (1994) sur des solutions simples d'acides aminés. À partir de pH 6 pour Glu et pH 8 pour Ser, les transmissions de ces deux AA chutent avec l'accroissement de leur densité de charge négative (z) (fig 3). L'interprétation de ce résultat repose sur l'hypothèse que ces AA à l'état ionisé sont alors co-ions de la membrane et sont d'autant plus repoussés dans le rétentat que leur charge est élevée (d'après l'équation 6). La transmission de Glu reste ainsi toujours inférieure à celle de Ser, avec un écart maximal à pH 10, car il est plus fortement ionisé négativement.

Le cas de Arg est différent, car il est positif sur toute la gamme de pH étudiée (fig 3).

D'après l'hypothèse précédente, il est contre-ion de l'interface. Sa transmission est donc fortement déterminée par celle du co-ion majoritaire, l'anion Cl^- en l'occurrence. Or sa transmission est maximale à pH 6 puis diminue à partir de pH 8. Puisque la charge de l'ion chlorure est constante entre pH 2 et pH 10, on peut faire l'hypothèse qu'à partir de pH 6 la membrane devient de plus en plus chargée négativement quand le pH augmente. Petersen (1993) montre effectivement que le nombre de groupements chargés à la surface des membranes NF organiques augmente

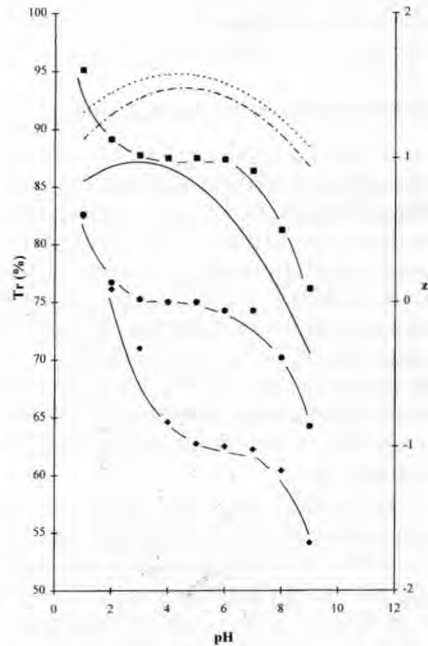


Fig 3. Densités de charge (z) de Glu (◆) Arg (■) et Ser (●) et transmissions (Tr %) de Glu (—), de Arg (- -) et de Ser (...) en fonction du pH. Membrane CDUF003LA. Mélange de 15 AA, concentration = $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $PT = 8 \cdot 10^5$ Pa; $[NaCl] = 50 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Charge density, (z) of Glu (◆), Arg (■) and Ser (●) and transmission (Tr %) of Glu (—), Arg (- -) and Ser (...) versus pH. Membrane CDUF003LA. Mixed solution of 15 AA; concentration = $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $PT = 8 \cdot 10^5$ Pa; $[NaCl] = 50 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

avec le pH. Ceci permet d'expliquer également qu'à pH 10, les transmissions des acides aminés acides sont minimales car dans ces conditions, M et z- sont maximales (figs 2 et 3).

Dans l'hypothèse où les AA acides seraient les composants majoritaires du mélange, leur contribution à l'équilibre de Donnan serait dans ce cas supérieure à celle des ions chlorures et leur transmission déterminerait en conséquence, le transfert des contre-ions du mélange (AA basiques notamment) pour maintenir l'électroneutralité. Par conséquent, dans ces conditions, il y aurait « couplage » co-ion/contre-ion entre les deux catégories d'AA et la sélectivité basiques/acides serait égale à 1.

Influence de la force ionique totale

D'une manière générale, les forces de répulsion électrostatiques diminuent lorsque la force ionique totale (Γ) de la solution augmente (loi de Debye). Dans le système constitué par une membrane de nanofiltration confrontée à 15 acides aminés, la force ionique totale (Γ) de la solution représente la somme de la force ionique liée à la charge des acides aminés, de la concentration [NaCl] ajoutée et de la concentration en ions Na^+ et Cl^- additionnés lors de l'ajustement du pH.

Le tableau VI montre les différences de transmission des trois acides aminés à pH 8 et à $\text{PT} = 8 \cdot 10^5$ Pa, lorsque Γ est multipliée par 10. Quand Γ augmente de $9,7$ à $97 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, la transmission de Glu augmente de +14 % à cause de l'affaiblissement des forces de répulsion membrane/soluté. La transmission de Ser reste supérieure à 95 % car les effets de charges sont probablement trop faibles pour être sensibles à l'élévation de la force ionique (acide aminé faiblement ionisé à ce pH).

Pour Arg, contre-ion de la membrane à ce pH, Tr s'élève de +4 % quand Γ augmente car elle est globalement liée à la transmission des co-ions (qui s'accroît en raison de

Tableau VI. Transmission (Tr %) de Arg, Glu et Ser à faible force ionique ($\Gamma_1 = 9,7 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) et à force ionique élevée ($\Gamma_2 = 97 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Membrane CDUF003LA. Mélange de 15 AA ; concentration = $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{PT} = 8 \cdot 10^5$ Pa ; pH = 8.

Transmission (Tr %) of Arg, Glu and Ser at low ionic strength ($\Gamma_1 = 9,7 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) and at high ionic strength ($\Gamma_2 = 97 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Membrane CDUF003LA; mixed solution of 15 AA; concentration = $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{PT} = 8 \cdot 10^5$ Pa; pH = 8.

Tr %	$\Gamma_2 = 9,7 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	$\Gamma_2 = 97 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
Arg	95	99
Glu	76	90
Ser	94	95

l'affaiblissement des forces de répulsion membrane/soluté).

Colmatage réversible et effet de PT

Le tableau VII donne pour chaque essai, les résistances hydrauliques de la membrane (R_m), de colmatage total (R_f), de colmatage irréversible (R_{if}) et de colmatage réversible (R_{rf}). Ces résistances membranaires sont un moyen indirect de mesurer l'accumulation et l'adsorption éventuelle des acides aminés à la membrane. À pH 6 et au centre du plan d'expériences (essais 1, 14 et 15), R_{if} est négligeable devant R_{rf} qui représente 90 % de la résistance de colmatage total et 37 % de la résistance de la membrane (tableau VII). À pH 6 et à $\text{PT} = 12,9 \cdot 10^5$ Pa, R_{rf} représente près de 70 % de R_m . Nous avons donc fait l'hypothèse que dans ces conditions, contrairement à ce qui avait été observé lors des essais préliminaires au plan d'expériences, il se produisait un phénomène de polarisation de concentration. Or, la composition en acides aminés de cette couche de polarisation peut être sensiblement différente de celle de la solution d'alimentation. En effet,

Tableau VII. Résistances membranaires pour les essais du plan. R_m = Résistance de la membrane. R_f = Résistance de colmatage total. R_{if} = Résistance de colmatage irréversible. R_{rf} = Résistance de colmatage réversible.

Membrane resistance for each experimental essay. R_m = membrane resistance. R_f = total fouling resistance. R_{if} = irreversible fouling resistance. R_{rf} = reversible fouling resistance.

N° essai	pH	[NaCl] $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	PT 10^5 Pa	R_m 10^{12} m^{-1}	R_f 10^{12} m^{-1}	R_{if} 10^{12} m^{-1}	R_{rf} 10^{12} m^{-1}
1	6	50,0	8,0	405	165	15	150
2	10	50,0	8,0	436	189	12	177
3	2	50,0	8,0	448	196	7	189
4	8	93,3	8,0	388	221	16	205
5	4	6,7	8,0	419	161	0	161
6	8	6,7	8,0	424	181	10	171
7	4	93,3	8,0	420	170	0	170
8	8	64,4	12,9	420	288	0	288
9	4	35,5	3,1	447	70	0	70
10	8	35,5	3,1	420	67	16	51
11	6	78,8	3,1	425	33	0	33
12	4	64,4	12,9	420	262	0	262
13	6	21,1	12,9	420	288	5	283
14	6	50,0	8,0	404	167	15	152
15	6	50,0	8,0	404	162	16	146

le phénomène de polarisation de concentration ne concerne que les solutés pour lesquels Tr est inférieure à 100 %, c'est-à-dire dont le transfert est limité par des effets stériques et/ou des interactions électrostatiques membrane/soluté. Ainsi, à pH 6 et par rapport à la solution d'alimentation, cette couche de molécules est fortement enrichie en acides aminés car les autres acides aminés ($Tr \neq 100\%$) ne s'accumulent pas.

L'élévation de PT intensifie ce phénomène en augmentant la convection des solutés contre la membrane (Michaels, 1968) : R_{rf} est multipliée par 8 entre $PT = 3,1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (essai 11) et $PT = 12,9 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (essai 13) (tableau VII). Cependant, à PT élevée, la surconcentration à la membrane ($C_w \gg C_r$) des acides aminés acides fortement électronégatifs entraîne non seulement une augmentation du passage de ces solutés dans le perméat mais également une élévation sensible des valeurs locales de la force ionique et du pH.

Dans le cas des AA neutres et basiques, C_w étant peu différent de C_r , PT n'a pas d'influence directe sur leur transfert. En revanche, l'élévation de la force ionique déplace leur pI , c'est-à-dire le pH pour lequel Tr est maximal, vers les pH acides (ainsi pour Ser, ce pH est respectivement égal à 6 pour $PT = 8 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ et à 4 pour $PT = 12,9 \cdot 10^5 \text{ Pa}$). De plus, du fait de l'abaissement du pH à la membrane, la charge négative z^- de ces acides aminés est plus élevée à cet endroit que la charge apparente estimée à partir du pH de la solution. C'est pourquoi PT renforce l'effet du pH sur leur transmission et cela est particulièrement significatif aux pH extrêmes lorsque les acides aminés sont fortement ionisés.

CONCLUSION

Le fractionnement d'un mélange complexe de 15 acides aminés, de masses molaires très proches, par deux membranes organiques de nanofiltration (Nanomax 50 (500 Da) et CDUF003LA (1000 Da)) s'appuie

uniquement sur les différences de charge entre les solutés. Cependant, seule la membrane CDUF003LA, à haut seuil de coupure (1000 Da) met en exergue ces effets de charge. L'approche statistique globale du système AA/membrane CDUF003LA révèle que le pH de la solution est le paramètre prépondérant du transfert, la force ionique et la pression transmembranaire n'intervenant que dans une moindre mesure. La sélectivité maximale est obtenue à pH basique (pH = 10), faible force ionique ($\Gamma < 10^{-2}$ mol L⁻¹) et faible PT (PT < 5 10⁵ Pa).

Dans ces conditions, les AA négatifs (acides) sont repoussés par la membrane alors que les transmissions des acides aminés basiques et neutres avoisinent 100 %. Nous avons montré, dans la seconde partie de ce travail, que ces résultats pouvaient être interprétés sur la base des principes de la théorie de Donnan.

Cependant, du fait probablement de la faible densité de charge membranaire, l'écart maximal entre les transmissions des acides aminés n'excède jamais 30 %. L'utilisation de matériaux membranaires chargés, l'influence des paramètres hydrodynamiques sur le colmatage réversible des membranes, et le rôle des affinités particulières membrane/soluté non liées à la charge (interactions hydrophobes ou hydrophiles notamment) mériteraient d'être étudiés pour améliorer la sélectivité des membranes de NF vis-à-vis des acides aminés. Le fractionnement d'un mélange d'AA pourrait alors être envisagé sur la base des transmissions ioniques en réalisant une cascade de nanofiltrations à pH croissant pour extraire progressivement les AA les plus ionisés : c'est-à-dire d'abord les AA dicarboxyliques, suivis des AA monocarboxyliques, puis des AA dibasiques.

REMERCIEMENTS

Ce travail a reçu le financement de la société Clintec Technologies et des régions Bretagne et

Basse Normandie. Il fait de plus partie d'un Grand Projet Innovant intitulé Nouveaux procédés dans l'industrie agroalimentaire par développement de membranes originales de nanofiltration (convention de recherche n° 934900044), auquel participent l'Inra et les sociétés Tech Sep et ARD.

Nous remercions S Chevallereau pour sa participation au plan d'expériences et M Piot pour sa contribution essentielle à la partie analytique de ce travail.

RÉFÉRENCES

- Andrews RP, Baldar NA (1985) Amino acid analysis of feed constituents. *Sci Tools* 32 (2), 44-48
- Bardot C, Gaubert E, Yaroshchuk A (1995) Unusual mutual influence of electrolytes during pressure-driven transport of their mixtures across charged porous membranes. *J Membrane Sci* 103, 11-17
- Doelthert DH (1970) Uniform shell design. *Appl Stat* 19, 231-239
- Donnan FG (1911) Theory of membrane equilibria and membrane potentials in the presence of non-dialysing electrolytes. A contribution to physical-chemical physiology. *Z Elektrochem Angew Phys Chem* 17, 572-581. Traduction intégrale dans *J Membrane Sci* (1995) 100, 45-55
- Ferry JD (1936) Ultrafilter and ultrafiltration. *Chem Rev* 11, 376-455
- Garem A, Jeantet R (1995) Fouling occurring in nanofiltration of dairy products. *Bull Int Dairy Fed, Special issue: Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes*, 9504, 71-77
- Goupy J (1988) *La méthode des plans d'expériences, optimisation du choix des essais et de l'interprétation des résultats*. Dunod, Paris
- Ikeda K, Nakano T, Ito H, Kubota T, Yamamoto S (1988) New composite charged reverse osmosis membranes. *Desalination* 68, 109-119
- Kelly J, Kelly P (1995) Nanofiltration of whey : quality, environmental and economic aspects. *J Soc Dairy Technol* 48, 20-25
- Kimura S, Tamano A (1986) Separation of amino acids by charged ultrafiltration membranes. In : *Membranes and membrane processes* (E Drioli, M Nakagaki, eds). Plenum press, New York, 191-197
- Kobilinski A (1988) Tactiques en analyse de variance et en régression. *Rev Modulad*, 25-58
- Linden G, Lorient D (1994) *Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole*, ch 14. Masson, Paris, 313-333
- Marschall W (1994) Amino acids, peptides, and proteins. In : *Functional foods. Designer foods, pharmaceuticals, nutraceuticals* (I Goldberg, ed). Chapman & Hall, New York, 242-260
- Michaels AS (1968) New separation technique for the CPI. *Chem Eng Prog* 64 (12), 31-43

- Petersen RJ (1993) Composite reverse osmosis and nanofiltration membranes. *J Membrane Sci* 83, 81-150
- Rautenbach R, Gröschl A (1990) Separation potential of nanofiltration membranes. *Desalination* 77, 73-84
- Segel IH (1976) *Biochemical calculations*, 2nd edn, appendix VII. John Wiley & Sons, New York, 409-411
- Shirg P, Widmer F (1992) Characterization of nanofiltration membranes. *Desalination* 89, 89-107
- Traxler JT (1962) Amino acid separation process. *US Patent n° 3 051 640*
- Treffry-Goatley K, Gilron J (1993) The application of nanofiltration membranes to the treatment of industrial effluent and process streams. *Filtr Sep* 1, 63-66
- Tsuru T, Shutou T, Nakao SI, Kimura S (1994) Peptide and amino acid separation with nanofiltration membranes. *Sep Sci Technol* 29, 971-984
- Yaroshchuk A, Staude E (1992) Charged membranes for low pressure reverse osmosis properties and applications. *Desalination* 86, 115-134
- Yaroshchuk A, Vovkogon Y (1994a) Phenomenological theory of pressure-driven transport of ternary electrolyte solutions with a common coion and its specification for capillary space-charge model. *J Membrane Sci* 86, 1-18
- Yaroshchuk A, Vovkogon Y (1994b) Pressure-driven transport of ternary electrolyte solutions with a common coion through charged membranes. Numerical analysis. *J Membrane Sci* 86, 19-27
- Zeman L, Wales M (1981) Steric rejection of polymeric solutes by membrane with uniform pore size distribution. *Sep Sci Technol* 16, 275-290