



**HAL**  
open science

## Comparaison de procédés d'extraction appliqués au domaine des biotechnologies blanches

Ka Ho Yim

► **To cite this version:**

Ka Ho Yim. Comparaison de procédés d'extraction appliqués au domaine des biotechnologies blanches. Autre. Ecole Centrale Paris, 2013. Français. NNT : 2013ECAP0015 . tel-00910070

**HAL Id: tel-00910070**

**<https://theses.hal.science/tel-00910070>**

Submitted on 27 Nov 2013

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**ÉCOLE CENTRALE DES ARTS ET MANUFACTURES**

**« ÉCOLE CENTRALE PARIS »**

**THÈSE**

présentée par

**Ka Ho YIM**

pour l'obtention du

**GRADE DE DOCTEUR**

**Spécialité : Génie des Procédés**

**Laboratoire d'accueil : Génie des Procédés et Matériaux**

**SUJET :**

**Comparaison de procédés d'extraction  
appliqués au domaine des biotechnologies blanches**

**Soutenue le : 1<sup>er</sup> Février 2013**

**Devant un jury composé de :**

<b>Professeur Patrick PERRE</b>	<b>Président</b>
<b>Professeur Jean-Hugues RENAULT</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Docteur Alexandre CHAGNES</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Professeure Florence AGNELY</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Professeur Michel JOUAN</b>	<b>Examineur</b>
<b>Monsieur Romain REYNAUD</b>	<b>Invité</b>
<b>Professeure Dominique PAREAU</b>	<b>Directrice de thèse</b>
<b>Professeur Moncef STAMBOULI</b>	<b>Co-directeur de thèse</b>

# Remerciements

Ce projet a été réalisé au laboratoire Génie des Procédés et Matériaux (LGPM), dans le cadre du Centre d'Excellence des Biotechnologies Blanches de l'Ecole Centrale Paris, en partenariat avec SOLIANCE et l'Université de Reims-Champagne-Ardennes (URCA-UMR 6229). Il a été financé par le Conseil Général de la Marne.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame Dominique PAREAU, Directrice du Centre d'Excellence des Biotechnologies Blanches, de m'avoir accueilli, d'avoir dirigé cette étude et de m'avoir soutenu durant ces trois années. J'ai beaucoup apprécié sa pédagogie, son attention, son aide et sa confiance qu'elle a eues en moi.

Je remercie profondément Monsieur Moncef STAMBOULI, Responsable de l'équipe « Techniques Séparatives », qui m'a accueilli dans son équipe, en qui j'ai trouvé une écoute attentive et qui m'a fait découvrir l'enseignement et l'encadrement de projets.

À l'Ecole Centrale Paris, je souhaite remercier :

- Monsieur Patrick PERRE, Directeur du laboratoire LGPM, pour avoir accepté de présider la commission d'examen.
- Corinne, adjointe technique et les autres membres de mon laboratoire pour leur aide et pour l'ambiance conviviale dans laquelle s'est passé ce doctorat.
- Monsieur Michel JOUAN, Professeur du laboratoire Structures, Propriétés et Modélisation des Solides, pour avoir partagé ses connaissances qui m'ont permis de mieux comprendre mes résultats expérimentaux et pour avoir accepté de participer au jury.
- Géraldine et Catherine, secrétaires à l'Ecole Doctorale, et Monsieur Jean-Hubert SCHMITT, qui en était le directeur, pour leur accueil et leur soutien.

Je remercie profondément M. Jean-Hugues RENAULT, Professeur à l'URCA, pour les discussions très intéressantes que nous avons eues durant ces trois années, d'avoir accepté de juger ce travail et d'en être un des rapporteurs.

J'adresse mes remerciements à M. Alexandre CHAGNES, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie ParisTech, d'avoir accepté de juger cette étude et d'en être un des rapporteurs.

Mes remerciements s'adressent également à :

- Madame Florence AGNELY, Professeure à l'Université de Paris Sud, pour avoir accepté d'avoir examiné ce travail et participé au jury de soutenance.
- Monsieur Romain REYNAUD, Responsable R&D chez Soliance, pour son amabilité, pour les discussions que nous avons eues ces trois années et pour m'avoir donné son point de vue sur ce travail en tant qu'industriel.
- Mahmoud, doctorant sous la direction de Monsieur RENAULT à l'URCA, pour sa sympathie et pour les échanges d'informations que nous avons eus durant ces trois ans.

## Résumé

Le but de ce doctorat est de comparer deux procédés basés sur l'extraction liquide-liquide dans le domaine des biotechnologies blanches, secteur industriel et de recherche en pleine expansion. En effet, les procédés d'extraction peuvent être utilisés dans le prétraitement de la biomasse et dans la purification des bioproduits (« downstream-processing »), mais sont peu développés à l'heure actuelle dans ce type d'industrie.

L'acide gallique est choisi comme molécule-modèle car c'est un produit naturel bien connu qui fait partie de la famille majoritaire des bioproduits, les acides organiques. De plus, il est facilement analysable par la méthode de Folin-Ciocalteu. La première partie de ce projet a un double but : déterminer les systèmes chimiques d'étude des deux procédés dans lesquels l'acide gallique est stable et adapter la méthode de Folin-Ciocalteu afin d'analyser l'acide gallique dans ces systèmes. On constate que les acides forts et les solutions-tampons phosphate peuvent être ajoutés dans les solutions d'acide gallique sans compromettre sa stabilité, contrairement aux bases fortes.

L'étude à proprement parler des deux procédés extractifs débute par la recherche du meilleur couple extractant/désextractant pour l'extraction liquide-liquide de l'acide gallique. L'extraction par le phosphate de tributyle (TBP) dilué dans le dodécane et la dés extraction par  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sont choisies pour leur grande efficacité. Nous avons ensuite étudié l'influence de divers paramètres chimiques sur les deux systèmes extractifs afin de comprendre les mécanismes mis en jeu. L'extraction liquide-liquide est limitée par l'équilibre thermodynamique : nous avons mis en évidence l'extraction d'une molécule d'acide gallique sous forme associée par trois molécules de TBP. À titre de comparaison, nous avons étudié la dissolution directe d'acide gallique solide dans la solution organique et montré la coexistence de deux espèces extraites (avec deux et trois molécules de TBP pour une molécule d'acide gallique non dissociée). Cette différence peut être attribuée à la co-extraction d'eau dans le procédé d'extraction liquide-liquide. Dans les deux cas, les constantes d'équilibre ont été calculées. En outre, l'extraction liquide-liquide est efficace pour des concentrations assez élevées de TBP (> 20% v/v).

Quant à l'extraction par émulsion, elle n'est pas limitée par l'équilibre ; si l'émulsion est suffisamment stable (ce qui est le cas pour des concentrations suffisantes de tensioactif), l'extraction peut être totale en quelques minutes avec des concentrations de TBP beaucoup plus faibles (> 3% v/v), ce qui rend ce procédé beaucoup plus respectueux de l'environnement que l'extraction liquide-liquide simple. Une des originalités de ce travail est l'emploi de la méthode des plans d'expériences qui a permis de montrer que la concentration de l'extractant est le seul paramètre significativement influent sur la cinétique d'extraction par émulsion et qui a permis d'optimiser simplement la formulation de l'émulsion. Ce procédé permet

d'obtenir, en une seule étape, l'extraction totale de l'acide gallique en quelques minutes et sa récupération en milieu phosphate sous une forme plus concentrée (facteur 12).

Enfin, la dernière partie de l'étude porte sur l'écoconception de ces deux procédés en remplaçant le dodécane par des agrodiluants afin d'obtenir des procédés encore plus respectueux de l'environnement. L'utilisation d'esters éthyliques d'acide gras permet d'augmenter l'extraction en présence de TBP et même d'éviter son emploi en extraction par émulsion, ce qui est un avantage considérable. L'extraction est plus lente, mais totale en cinq minutes ; toutefois un certain gonflement de l'émulsion limite le facteur de concentration à 10.

Nous avons montré que le procédé d'extraction par émulsion est très efficace et permet un bon facteur de concentration de l'acide extrait. Il est donc tout à fait adapté pour des solutions contenant de faibles ou moyennes concentrations d'acide que l'on veut séparer et concentrer. Il est supérieur à l'extraction liquide-liquide car il est efficace à de très faibles teneurs d'extractant.

L'utilisation d'agrodiluants est extrêmement prometteuse car elle permet de s'affranchir de l'ajout de TBP et représente une piste de choix dans la conception de procédés respectueux de l'environnement. Une perspective évidente est maintenant de tester des tensioactifs agro-sourcés pour stabiliser ces nouvelles éco-émulsions.

Cette étude ouvre une voie de développement considérable, à la fois en terme de traitement des solutions contenant des acides organiques, mais aussi en terme de développement de nouvelles molécules agro-sourcées en remplacement des extractants et diluants issus de la pétrochimie, utilisés traditionnellement en extraction liquide-liquide.

## Abstract

This aim of this study was to compare liquid-liquid extraction (LLE) and extraction by emulsion (ELM) applied to white biotechnologies. Extraction processes can then be useful for two steps of a bioprocess: treatment of biomass and purification of bio-products. Gallic acid was chosen as a model molecule because it is a well-known natural organic acid. It is easily analyzed by the Folin-Ciocalteu method. Besides, organic acids represent the most important family of bio-products.

The first part of this work had two goals: determining the chemical systems for solvent and emulsion extractions in which gallic acid was stable. This analytical method was adapted to these systems and the stability of gallic acid was studied. Strong acids and phosphate buffer solutions can be used as they have no influence on its stability in contrast with strong bases.

A preliminary study devoted to the choice of the couple extractant/stripping agent was performed: TBP as the extractant and  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  as the stripping agent were chosen thanks to

their high efficiency. The influence of many parameters on these two processes was studied to determine the related mechanisms. The first acid-basic equilibrium of gallic acid is important because TBP only extracts the undissociated form of gallic acid. The extracted species contains three molecules of TBP for one molecule of undissociated gallic acid in LLE process, which is limited by equilibrium. The extraction is efficient for relatively high TBP concentrations ( $> 20\%$  v/v). For comparison, two different complexes (two and three molecules of TBP for one molecule of undissociated gallic acid) were identified when solid gallic acid was directly dissolved in the organic solution. This difference can be attributed to a co-extraction of water during the liquid-liquid extraction process. In both cases, the extraction equilibria were calculated.

ELM process was not controlled by equilibrium: if the emulsion was stable, when the surfactant was concentrated enough, the extraction was quantitative within a few minutes with lower extractant concentrations than in LLE process, which made ELM process more environment-friendly. One of the originalities of this work was the use of the experimental design method which showed the influence of only one parameter, the TBP concentration and allowed the optimization of the emulsion formulation. In one step, gallic acid was quantitatively extracted with a few minutes and concentrated by 12 in a phosphate solution.

By using agro-diluents to replace dodecane for more environmental-friendly processes, interesting results were obtained. In ELL, higher extraction yields were obtained with TBP diluted in ethylic esters of fatty acids. Even, in ELM, gallic acid was quantitatively extracted without TBP, which is a huge advantage of these systems. The extraction was slower, but total within five minutes and the concentration factor (10) was lower due to a significant emulsion swelling.

In conclusion, the emulsion extraction process is highly efficient with a high concentration factor of the extracted acid. This process is then quite adapted for the treatment of solutions containing low or mean concentrations of organic acids which must be purified and concentrated. This process is better for environment than solvent extraction due to the fact that very low extractant concentrations are suitable for complete extraction, in contrast with solvent extraction.

Using agro-diluents is very promising for this application because TBP is not used anymore; this is a very interesting result to extend to other environmental friendly applications. A necessary perspective is now to test agro-surfactants to stabilize these new eco-emulsions.

This study opens a wide way of development in two very interesting directions:

- Design of new processes for the treatment of organic acids in biotechnologies
- Development of new agro-molecules for replacing extractants and diluents from petrochemistry, commonly used still today in solvent extraction industry.

# SOMMAIRE

<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>1</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>2</b>
<b>SOMMAIRE</b> .....	<b>5</b>
<b>A. MEMOIRE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>11</b>
<b>A.I. Chimie verte, biomasse et biotechnologies blanches</b> .....	<b>11</b>
A.I.1. Généralités .....	11
A.I.2. Bioalcools .....	15
A.I.2.a. <i>Biométhanol, bioalcool issu du traitement chimique</i> .....	15
A.I.2.b. <i>Bioalcools issus de la fermentation de la biomasse</i> .....	16
A.I.2.c. <i>Autres bioalcools</i> .....	16
A.I.3. Bio-hydrocarbures dont les terpènes .....	17
A.I.4. Acides organiques .....	19
A.I.4.a. <i>Acides gras, coproduits et dérivés</i> .....	19
A.I.4.b. <i>Autres acides carboxyliques</i> .....	19
A.I.4.c. <i>Polyphénols</i> .....	21
A.I.4.d. <i>Acides aminés</i> .....	23
A.I.5. Bilan .....	23
<b>A.II. L'extraction liquide-liquide</b> .....	<b>24</b>
A.II.1. Principe .....	24
A.II.2. Les extractants .....	25
A.II.2.a. <i>Extraction par échange cationique</i> .....	26
A.II.2.b. <i>Extraction par échange anionique</i> .....	26
A.II.2.c. <i>Extraction par solvatation</i> .....	26
A.II.3. Le diluant .....	27
A.II.4. Les modificateurs .....	28
A.II.5. Application aux phénols et acides carboxyliques .....	28
A.II.5.a. <i>Utilisation des extractants basiques</i> .....	29
A.II.5.b. <i>Utilisation des extractants solvants</i> .....	31
A.II.5.c. <i>Utilisation des extractants cationiques</i> .....	32
A.II.6. Écoconception du procédé d'extraction liquide-liquide .....	34
<b>A.III. L'extraction par émulsion</b> .....	<b>35</b>
A.III.1. Les émulsions .....	35
A.III.1.a. <i>Généralités</i> .....	35
A.III.1.b. <i>Tensioactifs et balance hydrophile-lipophile</i> .....	36
A.III.1.c. <i>La déviation hydrophile-lipophile</i> .....	37
A.III.2. Le procédé .....	38
A.III.3. Mécanismes de l'étape d'extraction-désorption .....	40
A.III.3.a. <i>Perméation simple</i> .....	41

A.III.3.b.	<i>Perméation simple associée à une réaction chimique</i> .....	41
A.III.3.c.	<i>Diffusion facilitée</i> .....	41
A.III.3.d.	<i>Transport réactif</i> .....	42
A.III.3.e.	<i>Co-transport</i> .....	42
A.III.3.f.	<i>Contre-transport</i> .....	43
A.III.4.	Extraction par émulsion des acides organiques .....	43
A.III.4.a.	<i>Extraction sans extractant</i> .....	43
A.III.4.b.	<i>Extraction avec extractant</i> .....	47
A.III.5.	Optimisation de l'extraction par émulsion par les plans d'expériences .....	49
A.IV.	Perspectives .....	51

## **B. MISE AU POINT DE L'ANALYSE DE L'ACIDE GALLIQUE.....53**

B.I.	Analyse des solutions aqueuses synthétiques d'acide gallique.....	53
B.I.1.	Protocole choisi.....	53
B.I.2.	Calibration de solutions synthétiques d'acide gallique .....	55
B.II.	Analyse de l'acide gallique en présence d'additifs .....	56
B.II.1.	L'acide gallique dans une solution de chlorure de sodium .....	57
B.II.2.	L'acide gallique en milieu acide .....	58
B.II.3.	L'acide gallique dans la soude.....	59
B.II.4.	L'acide gallique dans un milieu phosphate .....	61
B.II.4.a.	<i>Stabilité de l'acide gallique dans un milieu phosphate</i> .....	61
B.II.4.b.	<i>Influence de la concentration de <math>Na_2HPO_4</math></i> .....	63
B.II.4.c.	<i>Influence du pH</i> .....	64
B.II.5.	Quel blanc choisir ? .....	65
B.III.	Bilan .....	66

## **C. EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DE L'ACIDE GALLIQUE.....67**

C.I.	Choix du couple extractant/déextractant .....	67
C.I.1.	Conditions expérimentales.....	67
C.I.2.	Extraction Liquide-liquide sans extractant.....	68
C.I.3.	Extraction selon une réaction acido-basique.....	68
C.I.4.	Extraction par solvatation .....	69
C.I.5.	Dissolution directe de l'acide gallique dans TBP-dodécane.....	71
C.I.5.a.	<i>Etude cinétique</i> .....	71
C.I.5.b.	<i>Etude du mécanisme</i> .....	72
C.I.6.	Bilan de ce choix .....	74
C.II.	Etude de l'étape d'extraction .....	75
C.II.1.	Influence du $pH_{EQ}$ .....	75
C.II.1.a.	<i>Conditions expérimentales</i> .....	75
C.II.1.b.	<i>Résultats</i> .....	76



C.II.1.c.	<i>Analyse des résultats</i> .....	76
C.II.2.	<b>Influence de la concentration de TBP</b> .....	79
C.II.2.a.	<i>Conditions expérimentales</i> .....	79
C.II.2.b.	<i>Résultats</i> .....	79
C.II.2.c.	<i>Analyse des résultats</i> .....	80
C.II.3.	<b>Influence de la concentration initiale d'acide gallique</b> .....	81
C.II.3.a.	<i>Conditions expérimentales</i> .....	81
C.II.3.b.	<i>Résultats</i> .....	81
C.II.3.c.	<i>Analyse des résultats</i> .....	82
C.III.	<b>Etude de l'étape de la dés extraction</b> .....	<b>83</b>
C.III.1.	<b>Influence de la concentration de dés extractant</b> .....	83
C.III.1.a.	<i>Conditions expérimentales</i> .....	83
C.III.1.b.	<i>Résultats</i> .....	84
C.III.2.	<b>Influence du rapport de volume <math>V_{ORG}/V_D</math></b> .....	84
C.III.2.a.	<i>Conditions expérimentales</i> .....	84
C.III.2.b.	<i>Résultats</i> .....	84
C.IV.	<b>Stabilité et recyclage de la phase organique</b> .....	<b>85</b>
C.IV.1.	<b>Conditions expérimentales</b> .....	85
C.IV.2.	<b>Résultats</b> .....	86
C.V.	<b>Bilan</b> .....	<b>86</b>

## **D. EXTRACTION PAR EMULSION DE L'ACIDE GALLIQUE.....88**

D.I.	<b>Étapes et Paramètres fixés</b> .....	<b>88</b>
D.II.	<b>Pré-étude : Formulation de la membrane</b> .....	<b>89</b>
D.II.1.	<b>Choix du diluant</b> .....	89
D.II.2.	<b>Choix du tensioactif</b> .....	89
D.II.3.	<b>Paramètres d'analyse et notations</b> .....	90
D.II.4.	<b>Extractant ou pas ?</b> .....	92
D.II.4.a.	<i>Membrane sans extractant</i> .....	92
D.II.4.b.	<i>Membrane avec extractant</i> .....	92
D.III.	<b>Influence des paramètres</b> .....	<b>94</b>
D.III.1.	<b>Méthode</b> .....	94
D.III.2.	<b>Résultats</b> .....	94
D.III.2.a.	<i>Résultats généraux</i> .....	94
D.III.2.b.	<i>Influence de la concentration de TBP</i> .....	95
D.III.2.c.	<i>Influence de la concentration du tensioactif</i> .....	97
D.IV.	<b>Généralisation : approche par les plans d'expériences</b> .....	<b>98</b>
D.IV.1.	<b>Plan d'expériences à trois paramètres</b> .....	98
D.IV.1.a.	<i>Méthode</i> .....	98
D.IV.1.b.	<i>Résultats</i> .....	99
D.IV.1.c.	<i>Analyse des résultats : calcul des effets</i> .....	100

D.IV.1.d.	<i>Analyse des effets calculés</i> .....	101
D.IV.1.e.	<i>Représentation de l'effet significatif</i> .....	103
D.IV.2.	Plan fractionnaire d'expériences à sept paramètres .....	104
D.IV.2.a.	<i>Méthode</i> .....	104
D.IV.2.b.	<i>Résultats pour un temps d'extraction égal à 30 s</i> .....	106
D.IV.2.c.	<i>Analyse de ces résultats</i> .....	107
D.IV.3.	Plan fractionnaire complémentaire à sept paramètres .....	108
D.IV.3.a.	<i>Méthode : choix du plan complémentaire</i> .....	108
D.IV.3.b.	<i>Résultats du plan complémentaire</i> .....	109
D.IV.3.c.	<i>Analyse des résultats</i> .....	110
D.V.	Modélisation de la vitesse globale d'extraction.....	113
D.V.1.	Théorie .....	113
D.V.2.	Protocole expérimentale.....	114
D.V.3.	Résultats et validation .....	114
D.VI.	Comparaison avec l'extraction liquide-liquide de l'AG .....	117

## **E. ÉCOCONCEPTION DES PROCÉDES ETUDIÉS .....119**

E.I.	Les agrodiluants en extraction liquide-liquide.....	119
E.I.1.	Choix des agrodiluants.....	119
E.I.1.a.	<i>Les bio-alcools issus de la fermentation</i> .....	119
E.I.1.b.	<i>Terpènes et dérivés hydrogénés</i> .....	119
E.I.1.c.	<i>Esters d'acide gras naturels et dérivés</i> .....	120
E.I.1.d.	<i>Bilan des agrodiluants choisis</i> .....	121
E.I.2.	Méthode d'étude.....	122
E.I.2.a.	<i>Étude cinétique</i> .....	122
E.I.2.b.	<i>Étude thermodynamique</i> .....	122
E.I.3.	Résultats .....	123
E.I.3.a.	<i>Cas du squalane</i> .....	123
E.I.3.b.	<i>Cas des esters éthyliques d'acide gras</i> .....	124
E.I.3.c.	<i>Bilan</i> .....	128
E.I.4.	Stabilité de la phase organique extractante .....	128
E.I.4.a.	<i>Conditions expérimentales</i> .....	129
E.I.4.b.	<i>Résultats</i> .....	129
E.I.5.	Solubilité de l'acide gallique solide dans les esters d'acide gras.....	130
E.I.5.a.	<i>Conditions expérimentales</i> .....	130
E.I.5.b.	<i>Résultats</i> .....	131
E.II.	Les agrodiluants en extraction par émulsion .....	131
E.II.1.	Méthode d'étude .....	132
E.II.2.	Résultats .....	132
E.II.3.	Phénomène de gonflement de l'émulsion.....	134
E.II.4.	Comparaison par rapport aux formulations classiques.....	136
E.II.5.	Comparaison à l'extraction liquide-liquide .....	138

## **CONCLUSION .....139**

**BIBLIOGRAPHIE .....143**

**ANNEXES .....148**

## CONTEXTE

Le projet doctoral, dont cette thèse est un des livrables, s'inscrit dans le cadre du Centre d'Excellence en Biotechnologies Blanches porté par l'École Centrale Paris, en partenariat étroit avec l'Université de Reims-Champagne-Ardennes et les industriels du site des Sohettes basé à Pomacle-Bazancourt (au nord de Reims).

Le but de ce projet est de mettre en place une méthodologie pour comparer divers procédés extractifs appliqués à la récupération de composés issus directement des agro-ressources par extraction ou obtenus après fermentation de la biomasse. Ces substances offrent un grand intérêt économique et environnemental car elles sont susceptibles de remplacer les dérivées du pétrole, ressource de plus en plus chère et rare dont la production et l'utilisation ont des impacts environnementaux non négligeables. Ces procédés extractifs peuvent être utiles aussi lors du prétraitement de la biomasse avant la fermentation.

Parmi ces procédés extractifs, l'extraction liquide-liquide (diphasique) est couramment utilisée dans l'industrie et de nombreux appareils existent actuellement pour sa mise en œuvre. C'est un procédé utilisé dans de vastes domaines tels que la pharmacie, la chimie fine, la pétrochimie, l'hydrométallurgie, le nucléaire et plus récemment, le traitement des effluents.

Le laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux (LGPM) de l'École Centrale Paris travaille depuis de nombreuses années sur ses différents aspects : mise au point de systèmes chimiques d'extraction adaptés à une application particulière, étude du transfert de matière et des phénomènes interfaciaux, intensification du transfert par voie chimique ou physique, modélisation des procédés et du fonctionnement des divers contacteurs et pilotage de procédés continus à l'échelle « Laboratoire ».

Le laboratoire est aussi reconnu comme expert du procédé d'extraction par émulsion, une technique dérivée de l'extraction liquide-liquide et particulièrement intéressante dans les domaines du traitement des effluents liquides, de la valorisation des molécules d'intérêt et de la désintoxication médicamenteuse.

Il est donc envisagé dans cette thèse de comparer l'extraction liquide-liquide et l'extraction par émulsion pour extraire et purifier des molécules d'intérêt produites dans les procédés de valorisation des agro-ressources. Pour ce faire, nous sélectionnerons, après une revue bibliographique exhaustive des bioproduits, une molécule-modèle qui permettra de réaliser cette étude.

# **A. Mémoire bibliographique**

## **A.I. Chimie verte, biomasse et biotechnologies blanches**

### **A.I.1. Généralités**

Beaucoup de produits de la vie quotidienne sont fabriqués par les industries chimiques et pétrochimiques, c'est-à-dire par synthèse chimique contrôlée. Une partie de ces produits est constituée de composés organiques, c'est-à-dire de molécules ayant au moins un atome de carbone et d'un ou plusieurs autres éléments (hydrogène, oxygène, soufre, silicium, phosphore et azote). Les oxydes de carbone et les carbonates et bicarbonates minéraux ne sont pas considérés comme des composés organiques. La plupart des réactifs utilisés sont actuellement issus du pétrole, c'est-à-dire d'une ressource fossile non-renouvelable.

Ces industries sont polluantes à cause des émissions élevées de gaz à effet de serre et de la production de déchets difficiles à éliminer. Différents accidents de ces dernières décennies ont contribué à donner au grand public une image négative de ces industries comme la fuite de gaz toxiques à Bhopal en Inde en 1984, l'explosion sur le site de l'usine AZF à Toulouse en 2001 et plus récemment, la marée noire provoquée par l'explosion d'une plateforme de forage dans le Golfe du Mexique en 2010.

Pour pallier ces problèmes environnementaux et de sécurité, différentes réglementations ont été mises en place comme la directive européenne SEVESO (portant le nom de la ville italienne où a eu lieu un rejet accidentel de dioxine en 1976), qui demande aux États de l'Union Européenne et aux entreprises de lister et de prévenir les risques associés aux activités industrielles dangereuses.

De plus, la dépendance au pétrole est problématique car les pays importateurs comme la France dépendent des situations plus ou moins stables des pays exportateurs et de leurs décisions géopolitiques, mais aussi de la demande des pays développés et émergents. Les coûts de production en sont fortement impactés.

Depuis une dizaine d'années, un nouveau concept de production, la chimie verte [1], a été développé pour concevoir et fabriquer des produits remplissant les besoins demandés, non toxiques et biodégradables, à partir de nouvelles sources renouvelables organiques, avec peu d'énergie et d'auxiliaires chimiques (dont les solvants), en un nombre réduit d'étapes. De plus, les procédés utilisés en chimie verte doivent permettre d'obtenir moins de coproduits et

de déchets afin de limiter les étapes de purification : l'utilisation de catalyseurs spécifiques est donc privilégiée. Les milieux de réaction sont analysés en temps réel pour détecter toute apparition de produits dangereux et pour réagir rapidement contre les accidents qui pourraient se produire.

Les ressources renouvelables organiques [2] proviennent de la biomasse issue de la croissance végétale grâce à la photosynthèse et de la production animale et humaine. Les origines peuvent être davantage précisées :

- la filière arboricole : le bois est en particulier fournisseur de lignocellulose. D'autres éléments arboricoles comme les feuilles, les graines et les galles pour certains arbres peuvent être aussi sources de biomasse.
- la filière agricole et horticole : céréales, maïs, soja, betteraves, canne à sucre...
- la filière marine : algues, micro-algues...
- les déchets animaux et humains : os, excréments...
- la biomasse contaminée et les déchets organiques industriels, dont ceux de l'industrie papetière, de la construction...

Une même ressource végétale peut avoir différentes compositions selon les conditions de sa production (lumière, lieu géographique, saisons, nutriments, eau...), selon son âge et selon la proximité ou non avec des sources de pollution comme les mines et les autoroutes. De ce fait, la biomasse brute peut contenir également une partie minérale sous forme d'oxydes.

Généralement, les produits issus de la chimie verte sont appelés bioproduits par usage. Il n'y a pas de réglementation encadrant l'utilisation du préfixe bio- pour les produits non agricoles et non alimentaires. Le seul cas régulé (par la réglementation européenne n°834/2007 du conseil du 28 juin 2007 relative à la production biologique et à l'étiquetage des produits biologiques) en France concerne justement les produits agricoles ; ce préfixe atteste qu'ils ont été élaborés sous contrôle à chaque étape du procédé et sont fabriqués à partir d'au moins 95% en poids, d'ingrédients d'origine agricole certifiée biologique.

D'autres dénominations existent en France et leur utilisation est parfois régulée. Par exemple :

- biodégradable, c'est-à-dire décomposable par des microorganismes en éléments divers, sans danger pour l'environnement (hormis le CO<sub>2</sub>). C'est une dénomination qui peut porter sur le produit final ou sur un de ses composants explicitement précisé. Différentes normes comme celle sur les emballages valorisables par

compostage ou par biodégradation (NF EN 13432 : 2000) permettent à un bien de porter cette appellation.

- éco-conçu, se dit pour un produit qui a une performance environnementale (en particulier énergétique) optimisée durant tout son cycle de vie, dès l'extraction de ses matières premières jusqu'à son élimination en tant que déchet. Au niveau de l'Union Européenne, la directive européenne n°2009/125 (établissant un cadre pour la fixation d'exigences en matière d'écoconception applicables aux produits liés à l'énergie) peut être citée : elle concerne en particulier les produits consommateurs d'énergie.

Même s'il s'agit d'un bioproduit, qu'il soit naturel ou pas, cela ne signifie pas pour autant qu'il soit sans danger. En France, l'article R. 231-51 du Code du Travail (Annexe I) considère qu'une substance ou une préparation (composée au minimum de deux substances) est dangereuse si elle est :

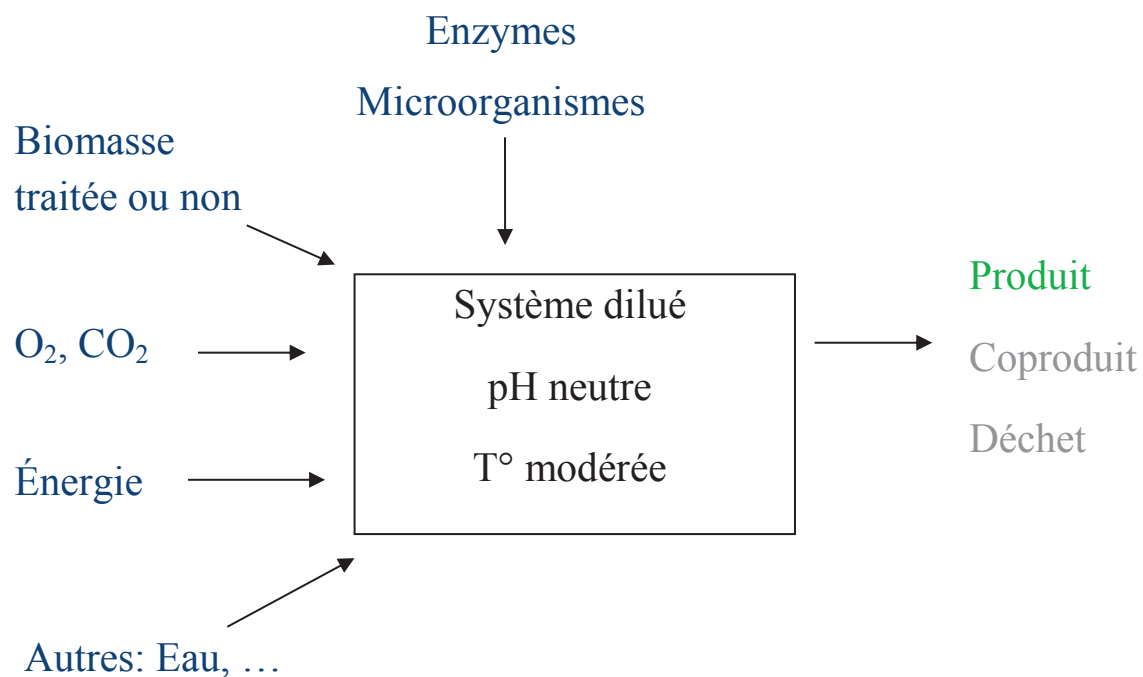
- Explosive
- Comburante
- Inflammable
- Toxique
- Nocive
- Corrosive
- Irritante
- Cancérigène
- Mutagène
- Sensibilisante
- Dangereuse pour l'environnement.

Les biotechnologies blanches représentent une des solutions possibles pour respecter les principes de la chimie verte. Des matières premières organiques extraites de biomasse sont bioconverties en bioproduits utilisés dans la chimie fine et dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires, via la fermentation microbienne ou la biocatalyse [3].

Il existe d'autres types de biotechnologies. Les biotechnologies vertes se consacrent à développer de nouvelles variétés végétales et de nouveaux outils de bioconversion (microbe, catalyseur...). Les biotechnologies rouges développent des bioproduits à intérêt médical comme les protéines. Lorsque la biomasse est issue de la vie marine, l'adjectif « bleu » est parfois utilisé.

Pour la plupart, les procédés biotechnologiques (Figure 1) sont caractérisés par un milieu réactionnel aqueux ou un mélange aqueux-organique, par des températures modérées, par de faibles concentrations de substrats et de produits et par un pH voisin de 7. Cela est dû à la physiologie de la plupart des microorganismes. Quelques-uns peuvent vivre à des températures élevées, à un pH non neutre et à des concentrations élevées de produits, mais ils sont plus rarement utilisés.

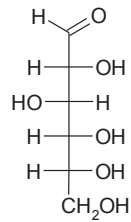
Les bioproduits issus des biotechnologies blanches sont généralement plus « propres » que les mêmes issus par traitement chimique car des étapes peuvent être éliminées et moins de solvants et de réactifs sont utilisés.



**Figure 1 : Schéma d'une étape biotechnologique**

Les sucres venant de plantes sucrières (comme la canne à sucre et la betterave) et de plantes amylacées (c'est-à-dire produisant de l'amidon comme les céréales) font partie des biomasses facilement fermentables. Cependant, pour l'amidon, une pré-hydrolyse enzymatique est nécessaire et un mélange de glucose (Figure 2) et de maltose (constitué de deux glucoses) est obtenu.





**Figure 2 : Le glucose**

Nous allons passer maintenant en revue les principaux bioproduits soient issus directement de la biomasse par extraction, soient obtenus après traitement chimique ou biotechnologique. Cette revue permettra de sélectionner une molécule-modèle représentant les biomolécules pour la mise en place d'une méthodologie de comparaison des deux procédés d'extraction choisis et de choisir des bioréactifs pour l'écoconception de ces deux procédés.

### **A.I.2. Bioalcools**

#### ***A.I.2.a. Biométhanol, bioalcool issu du traitement chimique***

Le biométhanol est fabriqué par voie chimique à partir de bioressources comme le maïs [4] et le bois [5] ou à partir de dérivés de bioressources comme le glycérol [6]. La technique utilisée est la gazéification, qui est composée de deux étapes. La première consiste à convertir la biomasse en un gaz de synthèse, en présence d'oxyde de calcium afin de piéger le dioxyde de carbone qui pourrait se former. Le gaz sortant, composé principalement de monoxyde de carbone (CO) et de dihydrogène (H<sub>2</sub>), est ensuite converti par catalyse en méthanol.

Si la ressource est du bois, ce procédé est très énergivore, par rapport à la fermentation de la même biomasse en bioéthanol. Mais le rendement de la synthèse de biométhanol est meilleur que celui de la fermentation en bioéthanol : à partir de la même quantité de bois, la quantité de méthanol obtenue est 1,75 fois plus importante que celle de l'éthanol. Il est à noter que la fermentation industrielle en bioéthanol requiert une pré-hydrolyse acide du bois. L'hydrolyse enzymatique du bois, procédé plus doux, est encore trop onéreuse à l'échelle industrielle à cause du coût des enzymes ; de plus, elle requiert un prétraitement spécifique en fonction de la biomasse utilisée.

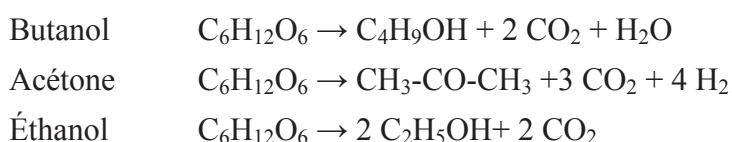
Le méthanol produit peut être utilisé en tant que carburant ou mélangé à l'essence.

### ***A.I.2.b. Bioalcools issus de la fermentation de la biomasse***

À partir de sucres, en particulier à partir du glucose, plusieurs bioalcools peuvent être obtenus [7]. Le plus courant est l'éthanol. La conversion anaérobie est catalysée par une enzyme produite par une levure, par exemple *Saccharomyces Cerevisiae* qui est la plus couramment utilisée. La réaction est théoriquement  $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 C_2H_5OH + 2 CO_2$ . Le mélange obtenu après fermentation est appelé « vin » et l'éthanol est séparé des autres composants de ce vin grâce à deux étapes : la distillation permettant d'obtenir une pureté de 96% en masse, puis la déshydratation pour une pureté supérieure à 99,7% (éthanol anhydre).

Le bioéthanol est couramment utilisé en tant que biocarburant et pourrait l'être dans la production des esters éthyliques d'acide gras. Le résidu liquide de la distillation, appelé « vinasse », est valorisé en tant que fertilisant lorsque le sucre est issu de betteraves ou en tant qu'alimentation animale lorsque le sucre vient de l'amidon des céréales. Les pulpes de betteraves et les drèches des céréales (graines sèches sans amidon et sans alcool) servent à l'alimentation animale.

La bactérie *Clostridium acetobutylicum* permet d'obtenir industriellement un autre biocarburant, le butanol, avec l'éthanol et l'acétone comme coproduits. Le mélange peut couper l'essence ou le gazole. Les réactions théoriques sont :



D'après la littérature, le propanol peut être aussi produit par voie fermentaire. Différentes bactéries génétiquement modifiées sont utilisées [8, 9]. Le mécanisme est complexe : dans une même bactérie, différentes étapes ont lieu et différents intermédiaires sont produits avec différentes enzymes.

### ***A.I.2.c. Autres bioalcools***

D'autres bioalcools peuvent être produits. On peut en outre en retrouver après la saponification des corps gras.

On peut citer comme exemple le glycérol (Figure 3) qui peut être utilisé dans la composition de produits de santé, d'alimentation, de peinture et de textile. Il peut être converti par des microorganismes eucaryotes tels que des micro-algues et des levures en produits

métaboliques à forte valeur ajoutée [10]. Comme il a été dit auparavant, le glycérol peut être gazéifié en dihydrogène et en monoxyde de carbone pour produire du méthanol.

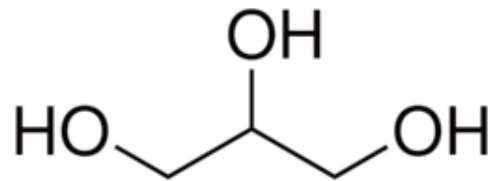


Figure 3 : Le glycérol

On peut également citer les stérols (dont le cholestérol, figure 4) qui sont des alcools polycycliques et la vitamine A (Figure 5).

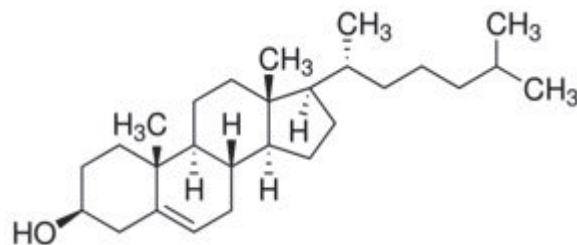


Figure 4 : Le cholestérol

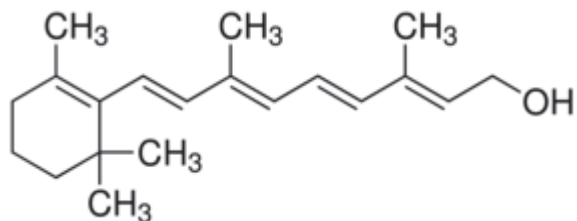
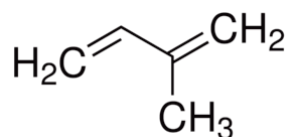


Figure 5 : La vitamine A

### A.I.3. Bio-hydrocarbures dont les terpènes

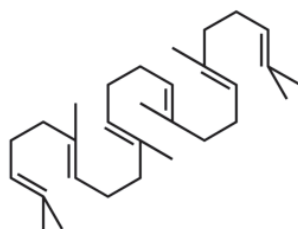
On peut produire des bio-hydrocarbures saturés ou insaturés (c'est-à-dire comportant une seule ou plusieurs fonctions alcènes).

Les terpènes en font partie. Il s'agit d'une large famille de molécules de différentes masses molaires classées en fonction de leur nombre d'unités d'isoprène (Figure 6) : monoterpène (C10), sesquiterpène (C15), diterpène (C20), ... Des fonctions de substitution peuvent remplacer les atomes d'hydrogène.



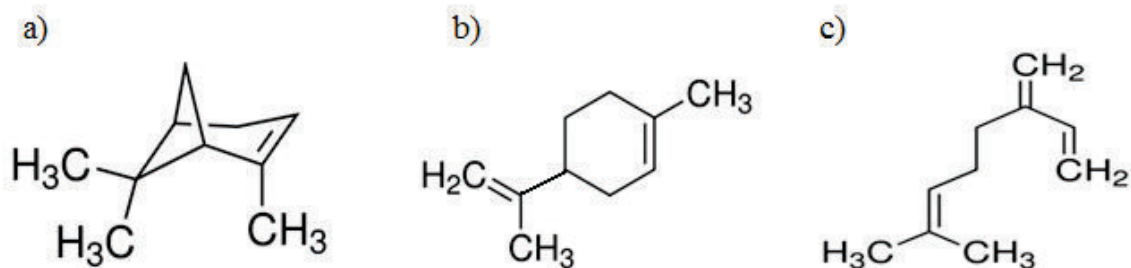
**Figure 6 : L'isoprène**

Les terpènes sont des molécules très utilisées dans les industries pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire. Par exemple, le squalène (Figure 7), présent en grande quantité dans le foie des requins (d'où son nom), est utilisé en tant qu'adjuvant vaccinal sous forme d'émulsions, en tant d'agent protecteur et préventif contre les tumeurs cancéreuses et en tant que moyen de transport des principes actifs par les voies intraveineuse, cutanée ou orale [11]. Le squalane, forme hydrogénée, peut être utilisé dans les émulsions car il est plus stable que le squalène qui est sensible à l'oxydation comme tout terpène [12].



**Figure 7 : Le squalène**

Les monoterpènes pourraient être utilisés dans l'industrie chimique pour fabriquer des molécules plus complexes telles que des terpènes plus longs et des polymères [13]. Ils pourraient être obtenus de leur source correspondante (par exemple, le limonène à partir du citron), mais cette technique n'est pas encore rentable, à cause des faibles rendements et des coûts d'extraction élevés. Industriellement, ils sont obtenus à partir de turpentine, mélange de terpènes volatils (dont le pinène, le limonène et le myrcène, Figure 8). La turpentine s'obtient sous forme de gomme extraite d'arbres vivants (en particulier des conifères comme les pins) et sous forme de sulfate de turpentine coproduite à partir de copeaux de bois mort traités par le procédé Kraft pour la fabrication du papier.



**Figure 8 : Quelques monoterpènes volatils dont a) Pinène b) Limonène et c) Myrcène**

#### **A.I.4. Acides organiques**

Différentes fonctions leur confèrent leur acidité : acide carboxylique, acide aminé et phénol.

##### ***A.I.4.a. Acides gras, coproduits et dérivés***

Les acides gras [14] sont des monoacides carboxyliques avec une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue. Ils existent dans les huiles et les graisses végétales et animales sous la forme d'esters de glycérol ou d'esters de cholestérol et forment la majorité des corps gras végétaux et animaux : les acides s'obtiennent par hydrolyse basique des esters. Les huiles se distinguent des graisses par leur point de fusion : à 15°C, les huiles sont liquides alors que les graisses sont solides.

La chaîne des acides gras contient généralement un nombre pair d'atomes de carbone (entre 4 et 30), dû à la synthèse par combinaison de radicaux acétiques. La chaîne peut être :

- linéaire ou ramifiée.
- saturée ou insaturée : l'insaturation de la chaîne carbonée confère à l'acide gras des propriétés anti-oxydantes et le rend instable par rapport à l'air et à la lumière.

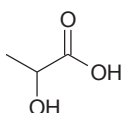
La transestérification des huiles et des graisses en présence d'alcool léger permet d'obtenir des esters utilisables en tant que biocarburants : en effet, les huiles et graisses végétales et animales ne peuvent être utilisées directement dans les moteurs actuels car elles sont trop visqueuses et peuvent s'auto-enflammer facilement. L'alcool le plus couramment utilisé est le méthanol qui permet de fabriquer des esters méthyliques. D'après le Ministère français de l'Écologie, l'alcool pourrait aussi être l'éthanol mais la production industrielle des esters éthyliques rencontre actuellement quelques verrous technologiques à résoudre. Ces esters d'alcool léger et d'acide gras sont aussi utilisés comme solvants dans les solutions de nettoyage.

##### ***A.I.4.b. Autres acides carboxyliques***

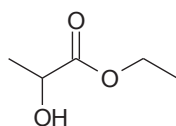
Généralement, ces autres acides carboxyliques peuvent être produits à partir de la fermentation des sucres.

Par exemple, l'un des plus simples acides carboxyliques, l'acide lactique (Figure 9), provient originellement de la fermentation du lactose du lait par certaines bactéries utilisées

pour la fabrication du yaourt. Industriellement, il est produit à partir d'amidon de maïs hydrolysé. L'acide lactique sert à synthétiser par polymérisation l'acide polylactique, un matériau biodégradable utilisé dans les emballages de l'industrie agroalimentaire. On peut aussi obtenir, par estérification de l'acide lactique avec l'éthanol, le lactate d'éthyle (Figure 10), qui est utilisé à froid comme nettoyant et dégraissant des pièces métalliques et comme solvant de colorants basiques, de la nitrocellulose et des résines cellulosiques [15].

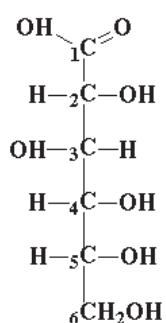


**Figure 9 : L'acide lactique**



**Figure 10 : Le lactate d'éthyle**

D'autres biosynthèses d'acides carboxyliques peuvent être citées comme la simple oxydation de la fonction aldéhyde du glucose pour obtenir l'acide gluconique (Figure 11). Les fonctions alcools en position 2 et 5 de ce dernier peuvent être de nouveau oxydées en cétones afin d'obtenir les acides 2- et 5- céto gluconique et 2,5-dicéto gluconique. Ces produits peuvent être utilisés comme intermédiaires de synthèse. Par exemple, l'acide tartrique est produit à partir de l'acide 5-céto gluconique avec du vanadium comme catalyseur dans des milieux contenant des oxoanions comme le phosphate, le borate ou le carbonate [16].



**Figure 11 : L'acide gluconique**

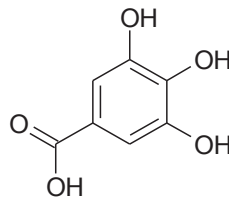
On peut trouver des bactéries spécifiques à la production de chaque molécule voulue. Le *gluconobacter oxydans* est une bactérie utilisée pour la production de l'acide 2,5-dicéto gluconique à partir du glucose, en passant par l'acide gluconique et l'acide 2-céto gluconique comme intermédiaires, grâce à des enzymes spécifiques situées dans sa

membrane [17]. L'*enterobacter intermedium* produit de l'acide 2-cétogluconique à partir du glucose [18]. Cette production consomme du phosphore, en particulier le phosphore inorganique complexé par le fer, l'aluminium ou le carbonate de calcium, trouvé dans les engrais et inutilisable par les plantes. La modification génétique de souches de *gluconobacter oxydans*, favorisant la production de l'enzyme Gluconate NADP<sup>+</sup> 5-oxydoréductase au lieu de l'enzyme GADH Gluconate Déshydrogénase (oxydant l'alcool en position 2 de l'acide gluconique pour donner l'acide 2-cétogluconique) permet d'obtenir majoritairement de l'acide 5-cétogluconique [19].

#### ***A.I.4.c. Polyphénols***

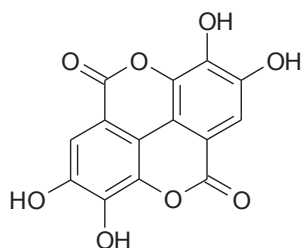
Les polyphénols sont des molécules plus ou moins complexes comportant plusieurs fonctions phénols attachées à un ou plusieurs cycles aromatiques. C'est une famille de molécules très répandues dans les végétaux.

Le principal polyphénol naturel est l'acide trihydroxybenzoïque, plus communément connu sous le nom d'acide gallique (Figure 12). Il s'agit d'un acide organique avec une fonction « acide carboxylique » dont le pKa vaut 4,26 [20]. Les groupes phénols ont deux fonctions acides très faibles : d'après la même source, leurs pKa sont de 8,70 et de 11,45. C'est une molécule polaire, légèrement soluble dans l'eau (10 g/L à 20°C [21]).



**Figure 12 : L'acide gallique**

L'acide gallique peut être trouvé dans la nature, en particulier dans les galles de chêne (d'où son nom), sous forme libre et majoritairement sous forme de gallotannin, c'est-à-dire d'ester de sucre et d'acide gallique. Afin de récupérer la molécule libre d'acide gallique, les tannins peuvent être hydrolysés en milieu acide concentré à température élevée, la solubilité de l'acide gallique augmentant avec la température [22]. Dans ce même article, l'acide ellagique (Figure 13), qui est aussi un important polyphénol naturel existant sous les deux formes « libre » et « tannin », est également extrait des fruits étudiés. Contrairement à l'acide gallique, l'acide ellagique est quasiment insoluble dans l'eau (à  $10 \pm 3$  mg/L à 37°C) [23].



**Figure 13 : L'acide ellagique**

Les tannins peuvent être également décomposés par voie biotechnologique, c'est-à-dire par des microorganismes. Cette voie permettant de récupérer les polyphénols libres est en développement depuis plusieurs années [24, 25, 26] et pourrait remplacer la voie chimique, qui consomme une quantité élevée d'acide et produit ainsi beaucoup d'effluents. C'est en étudiant la raison pour laquelle des plantes, des champignons et des bactéries pouvaient produire l'acide gallique que plusieurs enzymes, appelées tannases, pouvant séparer l'acide gallique des sucres ont été découvertes. Les études portent sur la recherche des meilleurs microorganismes producteurs de tannases et d'acide gallique. Les paramètres sont optimisés : la température idéale est environ à 30°C et le pH à 4,5.

En tant qu'antioxydant, l'acide gallique est utilisé comme molécule de référence dans la méthode analytique des phénols totaux en solution aqueuse par le réactif de Folin-Ciocalteu [27]. Ce dernier est développé à partir du réactif de Folin-Denis composé des acides phosphotungstique et phosphomolybdique, en y ajoutant du sulfate de lithium pour éviter la formation de précipités. Le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit par les phénols en milieu basique en un mélange complexe d'oxydes de tungstène et de molybdène dont la structure et la longueur d'onde ne dépendent pas de la composition initiale en phénols. Par contre, la valeur de l'absorbance dépend de la composition initiale en phénols.

L'acide gallique est connu en tant qu'antimicrobien [28]. Il est estérifié dans l'industrie agroalimentaire pour obtenir des additifs antioxydants comme le gallate de propyle (E310), le gallate d'octyle (E311), le gallate de dodécyle (E311) et le gallate d'éthyle (E312). Il est aussi utilisé comme molécule de base pour synthétiser des principes actifs pharmaceutiques et cosmétiques : le gallate de tyrosol peut être utilisé en tant qu'inhibiteur de la formation de mélanine [29]. L'acide ellagique est aussi utilisé pour les mêmes fonctions, d'après les articles précédents le citant.



#### A.I.4.d. Acides aminés

Les microorganismes, en particulier les micro-algues [30], peuvent être sources d'un autre type d'acides organiques, les acides aminés après hydrolyse enzymatique des protéines (séries d'au moins 50 acides aminés, le terme « peptide » étant réservé aux séries plus courtes). Un acide aminé [31] est un composé organique tel que sur un de ses atomes de carbone, noté  $C_\alpha$ , sont attachés un groupe carboxyle  $-\text{COOH}$ , un groupe amine primaire  $-\text{NH}_2$ , un atome d'hydrogène  $-\text{H}$  et une chaîne latérale  $-\text{R}$ . Dans le cas où le groupement R n'a pas de fonction acido-basique, l'acide aminé existe sous trois formes, en fonction du pH du milieu :

- le cation,  $\text{H}_3\text{N}^+-\text{CRH}-\text{COOH}$
- le zwitterion  $\text{H}_3\text{N}^+-\text{CRH}-\text{COO}^-$
- l'anion  $\text{H}_2\text{N}-\text{CRH}-\text{COO}^-$ .

À l'exception de la glycine où R est un atome d'hydrogène,  $C_\alpha$  est un atome de carbone asymétrique : deux représentations sont possibles, la L et la D (Figure 14). Seuls les L- $\alpha$ -acides aminés existent dans les protéines de tous les êtres vivants, ils sont au nombre de 20. Cependant, les D- $\alpha$ -acides aminés existent dans la nature et participent à d'importants processus biochimiques.

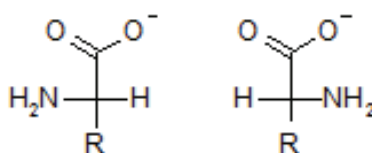


Figure 14 : Représentation de Fischer des acides aminés (à gauche, le L et à droite, le D)

#### A.I.5. Bilan

En fait, au départ, on devait sélectionner une molécule-test pour la comparaison des deux procédés d'extraction sélectionnés parmi les produits de Soliance, l'entreprise partenaire de ce projet doctoral : acide 2-cétogluconique, acide 5-cétogluconique, acide 2,5-dicétogluconique, mélanges de peptides et acide ellagique.

Or les moyens du laboratoire n'ont pas permis d'obtenir une méthode analytique simple, robuste et rapide de ces produits.

Par conséquent, nous avons dû choisir un autre produit qui reste tout de même représentatif des biotechnologies blanches, grâce à cette revue.

L'acide gallique est un bon compromis car il appartient aux acides organiques, les biomolécules majoritaires d'après cette revue : il est d'autant plus intéressant car il a deux types de fonction « acide » (carboxylique et phénol). De plus, il est facilement disponible.

La figure suivante montre la répartition des espèces prédominantes de l'acide gallique (dont les pKa sont 4,26, 8,70 et 11,45) en fonction du pH (Figure 15) : sa forme non dissociée est notée AH<sub>3</sub> ; la notation « AG » est utilisée pour parler de l'acide gallique en tant que produit ou sous toutes ses formes.

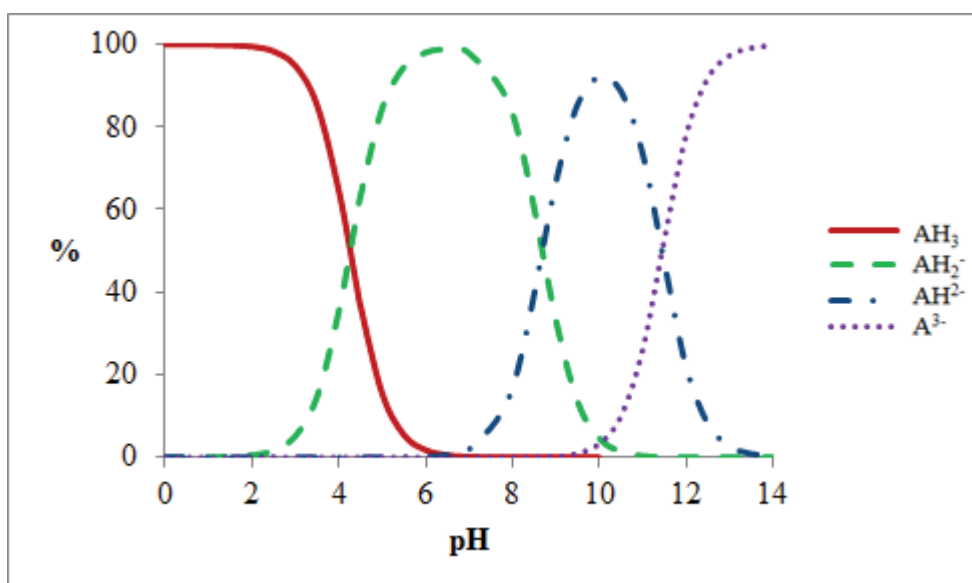


Figure 15 : Répartition des espèces de l'acide gallique en fonction du pH

## A.II. L'extraction liquide-liquide

### A.II.1. Principe

L'extraction liquide-liquide est un procédé bien connu industriellement et constitué de deux étapes séparées (Figure 16). Le soluté à extraire est considéré au départ dans une solution aqueuse A. Le soluté est d'abord extrait à partir de cette phase aqueuse A vers une phase organique B non miscible avec la phase A. Puis, le soluté est désextrait de la phase B vers une nouvelle phase aqueuse C afin de régénérer la phase B et de lui permettre d'effectuer un nouveau cycle d'extraction.

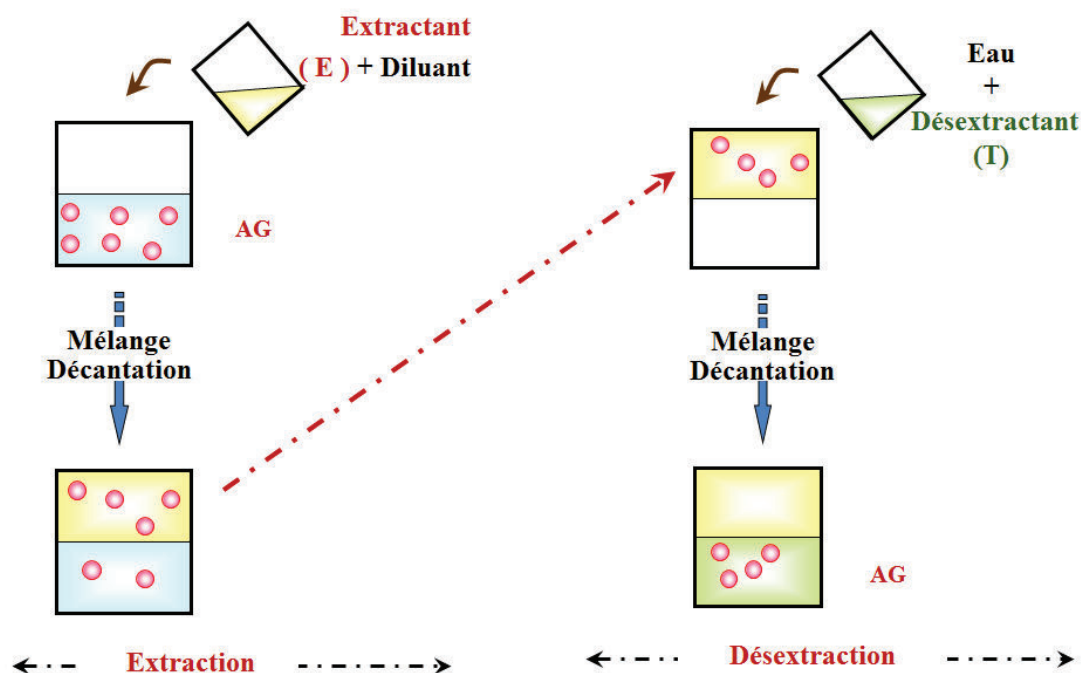


Figure 16 : Schéma de l'extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est un procédé contrôlé par la thermodynamique. Le partage d'un soluté entre la phase aqueuse et la phase organique est mesuré par le coefficient de partage ( $q$ ) qui se définit comme le ratio de la concentration de ce soluté dans la phase organique ( $[X]_{org}$ ) par rapport à celle dans la phase aqueuse ( $[X]_{aq}$ ) à l'équilibre.

$$q = \left( \frac{[X]_{org}}{[X]_{aq}} \right)_{EQ}$$

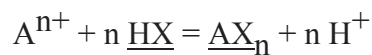
La problématique de l'extraction liquide-liquide est le choix judicieux de la phase organique extractante afin d'obtenir le coefficient de partage le plus élevé possible, sans rendre la dés extraction trop difficile et tout en gardant une bonne sélectivité s'il y a plusieurs espèces présentes.

### A.II.2. Les extractants

La phase organique est un mélange d'extractant et de diluant. C'est l'extractant qui réagit avec le soluté à extraire. Différentes classes d'extractants ont été proposées en fonction de leur mécanisme de réaction chimique avec le soluté [32]. Les équilibres réactionnels sont décrits : les espèces soulignées sont dans la phase organique et celles qui ne le sont pas dans la phase aqueuse.

### ***A.II.2.a. Extraction par échange cationique***

L'extractant échange un ou plusieurs protons pour extraire un soluté présent sous forme cationique dans la phase aqueuse :

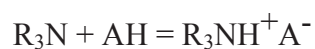


Les échangeurs de cations, dits aussi extractants acides, sont par exemple des chélatants qui peuvent emprisonner la molécule à extraire dans une sorte de pince et des acides organophosphorés ou carboxyliques.

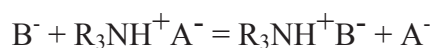
### ***A.II.2.b. Extraction par échange anionique***

Les échangeurs d'anions, dits aussi extractants basiques, sont des amines et des sels d'ammonium quaternaire.

Une amine (par exemple tertiaire)  $R_3N$ , où R- est un atome d'hydrogène ou un groupe carboné, subit une salification préalable par un acide minéral AH et devient un sel d'ammonium quaternaire :

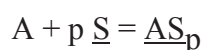


C'est le sel d'ammonium quaternaire qui réagit avec le composé à extraire sous forme anionique,  $B^-$  :



### ***A.II.2.c. Extraction par solvation***

Dans ce type de mécanisme, l'extractant se comporte comme une base de Lewis par le biais d'un doublet électronique libre qui peut être donné à la molécule à extraire dans une liaison de type donneur-accepteur :



Généralement, les atomes portant ce doublet électronique libre sont l'oxygène et le soufre.

### A.II.3. Le diluant

Souvent, l'extractant est un liquide assez visqueux ou un solide. Le diluant a pour but de solubiliser l'extractant et de rendre la phase organique peu visqueuse. Il s'agit du composant prépondérant de la phase organique.

En extraction liquide-liquide [33], la phase organique extractante est caractérisée, outre sa capacité d'extraction, par :

- une différence de masse volumique avec l'eau permettant d'avoir une décantation aisée après contact des deux phases.
- une viscosité faible permettant d'éviter des difficultés de pompage et de faciliter le contact des deux phases et leur séparation.
- une très faible solubilité dans l'eau.
- une tension interfaciale pas trop élevée avec la phase aqueuse pour favoriser la dispersion des phases et augmenter la surface de contact mais pas trop faible pour avoir une coalescence rapide lors de la décantation ; un compromis doit être effectué.
- un coût faible et une grande disponibilité.
- de faibles dangers (Cf. A.1.1. pour les différentes classes de dangers).

Le diluant doit dissoudre les composants de la phase extractante. Cependant, il n'a pas forcément le devoir d'extraire seul le soluté mais il doit solubiliser le complexe formé entre le soluté et l'extractant.

Le diluant peut être ainsi choisi parmi les solvants. Ces derniers sont classés en cinq différentes classes [34] :

- les liquides dont les molécules forment un réseau 3D et ont des liaisons hydrogène fortes comme l'eau et les polyalcools.
- les liquides dont les molécules sont en forme de chaînes carbonées et ont en même temps des liaisons hydrogène fortes et des atomes donneurs comme les alcools primaires, les acides carboxyliques et les amines primaires et secondaires.
- les liquides dont les molécules ont des atomes donneurs (N, O) sans atome d'hydrogène actif comme les éthers, les cétones, les aldéhydes, les esters et les amines tertiaires.
- les liquides disposant d'atomes d'hydrogène actifs sans avoir de liaison forte et sans atome donneur comme le chloroforme.
- les liquides sans liaison hydrogène et sans atome donneur comme les alcanes.

Pour distinguer ces différentes classes, deux paramètres les caractérisant sont en général pris en compte : leur moment dipolaire,  $\mu$  en Debye (D) et leur constante diélectrique,  $\epsilon_r$  (sans unité). Si  $\mu > 1,3$  D, le liquide est polaire et si  $\mu < 0,5$  D, il est apolaire. Si  $\epsilon_r > 40$ , le liquide est dissociant et si  $\epsilon_r < 20$ , il est peu ou pas dissociant.

Les principaux diluants utilisés sont les alcanes et les alcools comportant un nombre d'atomes de carbone suffisant pour être peu solubles dans l'eau.

**Tableau I : Diluants organiques et leurs caractéristiques (Masse volumique et  $\epsilon_r$  à 25°C)**

Diluant	Masse volumique (kg/L)	$\mu$ (D)	$\epsilon_r$
Hexane	0,655	0,09	1,88
Octane	0,699	0	1,95
Décane	0,726	0	1,99
Dodécane	0,745	0	2,00
Hexan-1-ol	0,816	1,55	13,30
Octan-1-ol	0,822	1,76	10,34

Par comparaison, la masse volumique de l'eau est de 1 kg/L, son moment dipolaire de 1,85 D et sa constante diélectrique de 78,36.

Les alcanes sont donc apolaires et peu dissociants.

#### **A.II.4. Les modificateurs**

Il existe un troisième composant de la phase organique extractante en extraction liquide-liquide, le modificateur, dans le cas où le diluant est apolaire. Il n'est nécessaire que dans le cas où une troisième phase apparaît, lorsque le complexe soluté-extractant n'est pas soluble dans le diluant. Il s'agit soit d'un alcool lourd, soit d'un ester. Parfois, il est appelé « diluant actif » par rapport au diluant lui-même dit « passif ».

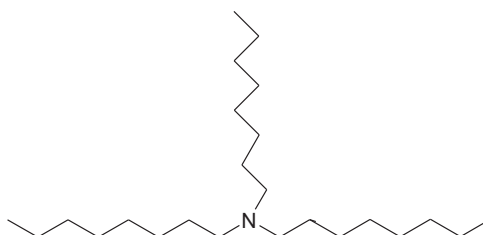
#### **A.II.5. Application aux phénols et acides carboxyliques**

L'extraction liquide-liquide de l'acide gallique en utilisant une phase organique extractante n'a pas été encore traitée, d'où un autre intérêt de notre étude. On peut tout de même citer l'étude récente de Cláudio et al (2012) [35] sur l'extraction de l'acide gallique avec un système à deux phases aqueuses, en utilisant les liquides ioniques.

L'extraction liquide-liquide d'innombrables autres acides organiques a déjà été étudiée. Nous allons voir quels extractants ont été utilisés et l'influence des différents paramètres sur ce procédé.

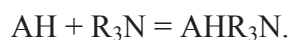
#### *A.II.5.a. Utilisation des extractants basiques*

Comme les acides organiques sont des donneurs de protons ( $H^+$ ), leurs meilleurs extractants seraient des récepteurs de protons, c'est-à-dire des bases comme les amines tertiaires dont la trioctylamine (TOA).



**Figure 17 : La trioctylamine**

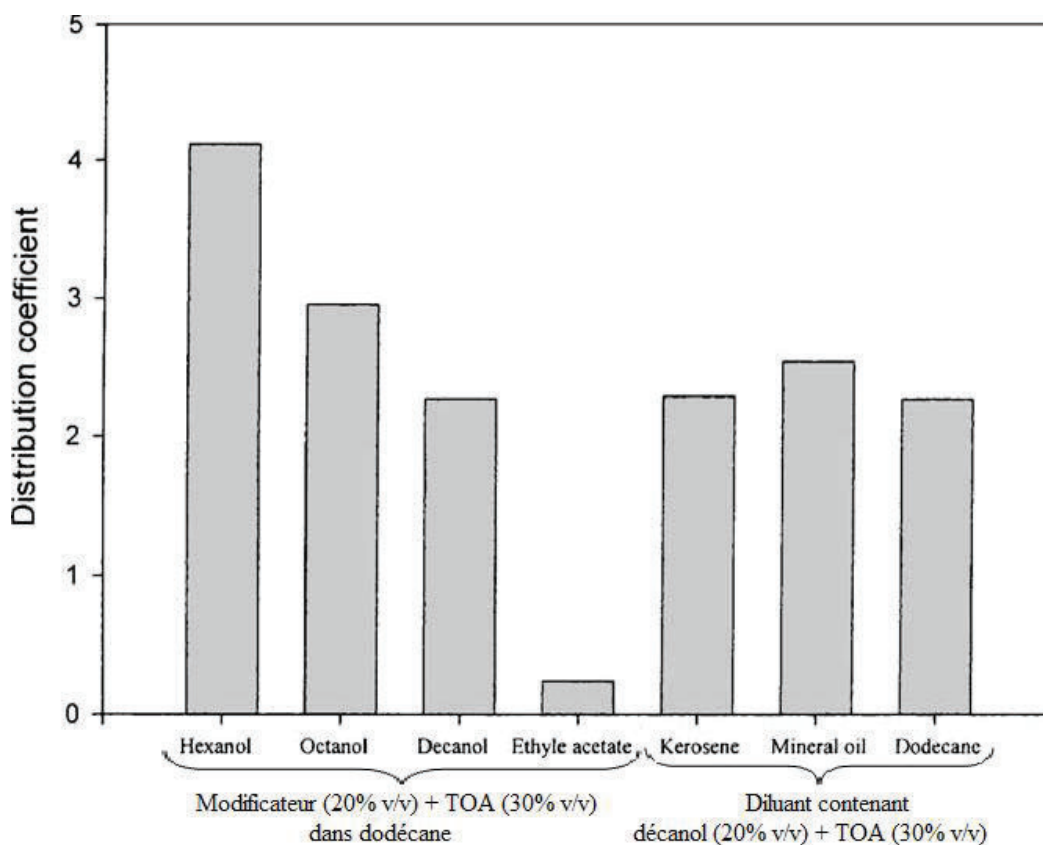
Les amines tertiaires sont plus efficaces que les primaires et secondaires car elles sont plus basiques. La réaction correspondante est alors :



Le désextractant doit être une base plus forte que les amines (par exemple la soude, NaOH).

L'extraction des acides organiques par les amines est un cas très étudié. Souvent, un modificateur est ajouté pour éviter la formation d'une troisième phase due à la faible solubilité des complexes formés entre l'amine et la molécule à extraire.

L'extraction de l'acide lactique issu de fermentation [36] peut être citée. L'influence de différents paramètres est étudiée, notamment le diluant et le modificateur (Figure 18). Toutes les phases organiques contiennent 30% v/v de TOA, 20% v/v de modificateur et 50% v/v de diluant. Le modificateur dilué dans le dodécane est choisi parmi l'hexanol, l'octanol, le décanol et l'acétate d'éthyle. Le diluant contenant du décanol comme modificateur peut être choisi parmi le dodécane, une huile minérale et le kérosène.



**Figure 18 : Choix du diluant et du modificateur pour l'extraction de l'acide lactique**

À concentration de TOA constante, les alcools lourds dilués dans le dodécane permettent d'obtenir de meilleurs taux d'extraction que l'ester dilué dans le dodécane. Plus la chaîne de ces alcools est courte, plus l'extraction est importante. Cependant, les alcools sont toxiques pour les microorganismes, ce qui interdit de recycler le milieu de culture après extraction de l'acide : l'hexanol et l'octanol le sont encore plus que le décanol. D'autre part, quel que soit le diluant testé, à concentrations de TOA et de décanol constantes, le même taux d'extraction est obtenu. Or le dodécane est connu pour avoir une faible toxicité sur les microorganismes. Ainsi, l'auteur de l'article décide de poursuivre l'étude avec un mélange dodécane-décanol-TOA.

L'étude de l'influence de la concentration de TOA sur le coefficient de partage de l'acide lactique à concentration de décanol constante (20% v/v) montre que le complexe extrait est composé d'une molécule de TOA et d'une molécule d'acide lactique. Avec des concentrations plus élevées de décanol, les coefficients de partage obtenus sont plus élevés car le décanol peut sans doute extraire l'acide lactique.

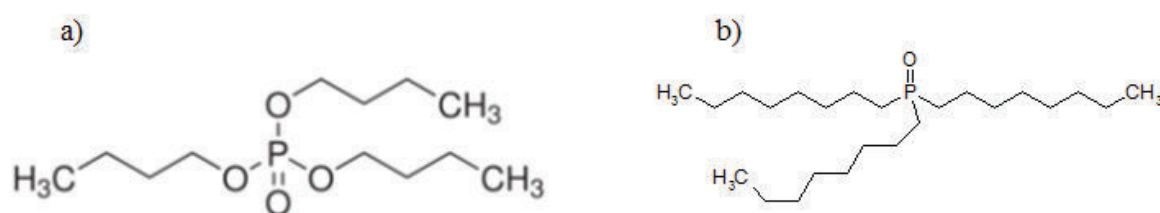
Yunhai et al (2006) [37] étudient l'extraction de l'acide glycolique par la TOA dilué dans un mélange de kérosène (diluant) et de décanol (modificateur) à différents pH. Plus le



pH diminue, meilleure est l'extraction : l'auteur suppose que l'amine ne réagirait qu'avec la forme non dissociée de l'acide et qu'elle pourrait faire une liaison hydrogène avec le proton de l'acide. La température ne semble pas avoir un effet particulier entre 25 et 35°C.

#### *A.II.5.b. Utilisation des extractants solvatants*

Les acides organiques peuvent être extraits par solvatisation. Quelques cas d'étude sur le sujet existent. Les extractants utilisés sont par exemple le phosphate de tributyle (TBP) et l'oxyde de trioctylphosphine (TOPO). Le désextractant est une base permettant d'obtenir la forme dissociée du soluté qui ne peut pas être pas extraite par ce type d'extractant.



**Figure 19 : a) Le TBP et b) le TOPO**

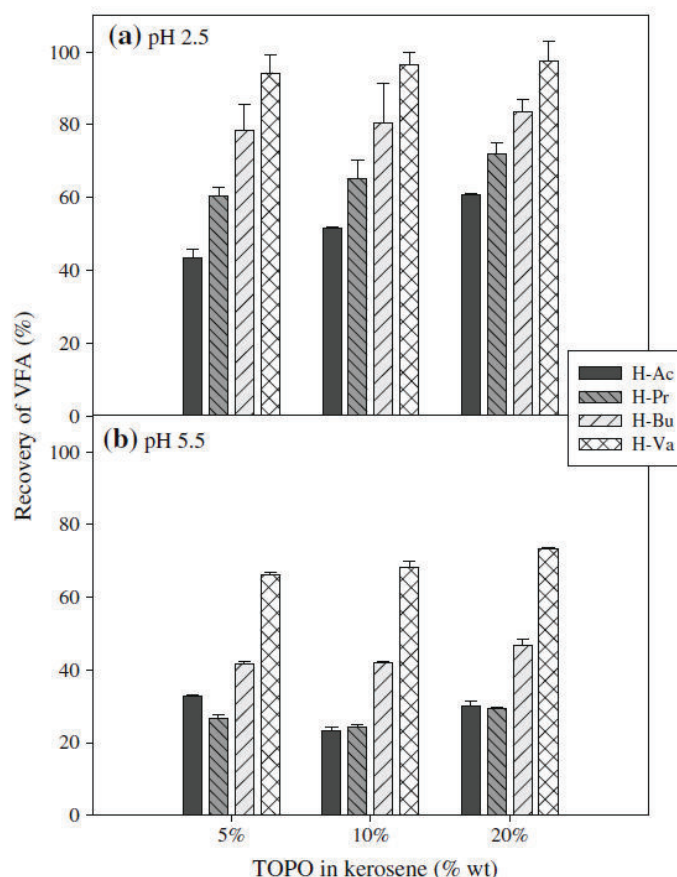
L'étude de Keshav et al (2009) [38] peut être prise comme exemple : il s'agit de l'extraction liquide-liquide de l'acide propanoïque par le TBP. Dans cette étude, le taux d'extraction est défini comme le ratio de la concentration du soluté extrait dans la phase organique à l'équilibre par rapport à celle initiale dans la phase aqueuse d'alimentation. Plus la concentration de TBP est élevée, plus le taux d'extraction augmente.

Le choix du diluant a un effet sur l'extraction de l'acide propanoïque par le TBP. Le toluène est le meilleur diluant, puis l'éther de pétrole et l'heptane qui présentent des résultats assez proches.

Une autre étude d'extraction de différents acides carboxyliques courts par le même mécanisme, mais avec le TOPO dans le kérosène [39], montre l'influence du pH. Ces acides, produits par fermentation anaérobie, sont l'acide acétique, l'acide propanoïque, l'acide butyrique et l'acide valérique. Ils ont un pKa compris entre 4 et 5 et sont volatils.

À pH = 2,5, l'extraction est meilleure qu'à pH = 5,5 car le TOPO extrait la forme non dissociée des acides (Figure 20). Il est à noter qu'à concentration de TOPO constante, plus l'acide est court, plus son taux d'extraction est bas : plus l'acide a une affinité pour l'eau

(c'est-à-dire plus il est hydrophile), plus il est difficile de l'extraire de l'eau vers une phase organique.



**Figure 20 : Extraction de différents acides par le TOPO**

Zidi et al (2010) [40] montrent que le TBP à 50% v/v dans différents diluants (hexane, décane, 2-octanol, kérosène et xylène) peut extraire le phénol dans le cas du traitement des eaux usées : le phénol est un produit toxique et difficilement dégradable. Le taux d'extraction est supérieur à 95 %, excepté pour le xylène (21 %),

#### *A.II.5.c. Utilisation des extractants cationiques*

Les extractants cationiques sont utilisés dans l'extraction des acides aminés. L'étude de Juang et al (2002) peut être citée en exemple pour séparer un mélange d'acides aminés (dont la phénylalanine et l'acide aspartique) par l'acide di(2-éthylhexyl)phosphorique (D2EHPA) dilué dans le kérosène [41].

Dans cet article, les expériences d'extraction liquide-liquide sont faites en pré-étude pour l'extraction par émulsion afin de déterminer le coefficient de partage et le mécanisme associé à l'extractant.

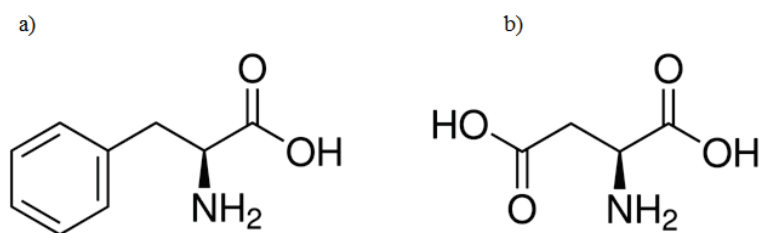


Figure 21 : Des acides aminés dont a) la L-phénylalanine et b) l'acide L-aspartique

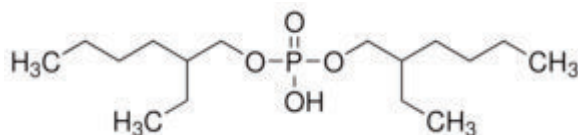


Figure 22 : Le D2EHPA

Le tableau suivant montre quelques propriétés de ces acides aminés.

Tableau II : Constantes d'acidité de quelques acides aminés

Acide aminé	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>
Phénylalanine	1,83	9,13	---
Acide aspartique	2,09	3,87	9,82

Le D2EHPA extrait bien la phénylalanine. Plus le pH est élevé (vers 5), meilleure est l'extraction. Par contre, le D2EHPA extrait peu l'acide aspartique, ceci est dû aux constantes d'acidité des deux acides. Cette différence permet de séparer les deux acides aminés, comme l'atteste la figure 23 où la sélectivité à l'équilibre (noté  $\beta$ ) est définie par l'auteur comme suit :

$$\beta = \frac{[\text{Acide amine 1}]_{org} / [\text{Acide aminé 2}]_{org}}{[\text{Acide aminé 1}]_{aq} / [\text{Acide aminé 2}]_{aq}}$$

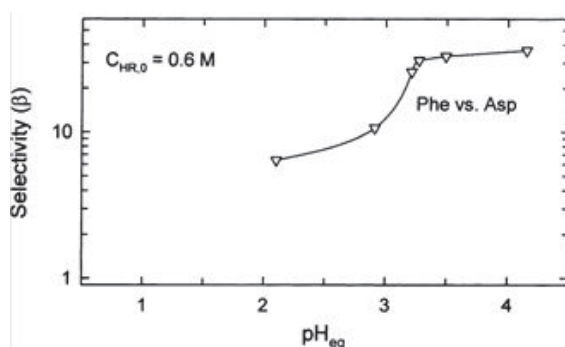
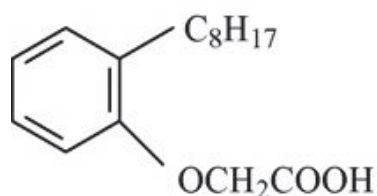


Figure 23 : Séparation de deux acides aminés

### A.II.6. Écoconception du procédé d'extraction liquide-liquide

L'écoconception de procédés d'extraction liquide-liquide de substances organiques (en particulier issues des biotechnologies) avec des agrodiluants n'a pas été encore étudiée.

Cependant, il existe une étude d'extraction d'un ion minéral, l'yttrium (III), présent dans un milieu ammoniacal par un acide carboxylique, l'acide sec-octylphénoxyacétique (noté CA12, Figure 24) dilué dans l'ester méthylique d'huile de soja [42]. Cet extractant a été développé par l'Institut de Chimie Organique de Shanghai pour l'extraction des terres rares dont l'yttrium fait partie. En fait, l'extractant est le carboxylate conjugué produit par saponification de cet acide grâce à l'ammoniaque.



**Figure 24 : L'acide sec-octylphénoxyacétique**

La phase aqueuse d'yttrium à traiter contient du sel de chlorure de sodium afin d'éviter la formation d'une émulsion stable lors du contact avec la phase organique et afin d'améliorer la décantation des deux phases. La phase aqueuse de dés-extraction est une solution d'acide chlorhydrique.

L'utilisation d'un biodiluant ne pose pas de problème particulier dans les conditions d'extraction suivantes :  $[CA12] = 0,05 \text{ M}$ ,  $[YCl_3] = 1 \text{ mM}$  et  $[NaCl] = 0,5 \text{ M}$ . L'équilibre est atteint au bout de 15 minutes. La phase organique est stable pendant au moins cinq cycles d'extraction et de dés-extraction avec un taux d'extraction compris entre 80 % et 82 %.

Quelques études récentes d'écoconception d'extraction par solvant de bioproduits à partir de solides ont été faites. L'étude de Datta (2010) [43], où des protéines sont extraites de graines, peut être citée en exemple.

Le solvant extracteur est un composé organique qui peut être lipophile comme le limonène ou hydrophile comme le lactate d'éthyle (Figure 25). L'influence du solvant dépend des propriétés de la molécule à extraire qui est ici la zéine, une protéine lipophile ; le limonène (noté DL) est un meilleur extractant que le lactate d'éthyle (noté EL).

La température peut jouer un rôle. Avec le lactate d'éthyle, le taux d'extraction à 30 minutes est plus élevé à 50°C qu'à 30°C et 40°C car l'augmentation de la température accélère le phénomène. Dans le cas du limonène, les différences sont moins marquées.

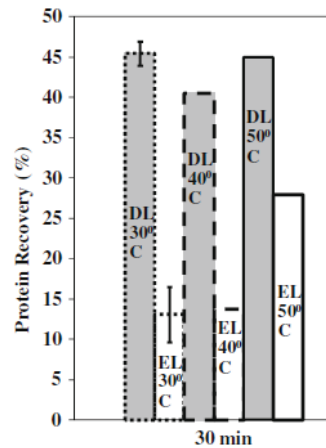


Figure 25 : Extraction de zéine de grains par des biosolvants

### A.III. L'extraction par émulsion

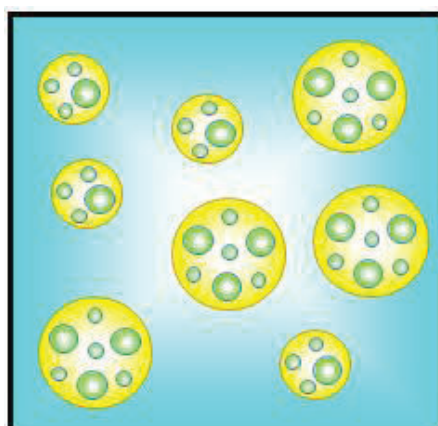
#### A.III.1. Les émulsions

##### A.III.1.a. Généralités

Une émulsion [44] est un système hétérogène constitué par la dispersion d'un liquide dans un autre liquide non miscible au premier. Au niveau du vocabulaire utilisé, deux types de liquides sont généralement considérés : l'eau et l'huile (tout liquide non miscible à l'eau).

Trois types d'émulsion simple peuvent être obtenus : une émulsion huile dans eau (notée H/E) où l'huile est dispersée dans l'eau, une émulsion eau dans huile (notée E/H) et même, pour deux huiles non miscibles entre elles, une émulsion huile dans huile (notée H/H).

Les émulsions dites multiples où au moins deux des trois types d'émulsions coexistent peuvent être produites. Par exemple, une double émulsion E/H/E (Figure 26) est une émulsion E/H dispersée dans une phase aqueuse externe.



**Figure 26 : Une double émulsion E/H/E  
(Phase organique en jaune et Phases aqueuses en bleu)**

Les émulsions ne sont pas thermodynamiquement stables : au bout d'un certain temps, les deux liquides non miscibles d'une émulsion simple se retrouvent séparés ; c'est la coalescence. L'utilisation d'un tensioactif permet de stabiliser pendant un certain temps la dispersion d'une phase dans une autre, en diminuant la tension interfaciale.

#### ***A.III.1.b. Tensioactifs et balance hydrophile-lipophile***

Les tensioactifs [45] sont des molécules amphiphiles, c'est-à-dire ayant une tête polaire et une partie apolaire. La tête polaire peut être anionique, cationique, zwitterionique (neutre mais disposant d'autant de cations que d'anions) ou non ionique. La partie lipophile peut être aliphatique (linéaire, ramifié, insaturé), aromatique ou alkylaromatique.

**Tableau III : Exemples de têtes hydrophiles des tensioactifs**

Anionique	$-\text{CO}_2^- \text{M}^+, -\text{OSO}_3^- \text{M}^+, -\text{SO}_3^- \text{M}^+$
Cationique	$\text{R}_n\text{-NH}_{(4-n)}^+ \text{X}^-$
Zwitterionique	$\text{N}^+\text{-R-CO}_2^-, \text{N}^+\text{-R-SO}_3^-$
Non ionique	$-\text{O-R}, -\text{OH}, -\text{CO}_2\text{-R}, -\text{CONH-R}, \dots$

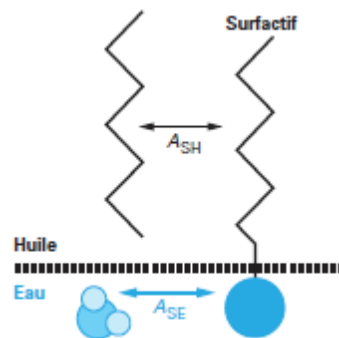
Selon la longueur de la chaîne lipophile et sa composition et selon la nature de la tête hydrophile, le tensioactif peut être plutôt hydrophile ou plutôt lipophile.

La balance hydrophile-lipophile (HLB) mesure cette tendance et est donnée par le fournisseur. Elle peut être calculée dans certains cas : par exemple, pour les tensioactifs non ioniques polyéthoxylés (esters d'acides gras ou polyols polyéthoxylés), la HLB vaut  $(E+P)/5$  où E et P sont les pourcentages massiques respectifs des motifs éthoxy- et des polyols. La HLB est peu précise (à 2 unités près) et ne tient compte que des propriétés du tensioactif, c'est

pourquoi ce paramètre est seulement qualitatif : si  $HLB < 7$ , on a une émulsion Eau dans Huile (E/H) et si  $HLB > 8$ , on a une émulsion Huile dans eau (H/E).

### A.III.1.c. La déviation hydrophile-lipophile

En plus des propriétés physico-chimiques intrinsèques du tensioactif, les systèmes eau/huile/tensioactif dépendent des paramètres liés à l'environnement du tensioactif que la HLB ne prend pas en compte. Un nouveau concept, la déviation hydrophile-lipophile (notée HLD), est développé pour mieux caractériser les émulsions [46].



**Figure 27 : Interactions entre tensioactif et molécules d'eau et d'huile à l'interface**

La déviation proprement dite est comparée à la formulation optimale de l'émulsion dans laquelle le tensioactif a autant d'affinités pour l'eau que pour l'huile, c'est-à-dire dans laquelle l'interaction entre la chaîne apolaire du tensioactif et l'huile est égale à celle entre la tête polaire du tensioactif et l'eau (Figure 27).

Si la HLD est négative (respectivement positive), le tensioactif a une tendance hydrophile (respectivement lipophile), c'est-à-dire qu'il favorise la production d'une émulsion Huile dans Eau (respectivement celle d'une émulsion Eau dans Huile).

Dans le cas simplifié où la phase aqueuse contient du chlorure de sodium comme sel et où le diluant est un alcane, deux formules empiriques existent pour calculer la déviation hydrophile-lipophile.

Si le tensioactif est ionique,  $HLD = \sigma + \ln[NaCl] - k * ACN + t * \Delta T + a * A$ .

Si le tensioactif est non ionique et éthoxylé,

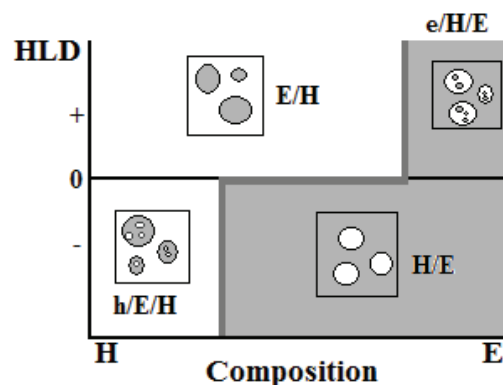
$$HLD = \alpha - EON + b * [NaCl] - k * ACN + t * \Delta T + a * A.$$

La signification des notations dans ces deux formules est la suivante :

- $\sigma$ ,  $\alpha$ ,  $k$  et  $t$ , paramètres propres au tensioactif
- $[\text{NaCl}]$ , fraction massique du sel dans la phase aqueuse (en %)
- $\text{ACN}$ , nombre d'atomes de carbone dans la molécule d'alcane
- $\Delta T$ , différence de température avec la température de référence ( $25^\circ\text{C}$ )
- $A$ , fraction massique d'alcool éventuellement rajouté
- $\text{EON}$ , nombre de groupes « oxyde d'éthylène » dans le tensioactif non ionique et éthoxylé.

Le ratio volumique entre les deux phases est un autre paramètre jouant un rôle dans la stabilité de l'émulsion et dans sa nature (E/H ou H/E). Jusqu'à 60% v/v de phase dispersée, l'émulsion peut être stable. Par contre, au-delà de 60 % de phase dispersée, l'inversion de phase peut avoir lieu, donnant une émulsion inverse à ce qui est désiré.

La figure 28 montre la nature de l'émulsion en fonction de la composition volumique et de la déviation hydrophile-lipophile.



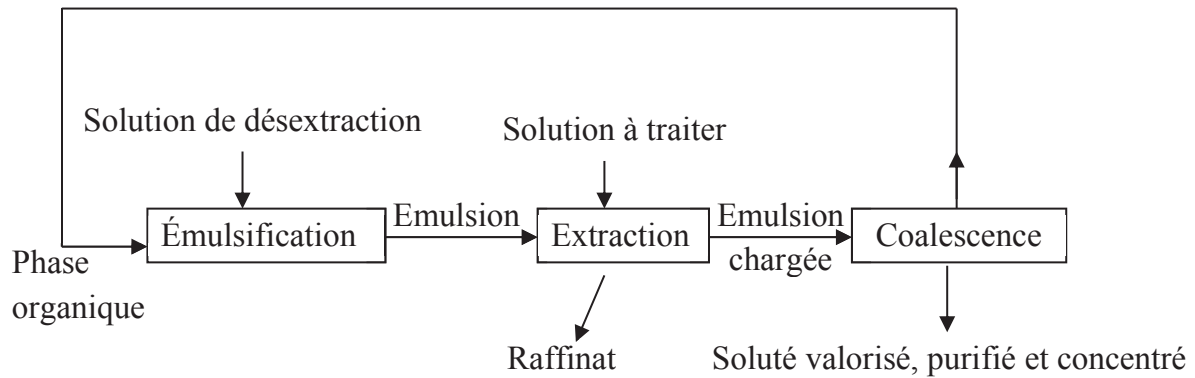
**Figure 28 : Types d'émulsion en fonction de la HLD et de la composition volumique de l'émulsion**

Si la HLD est positive, c'est-à-dire si le tensioactif a plus d'affinités pour l'huile que pour l'eau, la fraction volumique de l'eau ne doit pas être trop élevée pour avoir une émulsion Eau dans Huile.

### **A.III.2. Le procédé**

L'extraction par émulsion, dite aussi extraction par membrane liquide émulsionnée, est composée de trois étapes [47], comme le montre la figure 29.





**Figure 29 : Schéma d'un procédé d'extraction par émulsion**

La première étape est l'émulsification : il s'agit de la fabrication de l'émulsion où la phase aqueuse de dés extraction (appelée aussi phase interne), vierge au départ, est dispersée dans la phase organique (appelée aussi membrane). L'aire interfaciale entre les deux phases est très importante, de l'ordre de  $10^6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ . En effet, les gouttelettes de la phase aqueuse interne sont très petites : leur diamètre est de l'ordre du micromètre.

Puis, il y a l'extraction : l'émulsion est mise en contact avec la phase aqueuse d'alimentation (appelée aussi phase externe) et l'ensemble est agité. Au cours de ce contact, l'émulsion est dispersée dans la phase aqueuse externe, créant momentanément une double émulsion E/H/E. Le soluté à extraire est transféré d'une phase aqueuse à une autre via la phase organique, sous l'effet du gradient de concentration entre les deux phases aqueuses. En fait, l'extraction et la dés extraction se font en une seule étape, dans un même contacteur.

Enfin, après séparation de la phase aqueuse externe et de l'émulsion par simple décantation, le procédé se termine par la coalescence physique de l'émulsion afin de récupérer la phase aqueuse de dés extraction chargée et de recycler la phase organique.

Il existe des cas où la phase d'alimentation et celle de récupération sont des « huiles » et où la membrane est une phase aqueuse, comme le procédé d'extraction mis au point par Li, pour la séparation d'hydrocarbures [48], qui fut la première application de l'extraction par émulsion.

Deux phénomènes parasites peuvent perturber l'extraction par émulsion :

- la rupture partielle de l'émulsion pendant le contact avec la phase aqueuse externe entraînant le relargage d'une partie de la phase interne dans la phase externe pouvant conduire à l'arrêt de l'extraction. La nature et la concentration du tensioactif sont déterminantes pour limiter ce phénomène.

- l'osmose conduisant au passage d'eau de la phase externe dans la phase interne, donc au gonflement de l'émulsion, à une diminution de la concentration du soluté extrait en phase interne et à un risque accru de coalescence des gouttes de la phase interne.

Cependant, ces deux phénomènes sont en général plus lents que l'extraction du soluté et peuvent être limités en optimisant le temps de contact.

### **A.III.3. Mécanismes de l'étape d'extraction-désextraction**

Le transfert d'un soluté de la phase aqueuse externe à la phase aqueuse interne est composé de cinq étapes élémentaires [49] :

- transfert du soluté du cœur de la phase externe vers l'interface externe
- adsorption du soluté à l'interface externe et éventuellement réaction avec un extractant
- transfert du soluté ou du complexe soluté-extractant à travers la membrane organique
- adsorption du soluté ou du complexe soluté-extractant à l'interface interne, éventuellement réaction avec un agent désextractant et libération de l'extractant dans la phase organique et du soluté dans la phase interne
- diffusion du soluté dans la phase interne vers le cœur de la gouttelette.

Contrairement à l'extraction liquide-liquide, l'extraction par émulsion n'est pas limitée par les équilibres chimiques. L'extractant joue le rôle de transporteur recyclable et ne peut être donc saturé : de faibles quantités d'extractant sont suffisantes et on peut donc envisager des molécules coûteuses mais très sélectives comme les éthers-couronnes par exemple. En choisissant bien le désextractant dans la phase interne, on peut obtenir une forme du soluté à extraire différente de celle existante dans la phase d'alimentation. Par conséquent, le gradient de concentration est toujours maximal et l'extraction peut être totale.

L'inconvénient est le manque de sélectivité. En effet, toute molécule légèrement extractible par la phase organique (ou par l'extractant) est transférée, pour peu qu'elle soit désextraite dans la phase interne.

Dans la littérature, on trouve six principaux types de transport à travers la membrane.

### A.III.3.a. Perméation simple

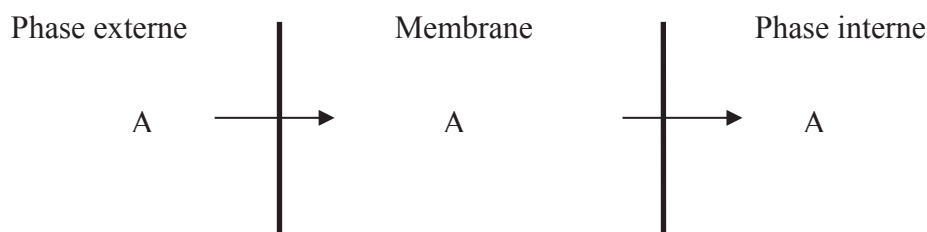


Figure 30 : Perméation simple

Le composé A est transféré de la phase externe vers la phase interne, en traversant la membrane organique, grâce au gradient de sa concentration entre les deux côtés de la membrane. Ce transport dans la membrane se fait par simple solubilisation. La cinétique est assez lente et la sélectivité faible. L'étude de Li citée auparavant utilise ce type de transport.

### A.III.3.b. Perméation simple associée à une réaction chimique

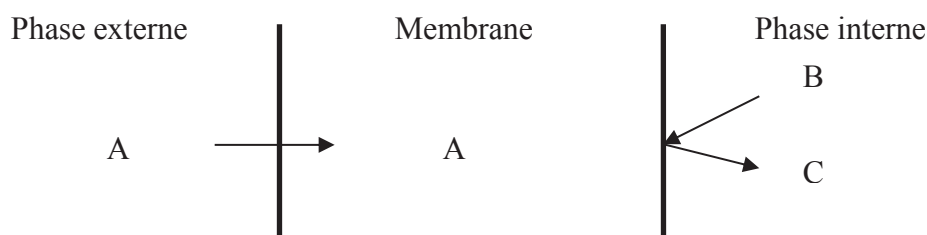


Figure 31 : Perméation simple associée à une réaction chimique

La différence avec le cas précédent est la présence d'une réaction chimique entre le soluté A et une molécule-piège B située dans la phase interne ; la molécule C formée est insoluble dans la membrane. Ainsi, le soluté A se trouve piégé dans la phase interne sous forme de C.

### A.III.3.c. Diffusion facilitée

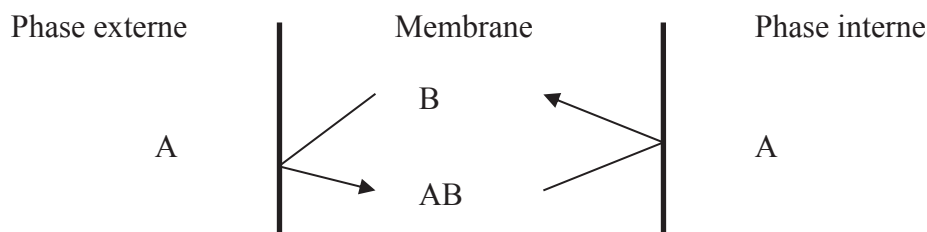
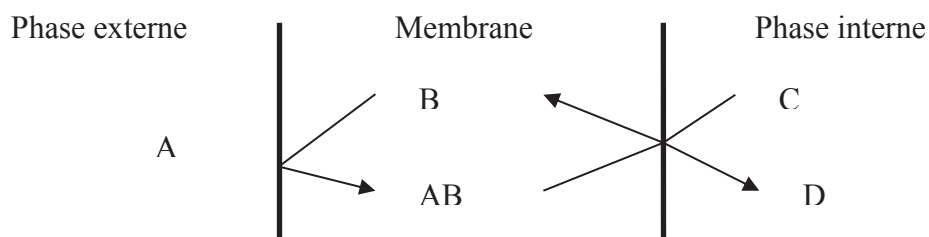


Figure 32 : Diffusion facilitée

Pour faciliter la solubilisation du soluté A dans la membrane (en particulier dans le cas où A n'y est pas soluble), un extractant B y est ajouté ; il réagit avec A pour donner un complexe AB. Ce dernier peut être transféré par gradient de concentration vers l'interface interne. Il se décompose au contact de la phase interne en libérant le soluté A et l'extractant pour un nouveau cycle d'extraction. Le composé A n'est jamais accumulé dans la membrane et l'extractant est recyclé, d'où son nom de « transporteur » en extraction par émulsion.

La cinétique de transfert du soluté entre les deux phases externe et interne est grandement améliorée par rapport aux deux types de transport précédents. Cependant, le transport s'arrête dès que la concentration du soluté est identique des deux côtés de la membrane.

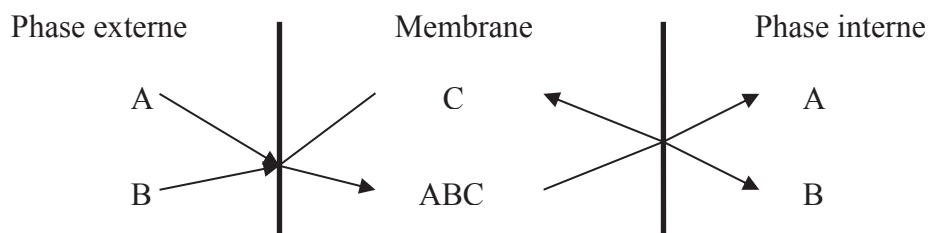
#### A.III.3.d. *Transport réactif*



**Figure 33 : Transport réactif**

Les deux types de transport précédents, la perméation simple associée à une réaction chimique et la diffusion facilitée, sont combinés. En plus d'une diffusion facilitée par un extractant-transporteur B, une molécule-piège C réagit avec A pour donner une nouvelle substance (D) insoluble dans la membrane et ne pouvant réagir avec B. Par suite de la réaction chimique à l'interface interne, la concentration de A dans cette phase est nulle et le gradient maximal. On peut donc arriver à une extraction totale.

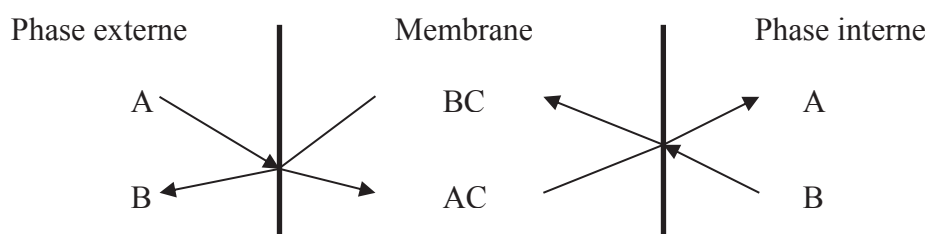
#### A.III.3.e. *Co-transport*



**Figure 34 : Co-transport**

L'extractant C transporte deux molécules A et B de la phase externe de manière simultanée et les libère dans la phase interne.

#### **A.III.3.f. Contre-transport**



**Figure 35 : Contre-transport**

Deux composés A et B sont transférés à travers la membrane au moyen de l'extractant-transporteur C, mais en sens contraire.

#### **A.III.4. Extraction par émulsion des acides organiques**

L'extraction par émulsion de l'acide gallique n'a jamais été étudié, d'où un autre intérêt de notre étude. Cependant, de nombreuses études portant sur d'autres acides organiques, en particulier sur les acides carboxyliques et sur les phénols, ont déjà été réalisées.

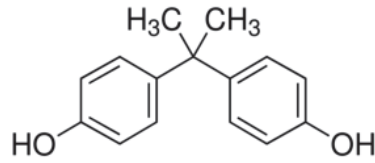
Les différents paramètres de ce procédé, en particulier ceux propres à l'étape d'extraction, vont être présentés, dans le cas où le soluté A est un acide organique.

##### **A.III.4.a. Extraction sans extractant**

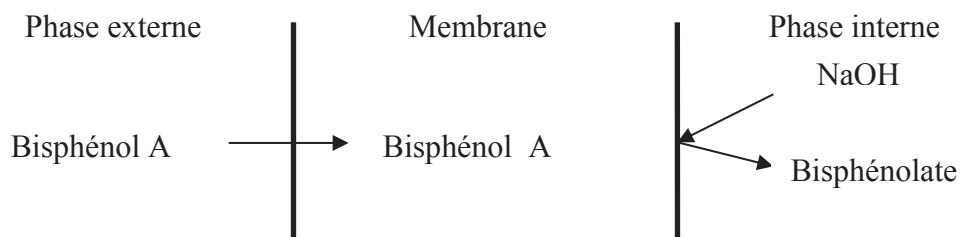
En extraction par émulsion, l'extractant n'est pas forcément nécessaire : en effet, il suffit que le soluté soit un peu soluble dans le diluant pour que l'extraction se produise. Une molécule-piège est alors ajoutée à la phase interne, ce qui permet d'obtenir un gradient de concentration maximal des deux côtés de la membrane.

Parmi les études d'extraction des acides organiques, la perméation simple associée à une réaction chimique en phase interne est rencontrée dans l'extraction des phénols et dérivés comme le bisphénol A (Figure 36) à partir d'effluents industriels [50]. La phase d'alimentation est une solution d'acide sulfurique 0,1 M contenant du bisphénol A en faible concentration (20 mg/L).

Le diluant est l'hexane. Le tensioactif est le SPAN 80 (à concentration standard de 3% m/m). La molécule-piège est une base qui réagit avec le phénol pour donner le phénolate conjugué, insoluble dans la membrane organique. Les ratios volumiques utilisés sont tels que  $V_{ext}/V_{em} = 8$  et  $V_{org}/V_{int} = 1$ .

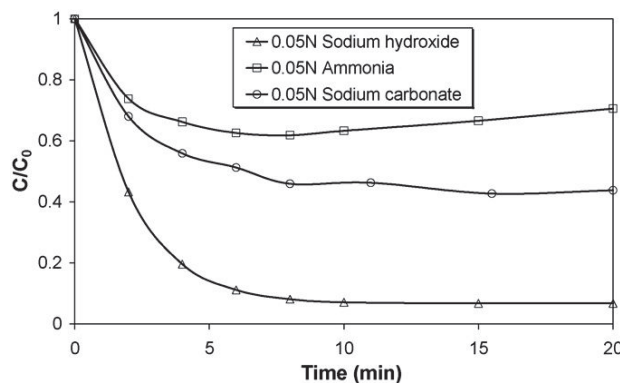


**Figure 36 : Le Bisphénol A**



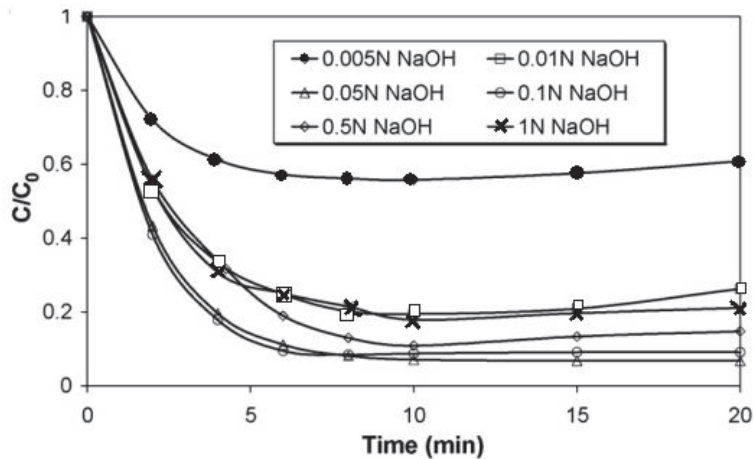
**Figure 37 : Schéma d'extraction par émulsion du bisphénol A**

Différentes bases sont testées comme désextractant : soude (NaOH), carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) et ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ). La soude permet d'avoir la meilleure extraction, comme le montre la figure 38 avec en ordonnée, le rapport de la concentration de bisphénol A restant dans la phase externe au temps  $t$  par rapport à sa concentration initiale.



**Figure 38 : Influence du type de désextractant en perméation simple avec réaction chimique**

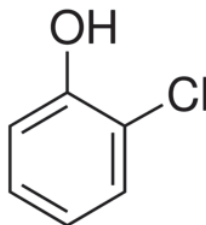
La concentration du désextractant en phase interne (Figure 39) peut également jouer un rôle. L'extraction est de plus en plus efficace lorsque cette concentration augmente jusqu'à 0,05 M puis elle diminue pour des concentrations plus élevées, par suite de la saponification du tensioactif qui conduit à sa dégradation et donc à l'instabilité de l'émulsion.



**Figure 39 : Influence de la concentration de désextractant en perméation simple avec réaction chimique**

Le tensioactif, en particulier sa nature et sa concentration, peut influencer l'extraction. Ici, avec 1% en masse de SPAN 80, l'émulsion n'est pas stable et l'extraction est mauvaise. 3% en masse semble être le minimum. Au-delà, la membrane devient plus visqueuse et l'extraction peut être ralentie.

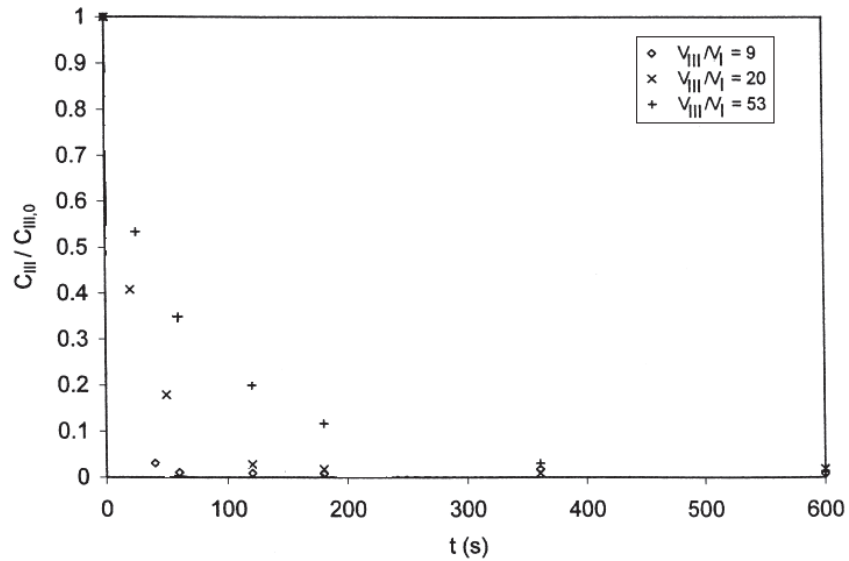
Une autre étude d'extraction d'un acide organique (le 2-chlorophénol, Figure 40) avec le même type de transport traite de l'influence d'autres paramètres [51].



**Figure 40 : Le 2-chlorophénol**

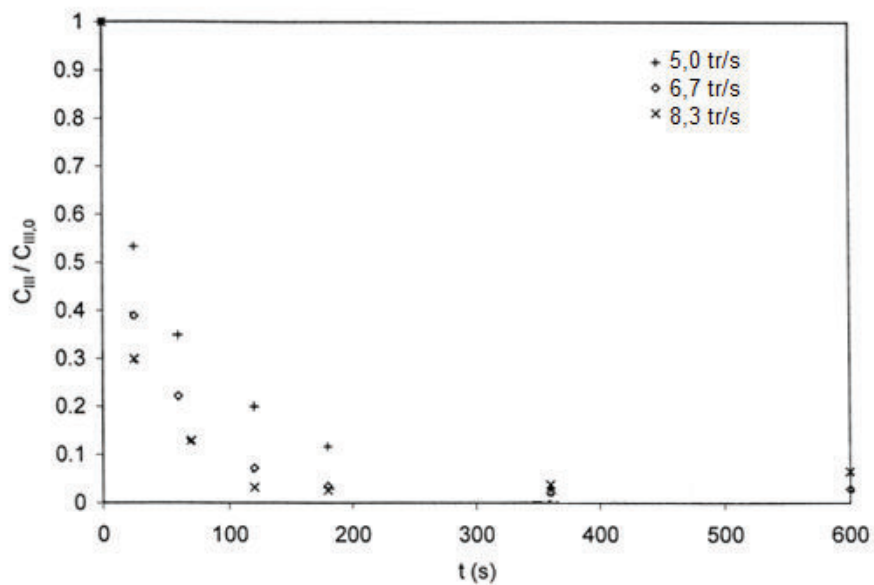
Le diluant est la paraffine. Le tensioactif est l'ECA 4360 (à 2% en masse), un tensioactif non ionique de type polyamine. Le désextractant est la soude comme dans le cas précédent.

Plus le ratio volumique entre la phase aqueuse externe et la phase aqueuse interne (noté  $V_{III}/V_I$ ) est élevé, plus l'extraction est lente, comme le montre la figure 41 où  $C_{III}$  est la concentration de 2-chlorophénol dans la phase externe au temps  $t$ .



**Figure 41 : Influence du ratio volumique entre la phase aqueuse externe et la phase aqueuse interne en perméation simple avec réaction chimique**

La phase externe est contactée avec l'émulsion grâce à un agitateur à hélice. Plus la vitesse d'agitation est élevée, plus la surface de contact est grande et plus l'extraction est rapide (Figure 42). Par contre, l'auteur préconise de ne pas agiter trop fort pour éviter la rupture et le gonflement de l'émulsion.



**Figure 42 : Influence de la vitesse d'agitation en perméation simple avec réaction chimique**

Enfin, la température lors de l'extraction peut jouer un rôle : une hausse de la température rend la membrane moins visqueuse et permet ainsi une extraction plus rapide,



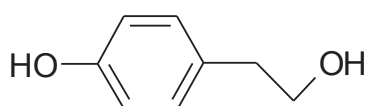
mais pourrait déstabiliser l'émulsion en rendant le tensioactif plus soluble dans la phase organique.

#### A.III.4.b. Extraction avec extractant

La présence d'un extractant peut améliorer l'extraction ou être nécessaire lorsque le soluté à extraire est trop peu soluble dans la membrane organique. Les types de transport trouvés dans la littérature pour les acides organiques sont :

- le transport réactif qui est utilisé pour transporter des molécules non dissociées soit par mécanisme de solvation, soit par mécanisme avec réaction entre l'acide à extraire et un extractant basique.
- le contre-transport qui est utilisé dès que la molécule à extraire est ionique.

L'étude de Reis et al (2006) [52] porte sur l'extraction par émulsion du tyrosol (Figure 43), un polyphénol présent dans l'huile d'olive et connu pour ses propriétés anti-oxydantes.



**Figure 43 : Le tyrosol**

La phase externe est une solution de tyrosol (à 200 mg/L) dilué dans l'eau distillée ; son pH est de 6,5. La concentration de tensioactif (ici, l'ECA 4360) est fixée à 2% en masse et le diluant est la paraffine. Les additifs de la membrane sont le modificateur (ici, l'isodécanol à 2% en masse) et l'extractant (ici, le Cyanex 923 à 2% en masse) : le tableau IV montre leur influence. La phase interne est une solution de soude 0,2 M.

**Tableau IV : Extraction par émulsion du tyrosol**

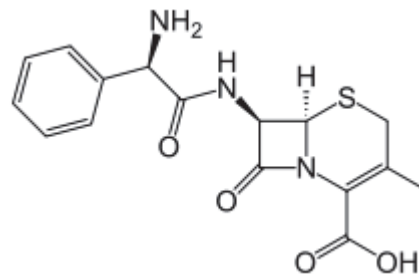
Formulation de la Membrane		[Tyrosol] (mg/L) de la phase externe		
		6 min	10 min	20 min
Sans extractant, sans modificateur		142	112	65,0
Sans extractant, avec modificateur		62,0	31,9	7,4
Extraction par solvation	Cyanex 923	5,8	5,6	---
	Cyanex 923 + isodécanol	6,1	---	---

L'extraction sans extractant est lente et peu efficace parce que le tyrosol est trop peu soluble dans le diluant.

L'ajout d'isodécanol comme modificateur accélère le processus car l'isodécanol rend la membrane polaire et facilite la solubilisation du tyrosol lui-même polaire dans la membrane.

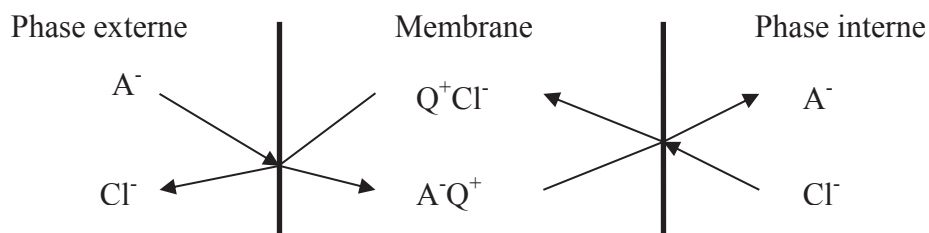
L'ajout d'un extractant accélère fortement l'extraction. L'isodécanol n'est pas très utile, vu que le même taux d'extraction est obtenu avec ou sans et qu'il n'y a pas de troisième phase qui apparaît.

La concentration de l'extractant peut avoir une influence sur l'extraction par émulsion. Sahoo et al (1998) [53] étudient l'effet de ce paramètre sur l'extraction de la céphalexine (Figure 44) avec un transport de type « contre-transport » et avec un mécanisme d'échange anionique.



**Figure 44 : La céphalexine**

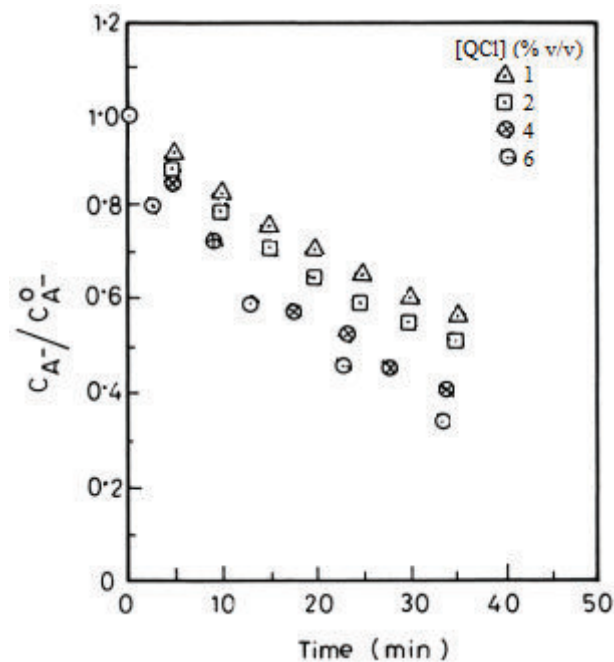
La céphalexine dissoute dans une solution-tampon pH 9 est sous forme anionique (notée  $A^-$ ). Un extractant classique pour extraire un anion est l'Aliquat 336, un sel de chlorure d'ammonium quaternaire (noté  $Q^+Cl^-$ ). Le désextractant est le chlorure de sodium.



**Figure 45 : Contre-transport entre la céphalexine et  $Cl^-$  par l'Aliquat 336**

Les autres paramètres sont fixés :

- le ratio volumique phase externe versus émulsion à 5 pour 1.
- le ratio volumique membrane versus phase interne à 1 pour 1.
- la concentration de SPAN 80 à 15% en masse.
- la concentration initiale de la céphalexine à 20 mM.



**Figure 46 : Influence de la concentration de l'Aliquat 336 sur l'extraction par émulsion de la céphalexine**

Plus la concentration d'Aliquat 336 est élevée, plus l'extraction s'accélère (Figure 46) : au bout de 35 min, avec 1% v/v d'Aliquat 336, il reste 60% de la quantité initiale de céphalexine dans la phase externe ( $C_{A^-}$ ) et avec 6% v/v, il en reste 40%. Cependant, c'est peu efficace en comparaison de l'extraction par solvataion en milieu acide.

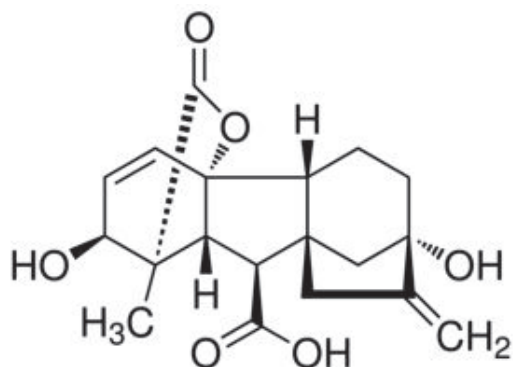
Comme en extraction par émulsion sans extractant, d'autres paramètres comme la concentration du tensioactif, les ratios volumiques entre les phases et la vitesse d'agitation peuvent avoir aussi une influence sur l'efficacité du procédé.

#### **A.III.5. Optimisation de l'extraction par émulsion par les plans d'expériences**

Les plans d'expériences servent à optimiser un procédé sur l'ensemble des paramètres étudiés en faisant un nombre réduit d'expériences.

Cet outil est peu utilisé en extraction par émulsion : beaucoup des études précédentes sur ce sujet traitent l'influence de chaque paramètre en le faisant varier et en fixant tous les autres à des valeurs standards et considèrent que le point d'optimisation est la valeur de chaque paramètre pour lequel le taux d'extraction est le plus élevé.

Berrios et al (2009) [54] proposent une méthodologie pour optimiser l'extraction d'un acide organique (ici, l'acide gibbérellique noté AH) obtenu par fermentation en utilisant les plans d'expériences.



**Figure 47 : L'acide gibbérellique**

Chaque paramètre a une valeur minimale et une valeur maximale (Tableau V), qui sont déterminées après des expériences préliminaires. Le diluant organique est l'heptane. L'extractant est l'Aliquat 336. Le tensioactif est le SPAN 80. Le désextractant est une solution de chlorure de potassium (KCl). Les phases aqueuses externes sont des solutions-tampons phosphate.

**Tableau V : Valeurs d'étude pour une optimisation de l'extraction par émulsion**

N°	Paramètre	Valeur minimale	Valeur maximale
1	[SPAN 80] (% v/v)	1	6
2	[Aliquat 336] (% v/v)	1	5
3	Température (°C)	20	35
4	[KCl] initiale en phase interne (M)	1	2
5	pH de la phase interne	3	5
6	pH de la phase externe	3	5
7	$V_{\text{interne}}/V_{\text{membrane}}$	2/3	3/2
8	Agitation (tr par min)	300	500
9	Temps d'émulsification (min)	5	10
10	[AH] initiale en phase externe (g/L)	0,7	1
11	$[\text{PO}_4^{2-}]$ en phase aqueuse (M)	0,01	0,1
12	$V_{\text{émulsion}}/V_{\text{externe}}$	1/2	1/1

Une première série de seize expériences, en utilisant la méthode du plan d'expériences de Plackett-Burman, est faite à ces valeurs pour déterminer les paramètres les plus influents.

Les résultats montrent que les paramètres les plus influents sur le taux d'extraction et le gonflement de l'émulsion sont la concentration du tensio-actif (SPAN 80) et celle de l'extractant (Aliquat 336).

Ensuite, il est décidé d'optimiser le procédé sur ces deux paramètres et le temps d'extraction avec la méthode du réseau de points. Un maillage de points expérimentaux est effectué sur les intervalles de ces trois paramètres. Le taux d'extraction le plus élevé trouvé parmi ces points représente l'optimum (ou du moins proche de l'optimum).

## **A.IV. Perspectives**

Ce projet doctoral a pour but de mettre en place une méthodologie pour comparer les deux procédés d'extraction traités dans ce mémoire bibliographique et appliqués aux biotechnologies blanches.

Comme nous l'avons dit auparavant, l'acide gallique a été choisi comme molécule-test pour cette étude. Nos travaux expérimentaux se baseront sur des solutions aqueuses synthétiques d'acide gallique.

La première partie de l'étude consistera à mettre au point l'analyse de l'acide gallique par la méthode de Folin-Ciocalteu, en particulier en présence des additifs utilisés pour l'étude des deux procédés d'extraction.

Le procédé d'extraction liquide-liquide sera ensuite étudié. Il s'agira de trouver la meilleure formulation de la phase organique extractante et de la phase de dés extraction pour maximiser l'extraction et la récupération de l'acide gallique.

Ensuite, ce sera au tour du procédé d'extraction par émulsion. Cette partie se divisera en quatre sous-parties :

- Rechercher le meilleur type de transport pour cette molécule.
- Étudier l'influence des paramètres du procédé établi.
- Optimiser ce procédé (en utilisant la méthode des plans d'expériences, en allant plus loin que l'étude de Berrios et al citée auparavant).
- Faire un bilan comparatif entre les deux procédés.

Enfin, comme les biotechnologies blanches s'inscrivent dans le concept de chimie verte, des expériences seront faites pour éco-concevoir ces deux procédés, en essayant de remplacer (voire éliminer) les réactifs issus du pétrole.

Tous les essais expérimentaux seront répétés trois fois pour vérifier leur reproductibilité.

## B. Mise au point de l'analyse de l'acide gallique

Pour analyser l'acide gallique, la méthode de Folin-Ciocalteu est choisie car elle est efficace et rapide.

### B.I. Analyse des solutions aqueuses synthétiques d'acide gallique

#### B.I.1. Protocole choisi

Les solutions synthétiques d'acide gallique sont des solutions d'acide gallique dissous dans l'eau distillée.

L'analyse de l'acide gallique se fait avec le réactif de Folin-Ciocalteu, en milieu alcalin (Figure 48). Il s'agit d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, de couleur jaune, qui est réduit par la forme basique conjuguée de l'acide gallique en un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène, de couleur bleue.

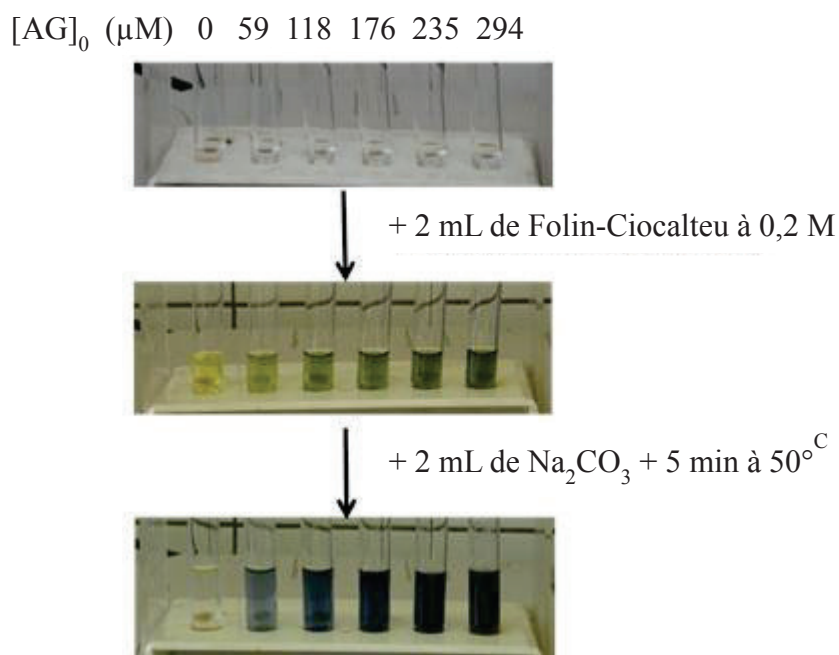
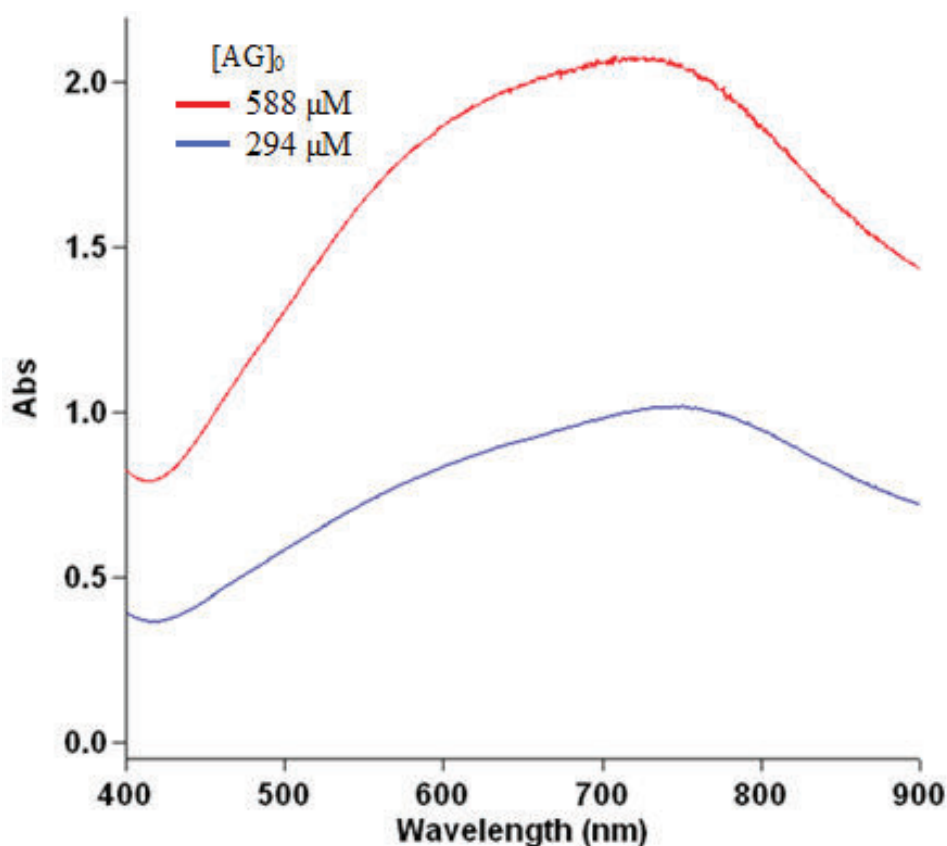


Figure 48 : Analyse de l'acide gallique par la méthode de Folin-Ciocalteu

Le protocole utilisé est le suivant :

- 1 ml de l'échantillon à étudier contenant l'acide gallique à une concentration [AG]<sub>0</sub> est introduit dans un tube à essai.

- 2 ml du réactif de Folin-Ciocalteu à 0,2 M sont ajoutés.
- 2 ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 1 M sont introduits.
- La réaction est accélérée en mettant le tube à essai dans un bain-marie à  $50^\circ\text{C}$  pendant cinq minutes.
- Le mélange final est analysé par spectrophotométrie visible : le spectrophotomètre utilisé est un VARIAN SCAN 50 et la cuve utilisée a un trajet optique d'un centimètre. Le blanc est un échantillon ne contenant pas d'acide gallique. L'absorbance (Abs) est la grandeur mesurée par le spectrophotomètre.
- Les essais sont répétés trois fois ; l'écart-type est précisé pour chaque mesure.

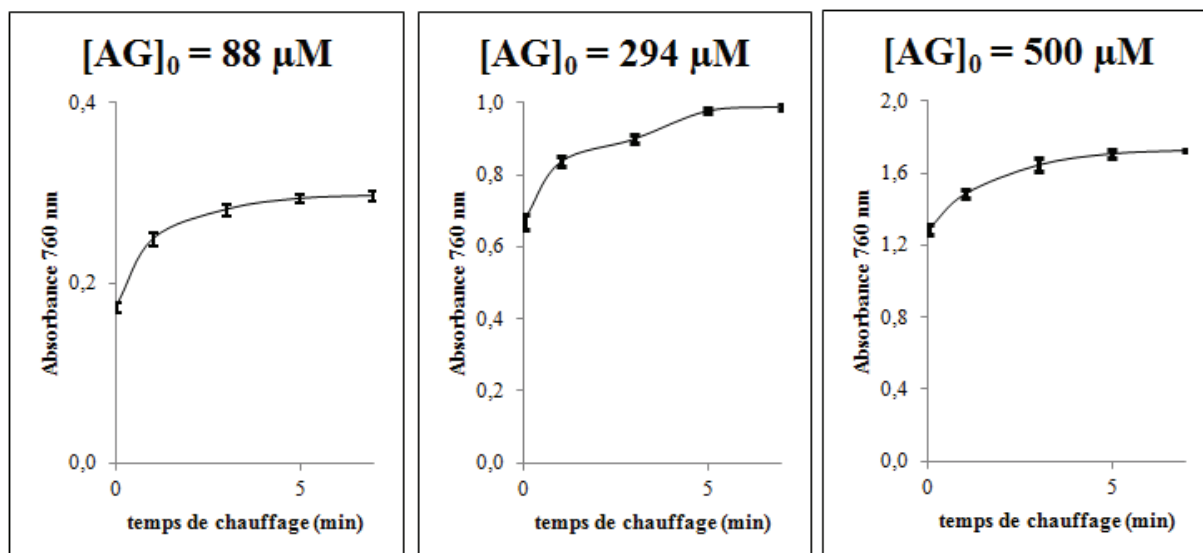


**Figure 49 : Spectre des solutions aqueuses d'acide gallique traitées par Folin-Ciocalteu**

Le spectre obtenu (Figure 49) ne montre pas un pic très net. En effet, la solution analysée est un mélange de complexes d'oxydes de tungstène et de molybdène. La longueur d'onde de mesure est fixée à 760 nm pour la suite.

Pour vérifier que la réaction est complète, nous avons suivi la cinétique d'oxydation de l'acide gallique (Figure 50) par le réactif de Folin-Ciocalteu dans un milieu basique à  $50^\circ\text{C}$  pour différentes concentrations : 88 µM (soit 15 mg/L), 294 µM (soit 50 mg/L) et 500 µM (85 mg/L).





**Figure 50 : Cinétique de réaction entre le réactif de Folin-Ciocalteu et l'acide gallique**

Cinq minutes dans un bain-marie à 50°C sont donc suffisantes pour atteindre un palier d'absorbance à 760 nm, quelle que soit la concentration initiale d'acide gallique.

### **B.I.2. Calibration de solutions synthétiques d'acide gallique**

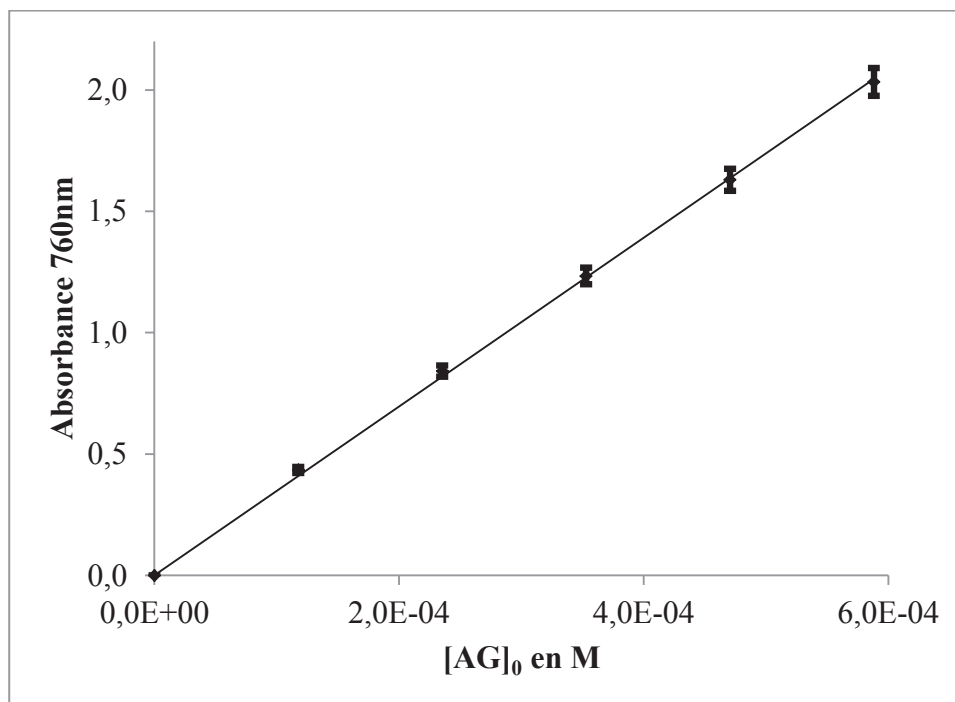
L'analyse par spectrophotométrie s'appuie sur la loi de Beer-Lambert : la concentration du soluté mesurée est proportionnelle à l'absorbance dans une certaine gamme. Précisément, cette loi s'écrit :

$$A = \varepsilon \cdot L \cdot C$$

où A est l'absorbance,  
 $\varepsilon$  le coefficient d'extinction du mélange complexe d'oxydes de tungstène et de molybdène,  
L le trajet optique de la cuve (ici, L = 1 cm),  
C la concentration du soluté.

En fait, puisque la réaction est totale, la concentration d'oxydes de tungstène et de molybdène produits, dont on mesure l'absorbance, est proportionnelle à la concentration initiale d'acide gallique : il s'agit d'une analyse indirecte.

La figure 51 montre la variation de l'absorbance mesurée à 760 nm en fonction de la concentration de l'acide gallique.



**Figure 51 : Absorbance à 760 nm en fonction de la concentration d'acide gallique**

L'absorbance en fonction de la concentration de l'acide gallique est linéaire jusqu'à des valeurs élevées égales à 2. La pente de la courbe de tendance vaut  $3478 \text{ M}^{-1}$  et le coefficient de corrélation associé est de 0,9995. Ces résultats montrent la parfaite adéquation de cette méthode pour la mesure de la concentration de l'acide gallique.

## **B.II. Analyse de l'acide gallique en présence d'additifs**

L'analyse des phénols dans un milieu quelconque par la méthode de Folin-Ciocalteu se calibre généralement sur une solution d'acide gallique dans l'eau distillée. Mais, il se peut que des additifs modifient l'absorbance mesurée.

En effet, la méthode de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux phénols : la présence de certaines substances comme des acides aminés (dont la tyrosine et le tryptophane), l'acide ascorbique, certains sucres (dont le glucose et le fructose), l'acide tartrique et les sulfites peut influencer les résultats [55].

Le blanc utilisé sera donc une solution aqueuse contenant les divers additifs étudiés moins l'acide gallique qui sera traitée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

Le spectre de référence est celui de l'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  dissous dans l'eau distillée. Des solutions d'acide gallique de même concentration contenant des additifs sont préparées et traitées par la même méthode de Folin-Ciocalteu.

### B.II.1. L'acide gallique dans une solution de chlorure de sodium

Des solutions aqueuses d'acide gallique en présence de chlorure de sodium (NaCl) à 0,5 M sont préparées ; NaCl est utilisé car il s'agit d'un sel classique.

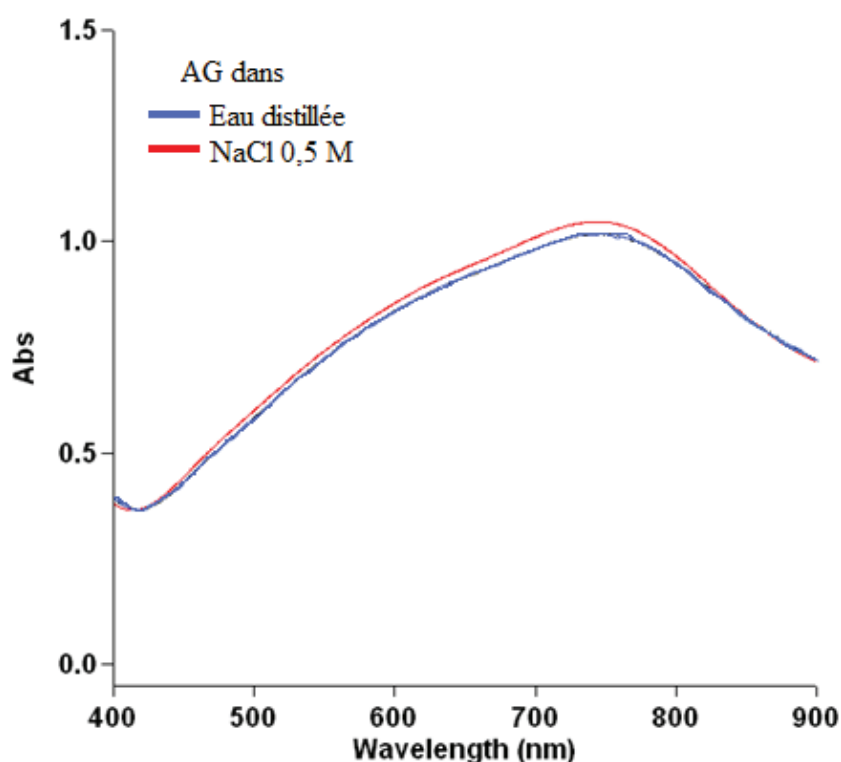
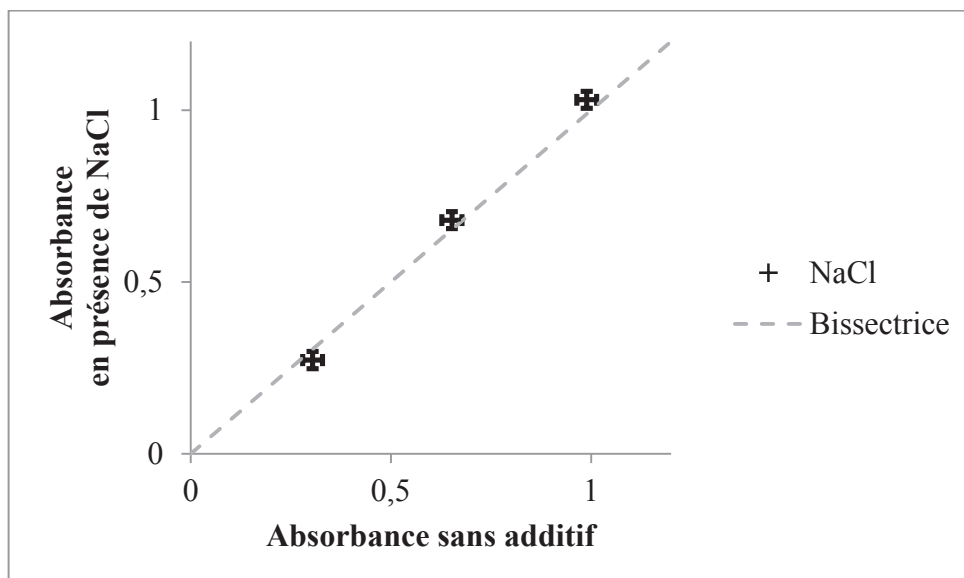


Figure 52 : Spectre de la solution d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  dans NaCl 0,5 M

Lorsque le chlorure de sodium est ajouté à la solution aqueuse d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$ , le spectre obtenu ne comporte pas de changement significatif par rapport au spectre de référence (Figure 52). D'autres solutions de différentes concentrations d'acide gallique en présence de chlorure de sodium 0,5 M sont préparées et traitées par la méthode de Folin-Ciocalteu. On compare les valeurs d'absorbance mesurées avec et sans NaCl (Figure 53).

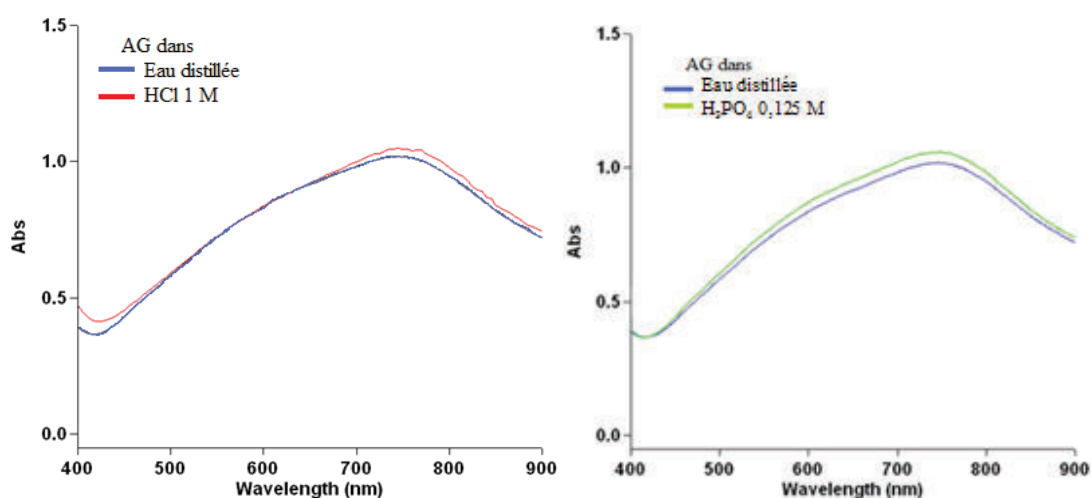


**Figure 53 : Comparaison des absorbances à 760 nm des solutions d'acide gallique avec et sans NaCl**

Les points obtenus se trouvent tous sur la première bissectrice du graphe. Donc, le chlorure de sodium n'influence pas la mesure de la concentration d'acide gallique par la méthode de Folin-Ciocalteu.

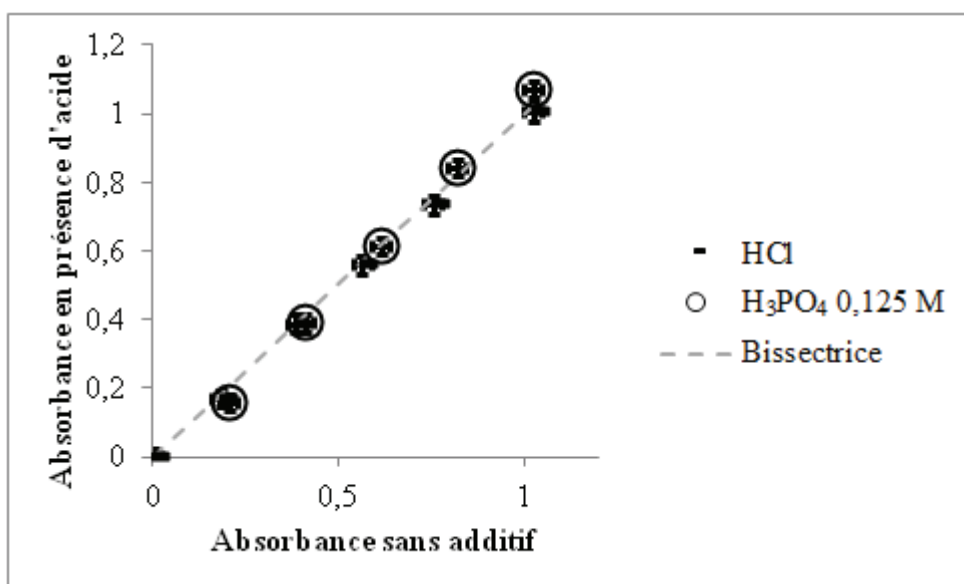
### B.II.2. L'acide gallique en milieu acide

Des solutions aqueuses d'acide gallique dissous dans un acide sont préparées. Les acides utilisés sont l'acide chlorhydrique (HCl) à 1 M et l'acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ) à 0,125 M.



**Figure 54 : Spectres de la solution d'acide gallique à 294 μM dans un acide**

Lorsque de l'acide, que ce soit l'acide chlorhydrique ou l'acide phosphorique, est ajouté à la solution aqueuse d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$ , le spectre obtenu (Figure 54) ne comporte pas de changement significatif par rapport au spectre de référence. Des solutions à différentes concentrations d'acide gallique en présence d'un acide sont préparées et traitées par la méthode de Folin-Ciocalteu. On compare les valeurs d'absorbance mesurées avec et sans acide fort (Figure 55).



**Figure 55 : Comparaison des absorbances à 760 nm des solutions d'acide gallique en milieu acide par rapport à celles dans de l'eau distillée**

Les points obtenus se trouvent tous sur la première bissectrice du graphe. Que ce soit dans de l'acide chlorhydrique ou dans de l'acide phosphorique, l'analyse de l'acide gallique pourra être calibrée sur celle de l'acide gallique dissous dans l'eau distillée.

### **B.II.3. L'acide gallique dans la soude**

D'après la bibliographie, l'acide gallique est plus rapidement oxydé en milieu basique. C'est pourquoi du carbonate de sodium est ajouté dans la méthode de dosage pour favoriser l'oxydation du polyphénol par le réactif de Folin-Ciocalteu.

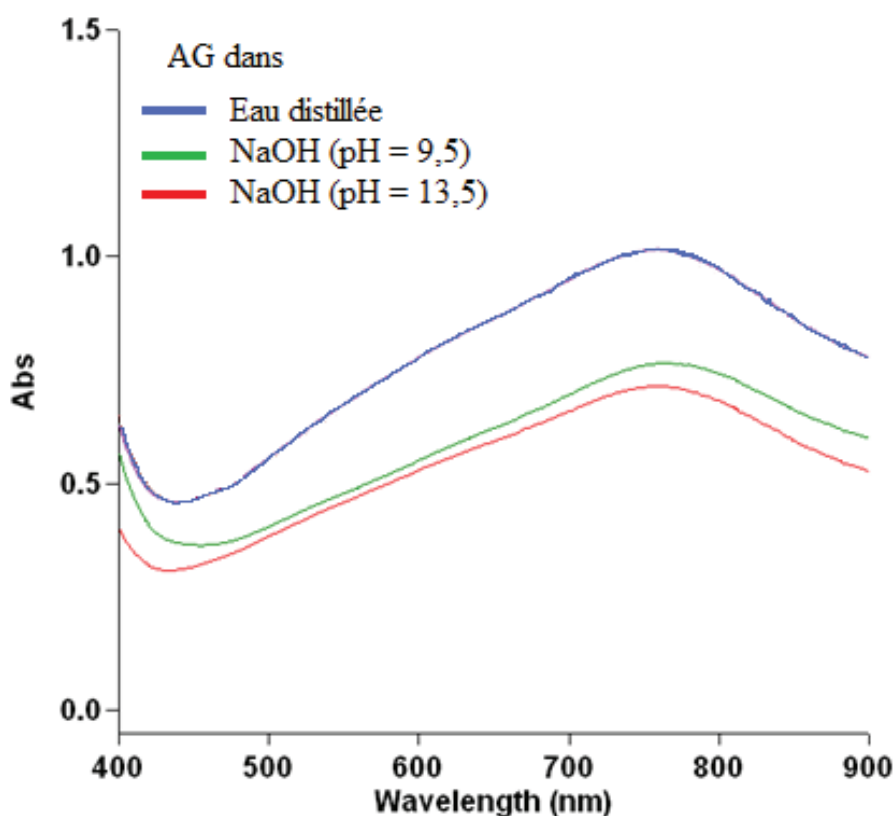
Dans les études d'extraction de phénols rencontrées dans la bibliographie, la soude est souvent utilisée comme désextractant et ce milieu est favorable à la dégradation oxydante des phénols. Or contrairement à ces études appliquées au traitement des effluents industriels, il est souhaitable ici de garder les propriétés anti-oxydantes du polyphénol car ce dernier pourrait être récupéré et valorisé dans les industries pharmaceutique et agro-alimentaire.

Il est donc intéressant d'étudier la vitesse d'oxydation du gallate afin de voir si ce désextractant est envisageable dans ce cas.

L'acide gallique est dissous dans une solution de soude, pour obtenir deux solutions à pH 9,5 et 13,5. Les mélanges sont laissés au repos pendant cinq minutes.

L'ajout d'acide chlorhydrique concentré en excès par rapport à la soude à ces deux solutions de gallate permettrait d'obtenir deux solutions contenant du chlorure de sodium, de l'acide chlorhydrique et de l'acide gallique, si aucune dégradation du gallate n'est advenue en présence de soude.

Nous avons analysé ces deux solutions et comparé leur spectre avec celui de l'acide gallique dans l'eau (Figure 56).



**Figure 56 : Spectres des solutions d'acide gallique dissous dans la soude avec 5 minutes de repos après neutralisation**

Les trois spectres ont la même forme. Mais, les absorbances des solutions d'acide gallique dissous dans la soude réacidifiées sont plus faibles que celles de référence, aux deux pH étudiés. Cette baisse pourrait s'expliquer par une certaine dégradation du gallate par l'air, favorisée par la soude. Une base plus faible devra être donc envisagée pour la dés extraction.

## B.II.4. L'acide gallique dans un milieu phosphate

Une solution de phosphate sera étudiée en tant que désextractant.

### B.II.4.a. Stabilité de l'acide gallique dans un milieu phosphate

L'acide phosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) et ses formes basiques conjuguées sont utilisés dans la fabrication de solutions-tampons avec une large gamme de pH.

On trouve, sur le schéma ci-dessous (Figure 57), les domaines d'existence des différentes formes de l'acide gallique (noté  $\text{AH}_3$ ) et de l'acide phosphorique.

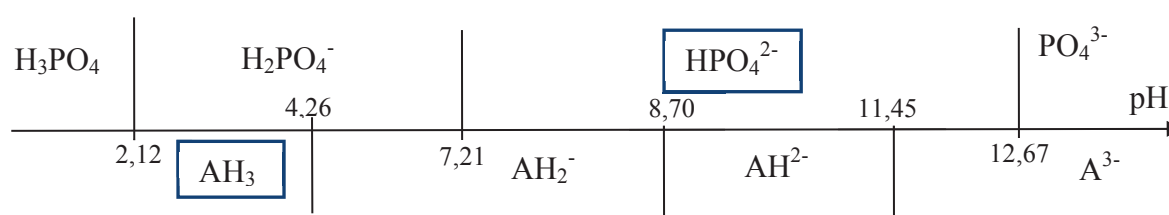
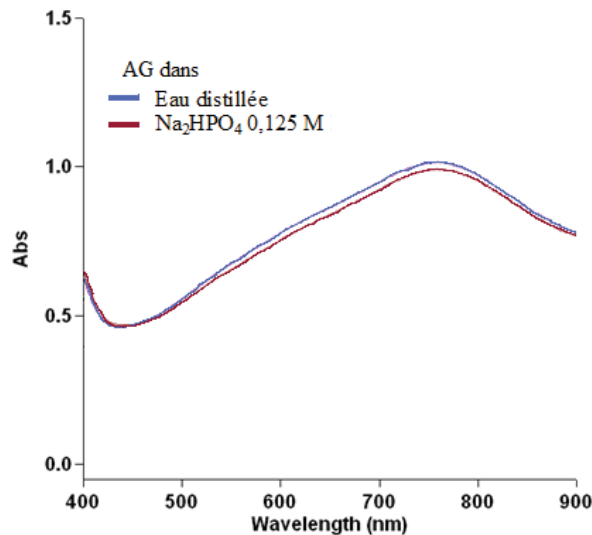


Figure 57 : Domaines de prédominance de l'acide gallique et de l'acide phosphorique

Si on veut désextraire en milieu phosphate, il faut former une forme dissociée de l'acide gallique comme  $\text{AH}_2^-$  (ou  $\text{AH}^{2-}$ ) et donc être à un pH supérieur à 4,26. Une solution d'hydrogénophosphate ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) est donc envisageable.

La stabilité des solutions d'acide gallique dans une solution d'hydrogénophosphate de disodium est étudiée comme précédemment. L'acide gallique est dissous dans une solution d'hydrogénophosphate de disodium à 0,125 M : le pH de la solution est de 9,5. Le mélange est laissé au repos pendant cinq minutes.

Si le gallate n'a pas été dégradé, l'ajout d'acide chlorhydrique concentré en excès permettrait d'obtenir une solution contenant du chlorure de sodium, de l'acide chlorhydrique, de l'acide phosphorique et de l'acide gallique. L'analyse de ce mélange neutralisé par la méthode de Folin-Ciocalteu donnerait donc une concentration d'acide gallique identique à celle de la solution initiale aux variations de volume près.

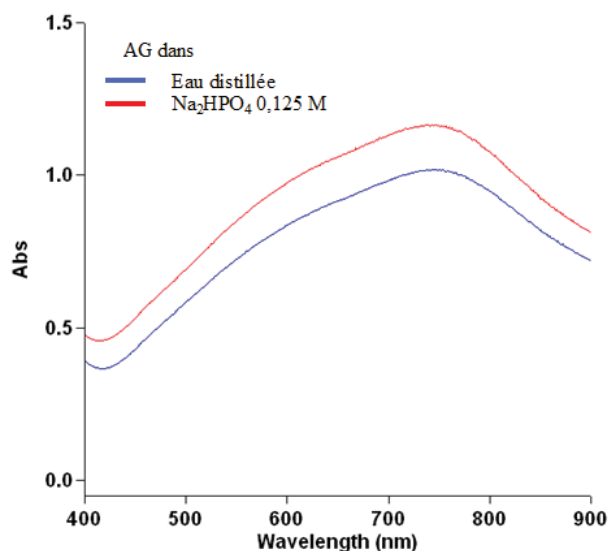


**Figure 58 : Spectre de la solution d'acide gallique dans  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,125 M avec cinq minutes de repos après neutralisation**

Peu de différences sont observées entre les deux spectres (Figure 58). Contrairement au cas de la soude, en présence d'hydrogénophosphate de disodium, le gallate n'est pas dégradé en moins de cinq minutes. Cet additif pourra donc être utilisé comme désextractant.

Pour l'analyse, la neutralisation par l'acide peut poser des problèmes car elle augmente le risque d'erreur expérimentale. Les solutions d'acide gallique dans l'hydrogénophosphate de disodium vont être directement traitées sans neutralisation par la méthode de Folin-Ciocalteu, afin de voir si cette méthode est utilisable.

La figure 59 compare le spectre obtenu par rapport au spectre de référence.



**Figure 59 : Spectre de la solution d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  dans  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,125 mM**



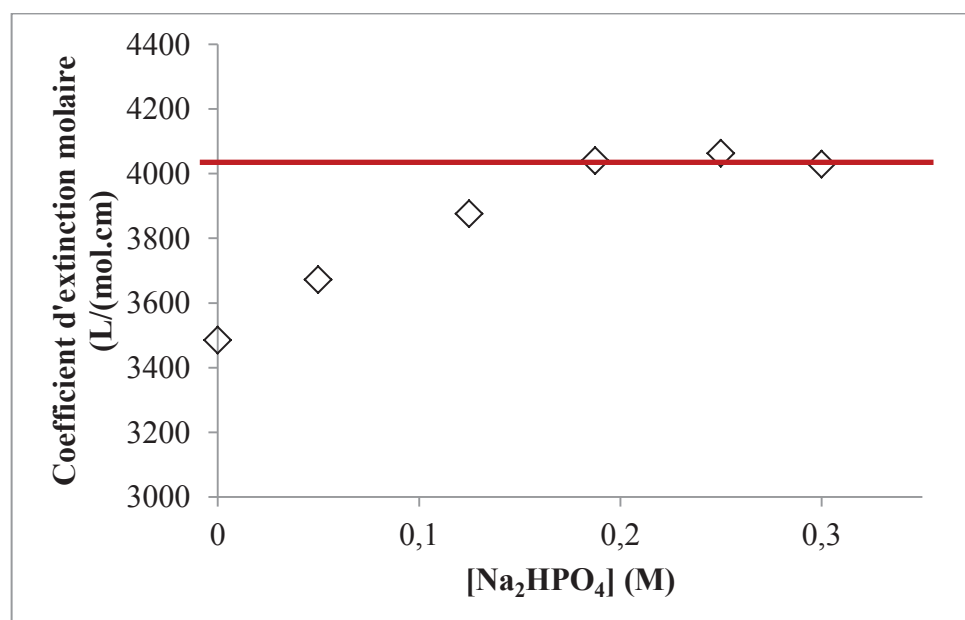
La même forme de courbe est obtenue mais une hausse significative de l'absorbance est observée : la formation de nouveaux oxydes de tungstène et molybdène d'absorbance différente pourrait expliquer ce phénomène ; il est à rappeler que l'acide phosphorique est un composant du réactif de Folin-Ciocalteu et qu'il peut y avoir donc des interférences.

Par conséquent, une étude approfondie est nécessaire afin de voir l'influence de la concentration des phosphates et du pH du milieu.

#### ***B.II.4.b. Influence de la concentration de $\text{Na}_2\text{HPO}_4$***

Des quantités variables d'acide gallique sont dissoutes dans des solutions d'hydrogénophosphate de disodium à différentes concentrations : les concentrations d'acide gallique varient entre 0 et 294  $\mu\text{M}$  ; l'hydrogénophosphate est toujours en excès par rapport à l'acide gallique. Le coefficient d'extinction molaire est déterminé pour chaque concentration d'hydrogénophosphate par la loi de Beer-Lambert.

Quelle que soit la concentration d'hydrogénophosphate, les solutions d'acide gallique ont un pH de 9,5, dû à l'effet tampon du milieu et une bonne relation linéaire est obtenue entre l'absorbance et la concentration d'acide gallique avec un coefficient de corrélation compris entre 0,995 et 1.



**Figure 60 : Influence de  $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]$  sur la méthode de Folin-Ciocalteu**

On trouve, sur cette figure 60, le coefficient d'extinction molaire des oxydes de tungstène et de molybdène en fonction de la concentration de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ajouté à la solution

d'acide gallique : ce coefficient augmente jusqu'à un palier autour de  $4000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ , pour une concentration d'hydrogénophosphate supérieure à  $0,2 \text{ M}$ .

#### B.II.4.c. Influence du pH

Pour faire varier le pH de la solution d'acide gallique, différents mélanges phosphate ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  et  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) sont utilisés : la concentration finale en phosphate total est de  $0,125 \text{ M}$ .

La figure 61 montre les spectres obtenus à différents pH.

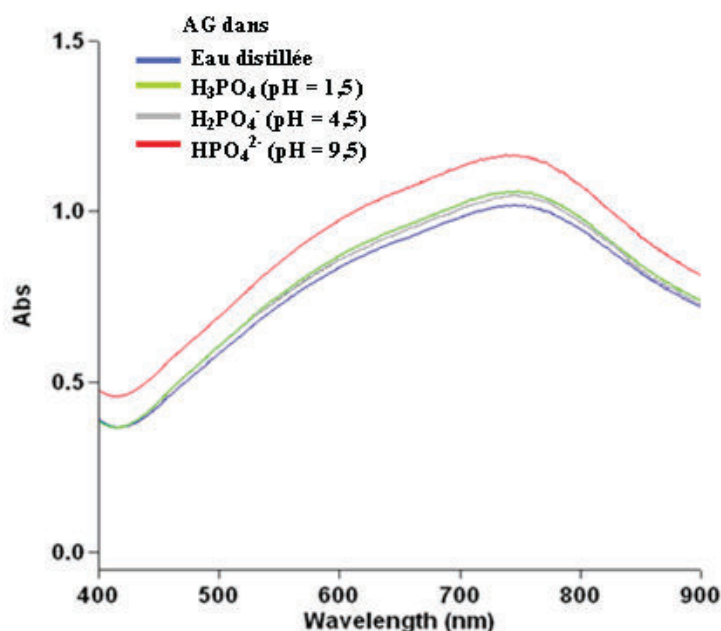
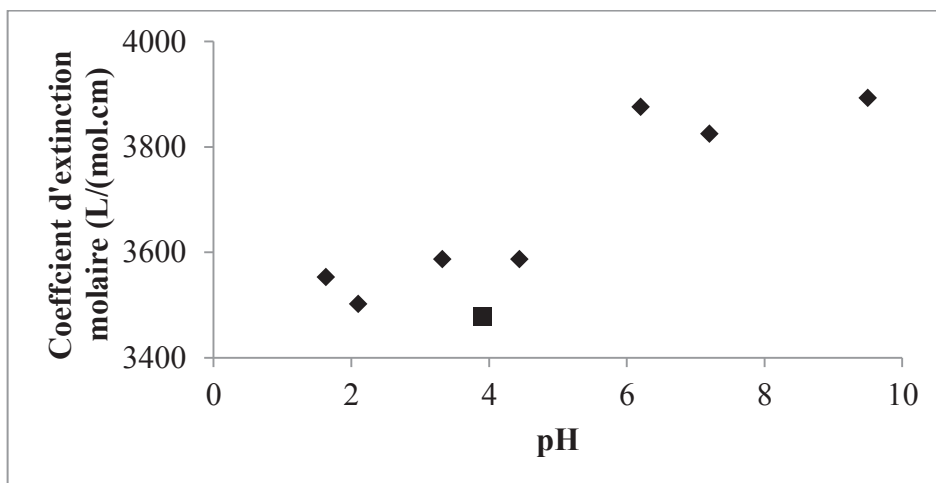


Figure 61 : Spectres de l'acide gallique en milieu phosphate

Comme il a été vu auparavant, seul le monohydrogénophosphate de disodium augmente les valeurs des absorbances obtenues lors de l'analyse de l'acide gallique dissous dans l'eau distillée alors que l'acide phosphorique et le dihydrogénophosphate de monosodium ne les modifient pas.

Des solutions à différentes concentrations d'acide gallique dans un milieu phosphate sont préparées et traitées par la méthode de Folin-Ciocalteu afin de déterminer le coefficient d'extinction molaire des oxydes de tungstène et de molybdène en fonction du pH (Figure 62).



**Figure 62 : Influence du pH sur la méthode Folin-Ciocalteu**

(Le point carré correspond à la solution d'acide gallique dans l'eau distillée.)

L'augmentation du coefficient d'extinction molaire se fait à partir d'un certain pH, compris entre 4,5 et 6. Pour un pH supérieur à 6, la référence pourra être une solution d'acide gallique dans l'hydrogénophosphate de disodium tandis que pour un pH inférieur à 5, cela sera une solution d'acide gallique dans l'eau distillée.

#### B.II.5. Quel blanc choisir ?

Dans les expériences précédentes, le blanc utilisé était la solution aqueuse contenant les additifs correspondant à la série d'essais considérés, traitée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ces blancs ne semblent pas absorber à 760 nm. Le tableau suivant compare l'absorbance de ces blancs à 760 nm en prenant comme blanc l'eau distillée traitée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

Solution aqueuse	Absorbance 760 nm
NaCl 0,5 M	0,001
HCl 1 M	0,002
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 0,125 M	0,002
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,125 M	0,001
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,050 M	0,001
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,125 M	0,001
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,250 M	0,001
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,300 M	0,001

Ces absorbances mesurées sont inférieures à l'incertitude de mesure du spectrophotomètre (égale à 0,03 environ). Par la suite, quels que soient les additifs, le blanc utilisé sera une solution composée de 1 mL d'eau distillée, de 2 mL de réactif de Folin-

Ciocalteu à 0,2 M et de 2 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et plongée dans un bain-marie à 50°C pendant 5 minutes, c'est-à-dire 1 mL d'eau distillée traité par la méthode de Folin-Ciocalteu.

### **B.III. Bilan**

Le blanc utilisé pour l'étude des procédés d'extraction est 1 mL d'eau distillée traitée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

L'analyse des solutions d'acide gallique en milieu acide et en milieu sel peut être calibrée avec des solutions d'acide gallique dissous dans l'eau distillée.

S'il y a besoin, les solutions-tampons phosphate sont utilisées pour obtenir différents pH. En particulier, l'hydrogénophosphate de disodium est utilisé comme base pour obtenir une forme dissociée de l'acide gallique. L'analyse de ces solutions d'acide gallique est calibrée en fonction de la composition initiale des solutions phosphate.

Après avoir mis en place une méthode analytique robuste de l'acide gallique dans différents systèmes, nous allons passer à l'étude des deux procédés d'extraction qui pour rappel, sont l'extraction liquide-liquide et l'extraction par émulsion.

## C. Extraction liquide-liquide de l'acide gallique

### Note préliminaire :

Toutes les expériences en extraction liquide-liquide sont répétées trois fois pour vérifier leur reproductibilité ; l'écart-type est précisé pour chaque mesure.

### Notations :

- indice I pour la phase aqueuse initiale avant extraction
- indice E pour la phase aqueuse après extraction
- indice D pour la phase aqueuse de récupération (ou de désextraction)
- indice Org pour la phase organique
- AG pour l'acide gallique total sous toutes ses formes acido-basiques
- AH<sub>3</sub> pour l'acide gallique sous sa forme non dissociée
- AH<sub>2</sub><sup>-</sup> pour l'acide gallique sous sa forme carboxylate

Dans la partie précédente, il a été démontré que la méthode de Folin-Ciocalteu quantifiait l'acide gallique total sous toutes ses formes acido-basiques. C'est pourquoi la notation [AG] est souvent utilisée pour désigner la concentration totale d'acide gallique dans un milieu.

### C.I. Choix du couple extractant/désextractant

L'extractant va être dilué dans le dodécane (mélange d'isomères). Il a été choisi comme diluant car il s'agit d'un diluant classique en extraction liquide-liquide : il est non dissociant et la chaîne carbonée est suffisamment longue pour qu'il soit insoluble dans l'eau.

#### C.I.1. Conditions expérimentales

##### ÉTAPE D'EXTRACTION

50 mL d'une solution aqueuse d'acide gallique à 294 μM (50 mg/L) sont mélangés à 50 mL de solution organique dans un bécher, grâce à un barreau magnétique tournant à 430 tours par minute.

1 mL de solution aqueuse est prélevé après 1, 5 et 10 minutes d'agitation et la concentration de chaque échantillon (notée [AG]<sub>E</sub>) est mesurée. À chaque fois que 1 mL de phase aqueuse initiale est prélevé, 1 mL de phase organique est aussi prélevé pour garder le

ratio volumique entre ces deux phases (noté par la suite  $V_I/V_{Org}$ ) constant. Le pH de la solution aqueuse à la fin de l'expérience est mesuré.

### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

40 mL de la précédente phase organique qui a été contactée pendant 10 minutes avec une solution d'acide gallique sont mélangés avec 40 mL de désextractant dans un bécher bas de 250 ml, grâce à un barreau magnétique tournant à 430 tours par minute.

1 mL de solution aqueuse est prélevé après 1, 5 et 10 minutes d'agitation et la concentration de chaque échantillon (notée  $[AG]_D$ ) est mesurée. À chaque fois que 1 mL de phase aqueuse de récupération est prélevé, 1 mL de phase organique est également prélevé pour garder le ratio volumique entre ces deux phases (noté par la suite  $V_D/V_{Org}$ ) constant.

#### **C.I.2. Extraction Liquide-liquide sans extractant**

La phase organique est du dodécane pur.

Le tableau suivant indique la concentration d'acide gallique restant dans la phase aqueuse ( $[AG]_E$ ) après une certaine durée d'extraction. La concentration initiale d'acide gallique est de 294  $\mu$ M.

Temps d'agitation	$[AG]_E$ ( $\mu$ M)
1 min	$296 \pm 5$
5 min	$296 \pm 3$
10 min	$291 \pm 3$

L'expérience montre que le dodécane n'extrait pas l'acide gallique.

#### **C.I.3. Extraction selon une réaction acido-basique**

Une solution d'acide gallique à 294  $\mu$ M (50 mg/L) dissous dans l'eau distillée a un pH autour de 4, dû à sa fonction « acide carboxylique » ; son premier pKa est de 4,26. D'où, sa forme prédominante est la forme acide non dissociée.

Il serait logique d'utiliser une base comme une amine pour l'extraction d'un acide. Une amine couramment utilisée est la trioctylamine (TOA) de masse molaire 354 g/mol et de

masse volumique 0,809 g/mL. La concentration de TOA (diluée dans le dodécane) testée est de 27% v/v (0,59 M).

Temps d'agitation	[AG] <sub>E</sub> (μM)
1 min	295 ± 7
5 min	297 ± 3
10 min	292 ± 4

Il n'y a pas de troisième phase formée, comme c'est parfois le cas pour des systèmes contenant des amines tertiaires.

Jusqu'à 10 minutes d'agitation, la concentration d'acide gallique dans la phase aqueuse reste constante. Le pH de la phase aqueuse au bout de ces 10 minutes est le même que celui de départ. La TOA n'extrait donc pas du tout l'acide gallique : on pourrait expliquer ce phénomène par un empêchement stérique, dû à l'encombrement des molécules de TOA.

Des amines de masse molaire plus faible comme la trihexylamine et la dioctylamine sont testées, à la même concentration molaire (soit 0,59 M). L'extraction reste toujours nulle. Par contre, le pH de la phase aqueuse initiale au bout de 10 minutes d'agitation est passé à 7. Ces deux amines sont en effet un peu solubles dans l'eau, ce qui explique l'augmentation du pH. Nous allons tester d'autres types d'extractants.

#### C.I.4. Extraction par solvatation

D'après la bibliographie, les extractants de type solvatant peuvent être utilisés pour extraire les acides organiques. Le phosphate de tributyle (TBP), de masse molaire 266 g/mol et de masse volumique 0,979 g/mL, est étudié. Deux concentrations de TBP dans le dodécane sont testées : 10 % v/v (0,37 M) et 20% v/v (0,73 M). La concentration initiale d'acide gallique ([AG]<sub>0</sub>) est de 294 μM. Comme l'extraction ne s'accompagne pas de changement de volume des phases, l'efficacité de l'extraction peut être définie comme suit :

$$\text{Eff. Ext.} = \frac{[\text{AG}]_0 - [\text{AG}]_E}{[\text{AG}]_0}$$

Temps d'agitation	[TBP] = 10% v/v		[TBP] = 20% v/v	
	[AG] <sub>E</sub> (μM)	Eff. Ext. (%)	[AG] <sub>E</sub> (μM)	Eff. Ext. (%)
1 min	182 ± 7	38	78 ± 3	73
5 min	185 ± 4	37	77 ± 1	74
10 min	182 ± 6	38	76 ± 2	74

L'extraction par le TBP est efficace et l'équilibre est très rapidement atteint, en moins d'une minute. Avec 10% v/v de TBP, le pH de la solution aqueuse d'acide gallique au bout de 10 min d'agitation est de 4,1 et à 20% v/v de TBP, 4,2. L'acide gallique non extrait est majoritairement sous forme associée : on a donc bien un équilibre.

Le désextractant peut être  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  qui déprotonera l'acide gallique en une forme ionique assez stable et non extractible par le TBP. La concentration de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  est de 0,25 M. Théoriquement, comme la dés extraction se fait volume à volume, si la dés extraction est totale, la concentration d'acide gallique dans la solution de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ( $[\text{AG}]_{\text{D,th}}$ ) doit être de 112  $\mu\text{M}$  pour 10% v/v de TBP et de 218  $\mu\text{M}$  pour 20% v/v de TBP. L'efficacité de la dés extraction est définie comme suit :

$$\text{Eff. Dés.} = \frac{[\text{AG}]_{\text{D}}}{[\text{AG}]_{\text{D,th}}}$$

Le tableau suivant montre les concentrations d'acide gallique dans la phase de dés extraction en fonction du temps d'agitation.

Temps d'agitation	[TBP] = 10% v/v		[TBP] = 20% v/v	
	$[\text{AG}]_{\text{D}}$ ( $\mu\text{M}$ )	Eff. Dés. (%)	$[\text{AG}]_{\text{D}}$ ( $\mu\text{M}$ )	Eff. Dés. (%)
1 min	$114 \pm 5$	102	$212 \pm 10$	97
5 min	$112 \pm 6$	100	$220 \pm 8$	101
10 min	$112 \pm 4$	100	$218 \pm 11$	100

La dés extraction par  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  est quantitative et très rapide : pour les deux concentrations de TBP, il faut moins d'une minute pour récupérer la totalité de l'acide gallique contenu initialement dans la phase organique.

Puisque le TBP dilué dans le dodécane peut extraire l'acide gallique, on pourrait sans doute donc en dissoudre directement dans cette phase organique. La cinétique et le mécanisme de dissolution vont être étudiés.



## C.I.5. Dissolution directe de l'acide gallique dans TBP-dodécane

### C.I.5.a. Etude cinétique

#### Conditions expérimentales

##### ÉTAPE DE DISSOLUTION

De l'acide gallique solide est introduit en grande quantité dans une fiole bouchée contenant du TBP à différentes concentrations (0 à 7 % v/v) dilué dans le dodécane. Une forte agitation est réalisée avec un barreau magnétique.

À 2, 4, 6 et 24 heures d'agitation, 20 mL sont prélevés, mis dans un récipient fermé et laissés au repos pendant 24 heures pour laisser la phase solide décanter.

##### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

15 mL de la solution organique décantée sont prélevés et mis dans une ampoule à décanter. 15 ml de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,25 M y sont ajoutés. L'ampoule à décanter est fortement agitée. Une deuxième désextraction est faite de la même manière pour vérifier que tout l'acide gallique solubilisé dans la phase organique est désextrait en une seule fois.

#### Résultats

Lorsqu'il n'y a pas de TBP, quel que soit le temps de prélèvement, l'absorbance mesurée est inférieure à l'incertitude de mesure égale à 0,03 environ ; la solubilité de l'acide gallique dans le dodécane est donc inférieure à 9  $\mu\text{M}$ . L'acide gallique est extrêmement peu soluble dans le dodécane. Un extractant est donc nécessaire pour obtenir au moins une solubilité significative : ce sera le TBP comme en extraction liquide-liquide.

Le tableau suivant montre la concentration d'acide gallique solubilisé,  $[\text{AG}]_D$ , en fonction du temps de dissolution à deux différentes concentrations de TBP.

$[\text{AG}]_D$ en mM	TBP % v/v dans dodécane	
	1	7
$t_{\text{Agitation}}$ (h)		
0	$0,11 \pm 0,03$	$16,0 \pm 0,5$
2	$0,13 \pm 0,03$	$18,7 \pm 0,6$
4	$0,12 \pm 0,03$	$19,0 \pm 0,5$
6	$0,14 \pm 0,02$	$19,1 \pm 0,6$
24	$0,12 \pm 0,05$	$19,0 \pm 0,5$

Quel que soit le temps d'agitation, une partie de l'acide gallique n'est pas solubilisée. La solubilisation maximale semble être atteinte au bout de deux heures aux incertitudes près.

Ces expériences montrent que la saturation de la phase organique est loin d'être atteinte. En effet, 1% v/v de TBP équivaut à 37 mM comparés aux 0,13 mM d'acide gallique solubilisés (soit environ 300 fois plus) et 7% v/v de TBP équivalent à 255 mM comparés aux 18,7 mM d'acide gallique solubilisés (soit environ 15 fois plus). Donc, il s'agit d'un équilibre ; de plus, la concentration de TBP libre à l'équilibre peut être supposée égale à celle initiale, compte tenu de l'excès observé.

### ***C.I.5.b. Etude du mécanisme***

#### **Conditions expérimentales**

Des expériences supplémentaires sont effectuées à des valeurs intermédiaires de [TBP], à 2,5% v/v, à 4% v/v et à 5,5% v/v. L'agitation dure 4 heures pour atteindre l'équilibre (même si 2 heures semblent suffisantes).

#### **Résultats**

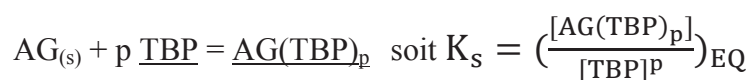
Le tableau suivant montre la concentration d'acide gallique solubilisé, [AG]<sub>D</sub>, en fonction du pourcentage de TBP dans le dodécane au bout de 4 heures d'agitation. Les valeurs pour 1% v/v et pour 7% v/v de TBP sont celles obtenues après 4 heures d'agitation dans l'étude de la cinétique de la dissolution directe.

[TBP] (% v/v)	[AG] <sub>D</sub> (mM)
1	0,12 ± 0,03
2,5	0,9 ± 0,1
4	4,1 ± 0,2
5,5	10,0 ± 0,2
7	19,0 ± 0,5

#### **Analyse des résultats**

##### **HYPOTHÈSE 1**

On considère la formation d'un seul complexe en phase organique, en considérant que l'activité du solide est égale à 1.



Selon la méthode des pentes,

$$\ln([\text{AG(TBP)}_p]_{\text{EQ}}) = p * \ln([\text{TBP}]_{\text{EQ}}) + \ln(K_s)$$

Or  $[TBP]_{eq} \approx [TBP]_0$  car le TBP est en large excès, ce qui a été montré auparavant.

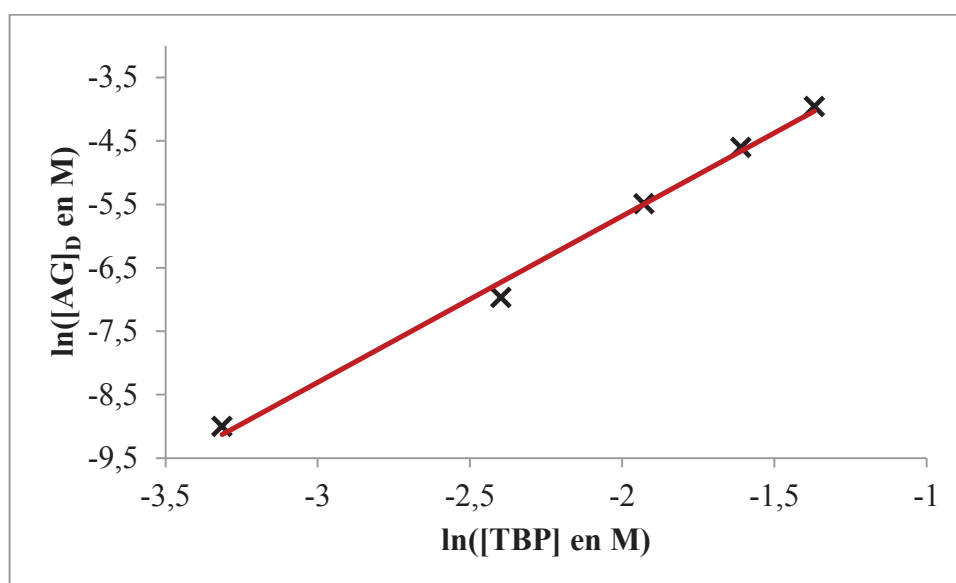
D'où,

$$\ln([AG(TBP)_p]_{eq}) = p * \ln([TBP]_0) + \ln(K_s).$$

$[AG(TBP)_p]_{eq}$  est obtenue par analyse de la phase de dés extraction :

$$[AG(TBP)_p]_{eq} = [AG]_D.$$

En portant  $\ln([AG]_D)$  en fonction de  $\ln([TBP]_0)$ , on doit trouver une droite de pente p (Figure 63).



**Figure 63 : Hypothèse d'un seul complexe formé lors de la dissolution directe**

Bien que le coefficient de corrélation de la courbe de tendance ( $r^2 = 0,995$ ) soit proche de 1, la stœchiométrie de TBP par rapport à une molécule d'acide gallique obtenue (2,6) est contraire à l'hypothèse d'un seul complexe. Donc, l'hypothèse de la formation de deux complexes,  $AG(TBP)_2$  et  $AG(TBP)_3$ , est envisageable.

## HYPOTHÈSE 2

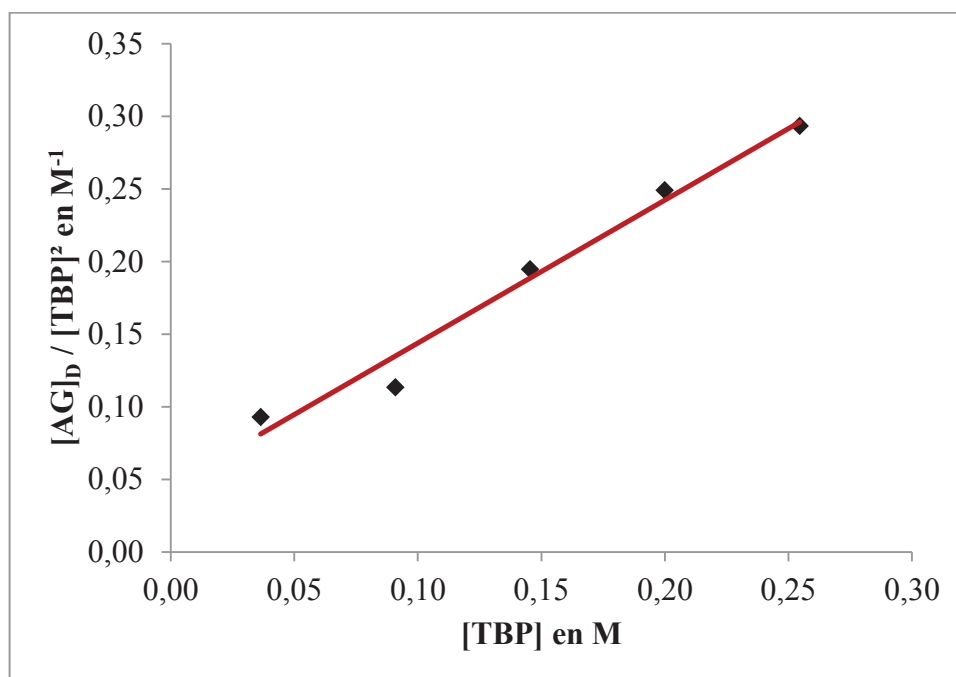
On suppose la formation des deux complexes,  $AG(TBP)_2$  et  $AG(TBP)_3$ . Il y a donc deux équilibres à prendre en compte :



On obtient alors :

$$\frac{[AG(TBP)_2]_{EQ} + [AG(TBP)_3]_{EQ}}{[TBP]_0^2} = K_3 * [TBP]_0 + K_2$$

L'analyse de la phase de dés extraction permet de déterminer directement la somme des concentrations des deux complexes :  $[AG]_D = [AG(TBP)_2]_{EQ} + [AG(TBP)_3]_{EQ}$ .



**Figure 64 : Hypothèse de deux complexes formés lors de la dissolution directe**

La linéarité de la courbe obtenue (Figure 64) valide le modèle ( $r^2 = 0,977$ ). On a donc deux complexes, l'un avec deux molécules de TBP dont la constante de complexation est  $K_2 = 0,046 \text{ M}^{-1}$  et l'autre avec trois molécules de TBP dont la constante de complexation est  $K_3 = 0,984 \text{ M}^{-2}$ .

On vient de démontrer qu'à partir de l'état solide, l'acide gallique se dissolvait directement dans la phase organique composée de TBP et de dodécane, dans des concentrations quantifiables, sous forme de deux complexes,  $AG(TBP)_2$  et  $AG(TBP)_3$ .

#### **C.I.6. Bilan de ce choix**

Le TBP est un extractant convenable pour l'acide gallique.  $Na_2HPO_4$  peut être utilisé comme dés extractant.

Par la suite, les essais se font dans des ampoules à décanter : chaque étape se fait toujours dans une nouvelle ampoule propre. Les ampoules sont fortement agitées à la main pendant quelques minutes afin d'obtenir une surface de contact élevée entre les deux phases. Une deuxième dés extraction peut être faite pour vérifier qu'il ne reste pas d'acide gallique dans la phase organique, après la première dés extraction.

La concentration d'acide gallique restant dans la phase aqueuse après extraction (notée  $[AG]_E$ ), son pH (noté  $pH_{EQ}$ ) et la concentration d'acide gallique récupérée dans la phase aqueuse après dés extraction (notée  $[AG]_D$ ) sont mesurés.

Les expériences se font volume à volume. De ce fait, le bilan-matière est exprimé par  $[AG]_0 = [AG]_E + [AG]_D$ . Le rapport  $BM = \frac{[AG]_E + [AG]_D}{[AG]_0}$  est un indicateur de la vérification de bilan.

## C.II. Etude de l'étape d'extraction

### C.II.1. Influence du $pH_{EQ}$

#### C.II.1.a. Conditions expérimentales

##### PRÉPARATION DES SOLUTIONS D'ACIDE GALLIQUE À DIFFÉRENTS PH

Les solutions à différents pH sont obtenues à partir d'une même solution-mère d'acide gallique, en ajoutant des mélanges de phosphates ( $H_3PO_4$ ,  $NaH_2PO_4$  et  $Na_2HPO_4$ ) dans les conditions suivantes : la concentration finale d'acide gallique,  $[AG]_0$ , est de 294  $\mu M$  (50 mg/L) et la concentration totale de phosphates de 0,125 M.

Une solution d'acide gallique dissous dans l'acide chlorhydrique concentré est préparée pour obtenir un pH voisin de zéro.

##### ÉTAPE D'EXTRACTION

- Phase aqueuse : 25 mL d'une solution aqueuse d'acide gallique à un certain pH
- Phase organique : 25 mL de TBP 10% v/v dans le dodécane

##### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

- Phase aqueuse : 20 mL de la phase organique après extraction
- Phase organique : 20 mL de  $Na_2HPO_4$  0,25 M

### ***C.II.1.b. Résultats***

Le pH des solutions aqueuses n'a pas significativement changé après extraction : ceci est dû au fait que ce sont des milieux tampons.

Le tableau suivant montre les concentrations d'acide gallique des différentes phases après extraction et après dés extraction en fonction de  $pH_{EQ}$  (à concentration de TBP constante à 10 % v/v).

$pH_{EQ}$	$[AG]_E$ ( $\mu M$ )	$[AG]_D$ ( $\mu M$ )	BM (%)
0	$134 \pm 6$	$163 \pm 6$	101
1,6	$157 \pm 5$	$149 \pm 8$	104
2,1	$160 \pm 3$	$141 \pm 7$	102
3	$157 \pm 7$	$131 \pm 3$	98
4,3	$214 \pm 4$	$91 \pm 4$	104
6,2	$291 \pm 2$	$7 \pm 1$	101
9,5	$291 \pm 4$	$4 \pm 2$	100

Le TBP extrait l'acide gallique uniquement en milieu acide, pour des pH inférieurs à 6. L'expérience à  $pH_{EQ}$  9,5 confirme le fait que ce pH est propice à une bonne dés extraction.

Le bilan-matière est vérifié à 4% près au maximum, ce qui est tout à fait satisfaisant.

### ***C.II.1.c. Analyse des résultats***

Le taux d'extraction est défini comme suit :

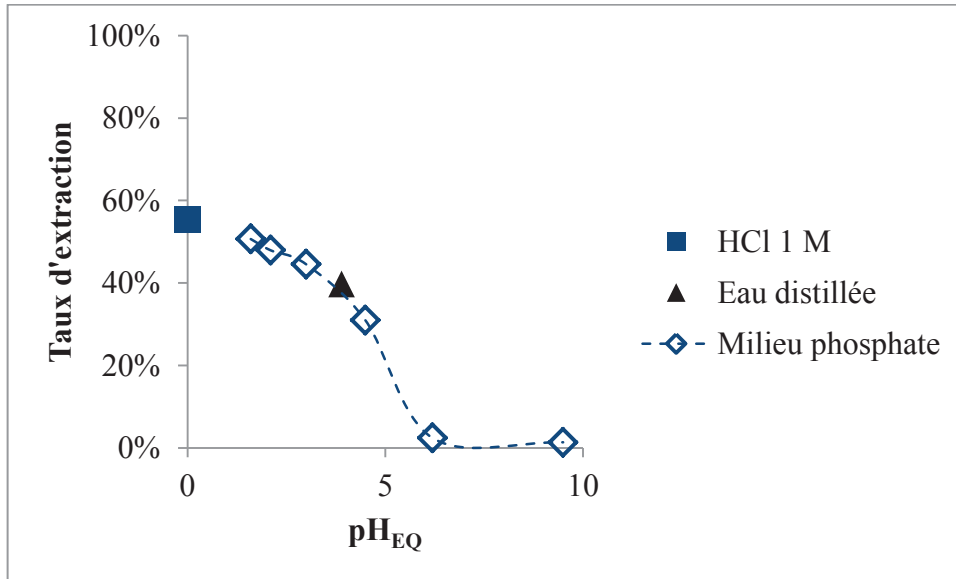
$$tE = \frac{[AG]_{org}}{[AG]_0}$$

avec  $[AG]_{org}$ , concentration d'acide gallique dans la phase organique à l'équilibre.

En tenant en compte du fait que le ratio volumique entre la phase aqueuse de dés extraction et la phase organique est de 1, la concentration de l'acide gallique en phase organique ( $[AG]_{org}$ ) est donc égale à celle en phase aqueuse de dés extraction ( $[AG]_D$ ).

Le tableau suivant montre les taux d'extraction en fonction de  $pH_{EQ}$  (à concentration de TBP constante à 10 % v/v).

pH <sub>EQ</sub>	tE (%)
0	55
1,2	51
2,1	48
3	45
4,3	31
6,2	2
9,5	1



**Figure 65 : Influence de pH<sub>EQ</sub> en extraction liquide-liquide**

Le résultat obtenu précédemment avec l'acide gallique dissous dans l'eau distillée et avec 10 % v/v de TBP est ajouté. Le point correspondant se trouve bien sur la courbe (Figure 65) ; il y a donc cohérence des résultats.

Cette influence de pH<sub>EQ</sub> sur le taux d'extraction peut être corrélée avec la répartition des formes acido-basiques de l'acide gallique en fonction du pH : le TBP n'extraîrait que la forme acide non dissociée de l'acide gallique (AH<sub>3</sub>).

En supposant qu'un seul complexe se forme, l'équilibre obtenu à l'étape d'extraction s'écrit :



La constante d'équilibre associée est :

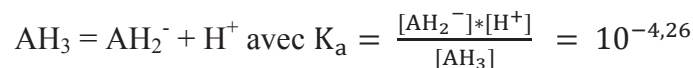
$$K_p = \frac{[\underline{\text{AH}_3(\text{TBP})_p}]}{[\text{AH}_3][\text{TBP}]^p} \text{ avec toutes les concentrations obtenues à l'équilibre.}$$

Dans cette formule, [TBP] est la concentration de TBP libre (c'est-à-dire non complexé par l'acide gallique) à l'équilibre. Or la quantité initiale de TBP est en très large excès par rapport à celle de l'acide gallique (9250  $\mu\text{mol}$  versus 7  $\mu\text{mol}$ ). Donc, la concentration de TBP libre à l'équilibre peut être considérée comme égale à celle initiale, [TBP]<sub>0</sub>.

Le coefficient de partage de l'acide gallique associé est :

$$q = \frac{[\text{AH}_3(\text{TBP})_p]}{[\text{AH}_3]}$$

Comme il a été vu auparavant, la méthode de Folin-Ciocalteu mesure l'acide gallique présent dans un milieu aqueux sous toutes ses formes. La concentration de l'acide gallique sous sa forme non dissociée ([AH<sub>3</sub>]) ne peut donc pas être mesurée directement. Pour les pH inférieurs à 4,5, seul le premier équilibre acido-basique correspondant à l'acide carboxylique doit être pris en compte.



$$[\text{AG}]_E = [\text{AH}_2^-] + [\text{AH}_3] = [\text{AH}_3] * (1 + 10^{(-pK_a + pH_{EQ})})$$

$$[\text{AH}_3(\text{TBP})_p] = [\text{AG}]_D$$

Le coefficient de partage peut donc être exprimé par :

$$q = \frac{[\text{AG}]_D}{[\text{AG}]_E} * (1 + 10^{(-pK_a + pH_{EQ})}) = [\text{TBP}]_0^p * K_p$$

D'après le modèle, il ne dépend pas du pH et est constant pour une concentration de TBP fixée (ici à 10% v/v), comme nous le vérifions sur la figure 66.

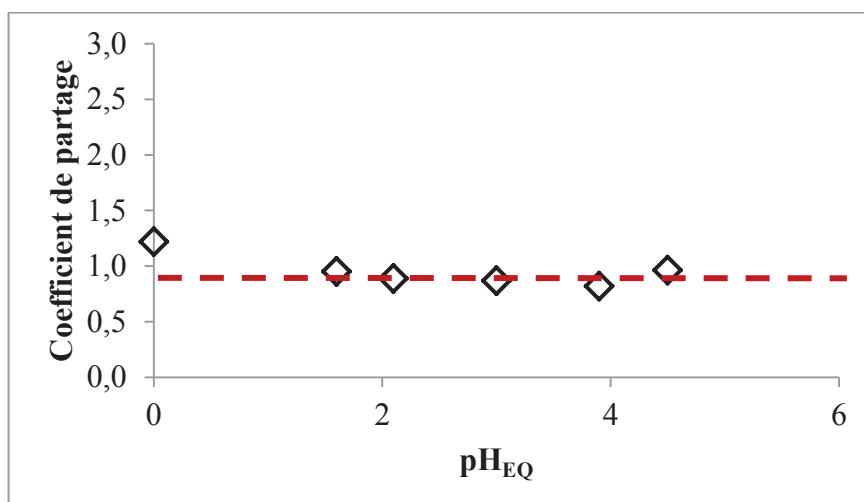


Figure 66 : Influence du pH sur le coefficient de partage de l'acide gallique



Pour 10% v/v de TBP, le coefficient de partage de l'acide gallique est égal à 0,9 quel que soit le pH compris entre 0 et 4,5. L'hypothèse que seule la forme non dissociée de l'acide gallique est extraite est donc validée.

L'étude des autres paramètres opératoires se poursuit avec des solutions aqueuses d'acide gallique pur sans additif : les résultats peuvent être transférables aux autres  $pH_{EQ}$ .

## C.II.2. Influence de la concentration de TBP

### C.II.2.a. Conditions expérimentales

#### ÉTAPE D'EXTRACTION

- 25 ml d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) dans l'eau distillée
- 25 ml de TBP à différentes concentrations (entre 4 et 30% v/v) dans le dodécane

#### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

- 20 ml de la phase organique après extraction
- 20 ml de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,25 M

### C.II.2.b. Résultats

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

[TBP] (% v/v)	[AG] <sub>E</sub> ( $\mu\text{M}$ )	[AG] <sub>D</sub> ( $\mu\text{M}$ )	$pH_{EQ}$	tE (%)	BM (%)
4	289 $\pm$ 3	12 $\pm$ 6	4,0 $\pm$ 0,1	4	102
6	275 $\pm$ 3	27 $\pm$ 7	4,0 $\pm$ 0,1	9	103
8	248 $\pm$ 12	56 $\pm$ 9	4,1 $\pm$ 0,1	19	103
10	188 $\pm$ 5	117 $\pm$ 3	4,1 $\pm$ 0,1	40	104
15	116 $\pm$ 1	188 $\pm$ 8	4,2 $\pm$ 0,1	64	103
20	66 $\pm$ 5	222 $\pm$ 8	4,2 $\pm$ 0,1	75	98
30	26 $\pm$ 2	268 $\pm$ 10	4,4 $\pm$ 0,1	91	100

Quand la concentration de TBP augmente, l'extraction de l'acide gallique augmente, résultant en une hausse du pH à l'équilibre.

Le bilan-matière est vérifié à 4 % près au maximum.

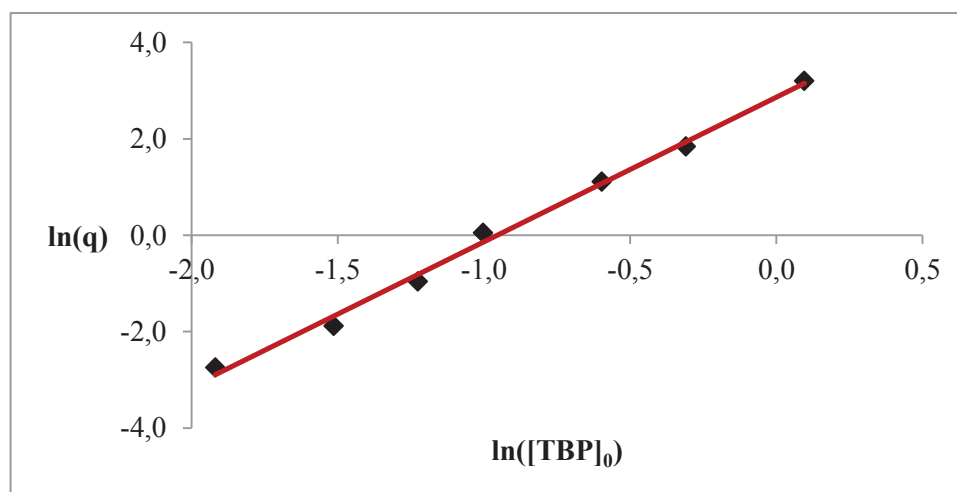
### C.II.2.c. Analyse des résultats

On considère que la concentration de TBP libre est égale à sa concentration initiale car il est en large excès.

En supposant qu'un seul complexe se forme et en utilisant les équations précédentes et la méthode des pentes, l'équation suivante est obtenue où  $q$  est le coefficient de partage de l'acide gallique.

$$\ln(q) = p * \ln([TBP]_0) + \ln(K_p)$$

Avec  $q = \frac{[AG]_D}{[AG]_E} * (1 + 10^{(-pK_a + pH_{E0})})$  et  $pK_a = 4,26$ .



**Figure 67 : Coefficient de partage en fonction de la concentration de TBP (Méthode des pentes)**

En portant  $\ln(q)$  en fonction de  $\ln([TBP]_0)$ , on obtient une droite (Figure 67). La courbe de tendance linéaire a l'équation suivante (coefficient de corrélation,  $r^2 = 0,995$ ) :

$$\ln(q) = 3,0 * \ln([TBP]_0) + 2,9 \text{ (avec } [TBP]_0 \text{ en M).}$$

Donc, il faut trois molécules de TBP pour extraire une molécule d'acide gallique dans le dodécane. La constante d'équilibre associée est égale à l'exponentielle de l'ordonnée à l'origine de la droite de tendance, soit  $K_3 = 18 \text{ M}^{-3}$ .

En conclusion, le mécanisme en extraction liquide-liquide est formé est différent de celui obtenu en dissolution directe avec la formation de deux complexes, l'un avec deux molécules de TBP et l'autre avec trois molécules de TBP. La différence est peut-être due à la présence d'eau. Il se pourrait que l'eau soit co-extraite avec l'acide gallique par le TBP en

extraction liquide-liquide. La molécule d'acide gallique hydratée étant plus grosse et moins lipophile aurait besoin de davantage de molécules de TBP pour être extraite.

Des essais de mesure de la concentration d'eau en solution organique ont été réalisés par la méthode de Karl-Fischer, décrite par le constructeur du coulomètre utilisé (Metrohm) et basée sur une réaction d'oxydo-réduction. Ils n'ont pas donné de résultats concluants car il semble que l'acide gallique en tant que réducteur interfère sur ce dosage.

### **C.II.3. Influence de la concentration initiale d'acide gallique**

#### ***C.II.3.a. Conditions expérimentales***

##### ÉTAPE D'EXTRACTION

- 25 ml d'acide gallique à une concentration initiale  $[AG]_0$  dissous dans l'eau distillée
- 25 ml de TBP dilué dans le dodécane

Trois concentrations initiales d'acide gallique (294  $\mu$ M soit 50 mg/L, 1,76 mM soit 300 mg/L et 3,53 mM soit 600 mg/L) et deux concentrations de TBP dans le dodécane (10% v/v et 20% v/v) sont testées.

##### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

- 20 ml de la phase organique obtenue après extraction
- 20 ml d'une solution aqueuse de  $Na_2HPO_4$  0,25 M

Comme l'extraction et la désextraction sont réalisées volume à volume, les concentrations de la forme non dissociée de l'acide gallique sont calculées à partir des résultats obtenus, comme précédemment :

$$\begin{aligned} [AH_3]_{org} &= [AG]_D \\ [AH_3]_{aq} &= \frac{[AG]_E}{1 + 10^{(-pK_a + pH_{E,Q})}} \end{aligned}$$

#### ***C.II.3.b. Résultats***

Les résultats sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

[TBP] = 10% v/v

[AG] <sub>0</sub> (mM)	[AG] <sub>E</sub> (mM)	[AG] <sub>D</sub> (mM)	pH <sub>EQ</sub>	BM (%)
0,29	0,19 ± 0,01	0,12 ± 0,01	4,1	105
1,76	1,08 ± 0,07	0,67 ± 0,02	3,7	99
3,53	1,97 ± 0,05	1,43 ± 0,06	3,6	96

[TBP] = 20% v/v

[AG] <sub>0</sub> (mM)	[AG] <sub>E</sub> (mM)	[AG] <sub>D</sub> (mM)	pH <sub>EQ</sub>	BM (%)
0,29	0,07 ± 0,01	0,22 ± 0,01	4,2	99
1,76	0,37 ± 0,01	1,32 ± 0,04	4,1	96
3,53	0,56 ± 0,05	2,90 ± 0,02	3,8	98

Le bilan-matière est vérifié à 4 % près. Une deuxième dés extraction montre qu'il n'y a plus rien dans la phase organique après la première dés extraction.

### C.II.3.c. Analyse des résultats

En traçant  $[AH_3]_{org}$  en fonction de  $[AH_3]_{aq}$ , on obtient la courbe de partage de l'acide gallique sous forme associée, qui devrait être linéaire car l'acide gallique est en très faible concentration. La pente de la droite est le coefficient de partage. C'est bien le cas, comme montré dans la figure 68.

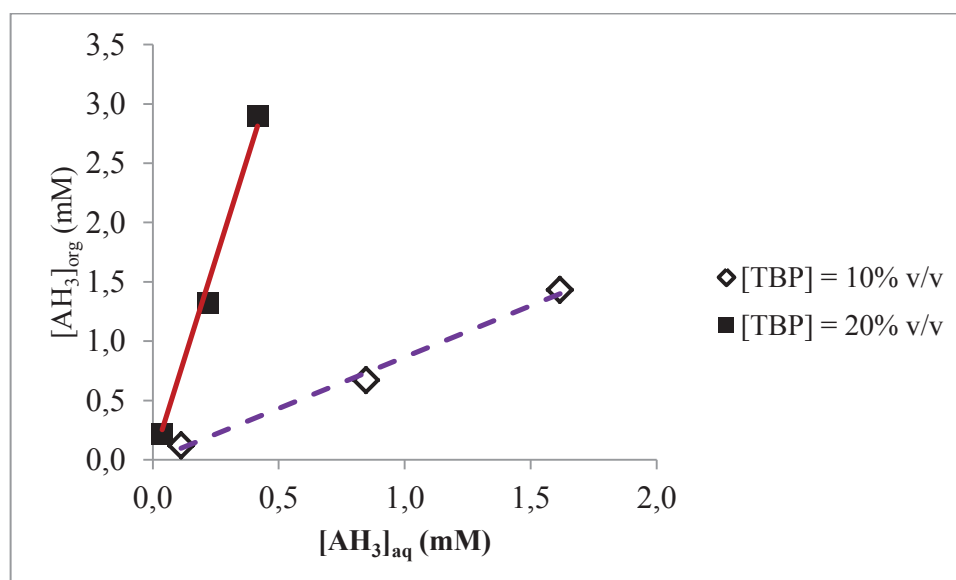


Figure 68 : Courbe de distribution de l'acide gallique

Pour  $[TBP]_1 = 10 \%$  v/v, le coefficient de partage vaut 0,87 (avec  $r^2 = 0,994$ ) et pour  $[TBP]_2 = 20 \%$  v/v, il est de 6,76 (avec  $r^2 = 0,991$ ) : le coefficient de corrélation,  $r^2$ , très proche de 1, confirme la linéarité.

Donc, quelle que soit la concentration d'acide gallique dans la phase de départ (dans le domaine étudié), le coefficient de partage est constant pour une concentration de TBP donnée, confirmant que l'espèce extraite ne contient qu'une molécule d'acide gallique.

Les coefficients de partage sont bien proportionnels à  $[TBP]^3$ .

En effet,  $\ln\left(\frac{q_2}{q_1}\right) / \ln\left(\frac{[TBP]_2}{[TBP]_1}\right) = \frac{2,05}{0,693} = 2,96$ , ce qui confirme bien le mécanisme trouvé.

### C.III. Etude de l'étape de la dés extraction

Au préalable, 1 L d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  dissous dans l'eau distillée et 1 L de TBP 10% v/v dilué dans le dodécane sont préparés.

#### ÉTAPE DE L'EXTRACTION

- 200 mL de la solution d'acide gallique
- 200 mL de la phase organique

Après extraction, la concentration d'acide gallique restant dans la phase aqueuse,  $[\text{AG}]_E$ , est de  $194 \pm 8 \mu\text{M}$ . La concentration d'acide gallique en phase organique doit être donc de 100  $\mu\text{M}$ . La performance de dés extraction est mesurée par le ratio de la quantité dés extraite par la quantité contenue dans la phase organique après extraction (notée tD pour taux de dés extraction).

#### C.III.1. Influence de la concentration de dés extractant

Pour rappel, le dés extractant choisi est  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

##### *C.III.1.a. Conditions expérimentales*

- 20 ml de la phase organique après extraction
- 20 ml d'une solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  à différentes concentrations comprises entre 0,05 et 0,25 M

Une deuxième dés extraction pourra être effectuée pour vérifier si la première dés extraction est totale.

### **C.III.1.b. Résultats**

Les résultats sont portés dans le tableau ci-dessous.

[Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ] (M)	[AG] <sub>D</sub> (μM)	tD (%)
0,05	101 ± 4	101
0,125	105 ± 3	105
0,25	105 ± 1	105

Il n'y a pas d'influence significative de la concentration du désextractant sur la désextraction, vu l'excès de celui-ci par rapport à l'acide gallique. La plus faible des concentrations pourra donc être utilisée, en particulier pour respecter l'une des règles de la chimie verte, « utiliser le moins de réactifs possible ». La deuxième désextraction montre qu'il ne reste plus rien en phase organique : les absorbances des phases aqueuses obtenues après la deuxième désextraction sont en-deça de l'incertitude de mesure : [AG]<sub>D2</sub> < 6 μM.

### **C.III.2. Influence du rapport de volume V<sub>ORG</sub>/V<sub>D</sub>**

#### **C.III.2.a. Conditions expérimentales**

- 20 ml de la phase organique après extraction
- Différents volumes d'une solution aqueuse de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> à 0,25 M

Les volumes de désextraction testés sont compris entre 2 et 20 mL. Une deuxième désextraction pourra être effectuée.

#### **C.III.2.b. Résultats**

Les résultats sont portés dans le tableau ci-dessous.

V <sub>D</sub> (mL)	[AG] <sub>D</sub> (μM)	tD (%)
20	105 ± 1	105
10	205 ± 4	102
5	402 ± 4	100
3	670 ± 14	101
2	954 ± 40	95

Dans l'intervalle de volume de dés extraction étudié, l'influence de ce paramètre est faible car la quantité de dés extractant est toujours en large excès par rapport à la quantité d'acide gallique contenu dans la phase organique, sauf peut-être pour 2 mL de dés extractant. La deuxième dés extraction montre qu'il ne reste plus rien en phase organique.

Utiliser un volume de dés extraction moins élevé que le volume de la phase organique permet de concentrer la solution aqueuse de départ : un facteur de concentration élevé peut être obtenu ; par rapport à la concentration de la solution de départ, la valeur la plus élevée obtenue ici est de 3,2.

## **C.IV. Stabilité et recyclage de la phase organique**

### **C.IV.1. Conditions expérimentales**

Un cycle est composé de trois parties : l'extraction, la dés extraction et le lavage de la phase organique à l'eau distillée pour chasser toute trace d'acide gallique et de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

#### PREMIER CYCLE

##### ÉTAPE D'EXTRACTION

- 100 mL d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) dans l'eau distillée
- 100 mL de TBP à 10 % v/v dans le dodécane

##### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

- 95 mL de la phase organique après extraction
- 95 mL d'une solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,25 M

##### ÉTAPE DE LAVAGE DE LA PHASE ORGANIQUE

- 90 mL de la phase organique après dés extraction
- 90 mL d'eau distillée

#### CYCLES SUIVANTS

Le cycle suivant se fait avec 15 ml de moins que les volumes du cycle précédent, pour l'ensemble des phases utilisé. Par exemple, pour le deuxième cycle, à l'extraction, 85 mL d'une solution aqueuse d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) sont mélangés avec 85 mL de TBP à 10% v/v dilué dans le dodécane issus du lavage, dans une nouvelle ampoule à décanter. Il y a au total quatre cycles.

## C.IV.2. Résultats

Des essais effectués au préalable sans lavage donnent des résultats médiocres dès le deuxième cycle : des traces de désextractant restent dans la phase organique et se retrouvent au cours de la deuxième extraction dans la phase aqueuse, résultant en une augmentation du pH préjudiciable à l'extraction.

Les tableaux ci-dessous montrent les résultats obtenus à la fin de chaque cycle après l'étape de lavage de la phase organique après désextraction.

	Nombre de cycles			
	1	2	3	4
[AG] <sub>E</sub> (μM)	189 ± 7	199 ± 9	199 ± 9	198 ± 7
[AG] <sub>D</sub> (μM)	90 ± 7	85 ± 6	86 ± 3	88 ± 6
tE (%)	33	31	31	31
BM (%)	95	97	97	97
pH <sub>EQ</sub>	4,1 ± 0,1	4,1 ± 0,2	4,2 ± 0,2	4,2 ± 0,2

La phase organique contenant 10% v/v de TBP dans le dodécane est stable au moins pendant quatre cycles : le désextractant ne dégrade ni le TBP ni le dodécane car le taux d'extraction est aux alentours de 31%. Le recyclage de cette phase permet d'économiser les réactifs organiques.

Nous avons donc démontré la faisabilité industrielle de l'extraction de l'acide gallique dans une solution aqueuse issue de la solubilisation du solide.

## C.V. Bilan

Dans cette partie, on a démontré que le TBP était un extractant efficace pour l'extraction liquide-liquide de l'acide gallique, avec la formation d'un seul complexe composée de trois molécules de TBP pour une molécule non dissociée de l'acide gallique.

On pourrait supposer que des molécules d'eau soient co-extraites, vu qu'on n'obtient pas le même mécanisme qu'en dissolution directe où sont formés deux complexes.

Ce procédé est contrôlée par les équilibres thermodynamiques : il faut une concentration élevée de TBP pour une extraction totale. Cependant, ces équilibres sont rapidement atteints, en moins d'une minute.



Le monohydrogénophosphate de disodium,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , est un bon désextractant : les résultats expérimentaux montrent que la désextraction est totale et rapide en moins d'une minute.

## D. Extraction par émulsion de l'acide gallique

Nous allons maintenant étudier le second procédé extractif, l'extraction par émulsion, qui est dérivé du procédé précédent.

### D.I. Étapes et Paramètres fixés

#### ÉTAPE D'ÉMULSIFICATION

L'émulsion est toujours produite de la même manière pour l'ensemble des expériences d'extraction par émulsion. La phase aqueuse interne (ici, une solution de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) est dispersée dans une phase organique (appelée aussi membrane) par une très forte agitation à 13500 tours par minute pendant dix minutes, grâce à un rotor-stator, de type ULTRA TURRAX T25. Pendant l'émulsification et jusqu'à l'utilisation de l'émulsion, le récipient dans lequel elle est produite est placé dans un bain glacé afin de préserver la stabilité de l'émulsion.

Le ratio volumique de l'émulsion entre la membrane ( $V_m$ ) et la phase interne ( $V_{int}$ ) peut varier : il est précisé pour chaque expérience.

#### ÉTAPE D'EXTRACTION

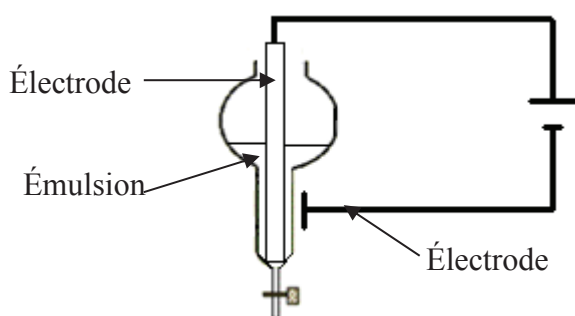
- Le volume d'émulsion ( $V_{em}$ ) est toujours égal à 60 mL.
- La phase externe est contactée avec l'émulsion dans un bécher haut de 600 mL grâce à un barreau magnétique cylindrique d'une longueur de 5 cm.
- Les paramètres opératoires étudiés et leurs valeurs sont donnés à chaque expérience.
- Des échantillons sont prélevés à des temps précisés à chaque expérience et de telle manière que le rapport volumique entre la phase externe ( $V_{ext}$ ) et l'émulsion reste constant. Par exemple, si  $V_{ext} / V_{em} = 6$ , pour 1 mL d'émulsion prélevé, alors il y aura 6 mL de phase externe prélevés.
- Les expériences sont répétées trois fois pour vérifier leur reproductibilité ; l'écart-type est précisé à chaque mesure.
- L'efficacité du procédé est évaluée par le taux d'extraction, défini par le rapport entre la quantité récupérée en phase aqueuse interne et la quantité initiale dans la phase aqueuse externe.

#### ÉTAPE D'ÉLECTROCOASLESCENCE

Après l'étape d'extraction, l'émulsion est séparée de la phase aqueuse externe d'acide gallique dans une ampoule à décanter. La phase interne est séparée de la membrane par

électrocoalescence de l'émulsion. L'électrocoalescence est utilisée, à la place de la coalescence chimique utilisant par exemple un alcool lourd, pour pouvoir recycler la phase organique dans une nouvelle extraction.

L'électrocoalescence consiste à soumettre l'émulsion à un champ électrique de quelques kV. Le dispositif expérimental (Figure 69) est composé d'une électrode isolée plongée dans l'émulsion contenue dans une ampoule à décanter et d'une seconde électrode placée à l'extérieur de l'ampoule.



**Figure 69 : Montage expérimental de l'électrocoalescence**

Un volume de la phase organique issu de l'électrocoalescence est contacté avec une solution de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,25 M pour vérifier si tout l'acide gallique a été déséxtrait.

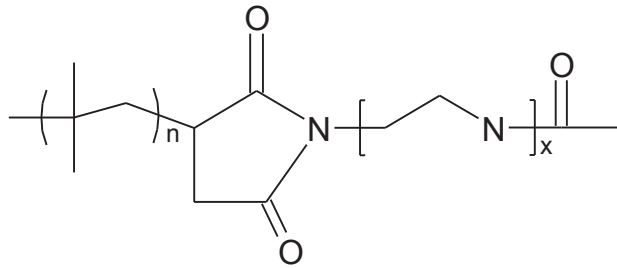
## **D.II. Pré-étude : Formulation de la membrane**

### **D.II.1. Choix du diluant**

Le dodécane (mélange d'isomères) est choisi comme diluant. En effet, il est classiquement utilisé en extraction par émulsion, pour les mêmes raisons qu'en extraction liquide-liquide ; il est non soluble dans l'eau et non dissociant.

### **D.II.2. Choix du tensioactif**

Le choix du tensioactif s'est porté sur l'ECA 4360 (Figure 70) fourni par EXXON. Il s'agit d'une polyamine condensée sur de l'anhydride succinique substitué par une chaîne polyisobutylène : la figure suivante montre sa formule générale avec  $x = 6$  et  $n = 16$ .



**Figure 70 : L'ECA 4360**

Ce tensioactif est choisi pour plusieurs raisons. Son HLB est bas, ce qui permet de produire une émulsion Eau dans Huile. De plus, il est stable en présence d'un milieu basique. Enfin, dilué dans un alcane, il est connu pour ne pas provoquer de gonflement de l'émulsion par apport d'eau de la phase externe vers la phase interne [56].

Le caractère Eau dans Huile de l'émulsion est vérifié avec la méthode suivante. La phase aqueuse interne contenant  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,25 M est dispersée dans une phase organique contenant 3% v/v d'ECA 4360 dilués dans le dodécane, selon la méthode exposée plus haut. Une électrode de conductimétrie est trempée dans l'émulsion produite ; elle permet de mesurer la conductivité de la phase continue de l'émulsion. Si l'émulsion était Huile dans Eau, la conductivité serait celle d'une solution de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,25 M, soit de l'ordre du S. Or la conductivité mesurée est de l'ordre du mS, celle de la solution organique. Donc, il s'agit bien d'une émulsion Eau dans Huile.

### D.II.3. Paramètres d'analyse et notations

Les concentrations d'acide gallique total dans les différentes phases vont être mesurées et notées de la manière suivante :

$[\text{AG}]_{\text{ext}}$  pour celle de la phase aqueuse externe

$[\text{AG}]_{\text{m}}$  pour celle de la membrane organique

$[\text{AG}]_{\text{int}}$  pour celle de la phase aqueuse interne.

Le taux d'extraction (noté tE) est défini comme le rapport entre les nombres de moles d'acide gallique dans les phases interne au temps t et externe au temps 0 :

$$tE = \frac{n_{\text{int},t}}{n_{\text{ext},0}} = \frac{V_{\text{int},t} * [\text{AG}]_{\text{int},t}}{V_{\text{ext},0} * [\text{AG}]_{\text{ext},0}}$$

Le bilan-matière est défini avec les nombres de moles d'acide gallique dans les différentes phases aux temps 0 et t selon  $n_{\text{ext},0} = n_{\text{ext},t} + n_{\text{m},t} + n_{\text{int},t}$ . L'écart à 1 du rapport

$$BM = \frac{n_{\text{ext},t} + n_{\text{m},t} + n_{\text{int},t}}{n_{\text{ext},0}}$$

est un indicateur de la précision du bilan-matière.

Le pH de la phase externe est suivi en trempant l'électrode dans la phase externe durant l'extraction.

Le taux de rupture (noté Br) est le ratio du volume perdu par la phase interne entre les temps 0 et t (noté v) par rapport à son volume initial,  $V_{\text{int},0}$ .

$$\text{Br} = \frac{v}{V_{\text{int},0}}$$

v est mesuré à l'aide d'un traceur non soluble dans la phase organique. Ici, il s'agit des ions sodium provenant du désextractant utilisé,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , dont la concentration est mesurable par spectrométrie d'absorption atomique ; leur présence dans la phase externe ne peut résulter que d'une rupture de l'émulsion.

Initialement, la phase externe de volume  $V_{\text{ext},0}$  ne contient pas de traceur :  $[\text{Na}^+]_{\text{ext},0} = 0$  M.

Comme on néglige le gonflement de l'émulsion, la concentration de sodium en phase interne au temps t est identique à celle initiale (notée  $[\text{Na}^+]_{\text{int},0}$ ) alors que celle de la phase externe au temps t est devenue  $[\text{Na}^+]_{\text{ext},t}$ .

En considérant que les ions sodium ne sont pas solubles dans la phase organique, le bilan-matière sur ces ions entre le début de l'essai et le temps t est donné par l'équation suivante :

$$V_{\text{int},0} * [\text{Na}^+]_{\text{int},0} = (V_{\text{int},0} - v) * [\text{Na}^+]_{\text{int},0} + (V_{\text{ext},0} + v) * [\text{Na}^+]_{\text{ext},t}$$

Le volume v peut être donc calculé à partir des concentrations de sodium :

$$v = \frac{V_{\text{ext},0} * [\text{Na}^+]_{\text{ext},t}}{[\text{Na}^+]_{\text{int},0} - [\text{Na}^+]_{\text{ext},t}}$$

On verra par la suite que l'on peut négliger  $[\text{Na}^+]_{\text{ext},t}$  devant  $[\text{Na}^+]_{\text{int},0}$  ; soit v devant  $V_{\text{ext},0}$ .

Le taux de rupture vaut donc :

$$\text{Br} = \frac{V_{\text{ext},0} * [\text{Na}^+]_{\text{ext},t}}{V_{\text{int},0} * [\text{Na}^+]_{\text{int},0}}$$

#### D.II.4. Extractant ou pas ?

Il a été montré que la quantité d'acide gallique soluble dans le dodécane était en dessous des incertitudes de mesure (Cf. C.VI.1.), mais elle pourrait ne pas être totalement nulle. Or, comme il a été vu dans la bibliographie (Cf. A.III.4.a.), il serait possible de ne pas utiliser d'extractant en extraction par émulsion appliquée aux acides organiques : le gradient de concentration entre les deux phases aqueuses externe et interne et une très faible solubilité de la molécule à extraire dans le diluant permettraient de réaliser l'extraction.

##### D.II.4.a. Membrane sans extractant

#### CONDITIONS EXPÉRIMENTALES DE L'ÉTAPE D'EXTRACTION

- Phase externe : Acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) dissous dans l'eau distillée
- Membrane : 3% v/v d'ECA 3460 dilués dans le dodécane
- Phase interne : Solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  à 0,25 M
- Autres paramètres opératoires :
  - Agitation à 430 tours par minute
  - $V_{\text{int}}/V_{\text{m}} = 1$
  - $V_{\text{ext}}/V_{\text{em}} = 6$
- Temps d'extraction : 5 minutes

#### RÉSULTATS

$[\text{AG}]_{\text{ext}} \text{ à } t \text{ (}\mu\text{M)}$	$291 \pm 7$
$[\text{AG}]_{\text{m}} \text{ à } t \text{ (}\mu\text{M)}$	$< 6 \mu\text{M}$ (Incertitude de mesure)
$[\text{AG}]_{\text{int}} \text{ à } t \text{ (}\mu\text{M)}$	$56 \pm 9$
Taux d'extraction (%)	1
BM (%)	101

Contrairement aux études citées auparavant, l'extraction par émulsion de l'acide gallique sans extractant n'est pas possible car l'acide gallique n'est sans doute pas du tout soluble dans le dodécane. Il faudrait donc ajouter en tant qu'extractant le TBP qui a été efficace en extraction liquide-liquide afin de réaliser l'extraction.

##### D.II.4.b. Membrane avec extractant

#### CONDITIONS OPÉRATOIRES

Elles sont identiques à celles de l'essai précédent, à cela près que la membrane contient désormais 3% v/v de TBP, en plus des 3% d'ECA 4360 dilués dans le dodécane.

Différents temps d'extraction (30 secondes, 3 minutes et 5 minutes) sont testés.

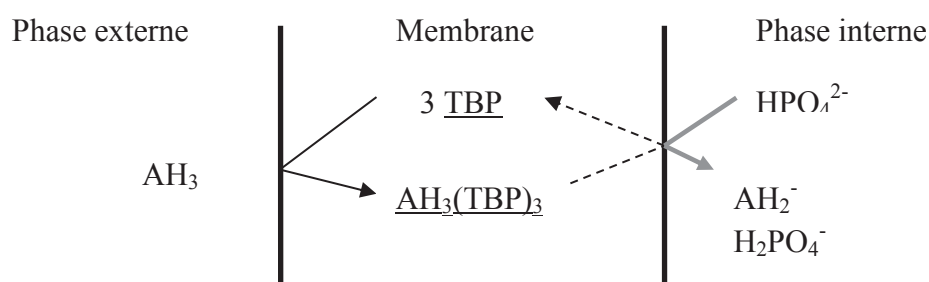
## RÉSULTATS

	Temps d'extraction		
	30 s	3 min	5 min
$[AG]_{\text{ext}} \text{ à } t \text{ (}\mu\text{M)}$	$58 \pm 4$	$7 \pm 2$	$10 \pm 2$
$[AG]_{\text{m}} \text{ à } t \text{ (}\mu\text{M)}$	< 6 $\mu\text{M}$ (Incertitude de mesure)		
$[AG]_{\text{int}} \text{ à } t \text{ (mM)}$	$2,9 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,1$
Taux d'extraction (%)	80	98	96
BM (%)	102	94	99

La présence de TBP dans la membrane organique permet une extraction rapide de l'acide gallique : 3 minutes d'agitation sont suffisantes pour obtenir une extraction quasi totale.

Le bilan-matière est vérifié à 6 % près et aucune trace d'acide gallique n'est trouvée dans la phase organique : la dés extraction est donc totale.

Par la suite, la membrane contiendra du TBP dilué dans le dodécane. L'efficacité du procédé sera évaluée par le taux d'extraction. La figure suivante rappelle le mécanisme proposé pour l'extraction par émulsion de l'acide gallique en présence de TBP (Figure 71) : il a été démontré que le TBP extrayait seulement la forme non dissociée de l'acide gallique en extraction liquide-liquide ; le même phénomène est donc admis en extraction par émulsion.



**Figure 71 : Extraction par émulsion de l'acide gallique avec le TBP**

## D.III. Influence des paramètres

### D.III.1. Méthode

Le tableau suivant montre les paramètres opératoires étudiés et leur valeur standard en gras.

Phase	Paramètre	Minimum	Intermédiaire	Maximum
Aqueuse Externe	$[AG]_{\text{ext},0}$	147 $\mu\text{M}$ (25 mg/L)		<b>294 <math>\mu\text{M}</math></b> (50 mg/L)
Membrane	[ECA]	1 % v/v	<b>3% v/v</b>	5% v/v
Organique	[TBP]	1% v/v	<b>3% v/v</b>	5% v/v
Aqueuse Interne	$[\text{Na}_2\text{HPO}_4]_{\text{int},0}$	0,05 M		<b>0,25 M</b>
Autres	Agitation	<b>430 tr/min</b>		600 tr/min
	$V_{\text{ext}} / V_{\text{em}}$	4		<b>6</b>
	$V_{\text{int}} / V_{\text{m}}$	1/2		<b>1</b>

Des échantillons de la phase externe et d'émulsion sont prélevés au bout de 30 s, de 1 min 30 s et de 2 min 30 s d'agitation.

### D.III.2. Résultats

#### D.III.2.a. Résultats généraux

Pour l'ensemble des expériences, le bilan-matière sur l'acide gallique est vérifié à 8% près, ce qui est tout à fait convenable.

En contactant la phase organique récupérée après l'électrocoalescence avec une solution de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , aucune trace résiduelle d'acide gallique dans la membrane organique n'est mesurée :  $[AG]_{\text{m}} < 6 \mu\text{M}$  (incertitude de mesure). La dés extraction peut être donc considérée comme totale. Ainsi, le taux d'extraction peut être calculé avec les nombres de moles d'acide gallique dans la phase externe aux temps 0 et t :

$$tE = \frac{n_{\text{ext},0} - n_{\text{ext},t}}{n_{\text{ext},0}}$$

Le volume de la phase externe peut être considéré constant durant toute l'extraction car la rupture de l'émulsion est faible (inférieure à 2%) et il n'y a pas de gonflement



significatif de l'émulsion. Alors, le taux d'extraction peut être calculé à partir des concentrations d'acide gallique mesurées :

$$tE = \frac{[AG]_{ext,0} - [AG]_{ext,t}}{[AG]_{ext,0}}$$

Au vu de tous les résultats, seuls deux paramètres, [TBP] et [ECA], ont une influence significative : ils seront donc étudiés plus en détail. Les autres paramètres,  $[AG]_{ext,0}$ ,  $[NaHPO_4]_{int,0}$ , Vitesse d'agitation et ratios volumiques, ne semblent pas avoir d'influence significative sur le taux d'extraction (Cf. ANNEXE II).

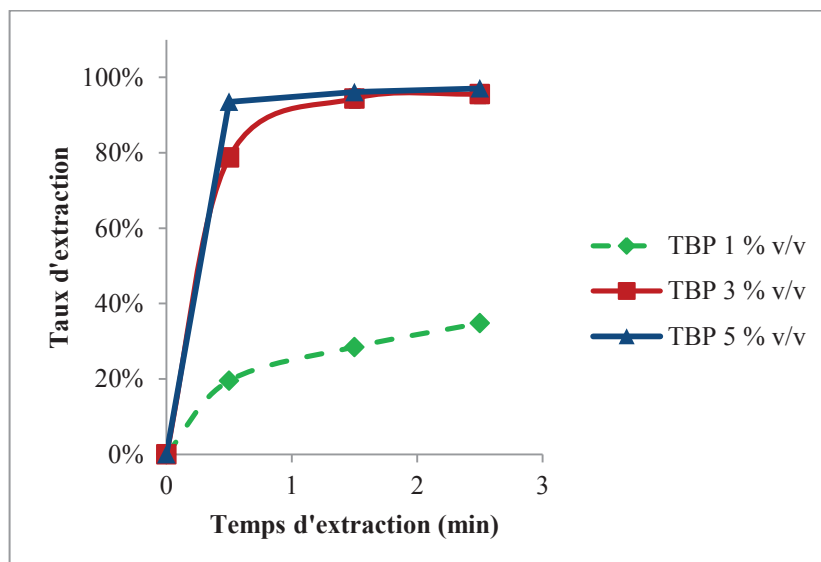
### ***D.III.2.b. Influence de la concentration de TBP***

Pour rappel, les paramètres fixes sont :

- Phase externe : Acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) dissous dans l'eau distillée
- Membrane : 3% v/v d'ECA 3460 (tensioactif) et un certain pourcentage en volume de TBP (extractant) dilués dans le dodécane
- Phase interne : Solution aqueuse de  $Na_2HPO_4$  à 0,25 M
- Autres paramètres opératoires :
  - Agitation à 430 tours par minute
  - $V_{int} / V_m = 1$
  - $V_{ext} / V_{em} = 6$

Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant : l'écart-type est précisé pour trois réplicats.

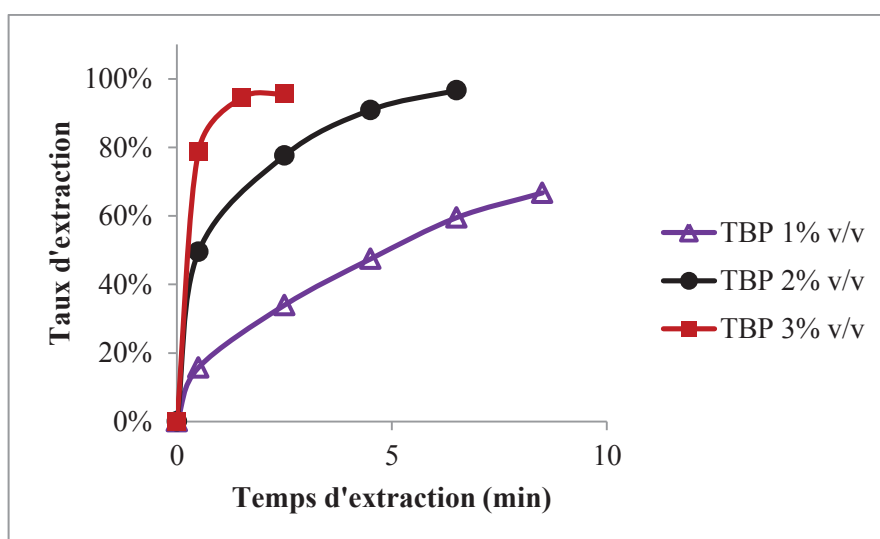
[AG] <sub>ext</sub> ( $\mu\text{M}$ )		Temps d'extraction		
		30 s	1 min 30	2 min 30
[TBP]	1% v/v	237 $\pm$ 9	210 $\pm$ 7	192 $\pm$ 9
	3% v/v	62 $\pm$ 6	16 $\pm$ 5	13 $\pm$ 6
	5% v/v	19 $\pm$ 13	11 $\pm$ 6	9 $\pm$ 3



**Figure 72 : Influence de la concentration de TBP en extraction par émulsion**

Lorsque la concentration de TBP dans la membrane est supérieure à 3% v/v, l'extraction est totale et rapide. Par contre, à 1% v/v de TBP, l'extraction est plus lente. Des essais supplémentaires sont effectués.

Temps d'agitation	[AG] <sub>ext</sub> (μM)	
	[TBP] = 1% v/v	[TBP] = 2% v/v
30 s	248 ± 8	149 ± 10
2 min 30 s	194 ± 10	66 ± 10
4 min 30 s	155 ± 11	27 ± 9
6 min 30 s	119 ± 7	10 ± 9
8 min 30 s	98 ± 9	---



**Figure 73 : Expériences supplémentaires pour l'étude de l'influence de [TBP]**

L'extraction par émulsion de l'acide gallique dépend de la concentration de TBP, ce qui semble suggérer que l'une des étapes limitantes est une réaction chimique à l'interface externe entre la molécule d'acide gallique et au moins l'une des trois molécules de TBP solvatantes, conduisant à la formation de l'espèce extractible,  $AH_3(TBP)_3$ .

### D.III.2.c. Influence de la concentration du tensioactif

Les conditions sont les mêmes que plus haut, seule la concentration du tensioactif change. Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant : l'écart-type est précisé pour trois réplicats.

[AG] <sub>ext</sub> (μM)		Temps d'extraction		
		30 s	1 min 30 s	2 min 30 s
[ECA]	1% v/v	130 ± 4	62 ± 4	52 ± 3
	3% v/v	62 ± 6	16 ± 5	13 ± 6
	5% v/v	26 ± 4	7 ± 4	7 ± 4

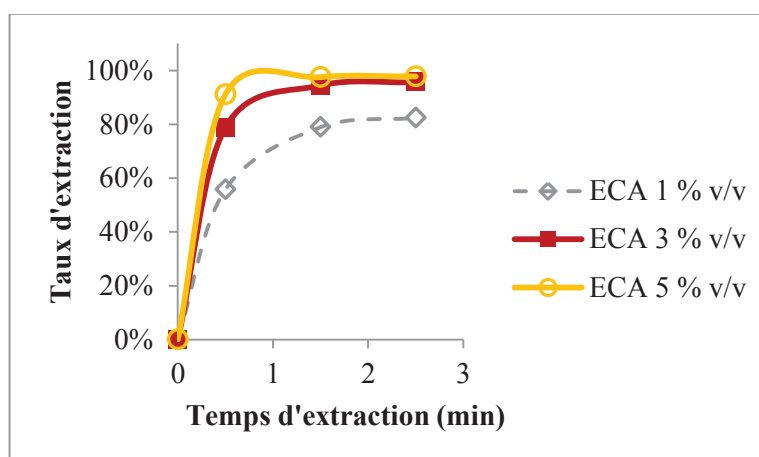


Figure 74 : Influence de [ECA] en extraction par émulsion

Lorsque la concentration d'ECA 4360 dans la membrane est supérieure à 3% v/v, l'extraction est totale et rapide. Par contre, pour 1% v/v d'ECA 4360, l'extraction est plus lente et s'arrête après 1 min 30 s d'agitation. Afin d'expliquer ce comportement, nous avons mesuré les variations de pH lors de l'extraction en présence de 1% v/v d'ECA 4360, ainsi que le taux de rupture.

[ECA] = 1% v/v	pH	[Na <sup>+</sup> ] <sub>ext</sub> (mM)	Br (%)
t = 30 s	5,6 ± 0,5	0,17 ± 0,08	0,4
t = 1 min 30 s	6,9 ± 0,4	0,52 ± 0,04	1,3
t = 2 min 30 s	7,7 ± 0,5	0,77 ± 0,04	1,9

Le pH augmente rapidement au-delà de 6, une valeur limite à partir de laquelle le TBP n'extrait pas l'acide gallique en extraction liquide-liquide, car celui-ci est totalement sous forme ionique.

Cette augmentation de pH est due à la rupture de l'émulsion libérant  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  en phase externe. Un très faible taux de rupture suffit pour augmenter le pH au-delà de 6, compte tenu du caractère basique de la solution de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  et de la très faible teneur en acide gallique.

## D.IV. Généralisation : approche par les plans d'expériences

De l'étude de l'influence paramétrique, deux paramètres, les concentrations de TBP et d'ECA 4360, pourraient être considérés comme les plus importants. La problématique est de savoir si ces résultats peuvent être généralisés : il se pourrait que des résultats différents puissent être obtenus en dehors des valeurs standards testées. Pour répondre à cette question, nous allons utiliser les plans d'expériences, en se référant à Goupy [57].

### D.IV.1. Plan d'expériences à trois paramètres

#### D.IV.1.a. Méthode

On choisit trois paramètres variables : [ECA], [TBP] et  $V_{\text{int}}/V_{\text{m}}$ . Ce dernier est choisi car il joue sur la quantité de ces deux composés présente dans l'émulsion, le volume de l'émulsion étant constant. Le tableau suivant montre les valeurs minimale (notée -1) et maximale (+1) de ces paramètres.

	-1	+1
[ECA]	1% v/v	3% v/v
$V_{\text{int}} / V_{\text{m}}$	1/2	1
[TBP]	1% v/v	3% v/v

Les autres paramètres sont fixés comme indiqués dans le tableau suivant.

Agitation	430 tr/min
$[\text{AG}]_{\text{ext},0}$	294 $\mu\text{M}$
$V_{\text{ext}} / V_{\text{em}}$	6
$[\text{Na}_2\text{HPO}_4]_{\text{int},0}$	0,05 M

Comme il y a trois paramètres variables et deux valeurs pour chacun d'entre eux, huit expériences sont donc possibles, comme résumées dans le tableau suivant appelé « plan complet ». Il s'agit d'une matrice composée de trois colonnes  $V_1$ ,  $V_2$  et  $V_3$  représentant les trois paramètres variables et de huit lignes représentant les huit expériences. Les nombres entre parenthèses indiquent la valeur de chaque paramètre à chaque expérience.

	$V_{\text{int}} / V_m$	[TBP]	[ECA]
	$V_1$	$V_2$	$V_3$
XP 1	-1 (1/2)	-1 (1%)	-1 (1%)
XP 2	+1 (1)	-1 (1%)	-1 (1%)
XP 3	-1 (1/2)	+1 (3%)	-1 (1%)
XP 4	+1 (1)	+1 (3 %)	-1 (1%)
XP 5	-1 (1/2)	-1 (1%)	+1 (3%)
XP 6	+1 (1)	-1 (1%)	+1 (3 %)
XP 7	-1 (1/2)	+1 (3%)	+1 (3%)
XP 8	+1 (1)	+1 (3 %)	+1 (3 %)

Des échantillons sont pris à 30 s, à 2 min 30 s, à 4 min 30 s et à 6 min 30 s.

#### ***D.IV.1.b. Résultats***

Pour l'ensemble de ces huit expériences, le bilan-matière est vérifié à 8% près au maximum. Il n'y a aucune trace d'acide gallique dans la membrane organique : la concentration d'acide gallique est inférieure aux incertitudes de mesure (6  $\mu\text{M}$ ).

Le tableau suivant montre les valeurs mesurées de la concentration d'acide gallique en phase externe en fonction du temps pour les huit expériences : l'écart-type est précisé à chaque mesure pour trois réplicats.

$[\text{AG}]_{\text{ext}}$ ( $\mu\text{M}$ )	Temps d'extraction			
	30 s	2 min 30 s	4 min 30 s	6 min 30 s
XP 1	257 $\pm$ 10	198 $\pm$ 10	164 $\pm$ 10	122 $\pm$ 9
XP 2	239 $\pm$ 8	216 $\pm$ 10	186 $\pm$ 10	159 $\pm$ 8
XP 3	101 $\pm$ 6	30 $\pm$ 4	15 $\pm$ 6	9 $\pm$ 4
XP 4	108 $\pm$ 3	35 $\pm$ 6	27 $\pm$ 4	13 $\pm$ 3
XP 5	247 $\pm$ 9	207 $\pm$ 10	171 $\pm$ 8	152 $\pm$ 10
XP 6	251 $\pm$ 10	225 $\pm$ 10	186 $\pm$ 9	167 $\pm$ 4
XP 7	34 $\pm$ 4	10 $\pm$ 1	7 $\pm$ 6	4 $\pm$ 3
XP 8	99 $\pm$ 6	26 $\pm$ 3	14 $\pm$ 2	8 $\pm$ 5

Comme le bilan-matière est vérifié, qu'il n'y a pas d'acide gallique dans la membrane et que l'on néglige la variation de volume dans la phase externe, le taux d'extraction peut être calculé aussi de cette manière :

$$tE = \frac{[AG]_{ext,0} - [AG]_{ext,t}}{[AG]_{ext,0}}$$

Les résultats sont présentés dans la figure 75.

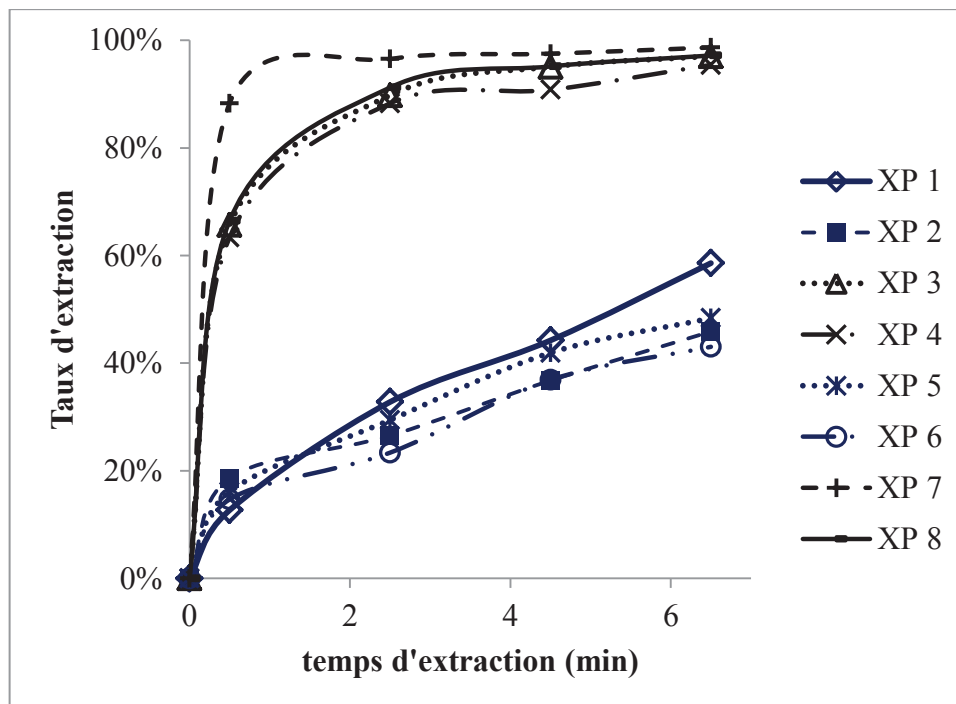


Figure 75 : Résultats du plan complet d'expériences à trois paramètres

Deux groupes de résultats bien distincts sont observés. Dans le premier groupe (avec XP1, XP2, XP5 et XP6) où la concentration de TBP est de 1% v/v, l'extraction est lente tandis que dans le deuxième groupe (avec XP3, XP4, XP7 et XP8) où la concentration de TBP est de 3% v/v, l'extraction est totale et rapide. La concentration de l'extractant semble être donc un paramètre influent sur l'extraction par émulsion de l'acide gallique.

#### D.IV.1.c. Analyse des résultats : calcul des effets

Notations :

- l'indice j est le numéro de l'expérience.
- les indices i et k sont les numéros des paramètres (1 pour  $V_{int}/V_m$ , 2 pour [TBP] et 3 pour [ECA]).
- n est le nombre d'expériences (ici, n = 8).

- $v_{jk}$  est le composant de la colonne du paramètre  $k$  représentant l'expérience  $j$  dans la matrice d'expériences,  $V_k = (v_{jk})_{j \in [1; 8]}$
- $tE_{XPj}$ , taux d'extraction

À chaque temps de prise d'échantillon, sont calculés l'effet de chaque paramètre  $k$ ,  $E_k$ , l'effet de l'interaction entre deux paramètres  $k$  et  $i$ ,  $E_{ki}$  et l'effet de l'interaction entre les trois paramètres,  $E_{123}$ , de la manière suivante :

$$E_k = \frac{\sum_{j=1}^8 (tE_{XPj} * v_{jk})}{n}$$

$$E_{ki} = \frac{\sum_{j=1}^8 (tE_{XPj} * v_{jk} * v_{ji})}{n}$$

$$E_{123} = \frac{\sum_{j=1}^8 (tE_{XPj} * v_{j1} * v_{j2} * v_{j3})}{n}$$

Par exemple,

$$E_3 = \frac{-tE_{XP1} - tE_{XP2} - tE_{XP3} - tE_{XP4} + tE_{XP5} + tE_{XP6} + tE_{XP7} + tE_{XP8}}{8}$$

$$E_{12} = \frac{+tE_{XP1} - tE_{XP2} - tE_{XP3} + tE_{XP4} + tE_{XP5} - tE_{XP6} - tE_{XP7} + tE_{XP8}}{8}$$

On note  $M_t$  comme la moyenne des huit taux d'extraction au temps  $t$ .

Le tableau suivant montre les valeurs de ces effets calculés.

	Moyenne des $tE$ , $M_t$ (%)	Effet du Paramètre (%)			Effet de l'Interaction entre paramètres (%)			
		$E_1$	$E_2$	$E_3$	$E_{12}$	$E_{13}$	$E_{23}$	$E_{123}$
		$V_{int}/V_m$	[TBP]	[ECA]	$V_{int}/V_m$ [TBP]	$V_{int}/V_m$ [ECA]	[TBP] [ECA]	$V_{int}/V_m$ [TBP] [ECA]
30 s	43	-2	<b>28</b>	3	-4	-3	3	-2
2 min 30 s	60	-2	<b>32</b>	0	1	0	2	0
4 min 30 s	67	-2	<b>27</b>	1	1	1	1	0
6 min 30 s	73	-3	<b>24</b>	-1	2	1	2	-1

#### D.IV.1.d. Analyse des effets calculés

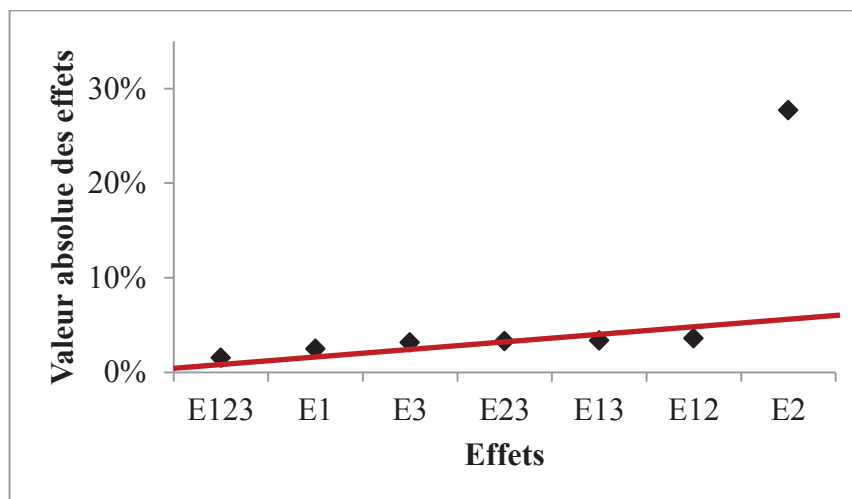
L'analyse précise de ces effets calculés est faite avec la représentation de Daniels. Il s'agit de porter pour chaque temps d'extraction les effets en valeur absolue par ordre croissant puis de tracer une droite, dite d'Henry, passant par l'origine du repère et par le maximum de

points. Tous les effets ayant leur point en dehors de cette droite sont considérés comme significatifs.

La figure 76 montre la représentation de Daniels de ces effets et la droite d'Henry correspondante pour une durée d'extraction de 30 secondes.

Pour rappel, les notations suivantes correspondent respectivement à :

- E<sub>1</sub> Effet du ratio volumique entre la phase aqueuse interne et la membrane
- E<sub>2</sub> Effet de la concentration de TBP
- E<sub>3</sub> Effet de la concentration de l'ECA 4360
- E<sub>12</sub> Effet de l'interaction entre les deux paramètres  $V_{int}/V_m$  et [TBP]
- E<sub>13</sub> Effet de l'interaction entre les deux paramètres  $V_{int}/V_m$  et [ECA]
- E<sub>23</sub> Effet de l'interaction entre les deux paramètres [TBP] et [ECA]
- E<sub>123</sub> Effet de l'interaction entre les trois paramètres étudiés,  $V_{int}/V_m$ , [TBP] et [ECA]



**Figure 76 : Représentation de Daniels à  $t = 30$  s pour l'étude à 3 paramètres**

À un temps d'extraction de 30 secondes, le paramètre « [TBP] » est le seul à avoir son point en dehors de la droite d'Henry. Les représentations de Daniels aux autres temps d'extraction sont montrées en ANNEXE III et donnent la même conclusion.

Donc, la concentration de TBP est le plus influent des trois paramètres étudiés et le seul à avoir un effet significatif sur le taux d'extraction. Les deux autres paramètres,  $V_{int}/V_m$  et [ECA], et les interactions à deux et à trois paramètres peuvent être considérés comme peu significatifs.



#### D.IV.1.e. Représentation de l'effet significatif

Quel que soit le temps d'extraction dans l'intervalle étudié, l'effet de la concentration de TBP est positif : plus cette concentration est élevée, plus le taux de extraction l'est aussi ; le taux d'extraction maximal est rapidement atteint lorsque la concentration de TBP est de 3% v/v.

En ne considérant que le paramètre « [TBP] », le taux d'extraction de chaque expérience à chaque temps de prise d'échantillon pourrait être recalculé en utilisant la formule suivante :

$$tE_t = M_t + v_{TBP} * E_{TBP,t}$$

où  $v_{TBP} = -1$  (respectivement  $+1$ ) quand  $[TBP] = 1\%$  v/v (respectivement  $3\%$  v/v).

Par conséquent, les expériences XP1, XP2, XP5 et XP6 (utilisant une même concentration de TBP de 1% v/v) auront le même taux d'extraction recalculé, de même pour les expériences XP3, XP4, XP7 et XP8 utilisant une même concentration de TBP de 3% v/v.

Le tableau suivant compare les valeurs expérimentales et recalculées à partir de cette formule pour deux temps d'extraction,  $t_1 = 30$  s et  $t_2 = 6$  min 30 s.

tE (%)	$t_1 = 30$ s		$t_2 = 6$ min 30 s	
	Expérimental	recalculé	Expérimental	recalculé
XP 1	13	15	59	49
XP 2	19		46	
XP 5	16		48	
XP 6	15		43	
XP 3	66	71	97	97
XP 4	63		95	
XP 7	88		99	
XP 8	66		97	

Les résultats sont relativement satisfaisants.

Pour les valeurs intermédiaires de la concentration de TBP, un taux d'extraction théorique pourrait donc être calculé à partir de cette formule, en supposant que le coefficient  $v_{TBP}$  est linéaire par rapport à la concentration de TBP. Pour une concentration de TBP de 2% v/v,  $v_{TBP}$  est nul ;  $tE_t$  est donc égal à  $M_t$ .

Le tableau montre les valeurs expérimentales obtenues en utilisant 2% v/v de TBP, 3% v/v d'ECA et  $V_{\text{int}}/V_{\text{m}} = 1$  et rappelle les taux d'extraction moyens des huit expériences du plan complet en fonction du temps d'extraction.

Temps d'extraction	$[\text{AG}]_{\text{ext},t}$ ( $\mu\text{M}$ )	$tE_t$ (%)	$M_t$ (%)
30 secondes	$149 \pm 10$	49	43
2 min 30 s	$66 \pm 10$	78	60
4 min 30 s	$27 \pm 9$	91	67
6 min 30 s	$10 \pm 9$	97	73

Les valeurs calculées à partir du modèle et celles obtenues expérimentalement sont bien différentes. La relation entre  $v_{\text{TBP}}$  et la concentration de TBP n'est donc pas linéaire ; elle est bien plus complexe. Une modélisation de la cinétique de l'extraction par émulsion de l'acide gallique par le TBP est nécessaire ; elle est traitée ultérieurement dans cette thèse (Cf. D.V.).

#### D.IV.2. Plan fractionnaire d'expériences à sept paramètres

Dans le plan d'expériences précédent, uniquement trois paramètres sur les sept considérés ont été pris en compte. Les questions à se poser seraient de savoir si le fait d'avoir négligé les quatre autres paramètres était légitime et si la concentration de TBP était effectivement le seul paramètre influent sur le procédé.

##### D.IV.2.a. Méthode

À chaque paramètre, sont associées une valeur minimale (notée -1) et une valeur maximale (+1). Le tableau suivant montre ces données.

Phase	Paramètre	-1	+1
Aqueuse Externe	$[\text{AG}]_{\text{ext},0}$	147 $\mu\text{M}$ (25 mg/L)	294 $\mu\text{M}$ (50 mg/L)
Membrane Organique	[ECA]	1%	3%
	[TBP]	1%	3%
Aqueuse Interne	$[\text{Na}_2\text{HPO}_4]_{\text{int},0}$	0,05 M	0,25 M
Autres	Agitation	430 tr/min	600 tr/min
	$V_{\text{ext}}/V_{\text{em}}$	4	6
	$V_{\text{int}}/V_{\text{m}}$	1/2	1

Le plan complet à sept paramètres est composé de 128 expériences ( $2^7 = 128$ ), ce qui serait très long. Pour en réduire le nombre, on va utiliser les plans fractionnaires : l'ANNEXE IV.a. introduit la méthode.

Un plan fractionnaire à sept paramètres doit être constitué de huit expériences. Il est construit à partir du plan complet à trois paramètres : les trois premières colonnes,  $V_1$ ,  $V_2$  et  $V_3$ , représentent respectivement les paramètres  $P_1$  ( $V_{\text{int}} / V_m$ ),  $P_2$  ([TBP]) et  $P_3$  ([ECA]) ; toutes les combinaisons possibles entre ces paramètres sont déclinées. Ces trois paramètres peuvent interagir ensemble ; quatre interactions possibles existent, entre  $P_1$  et  $P_2$ , entre  $P_1$  et  $P_3$ , entre  $P_2$  et  $P_3$  et entre  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$ .

Chacun des quatre paramètres restants est ajouté à ce plan en les aliasant à une de ces interactions, c'est-à-dire en additionnant l'effet de cette interaction à l'effet pur de ce paramètre. L'association est faite aléatoirement, comme suit :

- le paramètre  $P_4$ , l'agitation, est aliasé à l'interaction entre  $P_1$  et  $P_2$ .
- le paramètre  $P_5$ , le ratio  $V_{\text{ext}} / V_{\text{em}}$ , est aliasé à l'interaction entre  $P_2$  et  $P_3$ .
- le paramètre  $P_6$ ,  $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]_{\text{int},0}$ , est aliasé à l'interaction entre  $P_1$  et  $P_3$ .
- le paramètre  $P_7$ ,  $[\text{AG}]_{\text{ext},0}$ , est aliasé à l'interaction entre  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$ .

Ces opérations imposent la valeur expérimentale à utiliser pour les paramètres  $P_4$ ,  $P_5$ ,  $P_6$  et  $P_7$  à chaque expérience en fonction de celle des trois premiers paramètres  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$ . Les colonnes-vecteurs  $V_4$ ,  $V_5$ ,  $V_6$  et  $V_7$  représentant respectivement les paramètres  $P_4$ ,  $P_5$ ,  $P_6$  et  $P_7$  sont calculées de la manière suivante en fonction des trois premières colonnes,  $V_1$ ,  $V_2$  et  $V_3$  :

$$\begin{aligned} V_4 &= V_1 * V_2 \\ V_5 &= V_2 * V_3 \\ V_6 &= V_1 * V_3 \\ V_7 &= V_1 * V_2 * V_3 \end{aligned}$$

Les tableaux suivants montrent respectivement le plan d'expériences et le plan expérimental choisis.

Paramètre	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>6</sub>	P <sub>7</sub>
Colonne	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	V <sub>5</sub>	V <sub>6</sub>	V <sub>7</sub>
XP 9	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1
XP 10	+1	-1	-1	-1	+1	-1	1
XP 11	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1
XP 12	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1
XP 13	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1
XP 14	+1	-1	+1	-1	-1	+1	-1
XP 15	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1
XP 16	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1

Exp n°	V <sub>int</sub> /V <sub>m</sub>	[TBP] (% v/v)	[ECA] (% v/v)	Agitation (tr/min)	V <sub>ext</sub> /V <sub>em</sub>	[Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ] <sub>int,0</sub> (M)	[AG] <sub>ext,0</sub> (μM)
XP 9	1/2	1	1	600	6	0,25	147
XP 10	1	1	1	430	6	0,05	294
XP 11	1/2	3	1	430	4	0,25	294
XP 12	1/1	3	1	600	4	0,05	147
XP 13	1/2	1	3	600	4	0,05	294
XP 14	1/1	1	3	430	4	0,25	147
XP 15	1/2	3	3	430	6	0,05	147
XP 16	1/1	3	3	600	6	0,25	294

#### ***D.IV.2.b. Résultats pour un temps d'extraction égal à 30 s***

Pour l'ensemble de ces huit expériences, le bilan-matière est vérifié à 8% près au maximum.

Il n'y a aucune trace d'acide gallique dans la membrane organique : la concentration d'acide gallique dans la membrane est inférieure aux incertitudes de mesure (6 μM).

Le tableau suivant montre la concentration d'acide gallique de la phase externe et le taux d'extraction (tE) à un temps d'extraction de 30 secondes pour les huit expériences : l'écart-type est calculé pour trois réplicats.

Pour rappel, les expériences 9, 12, 14 et 15 (en bleu) utilisent une solution initiale d'acide gallique à 147 μM alors que les autres (en noir) utilisent une concentration de 294 μM.

	[AG] <sub>ext</sub> (μM)	tE à t = 30 s (%)
XP 9	124 ± 6	16
XP 10	243 ± 9	17
XP 11	47 ± 3	84
XP 12	25 ± 6	83
XP 13	192 ± 10	35
XP 14	117 ± 8	21
XP 15	6 ± 4	96
XP 16	41 ± 6	86

Le taux d'extraction moyen de ces huit expériences (noté M) à un temps d'extraction de 30 secondes est de 55%.

#### *D.IV.2.c. Analyse de ces résultats*

Comme précédemment, à partir des taux d'extraction obtenus et du plan fractionnaire de huit expériences à sept paramètres, on peut calculer l'effet de chaque paramètre sur le taux d'extraction, qu'on notera  $\lambda_i$ . Leur valeur est indiquée dans le tableau suivant.

	Paramètre correspondant	Valeur (%)
$\lambda_1$	$V_{int}/V_m$	-3
$\lambda_2$	[TBP]	33
$\lambda_3$	[ECA]	5
$\lambda_4$	Agitation	0
$\lambda_5$	$V_{ext} / V_{em}$	-1
$\lambda_6$	$[Na_2HPO_4]_{int,,0}$	-3
$\lambda_7$	$[AG]_{ext,0}$	1

Cependant, ces effets, nommés « contrastes », ne sont pas purs ; ce sont des sommes d'un effet pur d'un paramètre  $P_i$  et d'effets des interactions entre les paramètres. Les liens entre le contraste  $\lambda_i$ , l'effet du paramètre  $P_i$  ( $E_i$ ) et l'effet des interactions entre les paramètres sont démontrés dans l'ANNEXE IV.b.i..

$$\lambda_1 = E_1 + E_{24} + E_{36} + E_{57}$$

$$\lambda_2 = E_2 + E_{14} + E_{35} + E_{67}$$

$$\lambda_3 = E_3 + E_{25} + E_{47} + E_{16}$$

$$\lambda_4 = E_4 + E_{12} + E_{56} + E_{37}$$

$$\lambda_5 = E_5 + E_{23} + E_{46} + E_{17}$$

$$\lambda_6 = E_6 + E_{13} + E_{45} + E_{27}$$

$$\lambda_7 = E_7 + E_{34} + E_{15} + E_{26}$$

Un deuxième plan fractionnaire, dit complémentaire, doit être fait : il sert à séparer l'effet pur d'un paramètre des effets d'interactions entre deux autres paramètres.

### **D.IV.3. Plan fractionnaire complémentaire à sept paramètres**

#### ***D.IV.3.a. Méthode : choix du plan complémentaire***

Dans le cas général, afin d'obtenir l'effet pur de chaque paramètre, en négligeant les interactions entre trois paramètres et plus, les contrastes ( $\lambda'$ ) qui doivent être obtenus à partir du plan complémentaire sont :

$$\lambda'_1 = E_1 - E_{24} - E_{36} - E_{57}$$

$$\lambda'_2 = E_2 - E_{14} - E_{35} - E_{67}$$

$$\lambda'_3 = E_3 - E_{25} - E_{47} - E_{16}$$

$$\lambda'_4 = E_4 - E_{12} - E_{56} - E_{37}$$

$$\lambda'_5 = E_5 - E_{23} - E_{46} - E_{17}$$

$$\lambda'_6 = E_6 - E_{13} - E_{45} - E_{27}$$

$$\lambda'_7 = E_7 - E_{34} - E_{15} - E_{26}$$

Cette fois-ci, on soustrait les effets des interactions des effets purs des paramètres, au lieu de les additionner comme précédemment.

En effet, la moyenne des deux contrastes correspondant au même paramètre (ceux du premier plan et du plan complémentaire) permet de retrouver son effet pur :

$$E_i = \frac{\lambda_i + \lambda'_i}{2}, \text{ pour } i \in \llbracket 1 ; 7 \rrbracket$$

Leur différence donne les effets des interactions.

Le plan fractionnaire complémentaire est toujours construit à partir d'un plan complet à trois paramètres. Ces trois paramètres sont toujours  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$  et peuvent interagir en donnant quatre interactions possibles, entre  $P_1$  et  $P_2$ , entre  $P_2$  et  $P_3$ , entre  $P_1$  et  $P_3$  et entre  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$ . Les quatre paramètres restants sont ajoutés à ce plan en les aliasant avec ces interactions.

Le calcul mathématique, détaillé en ANNEXE IV.b.ii., démontre que pour obtenir les contrastes  $\lambda'$ , le plan fractionnaire complémentaire doit être tel que, comme précédemment :

- le paramètre  $P_4$  est aliasé avec le contraire de l'interaction entre  $P_1$  et  $P_2$ .
- le paramètre  $P_5$  est aliasé avec le contraire de l'interaction entre  $P_2$  et  $P_3$ .
- le paramètre  $P_6$  est aliasé avec le contraire de l'interaction entre  $P_1$  et  $P_3$ .
- le paramètre  $P_7$  est aliasé avec l'interaction entre  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$ .

Par rapport au premier plan fractionnaire à sept paramètres, les colonnes  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$  et  $V_7$  ne changent pas et les trois autres,  $V_4$ ,  $V_5$  et  $V_6$  ont leurs éléments changés de signe. Les tableaux suivants montrent le plan fractionnaire complémentaire à sept paramètres et le plan expérimental.

Paramètre	$P_1$	$P_2$	$P_3$	$P_4$	$P_5$	$P_6$	$P_7$
Colonne	$V_1$	$V_2$	$V_3$	$V_4$	$V_5$	$V_6$	$V_7$
XP 17	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
XP 18	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1
XP 19	-1	+1	-1	+1	+1	-1	+1
XP 20	+1	+1	-1	-1	+1	+1	-1
XP 21	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1
XP 22	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1
XP 23	-1	+1	+1	+1	-1	+1	-1
XP 24	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1

Exp n°	$V_{int}/V_m$	[TBP] (% v/v)	[ECA] (% v/v)	Agitation (tr/min)	$V_{ext}/V_{em}$	$[Na_2HPO_4]_{int,0}$ (M)	$[AG]_{ext,0}$ ( $\mu$ M)
XP 17	1/2	1	1	430	4	0,05	147
XP 18	1	1	1	600	4	0,25	294
XP 19	1/2	3	1	600	6	0,05	294
XP 20	1	3	1	430	6	0,25	147
XP 21	1/2	1	3	430	6	0,25	294
XP 22	1	1	3	600	6	0,05	147
XP 23	1/2	3	3	600	4	0,25	147
XP 24	1	3	3	430	4	0,05	294

#### ***D.IV.3.b. Résultats du plan complémentaire***

Pour l'ensemble de ces huit expériences, le bilan-matière est vérifié à 8% près au maximum.

Il n'y a aucune trace d'acide gallique dans la membrane organique : la concentration d'acide gallique dans la membrane est inférieure aux incertitudes de mesure (6  $\mu$ M).

Les résultats à un temps d'extraction de 30 secondes sont montrés dans le tableau ci-dessous : l'écart-type est calculé à chaque mesure pour trois réplicats.

Pour rappel, les expériences 9, 12, 14 et 15 (en bleu) utilisent une solution initiale d'acide gallique à 147  $\mu\text{M}$  alors que les autres (en noir) utilisent une concentration de 294  $\mu\text{M}$ .

	$[\text{AG}]_{\text{ext}}$ ( $\mu\text{M}$ )	tE à t = 30 s (%)
XP 17	124 $\pm$ 8	16
XP 18	243 $\pm$ 9	17
XP 19	47 $\pm$ 3	84
XP 20	25 $\pm$ 6	83
XP 21	192 $\pm$ 6	35
XP 22	117 $\pm$ 7	21
XP 23	6 $\pm$ 5	96
XP 24	41 $\pm$ 3	86

Le taux d'extraction moyen de ces huit expériences (noté  $M'$ ) à un temps d'extraction de 30 secondes est de 56%.

#### *D.IV.3.c. Analyse des résultats*

À partir des taux d'extraction obtenus après 30 secondes d'extraction et du plan fractionnaire complémentaire, l'effet modifié (dit « contraste ») des sept paramètres peut être calculé. Leur valeur est montrée dans le tableau suivant.

	Paramètre correspondant	Valeur (%)
$\lambda'_1$	$V_{\text{int}}/V_{\text{m}}$	0
$\lambda'_2$	[TBP]	31
$\lambda'_3$	[ECA]	6
$\lambda'_4$	Agitation	4
$\lambda'_5$	$V_{\text{ext}}/V_{\text{em}}$	0
$\lambda'_6$	$[\text{Na}_2\text{HPO}_4]_{\text{int},0}$	-3
$\lambda'_7$	$[\text{AG}]_{\text{ext},0}$	-2



En combinant les contrastes du premier plan fractionnaire ( $\lambda$ ) et ceux du plan fractionnaire complémentaire ( $\lambda'$ ), les effets purs des paramètres peuvent être séparés de ceux des interactions entre 2 paramètres.

$$E_i = \frac{\lambda_i + \lambda'_i}{2}, \text{ pour } i \in \llbracket 1 ; 7 \rrbracket$$

$$\text{Effets d'interactions} = \frac{\lambda_i - \lambda'_i}{2}$$

On note  $\Delta M$ , la différence entre les taux d'extraction moyens obtenus dans les deux plans d'expériences, M et M' :

$$\Delta M = \frac{M - M'}{2}$$

Le tableau suivant montre les valeurs de ces diverses grandeurs.

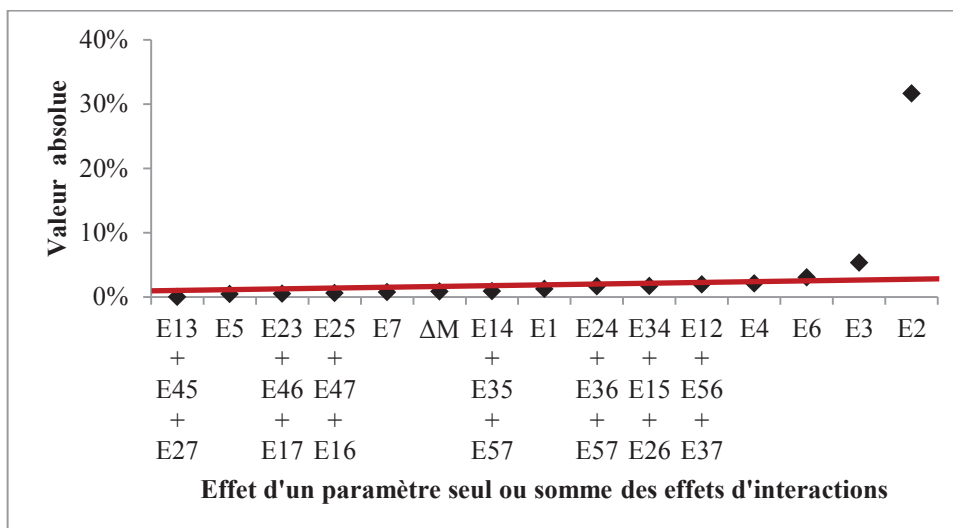
E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	E <sub>6</sub>	E <sub>7</sub>
V <sub>int</sub> /V <sub>m</sub>	[TBP]	[ECA]	Agitation	V <sub>ext</sub> /V <sub>em</sub>	[Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ] <sub>int,0</sub>	[AG] <sub>ext,0</sub>
-1 %	32 %	5 %	2 %	0 %	-3 %	-1 %

$\Delta M$	E <sub>24</sub> + E <sub>36</sub> + E <sub>57</sub>	E <sub>14</sub> + E <sub>35</sub> + E <sub>57</sub>	E <sub>25</sub> + E <sub>47</sub> + E <sub>16</sub>	E <sub>12</sub> + E <sub>56</sub> + E <sub>37</sub>	E <sub>23</sub> + E <sub>46</sub> + E <sub>17</sub>	E <sub>13</sub> + E <sub>45</sub> + E <sub>27</sub>	E <sub>34</sub> + E <sub>15</sub> + E <sub>26</sub>
-1 %	-2 %	1 %	-1 %	-2 %	-1 %	0 %	2 %

L'analyse précise de ces effets calculés se fait avec la représentation de Daniels.

Comme précédemment, il s'agit de porter ces effets en valeur absolue par ordre croissant puis de tracer la droite d'Henry passant par l'origine du repère et par le maximum de points. Tous les effets ayant leur point en dehors de cette droite sont considérés comme significatifs.

La figure 77 montre la représentation de Daniels de ces effets et la droite d'Henry correspondante à une durée d'extraction de 30 secondes.



**Figure 77 : Représentation de Daniels à t = 30 s pour l'étude à sept paramètres**

À un temps d'extraction de 30 secondes, l'effet du paramètre « concentration de TBP » (E<sub>2</sub>) est le seul à avoir clairement son point en dehors de la droite d'Henry ; c'est un paramètre très influent sur le taux d'extraction. Le point représentant l'effet du paramètre « concentration d'ECA 4360 » (E<sub>3</sub>) est aussi en dehors mais n'est pas très loin de la droite d'Henry : ce paramètre peut aussi avoir un effet significatif, mais bien plus faible que la concentration de TBP. Toutes les sommes des effets d'interactions ont leur point sur la droite d'Henry et donc peuvent être considérées comme nulles ; en supposant (comme c'est l'habitude) que si une somme d'effets d'interactions est nulle, ses composants le sont aussi, on pourrait supposer que les interactions entre deux paramètres n'ont aucune influence sur le taux d'extraction.

Les expériences sont poursuivies sur des durées d'extraction plus longues : 2 min 30 s, 4 min 30 s et 6 min 30 s. Les résultats en ANNEXE IV.b.iii) et l'analyse par la représentation de Daniels en ANNEXE IV.b.iv), à ces autres temps d'extraction, montrent que seul le paramètre « concentration de TBP » a un effet significatif sur le taux d'extraction.

Donc, la concentration de TBP est le paramètre le plus influent parmi les sept étudiés et sans doute le seul à avoir un effet significatif sur le taux d'extraction.

## D.V. Modélisation de la vitesse globale d'extraction

### D.V.1. Théorie

Les plans d'expériences confirment que la concentration de TBP est le paramètre le plus influent parmi les sept étudiés. La vitesse globale d'extraction et l'étape limitante doivent dépendre de ce paramètre.

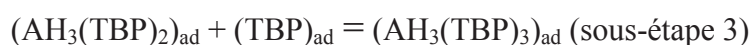
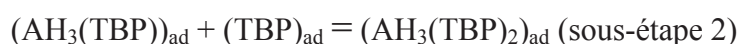
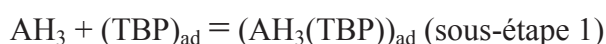
Pour rappel, le mécanisme d'extraction par émulsion se déroule ainsi :

- 1<sup>ère</sup> étape : Équilibre acido-basique de l'acide gallique
- 2<sup>ème</sup> étape : Transfert de l'acide gallique non dissocié ( $AH_3$ ) dans la phase aqueuse externe vers l'interface externe
- 3<sup>ème</sup> étape : Réaction à l'interface phase aqueuse externe / membrane entre la forme non dissociée de l'acide gallique et les trois molécules de TBP
- 4<sup>ème</sup> étape : Transfert du complexe  $AH_3(TBP)_3$  dans la membrane
- 5<sup>ème</sup> étape : Réaction à l'interface membrane / phase aqueuse interne entre complexe  $AH_3(TBP)_3$  et  $Na_2HPO_4$  pour donner le gallate
- 6<sup>ème</sup> étape : Transfert du gallate dans la phase aqueuse interne

L'étape limitante serait la troisième étape, la réaction à l'interface phase aqueuse externe / membrane entre la forme non dissociée de l'acide gallique et les trois molécules de TBP :



qui peut se décomposer comme suit



où l'indice ad indique les espèces adsorbées à l'interface externe.

La vitesse de la réaction globale peut être exprimée par  $r = [AH_3] * [TBP]_{ad}^a * [\underline{TBP}]^b$  en nombre de moles d'acide gallique extrait par unité de temps et de surface interfaciale, avec  $a = 0$  ou  $1$  et  $b = 0, 1$  ou  $2$ .

Un bilan sur l'acide gallique non dissocié en fonction du temps donne :

$$- V_{ext} * d[AH_3] = r * A_{ext} * dt$$

Avec  $A_{ext}$  la surface interfaciale externe.

Si on suppose qu'à TBP total constant en grand excès,  $[TBP]_{ad}$  et  $[TBP]$  sont constantes, il vient :

$$r = k_0 * [AH_3]$$

$$- V_{ext} * d[AH_3] = k_0 * [AH_3] * A_{ext} * dt$$

Si  $V_{ext}$  et  $A_{ext}$  sont constants au cours du temps, on trouve :

$$\ln \left( \frac{[AH_3]_t}{[AH_3]_0} \right) = -k_{app} * t \quad \text{avec } k_{app} = \frac{A_{ext} * k_0}{V_{ext}}$$

### D.V.2. Protocole expérimentale

Les conditions opératoires sont choisies de telle manière que la concentration finale théorique d'acide gallique dans la phase interne soit la plus élevée et que la quantité d'énergie et la concentration de tensio-actif soient les plus faibles afin de respecter le concept de « chimie verte ».

- Phase externe : Acide gallique à 294  $\mu$ M (50 mg/L) dissous dans une solution-tampon phosphate de pH 4,5 ; initialement, à pH = 4,5,  $[AH_3]_{ext,0} = 107 \mu$ M.
- Membrane : 1% v/v d'ECA 3460 et un pourcentage de TBP variable entre 0,6 et 3% v/v dilués dans le dodécane
- Phase interne : Solution aqueuse de  $Na_2HPO_4$  à 0,05 M
- Autres paramètres opératoires :
  - Agitation à 430 tours par minute
  - Ratios volumiques,  $V_{int} / V_m = 1/2$  et  $V_{ext} / V_{em} = 6$
- Les expériences sont répétées trois fois : l'écart-type est précisé pour chaque mesure.

### D.V.3. Résultats et validation

Quelle que soit la concentration de TBP dans la membrane, le pH de la phase aqueuse externe est resté stable à 4,5 à 0,1 près durant toute l'extraction.

Les tableaux suivants indiquent la concentration de la forme non dissociée de l'acide gallique dans la phase externe ( $[AH_3]_t$ ) en fonction de la concentration de TBP et du temps d'extraction.

Pour [TBP] = 0,6 % v/v,

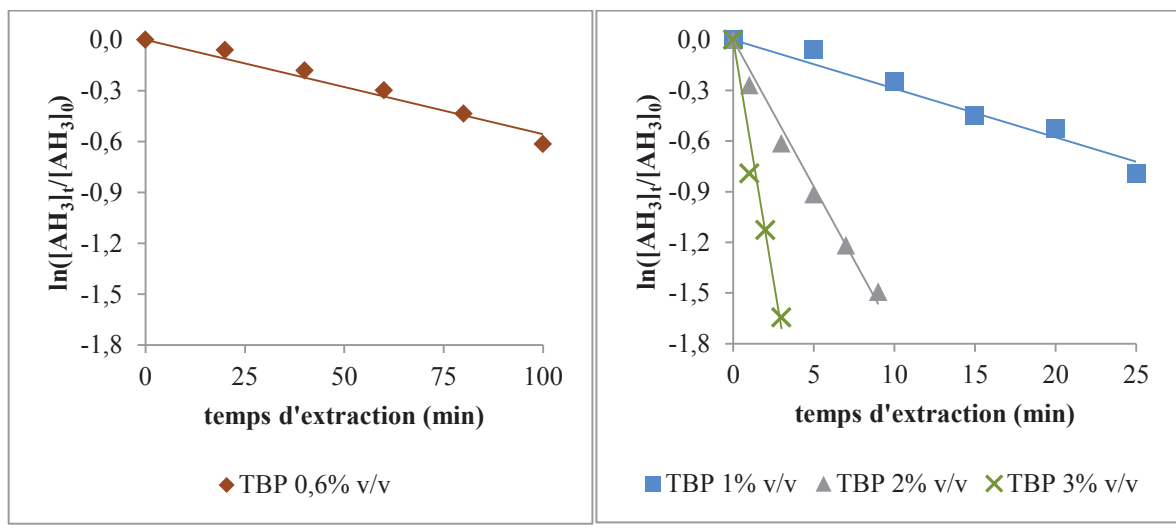
t (min)	[AH <sub>3</sub> ] <sub>t</sub> (μM)	$\ln\left(\frac{[\text{AH}_3]_t}{[\text{AH}_3]_0}\right)$
20	101 ± 5	-0,06
40	90 ± 6	-0,18
60	80 ± 3	-0,30
80	69 ± 1	-0,44

Pour [TBP] = 1 % v/v,

t (min)	[AH <sub>3</sub> ] <sub>t</sub> (μM)	$\ln\left(\frac{[\text{AH}_3]_t}{[\text{AH}_3]_0}\right)$
5	101 ± 6	-0,06
10	84 ± 6	-0,25
15	68 ± 3	-0,45
20	64 ± 2	-0,53
25	49 ± 2	-0,79

Pour [TBP] = 2 et 3 % v/v

t (min)	[TBP] = 2 % v/v		[TBP] = 3 % v/v	
	[AH <sub>3</sub> ] <sub>t</sub> (μM)	$\ln\left(\frac{[\text{AH}_3]_t}{[\text{AH}_3]_0}\right)$	[AH <sub>3</sub> ] <sub>t</sub> (μM)	$\ln\left(\frac{[\text{AH}_3]_t}{[\text{AH}_3]_0}\right)$
1	82 ± 5	-0,27	49 ± 5	-0,79
2	---	---	35 ± 3	-1,13
3	58 ± 3	-0,61	21 ± 1	-1,64
4	---	---	14 ± 2	-2,07
5	43 ± 1	-0,91	10 ± 4	-2,38
7	32 ± 4	-1,22	---	---
9	24 ± 5	-1,49	---	---

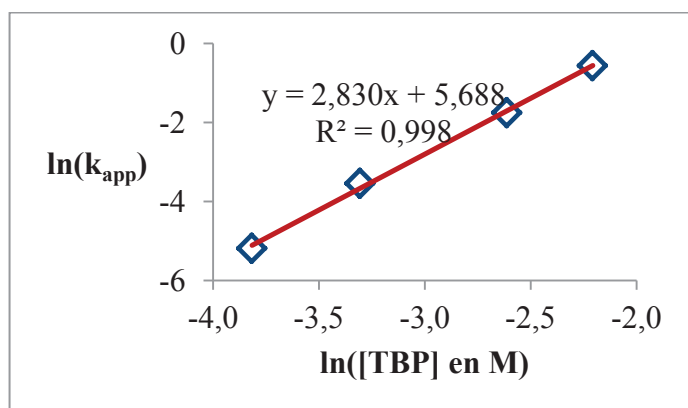


**Figure 78 : Étude cinétique de la réaction entre l'acide gallique et le TBP à l'interface phase aqueuse externe/membrane dans le procédé d'extraction par émulsion**

La pente de la droite de tendance donne la valeur de la constante de cinétique apparente à chaque concentration de TBP.

[TBP] (% v/v)	$k_{app}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$r^2$
0,6	0,0056	0,9665
1	0,0289	0,9634
2	0,1737	0,9848
3	0,5700	0,9625

Le coefficient de corrélation de la courbe de tendance est proche de 1, ce qui permet de valider la modélisation globale. On peut voir l'influence de la concentration de TBP, en portant  $\ln(k_{app})$  en fonction de  $\ln([TBP])$ , dans la Figure 79.



**Figure 79 : Ordre global de [TBP] lors de la formation du complexe**

On trouve que  $k_{app}$  est proportionnel à  $[TBP]^3$ , à comparer avec  $k*[TBP]_{ad}^a*[TBP]^b$ .

Puisque  $b$  ne peut être supérieur à 2, il faut que  $a$  soit égal à 1 et que  $[TBP]_{ad}$  soit proportionnelle à  $[TBP]$ , ce qui est le cas dans l'hypothèse de Langmuir si la constante d'adsorption de TBP,  $K_{ad}$ , est faible. On peut penser que c'est le cas car TBP ne doit pas être un bon tensioactif.

$$\text{Isotherme de Langmuir : } [TBP]_{ad} = C_0 * K_{ad} * [TBP] / (1 + K_{ad} * [TBP])$$

On peut donc supposer que c'est la sous-étape 3 qui est limitante, toutes les autres étant à l'équilibre.

$$K_1 = \frac{[AH_3 TBP]_{ad}}{[AH_3] * [TBP]_{ad}} \quad K_2 = [AH_3(TBP)_2]_{ad} / ([AH_3(TBP)]_{ad} * [TBP])$$

$$r = k_3 * [AH_3(TBP)_2]_{ad} * [TBP]$$

On néglige la réaction inverse car dès que  $(AH_3(TBP)_3)_{ad}$  est formé, il doit être désorbé.

$$\text{D'où } r = K_1 * K_2 * k_3 * [TBP]_{ad} * [TBP]^2 * [AH_3].$$

Or d'après Langmuir,  $[TBP]_{ad} = K_{ad} * C_0 * [TBP]$ .

Donc,  $r = K_1 * K_2 * k_3 * K_{ad} * C_0 * [TBP]^3 * [AH_3]$ , ce qui est cohérent avec les résultats expérimentaux.

## D.VI. Comparaison avec l'extraction liquide-liquide de l'AG

Nous venons de démontrer qu'il est possible d'extraire par émulsion l'acide gallique en utilisant peu d'extractant (TBP) dilué dans le dodécane, peu de désextractant ( $Na_2HPO_4$ ) et peu de phase organique. L'émulsion est stabilisée avec une concentration suffisante d'ECA 4360. La cinétique et la stabilité de l'émulsion contrôlent ce procédé.

Avec les intervalles choisis pour les paramètres étudiés, les plans d'expériences montrent que seule la concentration de TBP a un effet significatif sur la performance de ce procédé. En dessous d'une certaine valeur (3% v/v), l'extraction est lente. Cette limitation cinétique est due à la réaction interfaciale entre la forme non dissociée de l'acide gallique et les molécules de TBP : une modélisation a été effectuée.

Le tableau suivant compare les deux procédés d'extraction étudiés pour l'acide gallique en utilisant des réactifs classiques issus de l'industrie pétrochimique.

<b>Procédé</b>	<b>Extraction liquide-liquide</b>	<b>Extraction par émulsion</b>
<b>Étapes et matériels</b>	2 étapes 2 contacteurs	3 étapes 1 émulsificateur 1 contacteur 1 électrocoalesceur
<b>Sécurité Respect de la chimie verte</b>	Besoin de [TBP] élevée (20% v/v) pour une extraction significative	- [TBP] faible (3% v/v) - Utilisation d'un volume faible de phase organique
<b>Limitations</b>	Equilibre thermodynamique	- Contrôle cinétique - Stabilité de l'émulsion

Sur ce dernier point, le respect de la chimie verte, il serait intéressant d'aller plus loin en utilisant des réactifs « verts » comme les agrodiluants dans les deux procédés d'extraction.



## **E. Écoconception des procédés étudiés**

Précédemment, les procédés d'extraction liquide-liquide et d'extraction par émulsion ont été étudiés avec des réactifs pétrochimiques classiques dont la production et l'utilisation ont des impacts environnementaux non négligeables. Or les biotechnologies et notamment la production de molécules à partir d'agro-ressources, font partie des solutions permettant de respecter le concept de chimie verte et de minimiser ces impacts néfastes. Il serait donc intéressant de chercher de nouveaux réactifs, issus de la biomasse, qui pourraient remplacer ceux issus de l'industrie pétrochimique.

Nous avons étudié le remplacement du dodécane par un agrodiluant dans les deux procédés mis au point, l'extraction liquide-liquide et l'extraction par émulsion.

### **E.I. Les agrodiluants en extraction liquide-liquide**

#### **E.I.1. Choix des agrodiluants**

Comme en formulation classique, l'agrodiluant doit être un liquide plutôt peu visqueux, très peu miscible avec l'eau, assez stable chimiquement et présenter une masse volumique éloignée de celle de l'eau pour permettre une bonne décantation. De plus, il devrait être non volatil et le moins dangereux possible pour l'environnement et l'utilisateur afin de respecter le concept de chimie verte.

##### ***E.I.1.a. Les bio-alcools issus de la fermentation***

Les bio-alcools produits par voie fermentaire du glucose (comme le méthanol, l'éthanol, le propanol et le butanol) ne peuvent être utilisés ici car ils sont tous solubles dans l'eau.

##### ***E.I.1.b. Terpènes et dérivés hydrogénés***

D'après les producteurs, la plupart des terpènes, en particulier les monoterpènes, sont inflammables et volatils et peuvent s'oxyder avec l'air.

Il est donc préférable d'utiliser des terpènes hydrogénés qui sont plus stables en présence d'air. Un exemple commercialisé est le squalane végétal (Figure 80) de formule

brute,  $C_{30}H_{62}$  ; il est issu de l'huile d'olive et utilisé dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique. D'après sa fiche technique, le squalane n'est pas considéré comme volatil.



**Figure 80 : le squalane**

### *E.I.1.c. Esters d'acide gras naturels et dérivés*

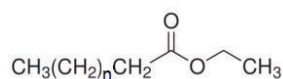
Les triesters de glycérol et d'acide gras, produits naturels issus des huiles végétales et animales, ne peuvent être utilisés directement comme diluants car ils sont trop visqueux.

La saponification de ces esters glycéroliques d'acide gras par la soude, puis la neutralisation par un acide fort permettent d'obtenir les acides gras et le glycérol libres. Or les acides gras insaturés sont peu stables car ils peuvent s'oxyder en présence d'air, ce qui provoque le rancissement des plantes. Les seuls acides gras saturés liquides, l'acide butanoïque (à quatre atomes de carbone) et l'acide caproïque (à six atomes de carbone), sont solubles dans l'eau. Quant au glycérol, il est lui aussi soluble dans l'eau. Donc, les acides gras et le glycérol ne peuvent être utilisés comme diluants en extraction liquide-liquide.

Comme il a été dit dans la bibliographie, la transestérification des triesters de glycérol et d'acide gras en présence d'alcools légers permettent d'obtenir des liquides moins visqueux, utilisables dans les moteurs.

Bien que les esters méthyliques d'acide gras soient les plus couramment produits, ils ne sont pas de très bons candidats pour respecter le concept de chimie verte car l'alcool léger utilisé est le méthanol, le plus dangereux des bio-alcools existants. En effet, d'après la fiche de l'Institut National de Recherche et de Sécurité sur les alcools [58], le méthanol « exerce une action sélective sur le nerf optique, pouvant provoquer la cécité et la mort ».

Ce sont les esters éthyliques d'acide gras saturé (Figure 81) qui sont privilégiés car l'alcool léger utilisé est l'éthanol, le moins dangereux des bio-alcools existants.



**Figure 81 : Structure des esters éthyliques d'acide gras**

Parmi les esters éthyliques d'acide gras, on choisit le caprate d'éthyle, le laurate d'éthyle et le myristate d'éthyle : le nombre de  $-CH_2$  correspondant à ces esters,  $n$ , est respectivement égal à 8, 10 et 12. En effet, les esters éthyliques à chaîne d'acide gras saturée plus courte que l'acide caprique sont très volatils et peuvent être solubles dans l'eau tandis que les esters éthyliques à chaîne d'acide gras saturée plus longue que l'acide myristique sont solides dans les conditions ambiantes.

De plus, l'acide caprique, l'acide laurique et l'acide myristique, sont des acides gras qu'on peut facilement trouver dans certains végétaux comme le laurier et la muscade. Or, les esters d'acide gras végétal ne sont pas considérés comme des composés organiques volatils [59], ce qui nous convient bien pour des raisons de sécurité.

#### ***E.I.1.d. Bilan des agrodiluants choisis***

Nous allons donc tester le squalane ainsi que trois esters éthyliques d'acides gras (le caprate d'éthyle, le laurate d'éthyle et le myristate d'éthyle) en tant qu'agrodiluants.

Le tableau suivant compare le prix de ces agrodiluants et du dodécane utilisé auparavant, d'après les fournisseurs.

Diluant	Prix (€/litre)
Dodécane – Mélange d'isomères	27
Squalane 98 %	152
Caprate d'éthyle 98 %	138
Laurate d'éthyle 98 %	92
Myristate d'éthyle 98%	161

Le dodécane utilisé est un mélange d'isomères, d'où son faible coût. Les agrodiluants testés coûtent bien plus chers. Cependant, en fonction de la molécule à extraire, cette différence de prix peut être considérable ou négligeable.

## **E.I.2. Méthode d'étude**

### ***E.I.2.a. Étude cinétique***

#### ÉTAPE D'EXTRACTION

50 mL d'une solution aqueuse d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) sont mélangés à 50 mL de solution organique dans un bécher haut de 600 mL, grâce à un barreau magnétique tournant à 430 tours par minute.

1 mL de solution aqueuse est prélevé après 1, 5 et 10 minutes d'agitation : la concentration de chaque échantillon (notée  $[\text{AG}]_E$ ) est mesurée ; il s'agit de la concentration totale d'acide gallique restant. À chaque prélèvement de phase aqueuse, 1 mL de phase organique est aussi prélevé pour garder le ratio volumique entre ces deux phases constant.

#### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

40 mL de phase organique précédemment contactée pendant 10 minutes avec une solution d'acide gallique sont mélangés avec 40 mL de désextractant dans un bécher bas de 250 ml, grâce à un barreau magnétique tournant à 430 tours par minute.

1 mL de solution aqueuse est prélevé après 1, 5 et 10 minutes d'agitation et la concentration de chaque échantillon (notée  $[\text{AG}]_D$ ) est mesurée. Le ratio volumique est également maintenu constant.

### ***E.I.2.b. Étude thermodynamique***

Dans le cas où le TBP est nécessaire, une étude thermodynamique est effectuée pour connaître le mécanisme d'extraction.

Cette étude est faite dans des ampoules à décanter : chaque étape en utilise une nouvelle. Les ampoules à décanter sont agitées fortement et suffisamment longtemps pour que le système atteigne l'équilibre. Le pH après extraction,  $\text{pH}_{EQ}$ , est mesuré.

#### ÉTAPE D'EXTRACTION

- 25 ml d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) dissous dans l'eau distillée
- 25 ml d'une phase organique composée d'un certain pourcentage volumique de TBP dilué dans un agrodiluant

#### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

- 20 ml de la phase organique après extraction

- 20 ml d'une solution aqueuse de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> à 0,25 M

En supposant qu'un seul complexe organique se forme, l'analyse des résultats est faite de la même manière que pour le dodécane (Cf. C.II.2.c.). Le taux d'extraction (tE), l'indicateur relatif au bilan-matière (BM) et le coefficient de partage (q) sont calculés de la même manière que précédemment.

$$tE = \frac{[AG]_D}{[AG]_0}$$

$$q = \frac{[AG]_D}{[AG]_E} * (1 + 10^{(-pK_a + pH_{EQ})})$$

$$BM = \frac{[AG]_E + [AG]_D}{[AG]_0}$$

### E.I.3. Résultats

#### E.I.3.a. Cas du squalane

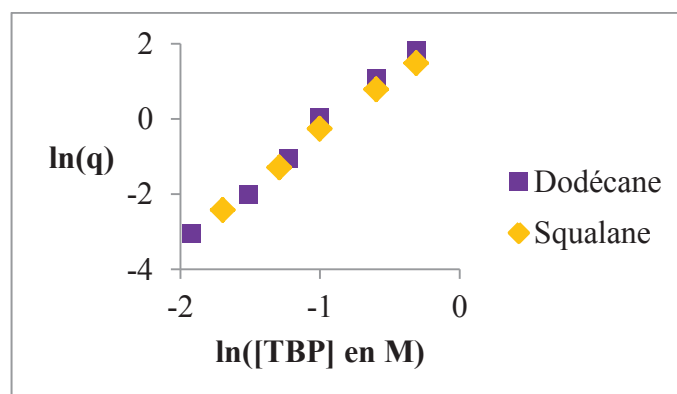
La décantation est bien plus lente avec le squalane qu'avec le dodécane, par suite de la viscosité de ce diluant (à 20°C, 29 mPa.s contre 13 mPa.s pour le dodécane, d'après les fournisseurs). La séparation des phases a été donc réalisée par centrifugation. Néanmoins, les cinétiques d'extraction et de dés extraction sont tout à fait correctes : à l'extraction, l'équilibre est très rapidement atteint, en moins d'une minute et la dés extraction est totale au bout d'une minute d'agitation.

Le tableau suivant montre les résultats obtenus en fonction de la concentration de TBP dilué dans le squalane.

[TBP] (% v/v)	[AG] <sub>E</sub> (μM)	[AG] <sub>D</sub> (μM)	pH <sub>EQ</sub>	tE (%)	BM (%)
0	292 ± 8	2 ± 5	4,0 ± 0,1	0	100
5	275 ± 5	21 ± 1	4,0 ± 0,1	7	101
7,5	243 ± 10	60 ± 14	4,1 ± 0,1	20	103
10	189 ± 4	106 ± 4	4,2 ± 0,1	36	100
15	101 ± 10	196 ± 9	4,4 ± 0,1	67	101
20	83 ± 11	196 ± 10	4,6 ± 0,1	67	95

Le squalane seul ne permet pas d'extraire l'acide gallique. C'est un résultat attendu, car il s'agit d'un hydrocarbure comme le dodécane. Donc, un extractant est nécessaire : les résultats montrent que le TBP est un bon choix.

Pour déterminer la stœchiométrie de l'espèce extraite, on porte le coefficient de partage de l'acide gallique ( $q$ ) en fonction de la concentration de TBP en échelle logarithmique népérienne (Figure 82).



**Figure 82 : Le squalane au lieu du dodécane en extraction liquide-liquide**

En utilisant le squalane comme diluant au lieu du dodécane, on retrouve les mêmes coefficients de partage de l'acide gallique, aux erreurs expérimentales près. Le même mécanisme d'extraction avec la formation d'un seul complexe composé de trois molécules de TBP pour une molécule d'acide gallique et les mêmes performances sont donc obtenus.

### ***E.I.3.b. Cas des esters éthyliques d'acide gras***

Ces agrodiluants sont assez visqueux, mais moins que les huiles dont ils sont issus et que le squalane. La décantation a été réalisée par centrifugation malgré tout. L'équilibre à l'extraction est très rapidement atteint, en moins d'une minute et la dés extraction est totale au bout d'une minute d'agitation.

Les résultats sont regroupés dans les tableaux suivants : là encore, compte tenu du pH à l'équilibre, en général, l'acide gallique reste majoritairement sous forme acide non dissociée, après extraction.

**Diluant : Caprate d'éthyle**

[TBP] (% v/v)	[AG] <sub>E</sub> ( $\mu$ M)	[AG] <sub>D</sub> ( $\mu$ M)	pH <sub>EQ</sub>	tE (%)	BM (%)
0	287 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	4,0 $\pm$ 0,1	0	98
5	231 $\pm$ 7	59 $\pm$ 5	4,0 $\pm$ 0,1	20	99
7,5	185 $\pm$ 5	114 $\pm$ 6	4,1 $\pm$ 0,1	39	102
10	141 $\pm$ 9	149 $\pm$ 11	4,2 $\pm$ 0,1	51	99
12,5	109 $\pm$ 8	179 $\pm$ 8	4,3 $\pm$ 0,1	61	98
15	80 $\pm$ 10	205 $\pm$ 12	4,4 $\pm$ 0,1	70	97
20	63 $\pm$ 5	232 $\pm$ 13	4,6 $\pm$ 0,1	79	100

**Diluant : Laurate d'éthyle**

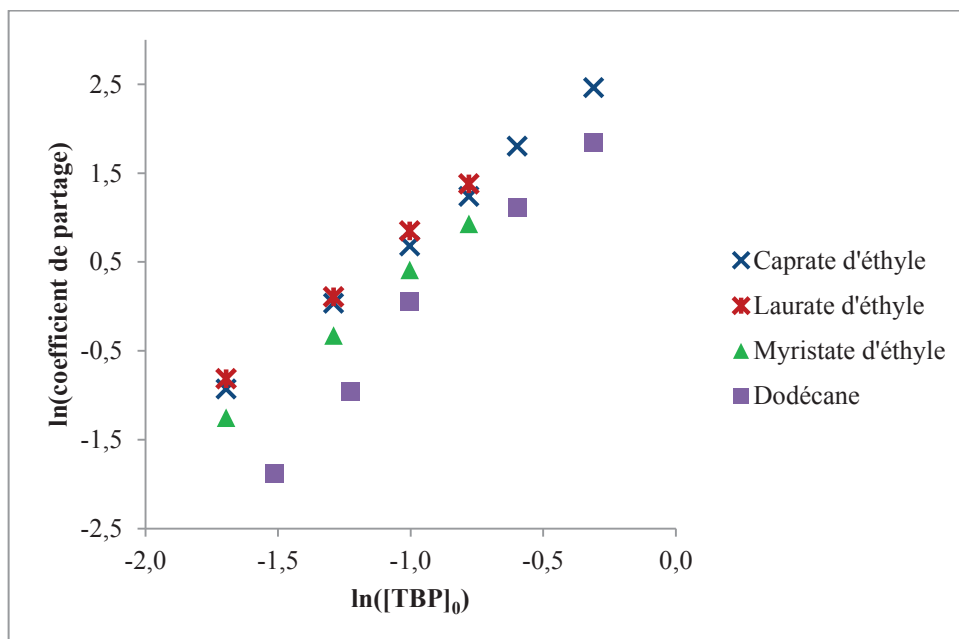
[TBP] (% v/v)	[AG] <sub>E</sub> ( $\mu$ M)	[AG] <sub>D</sub> ( $\mu$ M)	pH <sub>EQ</sub>	tE (%)	BM (%)
0	289 $\pm$ 6	1 $\pm$ 1	4,0 $\pm$ 0,1	0	99
5	236 $\pm$ 10	62 $\pm$ 8	4,1 $\pm$ 0,1	21	101
7,5	185 $\pm$ 13	110 $\pm$ 10	4,2 $\pm$ 0,1	37	100
10	128 $\pm$ 10	160 $\pm$ 9	4,2 $\pm$ 0,1	55	98
12,5	99 $\pm$ 12	187 $\pm$ 13	4,3 $\pm$ 0,1	64	97

**Diluant : Myristate d'éthyle**

[TBP] (% v/v)	[AG] <sub>E</sub> ( $\mu$ M)	[AG] <sub>D</sub> ( $\mu$ M)	pH <sub>EQ</sub>	tE (%)	BM (%)
0	292 $\pm$ 5	1 $\pm$ 1	4,0 $\pm$ 0,1	0	100
5	247 $\pm$ 10	42 $\pm$ 6	4,1 $\pm$ 0,1	14	98
7,5	203 $\pm$ 12	87 $\pm$ 10	4,2 $\pm$ 0,1	29	98
10	158 $\pm$ 16	127 $\pm$ 7	4,2 $\pm$ 0,1	43	97
12,5	131 $\pm$ 9	177 $\pm$ 11	4,2 $\pm$ 0,1	60	105

On observe que ces trois esters éthyliques d'acide gras ne peuvent extraire l'acide gallique sans extractant : le TBP est donc nécessaire.

La figure 83 montre le coefficient de partage de l'acide gallique (q) en fonction de la concentration de TBP en échelle logarithmique népérienne.



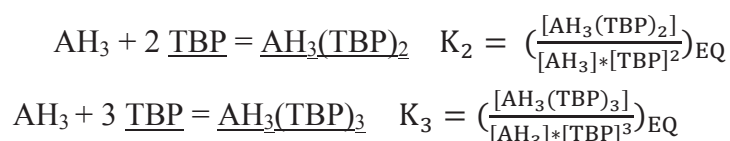
**Figure 83 : Les esters d'acide gras comme diluants en extraction liquide-liquide**

On obtient des coefficients de partage plus élevés en utilisant les esters éthyliques d'acide gras à la place du dodécane. Le caprate d'éthyle et le laurate d'éthyle donnent des résultats très similaires et permettent une meilleure extraction de l'acide gallique par le TBP que le myristate d'éthyle.

En supposant qu'un seul complexe organique se forme, cette même figure permet d'obtenir la stœchiométrie du TBP dans le complexe organique formé avec l'acide gallique dans un ester éthylique d'acide gras.

Diluant	p	r <sup>2</sup>
Caprate d'éthyle	2,3	0,999
Laurate d'éthyle	2,5	0,998
Myristate d'éthyle	2,5	0,997

Une stœchiométrie, comprise entre 2,3 et 2,5, est trouvée pour le TBP. Ceci laisse penser que deux complexes,  $\text{AH}_3(\text{TBP})_2$  et  $\text{AH}_3(\text{TBP})_3$ , coexistent. Dans ce cas, il y a donc deux équilibres à prendre en compte :



En combinant ces deux équations, on obtient :



$$\frac{[\text{AH}_3(\text{TBP})_2]_{\text{EQ}} + [\text{AH}_3(\text{TBP})_3]_{\text{EQ}}}{[\text{AH}_3]_{\text{EQ}} * [\text{TBP}]_{\text{EQ}}^2} = K_3 * [\text{TBP}]_{\text{EQ}} + K_2.$$

La somme totale des concentrations des deux complexes est obtenue par analyse de la phase de dés extraction :

$$[\text{AH}_3(\text{TBP})_2]_{\text{EQ}} + [\text{AH}_3(\text{TBP})_3]_{\text{EQ}} = [\text{AG}]_{\text{D}}.$$

La concentration de la forme non dissociée de l'acide gallique est calculée en mesurant la concentration de l'acide gallique et le pH de la phase aqueuse à l'équilibre après extraction :

$$[\text{AH}_3]_{\text{EQ}} = \frac{[\text{AG}]_{\text{E}}}{1 + 10^{(-\text{pKa} + \text{pH}_{\text{EQ}})}}$$

De plus, comme le TBP est en large excès par rapport à l'acide gallique, la concentration de TBP à l'équilibre peut être considérée comme égale à celle initiale ( $[\text{TBP}]_0$ ).

Le coefficient de partage de l'acide gallique est défini comme suit :

$$q = \frac{[\text{AH}_3(\text{TBP})_2]_{\text{EQ}} + [\text{AH}_3(\text{TBP})_3]_{\text{EQ}}}{[\text{AH}_3]_{\text{EQ}}} = \frac{[\text{AG}]_{\text{D}}}{[\text{AG}]_{\text{E}}} * 1 + 10^{(-\text{pKa} + \text{pH}_{\text{EQ}})}$$

$$\text{D'où, } \frac{q}{[\text{TBP}]_0^2} = K_3 * [\text{TBP}]_0 + K_2$$

Les courbes de la figure 84 sont obtenues en traçant l'expression de la partie gauche de cette dernière équation en fonction de la concentration de TBP.

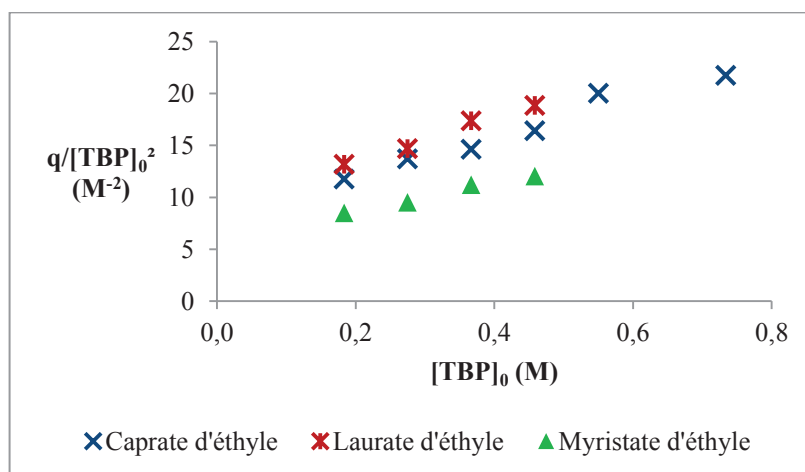


Figure 84 : Formation de deux complexes lors de l'utilisation d'esters d'acide gras

On trouve des droites comme prévu pour les trois cas, ce qui valide le modèle à deux complexes extraits.

Les valeurs des constantes d'équilibre relatives à la formation d'un complexe avec deux molécules de TBP ( $K_2$ ) et avec trois molécules de TBP ( $K_3$ ), sont données respectivement par l'ordonnée à l'origine et la pente de la droite.

Diluant	$K_2$ ( $M^{-2}$ )	$K_3$ ( $M^{-3}$ )	$r^2$
Caprate d'éthyle	8	19	0,965
Laurate d'éthyle	9	21	0,985
Myristate d'éthyle	6	13	0,985

C'est un mécanisme différent de celui obtenu pour les hydrocarbures paraffiniques (où un seul complexe,  $AH_3(TBP)_3$ , était formé), mais il est semblable à celui observé lors de la solubilisation directe de l'acide gallique solide dans le mélange TBP-dodécane. On pourrait donc supposer qu'il n'y a pas d'eau co-extraite par le TBP lorsque le diluant est un ester éthylique d'acide gras.

### ***E.I.3.c. Bilan***

En extraction liquide-liquide, le dodécane peut être remplacé par des agrodiluants, en particulier par les esters éthyliques d'acide gras, afin d'obtenir des procédés plus respectueux de l'environnement. Ce sont des résultats très encourageants.

Un extractant comme le TBP est cependant nécessaire : les agrodiluants seuls ne peuvent pas extraire l'acide gallique. On constate aussi que ces agrodiluants sont plus visqueux que le dodécane et que la décantation après mélange des deux phases est lente.

### **E.I.4. Stabilité de la phase organique extractante**

Parmi les agrodiluants testés, ce sont le caprate d'éthyle et le laurate d'éthyle qui donnent les meilleurs taux d'extraction de l'acide gallique par le TBP. Par la suite, nous n'utiliserons que ces deux agrodiluants. Il serait donc souhaitable de voir s'ils sont assez stables afin de pouvoir les recycler pour de nouvelles extractions.

#### ***E.I.4.a. Conditions expérimentales***

Un cycle est composé de trois parties : l'extraction, la dés extraction et le lavage de la phase organique à l'eau distillée qui permet d'éliminer toutes traces d'acide gallique et de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Dans cette étude, il y a deux cycles. Le protocole du premier cycle est le suivant :

##### ÉTAPE D'EXTRACTION

- 100 mL d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L) dissous dans l'eau distillée
- 100 mL de TBP à 10 % v/v dilué dans un agrodiluant.

##### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

- 95 mL de la phase organique après extraction
- 95 mL d'une solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,25 M

##### ÉTAPE DE LAVAGE DE LA PHASE ORGANIQUE

- 90 mL de la phase organique après dés extraction
- 90 mL d'eau distillée

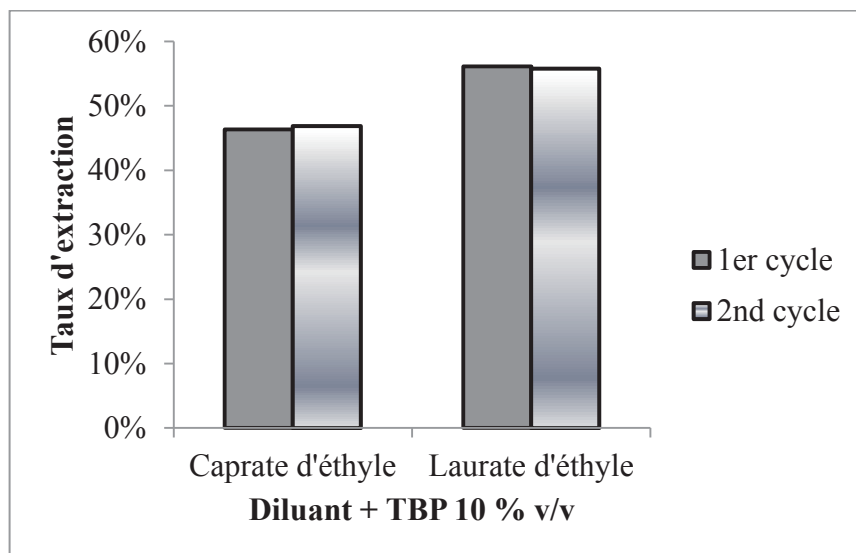
Le second cycle est effectué avec 15 ml de moins que les volumes indiqués ci-dessus, pour l'ensemble des phases, avec la phase organique obtenue après lavage à l'eau distillée.

#### ***E.I.4.b. Résultats***

Le tableau suivant montre les concentrations d'acide gallique mesurées dans la phase aqueuse après extraction ( $[\text{AG}]_E$ ) et dans la phase aqueuse de dés extraction ( $[\text{AG}]_D$ ) et le pH de la phase aqueuse après extraction à l'équilibre ( $\text{pH}_{EQ}$ ) aux deux cycles d'extraction.

	Caprate d'éthyle		Laurate d'éthyle	
	1 <sup>er</sup> cycle	2 <sup>ème</sup> cycle	1 <sup>er</sup> cycle	2 <sup>ème</sup> cycle
$[\text{AG}]_E$ ( $\mu\text{M}$ )	145 $\pm$ 5	149 $\pm$ 22	119 $\pm$ 4	130 $\pm$ 12
$[\text{AG}]_D$ ( $\mu\text{M}$ )	136 $\pm$ 4	138 $\pm$ 20	165 $\pm$ 9	164 $\pm$ 7
$\text{pH}_{EQ}$	4,2 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 0,1
tE (%)	46	47	56	56
BM (%)	96	98	97	100

La figure 85 montre les valeurs du taux d'extraction au premier et au second cycle en fonction de l'ester éthylique d'acide gras utilisé en présence de 10% v/v de TBP.



**Figure 85 : Stabilité des esters éthyliques d'acide gras**

Pour chaque ester, on obtient le même taux d'extraction aux deux cycles. Les phases organiques composées d'un ester éthylique d'acide gras (diluants) et de TBP (extractant) sont donc stables lorsqu'elles sont contactées avec des solutions aqueuses d'acides faibles ou de bases faibles.

Ce résultat ne serait plus valable si les solutions aqueuses étaient des acides forts ou des bases fortes. Dans le premier cas, les esters seraient hydrolysés et dans le deuxième cas, saponifiés. Il conviendra donc dans les essais contenant ces esters d'éliminer notamment la dés-extraction par une base forte.

### **E.I.5. Solubilité de l'acide gallique solide dans les esters d'acide gras**

#### ***E.I.5.a. Conditions expérimentales***

##### ÉTAPE DE DISSOLUTION

De l'acide gallique solide est introduit en grande quantité dans un ester éthylique d'acide gras pur et agité avec un barreau magnétique tournant à 430 tours par minute. Après 2, 4, 6 et 24 heures d'agitation, 20 mL sont prélevés et centrifugés. L'expérience est effectuée à température ambiante (soit à 20°C environ).

##### ÉTAPE DE DÉSEXTRACTION

15 mL de la solution organique sont prélevés après séparation de la phase solide et mis dans une ampoule à décanter. 15 ml de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,25 M sont ajoutés. L'ampoule à décanter

est fortement agitée. Une deuxième dés extraction est faite de la même manière pour vérifier que tout l'acide gallique solubilisé dans la phase organique est dés extrait.

### ***E.I.5.b. Résultats***

Comme la dés extraction a été faite volume à volume, le tableau suivant montre les concentrations d'acide gallique dissous dans la phase organique en fonction du temps d'agitation.

[AG] <sub>D</sub> en mM	Diluant	
t <sub>Agitation</sub> (h)	Caprate d'éthyle	Laurate d'éthyle
0	0,7 ± 0,1	0,2 ± 0,1
2	1,3 ± 0,2	0,7 ± 0,1
4	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,1
6	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,1
24	1,3 ± 0,1	0,8 ± 0,1

Une durée d'agitation de deux heures semble suffisante pour atteindre la saturation du solvant.

L'acide gallique est soluble dans les deux esters d'acide gras ; il est plus soluble dans le caprate d'éthyle que dans le laurate d'éthyle. Comparées à celle dans l'eau (59 mM à 20°C), ces valeurs de solubilité sont toutefois très faibles. Cependant, ces solubilités peuvent faire espérer une extraction par émulsion efficace sans TBP.

## **E.II. Les agrodiluants en extraction par émulsion**

En extraction liquide-liquide, le squalane est un diluant qui réagit comme le dodécane. Or il a été vu que le dodécane sans extractant n'extrait pas l'acide gallique en extraction par émulsion. On pourrait donc s'attendre qu'il n'y ait pas d'extraction avec le squalane non plus. De plus, vu la viscosité du squalane, l'électrocoalescence risque d'être difficile. Par contre, les esters d'acide gras pourraient extraire l'acide gallique sans extractant en extraction par émulsion, vu que les esters arrivent à en solubiliser de faibles quantités.

## **E.II.1. Méthode d'étude**

### ÉTAPE D'ÉMULSIFICATION

L'émulsion est toujours produite de la même manière pour l'ensemble des expériences d'extraction par émulsion. La phase aqueuse interne est dispersée dans une phase organique (membrane) par une très forte agitation à 13500 tours par minute pendant dix minutes, grâce à un rotor-stator de type ULTRA TURRAX T25. Pendant l'émulsification et jusqu'à l'utilisation de l'émulsion, le récipient dans lequel l'émulsion est produite est placé dans un bain glacé afin de préserver la stabilité de l'émulsion.

L'émulsion a le même ratio volumique entre la membrane et la phase interne ( $V_{\text{int}} / V_m = 1 / 1$ ) pour l'ensemble des expériences d'extraction par émulsion utilisant les agrodiluants.

### ÉTAPE D'EXTRACTION

- La phase externe est contactée avec l'émulsion dans un bécher haut de 600 mL grâce à un barreau magnétique cylindrique tournant à 430 tours par minute.
- La phase externe est une solution aqueuse d'acide gallique à 294  $\mu\text{M}$  (50 mg/L).
- La membrane est constituée de 3% v/v d'ECA 4360 dilués dans un ester d'acide gras. Le caprate d'éthyle et le laurate d'éthyle sont testés.
- La phase interne est une solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  à 0,25 M.
- Le ratio volumique entre la phase externe et l'émulsion est de 360 mL pour 60 mL (soit de 6).
- Différents temps d'extraction (1 min, 2 min, 5 min et 10 min) sont testés, afin de connaître la cinétique d'extraction.
- Les expériences sont répétées trois fois pour vérifier leur reproductibilité : l'écart-type sera précisé pour chaque mesure.
- L'efficacité de l'extraction est évaluée par le taux d'extraction.

### ÉTAPE D'ÉLECTROCOALESCENCE

Après l'étape d'extraction, l'émulsion est séparée de la phase aqueuse externe dans une ampoule à décanter. La phase interne est séparée de la membrane par électrocoalescence de l'émulsion.

## **E.II.2. Résultats**

Les tableaux suivants montrent les concentrations de l'acide gallique et de l'ion sodium dans les différentes phases et le pH de la phase externe en fonction du temps

d'extraction. Le taux d'extraction, le taux de rupture et l'indicateur relatif au bilan-matière (BM) sont calculés d'après les mêmes formules que précédemment (Cf. D.II.3.).

<b>Diluant = Caprate d'éthyle</b>	Temps d'extraction			
	1 min	2 min	5 min	10 min
[AG] <sub>ext</sub> à t (µM)	125 ± 11	60 ± 19	14 ± 1	23 ± 3
[AG] <sub>m</sub> à t (µM)	< 6 µM (Incertitude de mesure)			
[AG] <sub>int</sub> à t (mM)	1,8 ± 0,1	2,5 ± 0,3	2,8 ± 0,2	2,3 ± 0,2
[Na <sup>+</sup> ] <sub>int</sub> à t (M)	0,48 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,38 ± 0,01
[Na <sup>+</sup> ] <sub>ext</sub> à t (mM)	0,10 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,26 ± 0,07
pH de la phase externe à t	4,7 ± 0,3	5,1 ± 0,1	5,9 ± 0,3	7,3 ± 0,2
Taux d'extraction (%)	57	80	95	92
Taux de rupture (%)	0,2	0,2	0,2	0,6
BM (%)	94	90	85	72

<b>Diluant = Laurate d'éthyle</b>	Temps d'extraction			
	1 min	2 min	5 min	10 min
[AG] <sub>ext</sub> à t (µM)	193 ± 14	118 ± 16	73 ± 16	
[AG] <sub>m</sub> à t (µM)	< 6 µM (Incertitude de mesure)			
[AG] <sub>int</sub> à t (mM)	1,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	2,4 ± 0,2	2,4 ± 0,1
[Na <sup>+</sup> ] <sub>int</sub> à t (M)	0,49 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,41 ± 0,01
[Na <sup>+</sup> ] <sub>ext</sub> à t (mM)	0,11 ± 0,05	0,10 ± 0,03	0,13 ± 0,03	0,26 ± 0,07
pH de la phase externe à t	4,7 ± 0,4	5,1 ± 0,3	6,5 ± 0,4	6,9 ± 0,3
Taux d'extraction (%)	34	60	75	88
Taux de rupture (%)	0,2	0,2	0,2	0,6
BM (%)	95	94	91	81

L'extraction par émulsion de l'acide gallique en utilisant des agrodiluants sans extractant donne des résultats prometteurs. L'extraction est plus rapide lorsque le diluant est le caprate d'éthyle : l'extraction est totale au bout de cinq minutes tandis qu'avec le laurate d'éthyle, il faut plus de dix minutes. Or il a été démontré que l'acide gallique est plus soluble dans le caprate d'éthyle que dans le laurate d'éthyle (Cf. E.1.5.). Les résultats sont donc cohérents.

Il n'y a aucune trace d'acide gallique dans la membrane. On peut donc considérer que la dés-extraction est totale.

En considérant que le volume des différentes phases n'a pas changé, le bilan-matière est de moins en moins vérifié au fur et à mesure du temps d'extraction. Or, l'analyse de la phase interne au temps t montre une diminution de la concentration de sodium issu du désextractant ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) : ceci est dû à l'apport d'eau de la phase externe vers la phase interne ; l'émulsion a gonflé, ce qui est significativement observable à l'œil nu ici. Pour expliquer ce phénomène, on pourrait supposer que des micelles d'ECA 4360 se soient formées dans les esters d'acide gras.

### E.II.3. Phénomène de gonflement de l'émulsion

Jusqu'à présent, dans les expériences d'extraction par émulsion utilisant le dodécane comme diluant, le gonflement était peu visible. Par conséquent, tous les bilans-matières précédents ont été calculés en supposant qu'il n'y avait pas de gonflement et étaient vérifiés avec une marge d'erreur qui était tout à fait convenable.

Ici, lorsque les diluants sont des esters éthyliques d'acide gras, le bilan de matière doit prendre en compte le gonflement de l'émulsion, plus précisément du gonflement de la phase interne. Celui-ci est défini avec les volumes de la phase interne aux temps 0 et t :

$$G = \frac{V_{\text{int},t}}{V_{\text{int},0}}$$

Le volume de la phase interne au temps t est calculé à partir du bilan des ions sodium dans la phase interne, décrit par l'équation suivante :  $[\text{Na}^+]_{\text{int},0} * V_{\text{int},0} = [\text{Na}^+]_{\text{int},t} * V_{\text{int},t}$  ; on néglige la quantité d'ions  $\text{Na}^+$  perdue par rupture de l'émulsion.

Le gonflement peut ainsi être calculé de la façon suivante :

$$G = \frac{[\text{Na}^+]_{\text{int},0}}{[\text{Na}^+]_{\text{int},t}}$$

Le facteur de concentration (entre la phase externe au temps 0 et la phase interne au temps t) est défini de cette manière :

$$fC = \frac{[\text{AG}]_{\text{int},t}}{[\text{AG}]_{\text{ext},0}}$$

Théoriquement, le facteur de concentration maximal pouvant être atteint serait de 12. Mais, le gonflement de l'émulsion ne le permet pas.

Les tableaux suivants montrent les valeurs obtenues de ces paramètres.



Diluant : Caprate d'éthyle	Temps d'extraction			
	1 min	2 min	5 min	10 min
Bilan de matière corrigé (%)	95	98	100	94
Gonflement	1,03	1,11	1,19	1,33
Facteur de concentration	6,1	8,4	9,6	7,8

Diluant : Laurate d'éthyle	Temps d'extraction			
	1 min	2 min	5 min	10 min
Bilan de matière corrigé (%)	96	97	99	97
Gonflement	1,01	1,06	1,11	1,22
Facteur de concentration	3,6	6,5	8,0	8,3

En tenant compte du gonflement, le bilan-matière est vérifié à 6% près, ce qui convient beaucoup mieux.

Le facteur de concentration (Figure 86) est plus approprié ici que le taux d'extraction pour comparer les deux esters d'acide gras. En effet, on souhaiterait extraire tout l'acide gallique de la phase externe mais aussi obtenir une solution concentrée en sortie du procédé.

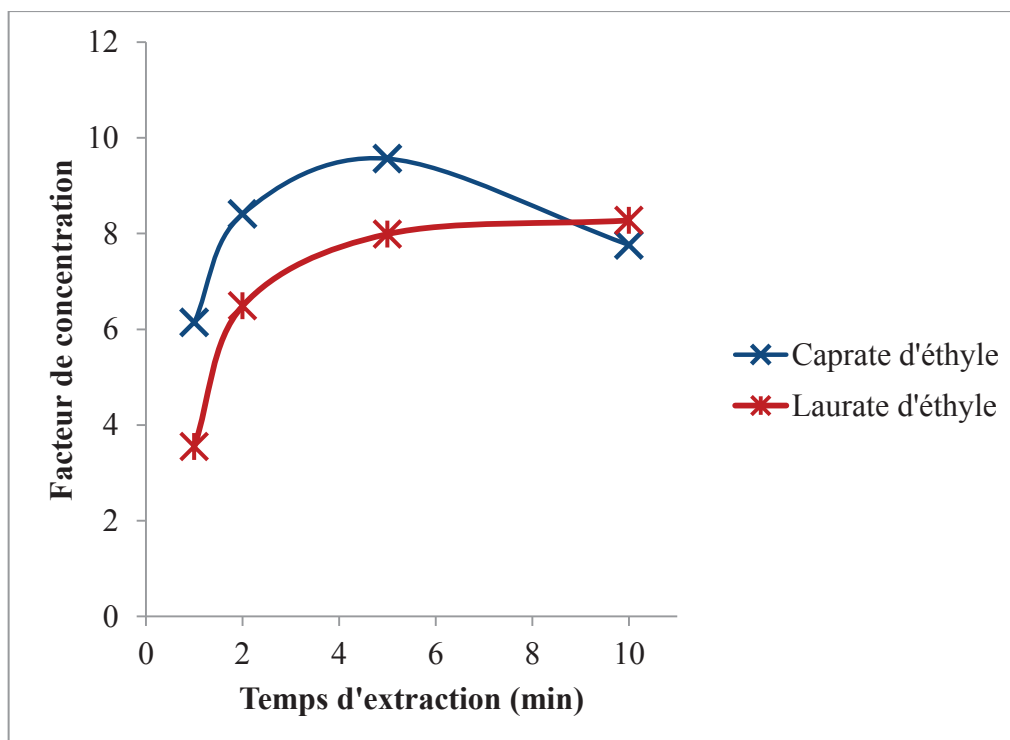


Figure 86 : Facteur de concentration en fonction du diluant

Le facteur de concentration maximal est atteint à un temps d'extraction de cinq minutes avec le caprate d'éthyle comme diluant :  $fC_{\max} = 9,6$ .

Au bout de dix minutes d'extraction, bien que le taux d'extraction soit moins élevé avec le laurate d'éthyle qu'avec le caprate d'éthyle comme diluant, on obtient le même facteur de concentration à cause du gonflement.

Le temps d'extraction sera un des paramètres à optimiser afin de limiter le gonflement et afin d'obtenir la solution la plus concentrée possible.

#### E.II.4. Comparaison par rapport aux formulations classiques

La figure 87 compare les facteurs de concentration obtenus lors de l'utilisation d'agrodiluants par rapport à ceux obtenus lors de l'utilisation de réactifs classiques issus de l'industrie pétrochimique. Hormis la formulation de la membrane organique en diluant et en extractant, tous les autres paramètres opératoires sont identiques.

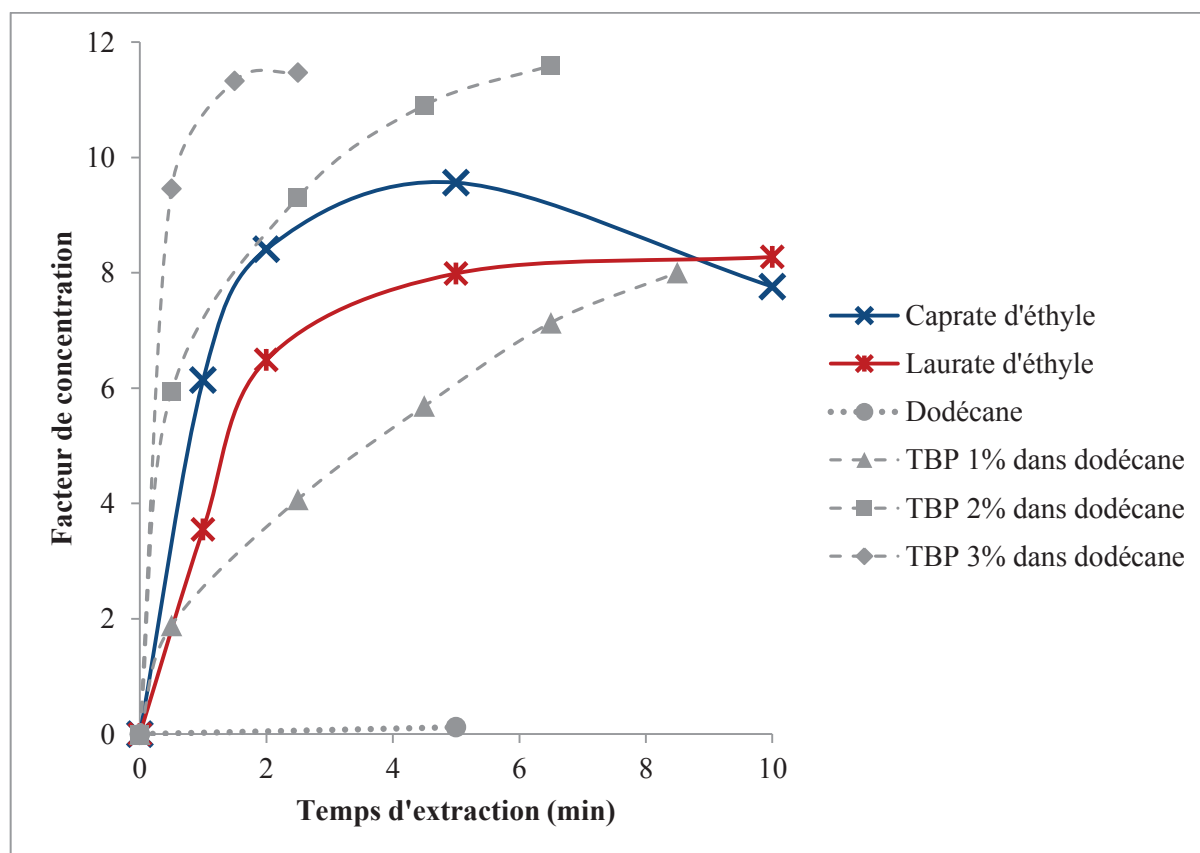


Figure 87 : Comparaison par rapport aux formulations classiques

À cause du gonflement, le facteur de concentration maximal obtenu avec une formulation utilisant un ester d'acide gras est moins élevé qu'avec une formulation classique utilisant suffisamment d'extractant (c'est-à-dire au moins 2% v/v de TBP) dilué dans le dodécane.

Les esters d'acide gras, qui sont issus d'agroressources, permettent d'éviter l'utilisation d'un extractant issu de l'industrie pétrochimique pour extraire rapidement l'acide gallique mais elles ont l'inconvénient de faciliter l'apport d'eau de la phase externe vers la phase interne, ce qu'on ne trouvait pas lorsqu'on utilisait le dodécane comme diluant.

Par conséquent, une nouvelle expérience est effectuée en prenant comme diluant un mélange volume à volume de dodécane et de caprate d'éthyle. Aucun extractant n'est ajouté. Le tensioactif reste l'ECA 4360 et la concentration est toujours de 3% v/v. Tous les autres paramètres sont fixés de la même manière que précédemment.

Le tableau suivant montre les résultats obtenus pour cette nouvelle formulation de la membrane et rappelle ceux obtenus lorsque le diluant était uniquement du caprate d'éthyle.

	3% v/v d'ECA 4360 dans :	
	Caprate d'éthyle + Dodécane (1 : 1)	Caprate d'éthyle seul
[AG] <sub>ext</sub> à t (μM)	150 ± 14	14 ± 1
[AG] <sub>org</sub> à t (μM)	< 6 μM (Incertitude de mesure)	
[AG] <sub>int</sub> à t (mM)	1,4 ± 0,2	2,8 ± 0,2
[Na <sup>+</sup> ] <sub>int</sub> à t (M)	0,43 ± 0,01	0,42 ± 0,01
[Na <sup>+</sup> ] <sub>ext</sub> à t (mM)	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01
pH de la phase externe à t	5,1 ± 0,4	5,9 ± 0,3
Taux d'extraction (%)	49	95
Taux de rupture (%)	0,2	0,2
Bilan de matière (%)	96	100
Gonflement	1,16	1,19
Facteur de concentration	4,6	9,6

Diluer le caprate d'éthyle par le dodécane donne des résultats moins bons qu'utiliser le caprate d'éthyle pur : en effet, le taux d'extraction est bien moins élevé dans le premier cas que dans le second, mais le gonflement reste le même.

### **E.II.5. Comparaison à l'extraction liquide-liquide**

L'extraction par émulsion de l'acide gallique peut être effectuée sans extractant, dans le cas où le diluant est un ester éthylique d'acide gras.

Ces résultats sont très prometteurs, même si le système reste à être optimisé à cause du gonflement de l'émulsion. L'extraction par émulsion est donc plus sûre que l'extraction liquide-liquide car ce procédé permet d'éviter l'utilisation d'un produit neurotoxique qui est le TBP.

Par contre, le revers de l'extraction par émulsion est le risque de non – sélectivité : dans le cas d'un mélange complexe à traiter, si plusieurs composés organiques, en particulier ceux ayant des fonctions polaires, sont au moins un peu solubles dans l'ester éthylique d'acide gras testé, ils seront tous extraits plus ou moins rapidement par l'émulsion.

# Conclusion

Le but de ce travail était de comparer deux procédés extractifs appliqués aux biotechnologies. Ces nouvelles technologies « propres » permettent de fabriquer, à partir de ressources naturelles renouvelables (en particulier végétales), des bioproduits qui pourront remplacer à terme les dérivés du pétrole. Ces bioproduits seront issus de procédés biotechnologiques ou de procédés d'extraction directe à partir de ressources végétales. Dans les deux cas, la solution contenant le produit d'intérêt devra être purifiée et l'extraction liquide-liquide ou l'extraction par émulsion pourront être des techniques précieuses. C'est pour cela qu'elles sont étudiées dans cette thèse.

Après une étude bibliographique exhaustive, l'acide gallique a été choisi comme molécule-modèle car c'est un produit naturel (issu de ressources végétales) qui fait partie des acides organiques, la famille majoritaire des bioproduits ; l'étude a été réalisée sur des solutions synthétiques. Ses propriétés physico-chimiques sont bien connues ; c'est un puissant antioxydant, utilisé dans les industries pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. Il présente donc un intérêt industriel important.

Le premier but de ce travail était de choisir les réactifs chimiques nécessaires à l'extraction et à la dés extraction de l'acide gallique à partir de solutions aqueuses plus ou moins acides. La stabilité de l'acide gallique a été étudiée grâce à un emploi raisonné de la méthode de dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu. Les bases fortes ont été écartées car l'acide gallique n'est pas stable dans ces milieux en présence d'air. Par contre, l'acide gallique est stable en présence de sels et d'acides forts.

La méthode de dosage de l'acide gallique dans différents milieux et notamment en milieu phosphate à différents pH a été étudiée de façon très approfondie ; l'acide gallique est stable en milieu phosphate, ce qui permet de retenir ce milieu comme dés extractant potentiel. La recommandation de conditions de dosage précises en fonction du milieu est une des originalités de ce travail qui pourra être précieux dans bien d'autres applications : dosage des phénols notamment.

L'étude des deux procédés extractifs a commencé par la recherche du meilleur extractant dilué dans le dodécane, diluant classique issu de l'industrie pétrochimique. Le TBP a été retenu parce qu'il donne des performances d'extraction très intéressantes, que l'acide gallique est facilement dés extrait par l'hydrogénophosphate de disodium et que le système est stable sur plusieurs cycles d'extraction / dés extraction. Les amines tertiaires par

contre, bien que plus basiques, ne sont pas efficaces pour extraire l'acide gallique, probablement par suite d'empêchement stérique.

L'étude systématique de l'influence de divers paramètres (concentration de l'extractant, concentration du désextractant, concentration de l'acide gallique, pH, rapport volumique) a permis de valider un modèle d'extraction selon lequel l'acide gallique est extrait sous sa forme non dissociée, à raison de trois molécules de TBP pour une molécule d'acide. La constante d'équilibre a été estimée ; ce modèle permet de prévoir l'efficacité d'extraction pour différentes conditions. À titre de comparaison, une étude de la dissolution d'acide gallique solide dans la solution organique TBP/dodécane a été réalisée ; elle donne des résultats différents, montrant la coexistence de deux espèces différentes, l'une comportant deux molécules de TBP et l'autre trois molécules de TBP ; là encore les constantes de formation ont été estimées. La différence de comportement avec l'extraction liquide-liquide est attribuée à la présence d'eau coextraite dans ce dernier cas, rendant l'espèce plus hydrophile et moins facilement extractible.

Quant à l'extraction par émulsion, elle n'est pas limitée par l'équilibre ; l'extraction est rapide et totale, avec beaucoup moins d'extractant et un volume organique très réduit, ce qui est tout à fait favorable au regard de l'impact environnemental. La désextraction étant totale, les deux étapes d'extraction et de désextraction se font en même temps, plus rapidement et dans un contacteur de plus petit volume. On atteint une extraction totale et un facteur de concentration de 12, en moins de trois minutes de contact. L'extraction par émulsion est donc un procédé de récupération et de concentration plus efficace, plus respectueux de l'environnement, peu consommateur d'énergie et plus compatible avec les principes de la chimie verte. Cependant, il peut présenter une moins grande sélectivité que l'extraction liquide-liquide, car toute substance légèrement soluble dans le dodécane et désextraite pourra accompagner l'acide gallique dans la phase interne. Comme l'extraction par émulsion n'est pas contrôlée par des équilibres thermodynamiques, une étude unique aux valeurs standards des paramètres considérés n'est pas suffisante pour comprendre entièrement les mécanismes d'extraction. Les plans d'expériences ont été utilisés pour généraliser les résultats de l'influence des paramètres sur le procédé d'extraction par émulsion. Ces plans d'expériences ont montré de façon sûre que seule la concentration de l'extractant dilué dans le dodécane, [TBP], avait une influence significative. C'est un résultat très important au regard de l'optimisation du procédé et cette étude a montré la puissance des plans d'expérience pour ce faire.

On a proposé un modèle cinétique concordant avec l'ordre 3 trouvé par rapport au TBP, supposant que la réaction limitante est celle de l'espèce comportant deux molécules de TBP, adsorbée à l'interface externe, avec la troisième molécule de TBP.

La dernière partie consistait à envisager l'emploi de molécules agro-sourcées comme diluant, certaines se sont révélées beaucoup plus efficaces que le mélange TBP/dodécane. En effet, en extraction liquide-liquide, les esters éthyliques d'acides gras issus de ressources végétales ont permis d'obtenir en présence de TBP de meilleurs coefficients de partage de l'acide gallique que les hydrocarbures comme le dodécane dérivé du pétrole ou le squalane dérivé de l'huile de l'olive. On pourra donc avec eux utiliser des concentrations plus faibles de TBP. Mieux encore, en extraction par émulsion, les membranes organiques composées uniquement du tensioactif (ECA 4360) et d'un ester éthylique d'acide gras ont pu extraire assez rapidement l'acide gallique sans TBP ; avec 3% v/v d'ECA 4360 dilués dans le caprate d'éthyle, l'extraction était totale au bout de cinq minutes. On peut expliquer ces résultats par une faible solubilité de l'acide gallique dans ces esters.

Toutefois, les agrodiluants testés ont cependant quelques inconvénients. Leur viscosité, plus élevée en général que celle du dodécane, ralentit la décantation. De plus, pour les esters éthyliques d'acide gras, on a observé un gonflement significatif de l'émulsion, ce qui a diminué le facteur de concentration à 10 environ contre 12 pour le dodécane/TBP. Ce phénomène pourrait être expliqué par une formation de micelles inverses d'ECA 4360 dans les esters d'acides gras, qui peuvent transporter des molécules d'eau de la phase aqueuse externe vers la phase aqueuse interne par suite du gradient de pression osmotique.

En conclusion, les avantages de l'extraction par émulsion sont nombreux pour la récupération de faibles quantités de composés d'intérêt : rapidité de l'extraction, concentration importante, utilisation de faibles concentrations d'extractant (voire nulles), minimisation du volume de la solution organique... Toutefois, on observe un certain manque de sélectivité par rapport à des molécules proches chimiquement et la formulation est une étape délicate dans laquelle nous avons montré l'intérêt majeur d'utiliser des plans d'expérience.

Cette étude peut ouvrir la voie à une série de travaux sur l'extraction par émulsion des acides organiques, que ce soit ceux extraits directement des ressources végétales ou ceux produits par fermentation de biomasse. En effet, dans ce dernier cas, ce procédé pourrait être couplé à un fermenteur continu afin d'extraire l'acide produit en continu, ce qui permettrait de limiter son accumulation dans le milieu (souvent préjudiciable aux microorganismes) et l'acidification de ce dernier.

Afin de compléter et affiner nos travaux de recherche, différentes perspectives pourraient être envisagées.

En particulier, il serait intéressant de produire des agrodiluants peu visqueux et résistants à des milieux acides ou basiques, en particulier pour l'extraction d'acides

organiques. En effet, les esters d'acide gras sont hydrolysés par les acides forts et saponifiés par les bases fortes. Les hydrocarbures saturés produits à partir des monoterpènes pourraient être une piste. Il serait intéressant de comprendre et de pouvoir modéliser leur influence sur les deux procédés d'extraction envisageables.

L'écoconception des deux procédés étudiés pourrait être poursuivie, en particulier en cherchant des extractants et des tensioactifs issus de ressources végétales et en les utilisant avec des agrodiluants. Lorsque tous les réactifs issus de l'industrie pétrochimique auront été remplacés par des agro-produits, on pourrait étudier l'influence des paramètres sur le taux d'extraction et le facteur de concentration afin d'optimiser leurs performances.



## Bibliographie

- [1] P.T. Anastas, J.C. Warner, Green chemistry theory and practice, Oxford University Press (Oxford), 1998, 135 p
- [2] S.V. Vassilev, D. Baxter, L.K. Andersen, C.G. Vassileva, An overview of the chemical composition of biomass, Fuel 89 (2010), 913–933
- [3] J.M. Otero, G. Panagiotou, O. Lisbeth, Fueling Industrial biotechnology Growth with Bioethanol, Advanced Biochemical Engineering / Biotechnology 108 (2007), 1-40
- [4] B. Amigun, J. Gorgens, H. Knoetze, Biomethanol production from gasification of non-woody plant in South Africa: Optimum scale and economic performance, Energy Policy 38 (2010), 312–322
- [5] F. Hasegawa, S. Yokoyama, K. Imou, Methanol or ethanol produced from woody biomass: Which is more advantageous?, Bioresource Technology 101 (2010), S109–S111
- [6] BioMCN produces biomethanol from by-product glycerol, Focus on catalysts 2008 Issue 12, page 3
- [7] E. Poitrat, Biocarburants, Techniques de l'Ingénieur, 2009, 24 pages
- [8] C.R. Shen, J.C. Liao, Metabolic engineering of Escherichia coli for 1-butanol and 1-propanol production via the keto-acid pathways
- [9] Y. Deng, S.S. Fong, Metabolic engineering of Thermobifida fusca for direct aerobic bioconversion of untreated lignocellulosic biomass to 1-propanol, Metabolic Engineering 13 (2011), 570-577
- [10] A. Chatzifragkou, A. Makri, A. Belka, S. Bellou, M. Mavrou, M. Mastoridou, P. Mystrioti, G. Onjaro, G. Aggelis, S. Papanikolaou, Biotechnological conversions of biodiesel derived waste glycerol by yeast and fungal species, Energy 36 (2011), 1097-1108
- [11] L.H. Reddy, P. Couvreur, Squalene: A natural triterpene for use in disease management and therapy, Advanced Drug Delivery Reviews 61 (2009), 1412-1426
- [12] A.C. Allison, Squalene and Squalane Emulsions as Adjuvants, Methods 19 (1999), 87-93
- [13] A. Behr, L. Johnen, Myrcene as a Natural Base Chemical in Sustainable Chemistry: A Critical Review, ChemSusChem 2, 1072-1095

- [14] J. Graille, *Lipides et corps gras alimentaires*, Editions Tec et Doc (Paris), 2003, 469 p.
- [15] D. Bégin, S. Heng, M. Gérin, *La substitution des solvants par le lactate d'éthyle*, Institut de Recherche Robert Sauvé en santé et en sécurité du travail (Canada), 2005, 44 p.
- [16] I. Matzerath, W. Kläui, R. Klasen, H. Sahm, Vanadate catalysed oxidation of 5-keto-D-gluconic acid to tartaric acid : the unexpected effect of phosphate and carbonate on rate and selectivity, *Inorganica Chemistry Acta* 237 (1995), 203-205
- [17] A. Gupta, V.K. Singh, G.N. Qazi, *Gluconobacter oxydans*: its biotechnological applications, *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 3 (2001), 445 – 456
- [18] H. Hwangbo, R.D. Park, T.W. Kim, Y.S. Rim, K.H. Park, T.H. Kim, J.S. Suh, K.Y. Kim, 2-Ketogluconic acid production and phosphate solubilization by enterobacter intermedium, *Current Microbiology* 47 (2003), 87 – 92
- [19] U. Hermann, M. Merfort, M., Jeude, S. Bringer-Meyer, H. Sahm, Biotransformation of glucose to 5-keto-D-gluconic acid by recombinant *Gluconobacter Oxydans* DSM 2343, *Applied Microbiology Biotechnology* 64 (2004), 86 – 90
- [20] F.Z. Erdemgil, S. S. Anli, N.S. Anli, G. Ö Zkan, J. Barbosa, J. Guiteras, J.L. Beltrán, Determination of pKa values of some hydroxylated benzoic acids in methanol–water binary mixtures by LC methodology and potentiometry, *Talanta* 72 (2007), 489-496
- [21] Ali Daneshfar, Hassan S. Ghaziaskar, Nasrolah Homayoun, Solubility of Gallic Acid in Methanol, Ethanol, Water, and Ethyl Acetate, *Journal of Chemical Engineering Data* 53, 2008, 776–778
- [22] Y.Y. Soong, P.J. Barlow, Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity, *Food Chemistry* 97 (2006), 524–530
- [23] I. Bala, V. Bhardwaj, S. Hariharan, M.N.V. Ravi Kumar, Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 40 (2006), 206–210
- [24] Rintu Banerjee, Gargi Mukherjee, Krushna Chandra Patra, Microbial transformation of tannin-rich substrate to gallic acid through co-culture method, *Bioresource Technology* 96 (2005), 949–953
- [25] Treviño-Cueto, M. Luis, J.C. Contreras-Esquivel, R. Rodríguez, A. Aguilera, C.N. Aguilar, Gallic acid and tannase accumulation during fungal solid state culture of a tannin-rich desert plant (*Larrea tridentata* Cov.), *Bioresource Technology* 98 (2007), 721–724

- [26] S. Raghuwanshi, K. Dutt, P. Gupta, S. Misra, R.K. Saxena, *Bacillus sphaericus*: The highest bacterial tannase producer with potential for gallic acid synthesis, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 111 (2011), 635-640
- [27] G.W. McGraw, T.G. Rials, J.P. Steynberg, R.W. Hemingway, *Plant Polyphenols*, Editions Plenum Press (New York), 1992
- [28] A. Chanwitheesuk, A. Teerawutgulrag, J.D. Kilburn, N. Rakariyatham, Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk., *Food Chemistry* 100 (2007), 1044–1048
- [29] C.W. Lee, E.M. Son, H.S. Kim, P. Xu, T. Batmunkh, B.J. Lee, K.A. Koo, Synthetic tyrosyl gallate derivatives as potent melanin formation inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 17 (2007), 5462-5464
- [30] J.M. Romero Garcia, F.G. Ación Fernández, J.M. Fernández Sevilla, Development of a process for the production of L-amino acids concentrates from microalgae by enzymatic hydrolysis, *Bioresource Technology* 112 (2012), 164-170
- [31] S. Weinmann, P. Méhul, *Biochimie : structure et fonction des protéines*, Editions Dunod (Paris), 2000, 245 p.
- [32] G. Cote, *Extraction liquide – liquide : Définition du procédé – Réactifs industriels*, *Techniques de l'Ingénieur*, 1998, 6 p.
- [33] J.L. Humphrey, G.E. Keller II, *Procédés de séparation : techniques, sélection, dimensionnement*, Editions Dunod, 2001, 356 p.
- [34] J. Rydberg, M. Cox, C. Musikas, G.R. Choppin, *Solvent extraction principles and practice 2<sup>nd</sup> Edition*, Editions Marcel Dekker, 2004, 750 p.
- [35] A.F.M. Cláudio, A.M. Ferreira, C.S.R. Freire, A.J.D. Silvestre, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, Optimization of the gallic acid extraction using ionic-liquid-based aqueous two-phase systems, *Separation and Purification Technology* 97 (2012), 142-149
- [36] D. Yankov, J. Molinier, J. Albet, G. Malmay, G. Kyuchoukov, Lactic acid from aqueous solutions with tri-n-octylamine dissolved in decanol and dodecane, *Biochemical Engineering Journal* 21 (2004), 63-71
- [37] S. Yunhai, S. Houyoung, L. Deming, L. Qinghua, C. Dexing, Z. Yongchuan, Separation of glycolic acid from glycolonitrile hydrolysate by reactive extraction with tri-n-octylamine, *Separation and Purification Technology* 49 (2006), 20-26
- [38] A. Keshav, K.L. Wasevar, S. Chand, Recovery of propionic acid from an aqueous stream by reactive extraction: effect of diluents, *Desalination* 244 (2009), 12-23

- [39] E. Alkaya, S. Kaptan, L. Ozkan, S. Uludag-Demirer, G.N. Demirer, Recovery of acids from anaerobic acidification broth by liquid-liquid extraction, *Chemosphere* 77 (2009), 1137-1142
- [40] C. Zidi, R. Tayeb, M. Ben Sik Ali, M. Dhahbi, Liquid-liquid extraction and transport across supported liquid membrane of phenol using tributyl phosphate, *Journal of Membrane Science* 360 (2010), 334-340
- [41] R.S. Juang, Y.Y. Wang, Amino acid separation with D2EHPA by solvent extraction and liquid surfactant membranes, *Journal of Membrane Science* 207 (2002), 241-252
- [42] W. Wang, H. Yang, Y. Liu, H. Cui, J. Chen, The application of biodiesel and sec-octylphenoxyacetic acid (CA-12) for the yttrium separation, *Hydrometallurgy* 109 (2011), 47-53
- [43] S. Datta, B.D. Bals, Y.J. Lin, M.C. Negri, R. Datta, L. Pasieta, S.F. Ahmad, A. Moradia, B.E. Dale, S.W. Snyder, An attempt towards simultaneous biobased solvent based extraction of proteins and enzymatic saccharification of cellulosic materials from distiller's grains and soluble, *Bioresource Technology* 101 (2010), 5444-5448
- [44] M. Poux, J.P. Canselier, Procédés d'émulsifications : mécanismes de formation des émulsions, *Techniques de l'Ingénieur*, 2004, 12 p.
- [45] C. Larpent, Tensioactifs, *Techniques de l'Ingénieur*, 1995, 15 p.
- [46] J.L. Salager, R. Antón, J.M. Andérez, J.M. Aubry, Formulation des microémulsions, *Techniques de l'Ingénieur*, 2001, 20 p.
- [47] D. Pareau, M. Stambouli, Extraction par membranes liquides émulsionnées, *Les Techniques de l'Industrie minérale - Hydrométallurgie* 2, 2006, 20 – 25
- [48] N.N. Li, Separating hydrocarbons with liquid membranes, *Brevet Américain US* 3 410 794, 1968
- [49] F.F. Krull, C. Fritzmann, T. Melin, Liquid membrane for gas/vapor separations, *Journal of Membrane Science* 325 (2008), 509 – 519
- [50] A. Dâas, O. Hamdaoui, Extraction of bisphenol A from aqueous solutions by emulsion liquid membrane, *Journal of Membrane Science* 348 (2010), 360-368
- [51] P.F.M.M. Correia, J.M.R. De Carvalho, Recovery of 2-chlorophenol from aqueous solutions by emulsion liquid membranes: batch experimental studies and modeling, *Journal of Membrane Science* 179 (2000), 175-183

- [52] M.T.A. Reis, O.M.F. De Freitas, L.M. Ferreira, J.M.R. Carvalho, Extraction of 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol from aqueous solution by emulsion liquid membranes, *Journal of Membrane Science* 269 (2006), 161-170
- [53] G.C. Sahoo, N.N. Dutta, Studies on emulsion liquid membrane extraction of cephalixin, *Journal of Membrane Science* 145 (1998), 15-26
- [54] J. Berrios, D.L. Pyle, G. Aroca, Gibberellic acid extraction from aqueous solutions and fermentation broths by using emulsion liquid membranes, *Journal of Membrane Science* 348 (2010), 91-98
- [55] N. Boizot, J.P. Charpentier, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, Numéro Spécial 2006
- [56] A. Kargari, T. Kaghazchi, M. Soleimani, Role of emulsifier in the extraction of gold (III) ions from aqueous solutions using the emulsion liquid membrane, *Desalination* 162 (2004), 237-247
- [57] J. Goupy, Introduction aux plans d'expériences 2<sup>ème</sup> édition, Ed. Dunod, 2001, 293 p.
- [58] C. Boust, A. Mardirossian, Les alcools 2<sup>ème</sup> Edition (Fiche ED 4225), Institut National de Recherche et de Sécurité, 2009
- [59] C. Boust, A. Mardirossian, Les esters 2<sup>ème</sup> Edition (Fiche ED 4227), Institut National de Recherche et de Sécurité, 2009

## **ANNEXES**

- Annexe I : Article R231-51 du Code du travail
- Annexe II : Influence des paramètres en extraction par émulsion
- Annexe III : Plan complet d'expériences à 3 paramètres ; Résultats supplémentaires
- Annexe IV : Plans fractionnaires d'expériences

## **ANNEXE I : Article R231-51 du Code du travail**

Abrogé par Décret n°2008-244 du 7 mars 2008 - art. 9 (V)

Au sens de la présente section, on entend par "substances" les éléments chimiques et leurs composés tels qu'ils se présentent à l'état naturel ou tels qu'ils sont obtenus par tout procédé de production contenant éventuellement tout additif nécessaire pour préserver la stabilité du produit et toute impureté résultant du procédé, à l'exclusion de tout solvant pouvant être séparé sans affecter la stabilité de la substance ni modifier sa composition.

On entend par "préparations" les mélanges ou solutions composés de deux substances ou plus. On entend par "intermédiaire de synthèse" une substance chimique qui est produite, conservée ou utilisée uniquement pour un traitement chimique afin d'être transformée en une autre ou en d'autres substances chimiques.

Sont considérées comme "dangereuses" au sens de la présente section les substances et préparations correspondant aux catégories suivantes :

a) Explosibles : substances et préparations solides, liquides, pâteuses ou gélatineuses qui, même sans intervention d'oxygène atmosphérique, peuvent présenter une réaction exothermique avec développement rapide de gaz et qui, dans des conditions d'essais déterminées, détonent, déflagrent rapidement ou, sous l'effet de la chaleur, explosent en cas de confinement partiel ;

b) Comburantes : substances et préparations qui, au contact d'autres substances, notamment inflammables, présentent une réaction fortement exothermique ;

c) Extrêmement inflammables : substances et préparations liquides dont le point d'éclair est extrêmement bas et le point d'ébullition bas, ainsi que substances et préparations gazeuses qui, à température et pression ambiantes, sont inflammables à l'air ;

d) Facilement inflammables : substances et préparations :

- qui peuvent s'échauffer au point de s'enflammer à l'air à température ambiante sans apport d'énergie ;

- à l'état solide, qui peuvent s'enflammer facilement par une brève action d'une source d'inflammation et continuer à brûler ou à se consumer après l'éloignement de cette source ;

- à l'état liquide, dont le point d'éclair est très bas ;

- ou qui, au contact de l'eau ou de l'air humide, produisent des gaz extrêmement inflammables en quantités dangereuses ;

e) Inflammables : substances et préparations liquides, dont le point d'éclair est bas ;

f) Très toxiques : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée en très petites quantités, entraînent la mort ou nuisent à la santé de manière aiguë ou chronique ;

g) Toxiques : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée en petites quantités, entraînent la mort ou nuisent à la santé de manière aiguë ou chronique ;

h) Nocives : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent entraîner la mort ou nuire à la santé de manière aiguë ou chronique ;

i) Corrosives : substances et préparations qui, en contact avec des tissus vivants, peuvent exercer une action destructrice sur ces derniers ;

j) Irritantes : substances et préparations non corrosives qui, par contact immédiat, prolongé ou répété avec la peau ou les muqueuses, peuvent provoquer une réaction inflammatoire ;

k) Sensibilisantes : substances et préparations qui, par inhalation ou pénétration cutanée, peuvent donner lieu à une réaction d'hypersensibilisation telle qu'une exposition ultérieure à la substance ou à la préparation produit des effets néfastes caractéristiques ;

l) Cancérogènes : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent provoquer un cancer ou en augmenter la fréquence :

- cancérogènes de catégorie 1 : substances et préparations que l'on sait être cancérogènes pour l'homme ;

- cancérogènes de catégorie 2 : substances et préparations pour lesquelles il existe une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances et préparations peut provoquer un cancer ou en augmenter la fréquence ;

- cancérogènes de catégorie 3 : substances et préparations préoccupantes pour l'homme en raison d'effets cancérogènes possibles mais pour lesquelles les informations disponibles sont insuffisantes pour classer ces substances et préparations dans la catégorie 2 ;



m) Mutagènes : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire des défauts génétiques héréditaires ou en augmenter la fréquence :

- mutagènes de catégorie 1 : substances et préparations que l'on sait être mutagènes pour l'homme ;

- mutagènes de catégorie 2 : substances et préparations pour lesquelles il existe une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances et préparations peut produire des défauts génétiques héréditaires ou en augmenter la fréquence ;

- mutagènes de catégorie 3 : substances et préparations préoccupantes pour l'homme en raison d'effets mutagènes possibles mais pour lesquelles les informations disponibles sont insuffisantes pour classer ces substances et préparations dans la catégorie 2 ;

n) Toxiques pour la reproduction : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire ou augmenter la fréquence d'effets nocifs non héréditaires dans la progéniture ou porter atteinte aux fonctions ou capacités reproductives :

- toxiques pour la reproduction de catégorie 1 : substances et préparations que l'on sait être toxiques pour la reproduction de l'homme ;

- toxiques pour la reproduction de catégorie 2 : substances et préparations pour lesquelles il existe une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances et préparations peut produire ou augmenter la fréquence d'effets nocifs non héréditaires dans la progéniture ou porter atteinte aux fonctions ou capacités reproductives ;

- toxiques pour la reproduction de catégorie 3 : substances et préparations préoccupantes en raison d'effets toxiques possibles pour la reproduction mais pour lesquelles les informations disponibles sont insuffisantes pour classer ces substances et préparations dans la catégorie 2 ;

o) Dangereuses pour l'environnement : substances et préparations qui, si elles entraient dans l'environnement, présenteraient ou pourraient présenter un risque immédiat ou différé pour une ou plusieurs de ses composantes.

Des arrêtés des ministres chargés du travail, de l'industrie, de l'environnement, de la santé, de la consommation et de l'agriculture fixent :

- la classification harmonisée applicable aux substances ayant fait l'objet au niveau communautaire d'un classement dans les catégories mentionnées ci-dessus ;

- les modalités et les critères de classement dans ces catégories des autres substances ainsi que des préparations ;

- le symbole d'identification et l'indication du danger de chacune des catégories ainsi que les phrases types mentionnant les risques particuliers et les conseils de prudence.

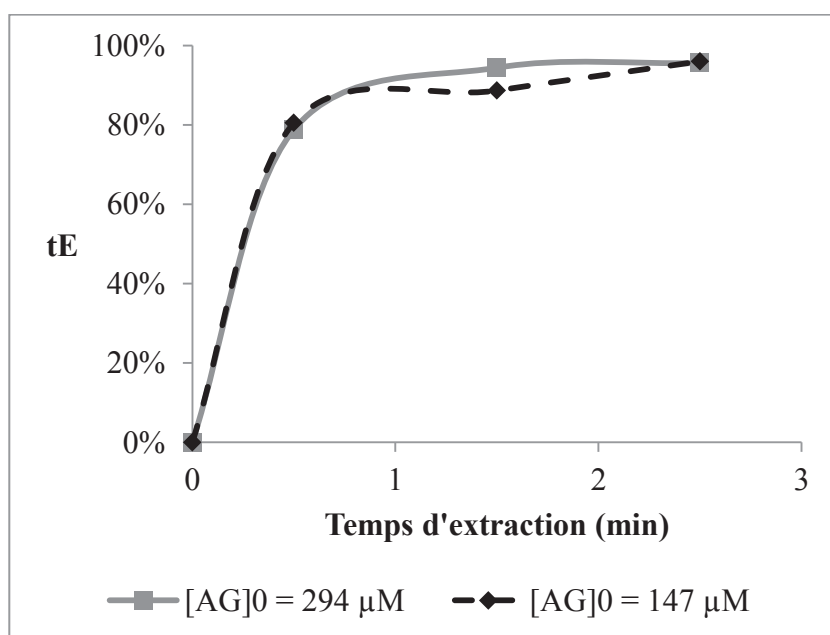
## ANNEXE II :

### Influence des paramètres en extraction par émulsion

Les tableaux et figures suivants regroupent les résultats de l'étude de l'influence paramétrique en extraction par émulsion concernant les paramètres ayant un faible effet sur le taux d'extraction (noté tE).

#### ANNEXE II.a. Influence de la concentration initiale d'acide gallique

[AG] <sub>ext</sub> (μM)		Temps d'extraction		
		30 s	1 min 30 s	2 min 30 s
[AG] <sub>ext,0</sub>	147 μM	29 ± 8	17 ± 6	6 ± 2
	294 μM	62 ± 6	16 ± 5	13 ± 6



[ECA] <sub>m</sub>	3% v/v
[TBP] <sub>m</sub>	3% v/v
[HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] <sub>int,0</sub>	0,25 M
Agitation	430 tr/min
V <sub>ext</sub> /V <sub>em</sub>	6
V <sub>int</sub> /V <sub>m</sub>	1

Figure 88 : Influence de la concentration initiale d'acide gallique

#### ANNEXE II.b. Influence de la concentration du désextractant

[AG] <sub>ext</sub> (μM)		Temps d'extraction		
		30 s	1 min 30 s	2 min 30 s
[Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ] <sub>int,0</sub>	0,05 M	99 ± 12	36 ± 9	26 ± 9
	0,25 M	62 ± 6	16 ± 5	13 ± 6

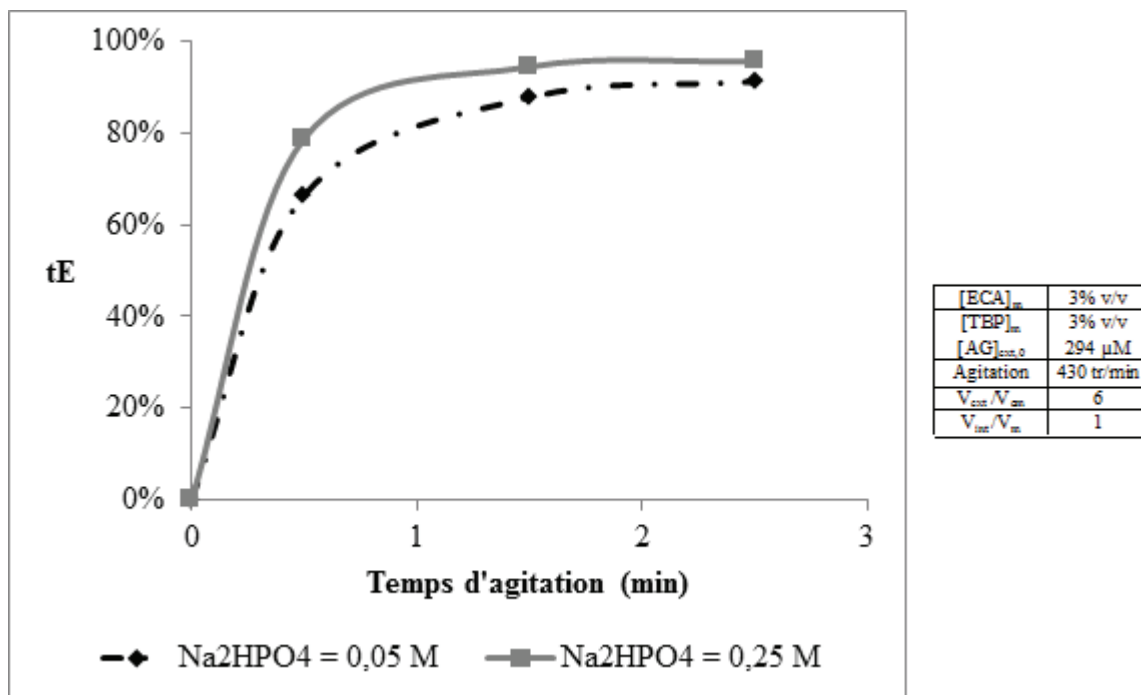


Figure 89 : Influence de la concentration du désextractant

### ANNEXE II.c. Influence de la vitesse d'agitation

$[AG]_{ext}$ ( $\mu$ M)		Temps d'extraction		
		30 s	1 min 30 s	2 min 30 s
Vitesse d'Agitation	430 tr/min	62 $\pm$ 6	16 $\pm$ 5	13 $\pm$ 6
	600 tr/min	47 $\pm$ 8	14 $\pm$ 4	5 $\pm$ 4

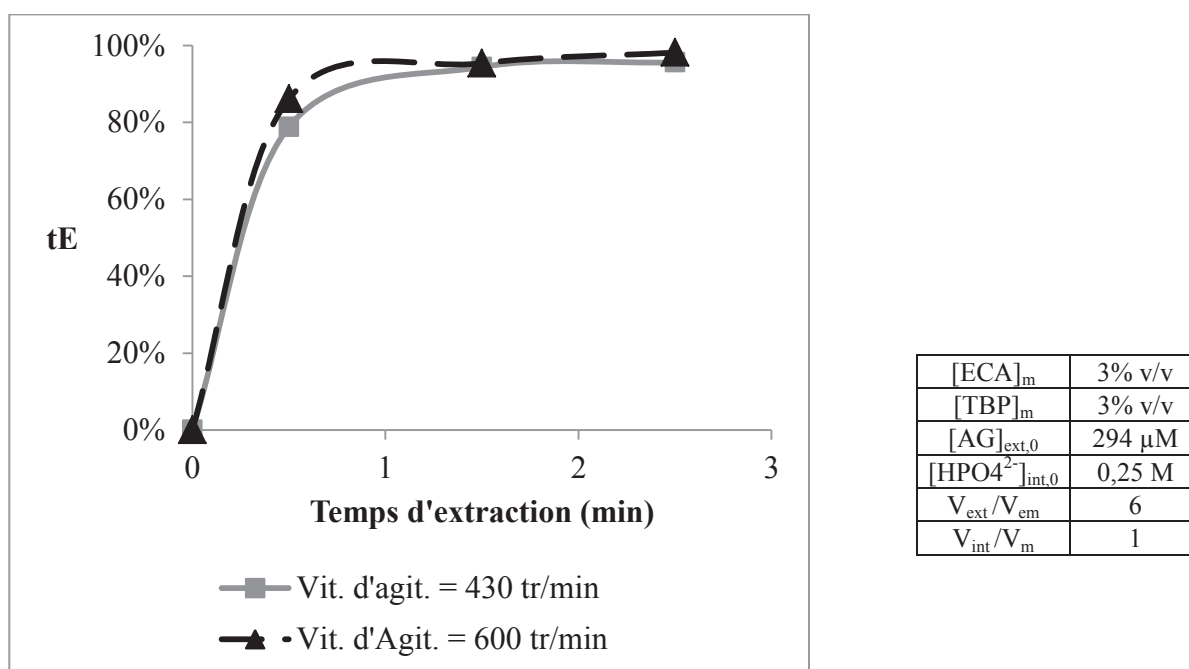
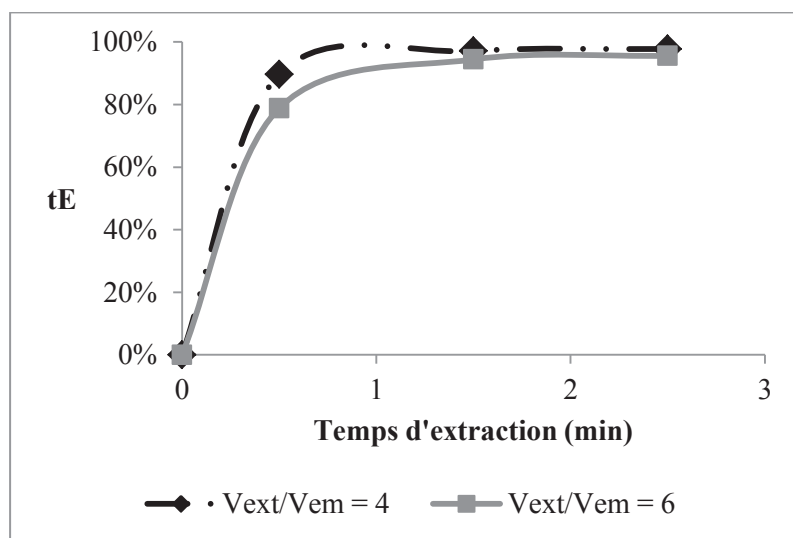


Figure 90 : Influence de la vitesse d'agitation

### ANNEXE II.d. Influence du ratio volumique phase externe/émulsion

[AG] <sub>ext</sub> (μM)		Temps d'extraction		
		30 s	1 min 30 s	2 min 30 s
V <sub>ext</sub> /V <sub>em</sub>	4	31 ± 3	9 ± 5	7 ± 5
	6	62 ± 6	16 ± 5	13 ± 6

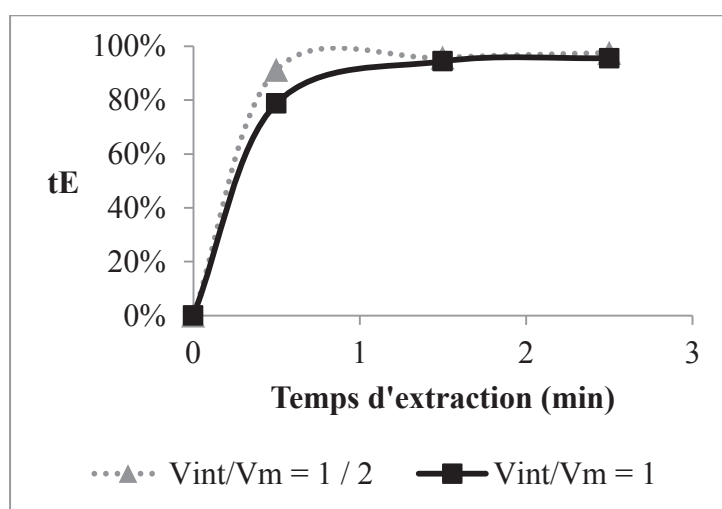


[ECA] <sub>m</sub>	3% v/v
[TBP] <sub>m</sub>	3% v/v
[AG] <sub>ext,0</sub>	294 μM
[HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] <sub>int,0</sub>	0,25 M
Agitation	430 tr/min
V <sub>int</sub> /V <sub>m</sub>	1

Figure 91 : Influence de V<sub>ext</sub>/V<sub>em</sub>

### ANNEXE II.e. Influence du ratio volumique phase interne/membrane

[AG] <sub>ext</sub> (μM)		Temps d'extraction		
		30 s	1 min 30 s	2 min 30 s
V <sub>int</sub> / V <sub>m</sub>	1/2	26 ± 4	17 ± 4	7 ± 3
	1	62 ± 6	16 ± 5	13 ± 6



[ECA] <sub>m</sub>	3% v/v
[TBP] <sub>m</sub>	3% v/v
[AG] <sub>ext,0</sub>	294 μM
[HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] <sub>int,0</sub>	0,25 M
Agitation	430 tr/min
V <sub>ext</sub> /V <sub>em</sub>	6

Figure 92 : Influence de V<sub>int</sub>/V<sub>m</sub>

## ANNEXE III :

### Plan complet d'expériences à 3 paramètres

#### Résultats supplémentaires de l'extraction par émulsion de l'AG

Les figures suivantes montrent la représentation de Daniels des effets calculés en valeur absolue et la droite d'Henry correspondante pour des durées d'extraction de 2 min 30 s, de 4 min 30 s et de 6 min 30 s.

Pour rappel, les notations suivantes correspondent respectivement :

- E<sub>1</sub> Effet du ratio volumique entre la phase aqueuse interne et la membrane
- E<sub>2</sub> Effet de la concentration de TBP
- E<sub>3</sub> Effet de la concentration de l'ECA 4360
- E<sub>12</sub> Effet de l'interaction entre deux paramètres,  $V_{int}/V_m$  et [TBP]
- E<sub>13</sub> Effet de l'interaction entre deux paramètres,  $V_{int}/V_m$  et [ECA]
- E<sub>23</sub> Effet de l'interaction entre deux paramètres, [TBP] et [ECA]
- E<sub>123</sub> Effet de l'interaction entre les trois paramètres étudiés,  $V_{int}/V_m$ , [TBP] et [ECA]

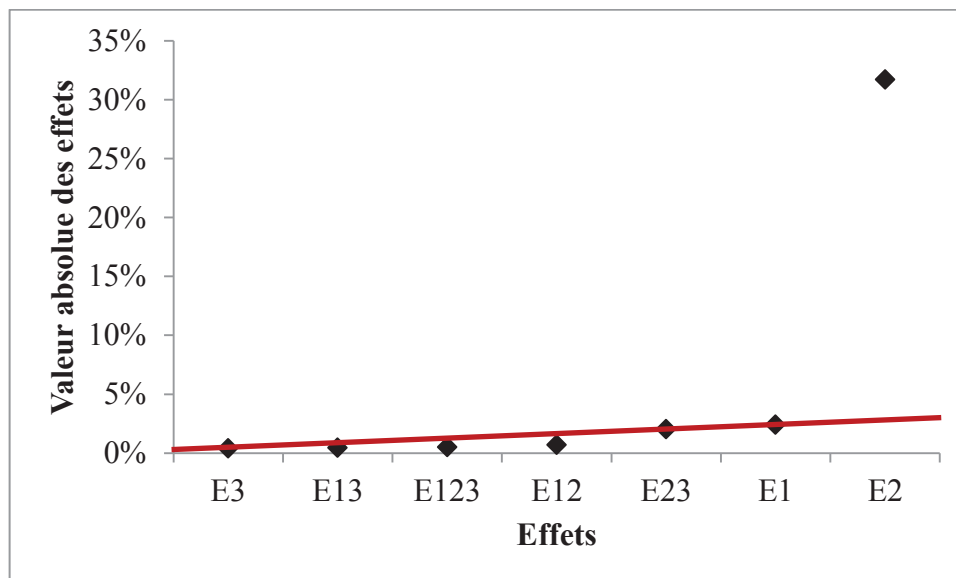


Figure 93 : Représentation de Daniels à  $t = 2 \text{ min } 30 \text{ s}$  pour l'étude à trois paramètres

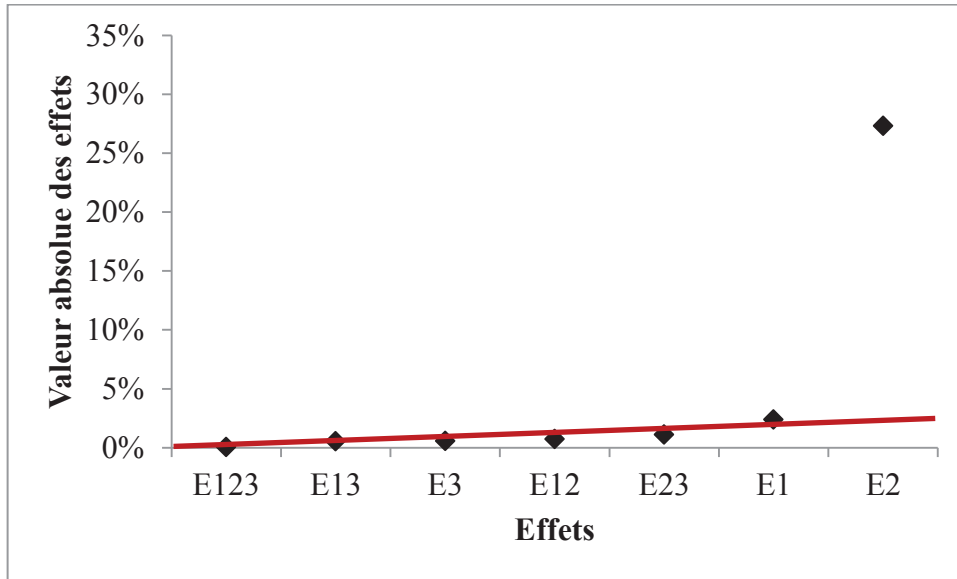


Figure 94 : Représentation de Daniels à  $t = 4 \text{ min } 30 \text{ s}$  pour l'étude à trois paramètres

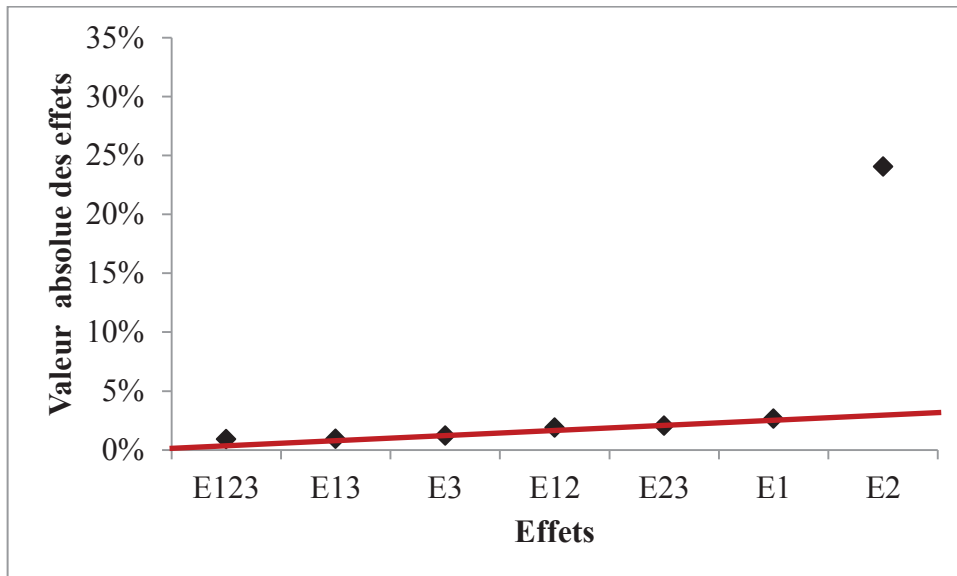


Figure 95 : Représentation de Daniels à  $t = 6 \text{ min } 30 \text{ s}$  pour l'étude à trois paramètres

## ANNEXE IV : Plans fractionnaires d'expériences

### Applications à l'extraction par émulsion de l'acide gallique

(D'après Goupy et al, [59])

#### ANNEXE IV.a. Introduction au plan fractionnaire avec un plan à trois paramètres

Le plan complet à trois paramètres est constitué de huit expériences. Il est rappelé dans le tableau suivant.

	$V_{int} / V_m$	[TBP]	[ECA]
	$V_1$	$V_2$	$V_3$
XP 1	-1	-1	-1
XP 2	+1	-1	-1
XP 3	-1	+1	-1
XP 4	+1	+1	-1
XP 5	-1	-1	+1
XP 6	+1	-1	+1
XP 7	-1	+1	+1
XP 8	+1	+1	+1

En fait, quatre expériences bien choisies (par exemple, XP2, XP3, XP5 et XP8 du plan complet) auraient pu être suffisantes pour connaître l'influence des trois paramètres choisis sur l'extraction par émulsion de l'acide gallique : ces quatre expériences forment le premier plan fractionnaire de quatre expériences à trois paramètres et sont rappelées dans le tableau ci-dessous. Les colonnes représentant les interactions entre ces trois paramètres peuvent être ajoutées : elles sont obtenues en faisant le produit des vecteurs-colonnes correspondantes aux paramètres interagissant.

	$P_1$	$P_2$	$P_3$	$P_1+P_2$	$P_2+P_3$	$P_1+P_3$	$P_1+P_2+P_3$
	$V'_1$	$V'_2$	$V'_3$	$V'_1*V'_2$	$V'_2*V'_3$	$V'_1*V'_3$	$V'_1*V'_2*V'_3$
XP 2	+1	-1	-1	-1	+1	-1	+1
XP 3	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1
XP 5	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1
XP 8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1

À partir du plan fractionnaire et des taux d'extraction obtenus expérimentalement pour ces quatre expériences, l'effet de chaque paramètre sur le taux d'extraction peut être calculé de la même manière que dans l'étude avec le plan complet mais il est noté  $\lambda_j$  car le nombre d'expériences est différent.

$$\text{Par exemple, } \lambda_3 = \frac{-tE_{XP2} - tE_{XP3} + tE_{XP5} + tE_{XP8}}{4}$$

Le tableau suivant montre les effets de chaque paramètre calculés à partir de ce premier plan fractionnaire ( $\lambda_j$ ) et rappellent entre parenthèses ceux calculés à partir du plan complet ( $E_j$ ) en fonction du temps d'extraction.

	Effet du paramètre (en %)		
	$V_{int}/V_m$	[TBP]	[ECA]
à t = 30 s	1 (-2)	24 (28)	0 (3)
à t = 2 min 30 s	0 (-2)	31 (32)	1 (0)
à t = 4 min 30 s	-1 (-2)	28 (27)	1 (1)
à t = 6 min 30 s	-1 (-3)	25 (24)	1 (-1)

Les mêmes résultats sont à peu près obtenus : quatre expériences auraient donc été largement suffisantes ici pour savoir que le TBP était le paramètre le plus influent sur le taux d'extraction. La différence observée, qui est certes faible ici, n'est pas un fruit du hasard.

Pour rappel, à partir du plan complet, les effets du paramètre  $P_3$  et de l'interaction entre les deux autres paramètres ont été calculés de cette manière :

$$E_3 = \frac{-tE_{XP1} - tE_{XP2} - tE_{XP3} - tE_{XP4} + tE_{XP5} + tE_{XP6} + tE_{XP7} + tE_{XP8}}{8}$$

$$E_{12} = \frac{+tE_{XP1} - tE_{XP2} - tE_{XP3} + tE_{XP4} + tE_{XP5} - tE_{XP6} - tE_{XP7} + tE_{XP8}}{8}$$

La somme de ces deux équations donne :

$$E_3 + E_{12} = \frac{-tE_{XP2} - tE_{XP3} + tE_{XP5} + tE_{XP8}}{4}$$

$$\text{Soit, } E_3 + E_{12} = \lambda_3$$

En fait, le plan fractionnaire de quatre expériences à trois paramètres est construit en choisissant deux paramètres  $P_1$  et  $P_2$  pour lesquelles toutes les combinaisons expérimentales sont décrites : deux paramètres ayant deux valeurs chacun donnent quatre expériences possibles.

L'étude d'un troisième paramètre  $P_3$  se rajoute en l'aliasant avec l'interaction entre les deux premiers, c'est-à-dire en additionnant l'effet de cette interaction ( $E_{12}$ ) à celui pur du troisième paramètre ( $E_3$ ) pour en donner un effet « modifié »,  $\lambda_3$  (appelé « contraste »).



Cette opération implique que le produit des trois colonnes,  $V'_1 * V'_2 * V'_3$ , appelé générateur, est égal au vecteur-colonne Identité (rempli uniquement de +1), Id, ce qui est facilement démontrable.

$$\text{Id} = V'_1 * V'_2 * V'_3.$$

Il est à observer que la colonne représentant le paramètre  $P_3$ , est identique à celle représentant l'interaction entre les paramètres  $P_1$  et  $P_2$  : le fait d'aliaser le troisième paramètre à l'interaction des deux autres a pour conséquence d'imposer la valeur expérimentale du troisième paramètre tel que la colonne  $V'_3$  est le produit des vecteurs-colonnes  $V'_1$  et  $V'_2$ .

$$V'_3 = V'_1 * V'_2$$

Cette équation peut être retrouvée en multipliant les 2 membres de l'équation du générateur ( $\text{Id} = V'_1 * V'_2 * V'_3$ ) par le vecteur-colonne  $V'_3$  en sachant que  $V'_3 * V'_3 = \text{Id}$  (car  $V'_3$  est uniquement composé de -1 et +1) et que les vecteurs-colonnes sont commutatifs. Cette équation permet de trouver le lien entre le contraste du paramètre  $P_3$  ( $\lambda_3$ ), son effet pur ( $E_3$ ) et l'effet de l'interaction entre les paramètres  $P_1$  et  $P_2$  ( $E_{12}$ ).

En changeant l'ordre des expériences et la place des colonnes et en faisant le même raisonnement, les équations suivantes sont obtenues.

$$\begin{aligned} \lambda_2 &= E_2 + E_{13} & V'_2 &= V'_1 * V'_3 \\ \lambda_1 &= E_1 + E_{23} & V'_1 &= V'_2 * V'_3 \end{aligned}$$

Les quatre autres expériences du plan complet forment le plan fractionnaire dit complémentaire au premier. En classant les expériences de manière à obtenir que les deux premières colonnes de ce second plan fractionnaire soient identiques à celles du premier plan fractionnaire, le tableau suivant est obtenu.

	$V''_1$	$V''_2$	$V''_3$
XP 6	+1	-1	+1
XP 7	-1	+1	+1
XP 1	-1	-1	-1
XP 4	+1	+1	-1

Le tableau suivant montre les effets de chaque paramètre calculés à partir du plan fractionnaire complémentaire ( $\lambda'_j$ ) et rappellent entre parenthèses ceux calculés à partir du plan complet ( $E_j$ ) en fonction du temps d'extraction.

Par exemple,

$$\lambda'_3 = \frac{+tE_{XP6} + tE_{XP7} - tE_{XP1} - tE_{XP4}}{4}$$

	Effet du paramètre (en %)		
	P <sub>1</sub> : V <sub>int</sub> /V <sub>m</sub>	P <sub>2</sub> : [TBP]	P <sub>3</sub> : [ECA]
à t = 30 s	1 (-2)	24 (28)	0 (3)
à t = 2 min 30 s	0 (-2)	31 (32)	1 (0)
à t = 4 min 30 s	-1 (-2)	28 (27)	1 (1)
à t = 6 min 30 s	-1 (-3)	25 (24)	1 (-1)

Les mêmes résultats sont obtenus à quelques pourcents près. Ici, la différence observée, certes faible ici, n'est pas non plus un fruit du hasard.

Pour rappel, à partir du plan complet, les effets du paramètre P<sub>3</sub> et de l'interaction entre les deux autres paramètres ont été calculés de cette manière :

$$E_3 = \frac{-tE_{XP1} - tE_{XP2} - tE_{XP3} - tE_{XP4} + tE_{XP5} + tE_{XP6} + tE_{XP7} + tE_{XP8}}{8}$$

$$E_{12} = \frac{+tE_{XP1} - tE_{XP2} - tE_{XP3} + tE_{XP4} + tE_{XP5} - tE_{XP6} - tE_{XP7} + tE_{XP8}}{8}$$

La différence de la première équation par la deuxième donne :

$$E_3 - E_{12} = \frac{-tE_{XP1} - tE_{XP4} + tE_{XP6} + tE_{XP7}}{4}$$

$$\text{Soit, } E_3 - E_{12} = \lambda'_3.$$

Il est à noter que  $V''_3 = -V''_1 * V''_2$ .

En changeant l'ordre des expériences et la place des colonnes et en faisant le même raisonnement, les équations suivantes sont obtenues.

$$\lambda'_1 = E_1 - E_{23} \quad V''_1 = -V''_2 * V''_3$$

$$\lambda'_2 = E_2 - E_{13} \quad V''_2 = -V''_1 * V''_3$$

Le plan fractionnaire complémentaire permet de retrouver à partir du premier plan fractionnaire l'effet pur du chaque paramètre et celui de l'interaction entre deux paramètres en additionnant ou en soustrayant les équations des contrastes correspondants,  $\lambda_j$  et  $\lambda'_j$ .

Par exemple,  $E_3 = \frac{\lambda_3 + \lambda'_3}{2}$        $E_{12} = \frac{\lambda_3 - \lambda'_3}{2}$

**ANNEXE IV.b. Plans fractionnaires d'expériences à sept paramètres**

*ANNEXE IV.b.i. Premier plan fractionnaire à sept paramètres : Méthode*

Un plan fractionnaire de sept paramètres est construit à partir d'un plan complet de trois paramètres, notés P<sub>1</sub> (V<sub>int</sub>/V<sub>m</sub>), P<sub>2</sub> ([TBP]) et P<sub>3</sub> ([ECA 4360]).

Ces trois paramètres peuvent interagir ensemble ; quatre interactions possibles existent, entre P<sub>1</sub> et P<sub>2</sub>, entre P<sub>1</sub> et P<sub>3</sub>, entre P<sub>2</sub> et P<sub>3</sub> et entre P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> et P<sub>3</sub>. Chacun des quatre paramètres restants est combiné à une de ces interactions en additionnant l'effet de cette interaction à l'effet pur de ce paramètre ; on dit que ce paramètre est alié à cette interaction. L'association est faite aléatoirement, comme suit :

- l'effet du paramètre P<sub>4</sub>, l'agitation, est alié à l'effet de l'interaction entre P<sub>1</sub> et P<sub>2</sub>.
- l'effet du paramètre P<sub>5</sub>, le ratio V<sub>ext</sub> / V<sub>em</sub>, est alié à l'effet de l'interaction entre P<sub>2</sub> et P<sub>3</sub>.
- l'effet du paramètre P<sub>6</sub>, [Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>]<sub>int.,0</sub>, est alié à l'effet de l'interaction entre P<sub>1</sub> et P<sub>3</sub>.
- l'effet du paramètre P<sub>7</sub>, [AG]<sub>ext,0</sub>, est alié à l'effet de l'interaction entre P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> et P<sub>3</sub>.

Ces opérations donnent automatiquement quatre générateurs, dits indépendants : il est facilement démontré qu'ils sont tous égaux au vecteur-colonne Identité (Id) et donc entre eux aussi.

$$Id = V_1 * V_2 * V_4 = V_2 * V_3 * V_5 = V_1 * V_3 * V_6 = V_1 * V_2 * V_3 * V_7$$

Pour rappel, V<sub>k</sub> \* V<sub>k</sub> = Id car ces vecteurs-colonnes ne sont composés que +1 et de -1. De plus, les vecteurs-colonnes sont commutatifs : V<sub>k</sub> \* V<sub>i</sub> = V<sub>i</sub> \* V<sub>k</sub>.

La multiplication entre les générateurs indépendants donne de nouveaux générateurs dits dépendants : il est facilement démontré qu'ils sont aussi tous égaux à Id et donc aux générateurs précédents.

Multiplication entre deux générateurs indépendants

$$\begin{aligned}
 V_1 * V_2 * V_4 & * V_2 * V_3 * V_5 & = & V_1 * V_3 * V_4 * V_5 \\
 V_1 * V_2 * V_4 & * V_1 * V_3 * V_6 & = & V_2 * V_3 * V_4 * V_6 \\
 V_1 * V_2 * V_4 & * V_1 * V_2 * V_3 * V_7 & = & V_3 * V_4 * V_7 \\
 V_2 * V_3 * V_5 & * V_1 * V_3 * V_6 & = & V_1 * V_2 * V_5 * V_6 \\
 V_2 * V_3 * V_5 & * V_1 * V_2 * V_3 * V_7 & = & V_1 * V_5 * V_7 \\
 V_1 * V_3 * V_6 & * V_1 * V_2 * V_3 * V_7 & = & V_2 * V_6 * V_7
 \end{aligned}$$

D'où,

$$\text{Id} = V_1 * V_3 * V_4 * V_5 = V_2 * V_3 * V_4 * V_6 = V_3 * V_4 * V_7 = V_1 * V_2 * V_5 * V_6 = V_1 * V_5 * V_7 = V_2 * V_6 * V_7$$

Multiplication entre trois générateurs indépendants

$$\begin{array}{llllll} V_1 * V_2 * V_4 & * & V_2 * V_3 * V_5 & * & V_1 * V_3 * V_6 & = & V_4 * V_5 * V_6 \\ V_1 * V_2 * V_4 & * & V_1 * V_3 * V_6 & * & V_1 * V_2 * V_3 * V_7 & = & V_1 * V_4 * V_6 * V_7 \\ V_1 * V_2 * V_4 & * & V_1 * V_2 * V_3 * V_7 & * & V_2 * V_3 * V_5 & = & V_2 * V_4 * V_5 * V_7 \\ V_2 * V_3 * V_5 & * & V_1 * V_2 * V_3 * V_7 & * & V_1 * V_3 * V_6 & = & V_3 * V_5 * V_6 * V_7 \end{array}$$

D'où,

$$\text{Id} = V_4 * V_5 * V_6 = V_1 * V_4 * V_6 * V_7 = V_2 * V_4 * V_5 * V_7 = V_3 * V_5 * V_6 * V_7$$

Multiplication entre les quatre générateurs indépendants

$$V_1 * V_2 * V_4 * V_5 * V_2 * V_3 * V_5 * V_1 * V_3 * V_6 * V_1 * V_2 * V_3 * V_7 =$$

$$V_1 * V_2 * V_3 * V_4 * V_5 * V_6 * V_7 = \text{Id}$$

Comme il a été vu auparavant, les générateurs permettent de donner le lien entre le contraste (effet « modifié » d'un paramètre calculé à partir d'un plan fractionnaire), son effet pur (celui calculé à partir du plan complet) et l'effet des interactions entre paramètres, que ce soit à 2, à 3, à 4, à 5 ou à 6.

Par exemple, pour le paramètre  $P_1$ , en multipliant tous les générateurs par  $V_1$  et en sachant que  $V_k * V_k = \text{Id}$  et  $V_k * \text{Id} = V_k$ , les équations suivantes sont obtenues :

- au niveau des générateurs indépendants :

$$V_1 = V_2 * V_4 = V_1 * V_2 * V_3 * V_5 = V_3 * V_6 = V_2 * V_3 * V_7$$

- au niveau des générateurs dépendants, produits de deux générateurs indépendants

$$V_1 = V_3 * V_4 * V_5 = V_1 * V_2 * V_3 * V_4 * V_6 = V_1 * V_3 * V_4 * V_7 = V_2 * V_5 * V_6 = V_5 * V_7 = V_2 * V_6 * V_7$$

- au niveau des générateurs dépendants, produits de trois générateurs indépendants

$$V_1 = V_1 * V_4 * V_5 * V_6 = V_4 * V_6 * V_7 = V_1 * V_2 * V_4 * V_5 * V_7 = V_1 * V_3 * V_5 * V_6 * V_7$$

- au niveau des générateurs dépendants, produits de quatre générateurs indépendants

$$V_1 = V_2 * V_3 * V_4 * V_5 * V_6 * V_7$$

Quand le vecteur-colonne est seul, cela correspond à l'effet pur du paramètre et quand il s'agit d'un produit de 2 (respectivement 3, 4, 5 et 6) vecteurs-colonnes, cela correspond à l'effet de l'interaction entre 2 (respectivement 3, 4, 5 et 6) paramètres.

Donc, le lien entre le contraste du paramètre  $P_1$  ( $\lambda_1$ ), son effet pur ( $E_1$ ) et l'effet des interactions entre les paramètres est le suivant :

$$\lambda_1 = E_1 + E_{24} + E_{1235} + E_{36} + E_{237} + E_{345} + E_{12346} + E_{1347} + E_{256} + E_{57} + E_{267} \\ + E_{1456} + E_{467} + E_{12457} + E_{13567} + E_{234567}$$

En considérant négligeables les interactions entre trois paramètres ou plus, le lien entre le contraste  $\lambda_1$ , l'effet du paramètre  $P_1$  ( $E_1$ ) et l'effet des interactions entre deux paramètres est le suivant :

$$\lambda_1 = E_1 + E_{24} + E_{36} + E_{57}$$

De la même manière, les liens suivants sont obtenus :

$$\lambda_2 = E_2 + E_{14} + E_{35} + E_{67}$$

$$\lambda_3 = E_3 + E_{25} + E_{47} + E_{16}$$

$$\lambda_4 = E_4 + E_{12} + E_{56} + E_{37}$$

$$\lambda_5 = E_5 + E_{23} + E_{46} + E_{17}$$

$$\lambda_6 = E_6 + E_{13} + E_{45} + E_{27}$$

$$\lambda_7 = E_7 + E_{34} + E_{15} + E_{26}$$

#### ***ANNEXE IV.b.ii. Plan complémentaire fractionnaire à sept paramètres : Méthode***

Dans le cas général, afin d'obtenir l'effet pur de chaque paramètre, les contrastes qui doivent être obtenues à partir du plan complémentaire sont :

$$\lambda'_1 = E_1 - E_{24} - E_{36} - E_{57}$$

$$\lambda'_2 = E_2 - E_{14} - E_{35} - E_{67}$$

$$\lambda'_3 = E_3 - E_{25} - E_{47} - E_{16}$$

$$\lambda'_4 = E_4 - E_{12} - E_{56} - E_{37}$$

$$\lambda'_5 = E_5 - E_{23} - E_{46} - E_{17}$$

$$\lambda'_6 = E_6 - E_{13} - E_{45} - E_{27}$$

$$\lambda'_7 = E_7 - E_{34} - E_{15} - E_{26}$$

En effet, la moyenne de deux contrastes correspondant au même paramètre (celle du premier plan et celle du plan complémentaire) permet de retrouver son effet pur :

$$E_i = \frac{\lambda_i + \lambda'_i}{2}, \text{ pour } i \in \llbracket 1 ; 7 \rrbracket$$

La traduction de ces contrastes en vecteurs-colonnes est la suivante :

$$V'_1 = -V'_2 * V'_4 = -V'_3 * V'_6 = -V'_5 * V'_7$$

$$V'_2 = -V'_1 * V'_4 = -V'_3 * V'_5 = -V'_6 * V'_7$$

$$V'_3 = -V'_2 * V'_5 = -V'_4 * V'_7 = -V'_1 * V'_6$$

$$V'_4 = -V'_1 * V'_2 = -V'_5 * V'_6 = -V'_3 * V'_7$$

$$V'_5 = -V'_2 * V'_3 = -V'_4 * V'_6 = -V'_1 * V'_7$$

$$V'_6 = -V'_1 * V'_3 = -V'_4 * V'_5 = -V'_2 * V'_7$$

$$V'_7 = -V'_3 * V'_4 = -V'_1 * V'_5 = -V'_2 * V'_6$$

En multipliant ces équations respectivement par  $V'_i$  pour  $i \in \llbracket 1 ; 7 \rrbracket$ , on obtient :

$$\begin{aligned} \text{Id} &= -V'_1 * V'_2 * V'_4 = -V'_1 * V'_3 * V'_6 = -V'_1 * V'_5 * V'_7 \\ \text{Id} &= -V'_2 * V'_1 * V'_4 = -V'_2 * V'_3 * V'_5 = -V'_2 * V'_6 * V'_7 \\ \text{Id} &= -V'_3 * V'_2 * V'_5 = -V'_3 * V'_4 * V'_7 = -V'_3 * V'_1 * V'_6 \\ \text{Id} &= -V'_4 * V'_1 * V'_2 = -V'_4 * V'_5 * V'_6 = -V'_4 * V'_3 * V'_7 \\ \text{Id} &= -V'_5 * V'_2 * V'_3 = -V'_5 * V'_4 * V'_6 = -V'_5 * V'_1 * V'_7 \\ \text{Id} &= -V'_6 * V'_1 * V'_3 = -V'_6 * V'_4 * V'_5 = -V'_6 * V'_2 * V'_7 \\ \text{Id} &= -V'_7 * V'_3 * V'_4 = -V'_7 * V'_1 * V'_5 = -V'_7 * V'_2 * V'_6 \end{aligned}$$

En sachant que les vecteurs-colonnes sont commutatifs, les produits à prendre en compte, dits générateurs, sont en fait :

$$\begin{aligned} \text{Id} &= -V'_1 * V'_2 * V'_4 = -V'_2 * V'_3 * V'_5 = -V'_1 * V'_3 * V'_6 = -V'_4 * V'_5 * V'_6 = -V'_1 * V'_5 * V'_7 \\ &= -V'_2 * V'_6 * V'_7 = -V'_3 * V'_4 * V'_7 \end{aligned}$$

Comme il a été vu auparavant, un plan fractionnaire de huit expériences à sept paramètres est construit à partir d'un plan complet de trois paramètres. On garde  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$  comme les trois premiers paramètres du plan dont on décline tous les combinaisons expérimentales possibles.

On choisit  $-V'_1 * V'_2 * V'_4$ ,  $-V'_2 * V'_3 * V'_5$ ,  $-V'_1 * V'_3 * V'_6$  et  $V'_1 * V'_2 * V'_3 * V'_7$  comme générateurs indépendants. Ce choix impose que le plan complémentaire est tel que :

- l'effet du paramètre  $P_4$  est aliasé avec le contraire de l'effet de l'interaction entre  $P_1$  et  $P_2$ .
- l'effet du paramètre  $P_5$  est aliasé avec le contraire de l'effet de l'interaction entre  $P_2$  et  $P_3$ .
- l'effet du paramètre  $P_6$  est aliasé avec le contraire de l'effet de l'interaction entre  $P_3$  et  $P_6$ .
- l'effet du paramètre  $P_7$  est aliasé avec l'effet de l'interaction entre  $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$ .

En multipliant ces quatre générateurs indépendants entre eux, on peut retrouver les autres générateurs décrits précédemment. En effet,

#### Multiplication entre deux générateurs indépendants

$$\begin{aligned} -V'_1 * V'_2 * V'_4 * V'_1 * V'_2 * V'_3 * V'_7 &= -V'_3 * V'_4 * V'_7 \\ -V'_2 * V'_3 * V'_5 * V'_1 * V'_2 * V'_3 * V'_7 &= -V'_1 * V'_5 * V'_7 \\ -V'_1 * V'_3 * V'_6 * V'_1 * V'_2 * V'_3 * V'_7 &= -V'_2 * V'_6 * V'_7 \end{aligned}$$

#### Multiplication entre trois générateurs indépendants

$$-V'_1 * V'_2 * V'_4 * -V'_2 * V'_3 * V'_5 * -V'_1 * V'_3 * V'_6 = -V'_4 * V'_5 * V'_6$$

### ANNEXE IV.b.iii. Plan fractionnaire à sept paramètres : Résultats supplémentaires

Pour rappel, les expériences 9, 12, 14, 15, 17, 20, 22 et 23 (en bleu) utilisent une solution initiale d'acide gallique à 147  $\mu\text{M}$  alors que les autres (en noir) utilisent une concentration de 294  $\mu\text{M}$ . Les expériences sont répétées trois fois : l'écart-type est précisé pour chaque mesure.

Le tableau suivant indique la concentration de l'acide gallique dans la phase aqueuse externe et le taux d'extraction correspondant en fonction du temps d'extraction.

		Temps d'extraction					
		2 min 30 s		4 min 30 s		6 min 30 s	
		[AG] <sub>ext</sub> (en $\mu\text{M}$ )	tE (en %)	[AG] <sub>ext</sub> (en $\mu\text{M}$ )	tE (en %)	[AG] <sub>ext</sub> (en $\mu\text{M}$ )	tE (en %)
1 <sup>er</sup> Plan	XP 9	99 ± 10	33	81 ± 6	45	60 ± 5	59
	XP 10	203 ± 9	31	174 ± 6	41	153 ± 6	48
	XP 11	10 ± 5	97	9 ± 3	97	6 ± 5	98
	XP 12	12 ± 8	92	14 ± 8	91	13 ± 8	91
	XP 13	88 ± 7	70	43 ± 4	86	30 ± 4	90
	XP 14	97 ± 3	34	89 ± 2	40	92 ± 4	38
	XP 15	4 ± 3	97	3 ± 3	98	1 ± 1	99
	XP 16	5 ± 3	98	5 ± 4	98	10 ± 4	97
Plan Compl.	XP 17	94 ± 8	36	68 ± 6	54	54 ± 5	63
	XP 18	205 ± 8	30	167 ± 9	43	162 ± 6	45
	XP 19	15 ± 3	95	12 ± 4	96	7 ± 6	97
	XP 20	32 ± 8	78	22 ± 2	85	11 ± 4	93
	XP 21	200 ± 7	32	159 ± 8	46	146 ± 2	50
	XP 22	57 ± 10	61	39 ± 4	73	30 ± 3	79
	XP 23	8 ± 6	95	9 ± 5	94	10 ± 5	93
	XP 24	17 ± 1	94	4 ± 3	99	6 ± 6	98

### ANNEXE III.b.iv. Plan fractionnaire à sept paramètres : Analyse des résultats

En combinant les résultats obtenus à partir du premier plan fractionnaire à sept paramètres et de son plan complémentaire, l'effet pur de chacun des sept paramètres ( $E_i$ ) peut être séparé des effets des interactions entre deux paramètres ( $E_{ij}$ ).

On note  $\Delta M$ , l'opération suivante avec les taux d'extraction moyens des deux plans d'expériences,  $M$  et  $M'$ , au temps  $t$  :

$$\Delta M = \frac{M - M'}{2}$$

Les tableaux suivants montrent les valeurs de ces diverses grandeurs.

	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	E <sub>6</sub>	E <sub>7</sub>
	V <sub>int</sub> /V <sub>m</sub>	[TBP]	[ECA]	Agitation	V <sub>ext</sub> / V <sub>em</sub>	[Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ] <sub>int,0</sub>	[AG] <sub>ext,0</sub>
2 min 30 s	-2%	26%	6%	5%	-1%	-5%	1%
4 min 30 s	-3%	21%	5%	4%	-1%	-6%	2%
6 min 30 s	-4%	18%	3%	4%	0%	-6%	1%

	ΔM	E <sub>24</sub> + E <sub>36</sub> + E <sub>57</sub>	E <sub>14</sub> + E <sub>35</sub> + E <sub>57</sub>	E <sub>25</sub> + E <sub>47</sub> + E <sub>16</sub>	E <sub>12</sub> + E <sub>56</sub> + E <sub>37</sub>	E <sub>23</sub> + E <sub>46</sub> + E <sub>17</sub>	E <sub>13</sub> + E <sub>45</sub> + E <sub>27</sub>	E <sub>34</sub> + E <sub>15</sub> + E <sub>26</sub>
2 min 30 s	2%	-3%	1%	0%	0%	-3%	1%	4%
4 min 30 s	0%	-4%	1%	1%	1%	-3%	1%	4%
6 min 30 s	0%	-5%	0%	0%	3%	-2%	1%	5%

Les figures suivantes montrent la représentation de Daniels de ces effets en valeur absolue et la droite d'Henry correspondante à des temps d'extraction de 2 min 30 s, de 4 min 30 s et de 6 min 30 s.

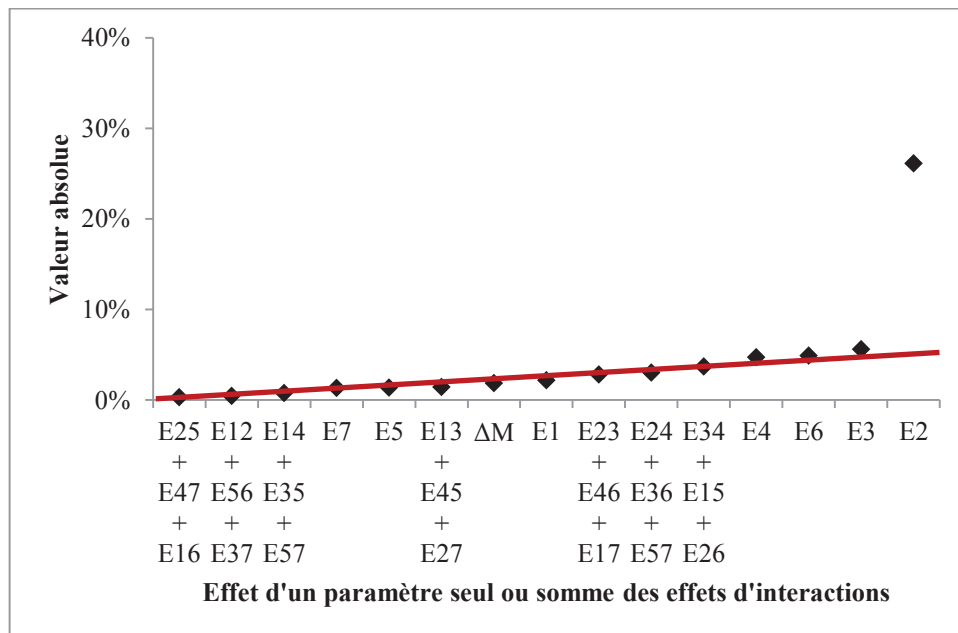


Figure 96 : Représentation de Daniels à t = 2 min 30 s pour l'étude à sept paramètres



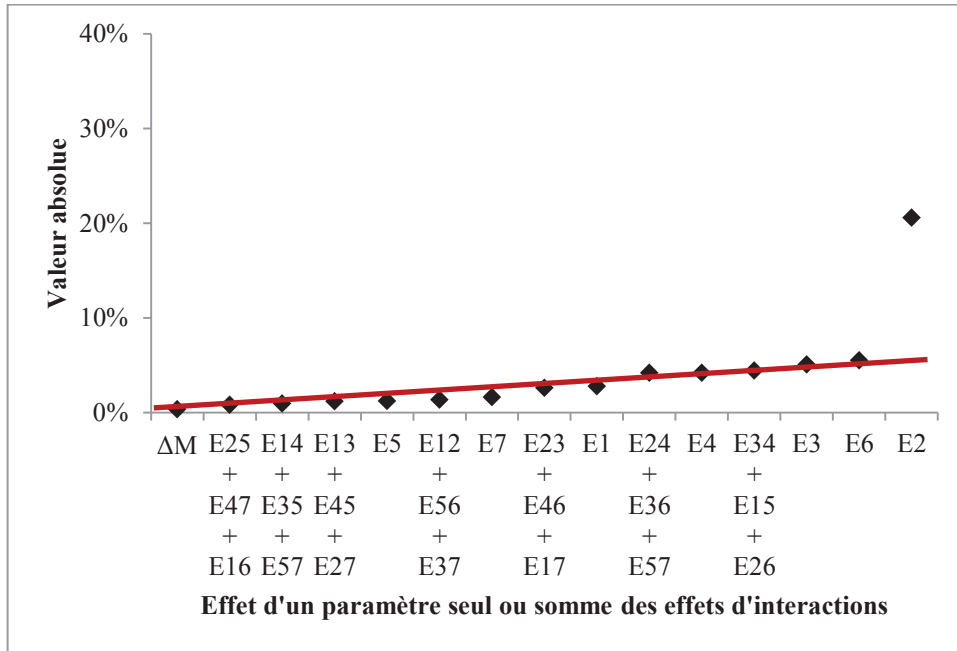


Figure 97 : Représentation de Daniels à t = 4 min 30 s pour l'étude à sept paramètres

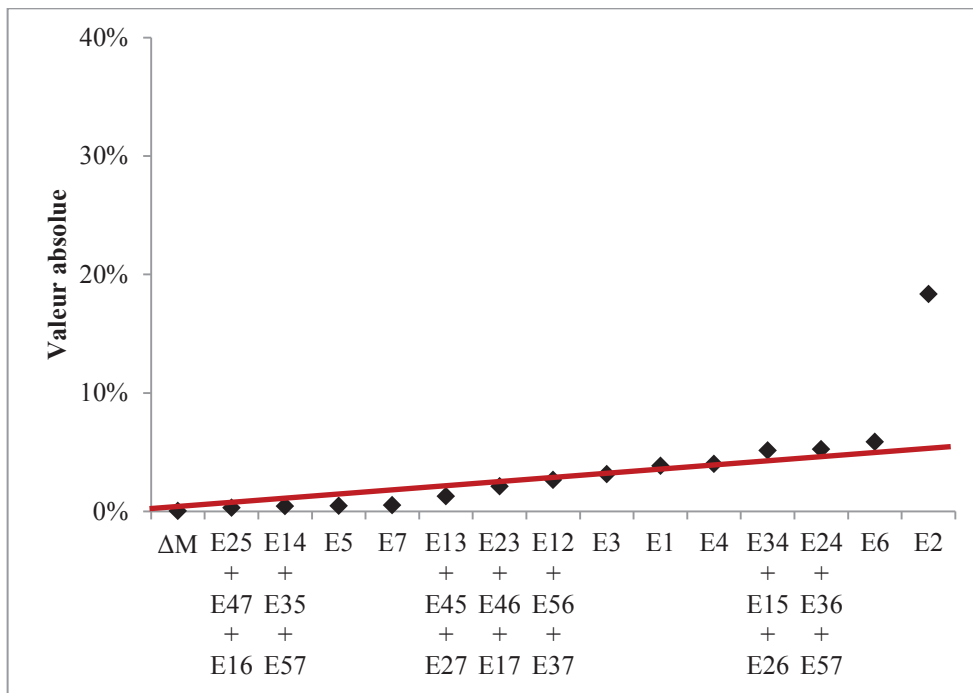


Figure 98 : Représentation de Daniels à t = 6 min 30 s pour l'étude à sept paramètres