



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

136 004046 4

98INPL 031N

[M] 1923 EL'AMA C.

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires
Laboratoire de Physico-chimie et Génie Alimentaires

THESE

présentée à l'I.N.P.L.

par

EL'AMA Claude

pour obtenir le grade de

Docteur de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE
Spécialité : Biotechnologies et Industries Alimentaires

Sujet :

**Contribution à l'étude des interactions entre molécules et matériau-
barrière en filtration hydrophobe de mélanges complexes de triglycérides :
exemple de l'huile de beurre et de différentes huiles végétales.**

Soutenue publiquement le 18 Mai 1998 devant la commission d'examen

JURY

Président :

J. HARDY

Professeur (ENSAIA-INPL, Nancy)

Rapporteurs :

G. GANDEMER

Directeur de Recherches (INRA, Nantes)

J. GRAILLE

Directeur de Recherches (CIRAD, Montpellier)

Examineurs :

J. FANNI

Maître de Conférences (ENSAIA-INPL, Nancy)

M. PARMENTIER

Professeur (ENSAIA-INPL, Nancy)

A ma mère et à mon père

A ma petite sœur Souzy

A mes frères :

Issa, le timide

Tawfic, le doux

et Bassam, le provocateur

je dédie ce modeste travail en témoignage de mon affection.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Physico-chimie et Génie alimentaires de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires sous la direction de Monsieur Michel Parmentier, Professeur de Physico-chimie Alimentaire à l'Institut National Polytechnique de Lorraine et Monsieur Jacques Fanni, Maître de conférences à l'Institut National Polytechnique de Lorraine. Je tiens à leur exprimer toute ma reconnaissance pour la confiance qu'ils m'ont témoignée, pour leurs encouragements, leur bonne humeur, leur enthousiasme.

Je remercie également les autres membres du jury qui ont accepté de juger ce travail, malgré leurs nombreuses charges : Monsieur Joël Hardy, Professeur de Physico-chimie Alimentaire à l'Institut National Polytechnique de Lorraine ; Monsieur Jean Graille, Directeur de recherches au CIRAD, Directeur du laboratoire de lipotechnie du département cultures pérennes (Montpellier) et Monsieur Gilles Gandemer, Directeur de recherches à L'INRA (Nantes).

Que Madame Angèle Colas trouve ici toute ma reconnaissance pour sa disponibilité, ses qualités humaines et l'aide qu'elle m'a apportée pendant ses quatre années passées au laboratoire. Que tous les permanents et chercheurs du laboratoire trouvent ici l'expression de ma reconnaissance pour leur aide et la bonne ambiance du laboratoire. Mes remerciements à Chantal Vernet et Danielle Dubas pour leur humeur et leur soutien.

Mes sincères remerciements à mes deux grands amis Mustapha et Yacouba, je n'oublierai jamais nos pauses café, nos discussions futiles et nos fous rires. Qu'ils trouvent ici toute mon amitié. Mes remerciements à Sandrine pour ses encouragements, son amitié et sa disponibilité même pendant les moments très difficiles.

Mes remerciements vont également à ma famille; ainsi qu'à tous mes amis, qui se reconnaîtront, pour leurs soutien et leur compréhension.

SOMMAIRE

Nomenclature**Introduction générale..... 1****Chapitre I : Revue bibliographique**

I- Structure et composition des triglycérides.....	4
I-1. Introduction.....	4
I-2. Triglycérides	4
I-2.1. Quelques généralités	5
I-2.2. Probabilités d'existence structurale des triglycérides.....	5
I-2.3. Hypothèses et lois de répartition.....	6
I-2.4. Répartition des acides gras sur les triglycérides.....	9
I-3. Composition et propriétés physiques et de la MGLA.....	10
I-3.1. Composition de la matière grasse laitière	11
I-3.2. Propriétés physiques de la matière grasse.....	16
II- Les Mécanismes d'interactions moléculaires en chromatographie liquide à polarité de phase inversée	25
II-1. Chromatographie.....	25
II-1.1. Quelques définitions en chromatographie.....	26
II-2. Les phases stationnaires greffées	27
II-2.1. Silices greffées	28
II-2.2. Autres types de greffage de la silice.....	34
II-2.3. Organisation et structure de la phase stationnaire	34
II-3. La phase mobile	38
II-3.1. Effet du solvant sur la structure de la phase stationnaire	39
II-4. Rétention chromatographique	41
II-4.1. Théorie solvophobe et (ou) hydrophobe	41
II-4.2. Théorie de la dynamique des réseaux moléculaires	45
II-4.3. Autres modèles sur le mécanisme de rétention	51
II-4.4. Rétention des triglycérides en CLHP phase inverse	53
II-4.5. Hydrophobicité et CLHP phase inverse	53
III- Fractionnement membranaire de la matière grasse laitière	55
III-1. Fractionnement par cristallisation de MG fondue	56
III-1.1. Cristallisation de la MGLA	56
III-1.2. Influence des facteurs technologiques sur la cristallisation	56
III-1.3. Caractérisation chimiques des fractions	58
III-1.4. Différenciation physique des fractions.....	60
III-2. Fractionnement membranaire	62
III-2.1. Différentes techniques membranaires	62
III-2.2. La microfiltration	63
III-2.3. Applications des procédés membranaires à l'industrie de corps gras	65
IV- Les forces intermoléculaires et de surface.....	68
IV-1. Classification des différentes forces intermoléculaires	68
IV-2. Les forces intermoléculaires fortes : interactions coulombiennes.....	70
IV-3. La liaison hydrogène	71
IV-4. Les forces de Van der Waals	71
IV-4.1. Les forces de Van der Waals entre molécules polaires.....	72
IV-4.2. La théorie générale des forces de Van der Waals entre les molécules.....	74
IV-4.3. Les différents aspects des forces de Van der Waals.....	74

IV-4.4. Les forces de Van der Waals entre différentes surfaces.....	75
IV-5. La théorie de DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek)	77
IV-6. Les interactions hydrophobes (IH)	77
IV-7. Conclusion.....	79

Chapitre II: Matériels et Méthodes

I- Matières premières	80
I-1. MGLA	80
I-2. Huiles végétales.....	80
I-3. Mélange d'huile.....	80
I-4. Triglycérides.....	80
I-5. Solvants	80
I-6. Lécithines	81
I-7. Silicone SE 30 (Chromapack™)	81
I-8. Silicone SE 52 (Chromapack™)	81
II- Filtration des matières grasses et huiles	82
II-1. Filtration tangentielle	82
II-1.1. Micromodule de filtration tangentielle.....	82
II-1.2. Membranes	83
II-2. Percolation frontale plane.....	84
II-2.1. Module "Amicon™"	84
II-2.2. Matériaux filtrants	84
II-3. Percolation en couche sous pression	87
II-3.1. Supports.....	87
II-4. Percolation sur couche en écoulement libre	89
II-4.1. Supports.....	89
II-4.1.1. Microbilles de verre	89
II-5. Adsorption de MGLA sur différents supports	90
II-5.1. Supports.....	90
II-6. Adsorption des TGs standards sur différents supports.....	91
III- Caractérisation de la MGLA et des ses fractions	92
III-1. Calorimétrie différentielle	92
III-2. Analyse des acides gras.....	93
III-3. Analyse des TGs.....	93
III-3.1. Détection des TGs	93
III-3.2. Identification des TGs	94
III-3.3. Appareillage	97
III-3.4. Reproductibilité de La CLHP :	98
III-4. Calcul de l'indice de non-polarité	100
III-5. Calcul du volume et de l'énergie des différentes molécules de TGs.....	100
III-5.1. Calcul de l'énergie	100
III-5.2. Calcul du volume des molécules optimisées.....	101
IV- Mesure des angles de contact	102

Chapitre III: Résultats et Discussion

I- Composition de la MGLA	104
II- Filtration tangentielle de la MGLA sur module plan	108
II-1. Choix des membranes et des conditions opératoires de la filtration.....	108
II-2. Membrane "DURAPORE" hydrophile	108
II-2.1. Filtration de la MGLA sur une seule membrane.....	109
II-2.2. Filtration de la MGLA sur 5 épaisseurs de membranes	113
II-3. Filtration tangentielle sur une membrane métallique.....	116
II-3.1. Filtration tangentielle sur une membrane métallique seule.....	116
II-3.2. Filtration tangentielle sur une membrane métallique imprégnée avec de phospholipides	118
II-3.3. Evolution du coefficient de performance en fonction de NP pour les différentes membranes métalliques	119
II-3.4. Influence de la nature de la membrane sur l'évolution du SFC.....	120
II-4. Conclusion	122
III- Percolation frontale de MGLA en couche plate épaisse.....	124
III-1. Percolation frontale de la MGLA	124
III-1.1. Essais sur une membrane hydrophobe greffée C18, montée sur module d'ultrafiltration "Amicon" en écoulement libre	124
III-1.2. Essais sur une membrane hydrophobe greffée C18, montée sur le module de laboratoire en écoulement libre	126
III-1.3. Essais sur une membrane hydrophobe greffée C18, montée sur module de laboratoire avec pression motrice	128
III-1.4. Conclusion sur les essais sur membrane hydrophobe greffée C18.....	131
III-2. Percolation frontale de MGLA sur couche d'oxydes métalliques	131
III-2.1. Percolation sur couche d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3), sur module d'ultrafiltration "Amicon" en écoulement libre	131
III-2.2. Percolation sur couche d'oxyde d'aluminium G, sur module d'ultrafiltration "Amicon", en écoulement libre	135
III-2.3. Percolation sur couche d'oxyde d'aluminium, sur module de laboratoire sous faible pression motrice.....	137
III-2.4. Essais sur membrane "DURAPORE", sur module de laboratoire, en écoulement libre	139
III-2.5. Percolation sur couche d'acide silicique ($SiO_2.nH_2O$) sur module de laboratoire avec pression motrice	141
III-2.6. Percolation sur couche d'oxyde de Titane (TiO_2), sur module de laboratoire avec pression motrice.....	142
III-2.7. Percolation sur couche d'oxyde de Zirconium (ZrO_2), sur module de laboratoire en écoulement libre.....	144
III-2.8. Conclusion sur les essais sur les couches d'oxydes métalliques	144
III-3. Percolation frontale d'un mélange d'huile sur différents supports.	145
III-3.1. Essais sur couche d'oxyde d'aluminium, sur le module de laboratoire en écoulement libre	146
III-3.2. Essais sur couche d'acide silicique, sur module de laboratoire avec pression motrice	150
III-3.3. Essais sur couche d'oxyde de titane, sur module de laboratoire avec pression motrice	150
III-3.4. Essais sur couche d'oxyde de zirconium, sur module de laboratoire avec pression motrice	151

III-3.5. Conclusion des essais sur le mélange d'huile	152
IV- Percolation frontale sur colonne, études des éluats et des adsorbats.....	154
IV-1. Etude des éluats obtenus en percolation frontale.....	154
IV-1.1. Percolation de la MGLA sur colonne de microbilles de verre (150-212µm) nues..	154
IV-1.2. Percolation de la MGLA sur couche épaisse de microbilles de verre (150-212µm) avec couche d'imprégnation de silicone SE 30 et SE 52.....	157
IV-2. Etude de la MG résiduelle adsorbée sur un support, après percolation.....	165
IV-2.1. Influence de la nature du support	165
IV-2.2. Influence de la composition de l'huile (huile formulée).....	178
IV-2.3. Influence de la température	180
IV-2.4. Influence de la composition triglycéridique en percolation sur divers supports hydrophiles.	195
V- Interprétation : modèle de calcul de l'hydrophobicité	198
V-1. Calcul de la HLB	198
V-2. Calcul de rapport PM/NP.....	200
V-3. Poids moléculaire des TGs.....	201
V-4. Indice de non-polarité (INP)	202
V-4.1. INP en fonction de N° de pic	203
V-4.2. INP en fonction de NP	204
V-4.3. INP en fonction de PM.....	205
V-4.4. INP en fonction de NC total.....	206
V-5. Hydrophobicité apparente (HA)	206
V-6. Prise en compte du volume des TGs.....	209
V-6.1. En fonction de NP	209
V-6.2. En fonction de l'insaturation.....	215
V-6.2.1. TGs saturés	215
V-6.2.2. TGs tri-insaturés	219
V-7. Conclusion	220
Conclusion générale.....	221
Références bibliographiques.....	225
Annexes.....	248

NOMENCLATURE

ACE	: acétone
ACN	: acétonitile
AG	: acides gras
As	: surface spécifique entre les courbes SFC perméat et rétentat
BPF	: bas point de fusion
CLHP	: Chromatographie liquide haute performance
ΔA	: Surface de contact entre la MGLA et le support
DDL	: détecteur à diffusion de lumière
$\Delta\mu^\circ$: variation du potentiel chimique
ε	: constante diélectrique
ECN	: nombre équivalent de carbone
ETOH	: éthanol
ϕ	: rapport de phase fixe sur phase mobile
γ	: tension superficielle
HA	: hydrophobicité apparente
Hex.	: hexane
HPF	: Haut point de fusion
HPLC	: high performance liquid chromatography
IH	: interaction hydrophobe
INP	: indice de non polarité
IR	: Indice de réfraction
K'	: capacité de rétention
K	: coefficient de partage
mcol	: masse de la phase stationnaire et des tubulaires
MF	: microfiltration
MG	: matière grasse
MGLA	: matière grasse laitière anhydre
MPF	: moyen point de fusion
nc, (NC)	: nombre de carbone

ND	: nombre de doubles liaisons
NP	: nombre de partition
PF	: point de fusion
PM	: poids moléculaire
Poct	: coefficient de partition eau/n-octanol
SFC	: solid fat content (Taux de solide)
sn	: numérotation stéréospécifique
TCN	: nombre théorique de carbones
TGs	: triglycérides
THF	: tétrahydrofurane
T _R	: temps de rétention
UF	: ultrafiltration
V ₀	: volume mort
vdw	: Van der Waals
V _m	: volume de la phase mobile
V _R	: volume de rétention
V _s	: volume de la phase stationnaire

INTRODUCTION

Le peu d'engouement des chercheurs pour le domaine des matières grasses et des huiles, tient à deux causes principales. La première est sans aucun doute que depuis longtemps, la composition et les propriétés physico-chimiques de ces produits sont connues, et ils ne montrent pas -apparemment- la même multivariété que d'autres constituants de nos aliments. La deuxième tient au fait évident que les matières grasses présentent de nombreuses difficultés de manipulation. Par ailleurs, on les dit responsables de tous les maux liés à notre alimentation : obésité, troubles cardio-vasculaires, excès de cholestérol... Pourtant, c'est en les manipulant que l'on se rend compte des difficultés considérables que présente leur étude en général, et tout particulièrement dans le cas des triglycérides de la MGLA. Ce sont des molécules dont la polydispersivité massique est très faible, entre 600 et 1000 daltons : il est donc très difficile de les séparer par tamisage moléculaire.

Ce sont aussi des molécules neutres électriquement, impossibles à séparer selon leur charge. Elles possèdent de plus un polymorphisme stéréochimique complexe, en raison du nombre de combinaisons possibles sur le squelette du glycérol, ce qui leur confère des propriétés physiques très particulières. Enfin, en liaison directe avec ces propriétés physiques, tous ces lipides sont solubles entre eux à haute température, ou partiellement solubles à des températures plus basses, et les diagrammes de phases en fonction de la température n'ont été élucidés que pour des mélanges au plus ternaires. Ces données ne permettent en aucun cas de traiter le problème des graisses naturelles, mélanges infiniment plus complexes.

Ce travail fait suite aux études réalisées au Laboratoire de Physico-chimie et Génie Alimentaires de l'ENSAIA par Bornaz, 1994, sur le fractionnement membranaire de la matière grasse laitière anhydre en l'absence de solvant, études poursuivies par Diagana (1997) sur la faisabilité industrielle du procédé qui en est issu. L'interprétation du phénomène de partition hydrophobe n'a fait pour l'instant que l'objet d'hypothèses. On comprend qu'étant donné la composition de la matière grasse en général et de la MGLA en particulier, la compréhension des interactions est un problème ardu, mais auquel on ne peut échapper pour optimiser le procédé de fractionnement, car la composition triglycéridique de la MGLA détermine ses propriétés chimiques et physiques. Notre objectif est donc de contribuer à la compréhension des mécanismes d'interaction en milieu hydrophobe entre particules et membranes, le matériau membranaire étant pris au sens très large de *milieu poreux générant une partition des TGs*.

Ce mémoire compte une importante partie bibliographique qui se propose de faire le point sur les connaissances actuelles relatives à la structure des triglycérides, tout

particulièrement sur ceux de la MGLA. Dans cette partie sont abordées également les théories de la chromatographie liquide faisant intervenir l'hydrodynamique des particules dans un milieu poreux, ainsi que les interactions multiples qui se manifestent entre particules et matériau filtrant (force de Van der Waals, interactions polaires, hydrophobes, interactions électrostatiques, effets stériques, ...)

Dans le chapitre Matériels et Méthodes, nous avons précisé dans quelles conditions nous avons simplifié les montages expérimentaux, dans le but de faciliter l'interprétation des résultats, en ne tenant compte que des interactions matériau-molécules, sans y introduire les biais de montages eux-mêmes compliqués, comme la filtration tangentielle, qui pourtant restera la seule applicable industriellement -ce qui n'est pas notre problème ici.

La partie Résultats et Discussion a été structurée de la façon suivante : tout d'abord, face à la complexité du problème, il était nécessaire de reprendre la détermination de la composition triglycéridique de la MGLA par CLHP en phase inversée. Nous avons également repris l'étude de la partition des TGs de la MGLA par filtration sur micromodule plan avec différents types des membranes et différentes conditions expérimentales. Devant la difficulté de progresser avec un montage tangentiel, nous avons décidé d'utiliser une configuration simple : la filtration frontale, qui de plus, permettait de se rapprocher de conditions dans lesquelles les théories de la rétention en chromatographie liquide peuvent s'appliquer.

Par ailleurs, la MGLA est un modèle de mélange de TGs qui a ses avantages (grande diversité des molécules, aussi bien en terme de longueur de chaînes carbonées que d'insaturation), mais aussi des inconvénients et tout particulièrement la complexité de l'analyse. D'autres huiles ont été utilisées pour cette raison : filtration de mélange de TGs purs, (essais limités par le prix de revient de ces produits), ou d'huiles ou de mélanges d'huiles végétales bon marché, dont les propriétés spécifiques de composition ont été utilisées pour mieux comprendre les interactions entre TGs et matériaux support ou membranes.

Compte tenu des résultats obtenus sur ces différents matériaux poreux, nous avons tenté de dégager les principes d'une interaction de nature hydrophobe en nous inspirant des mécanismes qui prévalent en chromatographie liquide. A ceci près que dans la théorie habituelle, on traite de solutés et de solvants, alors que ces systèmes solutés-solvants n'existent pas en filtration de matière grasse liquide : on peut considérer que la matière grasse est elle-même le solvant de ses propres constituants.

Pour parvenir à une meilleure compréhension, nous avons développé une nouvelle approche de la notion d'hydrophobicité, ou plutôt de non-polarité, puis nous y avons incorporé des éléments de volumine et d'énergie en utilisant un logiciel de simulation de structure.

Enfin, dans une conclusion générale qui nous permet d'ouvrir les perspectives de ce travail, nous dégageons les principaux facteurs qui, dans les conditions de cette étude, sont influents sur les interactions triglycérides - support qui régissent la séparation membranaire dans de tels milieux.

CHAPITRE I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Structure et composition des triglycérides

I-1. Introduction

En dehors des lipides polaires (phospholipides, cérebrosides, etc...) et de l'insaponifiable (stérols), la matière grasse est constituée d'un mélange de glycérides, essentiellement des triglycérides (TGs). Le nombre élevé d'acides gras (AGs) ainsi que leurs multiples combinaisons avec le glycérol font de la matière grasse un mélange extrêmement complexe. Ceci est particulièrement vrai pour les matières grasses d'origine animale, comme le beurre par exemple. En outre, de nombreux facteurs influencent la composition en acides gras et la structure des triglycérides d'une huile ou de la matière grasse "naturelle" (non modifiée par des traitements technologiques). Dans le règne végétal, ce sont des facteurs aussi divers que le climat, le type de sol, la géographie et la maturité de la plante qui interviennent dans la composition de l'huile. Dans le règne animal, la composition de la matière grasse varie selon l'espèce, l'alimentation, la santé et l'environnement de l'animal (Bornaz, 1994). Ainsi, pour caractériser une matière grasse, il faut non seulement déterminer sa composition chimique (triglycérides, acides gras et autres composants mineurs), mais également ses propriétés physiques et comprendre leur interdépendance.

I-2. Triglycérides

L'étude des caractéristiques physico-chimiques des TGs est capitale. De manière générale, on étudie les propriétés rhéologiques, la cristallisation, ainsi que le point de fusion et le profil thermique.

Nous nous intéresserons ici plus particulièrement à la matière grasse de lait anhydre. Le beurre que l'on obtient après barattage de la crème est une émulsion du type eau dans l'huile. Cette émulsion est constituée de 82 % minimum de matière grasse et de 16% d'eau au maximum. La matière grasse de lait anhydre (MGLA), qui peut être obtenue industriellement selon différents procédés, est essentiellement composée de triglycérides (96 %), de diglycérides (2 à 3 %) et comporte quelques traces de monoglycérides, ainsi que quelques autres composés liposolubles.

I-2.1. Quelques généralités

Les triglycérides sont des triesters d'acides gras et de glycérol (fig. I-1). Le tableau I-1 indique les abréviations couramment utilisées de ces acides gras. Quand le glycérol est lié à trois molécules d'un même AG, le TG formé est dit **homogène**. Mais si deux AGs sont identiques alors que le troisième est différent ($R_1 = R_2 \neq R_3$), où si les trois sont différents ($R_1 \neq R_2$, $R_1 \neq R_3$, $R_2 \neq R_3$), les TGs sont dits **mixtes**. La présence de deux types d'AGs induit la présence de deux isomères de position, soit l'isomère 1-2 (TG asymétrique), soit l'isomère 1-3 (TG symétrique), que l'on peut représenter respectivement par $R_1 R_1 R_3$ ou $R_1 R_2 R_1$. Avec trois AGs différents, il y aura trois isomères de position $R_1 R_2 R_3$, $R_1 R_3 R_2$ et $R_2 R_1 R_3$, chacun dédoublé en deux stéréoisomères.

Pour la majorité des huiles et des matières grasses, les TGs ont les caractéristiques suivantes: les AGs ne sont pas ramifiés, le nombre de carbones est pair, à quelques exceptions près et les doubles-liaisons sont en configuration *cis*.

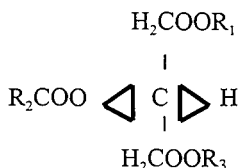


Figure I-1 Formule générale d'une molécule de triglycéride. (R_1 , R_2 , R_3 : chaînes hydrocarbonées).

I-2.2. Probabilités d'existence structurale des triglycérides

La détermination de la structure glycéridique d'un corps gras est très complexe (Mattil et Norris, 1947). Ainsi, pour un nombre donné d'AGs (n), on peut calculer le nombre possible de TGs

1- Sans considération des isomères de position

$$N1 = \frac{(n^3 + 3n^2 + 2n)}{6} \quad (\text{I-1})$$

2- En considérant les isomères de position

$$N2 = \frac{(n^3 + n^2)}{2} \quad (\text{I-2})$$

3- En considérant tous les isomères (même optiques)

$$N_3 = n^3 \quad (I-3)$$

Ces probabilités font apparaître la complexité d'une matière grasse ou d'une huile en raison du nombre très élevé de TGs possibles (Tableau I-2).

Tableau I-1 Abréviations des principaux acides gras (AGs), poids moléculaires (PM) et points de fusion (PF) de triglycérides homogènes.

AGs	NC	Abréviation	PM	PF (°C)
Butyrique	4	Bu	88	-8,0
Caproïque	6	Co	116	-3,4
Caprylique	8	Cy	144	16,7
Caprique	10	C	172	31,6
Laurique	12	La	200	44,2
Myristique	16	My	228	54,4
Palmitique	16	P	256	62,9
Palmitoléique	16:1 cis	Po	254	0,5
Stéarique	18	S	284	69,6
Oléique	18:1 cis	O	282	16,3
Linoléique	18:2 cis	L	280	-5,0
Linoléinique	18:3 cis	Ln	278	-11,0

Tableau I-2 Les probabilités théoriques d'existence des TGs (N) en fonction du nombre d'acides gras (n) présents.

Nombre d'AGs n	Nombre de TGs		
	N ₁	N ₂	N ₃
1	1	1	1
2	4	6	8
3	10	18	27
4	20	40	64
5	35	75	125
10	220	550	1000
13	455	394	2197

I-2.3. Hypothèses et lois de répartition.

La variété des huiles et MGs dans la nature et l'apparition de changements subtils de composition liés à l'environnement indiquent que la structure des TGs n'est pas régie par des lois simples. Toutes les théories s'intéressant à leur composition sont fondées sur le fait que les corps gras naturels sont composés en majeure partie de triglycérides mixtes.

I-2.3.1. Répartition régulière

La théorie de la répartition régulière résulte d'une étude datant de 1927 (Mattil et Norris, 1947 ; Hilditch, 1949). Selon cette théorie, les AGs dans les corps gras naturels tendent à se distribuer le plus largement possible sur les molécules des TGs:

- 1- Lorsqu'un acide gras (A) constitue à peu près 35 % des AGs totaux (A+X), l'acide gras A va apparaître au moins une fois (AX₂), pratiquement dans tous les TGs du corps gras en question.
- 2- Si le pourcentage d'acide gras (A) est compris entre 35 % et 65 % des AGs totaux, des TGs mixtes avec 2 AGs se formeront (A₂X) dans n'importe quel TG.
- 3- Si l'acide gras (A) constitue 70 % et plus, les AGs restants (X) peuvent former des TGs mixtes (A₂X), l'excès de (A) apparaissant comme un triglycéride simple (AAA).
- 4- Si l'acide gras A constitue 15 % ou moins du total, il n'apparaîtra pas plus d'une fois dans la molécule de TG (AXX), il peut aussi ne pas apparaître.

Cependant, cette théorie séduisante n'est pas généralisable à toutes les huiles végétales et surtout, elle ne tient pas compte des isomères de position.

I-2.3.2. Répartition au hasard (1-random, 2-random, 3-random)

Les AGs sont distribués séparément sur les positions sn1, sn2 et sn3 du glycérol et chaque AG est distribué au hasard (Mattil et Norris, 1947 ; Daubert, 1949). La quantité de chaque composé triglycéridique peut être calculée selon :

$$\% \text{sn-XYZ} = (\% \text{ X mole en sn1}) \times (\% \text{ Y mole en sn2}) \times (\% \text{ Z en sn3}) \times 10^{-4} \quad (\text{I-4})$$

Ce qui se traduit par les équations suivantes:

$$\% \text{ TG aaa} = A \times A \times A \times 10^{-4} \quad (\text{I-5})$$

$$\% \text{ TG aab} = A \times A \times B \times 3 \times 10^{-4} \quad (\text{I-6})$$

$$\% \text{ TG abc} = A \times B \times C \times 6 \times 10^{-4} \quad (\text{I-7})$$

A, B, C sont les pourcentages molaires des AGs a, b, c.

Si P1 ≠ P3 ou O1 ≠ O3, alors les énantiomères sn-PPO et OPP vont être présents en quantités inégales dans cette distribution.

Pour réaliser la distribution au hasard (1-random, 2-random, 3-random), il est nécessaire de disposer des résultats des analyses stéréospécifiques sur la composition des AGs en position sn1, sn2 et sn3 de TGs naturels. Cette théorie permet de décrire la composition

triglycéridique des graisses d'animaux en adipose (animaux maintenus en régime alimentaire riche et constant pendant 4 à 6 mois). Elle est valable pour plusieurs huiles (soja, arachide, colza, maïs, olive; ...), cependant, les résultats obtenus par HPLC indiquent une différence avec la théorie de la distribution au hasard. Les huiles montrent une distribution génétique des AGs ou préférentiellement contrôlée. La seule exception concerne l'huile de tournesol qui suit apparemment une distribution statistique des AGs (Zeitoun *et al.*, 1991).

I-2.3.3. Statistique interne - statistique externe

La méthode proposée par Van der Wal (1960) et Coleman (1961) est basée sur la composition totale en AGs et sur celle des AGs placés en position sn2, déterminées au moyen d'une lipase pancréatique. Il s'agit d'un cas particulier de "Distribution Statistique par Position". Cette théorie suppose que deux groupes différents d'acides gras sont distribués séparément et au hasard sur les positions 1, 3 et sur la position 2 de la molécule de glycérol. Les positions 1 et 3 sont équivalentes et sont occupées par des types et des proportions d'AGs identiques, également distribués au hasard. La théorie de la statistique interne-externe se calcule au moyen des équations suivantes:

$$X_1 = X_2, Y_1 = Y_3, Z_1 = Z_2 \quad (I-8)$$

$$\% \text{ sn XYZ} = (\% X \text{ en sn-1,3}) \times (\% Y \text{ en sn-2}) \times (\% Z \text{ en sn-1,3}) \times 10^{-4} \quad (I-9)$$

Une autre méthode de calcul de statistique interne-externe a été proposée par Gunstone (1962). Selon cet auteur, la position sn2 du glycérol est occupée préférentiellement par un C18 insaturé et les positions sn1,3 par les AGs restants, ainsi que par les autres C18 insaturés. La distribution sur chaque position est statistique. Les calculs font apparaître les résultats suivants:

%S	S ₃	S ₂ U	SU ₂	U ₃
< 33 1/3	0	(3S/20) ²	3S(3U-100) / 200	((3U-100) / 20) ²
33 1/3 - 66 2/3				
> 66 2/3	100 - 3U	3U	0	0

S, acides gras saturés; U, acides gras insaturés

Dès 1965, Perkins et Hanson ont développé un programme informatique pour calculer la structure des TGs et comparer les différentes méthodes théoriques de distribution. La théorie dite de la statistique externe/interne (méthode originale de Vander Wal) et la distribution au hasard de Gunstone donnent une bonne approximation, mais la dernière

diverge quand on veut comparer des formes isomères. Cette méthode se révèle valable pour la prédiction de la composition des huiles de graines contenant des acides gras courants (C16, C18, C18:1, C18:2, C18:3), à condition que les isomères optiques ne soient pas différenciés. Selon Blank et Privett (1966), cette hypothèse ne peut être utilisée pour tous les corps gras. Par exemple, elle est valable pour l'huile de maïs et l'huile du coton, mais pas pour le beurre de cacao. Il existe également une grande divergence entre les résultats expérimentaux et les calculs théoriques pour les corps gras animaux. Jurien et Kroesen (1965) ont confirmé la justesse de la théorie de Vander Wal sur la distribution des AGs dans les TGs des corps gras végétaux. Mais selon Perrin *et al.* (1987), la biosynthèse de l'huile de pépins de cassis est sélective et n'obéit pas aux lois statistiques.

I-2.3.4. Autres hypothèses de distribution au hasard

Plusieurs hypothèses ont été proposées au cours des dernières décennies pour calculer la distribution des acides gras sur la molécule de glycérol, mais elles ont été progressivement abandonnées. Certaines ne sont plus utilisées parce qu'elles ne différencient que les acides gras saturés et insaturés, d'autres parce qu'elles ne prennent pas en considération les isomères de position. On peut citer la théorie de distribution statistique au hasard restreinte de Kartha (1953 I, II) et celle de Longenecker (1941), modifiée par Mattil et Morris (1947).

I-2.4. Répartition des acides gras sur les triglycérides

Dans les TGs naturels, la position sn2 est préférentiellement occupée par des chaînes grasses insaturées, avec un ordre prioritaire: l'acide linoléique est suivi de l'acide oléique, puis de l'acide linolénique. L'acylation préférentielle est quasi absolue pour les huiles de graines oléagineuses, elle est un peu moins nette pour les graisses d'origine animale. Cette règle n'apparaît pas chez les végétaux et les animaux supérieurs, avec une exception: dans le suif, la position sn2 est préférentiellement occupée par l'acide palmitique (Mattson et Lutton (1958). Selon Savary *et al.* (1958), les TGs végétaux ou animaux ne suivent pas de distribution au hasard, la position occupée par les AGs dépendant de la longueur des chaînes dans le cas des AGs saturés et du degré d'insaturation pour les TGs insaturés. Pour les huiles végétales, les AGs saturés sont principalement en position 1 et 3 et les insaturés sont en position 2. Cette règle est moins stricte dans le cas des corps gras animaux. Dans les huiles de poisson, les acides gras saturés sont prépondérants en position sn2, mais cette prépondérance est limitée par celle des acides polyinsaturés à 20 et 22 carbones ((n-3) (n-6)). Dans les huiles végétales

et les graisses animales, la répartition de chaque acide entre les positions 1 et 3 est différente, ce qui laisse supposer la formation préférentielle de l'un des deux isomères optiquement actifs possibles. Cette formation préférentielle paraît plus nette dans les graisses animales que dans les huiles végétales.

I-2.4.1. Cas particulier: la répartition des triglycérides du lait

Selon Gresti *et al.* (1993), la distribution des AGs dans la MG laitière n'est pas due au hasard, mais aux propriétés spécifiques des acyltransférases dans la glande mammaire des ruminants. La voie principale de biosynthèse des TGs est celle du sn-glycerol-3-phosphate et de l'acétylcoenzyme A longue chaîne (palmitoyl-coenzyme A, en particulier). Taylor et Hawke (1983) ont montré que dans la matière grasse laitière anhydre (MGLA), l'acide butyrique et l'acide caproïque sont presque totalement estérifiés en sn3, alors que l'acide palmitique est en sn1 et sn2. L'acide stéarique et l'acide oléique sont répartis en fonction du poids moléculaire des triglycérides. Pour des TGs à haut poids moléculaire, ces deux AGs sont estérifiés préférentiellement en position 1 et 3, alors que pour des TGs à bas poids moléculaire, ils le seront seulement en position 1. Pour Maniongui *et al.* (1991), il existe une grande différence entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées au hasard dans les MGs naturelles (Bugaut *et al.*, 1979, Bugaut, 1989, Kalo *et al.*, 1989 a, b, Kalo, 1986, 1990). En outre, l'acide butyrique dans la MGLA est spécifiquement estérifié en position sn3 et non pas distribué au hasard.

I-3. Composition et propriétés physiques et de la MGLA

La matière grasse laitière anhydre est considérée comme le plus complexe des corps gras, en raison du grand nombre d'acides gras que l'on y rencontre et de leurs multiples possibilités de distribution sur la molécule de glycérol. Nous ne reviendrons pas ici sur la composition des globules gras du lait sécrété dans les glandes mammaires. On se reportera avantageusement aux travaux de King (1955a, b) ; Walstra (1983) ; Jensen et Clark (1988) ; Precht (1988) ; Jensen *et al.* (1991).

Les triglycérides constituent 98 % de la MGLA et jusqu'à 99,3 % dans ce que l'on appelle communément l'huile du beurre (Bassette et Acosta, 1988). La MGLA est une matière première très variable et sa composition chimique est influencée par de nombreux facteurs tels que la saison, la lactation, le régime alimentaire, la race, l'âge de la vache, etc... (Norris *et al.*, 1973 ; Parodi, 1974 ; Christie, 1979 ; Amer *et al.*, 1985 ; Bornaz *et al.*, 1992 ; Banks, 1991a)

I-3.1. Composition de la matière grasse laitière

La matière grasse laitière étant particulièrement complexe, sa composition triglycéridique n'est pas entièrement connue.

I-3.1.1. Composition en acides gras

La composition en acides gras joue un rôle très important sur la fonctionnalité et les propriétés physiques de la MGLA.

Celle-ci est caractérisée par un grand nombre d'AGs différents. Plus de 400 ont été identifiés, mais seulement 10 à 20 constituent 90 % de la totalité (Jensen et Clark, 1988, Sonntag, 1979b). Selon Banks (1991b) et Gresti *et al.* (1993), il y aurait 15 AGs majeurs: huit saturés (C4:0 à C18:0), trois mono-insaturés (C14:1 à C18:1), un di-insaturé (C18:2), un tri-insaturé (C18:3) et deux acides gras impairs saturés (C15:0 et C17). En considérant seulement 14 AGs, leur estérification sur la molécule de glycérol pourrait théoriquement générer 560 TGs différents (Maniongui *et al.*, 1991). Cependant, comme on l'a vu plus haut, il existe un certain déterminisme dans la distribution des AGs sur le glycérol. (Tableau I-3)

La MG du beurre contient environ 70 % d'acides gras saturés courts ou longs, 27% de mono-insaturés et environ 3 % de polyéniques (Kuzdal-Savoie, 1984; Banks, 1991b). Il faut ajouter que la composition en AGs varie peu selon les races et les espèces et beaucoup plus selon l'époque de la lactation (Parodi, 1974 ; Christie, 1979 ; Taylor et Hawke, 1983), la saison (Norris *et al.*, 1973 ; Sonntag, 1979a ; Bornaz *et al.*, 1992) et le régime alimentaire (Steele et Moore, 1968 ; Banks *et al.*, 1976a ; Baer, 1991 ; Grummer, 1991). D'après le tableau I-3, on peut observer que les AGs majeurs sont l'acide palmitique (C16:0) et l'acide oléique (C18:1) (20 à 30 %). La série C4:0 à C10:0 compte pour un peu plus de 10 %, les C12:0 et C14:0 y contribuent pour 10 à 20%.

On sait analyser depuis longtemps la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse de leurs esters méthyliques, mais des esters butyliques sont également utilisés pour quantifier les AGs courts tels que l'acide butyrique (Maniongui *et al.*, 1991).

Tableau I-3 Abréviations des principaux acides gras, pourcentages du poids total (D'après les travaux de Wolff (1968) ; Deroanne (1976); Alais, 1984 ; Fouad *et al.* (1990) ; Chambon (1992) ; Breitschuch et Windhab (1996))

Catégorie	Nombre d'atomes de carbone	% du poids total
Acides gras saturés	C4:0	1,4 à 5,1
	C6:0	1,1 à 3,1
	C8:0	0,9 à 2,1
	C10:0	2,1 à 3,9
	C12:0	2,4 à 4,3
	C13:0	0,1 à 0,3
	C14:0	8,2 à 14,5
	C15:0	1,1 à 1,8
	C16:0	22 à 37,5
	C17:0	0,5 à 0,7
	C18:0	6,6 à 14
	C20:0	0 à 0,3
Acides gras mono-insaturés	10:1	0,2 à 0,5
	12:1	0,3 à 0,4
	14:1	0,4 à 2
	15:1	0,5 à 0,2
	16:1	1,11 à 2,8
	17:1	0,3 à 0,6
Acides gras mono-insaturés	18:1	16,2 à 34,5
Acides gras di-insaturés	18:2	1,3 à 2,9
Acides gras tri-insaturés	18:3	0,54 à 4,8

I-3.1.2. Composition en triglycérides

En raison des combinaisons possibles, le nombre théorique de triglycérides avoisine 400³ (Jensen *et al.*, 1991). En conséquence l'analyse structurale détaillée de la composition triglycéridique est très difficile. De plus, il faut noter que c'est la composition triglycéridique de la MGLA qui semble avoir le plus d'influence sur les propriétés physiques et non pas la composition en AGs. Depuis quelques années, les techniques d'étude de la composition

glycéridique par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) se sont beaucoup améliorées. En effet, contrairement à la chromatographie en phase gazeuse (CPG) qui considère seulement le nombre de carbones, cette technique prend en compte et simultanément, deux facteurs : le nombre de carbones (nc) et le nombre de doubles liaisons (ND). (Annexe 1 présente différents travaux analytiques des TGs de différents corps gras et huiles par CLHP).

La détermination des TGs est intéressante à plus d'un titre :

- Les enzymes lipolytiques sont directement influencées par la structure des TGs. Par conséquent, la connaissance de cette structure permet une meilleure approche de la formulation des MG entrant, par exemple, dans les laits infantiles maternisés.
- La structure des TGs est responsable du comportement de fusion et de cristallisation, ainsi que des propriétés rhéologiques de la matière grasse.
- Il est possible de déterminer l'origine de la MG entrant dans la composition du lait et détecter ainsi une altération possible.

Plusieurs équipes ont essayé de déterminer la composition triglycéridique de la MGLA par chromatographie. Barron *et al.*, (1990), ont analysé la MGLA par CLHP en phase inverse et CPG et ont déterminé les proportions de 116 espèces moléculaires de TGs par la distribution au hasard des AGs. Ces auteurs ont considéré que les espèces moléculaires les plus probables sont celles ayant des pourcentages relativement importants (>0,1 %). Seules 157 espèces ont été prises en considération, dont 38 % contiennent des AGs à courte chaîne (C4, C6), 82 % des AGs à chaîne moyenne (C8 - C14) et 91 % des AGs à longue chaîne (C16 - C18). Les AGs tri-insaturés apparaissent dans 43 % du nombre total d'espèces identifiées, les mono-insaturés dans 31 %, les di-insaturés dans 12 % et les poly-insaturés dans 14 %. Maniongui *et al.*, (1991) et Gresti *et al.*, (1993) ont étudié la composition de la matière grasse bovine par combinaison de CLHP-phase inverse et CPG. Gresti *et al.*, (1993), présentent la composition très précise de 223 espèces triglycéridiques à nombre pair d'atomes de carbones variant de C4:0 à C20:0.

Ces auteurs observent l'absence d'une espèce triglycéridique prédominante. De plus, aucun acide gras ne s'accumule significativement dans les espèces triglycéridiques majeures. On peut remarquer que les trois TGs majeurs de la MGLA contiennent de l'acide butyrique : C4:0 C16:0 C18:1 (4,2 %), C4:0 C16:0 C16:0 (3,2 %) et C4:0 C14:0 C16:0 (3,1 %). L'acide butyrique est normalement en position sn3. Toujours d'après Gresti *et al.*, (1993), la matière grasse du lait de vache est composée à 56 % de TGs non homogènes ; les AGs à courte chaîne

sont limités à un par molécule ; les TGs saturés simples à longue chaîne sont seulement présents à raison de 0,4 %, ainsi que les TGs saturés longs non homogènes, présents à raison de 2,9 %. La proportion de TGs possédant un AG court associé à 2 AGs longs est égale à 36 % du total. En outre, les neufs principaux TGs (24,7 %) contiennent tous au moins un acide palmitique.

Les résultats de Gresti *et al.*, 1993, montrent que la composition triglycéridique de la MGLA ne suit pas une distribution au hasard, mais au contraire, que les AGs sont distribués de manière préférentielle sur le glycérol.

Cependant, Barron *et al.*, (1990) considèrent, malgré la grande différence existant entre la distribution au hasard des TGs et les résultats expérimentaux, que la distribution au hasard peut fournir au niveau qualitatif des informations importantes pour la prédiction des espèces moléculaires. Enfin, selon Bornaz *et al.* (1992), la distribution au hasard peut être utilisée pour identifier les effets saisonniers sur les variations de composition en TGs et, surtout, pour prédire les composés triglycéridiques présentant la contribution la plus importante intervenant dans les variations saisonnières et régionales. A cet effet, Bornaz *et al.* (1992) ont étudié la composition triglycéridique du beurre d'été et d'hiver pour déterminer les principaux TGs responsables des variations saisonnières. Quatre groupes de TGs ont été identifiés: POO, MyOO, CLaO + CyMyO + CoPO + BuSO, BuPO + CoMyO + CoPL

Un travail récent sur la composition triglycéridique de la MGLA a été effectué par Ruiz-Sala *et al.* (1996) en utilisant la CLHP-phase inverse couplée à un détecteur à diffusion de lumière (DDL) et un gradient d'élution, le tout associé à un chromatographe en phase gazeuse. Dix-neufs AGs ont été utilisés pour la prédiction des espèces triglycéridiques ; 181 TGs ont été identifiés, dont 79 sont des saturés, 44 des mono-insaturés et 48 des polyinsaturés. La majorité des TGs insaturés contiennent un seul AG insaturé ; 41 contiennent 2 AGs insaturés et seulement 5 possèdent 3 AGs insaturés. Certains TGs identifiés par d'autres chercheurs n'ont pas été retrouvés par ces auteurs parce que la méthode d'identification des TGs n'est pas seulement basée sur l'estimation du nombre équivalent de carbones (Equivalent Carbon Number, ECN), mais aussi sur l'analyse des AGs de chaque fraction triglycéridique. Ainsi, alors que Bornaz *et al.* (1992) trouvent 26 espèces moléculaires contenant l'acide linoléique, Ruiz-Sala *et al.* (1996) n'en retrouvent que neuf.

L'ensemble de ces résultats montre encore une fois la complexité de la MGLA, avec des résultats de composition triglycéridique très variables (Tableau I-4) selon la méthode d'analyse et les différentes conditions expérimentales utilisées.

Tableau I-4 Composition de quelques TGs principaux de la MGLA d'après Gresti *et al.* (1993) et Ruiz-Sala *et al.* (1996).

TGs	Gresti <i>et al.</i> , 1993	Ruiz-Sala <i>et al.</i> , 1996
	Exp. (% mole)	Exp. (% pics)
BuMM, BuLaP	1,30	1,22
CoLaO	0,00	1,66
CCM	0,00	1,13
CoLaP, CoMM	0,93	1,89
CoCS, BuMP, BuLaS	4,42	3,02
CoPl, CoMO	0,12	1,01
BuPO	4,17	2,75
CoMP, CCP, BuPP, BuMS	8,10	1,53
LaLaLa	0,11	5,30
CoPO, BuSO	3,60	3,28
CyMP, CoPP, BuPS	4,47	3,81
CyOO	0,24	2,71
CMO	0,115	1,91
CyPO, CMM	0,45	2,13
LaLaP, LaMM, CMP, CLaS,	2,49	1,63
CoPS, BuSS	1,66	3,25
COO, LaOL	0,75	1,09
CySO, MMoP	0,52	1,16
CPP, LaLaS	1,23	3,60
CyPS, CMS	0,62	1,01
PSLn, MOO, PPoO	2,18	3,24
PPL, MSL, MPO, LaSO	4,64	3,10
MPP, MMS, LaPS, CSS	1,52	3,99
POO	2,50	2,32
PPO	2,34	2,84
PPP, MPS	1,01	3,10
PSO	0,79	1,60

I-3.1.3. Structure de la MGLA

Les acides gras de la MGLA sont répartis sur la molécule de glycérol selon des lois précises, gouvernées par un ensemble de processus physiques et chimiques (Kalo, 1986 ; Kalo *et al.*, 1989a,b). Les positions les plus fréquentes des différents AGs sur le glycérol sont aujourd'hui connues (Parodi, 1982 ; Taylor et Hawke, 1983 ; Bhatti, 1987 et Jensen *et al.*, 1991) :

C4 et C6	sn1 et sn3
C8	sn2 et sn3

C10, C12, C14	sn2
C16 :0	sn2 et sn1
C18 :0	sn1 et sn3
C18 :1	sn1 et sn3

La distribution des AGs sur le glycérol n'est pas déterminée par analyse directe telle que la CLHP, mais par des techniques chimiques où des glycérides partiels sont formés par action de lipases sélectives sur les TGs.

I-3.2. Propriétés physiques de la matière grasse

Les propriétés physiques de la matière grasse s'expriment principalement par son comportement à la cristallisation et par ses caractéristiques thermiques. La matière grasse du lait est un constituant très important de la plupart des produit laitiers. Les propriétés physiques de la matière grasse du lait dépendent de la nature des triglycérides présents et de leurs proportions relatives.

Ce phénomène suit un processus très complexe dû au grand nombre de triglycérides présents. Le processus de cristallisation provient de la nucléation et de la croissance des cristaux. Ces étapes ont été détaillées par ailleurs et ne sont pas le but de ce travail. Cependant, il est important de rappeler que la morphologie des cristaux détermine les propriétés rhéologiques de la matière grasse.

I-3.2.1.1. Polymorphisme des cristaux

La plupart des lipides ont la propriété de présenter différentes températures de fusion résultant de l'existence de plusieurs structures cristallines simultanément présentes (Larsson, 1972). Ce polymorphisme peut être défini comme étant l'aptitude d'un cristal à montrer différents types d'unités structurales par modification de sa conformation moléculaire à l'état solide (Small, 1986). Le polymorphisme des lipides résulte principalement des différentes possibilités d'empilement des chaînes hydrocarbonées dans le réseau cristallin. Ces chaînes constituent, à l'état solide, des plans alignés en zigzag et en position trans les uns par rapport aux autres. L'empilement de ces chaînes résulte d'interactions correspondant à des forces de dispersion s'exerçant à courte distance (Van der Waals, London). La configuration des chaînes carbonées en zigzags plans correspond à l'énergie la plus basse, la distance entre deux carbones consécutifs est maximale (1,27 Å par carbone) ce qui confère à la chaîne aliphatique une elongation maximum. Ces zigzags plans tendent vers une stabilité maximale

en fonction du temps, c'est à dire vers une organisation présentant le maximum de compacité. La cristallisation des TGs sous la forme thermiquement la plus stable est très lente.

Les TGs se présentent sous trois formes cristallines principales, mais dans le cas des TGs mixtes, le polymorphisme est plus complexe et plusieurs formes peuvent coexister (Lutton, 1950 ; Chapman, 1962 ; Simpson, 1982 ; Wang *et al.*, 1987 ; Hagemann et Rothfus, 1983 ; Hagemann, 1988 ; Sato *et al.*, 1989 ; Kellens *et al.*, 1990). Les formes initiales ou sous-cellules des TGs sont représentées dans la figure I-2 :

1- La forme α : elle correspond à des sous-cellules cristallines hexagonales (H) en désordre statistique autour des axes des chaînes. Cette forme est la moins compacte et la moins stable. Elle est obtenue à basse température suite à un refroidissement rapide. Les chaînes sont perpendiculaires au plan de base. Les groupements méthyl - terminaux sont irréguliers. Cette irrégularité confère une grande mobilité à la forme α .

2- La forme β' : les chaînes ont un arrangement perpendiculaire sous forme de zigzags plans et sont groupées en sous-cellules orthorhombiques ($O\perp$). Elles sont inclinées sur leur plan de base. Les groupements méthyl - terminaux de la forme β sont plus ordonnés que dans les formes β' et α . La forme β' est elle-même constituée des formes $\beta'1$ et $\beta'2$. (Simpson, 1982; Hagemann, 1988; Kellens et Reynaers, 1992). La forme β' est obtenue par refroidissement du liquide jusqu'à la température de fusion de la forme α , puis la température est maintenue jusqu'à la cristallisation (Ollivon, 1982).

3- La forme β : c'est la forme la plus compacte et la plus stable. Les chaînes sont arrangées en sous-cellules tricliniques ($T//$) avec un arrangement parallèle sous forme de zigzags plans. Elle est obtenue par fusion de la forme α ou β' et recristallisation. Les chaînes sont plus inclinées que dans β' par rapport au plan de base. La stabilité de cette forme s'explique par l'immobilité des groupes méthyl - terminaux (Hernqvist, 1988)

4- La forme γ : hautement instable ; elle a été seulement signalée dans des études par photomicrographie (Belousov et Vergeloso, 1962)

En outre, il faut noter que les molécules lipidiques s'arrangent en strates dont l'épaisseur reflète le nombre de chaînes empilées dans la couche. Les triglycérides s'empilent en strates d'épaisseur deux, trois, ou plus rarement six longueurs des chaînes (2L, 3L, 6L). Ces strates sont fonction, non seulement de la symétrie du TG considéré, mais aussi de la longueur des chaînes et de l'insaturation. En effet, les doubles-liaisons ont tendance à se rassembler pour diminuer l'énergie libre du système (Small, 1986).

Les groupements polaires, les méthylènes et les méthyls terminaux sont également regroupés en strates parallèles à l'intérieur des strates moléculaires. Enfin, les liaisons hydrogènes assurent la cohésion des groupements triesters.

Ainsi, en fonction des paramètres et des conditions de tempérage, on observera la transition d'une forme polymorphique vers une autre généralement plus stable (Mulder et Walstra, 1974 ; Hernqvist et Larsson, 1982 ; Hernqvist *et al.*, 1984)

Le polymorphisme des lipides a été étudié au moyen des techniques les plus diverses, notamment la spectroscopie infra-rouge, la dilatométrie et la résonance magnétique nucléaire. Mais les deux techniques les plus utilisées sont la diffraction des rayons X et l'analyse thermique. L'étude du polymorphisme est devenue indispensable aussi bien pour les chercheurs que pour les industriels, car le polymorphisme des cristaux peut affecter les caractéristiques physiques d'un produit au cours du temps.

I-3.2.1.2. Transitions de phases

La plupart des transitions de phases suivent une cinétique du premier ordre. La cinétique de transition est d'autant plus rapide que les chaînes sont courtes. Les structures les plus compactes, donc les plus stables, sont celles qui sont les plus lentes à se former, tandis que la variété métastable, qui nécessite moins d'énergie, se forme en premier mais à plus basse température (Ollivon, 1992).

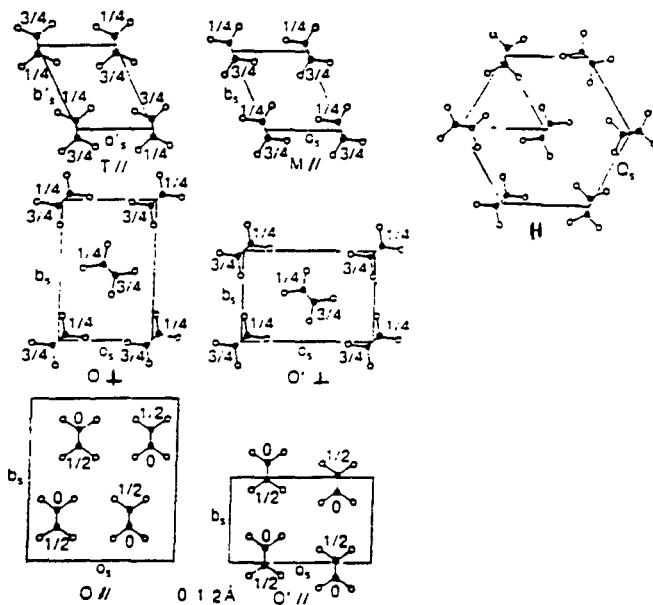


Figure I-2 Les structures cristallines des différents triglycérides (Hernqvist et Larsson, 1982)

I-3.2.1.3. L'état liquide des triglycérides

La mémoire de l'état cristallin peut persister dans une huile après la fusion des cristaux (Larsson, 1972) (figure I-3). Cet auteur pense que la structuration du liquide provient de l'existence d'une phase cristalline liquide correspondant à la persistance de micelles de type smectique (les agrégats conservent une certaine stratification). Les groupements glycérols resteraient associés, tandis que les chaînes aliphatiques seraient fortement désorganisées et constitueraient un continuum paraffinique. Hernqvist (1984) considère que l'état liquide des triglycérides n'est pas totalement désorganisé et que l'ordre des différents segments des chaînes hydrocarbonées reste constant avec la température et varie avec la longueur des chaînes. La phase liquide (Larsson, 1972) ressemblerait à une organisation de micelles inverses, mais caractérisées par la formation de structures lamellaires, comme celles d'une émulsion de monoglycérides. Les lamelles sont composées d'une bicouche de triacylglycérides dans lesquels la longueur des chaînes d'AGs correspond à l'épaisseur. La longueur moyenne de ces lamelles a été estimée à 200°A

Cebulla *et al.*, (1992) n'observent pas d'organisation smectique de la phase liquide de ceci, indépendamment de la température. L'état de la phase liquide s'approcherait plutôt de celui rencontré dans les phases nématiques (type cristaux liquides) (figure I-4)

Les deux modèles proposés concernent les TGs des matières grasses animales et végétales qui sont composées de mélanges de triglycérides saturés et insaturés.

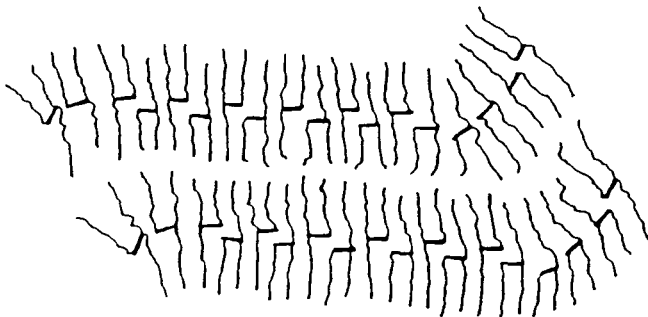


Figure I-3 Schéma représentant l'organisation des molécules des triglycérides à l'état liquide selon une structure smectique (Larsson, 1972)

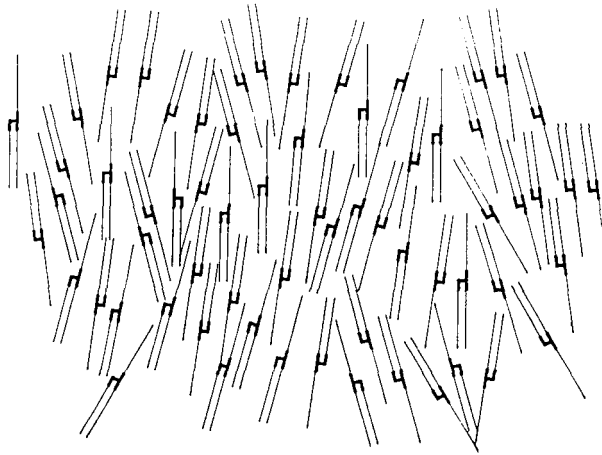


Figure I-4 Schéma représentant l'organisation des molécules des triglycérides à l'état liquide selon une structure nématique (Cebulla *et al.*, 1992)

I-3.2.2. Comportement thermique de la matière grasse

Le comportement thermique de la matière grasse est caractérisé par le profil thermique, le point de fusion et la teneur en matière grasse solide (Solid Fat Content, SFC). Le tout peut être mesuré par analyse thermique différentielle (ATD ou Differential Scanning Calorimetry, DSC). En effet, la DSC permet la mesure des paramètres thermodynamiques tels que la température, l'enthalpie, l'entropie et la chaleur spécifique. Les courbes de fusion sont les plus utilisées.

I-3.2.2.1. Diagrammes de phases

Comme les matières grasses sont composées de mélanges complexes de TGs, ceux-ci ne réagissent pas individuellement et indépendamment, mais comme des phases différentes dont les propriétés physiques sont déterminées par leur comportement (Mulder, 1953). Toutes les matières grasses naturelles à température d'utilisation contiennent une phase liquide et une ou plusieurs phases solides.

Le comportement des phases d'un mélange de triglycérides se décrit assez bien par un diagramme de phases (figure I-5). Les différentes études sur le comportement des phases ont été réalisées sur des mélanges binaires, mais aucun diagramme n'a été établi en totalité. Pour les mélanges binaires, quatre types des diagrammes de phases ont été observés (Timms, 1984, Timms, 1994)

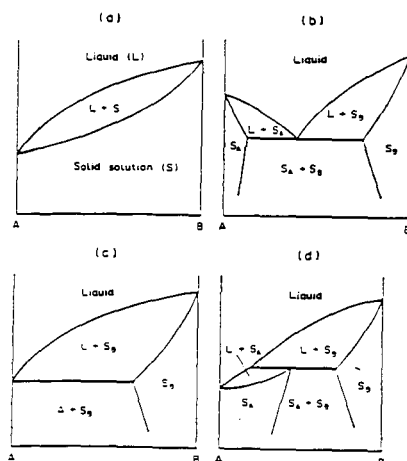


Figure I-5 Les quatre types de diagrammes de phases observés pour des mélanges binaires de triglycérides. (a) monotectique; (b) eutectique ; (c) monotectique, solution de solide partielle ; (d) peritectique (Timms, 1984)

I-3.2.2.2. Transitions de phases de la MGLA

Le profil thermique donne une vision générale du comportement de fusion et de cristallisation. En effet, les transitions de phases entre les différentes formes cristallines et leur fusion peuvent être mises en évidence par différentes techniques d'analyse thermique (RMN, DSC). La courbe de fusion ou de cristallisation dépend de l'histoire thermique de l'échantillon (figure I-6)

La MGLA cristallise en fonction du temps sous les formes β et β' . La transition de la forme β à la forme β' peut être très lente à cause du nombre de groupements méthyl terminaux. En effet, ces groupements sont plus désordonnés dans un mélange hétérogène de TGs par rapport à un triglycéride pur. Ainsi, à l'équilibre, la MGLA cristallise sous la forme β' avec des traces de la forme β , induite par la présence des TGs saturés à haut point de fusion (De Souza *et al.*, 1990). Le refroidissement induit la cristallisation sous les formes β et β' , mais des inclusions de la phase liquide se retrouvent à l'intérieur des cristaux.

La MGLA cristallise en plusieurs étapes. Plusieurs groupes de TGs cristallisent, fondent séparément et se comportent comme des solutions solides (Tverdokleb et Vergelesov, 1974). Les courbes de fusion et de cristallisation de la MGLA montrent l'existence de

plusieurs pics. En général, on observe trois pics de fusion (figure I-6) (Sherbon, 1974 ; Deroanne, 1976 ; Timms, 1980 ; Timms, 1994), dont les enthalpies et les températures varient suivant l’histoire thermique de la MGLA. Ces trois pics correspondent à trois fractions: fraction à bas point de fusion (FBPF), fraction à moyen point de fusion (FMPF) et fraction à haut point de fusion (FHPF). Les caractéristiques de ces trois fractions sont détaillées dans le tableau I-5.

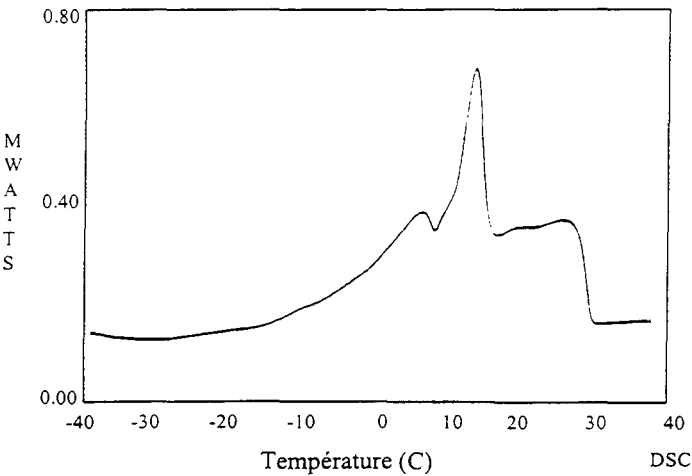


Figure I-6 Profil thermique (ATD) de la MGLA. Vitesse de chauffage: 5°C/min (Arul *et al.*, 1994)

Tableau I-5 Caractéristiques principales des fractions BPF, MPF et HPF de la MGLA (Deroanne, 1976 ; Timms, 1980 ; Bartsch et Buning - Pfeau, 1989) (TF: température de fusion)

	TF dans MGLA (°C)	Quantité dans MGLA (%)	Composition en acides gras	Variété poly- morphique	enthalpie ΔH (cal/g)
FHPF	30	5	longs, saturés	β'2	28
FMPF	20	25	mono-insaturés ou 1 chaîne courte	β'2 + β'3	20
FBPF	10	70	deux chaînes insaturées ou courtes	α	16,7

Le pic à bas point de fusion est caractérisé par des TGs à taux élevé d'AGs insaturés, plus particulièrement l'acide oléique et des AGs courts tels que l'acide butyrique. Les TGs présents à forte concentration dans cette fraction sont les BuOO, BuPO et POO avec leurs isomères. La fraction à point de fusion moyen est caractérisée par la présence d'AGs courts, notamment l'acide butyrique (Bu), mais aussi l'acide palmitique (P). Le TG le plus représentatif de cette fraction est le BuPP. Les AGs monoinsaturés à longue chaîne se partagent entre cette fraction et la fraction à haut point de fusion. Celle-ci est caractérisée par des TGs saturés à longue chaîne, en particulier l'acide palmitique et à moindre degré l'acide myristique (M). Le TG le mieux représenté est le PPP, mais on rencontre également des TGs monoinsaturés à longue chaîne comme le PPO. Dans l'industrie, la transition de la forme β à la forme β' est indésirable, car des dégradations des propriétés organoleptiques et rhéologiques surviennent alors.

I-3.2.2.3. Points de fusion

Les propriétés de fusion des triglycérides sont fonction de la composition en acides gras et de leur distribution sur les molécules de triglycérides. Pour les TGs bien définis, solides, la température de fusion augmente avec la longueur de la chaîne carbonée des acides constitutifs et diminue avec leur insaturation. Les formes cristallines influencent également le point de fusion (Tableau I-6), défini comme la température à laquelle le corps gras devient visuellement clair et exempt de cristaux. En fait, il n'existe pas de point de fusion précis des corps gras naturels, mais une plage de températures de fusion avec une transition progressive liquide / solide.

I-3.2.3. Teneur en matière grasse solide (SFC ou SFI)

Le rapport solide/liquide est généralement exprimé pour une température donnée, on le connaît la plupart du temps sous sa terminologie anglo-saxonne : "Solid Fat Content" (SFC) ou "Solid Fat Index" (SFI). Sa variation en fonction de la température est un des paramètres les plus utilisés par les industriels dans leur cahier des charges pour définir un produit. Les trois méthodes évoquées plus haut (Dilatométrie, RMN et Analyse Thermique Différentielle) sont les plus employées (Lambelet, 1983; Deroanne, 1977).

Tableau I-7 Les différentes formes polymorphiques et leurs points de fusion (Ollivon, M., 1992)

Point de fusion (°C) des formes polymorphiques			
Composés	α	β'	β
Tristéarine	55,0	65,0	72,5
Trioléine	-32,0	-12,0	5,5
Tripalmitine	45,0	56,5	65,5
1,2-Dipalmitooléine	28,9		34,8
1,3-Dipalmitooléine	26,5		38,5
1-Palmito-3-stéaro-2-oléine	18,2	33,0	39,0
1-Palmito-2-stéaro-3-oléine	26,3	40,2	
2-Palmito-1-stéaro-3-oléine	25,3	40,2	
Trilinoléine	-84,0	-27,0	-10,0
1,2-Dipalmitolinoléine			26 à 27
1-Palmito-dilinéoléine			-4 à -3
1-Stéaro-dilinéoléine			5 à 6
1,3-Distéaro-oléine	37,0	41,5	44,3
Trimyristine	33,0	46,5	57,0
Trilaurine	15,0	35,0	46,5
Tricaprylyne	-54,0	-12,0	11,0
Tricaprine	-10,0	18,0	33,0

II- Les Mécanismes d'interactions moléculaires en chromatographie liquide à polarité de phase inversée

II-1. Chromatographie

La chromatographie est une technique de séparation analytique ou préparative de mélanges plus ou moins complexes par distribution entre une phase fixe et une phase mobile. Les séparations par chromatographie mettent en oeuvre des techniques basées sur des propriétés physiques générales des molécules telles que la solubilité, l'adsorption et la volatilité. Selon la nature des phases mobile et stationnaire, on peut distinguer plusieurs grandes classes de chromatographies.

- La chromatographie en phase gazeuse (CPG) où la phase mobile est un gaz et la phase stationnaire, soit une surface adsorbante (chromatographie d'adsorption gaz - liquide, très rare), soit un film liquide enduit ou greffé sur un support inerte. En effet, si la phase mobile est un gaz et la phase stationnaire est un film liquide, on a alors une chromatographie de partition gaz - liquide. Si la phase stationnaire est une surface adsorbante, il en résulte une chromatographie d'adsorption gaz - liquide, ce qui est très rare. Il existe trois paramètres principaux en CPG: le gaz vecteur, la température et la nature de la phase stationnaire. Selon Rosset *et al.*, 1996, la CPG est, en fait, limitée aux substances suffisamment volatiles, ce qui exclut la plupart des molécules dont la masse moléculaire est supérieure à 300 daltons environ, ainsi que les substances thermolabiles et les substances ionisées ou ionisables. De plus, on observe uniquement des interactions soluté - phase stationnaire.
- La chromatographie en phase liquide (CPL), dont il existe plusieurs types de phases stationnaires. Il s'agit, soit d'une phase sur laquelle un adsorbant est déposé en une couche mince (chromatographie en couche mince), soit de particules adsorbantes placées dans une colonne. Cette dernière phase peut être un adsorbant finement divisé (chromatographie d'adsorption) ou une substance inerte supportant un film liquide (chromatographie de partition). La chromatographie sur colonne permet d'avoir une étendue d'interactions en fonction de la phase stationnaire. La résolution est basée sur le contrôle des forces gouvernant les interactions. La chromatographie d'adsorption et la chromatographie liquide-solide disposent de phases stationnaires très stables. La rétention d'un soluté est directement liée à la compétition entre les molécules de solvant et de soluté à la surface de l'adsorbant. La chromatographie de partage et la chromatographie liquide-liquide utilisent par contre comme phases stationnaires un support (généralement un gel silice) qui a été,

soit imprégné avec un liquide, soit greffé de groupements organiques. On peut distinguer la chromatographie de partage à phase normale et à phase inverse, d'échange d'ions, et d'exclusion.

- La chromatographie supercritique dans laquelle la phase stationnaire est de type gazeux ou de type liquide.

Dans notre travail, nous nous intéresserons plus particulièrement à la chromatographie liquide à polarité de phases inversée (CLHP). La diversité et les caractéristiques des phases mobiles et stationnaires entraînent une complexité dans la compréhension du mécanisme de rétention. Cette chromatographie sera utilisée, non seulement pour l'identification et les analyses de la matière grasse, mais aussi pour une tentative d'explication des théories de rétention sur le fractionnement membranaire de la matière grasse laitière.

II-1.1. Quelques définitions en chromatographie

1- Coefficient de partage (K) : c'est la distribution de chaque soluté entre les phases mobile et stationnaire.

$$K = \frac{C_s}{C_m} \quad (\text{II-1})$$

C_m et C_s sont les concentrations de soluté dans les phases mobile et stationnaire à l'équilibre.

2- Temps de rétention (T_R) : c'est le temps d'élution au sommet du pic, mesuré à partir de l'injection.

3- Volume de rétention (V_R) : il représente le volume de phase mobile nécessaire pour éluer chaque composé.

$$V_R = T_R D = T_R u S e \quad (\text{II-2})$$

D : Débit de la phase mobile, maintenu constant

S : Section droite de la colonne.

u : Vitesse linéaire de la phase mobile.

e : porosité de la colonne.

$$V_R = V_m + K V_s \quad (\text{II-3})$$

V_m : Volume de la phase mobile dans la colonne

K : Coefficient de partage

V_s : Volume de la phase stationnaire

T_R et V_R sont des grandeurs caractéristiques de chaque composé dans des conditions données et pour une colonne donnée. En effet, les espèces n'ayant aucune affinité pour la

phase stationnaire, donc non retenues, apparaissent dans l'effluent après un temps T_0 correspondant à l'écoulement du volume de phase mobile V_m contenu dans la colonne.

4- Facteur de capacité (K') : C'est le rapport de la quantité de soluté dans la phase stationnaire à la quantité de soluté dans la phase mobile

$$K' = K \frac{V_s}{V_m} \quad K' = K \phi \quad (\text{II-4})$$

ϕ : rapport de phase = volume de phase fixe / volume de phase mobile

$$K' = \frac{V_R - V_m}{V_m} \quad (\text{II-5})$$

$$K' = \frac{T_R - T_0}{T_0} \quad (\text{II-6})$$

V_R : volume de rétention du soluté

V_m : Volume mort de rétention

T_0 : temps de rétention d'un composé non retenu

Le facteur de capacité (K') peut être exprimé à partir de la variation d'énergie libre (ΔG°) et aussi à partir du potentiel chimique à l'état du soluté $\mu^\circ(s)$:

$$\ln K = - \frac{\Delta G^\circ}{RT} \quad (\text{II-7})$$

$$\ln K = \frac{(\mu^\circ_{\text{stat}}(S) - \mu^\circ_{\text{mobile}}(S))}{RT} = \frac{-\Delta \mu^\circ}{RT} \quad (\text{II-8})$$

$$\ln K' = \frac{-\Delta \mu^\circ}{RT} + \ln \phi \quad (\text{II-9})$$

$$\ln K' = - \frac{\Delta G^\circ}{RT} + \ln \phi \quad (\text{II-10})$$

ΔG° : énergie libre de transfert de soluté de la phase mobile vers la phase stationnaire.

II-2. Les phases stationnaires greffées

La chromatographie de partage ou liquide-liquide utilise comme phase stationnaire un support imprégné par une phase liquide. La séparation est basée sur le partage des solutés entre la phase stationnaire et la phase mobile. De plus, elle dépend des différences de solubilité des solutés dans les deux phases ou des différences d'interactions des solutés avec la

phase liquide greffée. Il existe deux types de chromatographies liquides : la chromatographie de partage classique où la phase stationnaire est polaire et la phase mobile peu polaire et la chromatographie de partage à polarité de phases inversée, où les molécules greffées sont apolaires. Il s'agit principalement de chaînes hydrocarbonées, la phase mobile est polaire. C'est ce dernier type de chromatographie qui fera l'objet de notre étude.

II-2.1. Silices greffées

La phase stationnaire dans la chromatographie phase liquide joue un rôle très important dans la rétention des molécules de soluté. Nous nous intéresserons ici à la phase stationnaire à base de gel de silice qui est le plus utilisé dans le cas de la CLHP en phase inverse. L'étude des différentes caractéristiques des silices greffées aide à comprendre les différents paramètres qui influencent la rétention : longueur des chaînes greffées, diamètre de pores dans la silice, taux de greffage, etc..., ainsi que les différents modes d'interactions. La phase stationnaire est un milieu dynamique. La structure moléculaire d'une silice greffée en CLHP phase inverse change en fonction des conditions opératoires. Pour interpréter les phénomènes intervenant dans la rétention, la connaissance de l'état stéréochimique des chaînes alkyles est indispensable.

II-2.1.1. Propriétés de la silice

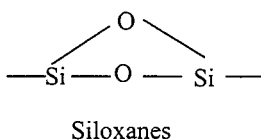
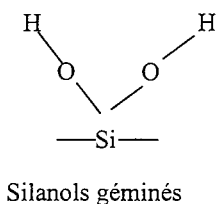
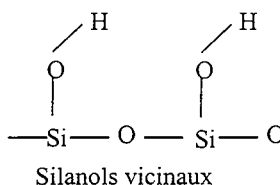
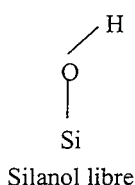
La silice est donc le matériau de base le plus utilisé en CLHP phase inverse, elle est caractérisée par une grande surface spécifique et une grande porosité, elle est mécaniquement stable à haute pression, ce qui est nécessaire lors du remplissage de la colonne (Rosset, 1987). La silice est aussi caractérisée par la présence d'une concentration très élevée de fonctions hydroxyles en surface. Ceci permet de greffer de façon covalente de nombreux groupements tels que alkyls, phényles, cyano, etc... A noter que le greffage des différents groupements donne à la silice des propriétés différentes, d'où l'intérêt de bien étudier les différentes caractéristiques des silices et des greffages (dans cette étude, seuls les alkyles seront considérés). La surface de la silice est caractérisée par deux types de fonctions chimiques actives : les silanols (Si-OH), qui sont les fonctions les plus réactives de la silice, formant notamment des liaisons covalentes avec d'autres groupements et les siloxanes (Si-O-Si). Les silanols sont les principaux sites d'adsorption en raison de leur réactivité. Les silanols peuvent aussi être subdivisés en plusieurs groupes selon le nombre de fonctions hydroxyles:

- Silanol libre : le silicium porte une seule fonction hydroxyle et la distance entre les deux oxygènes portés par deux siliciums voisins est supérieure à 3,1 Å.

- Silanols vicinaux: si la distance entre deux oxygènes portés par deux siliciums voisins est inférieure à 3,1 Å, il y aura formation de liaison hydrogène entre deux fonctions hydroxyles voisines.

- Silanols géminés: l'atome de silicium porte deux fonctions hydroxyles.

- Siloxanes: il y a déshydratation de deux silanols vicinaux



L'étude des différents types de silanols est très importante parce qu'elle détermine la réactivité de la silice et peut expliquer les différentes caractéristiques des colonnes.

II-2.1.2. Les réactions de silanisation

Il existe différentes méthodes de greffage des silanols libres, on peut les diviser en quatre types conduisant à quatre types de liaisons (Colin et Guiochon, 1978 ; Hennion *et al.*, 1978) : Si-O-C, Si-C, Si-N, et Si-O-Si. La liaison Si-O-Si est la plus utilisée.

Le principe du greffage des phases consiste généralement à faire réagir un silane sur les groupements OH de la silice. Ces silanes peuvent être de nature différente, ce sont des mono-, di- et trichlorosilanes, donnant des phases stationnaires monomériques, oligomériques et polymériques avec différentes caractéristiques de rétention.

II-2.1.2.1. Greffes monomériques

Les phases monomériques sont obtenues lors de l'utilisation d'un silane monofonctionnel (R_1 , R_2 et R_3 sont des groupements alkyls), difonctionnel (R_1 , et R_2 sont des groupements alkyls et $R_3 = X$) ou trifonctionnel ($R_2 = R_3 = X$) en l'absence de toute trace d'eau. (Annexe 2)

En présence de traces d'eau, il y aura hydrolyse de X (Cl) et formation d'un groupement hydroxyle qui peut réagir avec les silanes pour donner un autre type de greffage. L'intérêt des phases monomériques est qu'elles donnent des structures parfaitement définies. On devrait d'ailleurs les appeler "couches greffées monomoléculaires" (Héron et Tchaplal, 1993).

Selon Staroverov et Fadeev (1991), la distribution des chaînes alkyles n'est vraisemblablement pas uniforme sur une phase monomérique. Lochmüller *et al.*, (1983), ont proposé un modèle de répartition par paquets. La phase stationnaire est caractérisée par des zones de haute densité de greffage et des zones de basse densité. En effet, la densité de greffage est limitée pour des raisons stériques et seuls 50 % des silanols peuvent être greffés. La densité de greffage maximale ne peut pas dépasser $4,1 \text{ mmol/m}^2$. Selon Dorsey et Dill (1989), avec des chaînes alkyles C8, C18, on aura une surface greffée comprise entre 2,5 et 3 mmol/m^2 . Cependant, le maximum de sites hydroxyles sur la surface de la silice est voisin de 8 mmol/m^2 , aussi, de nombreux groupements OH restent libres. La densité de greffage dépend de la longueur des chaînes, de la nature des groupements X ainsi que des conditions de réaction. Une densité de greffage maximale est extrêmement difficile à obtenir en raison des contraintes stériques, mais il existe plusieurs avantages à tendre vers une densité de greffage élevée :

- 1- Limitation d'accès du soluté à la surface du support, d'où minimisation de la rétention.
- 2- Protection de la silice contre l'hydrolyse alcaline induisant une instabilité de la phase stationnaire.
- 3- Augmentation de la sélectivité.
- 4- Utilisation comme système modèle du fait de l'organisation de phases hautement greffées rappelant une biomembrane.

L'un des avantages d'une phase stationnaire monomérique est qu'elle offre une seule couche bien définie du greffon à la surface de la silice. Ainsi est-elle caractérisée par un bon

homogénéité de surface en fonction du taux de greffage. En outre, la phase monomérique peut être facilement schématisée sous forme de "brosse", alors que les phases polymériques sont beaucoup plus difficiles à visualiser. Dans ce dernier cas, la structure moléculaire n'est pas bien définie, le soluté est solubilisé et totalement imbibé dans la phase stationnaire (Lochmüller *et al.*, 1993). Cette phase est caractérisée par des mouvements lents des greffons. Par contre, les chaînes de la phase stationnaire monomérique ont des degrés de liberté beaucoup plus réduits, les conformations se figent dès la température de transition. Un placage régulier des solutés le long des greffes à l'intérieur de la phase stationnaire devient plus difficile (Morel et Serpinet, 1980 ; 1981 ; 1982).

II-2.1.2.2. Greffes polymériques

Selon Sander et Wise (1984), ce type de greffage est obtenu par l'utilisation d'un silane trifonctionnel en présence de traces d'eau. Les greffes polymériques donnent naissance à plusieurs groupements OH capables de réagir de nouveau avec le chlorosilane, ou capables de former des liaisons hydrogène avec le soluté (Annexe 2). Ces réactions de greffage sont suivies de la réaction dite de "end-capping" (encapsulation du dernier oligomère par un triméthylchlorosilane, ce qui permet de diminuer la proportion de groupements hydroxyles libres).

II-2.1.2.3. Greffes oligomériques

Ces phases sont intermédiaires entre la phase monomérique et la phase polymérique (Sander et Wise, 1984 ; Scott et Simpson, 1992). La synthèse de cette phase est celle d'une polymérisation séquentielle contrôlée, chaque étape étant une synthèse monomérique (Annexe 2). Un trichlorosilane réagit dans des conditions anhydres avec les groupes silanols de la silice, ensuite une hydrolyse est effectuée, suivie d'une nouvelle silanisation par le même trichlorosilane. On peut obtenir alors plusieurs couches. A la suite de cette réaction, de nombreuses chaînes aliphatiques pourront être liées à un seul groupe de silanols à la surface de la silice. On termine par une réaction de "end-capping".

La structure des greffes oligomériques empêche la présence de silanols résiduels. Cela permet aussi de travailler à faible pH, donc d'effectuer des séparations de composés nécessitant ces conditions (protéines ou peptides). Scott et Simpson (1992) ont montré que les interactions entre le soluté et la phase oligomérique sont de type dispersif et qu'il n'y a pas

d'interactions polaires entre les solutés et la phase stationnaire, ce qui indique l'absence de silanol libre.

II-2.1.3. Comparaisons entre les différentes phases greffées

Les greffes polymériques sont caractérisées par différents mécanismes de rétention. Ces greffes sont plus complexes que les greffes monomériques, elles sont plus ordonnées et les mouvements des chaînes sont plus réduits. On connaît mal leur structure, mais elles présentent des propriétés chromatographiques distinctes de celles des greffes monomériques.

Wise et Sander (1984) ont comparé les 3 types de phases (mono, oligo et polymérique) pour leur sélectivité envers des hydrocarbures poly-aromatiques (PAHs) ; ils ont montré que la sélectivité augmente avec l'accroissement du contenu en carbone et probablement avec la densité de greffage de la phase stationnaire. Ces auteurs ont également montré que la sélectivité observée sur une phase polymérique à haut taux de greffage est semblable à celle que l'on observe sur une phase liquide cristalline utilisée en chromatographie. On sait que les phases polymériques sont plus ordonnées que les phases monomériques (Wise et Sander, 1984). Elles ont une meilleure sélectivité pour la séparation des PAHs (Olsson *et al.*, 1991). Le comportement chromatographique de ces greffes serait basé sur une reconnaissance de la forme des solutés.

La phase polymérique (Sander et Wise, 1984), peut être envisagée sous deux formes: la première comme une surface greffée avec distribution uniforme des chaînes alkyles. Dans ce cas, le degré moyen de polymérisation est faible et le matériau final ne peut être représenté, ni par une couche polymoléculaire désordonnée ni par une couche monomoléculaire uniforme. La deuxième forme consiste à représenter la surface greffée avec une distribution hétérogène (non uniforme) où le degré de polymérisation est plus élevé dans certaines régions. Dans ce cas, la structure chimique moléculaire des greffes peut être très variable au sein d'un même agrégat.

Le taux de greffage est plus élevé pour la phase polymérique (4,35-6,41 mmol/m²), intermédiaire pour l'oligomérique (3,29-4,11 mmol/m²) et le plus faible pour le monomérique (2,23-3,02 mmol/m²). Le taux de recouvrement de la surface pour la phase polymérique augmente avec la quantité d'eau présente, jusqu'à une certaine concentration à partir de laquelle le recouvrement de la surface n'augmente plus.

La variation de sélectivité entre les phases mono et polymérique est liée à l'épaisseur totale de la phase (Sander et Wise, 1987). Quand l'épaisseur augmente, la sélectivité diminue.

Ceci serait dû à la réduction du transfert de masse dans la phase stationnaire, ce qui se traduit par une diminution de l'efficacité de la colonne. Pour la phase monomérique, l'épaisseur est liée seulement à la longueur des chaînes greffées, alors que pour la phase polymérique, elle est également liée au degré de polymérisation.

Dans les conditions de travail classique de CLHP-phase inverse, c'est à dire à température ambiante, avec comme phase mobile le mélange méthanol-eau et acétonitrile-eau, il est possible de différencier sans ambiguïté les silices greffées monomériques et polymériques:

Il est important de noter qu'à différentes températures, on rencontrera différents comportements et mécanismes de rétention. Une phase polymérique à température élevée aura un comportement monomérique. A mesure que la température diminue, les chaînes s'ordonnent de mieux en mieux (Sander *et al.*, 1989 ; Staroverov et Fadeef, 1991). On observe également ceci pour les phases monomériques, mais à des températures plus basses (Sander et Wise, 1989). Ce changement du comportement de rétention en fonction de la température peut s'expliquer par la mobilité des chaînes et leur organisation. Pour des chaînes alkyles pures, la mobilité diminue avec la température jusqu'à tendre vers un solide cristallin ordonné. Mais les greffons n'ont pas la possibilité d'atteindre cette organisation cristalline, parce que l'espacement des chaînes est contrarié par les points de contact avec la surface. Cette réduction de la mobilité des greffons avec la température a pu être mesurée par RMN (Claudy *et al.*, 1985). Les phases greffées deviennent plus rigides, prennent une forme de bâtonnet caractéristique des cristaux liquides à basse température.

Pour les phases polymériques, quand la température augmente, les mouvements des greffons deviennent plus rapides et on observera une pénétration superficielle de soluté dans la phase stationnaire. On note également ce phénomène dans le cas d'utilisation de solvants ayant une grande force de solvation des greffons.

Ainsi, la phase polymérique présente une meilleure sélectivité en jouant seulement sur la température ou la composition de la phase mobile (solvant fort : tétrahydrofuranne, CH_2Cl_2 , acétonitrile). On peut adapter le mécanisme de rétention par simple changement du comportement polymérique en comportement monomérique et vice-versa.

Héron et Tchaplà (1993) ont noté qu'une phase monomérique à basse température a un comportement polymérique. La mobilité conformationnelle des greffons facilite l'insertion des solutés entre les chaînes des greffons, mais quand la température diminue, la conformation des

chaînes change le mécanisme d'interaction moléculaire, induisant ainsi un mécanisme de partage.

II-2.1.3.1. Silanols résiduels (libres)

Environ 50 % des silanols ne sont pas silanisés (Verzele et Muussche 1983) et l'hydrolyse des différentes phases greffées, plus particulièrement la phase polymérique, donne naissance à des silanols supplémentaires. L'effet des silanols résiduels est néfaste parce qu'ils peuvent interagir avec les solutés et former des centres d'adsorption non uniformes (Staroverov et Fadeev, 1991), entraînant des traînées de pics pour les composés alcalins. Pour diminuer l'effet des silanols résiduels, une réaction de recouvrement total ("end-capping") est utilisée. Elle consiste à traiter la phase stationnaire greffée par un petit silane, tel que le triméthylchlorosilane, qui va réagir avec les silanols résiduels.

Kohler *et al.*, (1986) ont étudié les problèmes associés aux groupes hydroxyles libres. Ils ont pu montrer que l'adsorption non désirée de composés alcalins et la basse stabilité des ligands peuvent être attribuées à l'existence de Si-OH isolés à la surface de la silice.

II-2.2. Autres types de greffage de la silice

Le but de notre travail n'étant pas l'étude des différentes phases stationnaires, mais la compréhension et l'application des différentes théories de rétention chromatographique sur les fractionnement membranaire de la MGLA, nous nous bornerons à signaler quelques autres types de greffages utilisés.

Les silices greffées avec de chaînes alkyles (C8, C18) sont les phases les plus utilisées en CLHP-phase inverse. Mais il existe d'autres types de greffages: phases phényles et dérivées (Lai *et al.*, 1984 ; ...), phases cyano (Suffolk et Gilpin, 1985 ; ...), phases fluorées (Berendson *et al.*, 1980 ; Foucault et Rosset, 1989 ; ...) etc...

II-2.3. Organisation et structure de la phase stationnaire

La connaissance de la structure et de l'organisation de la phase stationnaire est nécessaire à la compréhension des hypothèses de rétention: théorie solvophobe, partage, déplacement, etc... La phase stationnaire (Carr et Harris, 1989) peut être considérée comme une surface dynamique, répondant aux conditions de la phase mobile et affectant la rétention du soluté.

Il existe différents modèles d'organisation de la phase stationnaire, mais ils sont actuellement remplacés par des modèles de surface hétérogène incomplètement couverte par

des greffons. Selon Lochmüller et Wilder (1979), la couche de greffons a une configuration en "microgoutte", dans laquelle les greffons sont agrégés par des interactions hydrophobes. Cette observation indique que la distribution des greffons sur le support est "non uniforme" et possède une forme de gouttelette liquide, mais avec une restriction: les greffons étant liés au support, il y a alors perte de la mobilité d'un liquide vrai. La phase stationnaire apparaîtra sous la forme d'îles de matériau non polaire distribué à la surface de la silice polaire. L'organisation des greffons influence la sélectivité et la rétention. (Lochmüller *et al.*, 1985).

Selon Cole et Dorsey (1992), des contraintes de configuration dans la phase stationnaire sont imposées sur les chaînes alkyles du fait de leur liaison à la surface de la silice. La phase stationnaire est décrite comme une interface, différente de celle d'un système liquide: le rapport surface/volume est plus grand et ses propriétés varient avec l'éloignement de la surface. L'organisation de l'interface est influencée par ses contraintes géométriques, par la longueur des chaînes, par la densité de greffage et par les solvants en contact avec les chaînes. L'étude de la phase stationnaire et ses effets sur la rétention sont assez complexes et il est nécessaire de bien comprendre la signification de nombreux paramètres.

II-2.3.1. Structure des pores

Les propriétés des phases stationnaires varient en fonction de la méthode de préparation de la surface des greffons et la taille des pores de silice (Karch *et al.*, 1976 ; Staroverov et Fadeev, 1991). La surface de greffons augmentent avec le diamètre des pores (Sander et Wise, 1987). En raison d'empêchements stériques, la résolution des petites molécules diminue fortement quand le diamètre et le volume des pores augmentent.

La densité de greffage diminue linéairement avec l'allongement des chaînes des greffons pour un diamètre de pore fixe, mais également quand le diamètre moyen du pore se rétrécit. Ceci est probablement dû à la répulsion stérique qui inhibe l'arrangement libre des longues chaînes dans des pores de petit diamètre. Dans les pores de grande taille, les greffons peuvent avoir n'importe quelle conformation, d'une structure en forme de brosse à une structure quasi-liquide (Staroverov et Fadeev, 1991). La tortuosité des pores influence également la surface de greffage, particulièrement avec les longues chaînes. Les pores de grande taille induisent une contrainte stérique minimale entre les chaînes greffées adjacentes et la surface greffée.

D'après le modèle du pore cylindrique de Staroverov et Fadeev (1991), pour un diamètre critique D^* , la densité de greffage ainsi que l'épaisseur de la couche greffée

diminuent linéairement avec le rétrécissement du pore. Les chaînes greffées auront une structure rigide dans les pores si $D < D^*$; par contre, si $D > D^*$, une structure flexible sera obtenue. Par exemple, des chaînes octadécyles dans des pores de 6 nm de diamètre seront rigides en presque totalité, alors que dans des pores de 15 nm, la majeure partie des chaînes greffées ne subiront pas d'empêchement stérique et pourront changer facilement de conformation .

II-2.3.2. Longueur des chaînes greffées

La nature physique et le comportement des greffons en CLHP phase inverse ont fait l'objet de multiples sujets de recherche. Bien entendu, avec une telle complexité, des contradictions sont apparues (Jinno, 1975 ; Hennion *et al.*, 1978 ; Colin *et al.* 1983 ; Jinno et Ozaki 1984,). Les premières études ont montré qu'en augmentant la longueur des chaînes (nc), on observe une augmentation du temps de rétention et de la sélectivité (Berendsen et De Galan, 1980). Pour des solutés polaires, la facteur capacité (K') augmente de façon linéaire avec l'accroissement exponentiel de la longueur des chaînes greffées. La sélectivité augmente avec la longueur des greffons pour les solutés, polaires ou non polaires.

La rétention devient constante pour une longueur de chaîne critique (n_{crit}). Celle-ci est indépendante de la composition de la phase mobile (Roumeliotis et Unger, 1978 ; Unger, 1990). En réalité, la rétention du soluté par les longues chaînes s'effectue seulement à leur extrémité. Selon Sander et Wise (1987), seule une partie des greffons réagirait avec les solutés. Considérons deux solutés de taille différente en contact avec différentes surfaces non polaires, l'une à courte chaîne et l'autre à longue chaîne. Sur les phases stationnaires à courte chaîne, les deux solutés peuvent pénétrer jusqu'à une certaine profondeur. Les solutés de grande taille possèdent une surface de contact plus grande, ils sont alors retenus plus longtemps. Quand la longueur des greffons augmente les solutés de petite taille peuvent pénétrer plus profondément et parvenir à une longueur critique (n_{crit}) plus rapidement. Les solutés de grande dimension ayant une surface de contact plus grande, leur temps de rétention sera plus long que pour les petits solutés.

La différence de rétention des solutés est corrélée par 3 effets : le "taux d'efficacité" de la colonne, mesuré par le temps de rétention moyen des solutés, la polarité des greffons et le paramètre de solubilité et de dispersion des phases greffées. Le taux d'efficacité est fonction de la longueur des chaînes alkyles, du taux de greffage et de l'aire de la silice (Antle *et al.*, 1984, 1985).

Selon Melander et Horvath (1982), il existe une différence entre la sélectivité des phases stationnaires courtes (C1, C2) et des phases stationnaires comportant des chaînes alkyles plus longues (C8, C18). Le mécanisme de rétention dominant sur les phases stationnaires de type C1, C2 est l'adsorption, alors que c'est un mécanisme de partage qui prédomine sur une phase stationnaire de type C8, C18. A noter aussi que la sélectivité du groupe méthylène augmente avec la longueur des chaînes greffées (Berendsen et De Galan, 1980 ; Sander et Wise, 1987).

II-2.3.3. Densité de greffage

Pour obtenir des phases stationnaires inverses, il est nécessaire de parvenir à une protection maximale de la surface originale du support. La nature de la phase stationnaire dépend fortement de la densité de greffage (Dorsey et Dill 1989). Pour une densité de greffage suffisamment basse ($< 2,7 \text{ mmol/m}^2$), la partition d'un soluté non-polaire augmente linéairement avec la densité de greffage. Les contraintes de configuration sont faibles à ces niveaux de densité et les coefficients de partage augmenteront avec la dépolarisation de la surface de la silice. La rétention du soluté va aussi augmenter quand le volume des chaînes augmente. Ainsi, pour une densité 0 (silice non greffée) les solutés non polaires vont être retenus par adsorption à la surface de silice. Pour une densité plus élevée que la densité critique, on constatera l'apparition de contraintes nécessitant plus d'énergie libre pour créer une "cavité" de soluté dans la structure de la phase stationnaire. Dill (1987) a montré qu'une exclusion complète du soluté de la phase stationnaire doit être observée pour une densité de $8,1 \text{ mmol/m}^2$.

II-2.3.4. Forme des greffons

Dill (1987) définit plusieurs modèles pour décrire les greffons:

- "Piquet de clôture" : bâtonnet rigide sans aucun degré de liberté.
- "Brosse" : les greffons sont complètement exposés à la phase mobile
- "Gouttelette grasse" : le soluté est immergé dans la phase stationnaire.

Phase stationnaire: même organisation que les autres phases interfaciales. L'interphase est constituée de chaînes liées d'un côté à une interface et libres de l'autre côté. Elles ont une densité de greffage suffisamment élevée pour subir des contraintes stériques.

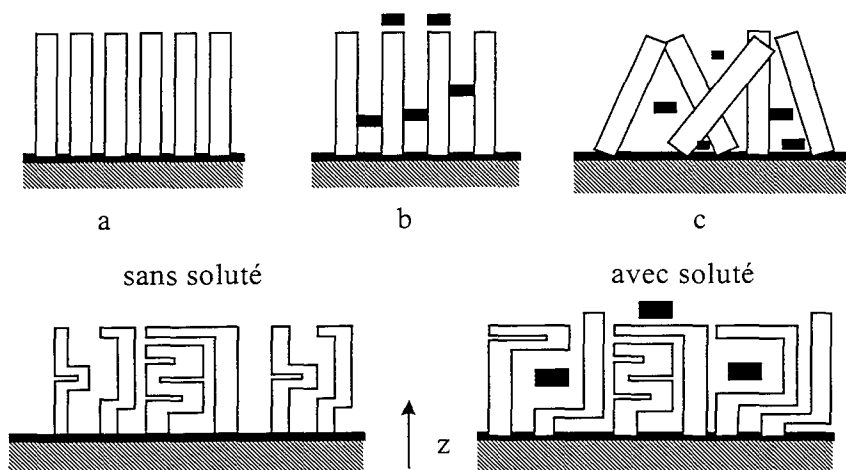


Figure II-1 Différents modèles moléculaires de l'organisation des chaînes dans la phase stationnaire. a) "piquet de clôture" b) "brosse" c) "fagot" d) modèle d'interphase (Dill, 1987)

L'organisation moléculaire dans l'interphase est déterminée par trois facteurs :

- 1- Les contraintes imposées par la géométrie de l'interface, la densité de greffage et la longueur des chaînes.
- 2- L'exclusion de solvant pauvre
- 3- Selon le deuxième principe de la thermodynamique, les chaînes doivent adopter le désordre le plus grand.

II-2.3.5. Forme des chaînes des solutés

Selon Tanaka *et al.* (1993), la rétention est influencée, non seulement par le solvant dans la phase stationnaire, mais également par la structure moléculaire de solutés. Pour une même phase mobile, ils montrent que lorsque la longueur des greffons augmente la rétention du soluté augmente aussi, mais un soluté polaire rigide présente un temps de rétention plus long qu'un soluté non polaire sur une phase stationnaire en C18. Toutefois, ceci est moins net sur une phase stationnaire en C8 et ne s'observe pas du tout sur une phase en C1. En outre, cet effet est moins évident quand la phase mobile est de l'acétonitrile plutôt que du méthanol.

II-3. La phase mobile

La phase mobile joue un rôle très important dans la rétention des solutés et leur élution en CLHP. En effet, en CLHP, on n'observe pas que des interactions soluté-phase stationnaire, mais aussi des interactions phase mobile-soluté et phase mobile-phase stationnaire. Il est donc

important de connaître toutes les caractéristiques chimiques de la phase mobile, telles que la viscosité, l'indice de réfraction, l'absorption UV, la constante diélectrique, la tension superficielle, la polarité, ainsi que les paramètres de solubilité du solvant (tableau II-1). La rétention du soluté est corrélée à l'évolution de la tension superficielle de la phase mobile (Horvath *et al.*, 1976 ; Dill, 1987 ; Dorsey et Dill, 1989), mais cette corrélation n'est pas vérifiée dans deux cas : 1) quand le soluté contient des électrons π , 2) quand du tétrahydrofuranne (THF) est présent dans la phase mobile. Mais l'effet de la tension superficielle n'explique pas tous les changements dans la phase stationnaire, la constante diélectrique doit également être prise en considération. Celle-ci permet d'apprécier le pouvoir dissociant du solvant des chaînes alkyles greffées. Plus la constante diélectrique est faible, plus le solvant est susceptible de dissocier les chaînes alkyles. La capacité dissociante des solvants s'établit dans l'ordre suivant :

Chloroforme > Tétrahydrofuranne > Dichlorométhane > Acétone > Méthanol > Acétonitrile > Eau.

II-3.1. Effet du solvant sur la structure de la phase stationnaire

La structure de la phase stationnaire varie en fonction de la composition de la phase mobile. En effet, la surface de la phase stationnaire "respire" et adapte son gonflement au caractère plus ou moins polaire de l'environnement (Tani et Suzuki, 1991).

- Si les phases mobiles sont polaires ou à basse température, les greffons seront repliés sur eux mêmes avec des mouvements intermoléculaires lents. Le mécanisme de rétention se fait par partage (Lochmüller *et al.*, 1993).

- Avec des phases mobiles riches en méthanol et acétonitrile, les chaînes greffées sont plus mobiles. Le méthanol et l'acétonitrile s'insèrent dans le réseau superficiel des greffons pour donner une structure intermoléculaire ordonnée du greffon, mais en mouvement. Selon Gilpin *et al.*, (1990) et Sentell et Dorsey (1989), l'acétonitrile solvate mieux les greffons, s'insère plus facilement que le méthanol et conduit à une structure plus ordonnée de la phase stationnaire. Tchaplal *et al.*, (1993) ont montré que les conformations et la rétention en phase acétonitrile-méthanol sont très voisines.

Tableau II-1 Propriétés des solvants (Braumann, 1986)

Solvant	ϵ^1	μ^2	γ^3	accepteur proton ⁴	donneur proton ⁵	Log P _{oct} ⁶
Eau	78,5	1,84	73	élevé	élevé	
Méthanol	32,7	1,66	22	7,5	7,5	-0,66
Ethanol	24,5	1,68	22	5	5	-0,32
1-Propanol	20,3	1,65	23	4	4	0,34
Acétonitrile	38,8	3,37	29	2,5	0	-0,34
THF	7,6	1,70	28	3	0	0,46
Dioxane	2,2	0,45	33	3	0	-0,42
1 Constante diélectrique		2 moment dipolaire				
3 tension superficielle		4 paramètre de solubilité				
5 paramètre de solubilité		6 Coefficient partition eau / n-Octanol				

La pénétration de solvant dans la couche de greffons va induire une augmentation du volume de cette couche. Comme les greffons sont attachés à la surface du support, le seul moyen d'augmenter la surface est d'altérer leur conformation avec, en dernier ressort, de réaliser la transition d'une forme quasi-liquide vers une structure en brosse. Ceci peut induire une altération des mécanismes de rétention. Contrairement aux composés organiques de la phase mobile, l'eau ne pénètre pas dans la phase stationnaire. Le modèle de Martire et Boehm (1983) modélise les chaînes de la phase stationnaire sous forme de cordes à plusieurs brins, chacun pouvant être orienté indépendamment en direction des axes x, y, z. Il existe deux formes de phases stationnaires en fonction de leur compatibilité avec la phase mobile (Lochmüller *et al.*, 1985 ; Gilpin, 1993). En présence d'un solvant non polaire compatible avec les chaînes, il y aura extension de celles-ci vers une structure en brosse, en extension plus ou moins perpendiculaire à la surface et dotées d'une mobilité réduite. Dans le cas d'un solvant polaire, les chaînes sont repliées les unes sur les autres et conduisent à une structure en gouttelettes quasi-liquides dans lesquelles le solvant ne pénètre pas, alors que les solutés le peuvent. C'est une conséquence de l'effet solvophobe. Ici les chaînes forment des agrégats qui minimisent leur surface de contact avec le solvant.

En fait, la phase stationnaire est enrichie par le solvant, mais cet enrichissement est fonction de la composition de la phase mobile. Dans le cas de méthanol-eau l'enrichissement

est faible, mais dans le cas d'acétonitrile - eau cet enrichissement est élevé. Les deux éluants induisent des états de surface différents.

Par ailleurs, quand on étudie l'effet du solvant sur la phase stationnaire, il ne faut jamais oublier les possibilités d'interactions avec les silanols libres de la surface de support.

II-4. Rétention chromatographique

La CLHP-phase inverse est une des méthodes d'analyse les plus utilisées dans la séparation des molécules en solution (80 % à 90 % des systèmes actuels). Différents types de phases stationnaires et mobiles sont utilisés, d'où l'existence de multiples théories traitant de la rétention: théorie solvophobe (Horvath *et al.*, 1976), théorie de partage (Dill 1987), théorie statistique du réseau cristallin (Martire et Boehm, 1983)

Nous présenterons ici les principales d'entre elles en essayant d'en appliquer certaines au fractionnement de la MGLA en milieu hydrophobe.

La rétention chromatographique implique un processus de transfert de soluté de la phase mobile dans ou sur la phase stationnaire. Le transfert de soluté est caractérisé par un changement de l'environnement à la surface de la molécule de soluté : initialement, le soluté est entouré par les molécules de solvant, puis il l'est complètement ou partiellement par les molécules de la phase stationnaire voisine. La difficulté de modélisation de la rétention en CLHP-phase inverse apparaît en raison de l'ignorance de la nature physique des phases stationnaires (Sander et Wise, 1987). Nous avons vu plus haut que les phases monomériques ne sont ni liquides ni solides, mais possèdent des propriétés intermédiaires. D'une part, la liberté rotationnelle et translationnelle est réduite dans la phase stationnaire si on la compare à un liquide, d'autre part, la formation d'un réseau dense n'apparaît pas complètement identique à celle d'un solide. Pour ces raisons, les modèles de partition et d'adsorption simples ne sont pas satisfaisants pour expliquer la rétention. Cela n'empêche pas Dorsey et Dill (1989) de dire que l'association du soluté avec la phase mobile comporte une partition, une adsorption ou les deux phénomènes simultanés.

II-4.1. Théorie solvophobe et (ou) hydrophobe

La rétention serait en premier lieu due aux interactions hydrophobes entre la phase mobile et le soluté (Horvath *et al.*, 1976 ; Melander *et al.*, 1978 ; Melander et Horvarth, 1980), puis elle se poursuivrait par adsorption au lieu d'une partition. On considère la phase stationnaire comme un accepteur passif plutôt qu'un attracteur actif pour le soluté. La

rétenion serait alors due à la formation d'un complexe greffon-soluté. Cet effet serait contrecarré par des forces attractives (Van Der Waals) entre soluté et solvant. Les forces attractives entre le soluté et la phase stationnaire étant considérées comme faibles, la rétenion hydrophobe serait attribuée au seul effet solvant. A noter que l'effet hydrophobe est la tendance des molécules non polaires à minimiser leur contact avec l'eau, soit en créant une phase séparée, soit par sorption des molécules sur des surfaces non polaires. On peut considérer que la rétenion hydrophobe est dirigée par l'entropie du système, parce que la formation de "cavités" d'eau autour des molécules non polaires représente une dépense d'énergie considérable pour réduire l'ordre, aussi les molécules de soluté ont-elles tendance à s'agréger ou à être expulsées de la solution (Sander et Wise, 1987).

Cette théorie décrit un mécanisme de rétenion en deux étapes : la formation d'une cavité de la taille du soluté dans la phase mobile, puis le transfert du soluté vers la cavité. La force motrice de la rétenion correspond à la variation d'énergie libre de l'association. La rétenion, dans la théorie solvophobe, est reliée à la tension superficielle du solvant (Horvath *et al.*, 1980). Dorsey et Dill (1989) estiment à sa juste valeur la théorie hydrophobe, mais ils pensent qu'elle serait fondée sur un modèle incorrect. En effet, cette théorie suppose que la rétenion peut être modulée selon les termes d'une association de deux solutés dans un seul solvant, au lieu du transfert d'un soluté d'un solvant à un autre. Cela signifie que la théorie solvophobe ne prend pas en considération les interactions du soluté avec le deuxième solvant, pas plus que la cavité de la phase stationnaire, mais seulement la cavité de la phase mobile.

Le soluté (ligand A), forme un complexe réversible avec les chaînes hydrocarbonées de la phase stationnaire (ligate L). Le processus est gouverné par l'équilibre et caractérisé par la constante d'équilibre K.



$$K = \frac{[AL]}{[A][L]} \quad (\text{II-12})$$

La variation d'énergie libre ΔG° correspondant à cet équilibre est donnée par l'équation

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K = \Delta G^\circ_{AL} - \Delta G^\circ_A + \Delta G^\circ_L + \Delta G^\circ_r \quad (\text{II-13})$$

Le ΔG°_x représente l'énergie d'interaction de l'espèce X avec le solvant (X= A, L, AL) et un ΔG°_r correspondant au changement d'énergie dû à l'interaction entre A et L dans une phase gazeuse hypothétique.

En fait, le processus d'association peut être divisé en deux parties:

a) Interaction entre le soluté (A) et le ligate (L, phase stationnaire) pour former un complexe dans une phase gazeuse hypothétique en l'absence de tout solvant, donnant une variation d'énergie libre $\Delta\Delta G^\circ_{\text{assoc.gaz}}$. Il existe seulement des interactions de type Van der Waals.

$$\Delta G^\circ_r = \Delta\Delta G^\circ_{\text{assoc.gaz}} = (\Delta\Delta G^\circ_{\text{AL}} - \Delta G^\circ_{\text{A}} - \Delta G^\circ_{\text{L}})_{\text{ga}} \quad (\text{II-14})$$

b) Effet du solvant (S) sur les espèces libres ou associées

$$\Delta\Delta G^\circ_{\text{net solvant}} = \Delta G^\circ_{\text{net AL-S}} - \Delta G^\circ_{\text{net LS}} - \Delta G^\circ_{\text{net A-S}} \quad (\text{II-15})$$

$$\Delta\Delta G^\circ_{\text{assoc. solvant}} = \Delta\Delta G^\circ_{\text{assoc gaz}} + \Delta\Delta G^\circ_{\text{net solvant}} \quad (\text{II-16})$$

L'effet du solvant peut lui-même être décomposé en quatre contributions selon Melander et Horvath (1980) figure (II-2)

a) Création d'une cavité de la taille du soluté dans le solvant, à laquelle correspond une variation d'énergie libre $\Delta\Delta G^\circ_{\text{net. cav}}$

b) Passage du composé de la phase gazeuse à la solution. Ceci s'accompagne d'une réduction du volume libre, dont la contribution est donnée par $-RT \ln \frac{RT}{P_0 V_s}$

c) Interactions soluté-solvant par l'intermédiaire de forces de Van der Waals ($\Delta\Delta G^\circ_{\text{net vdw}}$), proportionnelles à la surface des molécules.

d) Interactions soluté-solvant par l'intermédiaire de forces électrostatiques ($\Delta\Delta G^\circ_{\text{net es}}$). Ceci englobe les interactions dipôle-dipôle, dipôle-dipôle induit, charge-dipôle induit.

Alors, la variation d'énergie due à l'effet solvant est la suivante :

$$\Delta\Delta G^\circ_{\text{net solvant}} = \Delta\Delta G^\circ_{\text{net cav.}} - RT \ln(RT/P_0 V_s) + \Delta\Delta G^\circ_{\text{net vdw}} + \Delta\Delta G^\circ_{\text{net es}}. \quad (\text{II-17})$$

$$(1) \quad (2) \quad (3) \quad (4)$$

$$\Delta\Delta G^\circ_{\text{net cav.}} = -N A_s \gamma (\chi^e - 1) - N \gamma \Delta A \quad (\text{II-18})$$

$$\ln K' = \ln \phi + \frac{1}{RT} \left[Ws + \Delta A (as + N\gamma) + NAs \gamma \left(\chi e - 1 \right) - \frac{\Delta Z}{\varepsilon} \right] + \ln \frac{RT}{P_0 V_s} \quad (\text{II-19})$$

Où N est le nombre d'Avogadro, γ la tension superficielle macroscopique du solvant a_s , χ^e le facteur d'ajustement de γ de l'état macroscopique à l'état moléculaire, A_s l'aire moléculaire de la surface, ΔA le facteur de réduction de la surface de contact du complexe (soluté-greffon) par rapport à la somme des surfaces de contact du greffon et du soluté isolé dans le solvant ($\Delta A = A_A + A_L - A_{AL}$), ε la constante diélectrique et Ws , a_s des constantes caractéristiques du solvant. Melander et Horvath (1980), expriment les variations de K' à partir de paramètres physico-chimiques caractéristiques du solvant, de la phase stationnaire et

du soluté considéré. Mais le terme associé à la formation de la cavité dans le solvant est le terme prédominant de la rétention du soluté. En conséquence, la tension superficielle du solvant joue un rôle très important sur la rétention en chromatographie liquide.

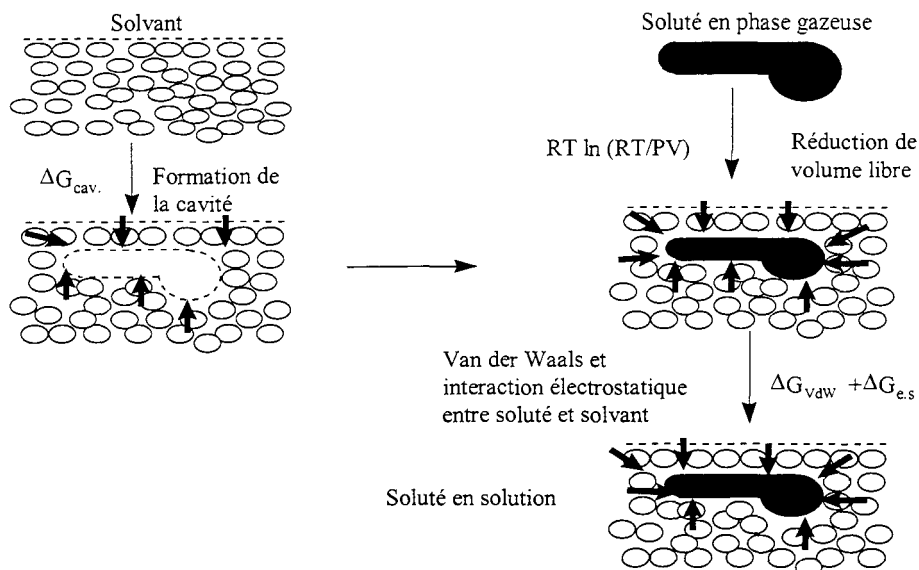


Figure II-2 Représentation schématique des différents termes constituant l'effet de solvant (d'après Melander et Horvath, 1978)

Selon Héron et Tchaplà (1994), la théorie solvophobe permet de corroborer des observations expérimentales. Elle offre la possibilité de prédire et d'interpréter la variation de rétention chromatographique en fonction des modifications de composition du solvant ou de structure moléculaire des solutés. Mais elle ne permet pas de répondre à une question que l'on peut poser à propos du mécanisme physique par lequel l'interaction se développe : "est-ce de l'adsorption ou du partage ?"

Mais Dill (1987) considère que cette théorie est incorrecte parce qu'elle module la rétention en termes d'association de deux molécules de soluté à un seul solvant. Elle ne prend pas en considération la formation d'une cavité dans la phase stationnaire. La théorie solvophobe prédit que la rétention est indépendante de la nature de cette phase. De plus, la force motrice de transfert du soluté dans la théorie solvophobe est dépendante de la température. A température ambiante c'est l'entropie qui dirige le système, mais à température plus élevée c'est l'enthalpie.

Woodburn *et al.* (1992) trouvent des résultats sur le comportement thermodynamique des solutés non polaires semblables à ceux prédits par la théorie solvophobe.

II-4.2. Théorie de la dynamique des réseaux moléculaires

La théorie des réseaux moléculaires a été élaborée parce que les chaînes greffées de la phase stationnaire ont la même organisation que les interphases (Dill, 1987). Les interphases se divisent en agrégats de surfactants, en monocouches, bicouches, micelles et microémulsions. Les interphases sont composées de chaînes ayant une extrémité reliée à une interface et une densité de surface suffisamment élevée pour que les contraintes conformationnelles des chaînes soient très strictement définies. Deux grandeurs ont été définies pour établir un modèle correspondant au phénomène de la dynamique des réseaux moléculaires :

- Le travail w_{xy} nécessaire pour amener au contact deux molécules X et Y
- Le nombre de contacts rompus et créés lors du processus.

La théorie des réseaux définit le nombre de coordination z comme étant le nombre de chaque molécule. On doit considérer la variation de z dans l'état initial et dans l'état final. Dorsey et Dill (1989) ont proposé deux mécanismes de transfert, le partage et l'adsorption. Dans les deux cas, le transfert est caractérisé par un changement d'environnement du soluté.

II-4.2.1. Mécanisme de partage

Ce modèle est le premier à prendre en considération l'effet de l'organisation de la phase stationnaire sur la rétention. La phase stationnaire est décrite par Martire et Boehm (1983) comme une phase "respirante" qui peut s'élargir ou s'effondrer selon la composition de la phase mobile. Le modèle de partage est considéré comme le plus simple parce que la phase stationnaire est un milieu liquide amorphe. La rétention est caractérisée par des coefficients de partition entre huile et eau. Dans ce cas, Dill considère que la principale force motrice pour le transfert du soluté est son affinité chimique pour la phase mobile et la phase stationnaire. Dans ce processus, le soluté s'entoure d'abord de molécules de solvant (S), puis après le transfert, il est entouré de molécules de la phase stationnaire (L).

Dans le processus de partage, le transfert des solutés implique trois étapes :

- a) création d'une cavité de la taille du soluté dans la phase stationnaire
- b) transfert du soluté dans cette cavité à partir de la phase mobile.
- c) Fermeture de la cavité dans la phase mobile.

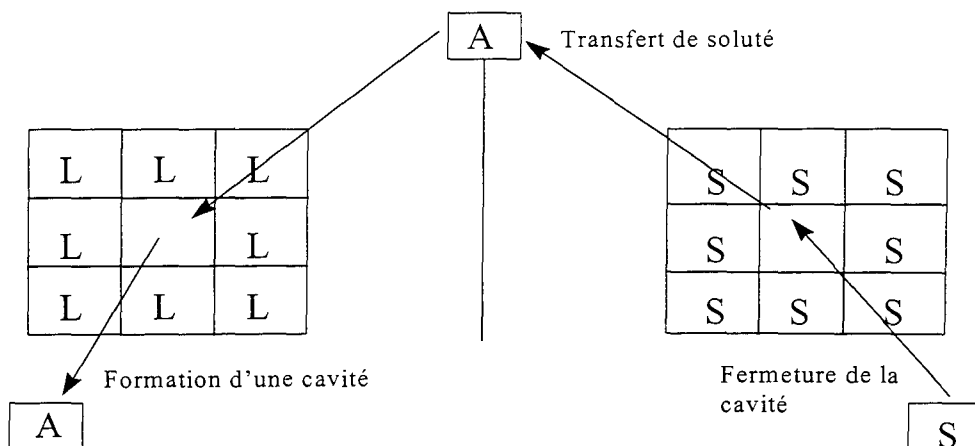


Figure II-3 Schéma du processus de partage. La molécule de soluté A est transférée de la phase mobile S dans la phase stationnaire L. (Dorsey et Dill, 1989)

Ces trois étapes peuvent être décrites en termes d'interactions moléculaires:

- La création de la cavité dans la phase stationnaire L est associée à une énergie libre $((-z/2)W_{LL})$, car le travail nécessaire à l'éloignement des deux molécules de la phase stationnaire est $-W_{LL}$ ce qui laisse $z/2$ paires de côté, sans contact.
- La fermeture de la cavité dans la phase mobile S est $(z/2)W_{ss}$
- Le transfert du soluté de la phase mobile à la phase stationnaire entraîne une variation d'énergie libre $(W_{AL} - W_{As})$

Alors, le processus complet de transfert du soluté décrit par Dill (1987) obéit à l'équation suivante :

$$\frac{\Delta\mu^\circ}{RT} = \frac{z}{RT} \left(W_{AL} - W_{As} + \frac{W_{ss}}{2} - \frac{W_{LL}}{2} \right) = \chi_{AL} - \chi_{As} \quad (\text{II-20})$$

Le processus de rétention est conduit par :

1. la différence d'énergie libre de contact du soluté dans la phase mobile et la phase stationnaire
2. l'arrangement partiel des chaînes alkyles greffées, conduisant à une expulsion du soluté de la phase stationnaire à haut taux de greffage.

χ_{xy} peut être exprimé avec une bonne approximation à partir des paramètres de solubilité (δ) des molécules en interaction et du volume molaire moyen V

$$V_{\text{moy.}} = (V_x + V_y)/2 \quad (\text{II-21})$$

$$\chi_{xy} = V_{\text{moy}}/RT (d_x - d_y)^2 \quad (\text{II-22})$$

χ_{xy} est une grossière approximation, surtout lorsque d'autres forces que les interactions de dispersion se manifestent.

La relation (II-20) n'est vérifiée qu'à condition que les molécules soient mélangées au hasard et que le ligand soit de taille voisine à celle du solvant.

Si le ligand occupe n sites l'équation (II-20) est modifiée pour tenir compte des contacts rompus et créés, alors:

$$\ln K = \frac{-\Delta\mu}{RT} = n (\chi_{AS} - \chi_{AL}) \quad (\text{II-23})$$

$$\chi_{xy} = \frac{z-2}{RT} \left(W_{xy} - \frac{W_{xx} + W_{yy}}{2} \right) \quad (\text{II-24})$$

La force motrice de transfert du soluté est due à la nature de l'interaction W_{xy} entre molécules de soluté et de solvant voisines. Différentes forces contribuent à W_{xy} , il s'agit d'un travail réversible pour la formation d'interactions attractives non covalentes. Les forces motrices de transfert du soluté sont induites par la nature des paires d'interactions entre soluté et solvant: interactions électrostatiques, Van der Waals, liaisons hydrogène et interactions hydrophobes quand le solvant est aqueux.

Lorsque la phase mobile est un mélange de deux solvants (S_w , S_0), la constante d'équilibre est une fonction quadratique de la composition de la phase mobile.

$$n^{-1} \ln K = (\chi_{ASw} - \chi_{AL}) + \phi_{S0} (\chi_{AS0} - \chi_{ASw} - \chi_{SwS0}) + \phi_{S0}^2 \chi_{SwS0} \quad (\text{II-25})$$

$$(1/\phi_{S0}) \ln(K'/K^0) = n (\chi_{AS0} - \chi_{ASw} - \chi_{SwS0}) + \phi_{S0} \chi_{SwS0} \quad (\text{II-26})$$

où ϕ_{S0} : fraction volumique du solvant organique, K^0 : facteur de capacité du soluté dans l'eau pure.

Selon Dorsey et Dill (1989) le modèle de partage permet de prédire les conséquences de différents paramètres sur la rétention, en supposant un mélange aléatoire.

- La rétention doit être proportionnelle au logarithme du coefficient de partage (phase aqueuse - hydrocarbure) du soluté étudié.
- Le coefficient de rétention dépend linéairement de la taille de la molécule de soluté. Comme la cavité formée est proportionnelle à la taille du soluté, alors $\ln K'$ en fonction de n_c est linéaire.
- La tension superficielle d'une phase mobile pure (γ_A) est reliée au travail nécessaire à l'éloignement de deux molécules de solvant.

$$\gamma_A = W_{AA}/2a \quad (\text{II-27})$$

a : surface unitaire de contact

Tout ceci indique que $\ln K$ et $\ln K'$ varient proportionnellement avec la tension superficielle de la phase mobile.

– Les facteurs qui changent les solubilités (χ), affectent la rétention de la même manière.

Selon Dorsey et Dill (1989), la partition constitue le principal mécanisme de rétention, car l'adsorption ne dépend pas du taux de greffage, mais du coefficient de partage $\ln K'$ fonction de $\ln P$. En outre, à partir de la mesure de la pente de la rétention en fonction du coefficient de partage huile/eau (P), on observe que l'adsorption domine dans certains cas, comme pour les chaînes greffées courtes où à très haute densité de greffage. Dans le cas d'un partage, la pente est égale à 1, alors qu'elle est seulement de 1/6 pour l'adsorption. Plusieurs auteurs se sont penchés sur l'étude de la rétention du soluté en CLHP-phase inverse. La rétention est considérée comme l'un des processus les plus difficiles à expliquer et l'un des plus controversés. Wise et Sander (1985) considèrent que le modèle de partition simple ne donne aucune description satisfaisante de la rétention. Mais selon Sentell et Dorsey (1989), le mécanisme de rétention se ferait par partage. Ces auteurs ont privilégié un mécanisme de partage au lieu d'un mécanisme d'adsorption, parce que les deux forces responsables de la partition du soluté dans l'interphase sont, d'une part, une force provenant de l'organisation des chaînes due à des contraintes interfaciales et, d'autre part, une force due au changement d'environnement du soluté. Tchaplal *et al.*, (1984) ont trouvé une discontinuité de $\log K'$ en fonction de n_c pour une série homologue quand n_c est voisin du nombre de carbones des greffons n_{bp} . Ceci indique que les molécules de soluté semblent pénétrer verticalement dans la couche greffée.

II-4.2.1.1. Les limites du modèle de partage

Le mécanisme de rétention proposé par Dorsey et Dill (1989) est basé sur une simplification : la phase stationnaire est considérée comme un liquide amorphe et homogène, mais en réalité les chaînes dans la phase stationnaire ont des contraintes conformationnelles. Les différentes contraintes conduisent à des chaînes greffées bien ordonnées par rapport aux chaînes en phase liquide. Cet ordonnancement des chaînes greffées n'implique pas forcément que celles-ci soient en forme de bâtonnet rigide (figure II-1). En effet, les chaînes greffées présentent plusieurs états rotationnels et conformationnels.

La théorie des réseaux proposée par Dorsey et Dill (1989) prévoit deux principales possibilités de conformation des chaînes greffées:

1- Quand la densité de greffage est supérieure à un seuil de densité de greffage ($1/3$ de la valeur maximale), la théorie prédit un gradient de désordre : lorsqu'on est proche de la surface de la silice, les chaînes sont ordonnées, mais lorsque on s'en éloigne, le désordre augmente.

2- Une augmentation de la densité de greffage augmente l'ordre des chaînes. On a moins d'interactions latérales et plus de liaisons axiales.

Lors de l'insertion du soluté dans une phase partiellement ordonnée, on assistera à un accroissement de l'ordre des chaînes avec, par conséquent, un soluté qui ne parvient pas jusqu'à la surface de silice. Par ailleurs, on a pu montrer que cette insertion du soluté est entropiquement défavorable. Sur une surface hautement greffée, le soluté sera expulsé de la phase stationnaire en raison de l'effet entropique défavorable et le mécanisme d'adsorption sera privilégié. Pour une surface faiblement greffée, la partition augmente linéairement avec la densité de greffage et le coefficient de partage atteint un maximum quand les interactions entre chaînes voisines deviennent importantes.

II-4.2.2. Mécanisme d'adsorption

Ce mécanisme se fonde sur l'adsorption du soluté à la surface de la phase stationnaire. Le processus peut être aussi décomposé en trois étapes (figure II-4):

- 1- Création d'une cavité sur la phase stationnaire.
- 2- Transfert du soluté dans cette cavité à partir de la phase mobile.
- 3- Fermeture de la cavité dans la phase mobile.

Si on applique la théorie des réseaux, la condition d'équilibre chimique du soluté (A) à dilution infinie, échangé entre une solution diluée en solvant (S) et l'adsorption sur la phase stationnaire, est la suivante :

$$\mu_{ad.}(A) - \mu_{mob.}(A) = \mu_{ad.}(S) - \mu_{mob.}(S) \quad (II-28)$$

La constante d'équilibre est présentée en termes de paramètres d'interactions binaires χ_y

$$\ln K = \frac{W_{AS} + W_{SL} - W_{SS} - W_{AL}}{RT} = \frac{1}{z} (\chi_{SL} - \chi_{AL} + \chi_{AS}) = \frac{-\Delta\mu^o}{RT} \quad (II-29)$$

$1/z$: une seule face voit son environnement changer

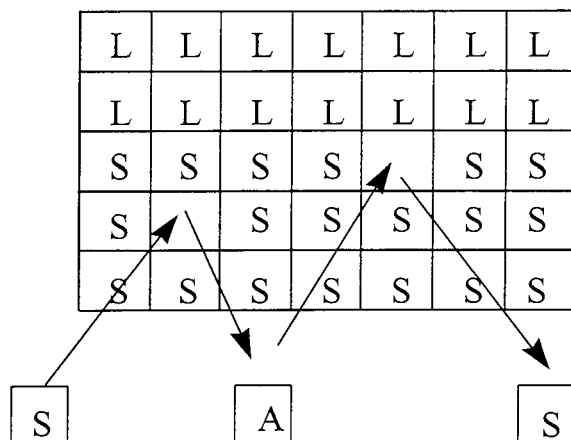


Figure II-4 Schéma du processus d'adsorption (Tchapla *et al.*, 1993)

Colin et Guiochon (1978) semblent en faveur de ce mécanisme. En effet la comparaison des coefficients de partage K de différents solutés mesurés avec des phases greffées, montre qu'ils sont toujours inférieurs à ceux obtenus en utilisant les alcanes purs correspondants et pour lesquels seul le mécanisme de partage est envisageable.

Cependant, selon Dorsey et Dill (1989), un mécanisme d'adsorption ne devrait pas dépendre de la longueur de la chaîne greffée ni de la densité de greffage. Une observation expérimentale a été réalisée par Cole et Dorsey (1992). Cette contradiction apparente peut être expliquée par le fait qu'une phase fortement greffée correspond à un milieu ordonné, ce qui entraîne des phénomènes d'expulsion du ligand. Dorsey et Dill ont montré que le coefficient de partage des ligands présente une variation en fonction de la densité de greffage, il passe par un maximum. Ils ont aussi proposé que les chaînes greffées soient très courtes. Tchapla *et al.* (1984), lors de l'étude de la rétention de solutés appartenant à des séries homologues, n'observent pas de régularité dans les courbes de $\log K' = f(nc)$, ce qui infirme le mécanisme d'adsorption.

Tous les mécanismes que nous avons décrits sont basés sur la théorie des réseaux moléculaires élaborée par Dorsey et Dill (1989). On a vu que la phase stationnaire joue un rôle très important et très compliqué dans le mode de rétention. Il existe encore plusieurs autres modèles traitant du mécanisme de rétention.

II-4.3. Autres modèles sur le mécanisme de rétention

1- Lochmüller et Wilder (1979)

La rétention serait due à une intercalation de soluté entre les chaînes alkyles dans les gouttelettes de liquide. Il y aurait alors une interaction tridimensionnelle entre soluté et phase stationnaire. Ceci est seulement vrai quand on utilise un soluté de petite taille et des chaînes alkyles assez longues avec une densité suffisante pour couvrir le soluté. Dans le cas où le mécanisme de partition prédomine, les greffons n'ont pas le pouvoir de solvater complètement les solutés de grande taille et il reste alors une partie de soluté à l'extérieur de la phase stationnaire. Si on augmente la longueur des greffons on obtiendra une meilleure solvation.

2- Berendson et De Galan (1980):

La phase mobile a le premier rôle et la phase stationnaire a un rôle secondaire. Il existe un nombre critique de carbones sur les greffons, ce qui implique que le soluté va réagir seulement avec une partie des greffons. Selon ces auteurs, il y aurait solvation de la phase stationnaire par la phase mobile, ce qui va induire un gonflement avec extension des chaînes greffées. Les auteurs admettent que la théorie solvophobe explique mieux la rétention, mais que la pénétration est mieux décrite par une absorption où par un processus d'adsorption.

3- Jaroniec (1993):

Selon Jaroniec, le processus de rétention du soluté est très complexe. La description de la rétention par partition et adsorption ou déplacement est insuffisante. Il propose un modèle combiné de partition et de déplacement dans lequel une phase stationnaire-solvant serait formée par un mécanisme de déplacement, la distribution du soluté serait effectuée par le mécanisme de partage.

Le déplacement est un processus qui se produit à l'interface solide-liquide où le soluté migre de la phase mobile vers l'interface et déplace les molécules de solvant adsorbées physiquement sur l'interface. Le déplacement, appelé adsorption compétitive, est contrôlé par la différence d'énergie libre de sorption entre soluté et solvant. Ce processus serait dominant dans une chromatographie normale. Pour en faire un modèle rigoureux, il faut prendre en considération :

1- La formation d'une nouvelle phase constituée de la surface de la phase stationnaire et du solvant.

2- La distribution du soluté entre la phase mobile et la nouvelle phase (surface phase stationnaire-solvant)

4- Tchaplal *et al.* (1993)

Le mécanisme de rétention est fonction de la phase stationnaire qui est un milieu dynamique (Carr et Harris, 1986 ; 1989). La structure moléculaire d'une silice greffée change en fonction des conditions opératoires en CLHP-phase inverse, donc la rétention varie selon les conditions expérimentales.

Si la phase stationnaire est monomérique, il y aura insertion de soluté à l'intérieur du réseau de chaînes avec apparition d'un contact étroit entre les molécules de soluté et les greffons. Le soluté va déplacer le solvant et le remplacer. Ce phénomène d'interaction se développe tant que le nombre de carbones du soluté (n_c) est inférieur à celui des greffons (n_{bp}). La tête polaire du ligand reste à l'extérieur dans le volume macroscopique et ne réagit pas avec les silanols résiduels. Pour une série homologue ou $n_c < n_{c\text{critique}}$, on observera un léger compactage de la chaîne de soluté, chaque méthylène supplémentaire n'ayant pas la même contribution que le précédent. Pour un soluté possédant un $n_c > n_{c\text{critique}}$, on observera un accroissement de certaines conformations conduisant à un contact moins étroit avec la phase stationnaire est moins fort que précédemment. Le soluté se pelotonne entre les greffes. On aura un accroissement du désordre dans la phase stationnaire, une augmentation brusque de l'entropie de transfert avec diminution simultanée de l'enthalpie de transfert. En réalité, pour les chaînes très longues, l'insertion totale des molécules de soluté à l'intérieur de la phase stationnaire n'est pas possible. Pour la partie du ligand qui reste à l'extérieur, le contact interchaînes soluté-greffon se fait superficiellement sur les méthyles terminaux du soluté, ce qui conduit à une sélectivité approximativement constante quand le nombre de carbones (n_c) augmente. La phase peut être représentée globalement par une structure en taillis (Lochmüller et Wilder, 1979). Il y aura un mécanisme de partage pur, dû à la solubilisation du soluté et conduisant à son engluement total dans la phase stationnaire dont les mouvements plus lents et plus réduits vont favoriser les contacts soluté-greffons. Plus la température augmente, plus les mouvements des greffons sont rapides, ce qui va favoriser l'immersion du soluté jusqu'à la surface de la silice. Selon Wise et Sanders (1985), la phase polymérique est plus rigide et plus étendue que la phase monomérique ce qui lui donne une meilleure sélectivité et une meilleure capacité de séparation.

II-4.4. Rétention des triglycérides en CLHP phase inverse

La compréhension de la rétention des TGs en CLHP-phase inverse est d'une importance capitale dans notre étude. Nous allons tenter d'appliquer cette théorie à la filtration de la MGLA en utilisant différents types de supports, dans le but d'optimiser le fractionnement des TGs.

La rétention chromatographique des TGs a été détaillée dans le travail de Thévenon (1986). L'auteur a étudié la rétention sur une phase monomérique en utilisant le couple acétonitrile/chloroforme à différentes concentrations. Il a montré que les TGs pénètrent dans les greffons par leurs trois chaînes d'AGs, le résidu glycéryl demeurant à l'extérieur. Les AGs ne pénètrent pas de façon équivalente, en général, 4 groupes méthylènes restent hors des greffons à cause de l'encombrement dû aux groupements carbonyles.

Ce comportement est possible parce que les TGs sont en solution avec rotation libre des liaisons dans la molécule qui, de plus, se trouve à une interface polaire-apolaire (solvant-greffon). En effet, une conformation particulière du glycérol peut être envisagée, dans laquelle les trois atomes d'oxygène engagés dans les fonctions carbonyles s'orientent tous dans le même sens (Bursh *et al.*, 1968 ; Dorset *et al.*, 1978). Cette disposition faciliterait une interaction maximum des chaînes grasses avec la phase apolaire. En outre, il faut considérer la conformation des doubles-liaisons présentes dans les TGs en fonction des conditions opératoires (température et solvant). En général, la présence d'insaturations dans un soluté conduit à une diminution de sa rétention. L'intensité de cette diminution dépend, à la fois de la phase stationnaire et de la phase mobile. Lorsque la phase stationnaire est saturée, l'insaturation du soluté défavorise le placage de celui-ci le long des greffons et sa rétention diminue. Il y aura apparition d'interactions π - π entre le soluté et le solvant. Par contre, lorsque la phase stationnaire est insaturée, un soluté possédant des électrons π interagit avec ceux de la phase stationnaire, la diminution de la rétention est donc moins grande que dans une phase saturée. Lorsque le solvant peut lui aussi réagir avec des sites insaturés, il y a alors compétition entre les trois éléments: soluté-greffons-phase mobile.

II-4.5. Hydrophobicité et CLHP phase inverse

L'hydrophobicité d'un composé est sa tendance relative à être peu soluble dans l'eau et facilement soluble dans presque tous les solvants apolaires (Tanford, 1980). Mais il s'agit aussi de la capacité d'agrégation des solutés apolaires dans l'eau, de l'impossibilité de mouiller ces substances avec l'eau et même de la tendance de quelques substances à se

distribuer inégalement entre l'eau et une autre phase ou interface. L'hydrophobicité joue un rôle très important dans les phénomènes physico-chimiques, biologiques et environnementaux. L'expulsion d'un soluté apolaire d'une solution aqueuse est due à son interaction énergétiquement défavorable avec la molécule d'eau. C'est ce que l'on appelle "l'effet hydrophobe". Celui-ci correspond à la force motrice dans le processus de distribution liquide-liquide, il intervient dans la formation des micelles, dans le transport passif membranaire et dans la sorption de sols. L'hydrophobicité d'un soluté s'exprime généralement par un coefficient de partage (P), dérivé de l'étude de la distribution d'un composé entre l'eau et un solvant apolaire non miscible. Le coefficient de partage est généralement obtenu dans un système de partage eau/n-octanol. On a tenté d'expliquer l'hydrophobicité de différentes façons. Qualitativement, l'effet hydrophobe augmente selon le principe de similitude, ce qui suggère que des molécules vont interagir à condition qu'elles aient des caractéristiques structurales et chimiques communes, ou par des interactions particulières avec l'eau. L'hydrophobicité a été également expliquée par l'intermédiaire des interactions de Van der Waals.

Il est établi que la chromatographie peut fournir des informations quantitatives sur l'hydrophobicité des molécules de soluté en considérant la rétention dans un système de chromatographie de partage comme un processus d'équilibre dynamique (Martin et Singe, 1941). Avec le développement de la CLHP, des résultats précis peuvent être obtenus en utilisant des phases stationnaires et mobiles appropriées (Hubert *et al.*, 1972 ; 1973). Une corrélation entre $\log K'$ et $\log P$ existe en fonction des solvants. Une relation générale entre $\log K'$ et $\log P$ pour différents solutés existe également pour les facteurs de capacité déterminés dans le couple méthanol/eau (Braumann, 1986). Cependant, les résultats obtenus par différents chercheurs indiquent que l'expression de l'hydrophobicité exprimée selon $\log K'$ et $\log P$ est relative, cette relation ne peut être extrapolée en raison de la variabilité de la phase stationnaire, de la fraction volumique et de la structure du soluté.

III- Fractionnement membranaire de la matière grasse laitière

Comme nous pouvons l'envisager, à la lumière de ce qui a été dit plus haut, la MGLA doit posséder un certain nombre de propriétés physico-chimiques liées à sa composition en triglycérides. Sa grande diversité en espèces triglycéridiques lui confère un domaine de fusion et de cristallisation très large, ce qui peut être considéré comme limitant dans l'industrie de la MG. Un moyen de surmonter certaines limites industrielles de la MGLA est de procéder à son fractionnement. En effet, elle peut être considérée comme constituée de trois fractions : Bas Point de Fusion (FBPF), Moyen Point de Fusion (FMPF), et Haut Point de Fusion (FHPF). Industriellement, la séparation de ces trois fractions, puis leur mélange en proportions adéquates permet de réaliser des beurres aux caractéristiques souhaitées. Au niveau du laboratoire, il est nécessaire d'avoir une meilleure compréhension du comportement thermique, du polymorphisme des cristaux, ainsi qu'une bonne modélisation de la composition triglycéridique.

Le fractionnement est un processus purement physique, qui n'affecte pas la nature chimique des composants de la MGLA, mais qui permet de séparer différentes fractions en fonction de leurs propriétés thermiques. Voici quelques applications (non exhaustives) des fractions en technologie alimentaire :

- Incorporation de FBPF dans le lait en poudre pour améliorer sa restructuration.
- Utilisation de FBPF pour améliorer la tartinabilité du beurre.
- Utilisation de FHPF en pâtisserie et pour l'amélioration des propriétés du beurre de cacao.

Il existe plusieurs procédés de fractionnement. On peut les rassembler en trois grands groupes :

1- Procédés basés sur le comportement à la cristallisation par abaissement progressif de la température, ou par dissolution dans un solvant.

2- Procédés basés sur la solubilité des composants de la MGLA : extraction par fluide supercritique et distillation moléculaire.

3- Procédé de fractionnement membranaire en milieu fondu, développé par le Laboratoire de Physicochimie et Génie Alimentaires de l'ENSAIA (LPGA).

Nous développerons seulement les méthodes de fractionnement par abaissement de la température et par fractionnement membranaire. Deux thèses sur le fractionnement membranaire ont été réalisées par l'équipe du LPGA (Bornaz, 1993 et Diagana, 1997), un

procédé industriel a été breveté, optimisé et est en cours d'application pour la fabrication de beurres dotés de caractéristiques physicochimiques particulières. Le but de notre travail est de contribuer à modéliser les interactions entre les composants de la MGLA et les membranes-supports utilisées, ainsi que les interactions entre les composants eux-mêmes.

III-1. Fractionnement par cristallisation de MG fondue

Connu sous le nom de *fractionnement sec* à cause de l'absence de solvants ou d'additifs, ce procédé de fractionnement est basé sur le comportement de la MG en fonction de la température. La MG est maintenue à une température donnée pour permettre une cristallisation partielle, puis les fractions sont séparées physiquement (Hamm, 1995) par filtration sous vide ou centrifugation. Le fractionnement peut être réalisé en une seule étape donnant une fraction liquide (appelée Oléine) et une fraction solide (appelée Stéarine). Les fractions obtenues en une seule étape de fractionnement montrent des changements graduels de caractéristiques physiques et chimiques en relation avec la température de fractionnement. On peut éventuellement procéder au fractionnement ultérieur des fractions obtenues.

III-1.1. Cristallisation de la MGLA

La cristallisation de la MGLA a été discutée au chapitre I. Mais il faut insister sur le fait que le phénomène à l'origine de la cristallisation (nucléation et croissance des cristaux), ainsi que les caractéristiques des cristaux (morphologie et taille) restent identiques dans les différents procédés. La cristallisation de la MGLA dans les procédés de fractionnement a été étudiée par plusieurs auteurs (Shaap et Van Beresteyn, 1970 ; Kuzdzal-Savoie et Saada, 1978; Rajah, 1991 ; Deffense, 1993. Elle peut être divisée en plusieurs étapes générales :

1) préparation de la MGLA initiale ; 2) refroidissement à la température désirée ; 3) cristallisation ; 4) séparation de la phase solide de la phase liquide.

La MGLA est initialement chauffée approximativement à 60°C et maintenue à cette température pendant 30 minutes pour éliminer toute "l'histoire thermique" qui pourrait influencer la cristallisation en cours. Le fractionnement de la MGLA est réalisé sous conditions expérimentales contrôlées.

III-1.2. Influence des facteurs technologiques sur la cristallisation

Le processus de fractionnement est le résultat d'interactions complexes entre la composition chimique et le comportement à la cristallisation de la MGLA, combinés à des

facteurs technologiques contrôlés, tels que la vitesse de refroidissement, la température et l'agitation (Black, 1975 ; Deffense, 1987 ; Brodin ; 1989 ; Hamm, 1995).

III-1.2.1. Température de cristallisation

La température de fractionnement influence non seulement le comportement à la cristallisation, mais aussi le comportement à la fusion, la composition chimique et le rendement des fractions (Black, 1973 ; Grall et Hartel, 1992). En effet, plus la température de fractionnement diminue, plus la fraction liquide est exempte de cristaux fondant à haut point de fusion. A basse température, on trouvera des impuretés liquides à bas point de fusion dans la fraction solide. On a rapporté qu'à des températures de fractionnement de 27 à 30°C, la croissance des cristaux est uniforme, mais à 25°C, des amas de grande taille se forment avec des particules petites et régulières (Dolezalek *et al.*, 1976). On note également un changement dans l'apparence des cristaux en fonction de la diminution de la température de fractionnement (Grall et Hartel, 1992). Les cristaux formés à 30°C sont constitués d'un agglomérat de structures en aiguille, alors que les cristaux formés à 20°C apparaissent comme un ensemble de petits agrégats étroits. A 15°C, les cristaux formés ressemblent plutôt à des sphères uniformes.

III-1.2.2. Vitesse de refroidissement

Ce facteur est primordial, car il détermine la taille et la nature des cristaux. Si le refroidissement est lent, de nombreux cristaux larges, stables (β') et bien différenciés apparaissent. Ces cristaux sont faciles à séparer de la phase liquide (Black, 1975 ; Deffense, 1987 ; 1989). Un refroidissement rapide favorise la formation de nombreux cristaux de petite taille (quelques nm) et conduit à la formation de cristaux mixtes avec augmentation de la viscosité. Les deux phénomènes contribuent à perturber la séparation (de Man, 1968 ; Deffense 1987 ; 1989). Le compromis consiste à conserver un refroidissement lent, mais avec agitation contrôlée du mélange.

Kankare et Antila (1974) ont observé que si la MGLA est refroidie lentement, des cristaux de sphérulite se forment. Si elle est refroidie rapidement, une solution sursaturée constituée de cristaux en aiguilles, déformés et ramifiés apparaît.

III-1.2.3. Vitesse d'agitation

La vitesse d'agitation influence la vitesse de cristallisation, la croissance des cristaux et l'efficacité de la séparation (Shaap et Van Berestejn, 1970 ; Dolezalek *et al.*, 1976). La

cristallisation étant un phénomène exothermique, la chaleur dégagée doit être évacuée par agitation. Celle-ci favorise la formation de cristaux grâce à une dissipation plus rapide de la chaleur de cristallisation. L'agitation doit rester modérée afin d'éviter la destruction des sphérulites. En effet, une faible agitation produit des cristaux incorporant moins de graisse liquide, ce qui induit la formation de cristaux plus distincts, donc plus faciles à séparer (Black, 1975 ; Hamm, 1995). Une vitesse d'agitation rapide produit des cristaux relativement uniformes, mais de petite taille, ce qui est partiellement dû au phénomène de cisaillement (Shaap et van Beresteyn, 1970)

D'autres facteurs influencent le fractionnement, tels que l'addition de germes, le sur-refroidissement, le temps de cristallisation et les cinétiques de cristallisation. Ces facteurs ont été traités par plusieurs auteurs (Voss *et al.*, 1971 ; Black, 1973 ; Dolezalek, *et al.*, 1976 ; Antila, 1979 ; Small, 1986 ; Grall et Hartell, 1992). La combinaison de tous ces paramètres doit donc être optimisée pour l'obtention de sphérulites de taille suffisante, ne contenant pas une trop grande quantité de MG liquide adsorbée ou emprisonnée et permettant la formation des cristaux de formes polymorphiques stables.

III-1.3. Caractérisation chimiques des fractions

Ce sont des fractions à très haut, haut, moyen et faible points de fusion (Amer *et al.*, 1985 ; Banks *et al.*, 1985 ; Fouad *et al.*, 1990). La température de fractionnement permet l'obtention d'une fraction recherchée (Tableau III-2). Plusieurs auteurs (Badings *et al.*, 1983 ; Lambelet, 1983 ; Fouad *et al.*, 1990) ont étudié la composition chimique des différentes fractions selon différentes méthodes d'analyse. Ils convergent vers la même conclusion : la différenciation chimique des fractions solides et liquides issues du fractionnement est limitée.

Tableau III-1 Intervalles de fractionnement de la MGLA (Amer *et al.*, 1985 ; Banks *et al.*, 1985 ; Fouad *et al.*, 1990, Diagana, 1997)

Fractions de MGLA	Intervalles de températures de fractionnement
fractions à très haut point de fusion	24 à 34°C
fractions à haut point de fusion	12 à 23°C
fractions à point de fusion moyen	11 à 25°C
fractions à faible point de fusion	4 à 15°C
fractions à très faible point de fusion	2 à 8°C

III-1.3.1. Composition en acides gras (AGs)

En général, pour un fractionnement en étapes multiples, plusieurs fractions solides et liquides sont obtenues (Amer *et al.*, 1985, Fouad *et al.*, 1990 ; Deffense,1993). Pour les fractions solides, on observe une diminution des AGs courts (C4-C8) et de l'acide oléique (C18:1), ainsi qu'une augmentation de la présence de certains AGs longs saturés (C16-C18) (Fouad *et al.*, 1990 ; Amer *et al.*, 1985) par rapport au produit de départ (tableau III-2).

Tableau III-2 Profils des acides gras de la matière grasse de beurre (composition en % poids) et ses fractions solides (S) et liquides (L) obtenues par fractionnement en étapes multiples (Fouad *et al.*, 1990). *29, 25, 21 et 17 sont les températures de fractionnement en °C

AGs	MGLA init.	S-29	L-29	S-25	L-25	S-21	L-21	S-17	L-17
4:0	5,05	2,06	5,32	3,84	6,25	3,84	7,93	3,87	6,98
6:0	3,07	0,90	2,30	2,14	3,52	2,05	3,93	2,19	3,93
8:0	1,38	0,67	1,25	1,16	1,43	1,00	2,11	1,17	1,57
10:0	3,24	2,31	3,11	2,57	3,29	2,82	3,60	2,95	3,35
12:0	3,47	3,35	3,58	3,35	3,54	3,48	3,48	3,50	3,36
14:0	11,13	12,81	11,65	12,50	11,39	12,21	10,73	12,23	10,79
16:0	27,53	36,58	29,35	34,61	28,28	32,32	26,17	31,84	26,69
18:0	10,79	16,52	10,94	14,93	10,50	3,17	9,38	12,69	9,36
18:1	22,41	16,08	22,93	16,50	21,96	20,17	22,63	20,22	24,13
18:2	1,70	1,16	1,70	1,13	1,85	1,47	1,89	0,49	1,94
18:3	0,54	0,37	0,53	0,37	0,55	0,43	0,55	0,45	0,59
20:0	0,14	0,27	0,16	0,23	0,15	0,18	0,11	0,18	0,11
autres	7,42	5,41	4,90	5,22	5,03	5,07	5,13	5,07	4,70

Quand la température de fractionnement diminue, la composition en AGs de cette fraction tend vers la composition de la MGLA initiale (Fouad *et al.*, 1990). Il est plus difficile d'observer des variations pour les fractions solides par rapport à la MGLA initiale. En général, une faible augmentation en AGs courts apparaît. La fraction liquide obtenue à 29°C (Fouad *et al.*, 1990) a presque la même composition en acides gras que la MGLA initiale.

III-1.3.2. Composition en TGs

Leur variation est plus marquée que pour les AGs. Les TGs trisaturés à haut poids moléculaire diminuent dans la phase liquide au profit de la phase solide (Lambelet, 1983 ; Muuse et van der Kamp ; 1985 ; Fouad *et al.*, 1990). Les variations de la composition triglycéridique sont fonction de la température de fractionnement. Les résultats présentés dans le tableau III-3 montrent que seules les fractions solides obtenues à 29 et 25°C possèdent une

différenciation marquée, alors que les fractions S-21 et S-17 se rapprochent de la composition de la MGLA initiale.

Tableau III-3 Analyse en CPG du profil des TGs de la matière grasse de beurre (composition en % poids) et changements relatifs en % de la composition des fractions solides (S) et liquides (L) par rapport à la matière grasse non fractionnée. (Fouad *et al.*, 1990). (NP : Nombre de partition ; 29, 25, 21 et 17 sont les températures de fractionnement en °C)

NP	MGLA init.	S-29	L-29	S-25	L-25	S-21	L-21	S-17	L-17
26	0,20	-45	+40	-35	+15	-15	-5	-5	+30
28	0,62	-39	+24	-39	+24	-13	-5	-6	+43
30	1,10	-60	+23	-36	+16	-16	-2	-4	+30
32	2,34	-52	-1	-56	+15	-17	+10	-22	+19
34	5,64	-43	+13	-33	+13	-19	+1	-6	+28
36	10,32	-40	+13	-34	+6	-13	+5	-11	+25
38	11,53	-35	+18	-28	+15	-7	+9	-4	+22
40	9,37	-30	+19	-22	+10	-10	+5	-3	+25
42	6,66	-11	+13	-1	+6	-2	-10	+4	+1
44	6,20	+14	+1	+23	-24	+6	-17	+16	-
46	6,49	+48	-8	+48	-11	+20	-29	+19	-25
48	7,63	+55	-5	+50	-10	+42	-28	+22	-26
50	9,21	+51	-6	+44	-3	+21	-23	+9	-17
52	8,52	+24	-7	+9	-12	+1	-12	-2	-16
54	3,56	+11	+2	-3	+7	-3	-3	-1	-1

Amer *et al.*, (1985) en ait conclu que le fractionnement de la MGLA avait lieu selon le poids moléculaire, mais Makhlouf *et al.*, (1987) sont opposés à cette théorie.

III-1.4. Différenciation physique des fractions

Les propriétés physiques, notamment le comportement thermique sont nettement modifiées (figure III-1). En effet, le comportement thermique de la MGLA et de ses fractions est le reflet de la modification de leur composition chimique.

Mais Fouad *et al.*, 1990, observent des variations beaucoup plus limitées des courbes de fusion des fractions obtenues à 17, 21, 25 et même 29°C. Ils en concluent qu'un simple fractionnement du beurre ne change pas le comportement physique des fractions de façon substantielle et que la plupart des changements observés pourraient être dus à leur état polymorphique. Cette hypothèse serait renforcée par les faibles variations de composition en AGs et TGs. Plusieurs auteurs ne partagent pas l'hypothèse de Fouad *et al.*, 1990, comme

Schaaps *et al.*, 1975 ; Deroanne, 1976 ; Banks *et al.*, 1985 ; Makhoulf *et al.*, 1987 et Deffense, 1993. Le SFC évolue considérablement entre les différentes fractions de la MGLA obtenues par fractionnement à étapes multiples (figure III-2)

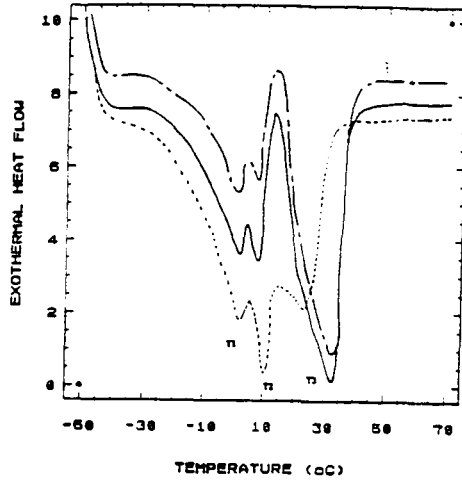


Figure III-1 Thermogrammes de DSC pour la MGLA et des fractions sélectionnées (MGLA, ; S-17 — — — ; S-25 — — — ; S-29 —) (d'après Fouad *et al.*, 1990)

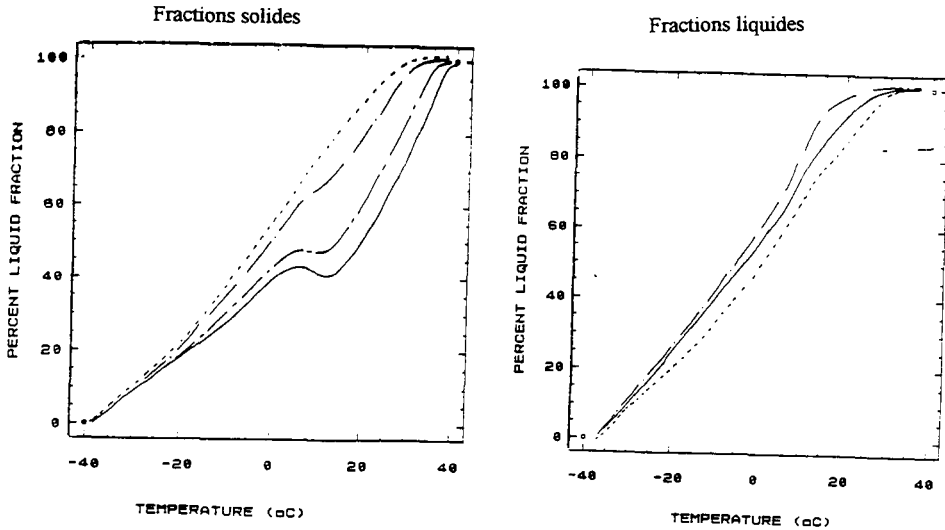


Figure III-2 Evolution du SFC de la MGLA et de différentes fractions solides et liquides à différentes température. (MGLA , T-17 — — — , T-25 — — — , T-29 —) (d'après Fouad *et al.*, 1990)

III-2. Fractionnement membranaire

Les techniques de séparation par membrane sont considérées comme une alternative aux nombreuses méthodes conventionnelles de concentration, de purification, de clarification et de fractionnement. Le fractionnement membranaire serait surtout une méthode de substitution au fractionnement par cristallisation. Il s'agit d'un pari économique d'importance majeure. Les procédés de séparation membranaire sont aujourd'hui très largement répandus en industrie alimentaire, mais seulement pour les milieux aqueux : industrie laitière, industrie sucrière, jus de fruits et boissons alcoolisées (clarification) (Ben Aim et Davin, 1985 ; Bennasar et Tarodo de la Fuente, 1987 ; Kosseoglu et Engelgau, 1990). Récemment, une méthode de séparation membranaire de la MGLA en milieu fondu hydrophobe a été imaginée et développée (Bornaz *et al.*, 1995). Il est de toute première importance d'optimiser les supports membranaires et de modéliser les différentes interactions.

III-2.1. Différentes techniques membranaires

Il existe plusieurs techniques de séparation membranaire, mais le point commun est la mise en oeuvre d'une barrière physique dénommée membrane (Ben Aim et Davin, 1985). Toutefois, le nombre, la diversité des conditions opératoires et des types de membranes, les forces motrices et les types de substrats traités, font des techniques séparatives l'une des opérations les plus difficiles à comprendre. Les techniques de séparation sont classées en fonction de la taille et le type de constituant à séparer. Les procédés à membranes regroupent la microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration, l'osmose inverse, l'électrodialyse et la dialyse (figure III-3). Nous présentons seulement quelques caractéristiques et applications de la microfiltration, de l'ultrafiltration, de la nanofiltration et de l'osmose inverse dans le tableau (III-4). De plus, les membranes utilisées se différencient par le matériau de fabrication et leur structure interne (Van den Berg et Smolders, 1988 ; Rautenbach et Albrecht, 1989, Howell, 1990 ; Merin et Daufin, 1990 ; Szaniawski et Spencer, 1991). Les structures des membranes ont été classées par Van Den Berg et Smolders (1988), en trois groupes : les membranes homogènes ou symétriques, les membranes asymétriques et les membranes composites. En outre, il existe plusieurs formes géométriques des milieux filtrants : modules à membranes planes, à membranes tubulaires, capillaires, à fibres creuses et en spirales.

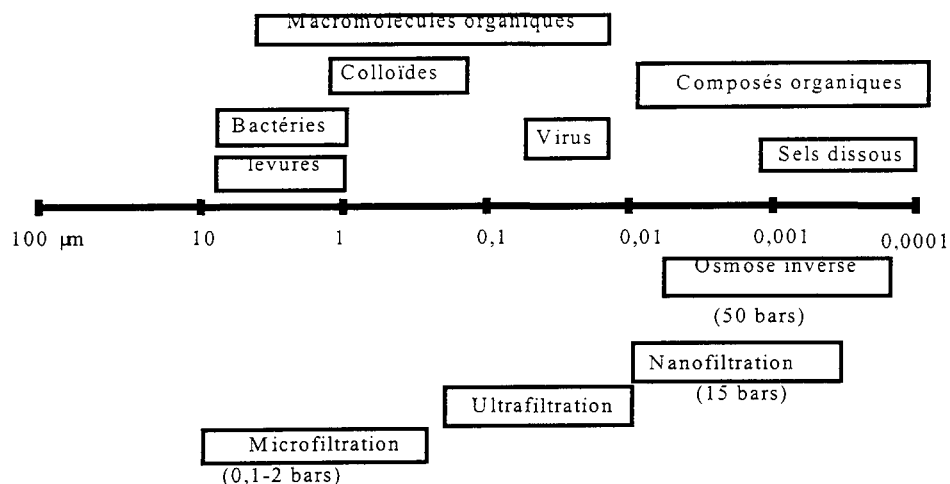


Figure III-3 Classification des techniques de séparation par membranes (Cohen-Maurel, 1988)

Tableau III-4 Différentes techniques séparatives membranaires (Bornaz, 1994 ; Diagana, 1997) (MF, microfiltration, UF, ultrafiltration, NF, nanofiltration et OI, osmose inverse)

Filtration	Force de séparation	Mécanisme de transport	Membrane	Substances séparées
MF	Gradient de pression < à 3 bar	effet taille des molécules et interactions physico- chimiques avec la membrane	Poreuse	Bactéries, parti- cules, solvant, pigments, en- zymes
UF	Gradient de pression 1 à 10 bar	<i>idem</i>	Poreuse	Protéines, col- loïdes, polysac- charides, sel, ...
NF	Gradient de pression 20 à 40 bar	mécanisme intermédiaire entre l'ultrafiltration et osmose inverse (diffusion)	Poreuse	Petites molécules de 10 à 100 dal- tons
OI	Gradient de pression 30 à 100 bar	mécanisme de dissolution et diffusion	Dense	Sel, acides ami- nés, eau

III-2.2. La microfiltration

La microfiltration est un procédé de séparation de microparticules en suspension sous l'effet de gradient de pression (pression transmembranaire 1 à 5 bars). En microfiltration

tangentielle, le fluide à filtrer circule parallèlement à la surface de la membrane et perpendiculairement au flux de filtrat. Ceci a été optimisé dans le but de pallier au phénomène de polarisation rapide qui caractérise la filtration frontale (figure III-4) par une augmentation des forces de cisaillement à la surface de la membrane (Brun, 1989). Ainsi, des cycles de filtration plus longs sont obtenus par rapport à la microfiltration frontale. Pendant la filtration, le flux de perméat diminue dans le temps. En effet, l'évolution du flux de perméat au cours du temps peut être décrit en trois phases : I) phase de diminution rapide, II) phase de diminution modérée et III) phase de diminution lente (Fane *et al.*, 1983 ; Choe *et al.*, 1986). La limitation principale au transfert de matière provient de l'existence de résistances diffusionnelles et/ou convectionnelles localisées au voisinage de la membrane (Mietton-Peuchot, 1984 ; Aïmar *et al.*, 1986). Quatre mécanismes sont décrits pour expliquer la diminution du flux : la polarisation de concentration, l'adsorption de molécules et le colmatage. Toutefois, le détail de ces mécanismes ne fait pas l'objet de ce travail. On se reportera avantageusement à la bibliographie très abondante sur le sujet.

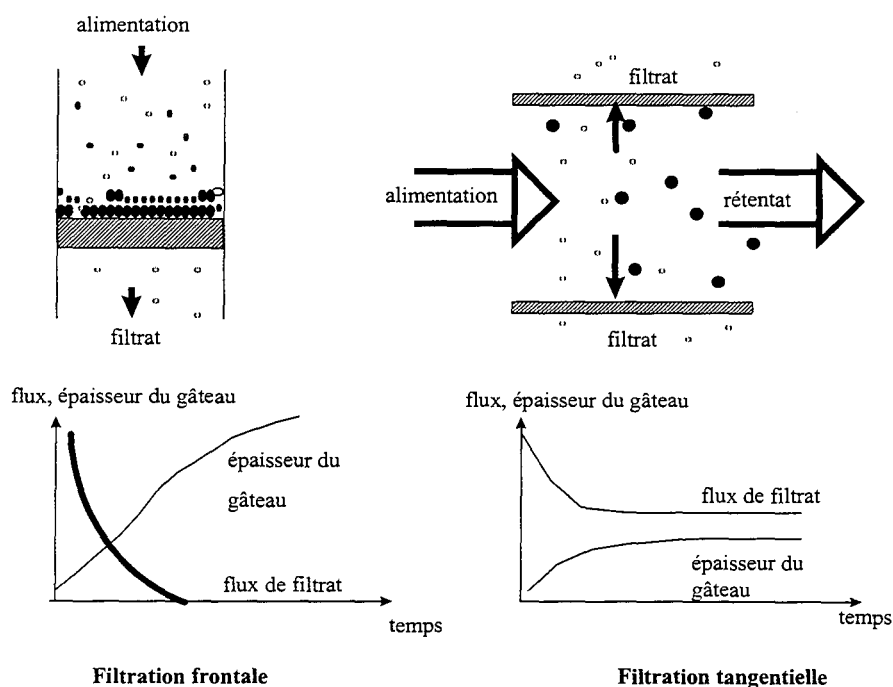


Figure III-4 Comparaison entre filtration tangentielle et filtration frontale

III-2.3. Applications des procédés membranaires à l'industrie de corps gras

L'utilisation de la technique membranaire dans l'industrie de la MG est récente. En effet, par comparaison à d'autres techniques de séparation physique (cristallisation, distillation), les procédés membranaires nécessitent seulement l'application d'une pression suffisante pour vaincre la résistance au transfert opposée par le matériau poreux et maintenir un flux transmembranaire acceptable (Pioch et Larguèze, 1995). Or, l'industrie traditionnelle de transformation des huiles et graisses nécessite la consommation d'une grande quantité d'énergie ou une succession de cycles de refroidissement et de chauffage, avec les inconvénients à la fois économique, et de dégradation des matières premières qui s'ensuivent.

Koseoglu et Engalgau (1990), ont effectué une étude globale sur l'application des membranes dans l'industrie des corps gras. Ils considèrent que les procédés membranaires restent peu familiers à ce secteur industriel, ils sont coûteux, nécessitent des procédures de nettoyage inhabituelles et de fréquents changements de membranes à cause de la diminution irréversible du flux. Durant la dernière décennie, un travail intensif a été réalisé pour vaincre les problèmes techniques. La fabrication des membranes a intégré de nouveaux matériaux. De nombreux types de membranes sont maintenant compatibles avec les produits apolaires, supportent les hautes températures et les conditions sévères de nettoyage chimique. Plusieurs applications des procédés membranaires existent maintenant dans l'industrie des corps gras : filtration des huiles de friture, élimination du solvant à partir des miscella, dégomme, décirage, désacidification, raffinage, élimination des traces métalliques, fractionnement, etc...

III-2.3.1. Le raffinage des huiles

Le raffinage des huiles par procédés membranaires a fait l'objet de plusieurs dépôts de brevets et publications (Gupta, 1977 ; Serafin *et al.*, 1988 ; Koseoglu *et al.*, 1990 ; Koseoglu, 1991). L'huile est toujours dissoute dans un solvant organique non acide (hexane). Le seul inconvénient est la persistance de l'odeur d'hexane dans le produit fini. Gupta (1977) a séparé les phospholipides des triglycérides par filtration à travers une membrane en silicone. Keurentjes (1991) a observé une réduction de l'acidité des huiles brute par l'utilisation de la nanofiltration et de l'osmose inverse.

Koseoglu *et al.*, (1989), considèrent que l'ultrafiltration peut être utilisée après neutralisation des acides gras libres pour se substituer aux étapes classiques de dégomme, neutralisation et même décoloration. Forsell *et al.*, (1992), ont pu séparer la fraction polaire de la fraction non polaire des huiles dissoutes dans l'hexane. Keurentjes *et al.*, (1990) ont

proposé une réduction de 95 % des teneurs en cations métalliques par dialyse à l'aide d'une solution aqueuse ammoniacale. La microfiltration est aussi utilisée pour le décirage des huiles (Esbeck et Segers, 1994).

L'utilisation d'une technique membranaire peut diminuer de 60 % la perte de rendement au cours du raffinage chimique, pendant lequel une grande quantité d'huile est perdue par saponification des huiles neutres (Koseoglu et Engelgau, 1990).

Larguèze (1997) confirme l'efficacité de la séparation des AGL et PL par microfiltration frontale dans le cas de l'huile de tournesol, mais pas dans le cas de l'huile de soja et de colza. De plus, les essais de raffinage des huiles brutes en microfiltration tangentielle montrent que les diamètres des pores jouent un rôle très important dans les séparations. Une membrane avec un diamètre de pores inférieur à 1nm permet d'obtenir des huiles de qualité satisfaisante et des flux stables au cours du temps, supérieurs aux membranes ayant un diamètre de pores de 25 nm.

III-2.3.2. Fractionnement de la MGLA

Bornaz *et al.* (1995a ; 1995b) ont décrit pour la première fois le phénomène de partition moléculaire en fonction du poids moléculaire d'une matière grasse fondue en l'absence de solvant sur une membrane hydrophobe. Les auteurs ont effectué un fractionnement de la MGLA sur une membrane microporeuse en acier inoxydable avec un seuil de coupure dépendant des différents triglycérides, un exemple concernant les TGs saturés est donné dans la figure III-5.

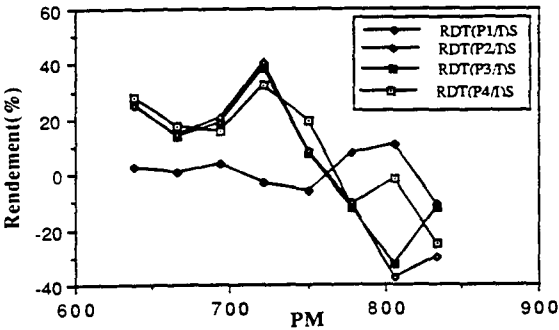


Figure III-5 Rendement de filtration en fonction du poids moléculaire moyen des triglycérides saturés (Bornaz *et al.*, 1995 a)

Ces auteurs montrent que les TGs possédant un nombre théorique de carbones (TCN) > 44 sont retenus par la membrane, alors que les TGs de TCN < 44 la traversent, sans prise en considération de l'insaturation réelle (Bornaz *et al.*, 1995b). La teneur en matière grasse solide du rétentat est toujours supérieure à celle du perméat (Fanni, *et al.*, 1996) quelles que soient les conditions opératoires de la filtration (tableau III-5).

Tableau III-5 Evolution du SFC des différentes fractions en fonction des paramètres hydrodynamiques (Bornaz *et al.*, 1995) (V: vitesse; P: pression transmembranaire)

Paramètres hydrodynamiques	MGLA initiale	Perméat	Rétentat
V élevée et P faible	30,38	28,20	35,29
V faible et P faible	30,38	26,81	29,37
V faible et P élevée	31,41	26,68	28,62

Plusieurs supports membranaires ainsi que différents paramètres hydrodynamiques ont été étudiés pour optimiser le procédé de séparation. Les conditions hydrodynamiques offrant la meilleure divergence (avec des membranes planes) sont une température proche de la zone de fusion (40°C), une vitesse d'alimentation relativement élevée (restant inférieure à un mètre par seconde) et une pression transmembranaire faible (de l'ordre de 1 bar). Les membranes "DURAPORE®", hydrophiles ou hydrophobes, donnent les meilleurs écarts de SFC entre le perméat et la MGLA initiale. Le rétentat s'enrichit d'abord en TGs à haut poids moléculaire et le perméat en TGs à bas poids moléculaire. Une bonne diversité de SFC a été obtenue sur un pilote axial utilisant une membrane en α -alumine vierge et une membrane totalement hydrophobe. C'est la membrane hydrophobe qui offre la meilleure divergence entre le perméat et le rétentat.

IV- Les forces intermoléculaires et de surface

Les membranes ont des propriétés différentes en fonction du type de filtration choisi (ultrafiltration, microfiltration, nanofiltration et osmose inverse). Le transfert se fait par diffusion, convection, ou par les deux processus. Une étape importante dans la séparation membranaire consiste à identifier les mécanismes de transfert et de rétention des molécules. Le phénomène de rétention est dû à diverses interactions entre les parois de pores et les particules. En effet, les interactions gouvernent non seulement le flux de perméat et le rejet de soluté, mais aussi les caractéristiques des produits résultants. La membrane joue bien sûr un rôle primordial dans la rétention des particules en fonction de la taille de pores, de ses propriétés de surface et de ses caractéristiques chimiques.

Dans une approche modélisée du phénomène de transport à l'intérieur des pores, la forme de ceux-ci est considérée comme cylindrique, alors que celle des particules est sphérique. Les interactions entre la paroi des pores et les particules sont partiellement de nature stérique et comportent également une part dite "à longue distance". Celle-ci est elle-même constituée de trois types d'interactions 1) interactions apolaires de Van der Waals, 2) interactions électrostatiques liées à la double couche et, 3) interactions de type acide-base (polaire) dans certains systèmes moléculaires. Ces dernières interactions peuvent être très diverses: hydrophobes, liaisons hydrogène, hydratation, etc... Elles sont particulièrement importantes en milieu aqueux, mais difficiles à interpréter en milieu totalement hydrophobe.

Ci-après, nous détaillerons différents modèles d'interactions dans le but de mieux expliquer la partition de la MGLA sur des membranes hydrophiles ou hydrophobes. L'importance de chacune des forces mises en jeu dépend des solutés (bien que ce terme perde de sa signification dans le cas qui nous préoccupe), des membranes et des conditions opératoires telles que la pression et la température. En dehors de la MGLA, pour mieux comprendre le phénomène, nous utiliserons également des huiles végétales et des triglycérides purs.

IV-1. Classification des différentes forces intermoléculaires

La présence du solvant vient considérablement compliquer les interactions entre molécules ou particules dans un liquide. Dans le cas d'un corps gras fondu, le "solvant" est la matière grasse elle-même dans laquelle on peut considérer que certaines fractions sont intersolubilisées par d'autres. Ces effets sont très variés:

1. Pour deux molécules de soluté dans un solvant, le potentiel englobe non seulement l'énergie d'interaction soluté-soluté (w_r), mais aussi tout changement d'énergie d'interaction entre soluté et solvant et solvant-solvant, quand deux molécules de soluté se rapprochent l'une de l'autre. La force nette dépend de l'interaction entre le soluté et le solvant. Dans le vide, deux molécules s'attirent facilement, mais dans un milieu liquide, le travail nécessaire pour déplacer le solvant est plus grand que celui fourni par le rapprochement des molécules de soluté.
2. Les molécules de soluté perturbent souvent l'ordre local ou la structure du solvant. Si l'énergie associée à cette perturbation varie avec la distance entre les deux molécules dissoutes, il existe une force additionnelle de solvation entre celles-ci.
3. Les interactions solvant-soluté peuvent changer les propriétés des molécules dissoutes.
4. Quand une molécule est introduite dans un liquide, il y aura apparition d'une "cavité" qui permettra d'accepter cette molécule.

Ces effets apparaissent à différents degrés, selon la nature et l'intensité des interactions soluté-soluté, soluté-solvant et solvant-solvant.

Les forces intermoléculaires peuvent être classées en trois catégories :

- les forces purement électrostatiques: ces sont des interactions entre des charges, des dipôles permanents, etc...
- les forces de polarisation qui proviennent des moments dipolaires induits dans des atomes et des molécules par des champs électriques provenant de charges voisines et de dipôles permanents.
- les forces de nature quantique: elles donnent naissance aux liaisons covalentes et aux interactions stériques (répulsives) qui équilibrent les forces attractives à très courte distance.

Cependant, cette classification des forces n'est ni exhaustive, ni rigide. Certaines ne peuvent être facilement classées (forces de Van der Waals ou forces magnétiques), une autre fait intervenir la notion de distance.

Ces diverses interactions entre ions, atomes et molécules dans le vide sont représentées dans le tableau (IV-1).

Tableau IV-1 Les divers types d'interactions entre ions, atomes et molécules dans le vide.

Type d'interaction	Energie d'interaction $w(r)$
Métallique, covalente	complexe, courte distance
Charge-charge	$\frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon_0 r}$ (énergie de Coulomb)
Charge-dipôle	
Charge-dipôle fixe	$\frac{-Q u \cos\theta}{4\pi\epsilon_0 r^2}$
Charge-dipôle avec rotation libre	$\frac{-Q^2 u^2}{6(4\pi\epsilon_0)^2 k T r^4}$
dipôle-dipôle	
dipôle-dipôle fixe	$\frac{-u_1 u_2 [2 \cos\theta_1 \cos\theta_2 - \sin\theta_1 \sin\theta_2 \cos\phi]}{4\pi\epsilon_0 r^3}$
dipôle-dipôle avec rotation libre	$\frac{-u_1^2 u_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k T r^6}$
Charge-non polaire	$\frac{-Q^2 \alpha}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^4}$
dipôle-non polaire	
dipôle fixe-non polaire	$\frac{-u^2 \alpha (1 + 3 \cos^2 \theta)}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$
dipôle rotatif-dipôle induit	$\frac{-u^2 \alpha}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$ (Energie de Debye)
deux molécules non polaires	$-\frac{3}{4} \frac{h\nu\alpha^2}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$ (Energie de London ou de dispersion)
Liaisons hydrogène	courte distance, complexe, énergie proportionnelle à $-1/r^2$

w_r , énergie libre d'interaction; Q, charge électrique; u, moment dipolaire électrique; C_m et α polarisabilité électrique ($C^2 m^2 J^{-1}$); r, distance entre les atomes ou molécules interagissant (m); k, constante de Boltzmann ($1.381 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$); T, température absolue (K); h, constante de Planck ($6.626 \times 10^{-34} \text{ Js}$); n, fréquence d'absorption électronique (s^{-1}); ϵ_0 , constante diélectrique du vide ($8.854 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{J}^{-1} \text{m}^{-1}$)

IV-2. Les forces intermoléculaires fortes : interactions coulombiennes

La force coulombienne apparaît entre deux molécules chargées. C'est la force physique la plus puissante à longue distance. Elle s'écrit sous la forme:

$$F = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon_0 \epsilon r^2} \quad (\text{IV-1})$$

Q_i : Charge de la particule i ; r : Distance entre les deux charges ; ϵ est la permittivité relative (constante diélectrique) du milieu et ϵ_0 , la constante diélectrique du vide ($8.854 \times 10^{-12} \text{ C}^2\text{J}^{-1} \text{ m}^{-1}$).

$$\text{L'énergie d'interaction peut être écrite } w(r) = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon_0\epsilon r}$$

Le calcul, selon cette théorie, reste sujet à discussion dans le cas de la filtration. En effet, cette force agit sur un volume de fluide qui est généralement considéré comme électriquement neutre. Elle peut être utilisée en supposant l'électroneutralité d'une manière globale et non locale (Adamson, 1976; Mohr et Pommerenning, 1985).

IV-3. La liaison hydrogène

Lorsqu'un atome d'hydrogène H est lié par covalence à un atome A fortement électronégatif, La liaison A-H est polarisée. L'atome d'hydrogène, légèrement chargé positivement, de petite taille, est fortement polarisant. Il y aura une interaction entre l'hydrogène chargé et une molécule (B) porteuse d'un doublet électronique. La force de l'interaction serait fonction de l'électronégativité de la molécule (B).

IV-4. Les forces de Van der Waals

Les forces de Van der Waals, connues sous les noms de forces de dispersion, de London, électrodynamiques, dipôle induit-induit, etc..., existent entre tous les atomes et les molécules. La littérature dans ce domaine est volumineuse, à titre indicatif, nous pouvons citer les travaux de Margenau et Kestner, 1971; Israelachvili et Tabor, 1973; Israelachvili, 1974.

Les forces de dispersion sont omniprésentes, elles jouent un rôle primordial dans divers phénomènes tels que l'adhésion, la tension superficielle, l'adsorption, le mouillage, les propriétés des gaz, des liquides et des films, la floculation des particules en milieu liquide, etc... Les caractéristiques de ces forces sont les suivantes:

- 1) Forces à longue distance : effectives entre 0,2 nm et plus de 10 nm
- 2) Forces répulsives ou attractives. : elles ne suivent pas une simple loi de puissance. La force peut être attractive à grande distance, mais répulsive à courte distance, où vice versa.
- 3) Les forces de dispersion tendent à aligner ou à orienter les molécules dans le but de diminuer leur énergie libre d'interaction. (Israelchvili, 1974).
- 4) Les interactions de dispersion de deux corps sont affectées par la présence des corps voisins. Elles sont caractérisés par leur non additivité.

L'origine des forces de Van der Waals peut être expliquée de la manière suivante : un atome peut posséder un moment dipolaire moyen nul en fonction du temps, mais à l'instant t , un moment dipolaire fini existe, il résulte des positions instantanées des électrons autour du noyau. Le moment dipolaire instantané (Ruckenstein et Lesins, 1986; Israelachvili, 1985) génère un champ électrique qui induit un moment dipolaire dans les atomes neutres voisins. Les interactions résultantes entre deux dipôles sont des forces attractives instantanées entre les deux atomes et le temps moyen d'existence de cette force est fini.

IV-4.1. Les forces de Van der Waals entre molécules polaires

Ce sont trois types de forces qui contribuent à l'interaction longue distance entre deux molécules polaires : force d'orientation, d'induction et de dispersion, (tableau IV-2) où chacune d'entre elles a une énergie libre d'interaction, inversement proportionnelle à la puissance sixième (Hamaker, 1937).

La méthode de sommation de Hamaker se fonde sur l'hypothèse que les énergies de Van der Waals entre les atomes peuvent simplement s'additionner. Ainsi, pour deux molécules polaires, l'énergie d'interaction devient:

$$w_{vdw}(r) = \frac{-C_{vdw}}{r^6} = \frac{-[C_{ind} + C_{orient} + C_{disp}]}{r^6} \quad (IV-2)$$

C : coefficient de force

Pour deux molécules semblables:

$$w_{vdw}(r) = \frac{-C_{vdw}}{r^6} = \frac{\left[\frac{2u^2\alpha_0}{(4\pi\epsilon_0)^2} + \frac{u^4/3kT}{(4\pi\epsilon_0)^2} + \frac{3\alpha_0^2 h\nu}{4(4\pi\epsilon_0)^2} \right]}{r^6} \quad (IV-3)$$

Pour deux molécules différentes :

$$w_{vdw}(r) = \frac{-C_{vdw}}{r^6} = \frac{\left[\frac{u_1^2\alpha_{02} + u_2^2\alpha_{01}}{(4\pi\epsilon_0)^2} + \frac{u_1^2u_2^2/3kT}{(4\pi\epsilon_0)^2} + \frac{3\alpha_{01}\alpha_{02}h\nu_1\nu_2}{2(4\pi\epsilon_0)^2(\nu_1 + \nu_2)} \right]}{r^6} \quad (IV-4)$$

polarisabilité électronique : $\frac{\alpha_0}{4\pi\epsilon_0}$ u : moment dipolaire permanent ;

potentiel d'ionisation : $l = h\nu$

Tableau IV-2 Différentes forces de Van der Waals (u : moment dipolaire; k : constante de Boltzmann; T : Température; ϵ_0 : permittivité du vide; α : Polarisabilité électronique; h : constante de Planck; ν : fréquence orbitale de l'électron)

Type d'interactions	Nom	Equation ($w(r)$)	Direction
Dipôle vrai-vrai les forces existent entre molécules possédant un moment dipolaire	Keesom ou orientation	$\frac{-u_1^2 u_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k T r^6}$	Attraction
Dipôle vrai-induit les forces existent entre des molécules polaires et non polaires	Debye ou induction	$\frac{-u^2 \alpha}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$	Attraction
Dipôle induit-induit	London ou dispersion	molécules semblables : $-\frac{3}{4} \frac{h\nu\alpha^2}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$ molécules différents : $-\frac{3}{2} \frac{\alpha_{01}\alpha_{02}}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6} \frac{h\nu_1\nu_2}{(\nu_1 + \nu_2)}$	Attraction

Voici quelques propriétés liées aux interactions de Van der Waals (vdw) :

(a) dominance des forces de dispersion : elles excèdent les forces d'induction et d'orientation sauf pour les petites molécules très polaires comme l'eau.

(b) comparaison avec les résultats expérimentaux : bonne concordance entre les résultats de C_{VDW} calculés (théoriques) et ceux obtenus par la loi des gaz parfaits.

(c) interaction entre molécules différentes : l'énergie d'interaction de Van der Waals entre deux molécules A et B est généralement intermédiaire entre les valeurs de A-A et B-B. Le coefficient C_{vdw} pour A-B est fréquemment proche de la moyenne géométrique de A-A et B-B. Ce processus permet d'estimer l'interaction de Van der Waals entre différentes molécules quand les résultats expérimentaux font défaut. Ceci n'est pas valable pour les molécules très polaires comme l'eau et le méthane qui sont plus liées entre elles qu'aux autres molécules. C'est en partie la raison de la non-miscibilité des molécules non polaires dans l'eau. Les composés non polaires (hydrocarbures, composés fluorés, huile, graisse)

sont dits hydrophobes et leur faible solubilité, ainsi que leur séparation en phases dans l'eau est appelée effet hydrophobe.

IV-4.2. La théorie générale des forces de Van der Waals entre les molécules

La théorie de dispersion (London) a deux limites : elle considère que les atomes et les molécules ont un seul potentiel d'ionisation (la fréquence d'adsorption) et elle ne peut traiter les interactions des molécules dans les solvants. McLachlan (1963 a,b) a présenté une théorie générale des forces de Van der Waals pouvant être utilisée dans un solvant, dans laquelle une seule équation contient les trois forces: induction, dispersion, et orientation :

$$W(r)_{n>0} = - \frac{3\alpha_1\alpha_2}{2(4\pi\epsilon_0)^2} \frac{h\nu_1\nu_2}{r^6(\nu_1 + \nu_2)} \quad (IV-5)$$

IV-4.3. Les différents aspects des forces de Van der Waals

IV-4.3.1. Anisotropie des forces de dispersion

Les molécules autres que les sphères ont une polarisabilité anisotrope. Une conséquence de l'anisotropie est que la force de dispersion entre molécules devient dépendante de leur orientation mutuelle (Israelachvili, 1972 ; Israelachvili et Tabor, 1973 ; Israelachvili, 1974). Dans les liquides non polaires, l'effet n'a pas d'importance, alors que dans les solides et les cristaux liquides, les forces attractives anisotropiques peuvent être un facteur prépondérant dans la propension des molécules ou de groupes moléculaires vers des orientations favorables.

IV-4.3.2. Non additivité des forces de Van der Waals

La force d'attraction entre deux molécules est affectée par la présence des molécules voisines : l'énergie nette d'interaction n'est pas égale à la somme de tous les potentiels des paires de molécules. En effet, le champ émanant d'une molécule en atteint une autre, soit directement, soit par réflexion d'autres molécules elles-mêmes polarisées par le champ.

IV-4.3.3. Effet retard

Quand deux atomes sont séparés par une distance appréciable, le temps nécessaire mis par le champ électrique pour passer du premier atome au deuxième et vice-versa, devient comparable à la période de fluctuation du dipôle lui même. Quand le champ revient à son premier atome, la direction du dipôle instantané est différente de l'originale et moins favorable

pour une interaction attractive. Quand la distance de séparation augmente, l'énergie de dispersion entre deux atomes décroît plus rapidement que $-1/r^6$, elle s'approche de $-1/r^7$ quand r est supérieur à 100 nm., on appelle cela l'effet retard .

IV-4.4. Les forces de Van der Waals entre différentes surfaces

IV-4.4.1. Corps géométriquement différents : constante de Hamaker

Les forces de Van der Waals jouent un rôle fondamental dans les phénomènes impliquant les forces intermoléculaires, même si elles ne sont pas aussi puissantes que les forces coulombiennes et les liaisons hydrogènes. Les interactions à longue distance entre particules microscopiques et surfaces sont regroupées en trois catégories: Van der Waals, électrostatiques et stériques. A courte distance, c'est la force d'hydratation qui prévaut.

Les énergies libres d'interactions non retardées des forces Van der Waals entre particules géométriquement différentes sont calculées selon la méthode de Hamaker (additivité). Elles sont inversement proportionnelles à la distances de séparation (D) (tableau IV-3). La constante A de Hamaker (Hamaker, 1937) est donnée par :

$$A = p \, C \, r_1 \, r_2 \quad (\text{IV-6})$$

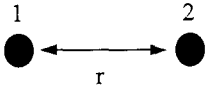
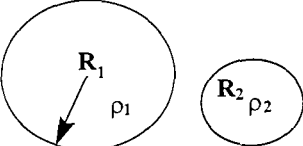
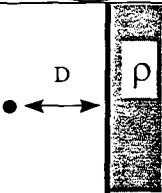
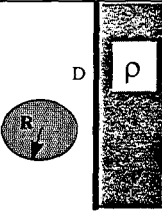
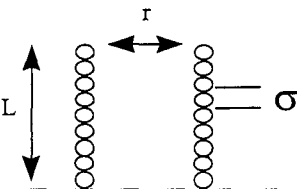
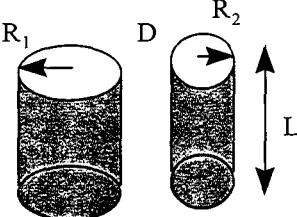
$$C = \frac{3\alpha_0^2 h\nu}{4(4\pi\epsilon_0)^2} \quad (\text{IV-7})$$

C : coefficient de la paire atome-atome

r_1, r_2 : nombres d'atomes par unité de volume.

La valeur de la constante de Hamaker est voisine de 10^{-19} J pour des interactions dans le vide et pour des phases condensées. Les forces de Van der Waals peuvent être répulsives quand la constante de Hamaker est négative, c'est ce qui se produit quand la constante diélectrique du milieu est peu différente entre les corps en interaction.

Tableau IV-3 Energies libres d'interactions non retardées des forces de Van der Waals entre particules géométriquement différentes, calculées selon la méthode de Hamaker (additivité).

Types		Equation
Deux atomes		$w = -C/r^6$
Deux sphères		$w = \frac{-A}{6D} \frac{R_1 R_2}{(R_1 + R_2)}$
Atome-Surface		$w = -pCr/6D$
Sphère surface		$w = -AR/6D$
Deux chaînes parallèles de molécules		$w = -3pCL/8s^2 r^5$
Deux cylindres		$w = \frac{AL}{12\sqrt{2}D^{\frac{3}{2}}} \left(\frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2} \right)^{1/2}$

IV-4.4.2. Les forces de Van der Waals selon la théorie de Lifshitz (Lw)

Dans le calcul des forces d'attraction, supposées additives selon Hamaker, l'énergie totale d'interaction est la somme des énergies d'interaction entre deux molécules. C'est une approximation, car l'état interne d'une molécule est affecté par la présence des autres molécules. En outre, les effets retard contribuent à diminuer la constante de Hamaker. L'approximation d'additivité est éliminée dans la théorie de Lifshitz (Lw), car la structure atomique est ignorée. Les forces, entre "grand-corps" traités comme un milieu continu, sont dérivées de leurs propriétés physiques: constantes diélectriques, indices de réfraction. Les équations présentées dans le paragraphe précédent (tableau IV-3) restent valables; seule la méthode de calcul des constantes de Hamaker change. (Israelachvili et Tabor, 1973; Israelachvili, 1974; van Oss *et al.*, 1984; van Oss *et al.*, 1987)

Selon van Oss *et al.*, 1984, dans la théorie de Lw, la constante de Hamaker peut être obtenue par simple mesure de la tension superficielle.

IV-5. La théorie de DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek)

L'énergie potentielle d'interaction totale est la somme des interactions d'attraction et de répulsion (Derjaguin et Landau, 1941 ; Verwey et Overbeek, 1948)

$$V_T = V_{vdw} + V_R \quad (IV-8)$$

V_{vdw} : Attraction par la force de Van der Waals V_R : Répulsion par la double couche

La théorie DLVO prend en considération les interactions électrostatiques et les interactions de Van der Waals, mais elle ignore toutes les interactions non électrostatiques.

IV-6. Les interactions hydrophobes (IH)

Selon Ben-Naim (1975), l'interaction hydrophobe est un changement d'énergie libre associée au processus qui amène deux solutés de l'infini à une distance de l'ordre de grandeur d'un diamètre moléculaire. On ne peut décrire les interactions hydrophobes uniquement par les interactions Van der Waals, car le solvant joue un rôle fondamental dans la création d'une nouvelle force entre molécules du soluté. Selon Israelachvili et Parsley (1982), les interactions hydrophobes sont supérieures au maximum de la force de dispersion de Van der Waals (Leong *et al.*, 1996). Cette force décroît exponentiellement avec la distance. Mais selon Van Oss *et al.*, (1986), les interactions hydrophobes sont le résultat des interactions de Lifshitz-Van der Waals et des interactions à courte distance (liaisons hydrogène). Ces mêmes auteurs déclarent que les interactions hydrophobes ne sont pas des liaisons fondamentalement différentes des interactions de Van der Waals et des liaisons hydrogène.

En IH, les forces d'interactions sont, avant tout, dépendantes des propriétés du solvant et non du soluté (Ben Naim, 1980 ; Israelachvili et Pashley, 1982). C'est un phénomène principalement entropique (Israelachvili, 1989), dans lequel les liaisons se forment par réarrangement de configuration des liaisons hydrogène dans la zone de solvation quand deux solutés hydrophobes s'associent. Ces sont des interactions à très longue distance, dépendantes de la température. Entre 0 et 50°C, le terme entropique est dominant. A température élevée, les interactions hydrophobes diminuent, parce que la variation d'entropie devient négligeable devant la variation d'enthalpie (Nemethy et Scheraga, 1962).

Selon Liu (1991) l'énergie de Helmholtz d'un système augmente significativement quand des particules hydrophobes avec une surface non polaire sont introduites dans l'eau (ΔG° -TAS). Comme ΔG tend vers un minimum, les molécules d'eau vont appliquer une action répulsive sur les particules en les obligeant à se réunir en agrégats ou à passer d'un milieu à un autre. Une structuration apparaît.

Yaacobi et Ben-Naim (1974), considèrent que l'énergie libre d'association est constituée des deux termes:

$$\Delta G(R_1, R_2) = U(R_1, R_2) + \delta G^{IH}(R_1, R_2) \quad (IV-8)$$

$U(R_1, R_2)$: énergie directe d'interaction entre deux solutés en absence de solvant

$\delta G^{IH}(R_1, R_2)$: interaction hydrophobe entre les solutés en présence de solvant (eau)

L'énergie des interactions hydrophobes (U_{IH}) à longue distance (4-15 nm) est calculée selon la formule de Israelachvili et Parshley (1982), l'énergie d'association (U'_{IH}) pour courte distance (<4 nm) est donnée par:

$$U_{IH} = kQal e^{(-h/l)} \quad (IV-9)$$

a : rayon de particule l : Distance

k : paramètre dépendant des conditions aux frontières des interphases ($k = -(0,14 \pm 0,04)$ N/m

Q : degré d'hydrophobicité

$$U'_{IH} = DVu \quad (IV-10)$$

u : énergie libre d'association d'un groupement méthylène, D : Densité de volume moyen, V : volume de chevauchement.

IV-7. Conclusion

Les interactions intermoléculaires à longue distance entre une particule et la paroi d'un pore sont d'une importance capitale dans les études de transport des particules à travers des milieux poreux. Plusieurs modèles existent (Stamatakis et Tien, 1993 ; Bhattacharjee *et al.*, 1995 ; Bhattacharjee *et al.*, 1996 ; Bhattacharjee et Sharma, 1997) pour expliquer ces phénomènes complexes. Dans la séparation membranaire, ces interactions gouvernent le flux de perméat et la rejection de soluté. En effet, la plupart des modèles prennent en considération la diffusion des particules au-dessus de la membrane, mais jamais à l'intérieur des pores, à cause des diverses interactions qui peuvent se présenter. En fait, il est nécessaire de tout prendre en considération: les types des membranes, leurs caractéristiques, les caractéristiques des solutés, les conditions hydrodynamiques et la température. A cela, il faut ajouter dans l'étude qui fait l'objet de ce mémoire, une vision de la partition chromatographique des triglycérides.

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

I- Matières premières

I-1. MGLA

La matière grasse du lait anhydre (MGLA) est fournie par l'Union Beurrière (Vesoul, France). Elle est fondue à température d'utilisation (45, 60 et 70°C) et utilisée directement, sans aucun autre traitement.

I-2. Huiles végétales

L'huile d'olive, l'huile de pépins de raisin, l'huile de coprah hydrogénée (VégétalineTM) et l'huile de lin sont achetées dans une boutique locale.

I-3. Mélange d'huile

L'huile d'olive, l'huile de pépins de raisin, l'huile de coprah hydrogénée (VégétalineTM) et l'huile de lin sont mélangées en proportion de 25 % (P/P) afin d'obtenir une huile modèle permettant l'étude et la compréhension des interactions entre les matériaux filtrants et les TGs.

I-4. Triglycérides

Les triglycérides purs proviennent de la Société SIGMA® (pureté : 99 % selon le fabricant). Ils sont utilisés tels quels. Il s'agit des triglycérides suivants :

tributyroyl- (BuBuBu), tricaproyl- (CoCoCo), tricapryloyl- (CyCyCy), tricaproyl- (CCC), trilauroyl- (LaLaLa), trimyristoyl- (MMM), 1,2-dilauroyl-3-myristoyl- (LaLaM), tripalmitoyl- (PPP), tristéaroyl- (SSS), 1,2-distéaroyl-3-myristoyl- (SSM), 1,3-dipalmitoyl-2-oléyl- (POP), 2,3-oléyl-1-palmitoyl- (POO), 1,2-dipalmitoyl-3-oléyl- (PPO), 1,2-distéaroyl-3-oléyl- (SSO), trioléyl- (OOO), trilinoléyl- (LLL) et trilinolényl-glycérol (LnLnLn).

I-5. Solvants

Tous les solvants utilisés pour l'analyse des TGs par CLHP (acétone, acétonitrile, dichlorométhane) sont de qualité ChromanormTM (PROLABO).

L'hexane et le chloroforme utilisés dans l'imprégnation des supports sont de qualité technique (PROLABO).

I-6. Lécithines

Les lécithines pures de soja sont fournies par LABOSI. Il s'agit d'un mélange de phospholipides déshuilés.

I-7. Silicone SE 30 (Chromapack™)

Le Silicone SE 30 est composé de 95 à 100 % de méthyl-gomme. L'indice de polarité en données commerciales est de 5 degrés sur une échelle graduée de 0 (polarité nulle) à 100 (polarité maximale).

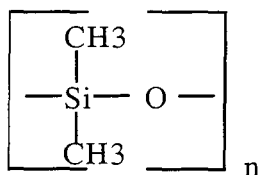


Figure I-1 Formule du silicone SE 30

I-8. Silicone SE 52 (Chromapack™)

Le Silicone SE 52 est composé de 5 % de groupements phényle et 95 % de méthyl-gomme. Il est relativement moins hydrophobe que le Silicone SE 30 avec un indice de polarité de 8.

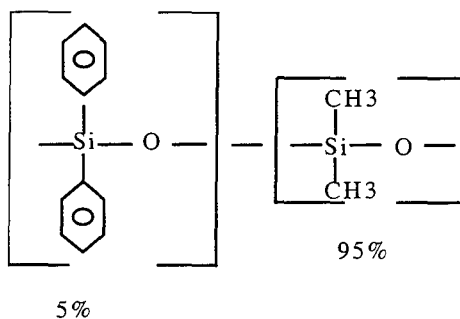


Figure I-2 Formule du silicone SE 52

II- Filtration des matières grasses et huiles

II-1. Filtration tangentielle

II-1.1. Micromodule de filtration tangentielle

La filtration est réalisée sur un système plan en acier inoxydable fourni par la société Millipore (MINITAN™). Les dimensions du micromodule sont de 152 mm x 116 mm x 108 mm. Il est équipé d'une pompe péristaltique à vitesse variable et d'un manomètre en acier inoxydable gradué de 0 à 6 bars.

La surface de filtration du module est de 60 cm^2 . Il peut supporter des températures relativement élevées (60 à 70°C) et des pressions ne dépassant pas 4 bars. Les membranes utilisées sont de deux types: une membrane en acier inoxydable 316L fritté et une membrane "DURAPORE" dite hydrophile (voir paragraphe suivant) utilisée seule ou en couches superposées.

La filtration est effectuée à vitesse faible (4 cm/s) et pression faible (0,5 bar) ou à une vitesse faible (4 cm/s) et pression plus élevée (0,8 à 1,4 bar). La MGLA est initialement fondue à la température de filtration dans une étuve qui sert aussi de chambre de filtration. Le rétentat est recyclé en permanence, tandis que le perméat est récupéré dans un bac séparé. La filtration de MGLA est arrêtée quand les deux tiers de la MGLA ont traversé la membrane. La durée de la filtration varie en fonction des essais, car elle dépend des conditions opératoires telles que la température et l'évolution du débit.

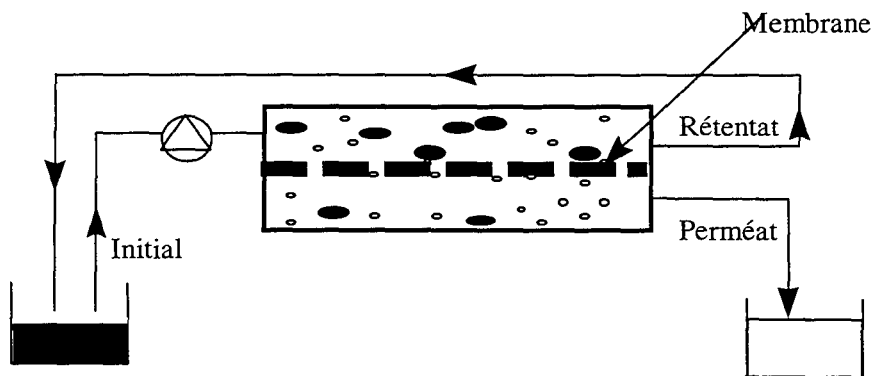


Figure II-1 Schéma simplifié du micromodule de filtration tangentielle.

II-1.2. Membranes

II-1.2.1. Membrane DURAPORE hydrophile

La membrane plane DURAPORE™ (MILLIPORE, Paris, France) est constituée de fluorure de polyvinylidène ; elle a une porosité de 0,22 μm . Elle est compatible avec un grand nombre de produits chimiques à l'exception des cétones, des amines et des esters concentrés. Possédant une grande résistance mécanique et une stabilité thermique élevée, il est cependant recommandé de l'utiliser à une température inférieure à 80°C.

II-1.2.2. Membrane métallique

C'est une membrane plane en acier inoxydable 316L fritté et poreux (0,5 μm), de 152 mm x 82 mm x 2 mm. Elle est fournie par la Société MAAG FRANCE.

II-1.2.3. Membrane métallique modifiée

La membrane métallique peut être dotée d'un caractère hydrophobe variable en l'imprégnant avec de la lécithine. La lécithine de soja utilisée est dissoute dans le chloroforme à la concentration de 5 %, 10 % et 20 % (P/V), puis la solution est filtrée à travers la membrane en circuit fermé pendant 5 heures. La membrane métallique modifiée est séchée dans un courant d'azote pendant 12 heures. La concentration finale en lécithine correspondant aux différentes imprégnations est de 0,18 %, 0,52 % et 0,85 %. Le nettoyage de la membrane métallique est une opération longue et fastidieuse. On utilise la méthode employée par Bornaz (1994) répétée plusieurs fois.

La lécithine de soja est composée des AGs rassemblés dans le tableau suivant (tableau II-1) :

Tableau II-1 Composition en acides gras de la lécithine de soja.

Acides gras	Pourcentage (moyen)	Coefficient de variation (%)
C16:0	20,00	0,73
C18:0	3,70	14,75
C18:1	9,70	4,80
C18:2	58,20	1,76
C18:3	8,45	0,80

II-2. Percolation frontale plane

II-2.1. Module "Amicon™"

Il s'agit d'un module cylindrique prévu pour l'ultrafiltration, doté d'une membrane plane de 70 mm de diamètre et d'une capacité de 400 ml. Le module possède un support en plastique fritté supportant la membrane. Il peut supporter une température de 50°C en continu. Pour les besoins de l'expérience, on n'utilise ni agitation ni pression, la filtration s'effectue par simple gravité.

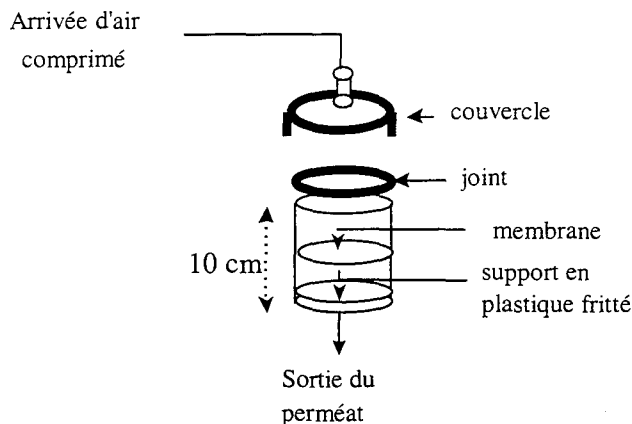


Figure II-2 Schéma du module d'ultrafiltration Amicon.

Un autre type de module de filtration frontale a été réalisé au laboratoire dans le but d'augmenter la surface de filtration. On l'appellera module "laboratoire". Sa longueur est de 130 mm et son diamètre intérieur est de 100 mm. Le fond du module est percé de trous de 5 mm et le matériau membranaire est pris en sandwich entre deux papiers filtres (Whatman). Il y a possibilité d'utiliser de l'air comprimé pour augmenter le débit de perméat.

II-2.2. Matériaux filtrants

Les différents matériaux filtrants utilisés sont pulvérulents. Aussi, pour des raisons de commodité, l'épaisseur des couches filtrantes est donnée ici en fonction de leur équivalence massique. En effet, il est impossible de connaître avec exactitude l'épaisseur d'une couche de poudre compactée, notamment dans un module opaque (module "laboratoire").

II-2.2.1. Oxyde d'aluminium

La couche filtrante est préparée au laboratoire. La poudre d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) (Merck) est comprimée au moyen de la Machine Universelle d'Essais INSTRON™ sous une force de 12 kN.m^{-2} pendant 2 heures. Le matériau est utilisé immédiatement après compression en prenant des précautions pour maintenir une surface homogène, ce qui est difficile à obtenir, en raison de la difficulté d'étalement de la poudre. Il est très difficile d'évaluer la taille des pores de l'oxyde d'aluminium compacté.

L'oxyde d'aluminium est une poudre blanche, insipide et inodore. Elle est hygroscopique et constitue un agent desséchant efficace et, bien que très faiblement soluble dans l'eau, ce matériau est considéré comme hydrophile. L'oxyde d'aluminium est négativement chargé au voisinage de la neutralité. Quelques caractéristiques physiques de l'oxyde d'aluminium sont regroupées dans le tableau suivant (tableau II-3):

Tableau II-2 Quelques caractéristiques physiques de l'oxyde d'aluminium.

Propriété	Valeur
Point de fusion	2040°C
Point d'ébullition	3500°C
Chaleur de fusion	26 kcal/mole
Constante diélectrique	12,3
Densité	3,98 (g/ml)

Il s'agit d'un matériau de choix pour la fabrication de membranes filtrantes après sa transformation en α -alumine. Différentes couches de différentes épaisseurs ont été préparées ici. Il ne s'agit en aucune façon de membranes au sens habituel du terme. Deux " épaisseurs indicatives " ont été retenues : 5 g et 40 g pour le module d'ultrafiltration "AMICON" et 80 g pour le module dit " laboratoire". Chaque couche est préparée trois fois dans les mêmes conditions.

Des essais ont été réalisés avec de l'oxyde d'aluminium G. Il s'agit d'oxyde d'aluminium contenant du gypse (CaSO_4), permettant d'obtenir des surfaces homogènes. L'oxyde d'aluminium G est mélangé à l'eau (1/1 : P/P), puis séché pendant 12 heures à la température de 100°C.

II-2.2.2. Membrane greffée C18

La membrane greffée C18 (ENVI-DiskTM) comporte des caractéristiques hydrophobes. Il s'agit d'un support destiné à l'élimination de composés organiques présents dans une phase aqueuse, il est constitué de fibre de verre imbibée de silices modifiées. La membrane est fournie par Supelco (Supelco, Bellefonte, PA, USA)

II-2.2.3. Membrane "DURAPORE" hydrophile

La membrane plane DURAPORE (MILLIPORE, Paris, France), identique à celle présentée plus haut, est adaptée au module de filtration frontale "laboratoire". La filtration est réalisée à la température de 45°C, sans pression, ni agitation.

II-2.2.4. Couche filtrante en acide silicique ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$)

La couche filtrante d'acide silicique ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) fourni par PROLABO est préparée au laboratoire. Cette couche est compressée dans les mêmes conditions que l'oxyde d'aluminium et utilisée dans les mêmes conditions.

L'acide silicique est une poudre blanche, légère, insipide et inodore, considérée comme hydrophile. Il est négativement chargé autour de la neutralité. Deux couches de deux épaisseurs différentes ont été préparées : 20 g et 40 g. La filtration frontale sur les couches en acide silicique est également réalisée à température constante et sous pression variable, entre 0 et 0,8 bars.

II-2.2.5. Couche filtrante en oxyde de titane (TiO_2)

La couche est préparée au laboratoire dans les mêmes conditions que précédemment. L'épaisseur de la couche est de 20 g et 40 g. La filtration est réalisée à différentes pressions (0 à 0,1 et 0,8 bars). L'oxyde de titane est thermiquement très stable et résiste bien aux attaques chimiques. La densité moyenne est de 4, le point de fusion est de 1855°C et le point de ébullition est de 1847°C.

II-2.2.6. Couche en oxyde de zirconium (ZrO_2)

La couche d'oxyde de zirconium (ZrO_2) est préparée au laboratoire dans les mêmes conditions que précédemment. L'oxyde de zirconium se distingue par sa stabilité chimique et thermique. Sa densité est de 5,85, sa température de fusion est de $2710 \pm 15^\circ\text{C}$ et sa constante diélectrique est de 12,5. Il faut noter que le zirconium, le titane et quelques-uns de leurs composés présentent une analogie marquée. Ceci est dû à leur position dans le tableau

périodique. En effet, ils sont dans le même groupe (IVB), mais dans des périodes différentes. La valence du zirconium et du titane est de 4.

L'épaisseur de la couche est de 80 g, la filtration est réalisée sans pression.

II-3. Percolation en couche sous pression

La filtration de la matière grasse et des huiles est réalisée dans une colonne de verre d'un diamètre de 10 mm et de 400 mm de longueur. La colonne est fermée à l'une de ses extrémités au moyen d'un filtre hydrophile MILLIPORE, caractérisé par un diamètre de pores de 0,8 μm . Le but de cette filtration forcée est, d'abord d'augmenter la surface d'échange (de contact) entre les matériaux filtrants et les produits à filtrer, puis d'appliquer la théorie de la rétention en chromatographie liquide phase inverse pour expliquer la partition des TGs de la MG. La filtration est réalisée dans une étuve à la température constante de 45°C. La MG circule à travers la colonne grâce à une pompe péristaltique réglée à la vitesse d'alimentation de 10 cm/s, ce qui correspond à un débit de sortie de 0,9 ml/min. La quantité de MG traversant la colonne est de 100 ml. La filtration dure environ 30 minutes et des prélèvements d'éluat sont effectués toutes les 5 minutes.

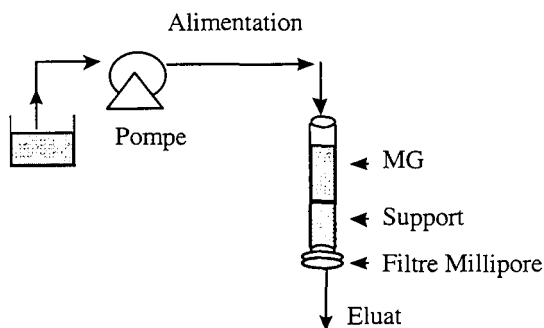


Figure II-3 Filtration de matière grasse en colonne sous pression.

II-3.1. Supports

II-3.1.1. Microbilles de verre

Deux lots de microbilles de verre sont utilisés. Le premier est constitué de microbilles d'un diamètre de 150 à 212 μm . Le second lot est composé de microbilles d'un diamètre de 212 à 300 μm . La quantité utilisée est de 30 g dans les deux cas, ce qui correspond à 30 cm de hauteur dans la colonne. Les caractéristiques de ces microbilles sont les suivantes :

Propriétés	Valeur	Valeur
Diamètre (μm)	150-212	212-300
Diamètre moyen (μm)	181	256
masse volumique (g/ml)	2,63	2,37
Surface moyenne (m^2)	$1,03 \times 10^{-7}$	$2,06 \times 10^{-7}$
Volume moyen (m^3)	$3,1 \times 10^{-12}$	$8,80 \times 10^{-12}$
nombre total de microbilles	4×10^6	$1,5 \times 10^6$
Surface totale de contact (m^2)	0,4	0,3
Volume mort (m^3)	$1,2 \times 10^{-5}$	$2,1 \times 10^{-5}$

II-3.1.2. Microbilles de verre imprégnées de silicone SE 30

Les microbilles de verre sont imprégnées de silicone SE 30 (densité $1,016 \pm 0,8 \%$) à raison de 0,1 %, 1 %, 3 %, 5 % et 10 %. Ceci dans le but d'étudier l'effet de l'augmentation de l'hydrophobicité du support sur la partition des TGs. L'imprégnation des microbilles est réalisée selon le protocole suivant :

- préparation d'une solution de silicone SE 30 dans l'hexane. On choisit la concentration en fonction du poids de microbilles.
- solubilisation du silicone SE 30 dans l'hexane par agitation pendant 3 heures dans un récipient hermétiquement fermé afin d'éviter l'évaporation de l'hexane.
- ajout des microbilles et agitation pendant 3 heures dans le même récipient.
- évaporation de l'hexane à l'air libre sous hotte, à température ambiante pendant 12 heures.
- les microbilles de verre ne sont pas récupérées après utilisation.

Les caractéristiques des microbilles de verre imprégnées à 1 %, 5 % et 10 % de SE 30 sont les suivantes : (Pour des raisons pratiques, nous n'avons utilisé qu'un seul lot de billes)

Propriétés	1 % SE 30	5 % SE 30	10 % SE 30
Diamètre des microbilles nues (μm)	150-212	150-212	150-212
Diamètre moyen après imprégnation (μm)	213	216	218
masse volumique (g/ml)	2,30	2,29	2,29
Surface moyenne (m^2)	$1,43 \times 10^{-7}$	$1,46 \times 10^{-7}$	$1,49 \times 10^{-7}$
Volume moyen (m^3)	$5,05 \times 10^{-12}$	$5,3 \times 10^{-12}$	$5,4 \times 10^{-12}$
nombre total de microbilles	$2,6 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$
Surface totale de contact (m^2)	0,37	0,37	0,36
Volume mort (m^3)	$1,32 \times 10^{-5}$	$1,35 \times 10^{-5}$	$1,35 \times 10^{-5}$

II-3.1.3. Microbilles de verre imprégnées de silicone SE 52

L'imprégnation des microbilles est réalisée de la même façon que pour le silicone SE 30.

Les caractéristiques de microbilles de verre imprégnées sont les suivantes :

Propriétés	1 % SE 52	5 % SE 52	10 % SE 52
Diamètre des microbilles nues (μm)	150-212	150-212	150-212
Diamètre moyen après imprégnation (μm)	213,	216	218
masse volumique (g/ml)	2,22	2,28	2,28
Surface moyenne (m^2)	$1,43 \times 10^{-7}$	$1,46 \times 10^{-7}$	$1,49 \times 10^{-7}$
Volume moyen (m^3)	$5,05 \times 10^{-12}$	$5,3 \times 10^{-12}$	$5,4 \times 10^{-12}$
nombre total de microbilles	$2,6 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2,44 \times 10^6$
Surface totale de contact (m^2)	0,38	0,36	0,36
Volume mort (m^3)	$1,35 \times 10^{-5}$	$1,30 \times 10^{-5}$	$1,25 \times 10^{-5}$

II-4. Percolation sur couche en écoulement libre

Une colonne est remplie avec différents types de supports et sur différentes hauteurs : 5 g, 10 g, 15 g et 20 g. On récupère les premières gouttes de perméat sortant de la colonne. La quantité de MG initiale utilisée est de 15 ml, la récupération porte seulement sur 1 ml de perméat (premières gouttes).

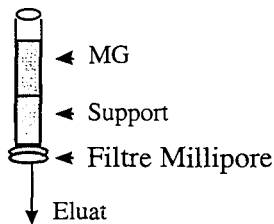


Figure II-4 Filtration sur couche en écoulement libre

II-4.1. Supports

II-4.1.1. Microbilles de verre

Comme précédemment, on utilise les mêmes microbilles de verre. Celles-ci sont utilisées sur différentes hauteurs de colonne (5 g, 10 g, 15 g et 20 g) ce qui correspond à 4,5

cm, 9,1 cm, 15 cm, et 19 cm. Les microbilles de verre sont utilisées nues et imprégnées de silicone SE 30 et SE 52 à différentes concentrations (1 %, 3 % et 5 %).

II-5. Adsorption de MGLA sur différents supports

Une colonne de verre de 400 mm x 10 mm est remplie avec différents supports. Elle est fermée par un tampon de laine de verre. Le but de cette opération est d'étudier les TGs restant adsorbés à la surface du support. On utilise à cet effet une pompe à vide qui va aspirer la quasi-totalité de la MG présente dans la colonne, pendant une durée de 40 minutes. Les supports sont récupérés, pesés, puis dilués dans le dichlorométhane afin de solubiliser la MG restant adsorbée sur les différents supports en vue d'étudier les TGs par CLHP. La quantité initiale de MGLA ajoutée au sommet de la colonne est de 5 ml.

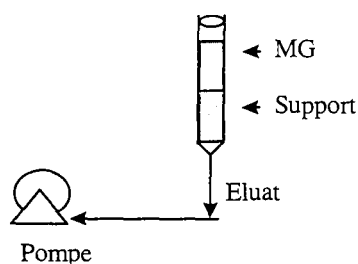


Figure II-5 Principe de l'aspiration de la MGLA sur colonne.

II-5.1. Supports

II-5.1.1. Microbilles de verre

Les microbilles de verre sont utilisées sur une longueur d'environ 10 cm (soit 10 g), sans imprégnation de silicone. Dans une deuxième série de mesures, les microbilles de 150 à 212 μm sont imprégnées de silicone SE 30 à différentes concentrations (1 %, 3 %, et 5 %).

II-5.1.2. Autres supports hydrophiles

Pour l'étude de l'adsorption de la MG sur différents supports, nous avons utilisé l'oxyde d'aluminium, l'oxyde de zirconium, l'oxyde de titane et le gel de silice (Kieselgel 40, Merck) caractérisé par une taille de particules de 0,063 à 0,220 μm . Le remplissage de la colonne est toujours réalisé de la même manière. Le poids de la colonne est vérifié à différents stades du processus : colonne vide, remplie de microbilles, remplie de MG, pendant

l'aspiration et au terme du processus. Chaque support est préparé en trois exemplaires, la moyenne de ces trois supports figure dans la partie Résultats et Discussion.

II-6. Adsorption des TGs standards sur différents supports

Un mélange de TGs standards est préparé et filtré sur différents milieux filtrants dans le but de simplifier la compréhension de la rétention des TGs par une membrane, de comprendre les différentes interactions entre les TGs eux-mêmes et la membrane, ainsi que pour comprendre le rôle de l'insaturation et l'influence de la longueur des chaînes triglycéridiques.

Le mélange de TGs est composé de PPP (34 %), MMM (34,7 %), OOO (16 %), CCC (6,2 %), LLL (4,1 %), LaLaLa (2 %) et CyCyCy (3 %). Ce mélange est réalisé à la température de 60°C en raison du point de fusion élevé de certains TGs saturés et pour permettre un bon mélange entre les différents TGs. La percolation s'effectue dans une mini-colonne remplie des différents matériaux filtrants : microbilles de verre (150-212 μm), microbilles de verre (150-212 μm) imprégnées à 1 %, 3 % et 5 % de silicone SE 30, oxyde d'aluminium et gel de silice (Kieselgel 40). La quantité de matériau filtrant est toujours la même (2 g). La percolation est réalisée à température constante (60°C). Les matériaux filtrants sont récupérés, pesés, puis dilués dans le dichlorométhane dans le but d'identifier les TGs restant adsorbés.

III- Caractérisation de la MGLA et des ses fractions

La caractérisation de la MGLA et des ses fractions est très importante pour apprécier l'efficacité de la partition et pour comprendre les différentes interactions possibles entre les TGs et le matériau filtrant.

III-1. Calorimétrie différentielle

L'analyse thermique différentielle (ATD ou Differential Scanning Calorimetry, DSC) est une méthode utilisée, d'une part pour mesurer les caractéristiques d'échauffement d'un corps sans changement d'état, d'autre part pour déterminer qualitativement et quantitativement les variations d'énergie liées à un changement d'état de ce corps. Le principe de fonctionnement de la DSC consiste à mesurer une différence de flux thermique entre le produit à analyser et un matériau de référence, en soumettant un échantillon à une variation de température à vitesse constante. Cette différence de flux se traduit par un pic endothermique ou exothermique lors des changements d'état.

Nous utilisons ici un DSC4-Perkin Elmer (Norwalk, USA). L'étalonnage de l'appareil est effectué sur un échantillon d'indium dont la température et l'enthalpie de fusion sont parfaitement connues (T_f : 166,6°C et ΔH : 68 mcal/g).

L'échantillon (10,0 mg environ exactement) de MGLA est introduit dans une capsule en aluminium, celle-ci est hermétiquement scellée. La capsule échantillon et sa référence sont portées à 70°C pendant 5 minutes afin de détruire toute forme de cristallisation pouvant agir sur le comportement thermique de la MGLA (méthode de Deroanne, 1977). Cette opération est suivie d'un refroidissement rapide à -40°C. Après maintien à cette température pendant 5 minutes, on procède au chauffage avec un gradient de 16°C/min, jusqu'à la température de 60°C.

La teneur en matière grasse solide (Solid Fat Content, SFC) est déterminée à la température de 20°C en utilisant la formule proposée par Deroanne (1977) :

$$SFC = 100 - 100 * \frac{\Delta H_1 / \Delta H_\alpha}{\Delta H_1 / \Delta H_\alpha + \Delta H_2 / \Delta H_\beta}$$

ΔH_1 : Enthalpie de fusion des TGs à bas points de fusion (mcal/mg)

ΔH_2 : Enthalpie de fusion des TGs à hauts points de fusion (mcal/mg)

ΔH_α : 16,7 (mcal/mg)

ΔH_β : 20,3 (mcal/mg)

III-2. Analyse des acides gras

L'analyse des acides gras a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques.

L'appareil utilisé est un chromatographe GIRDEL 30 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un intégrateur électronique. Il est équipé d'une colonne en acier remplie (4 m de longueur x 3 mm de diamètre) garnie de Carbowax™ 20 M. La chromatographie est réalisée en isotherme à 200°C. Le gaz vecteur est l'azote, sous une pression de 0,6 bar.

Les esters méthyliques sont préparés selon la méthode de Utrilla *et al.* (1976) : la matière grasse (1 g) est initialement dissoute dans l'éther de pétrole (9 ml) et on ajoute 0,5 ml d'une solution de potasse méthanolique 2 N. On injecte 0,5 µl de cet échantillon après un temps de repos de 3 heures.

III-3. Analyse des TGs

L'analyse des TGs de la MGLA est difficile en raison de la complexité de sa composition. De plus, un grand nombre de TGs ont une température de fusion élevée et les solvants dotés d'une bonne capacité de résolution chromatographique sont souvent de mauvais solvants pour les TGs.

Les premiers travaux portant sur l'analyse des TGs par chromatographie liquide haute performance (CLHP) ont été effectués par Pei *et al.* (1975). Depuis, de grands progrès dans l'analyse des TGs par CLHP phase inverse ont été réalisés. La CLHP phase inverse sépare les TGs en fonction du nombre de carbones (nc) et du nombre total de doubles liaisons (ND) présentes dans les molécules (El-Hamdy et Perkins, 1981 ; Perrin et Naudet, 1983 ; Barron *et al.*, 1987). Si le ND augmente, le temps de rétention diminue, par contre, si le nc augmente le temps de rétention augmente. En effet les TGs contenant des groupements alkyles saturés (El-Hamdy et Perkins, 1981) ont tendance à circuler plus lentement par rapport aux TGs insaturés, ceci en raison de leur affinité avec la phase stationnaire et la phase mobile.

III-3.1. Détection des TGs

Il existe plusieurs types de détecteurs pour l'analyse des TGs en CLHP (Wojtusik *et al.*, 1989). Les détecteurs UV ne sont pas fréquemment utilisés (Aiztemüller, 1984, Aiztemüller et Groinheim, 1992). En effet, les triglycérides possèdent seulement un faible chromophore (fonction ester) absorbant uniquement dans l'ultra-violet lointain (180-200 nm), or la plupart des solvants utilisés en chromatographie des TGs absorbent fortement dans cette région. Un autre détecteur très efficace dans l'analyse des TGs des huiles et des MG est le réfractomètre différentiel (indice de réfraction, RI). Couramment utilisé, il est compatible avec

tous les solvants, sa sensibilité dépend de la différence entre l'indice de réfraction des solutés et des solvants. Malheureusement, le RI est très sensible à la variation de température, aux fluctuations de pression et à la phase mobile, d'où l'impossibilité de travailler en gradient d'élution (Herslöf *et al.*, 1979 ; Goiffon *et al.*, 1981I, II ; Jensen, 1981 ; Deffense, 1984). Sa sensibilité est par ailleurs relativement faible. Le troisième type de détecteur utilisé est le Détecteur à Diffusion de Lumière (DDL). Considéré comme un détecteur universel par plusieurs auteurs (Stolyhwo *et al.*, 1983 ; Stolyhwo *et al.*, 1984 ; Mourey et Oppenheimer, 1984 ; Christie, 1985 ; Christie *et al.*, 1985 ; Macrae, 1987 ; Lafosse *et al.*, 1987 ; Aizetmüller, 1990 ; Aizetmüller et Groinheim, 1992), le DDL peut être utilisé avec tous les types de solvants et sous gradient d'élution. Nous détaillerons ici le principe de la détection par diffusion de lumière, du fait de son utilisation au cours de ce travail.

Le principe de la détection par diffusion de la lumière (DDL) est le suivant : l'effluent sortant de la colonne est nébulisé dans un courant gazeux qui permet l'évaporation du solvant et laisse les composés non volatils sous forme d'aérosols dont la taille des gouttellettes dépend de leur concentration (Chalersworth, 1978). Le soluté passe à travers un faisceau lumineux et la lumière diffusée sous un angle de 120 degrés est détectée par une photodiode. La quantité de lumière diffusée est fonction du débit de solvant, du gaz vecteur et de la température de détection, ainsi que de la taille des particules des solutés qui dépend de leur concentration initiale. L'augmentation de la concentration de l'échantillon augmente la taille des particules et non pas leur nombre (Stolyhwo *et al.*, 1984). La réponse du DDL est exponentielle, l'exposant est fonction de la taille moyenne des particules, c'est-à-dire des caractéristiques du nébulisateur. En effet, la réponse (A) du DDL est proportionnelle à la quantité (m) injectée, à la puissance x ($A = am^x$). L'exposant x est relié à la température et à la pression du détecteur.

Mais on peut considérer que la réponse du détecteur est linéaire dans un domaine limité. Le DDL n'est pas un véritable détecteur de masse, mais il a plusieurs avantages: augmentation de la sensibilité, élimination des pics de solvant, meilleure stabilité de la ligne de base, compatibilité avec le gradient d'élution et facilité d'utilisation. Ruiz-Sala *et al.*, (1996) ainsi que nous même (El Ama *et al.*, 1997) ont utilisé la méthode des pourcentages de surface des pics pour quantifier les TGs présents.

III-3.2. Identification des TGs

L'identification de TGs est difficile à cause de l'absence de TGs mixtes standards utilisables comme témoins. Il existe cependant plusieurs méthodes d'identification des TGs :

- Le nombre de partition (NP) : il est défini comme étant le nombre de carbones (NC) du TG diminué de deux fois le nombre de doubles liaisons (ND).

$$NP = NC - 2ND$$

Deux triglycérides différents peuvent posséder le même NP, on les appelle des paires critiques (El-Hamdy et Perkins, 1981). L'élution dans l'ordre croissant des NP est la règle générale, mais il existe des formules plus complexes et qui définissent en détail l'ordre de sortie des TGs.

- Le nombre théorique de carbones (TCN) : il est défini par El-Hamdy et Perkins (1981). Le TCN est calculé à partir de la relation linéaire $\log K' = f(NC)$ existant pour les triglycérides saturés.

$$TCN = NP - \sum_1^3 U_i$$

Où U_i est un facteur expérimental pour chacun des acides gras constituant le triglycérides.

$U_i = 0$ pour les acides gras saturés

$U_i = 0,6-0,65$ pour l'acide oléique

$U_i = 0,7-0,8$ pour l'acide linoléique

$U_i = 0,2$ pour l'acide linolénique

Le facteur U_i change en fonction de la phase mobile. Ceci montre les limites de la notion de TCN qui n'est applicable que dans des conditions bien définies et doit être redéterminée à chacun des changement de phase mobile.

- Le nombre de carbones équivalent (ECN) : il s'agit du nombre de carbones d'un triglycéride insaturé hypothétique qui serait élué avec le même temps de rétention que le triglycéride saturé (Podlaha et Töregard, 1982, 1989). Les auteurs ont montré qu'une relation linéaire entre le nc et le ECN pour des triglycérides possédant le même degré d'insaturation existe. On obtient des droites parallèles en fonction de leur insaturation.
- La règle de Goiffon (1981) : il existe une relation linéaire entre le logarithme de la sélectivité du triglycéride (par rapport à la trioléine OOO) et le nombre de doubles liaisons. En effet chaque acide gras a une action spécifique sur la sélectivité, ces actions sont additives. La sélectivité d'un triglycéride mixte ABC à partir des rétentions des triglycérides homogènes AAA, BBB, CCC est la suivante :

$$\log K'_{ABC} = \frac{1}{3} \log K'_{AAA} + \frac{1}{3} \log K'_{BBB} + \frac{1}{3} \log K'_{CCC}$$

- Pour l'identification des TGs de la MGLA dans laquelle chaque pic dans le chromatogramme correspond à plusieurs TGs, le profil HPLC des TGs est généralement caractérisé par une série de quatre pics (Frede et Thiele, 1987) en fonction des ECN.

L'ordre d'élution des TGs est le suivant : tri-insaturés, di-insaturés, mono-insaturés et saturés.

- Couplage de la CLHP-phase inverse et la CPG pour identifier les différents pics de TGs. (Maniongui *et al.*, 1991, Gresti *et al.*, 1993, Ruiz-Sala *et al.*, 1996)
- Utilisation de la méthode de distribution au hasard (aléatoire) des acides gras sur le glycérol (Barron *et al.*, 1987; Bornaz *et al.*, 1992)

$$\%TG\ aaa = A \times A \times A \times 10^{-4}$$

$$\%TG\ aab = A \times A \times B \times 3 \times 10^{-4}$$

$$\%TG\ abc = A \times B \times C \times 6 \times 10^{-4}$$

A, B, C sont les pourcentages molaires des AGs a, b, c.

Dans cette étude, nous nous utiliserons trois modes d'identification des TGs de la MG. Le NP = nc - 2ND a été utilisé pour identifier et caractériser chaque classe de TGs. Le log K' en fonction du nc a été tracé pour des triglycérides saturés standards.

le TCN = nc - fi ND, permet l'identification des pics individuels dans chaque classe. Dans nos conditions expérimentales, nous avons trouvé fi O = 2,45, fi L = 2,27, fi Ln = 2,08. La règle de Frede et Thiele (1987) est aussi utilisée pour caractériser le degré d'insaturation. Connaissant la composition totale des AGs de la MG, la quantité des TGs présents a été déterminée théoriquement par le calcul de distribution au hasard, même si la composition de la MGLA ne suit pas les lois de distribution au hasard. Seuls les pics présentant une aire > 0,1% sont pris en considération, ainsi que ceux qui sont élués avant le terme de 60 minutes.

Le facteur de capacité K' qui caractérise la rétention chromatographique a été calculé pour identifier les TGs.

La mesure du facteur de capacité exige une connaissance du volume mort de la colonne. Il existe diverses méthodes permettant cette détermination :

- 1- Injection de molécules de solvant deutérées
- 2- Injection de solutions salines
- 3- La linéarisation de $\log K' = f(nc)$ pour des séries homologues.
- 4- La méthode des pesées (utilisée par Thevenon, 1985 et Héron, 1991)

La méthode consiste à peser la colonne équilibrée successivement avec des solvants de masse volumique très différentes (CCl₄ et méthanol). Après chaque équilibrage on obtient:

$$m_1 = m_1 \text{ col} + \rho_1 V_0$$

$$m_2 = m_2 \text{ col} + \rho_2 V_0$$

$$V_0 = \frac{m_1 - m_2}{\rho_1 - \rho_2}$$

où m_1 est la masse du premier solvant, m_2 la masse du second solvant, m_{col} la masse de la phase stationnaire et des tubulaires, ρ_1 la masse volumique du premier solvant et ρ_2 la masse volumique du second solvant. Nous avons utilisé la méthode des pesées pour déterminer le volume mort total (volume mort colonne + volume mort extra colonne). Le volume mort est de 1,86 ml et peut être exprimé en unités de temps soit, 2,33 minutes.

III-3.3. Appareillage

Une chaîne HPLC (Waters S.A., Saint Quentin en Yvelines, France) est utilisée. L'appareil est composé de deux pompes (Waters 510, pompes HPLC), un distributeur automatique d'échantillons (WatersTM 717 plus autosampler) thermostaté à 32 °C, un système de thermostatisation de la colonne (Waters Temperature Control Module) maintenu à 32°C. Le traitement des résultats est effectué par le logiciel MILLENIUMTM 2101 (Waters S.A., Saint Quentin en Yvelines, France). Deux colonnes Nova-Pak C18, 4 μ m, 150 x 3,9 mm sont connectées en série. Le détecteur est un DDL (Sedex 55, SEDERE, Alfortville, France). La température d'évaporation est réglée à 38°C et la pression d'arrivée du gaz (air comprimé) est de 2,5 bar. L'air comprimé est filtré avant l'arrivée dans le nébulisateur. Le détecteur est nettoyé après l'analyse de 50 échantillons.

III-3.3.1. Solvants

L'analyse des TGs est effectuée en isotropique d'élution. Les solvants utilisés sont de qualité CLHP. Avant chaque utilisation, les solvants sont filtrés sur filtres Watmann pour solvant organique et dégazés à l'hélium. Pour les analyses de la MGLA, les proportions d'acétonitrile (ACN) et d'acétone (ACE) sont de 41,25/58,75 % (v/v) et pour les autres huiles, les proportions ACN/ACE sont de 47/53 % (v/v).

III-3.3.2. Protocole opératoire

L'échantillon est dissous à la concentration de 4 % (p/v) dans du dichlorométhane. Les TGs standards sont également dilués à 1 % (p/v) dans le dichlorométhane. Dans les deux cas, 10 μ l sont auto-injectés pour l'analyse. Le débit de la phase mobile est de 0,8 ml/min. La température du système est de 32°C et le temps d'élution est fixé à une heure. Chaque échantillon est injecté deux fois. Les colonnes sont équilibrées pendant 15 minutes entre chaque injection.

III-3.4. Reproductibilité de La CLHP :

La répétabilité de l'analyse en CLHP a été déterminée en injectant 6 fois différents échantillons d'une même huile. Sauf exception, le coefficient de variation (CV %) en % de l'aire du pic est toujours inférieur à 5 %. Il augmente quand la concentration de chaque composé diminue, même si d'autres facteurs tels que la stabilité de la ligne de base, les chevauchement de pics, etc... sont susceptibles d'affecter le coefficient de variation.

Le coefficient de variation du temps de rétention a également été calculé pour un mélange d'huile, il est inférieur à 1%. Les tableaux ci-dessous sont tirés de l'article de El Ama *et al.*, (1997)

Tableau III-1 Calcul du coefficient de variation en % d'aire des pics en CLHP pour un mélange d'huile. (C.V%, coefficient de variation)

N° pic	% aire	C.V%	N° pic	% aire	C.V%
1	0,66	3,076	15	0,33	1,749
2	4,02	2,921	16	0,34	1,786
3	5,26	0,000	17	1,00	1,506
4	9,77	2,452	18	7,28	2,068
5	5,42	2,307	19	4,84	2,271
6	3,63	3,070	20	0,49	2,147
7	3,29	1,315	21	0,29	1,431
8	0,7	3,018	22	3,22	3,226
9	0,63	5,795	23	3,14	1,872
10	3,35	1,563	24	0,13	1,954
11	0,99	0,956	25	13,35	1,386
12	1,92	1,174	26	5,26	4,076
13	19,32	2,080	27	0,48	4,277
14	0,79	1,256			

Tableau III-2 Calcul du coefficient de variation pour le temps de rétention (Tr) en CLHP pour un mélange d'huile. (C.V%, coefficient de variation)

N° pics	Tr (min)	C.V%	N° pics	Tr (min)	C.V%
1	6,417	0,257	15	21,233	0,212
2	7,617	0,121	16	21,383	0,706
3	9,267	0,107	17	23,617	0,119
4	10,100	0,100	18	24,950	0,146
5	11,333	0,163	19	26,383	0,178
6	12,367	0,087	20	26,95	0,221
7	14,267	0,206	21	30,883	0,064
8	14,500	0,133	22	33,100	0,105
9	15,367	0,799	23	34,750	0,028
10	15,833	0,060	24	40,633	0,063
11	16,600	0,220	25	43,617	0,173
12	18,217	0,153	26	46,783	0,273
13	19,000	0,140	27	62,683	0,223
14	19,7	0,134			

Tableau III-3 Coefficient de variation (C.V%) pour l'aire des pics des TGs de la MGLA (C.V% coefficient de variation)

N° pic	% aire	C.V%	N° pic	% aire	C.V%	N° pic	% aire	C.V%
1	0,17	3,33	14	2,21	1,36	27	1,89	1,33
2	0,55	1,06	15	4,54	0,83	28	0,45	1,27
3	0,54	4,90	16	4,90	0,85	29	2,16	1,49
4	0,87	5,26	17	3,60	0,42	30	3,70	1,87
5	2,35	0,88	18	1,92	2,08	31	1,73	0,66
6	2,00	3,40	19	2,88	0,53	32	0,78	0,74
7	2,28	3,34	20	0,86	0,67	33	3,37	1,49
8	6,16	0,67	21	0,93	1,08	34	4,04	1,00
9	6,18	1,41	22	2,21	0,82	35	1,06	2,38
10	1,20	4,18	23	2,37	2,54	36	0,09	11,11
11	5,10	0,56	24	0,34	2,94	37	0,46	2,49
12	10,99	1,78	25	1,02	2,05	38	1,44	1,60
13	9,67	1,9708	26	2,48	0,41	39	0,55	1,04

III-4. Calcul de l'indice de non-polarité

Nous avons utilisé la définition de l'indice de non-polarité donnée par Van der Waal (1985) pour le calcul de la polarité des triglycérides :

$$\text{INP} = \frac{\text{Nombre de carbones} \times \text{Poids moléculaire}}{\text{Nombre de carboxyles} \times 100}$$

Cet indice a été utilisé pour classer les esters des matières premières selon leur polarité, ou mieux encore selon leur *non polarité*. Plus l'indice de non-polarité est grand, plus l'affinité pour une surface métallique est faible. Cependant, cet indice ne prend pas en considération le degré d'insaturation des molécules, alors que celui-ci joue un rôle très important dans la caractérisation de l'hydrophobicité. Nous nous proposons d'améliorer cet indice en prenant en considération les doubles liaisons. Nous l'appellerons de l'indice d'hydrophobicité apparente (HA)

$$\text{HA} = \frac{\text{Nombre de carbones} \times \text{Poids moléculaire}}{(\text{Nombre de carboxyles} + 3 \times \text{doubles liaisons}) \times 100}$$

III-5. Calcul du volume et de l'énergie des différentes molécules de TGs

Pour mieux comprendre l'hydrophobicité des différents TGs, nous avons décidé d'étudier leur volume et les arrangements des trois chaînes d'acides gras dans l'espace, en fonction de leur longueur et du nombre de doubles liaisons, ainsi que leur énergie potentielle. Nous avons utilisé les logiciels Hyper Chem, et ChemplusTM (Hypercube INC., Waterloo, Canada). Ces logiciels permettent, en plus de la construction et de la visualisation de molécules ou de systèmes moléculaires, de réaliser des simulations moléculaires en fonction du temps et en fonction de la température, de rechercher une configuration stable et d'optimiser les molécules pour le minimum d'énergie.

III-5.1. Calcul de l'énergie

On utilise une méthode de mécanique moléculaire qui calcule l'énergie potentielle des systèmes moléculaires selon une fonction des coordonnées des atomes, en négligeant le traitement des électrons. Cette méthode utilise des données empiriques pour déterminer les constantes de force individuelles (par exemple, les constantes d'étirement des liaisons) et les données géométriques (longueur des liaisons,...). Hyper Chem peut utiliser quatre méthodes différentes : MM+, AMBER, BIO+ et OPLS, La méthode MM+ est la plus générale et la plus développée pour les molécules organiques. C'est cette dernière que nous avons utiliser.

Hyper Chem permet de calculer le minimum d'énergie d'un système et de le visualiser selon l'algorithme Polak-Ribiere. Il consiste à minimiser le gradient de l'énergie totale par rapport aux coordonnées des atomes du système moléculaire. La valeur du gradient, pour laquelle la structure est considérée comme minimisée, est égale à 0,01 kcal / mole Å°,

III-5.2. Calcul du volume des molécules optimisées

Après optimisation des molécules de TGs, nous avons calculé le rayon de gyration de la molécule de TG. En effet, la molécule optimisée peut être placée dans un parallélépipède théorique généré par le logiciel et dont on connaît les dimensions. Le volume d'un TG est assimilé *in fine* au volume d'une sphère.

IV- Mesure des angles de contact

Lorsqu'un liquide est en contact avec une surface solide, on observe deux comportements :

- Etalement du liquide sur la surface sous forme de film. L'affinité entre liquide et solide est alors forte et la surface de contact liquide solide est importante. Ceci représente la mouillabilité d'une surface. (Israelchivili, 1992 ; Van Oss, 1988, 1993)
- formation de gouttes, si l'affinité est faible et la surface de contact est faible également.

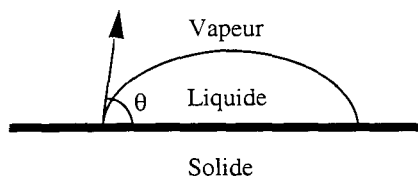


Figure IV-1 Schéma de l'angle de contact (θ)

L'angle de contact θ est l'angle que fait l'interface fluide avec la surface solide. Si $\theta = 0^\circ$, le liquide mouille complètement la surface solide. Pour $\theta = 180^\circ$, la goutte de liquide devient sphérique et le liquide n'est pas du tout mouillant. Pour $\theta = 90^\circ$, le liquide est partiellement mouillant.

Les mesures expérimentales de l'angle de contact sont réalisées seulement sur des lames de verre, en effet, plusieurs essais ont montré l'impossibilité de faire cette mesure sur les microbilles de verre (150-212 μ m). Nous avons utilisé des lames de microscope de verre de 2,6 cm de longueur, de 7,6 cm de largeur et 0,1 cm d'épaisseur. Les lames de verre sont nettoyées à l'acétone avant utilisation puis elles sont rincées à l'eau distillée ; on les trempe ensuite dans l'hexane pendant 20 minutes, on rince à l'eau distillée, on lave avec un détergent ménager, puis on rince à l'eau distillée et l'on sèche à 100°C pendant 14 heures. Les lames de verre propres sont, soit utilisées directement pour faire les mesures, soit trempées dans une solution contenant du silicone SE 30 ou du silicone SE 52 en vue de réaliser une surface plus ou moins hydrophobe. Après trempage les lames sont séchées à température ambiante. Les différents pourcentages de silicone SE 30 ou SE 52 déposés à la surface du verre sont les suivants: SE 30 (0,11 %, 0,12 %, 0,16 %, 0,5 %, 1 %, 14%, 1,8%, 2,4 %, 3,24 %, 3,6 %) ; SE 52 (0,05 %, 0,11 %, 0,28 %, 0,39 %, 0,809 %, 2,66 %, 2,8 %, 3 %, 4 %).

Pour les mesures de l'angle de contact, une goutte (10 μ l) d'huile d'olive est déposée sur la surface du verre à la température ambiante. Une caméra Neosis CCD (Nikkor, Nikon, Japon) est utilisée pour la prise et l'enregistrement des images, Celles-ci sont analysés au

moyen du logiciel Visilog™, qui permet de les digitaliser. L'image est sauvegardée, puis traitée grâce à un logiciel Fortran (anonyme) écrit spécialement pour calculer la valeur de l'angle de contact.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

I- Composition de la MGLA

L'analyse de la composition chimique de la MGLA par CLHP en phases inversées couplée à un détecteur à diffusion de la lumière a permis d'identifier plusieurs pics (39) (tableau I-2). Ces pics sont séparés en fonction de leur nombre de carbones et de leur nombre de doubles liaisons (voir matériels et méthodes). Les chromatogrammes de la MGLA obtenus via l'utilisation d'un détecteur DDL sont comparables à ceux obtenus par détecteur à infrarouge, ou indice de réfraction, (Frede et Thiele, 1987; Bornaz *et al.*, 1992, Gresti *et al.*, 1993). Les TGs caractérisés par un même nombre de partition (NP), sont séparés en 4 pics de CLHP, correspondant aux classes triglycéridiques présentées dans l'ordre croissant d'élution: poly-insaturés, di-insaturés, mono-insaturés, et saturés.

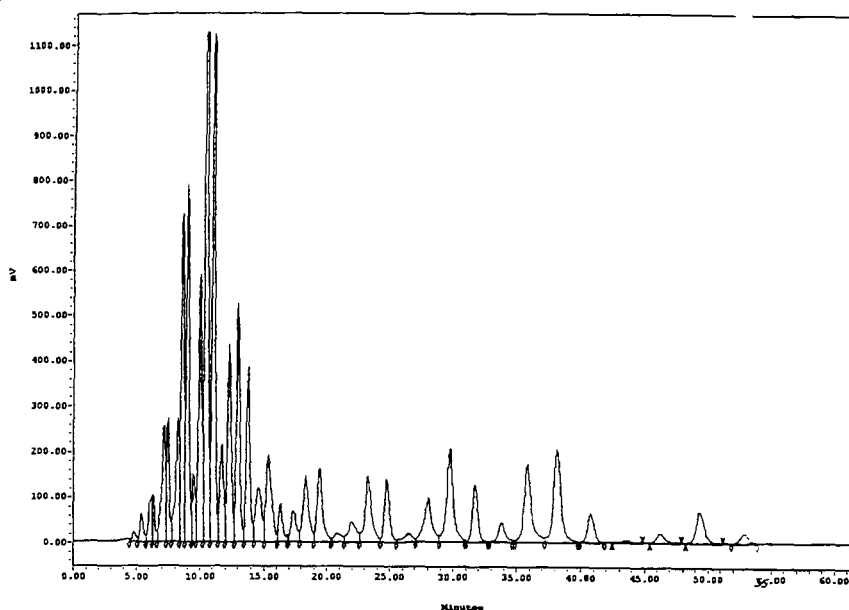


Figure I-1 Chromatogramme des Triglycérides de la MGLA par CLHP

Les espèces moléculaires des TGs, à l'intérieur de chaque pic, ont été identifiées en utilisant la distribution au hasard des AGs sur le glycérol (tableau I-1), ce qui, selon Gresti *et al.*, (1992), ne reflète pas la réalité. Toutefois, dans la présente étude, la répartition au hasard fournit les informations nécessaires pour la prédiction des espèces moléculaires dans des mélanges de TGs aussi complexes que la MGLA. Le chromatogramme a été classifié visuellement en 9 "quartets" et chaque classe de TGs est caractérisée par différents NP (Frede et Thiele, 1987).

Certaines espèces moléculaires des TGs (en particulier contenant l'acide linoléique (Ln) ne sont pas retrouvées par des auteurs comme Gresti *et al.*, 1993, Spanos *et al.*, 1995, Ruiz-Sala, *et al.*, 1996. En effet, en appliquant la règle de Frede et Thiele on peut noter que le quatrième pic d'un quartet ne contient pas que des TGs polyinsaturés, alors qu'ils sont considérés comme tels: en calculant les pourcentages des TGs tels que LnLnLn, LLL, LLLn, etc..., on les trouve inférieurs à 0,01%.

Tableau I-1 Composition de la MGLA en AGs par CPG. (PM : poids moléculaire, NC : nombre de carbone, ND : nombre de double liaisons)

AGs	NC	ND	PM	%
Bu	4	0	88	1,53
Co	6	0	116	0,20
Cy	8	0	144	1,60
C	10	0	172	4,11
La	12	0	200	5,11
M	14	0	228	15,34
P	16	0	256	40,00
S	18	0	284	9,90
O	18	1	282	21,85
L	18	2	280	1,95
Ln	18	3	278	0,33

Tableau I-2 Identification des TGs par CLHP phase inverse.

N° pic	Triglycérides	NP	PM Pon	Tr (min)
1	BuBuS, BuCoP, BuCyM, BuCLa, CoCoM, CoCyLa, CoCC, CyCyC, BuCyL, CoCoL, BuCyO	26 26 26 28	498 498 550 552	4,80
2	BuCoS, BuCyP, BuCM, BuLaLa, CoCoP, CoCyM, CoCLa, CyCyLa, CyCC, BuCL, CoCyL, BuLaLn, CoCLn, CyCyLn	28 28 28 28	526 526 578 604	5,80
3	CCC, CoCoS CoCyP, CoLaLa, CyCyM, CyCLa, BuCyS, BuCP, BuLaM, BuCO, CoCyO, BuLaL, CoCL	30 30 30 30	554 554 580 606	6,60
4	CoMLn, CoLLn CyLnLn, CyCL, CoLaL, CyCyO, CoCO, CCLn BuCyS, BuCP, BuLaM	32 32 30	712 712 554	7,40
5	CoCP, CoLaM, CyCyP, CyCM, CyLaLa, CCLa, CoCyS, BuCS, BuLaP, BuMM, BuLaO BuML,	32 32 32 32	588 588 608 634	8,30
6	CoLL, CyLLn, CoOLn, CoML, CoLaO, CyCO, CyLaL CCL, CoPLn, CyMLn, CLnLn, CLaLn, BuLO	34 34 34	723 723 688	8,80
7	CLaLa, CCM, CyCP, CyCyS, CoMM, CoLaP, CoCS, CoLaP, CoLaO, BuMO, BuMO, BuPL	34 34 34 34	620 620 634 662	9,70
8	LnLnLn, CLLn,	36	872	10,00
9	LaLnLn, CyOLn, CyLL, CoOL	36	736	10,52
10	CoMO, CyLaO, CCO, CoPL CyML, CLaL, CoSLn, CyPLn, CMLn, LaLaLn	36 36	669 669	11,00
11	LaLaLa, CLaM, CyMM, CyLaP, CyCS, CoMP, CoLS	36	638	11,60
12	CLL, LLnLn	38	874	12,12
13	CoOO, CyOL, COLn, LaLLn	38	743	12,70
14	CoPO, CyMO, CLaO, CoSL, CyPL, CML, LaLaL, CPLn, LaMLn	38	698	13,40
15	LaLaM, CMM, CLaP, CCS, CyMP, CyLaS	38	666	14,00
16	LLLn	40	876	14,70
17	OLnLn, MLLn, PLnLn, MILLn, LaLL, COL, CyOO, MMLn, LaPLn	40	760	15,55
18	LaLL, LaOLn, CoSO, CyPO CMO, LaLaO, CySL, CPL, LaML, MMLn, CSLn	40	724	16,30

N° pic	Triglycérides	NP	PM Pon	Tr (min)
19	LaMM, CMP, CLaS, CyPP, CyMS, CoPS, BuPS,	40	694	17,00
	LaLaP,	40	694	
	LLL	42	878	
20	OLLn,	42	878	18,13
	MOLn,	42	826	
	PLLn	42	852	
21	COO, LaOL, MLL	42	784	19,17
22	CySO, CPO, LaMO, CSL, LaPL, MML, MPLn, LaSLn,	42	753	20,10
23	MMM, LaMP, LaLaS, CPP, CMS, CyPS, CoSS	42	722	21,15
24	OLL, OOLn	44	880	22,50
25	PLL, SLLn, POLn, MOL	44	858	23,70
26	LaOO, MPL, CSO, LaPO, MMO, PPLn	44	781	24,90
27	MMP, LaPP, LaMS, CPS, CySS, MSLn	44	750	26,30
28	OOL	46	882	28,00
29	POL, SOLn, SLL, MOO	46	877	29,60
30	MSL, PPL, PSLn, LaSO, MOP	46	807	31,30
31	MPP, LaPS, MMS, CSS,	46	778	33,22
32	OOO	48	884	35,90
33	POO, SOL	48	859	37,30
34	POP, MSO, SSLn, PSL	48	833	39,70
35	PPP, MPS, LaSS	48	806	41,90
36		50	882	45,05
37	SOO	50	886	47,75
38	POS, SLL	50	861	50,15
39	PPS, SSM	50	834	54,15

II- Filtration tangentielle de la MGLA sur module plan

II-1. Choix des membranes et des conditions opératoires de la filtration.

Le choix des membranes a été effectué en fonction des résultats obtenus au laboratoire. Les deux membranes utilisées dans un module "MINITAN" pour la filtration tangentielle sont la membrane "DURAPORE" hydrophile et la membrane métallique en acier inoxydable fritté, avec lesquelles de grandes variations de SFC perméat / rétentat ont été observées. (Bornaz, 1994 et Diagana, 1997)

Le choix des conditions opératoires est réalisé dans le but d'avoir une bonne partition des TGs entre perméat et rétentat. Tout d'abord, la vitesse de l'alimentation de la MGLA est liée au temps de séjour des molécules de TGs au contact de la membrane. Selon Diagana (1997), l'efficacité de la séparation n'est pas liée à cette vitesse. Elle est maximale à vitesse intermédiaire. Par ailleurs, la séparation est meilleure à des pressions transmembranaires modérées. Enfin, la température a un effet négatif sur l'efficacité la séparation. En effet, à des températures élevées (60°C), les molécules de triglycérides (TGs) sont plus désorganisées et ont moins tendance à former des agrégats qu'à des températures proches de la zone de fusion. Compte tenu de ces acquis du laboratoire, la température de filtration sera constante tout au long de ce travail, à $(45 \pm 2)^\circ\text{C}$, la pression transmembranaire variera entre 0,5 à 1,4 bar, et la vitesse d'alimentation entre 4 et 6 cm/s. Pour certaines membranes ("DURAPORE"), vitesse et pression seront faibles, car la membrane étant mince, elle se déchire à haute pression, engendrant des problèmes de fuites.

II-2. Membrane "DURAPORE" hydrophile

La filtration tangentielle de MGLA sur module "MINITAN" a été conduite en utilisant une seule membrane hydrophile ou, afin d'étudier l'influence de l'épaisseur de la couche filtrante, en comparant les résultats obtenus en utilisant une, puis plusieurs membranes hydrophiles superposées (5 membranes) de 15,2 x 8,2 cm, avec une porosité de 0,22 μm .

Les différentes conditions et paramètres de filtration sur cette membrane sont présentés en tableau II-1. La variation de la composition en triglycérides au cours de la filtration est exprimée par un coefficient de performance entre perméat et MGLA initiale.

Tableau II-1 Paramètres hydrodynamiques utilisés pour la filtration sur une membrane "DURAPORE" hydrophile.

Paramètres	Pression (bar)	Vitesse (cm/s)
Nombre de membranes		
1	0,5	4
5	0,5	4

II-2.1. Filtration de la MGLA sur une seule membrane.

Le but de cette étude est de filtrer de la MGLA fondue à 45°C sur une membrane hydrophile. La première étape consiste à mesurer le flux de perméat au cours de la filtration pour mieux comprendre les phénomènes de polarisation et de colmatage. Le débit de perméat décroît régulièrement avec le temps de filtration. Selon Stamatakis et Tien (1993), la diminution du flux de filtration est une manifestation, non seulement des interactions entre les solutés et le solvant, mais elle en est également liée à des interactions solutés -solvant-membrane. Au cours des premières minutes, on observe une diminution rapide du débit qui peut être due à l'adsorption des molécules des TGs sur la surface de la membrane. Le débit n'est toujours pas stabilisé après 5 heures de fonctionnement, ce qui traduit l'élimination du gâteau de filtration sur la membrane par le cisaillement provoqué par la vitesse tangentielle d'écoulement.

La deuxième étape consiste à étudier les variations de composition du filtrat par rapport à la MGLA initiale afin de définir les TGs qui montrent les plus fortes variations. Les coefficients de performances du perméat et de la MGLA initiale sont donnés dans les figures II-1 (AGs) et II-2 (TGs). La relation entre la variation de composition des AGs et des TGs est difficilement interprétable.

Certaines tendances visibles sur les premières gouttes de perméat ne se retrouvent pas lorsque l'on poursuit la filtration. C'est le cas en particulier de l'acide butyrique. Après 300 min de filtration, tous les acides gras ont tendance à être retenus par la membrane à l'exception des C14, C16, C18, et C18:2. Ces évolutions des AGs sont seulement indicatives, car ces molécules n'existent pas sous forme libre dans la MGLA.

Pour l'évolution de la composition triglycéridique, on observe qu'à partir du pic numéro 25, le Coefficient de Performance dévient négatif indiquant la rétention de ces TGs à haut NP par la membrane, corrélativement au passage des petites molécules.

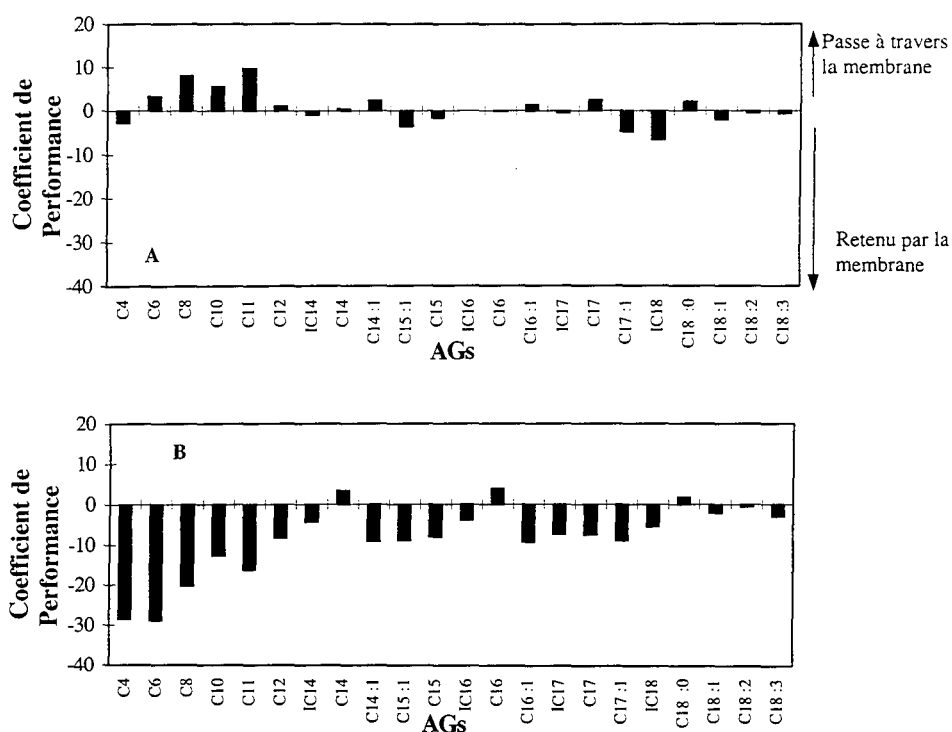


Figure II-1 Evolution du coefficient de performance (perméat / initial) pour les acides gras en fonction du temps : A) 1 minute B) 300 minutes.

Nous avons effectué différents prélèvements au cours du temps: 1, 30, 60, 120, 180, 210 et 300 minutes. En effet, la composition triglycéridique du prélèvement varie rapidement. Ceci signifie que le phénomène de séparation est direct, les perméats se sont enrichis en certaines molécules et se sont appauvris en d'autres. En revanche les profils rétentat et perméat sont voisins. Selon Bornaz (1994), on n'est pas en présence d'un phénomène de filtration au vrai sens du terme, mais plutôt, d'un phénomène d'adsorption préférentielle de certaines molécules.

D'une manière générale, une séparation en fonction du poids moléculaire apparaît, lorsque l'on raisonne en groupes de TGs homogènes : les petites molécules passent, les grosses sont retenues. Les seuils observés sont du même ordre que ceux mis en évidence par Bornaz (1996) : 700 pour les triglycérides saturés, 765 pour les mono-insaturés, 784 pour les di-insaturés, et enfin 882 pour les TGs poly-insaturés. Les courbes de figures II-2, II-3, II-4 montrent bien ce phénomène.

En conclusion, la rétention des TGs sur la membrane "DURAPORE" s'établit pour les TGs saturés, mono-insaturés, di-insaturés et poly-insaturés respectivement à partir de NP = 44, 44, 42, et 46.

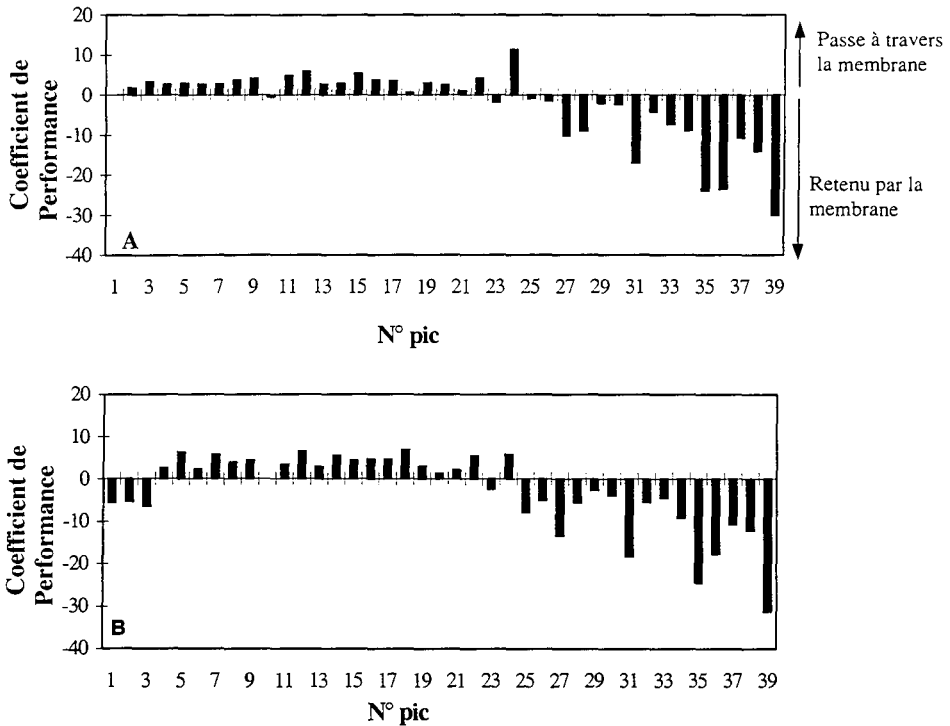


Figure II-2 Coefficient de Performance des TGs (perméat / MGLA initiale) sur une membrane "DURAPORE". A : début de la filtration. B : Après 300 minutes de filtration en fonction de N° du pic.

Le calcul du SFC montre la divergence perméat - rétentat (figure II-6). Il est intéressant de caractériser l'efficacité de la séparation par la variation du SFC des fractions en fonction du temps par le calcul de la surface comprise entre les deux courbes des SFC rétentat et perméat (Diagana, 1997), et ceci pour les différentes membranes. Cette variable, appelée A_s exprime la différence de contenu en solides entre perméat et rétentat récoltés pendant un temps donné. A_s entre les courbes de perméat et le rétentat donne 0,160 g

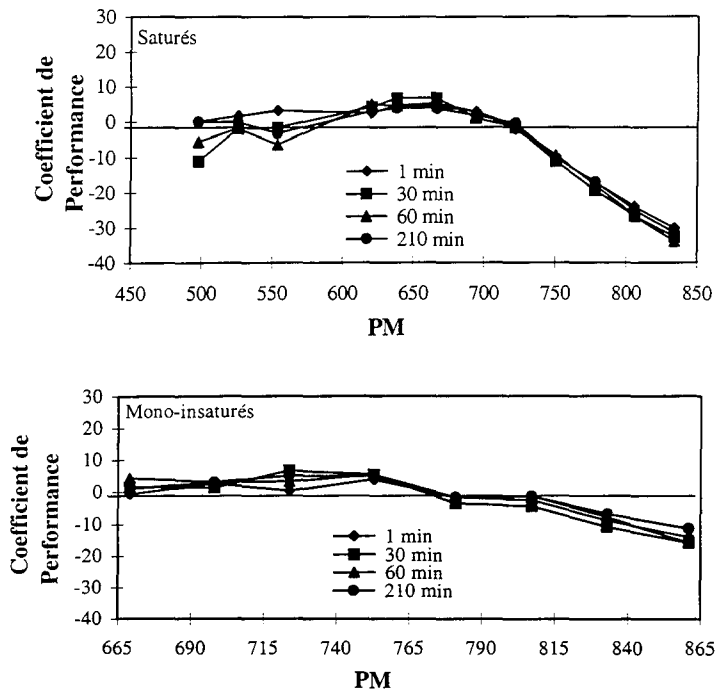


Figure II-3 Calcul du coefficient de Performance (Perméat / Initial) en fonction du poids moléculaire des triglycérides saturés et mono-insaturés au cours de filtration. Prélèvements du perméat respectivement à 1, 30, 60 et 210 minutes.

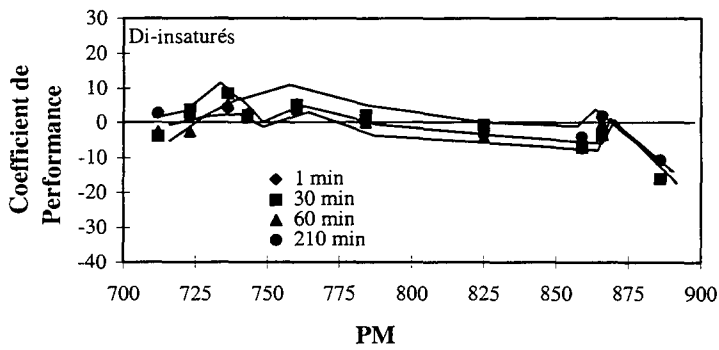


Figure II-4 Calcul du coefficient de Performance (Perméat / Initial) en fonction du poids moléculaire des triglycérides di-insaturés au cours de filtration. Prélèvements du perméat respectivement à 1, 30, 60 et 210 minutes.

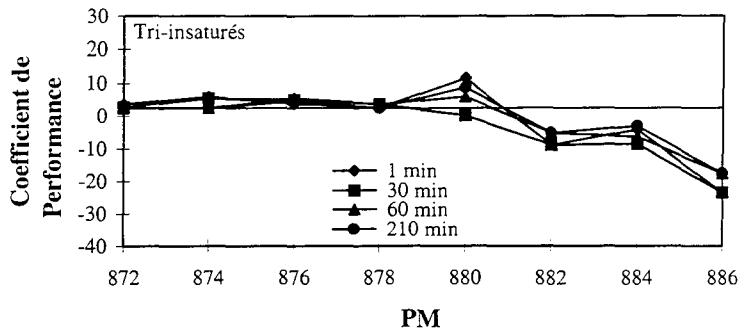


Figure II-5 Calcul du coefficient de Performance (Perméat / Initial) en fonction du poids moléculaire des triglycérides tri-insaturés au cours de filtration. Prélèvements du perméat respectivement à 1, 30, 60 et 210 minutes.

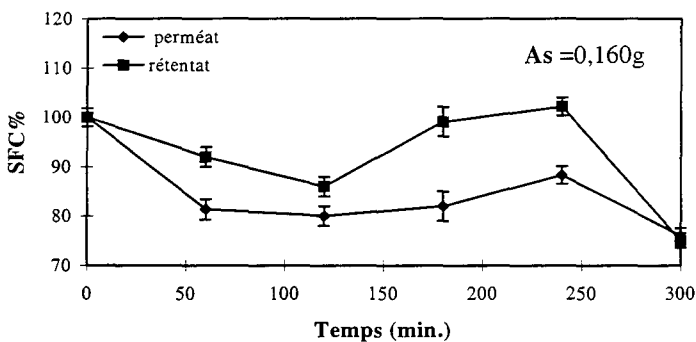


Figure II-6 Evolution du SFC du perméat et rétentat sur une membrane "DURAPORE" en fonction du temps.

II-2.2. Filtration de la MGLA sur 5 épaisseurs de membranes

A partir d'un débit initial plus faible qu'avec une seule membrane, le même phénomène d'évolution de débit de perméat est observé. La stabilisation du débit s'effectue rapidement après 120 minutes de filtration indiquant la formation de la couche de polarisation sur la membrane.

Les courbes II-7, II-8 et II-9 montrent que les performances de ce type de montage sont plus mauvaises que celles de la membrane unique. Ceci tient probablement au montage lui-même qui ne permet pas de solidariser correctement les 5 épaisseurs de membrane entre elles.

Le résultat est alors brouillé, comme le montrent les courbes, aussi bien sur les AGs que sur les TGs, et finalement sur l'efficacité de la séparation en termes de SFC.

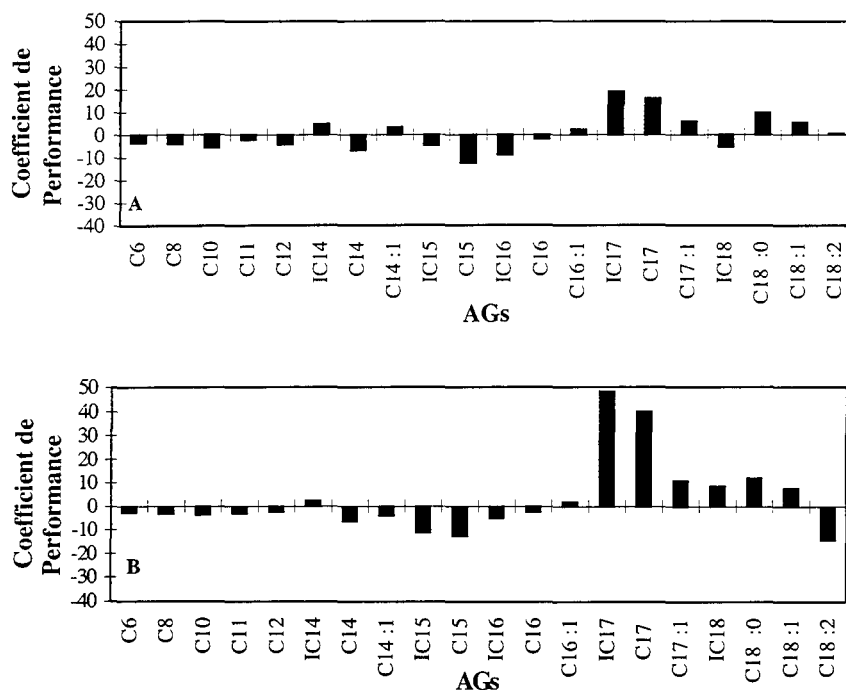


Figure II-7 Evolution de coefficient de Performance des acides gras (perméat / MGLA initiale) en fonction du temps : A) 1 minute, B) 300 minutes

Le calcul du SFC montre que la divergence entre perméat et rétentat est plus longue à s'établir, alors que les SFC des deux fractions diminuent au début de la filtration. Cette diminution est de l'ordre de 30% après 120 minutes. Puis le rétentat augmente et se stabilise à un SFC proche de l'initial. Le calcul de l'aire spécifique A_s entre les courbes de perméat et de rétentat donne : 0,102 g.

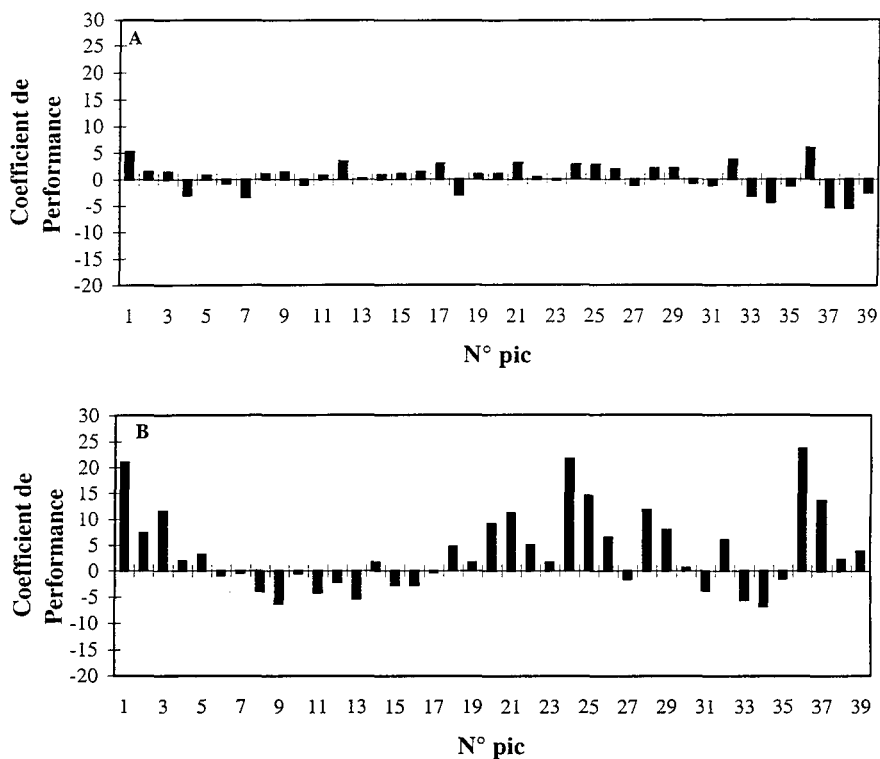


Figure II-8 Coefficient de Performance des TGs (perméat / MGLA initiale) sur 5 membranes "DURAPORE" en fonction du N° du pic. A : début de la filtration. B : Après 300 minutes de filtration

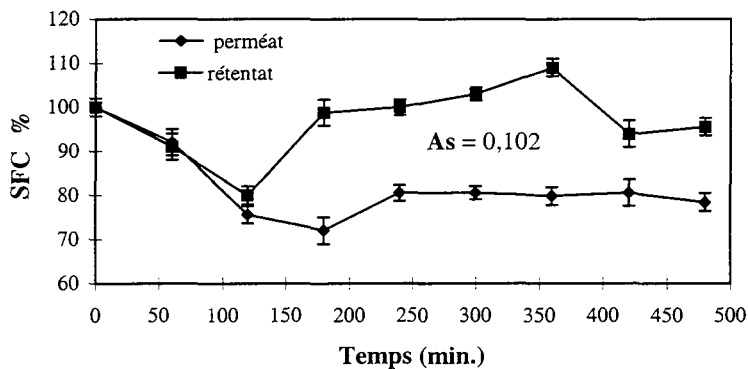


Figure II-9 Evolution du SFC (perméat et rétentat) sur 5 membranes "DURAPORE" en fonction du temps.

En conclusion de cet essai dont le but était de mettre en évidence l'effet de l'épaisseur de la membrane, on peut dire que le montage est inadapté, et que le résultat en séparation est moins bon qu'avec une seule épaisseur de membrane "DURAPORE" dite hydrophile.

II-3. Filtration tangentielle sur une membrane métallique

La filtration tangentielle s'effectue sur une membrane en acier inoxydable caractérisée par une distribution moyenne de pores de 0,5 μm . La membrane a été utilisée directement à différentes conditions hydrodynamiques ou après imprégnation avec des phospholipides. Le rétentat est recyclé dans le bac d'alimentation alors que le perméat est recueilli.

II-3.1. Filtration tangentielle sur une membrane métallique seule

Le débit de perméat évolue classiquement. Seules de légères variations de débit entre membrane témoin et membrane imprégnée sont observées.

Pour les mêmes raisons, les variations observées sur les AGs sont très difficiles à interpréter. Il n'existe pas de modèle de rétention fixe, et des inversions de tendance se produisent au cours du temps. Comme la filtration est arrêtée avant le passage de la totalité de la charge initiale, l'inversion du phénomène de rétention peut être due à la formation d'une couche de polarisation sur la membrane, ce qui revient à former une membrane différente.

Le coefficient de performance des TGs (perméat/initial) pour une membrane métallique témoin (vitesse de 4 cm/s et pression de 1,4 bar) est caractérisé par trois comportements différents (figure II-10):

- Passage : TGs à faible poids moléculaire (pics 1 à 25).
- Rétention : TGs à haut poids moléculaire à partir du pic 26 (NP = 44).
- Pas de variation : le pic 21 qui correspond à un TG di-insaturé (NP = 42).

Les seuils de coupure pour les différents TGs saturés, mono, di et tri-insaturés sont respectivement observés pour des NP = 44 et 46.

Le coefficient de performance des TGs (perméat/initial) pour une membrane métallique témoin à une vitesse de 4 cm/s et une pression de 0,7 bar est caractérisé par trois comportements différents (figure II-11) :

- Rétention : TGs à faible poids moléculaire jusqu'au pic 6 (NP = 34), pic 10 (NP = 36), pic 14 (NP = 38), et TGs à haut poids moléculaire à partir du pic 17 (NP=40).

- Passage : TGs à poids moléculaire moyen (pics 9 à 16) (NP entre 36 et 40). C'est également le cas pour certains TGs saturés : NP = 44, 46, 48
- Pas de variation : les pics 7 et 34 (NP 34 (mono-insaturés) et 48 (mono-insaturés))

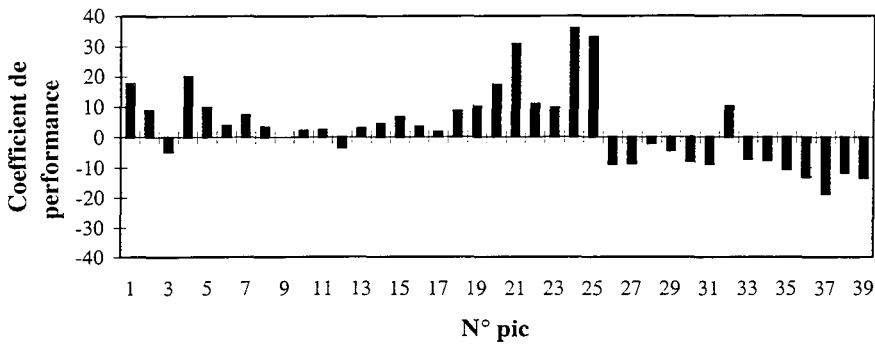


Figure II-10 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) pour une filtration tangentielle sur une membrane métallique témoin à une vitesse 4 cm/s et 1,4 bar en fonction du N° pic.

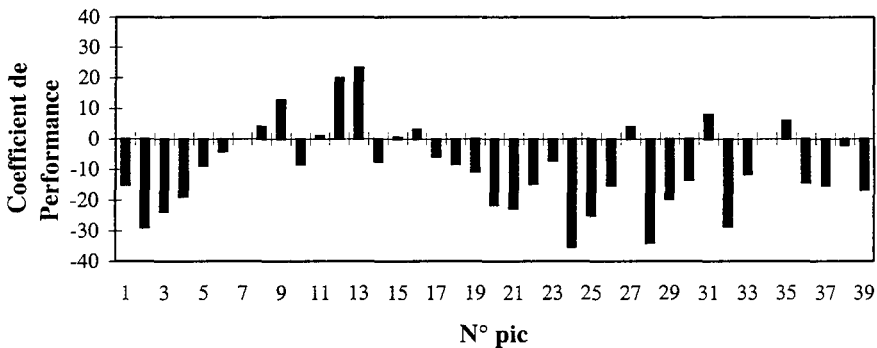


Figure II-11 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) pour une filtration tangentielle sur une membrane métallique témoin (4 cm/s et 0,7 bar) en fonction du N° pic.

II-3.2. Filtration tangentielle sur une membrane métallique imprégnée avec de phospholipides

Les essais ont été menés avec des valeurs de $x = 0,18, 0,52$ et $0,85$ % de phospholipides, et dans les mêmes conditions hydrodynamiques que les précédents.

Dans tous les cas, une inversion de la rétention des AGs est observée après une heure de filtration, si bien que jusqu'à la fin de la filtration, ce sont les AGs à haut poids moléculaire qui sont retenus par la membrane, ainsi que deux acides gras à faible poids moléculaire (C8, C6).

Le coefficient de performance des TGs (perméat / initial) varie en fonction du temps du filtration. En effet, pendant les deux premiers heures de filtration, le phénomène de partition est net. A partir de deux heures, presque tous les TGs traversent la membrane. Ceci peut être dû au lessivage de la couche de phospholipides initialement adsorbés sur la membrane. Une telle évolution est donnée à titre d'exemple sur la figure II-12.

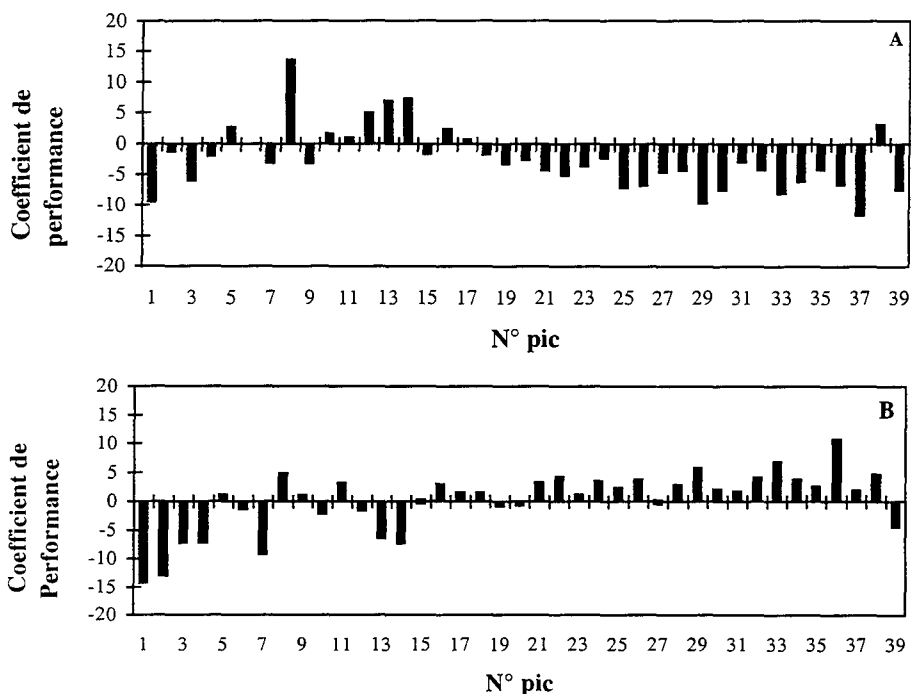


Figure II-12 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) pour une filtration tangentielle sur une membrane métallique imprégnée à 0,52 % de phospholipides. A) 10 minutes B) 300 minutes en fonction du N° pic.

II-3.3. Evolution du coefficient de performance en fonction de NP pour les différentes membranes métalliques

L'évolution globale des coefficients de performance a montré ses limites d'interprétabilité. Sur les divers types de membranes utilisés, et en fonction du degré d'insaturation, il peut être intéressant d'étudier la partition en fonction de NP. Ceci est résumé dans le tableau II-2 pour quelques NP. Pour une membrane non imprégnée, on observe d'une manière générale que les TGs saturés et tri-insaturés passent à travers la membrane, alors que les mono- et di-insaturés sont retenus. Dans le cas particulier de NP = 42, les TGs poly-insaturés sont également retenus et seuls les saturés traversent la membrane. A partir de NP = 46 tous les TGs sont retenus. Pour les membranes imprégnées avec des phospholipides, l'évolution du coefficient de performance est complexe, d'autant plus que les phospholipides ont tendance à se dissoudre dans le flux et à traverser la membrane avec le perméat.

Tableau II-2 Evolution du coefficient de performance (perméat par rapport à initial) sur membranes imprégnées des phospholipides en fonction de NP et de l'insaturation.(↓ : diminue, ↑ : augmente)

Membrane non imprégnée					
TGs	NP 38	NP 40	NP 42	NP 44	NP 46
Tri-insaturés	↑	↑	↓	↓↑	↓
Di-insaturés	↓	↓	↓↑	↓	↓
Mono-insaturés	↑	↓	↓	↑↓	↓
Saturés	↑	↑	↑	↑	↑
Membrane imprégnée 0,18%					
Tri-insaturés	↑	↓↑	↓	↓	↓↑
Di-insaturés	↓	↑	↓	↓	↑↓
Mono-insaturés	↑↓	↑	↓	↓	↑↓
Saturés	↓	↑	↓	↓	↓
Membrane imprégnée 0,52%					
Tri-insaturés	↑	↓↑	↓↑	↓	↓↑
Di-insaturés	↑	↓↑	↓	↓↑	↑↓
Mono-insaturés	↓↑	↓↑	↓↑	↓↑	↑↓
Saturés	↓↑	↓↑	↓↑	↓↑	↓
Membrane imprégnée 0,85%					
Tri-insaturés	↓↑	↓	↑↓	↑↓	↓
Di-insaturés	↓↑	↓↑	↑↓	↑↓	↓↑
Mono-insaturés	↑	↓	↑	↓	↓
Saturés	↑↓	↑↓	↓	↓	↓

II-3.4. Influence de la nature de la membrane sur l'évolution du SFC

Il est intéressant de caractériser l'efficacité de la séparation par la variation du SFC des fractions pour les différentes membranes métalliques témoin ou imprégnées à différentes concentrations. La variable, appelée As exprime la différence de contenu en solides entre perméat et rétentat récoltés pendant un temps donné.

L'évolution du SFC des perméats et rétentats pour les différentes filtrations réalisées sur des membranes métalliques ou dérivées est donnée dans les graphes II-13 à 17.

Sur membrane témoin en acier inoxydable, la pression a une influence sur la divergence en SFC perméat / rétentat. Dans les 2 cas, les SFC divergent nettement (-20% pour le perméat et +10% pour le rétentat), mais à la pression de 1,4 bar, les 2 fractions reconvergent après 400 mn de filtration, alors que la différence s'amenuise mais ne s'annule pas pour une pression plus faible.

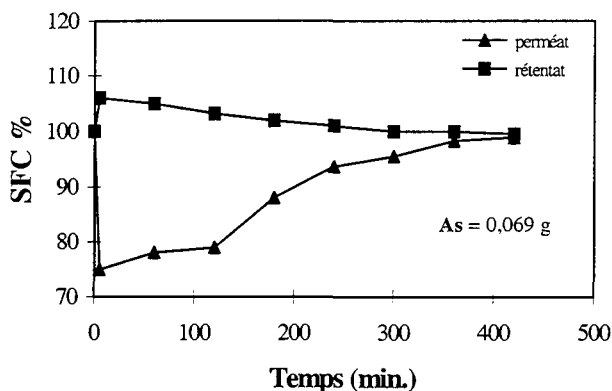


Figure II-13 Evolution du SFC (perméat et rétentat) à 20°C sur une membrane témoin en acier inoxydable (4 cm/s et 1,4 bar).

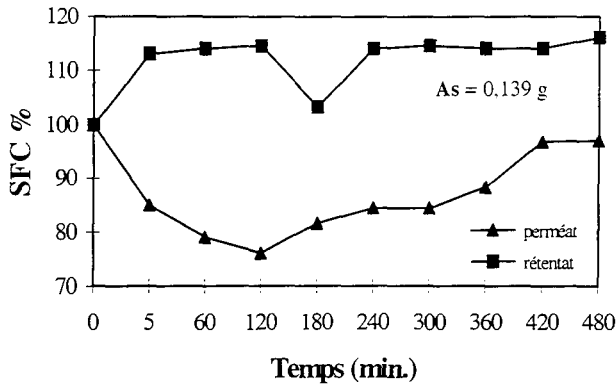


Figure II-14 Evolution du SFC (perméat et rétentat) à 20°C sur une membrane en acier inoxydable (4 cm/s et 0,7 bar).

Pour ce qui concerne la MGLA filtrée à une vitesse de 4 cm/s et une pression 1,4 bar sur une membrane en acier inoxydable imprégnée à diverses concentrations de phospholipides, l'évolution des SFC (perméat / rétentat) est fortement dépendante du taux d'imprégnation : à 0,18 %, la courbe est comparable à celle obtenue sur la membrane nue, et donne une aire spécifique 0,118 g. Lorsque le taux croît, la divergence devient de plus en plus faible (aire spécifique passant à 0,028 g puis 0,022 g respectivement)

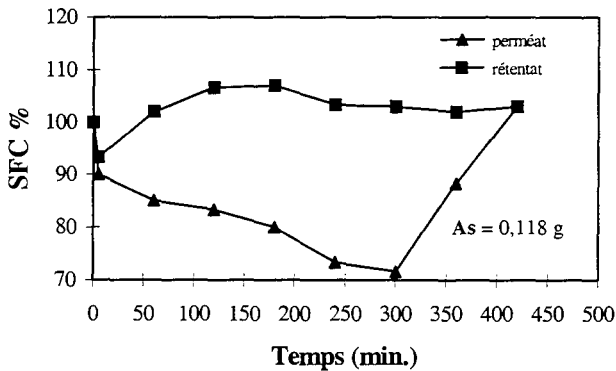


Figure II-15 Evolution du SFC (perméat et rétentat) sur une membrane témoin en acier inoxydable imprégnée à 0,18 % de phospholipides (4 cm/s et 1,4 bar)

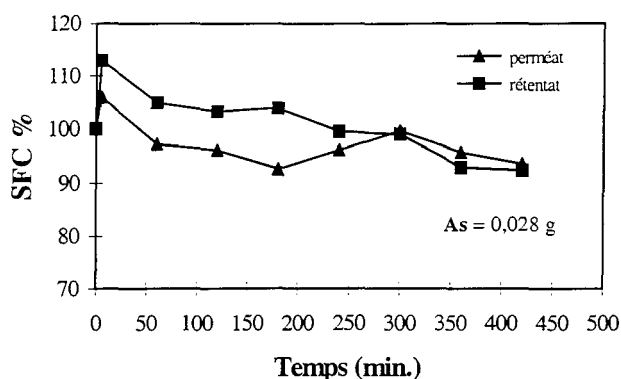


Figure II-16 Evolution du SFC (perméat et rétentat) sur une membrane témoin en acier inoxydable imprégnée à 0,52 % de phospholipides (4 cm/s et 1,4 bar).

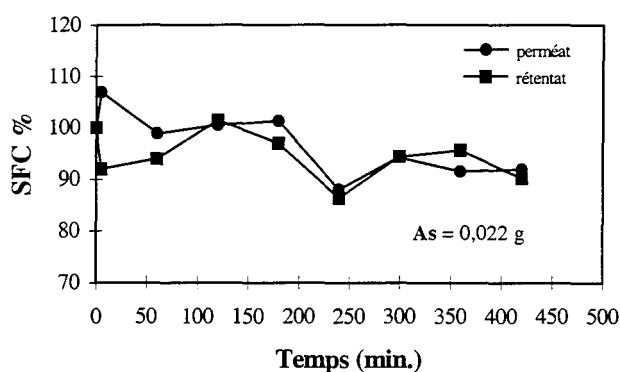


Figure II-17 Evolution du SFC (perméat et rétentat) sur une membrane témoin en acier inoxydable imprégnée à 0,85 % de phospholipides (4 cm/s et 1,4 bar).

II-4. Conclusion

L'étude par filtration tangentielle de MGLA montre bien ses limites, en ce qui concerne le problème de la mise en évidence des interactions qui régissent le phénomène de séparation. Différents types de membranes, caractérisées par une polarité différente, conduisent à des possibilités de partition différentes des TGs, et tout particulièrement de l'évolution de cette partition en fonction du temps au cours de la filtration. On a pu noter que le phénomène apparaît très complexe et les caractéristiques de la membrane (épaisseur,

imprégnation, et conditions de polarisation) jouent un rôle très important, et conduisent à de grandes variations.

En effet, quatre forces sont impliquées dans les mécanismes d'adsorption des molécules des solutés sur la surface de la membrane et à l'intérieur des pores : les forces d'interactions électrostatiques, les forces d'interactions de Van der Waals, les forces d'hydratation (liaison hydrogène) et les forces d'interactions stériques. De plus, dans le cas de la microfiltration tangentielle, dans les systèmes à écoulement de fluide, les forces intervenant sont également des forces hydrodynamiques qui sont : la force tangentielle ou force d'entraînement, la force de filtration (perméation à travers la membrane), la force de migration latérale des particules et le poids des particules. Ainsi, la rétention (adsorption) des molécules à la surface de la membrane dépendra des forces physico-chimiques mises en jeu et surtout des conditions opératoires, d'où la complexité du phénomène de filtration tangentielle.

Il est clair que le montage tangentiel est trop complexe pour permettre d'aller plus loin dans l'interprétation en termes d'interactions molécules-membranes. Pour poursuivre, nous avons décidé de faciliter l'étude en passant en filtration frontale, montage qui va permettre, outre la simplification de conduite inhérente à ce type de percolation, d'utiliser un éventail plus large de matériaux, en différentes épaisseurs et avec différentes huiles ou mélanges de triglycérides.

III- Percolation frontale de MGLA en couche plate épaisse

La complexité des résultats obtenus en filtration tangentielle, nous a conduit à simplifier le montage expérimental. Notre travail n'ayant pas un but de production industrielle, nous avons pu travailler en filtration frontale avec de petites quantités de MGLA et de faibles débits de perméation. En effet, l'explication des interactions moléculaires entre TGs et membranes est difficile, et nécessite donc de s'affranchir des complications expérimentales ; la filtration sera la plus simple possible : écoulement gravitaire frontal, chaque fois que c'est possible, à travers un matériau poreux légèrement compacté. Si besoin, une pression motrice la plus faible possible sera appliquée. Ce type de montage a permis en particulier de faire varier la nature et l'épaisseur du matériau support de filtration, ce qui était impossible dans le cadre d'essais en filtration tangentielle.

III-1. Percolation frontale de la MGLA

III-1.1. Essais sur une membrane hydrophobe greffée C18, montée sur module d'ultrafiltration "Amicon" en écoulement libre

La percolation de la MGLA est réalisée sur une membrane hydrophobe (ENVITM-Disk) greffée avec un octadecyle. Une charge de 350 ml de MGLA est filtrée sur cette membrane de 7 cm diamètre, adaptée au module d'ultrafiltration "Amicon". En réalité, ce montage utilise deux types de "membranes" en même temps : une membrane hydrophobe (ENVITM-Disk) greffée, et le support de plastique fritté présent dans le module "Amicon". La percolation est effectuée à la température constante de 45°C, sans pression et sans agitation, sous le seul effet de la gravité. Les prélèvements d'échantillons (1 ml) sont effectués toutes les 5 minutes. La filtration de MGLA dans ces conditions, sur une telle membrane, est très lente : les premières gouttes de perméat apparaissent après 20 minutes. Le débit de la filtration étant de 0,3 ml/min, pour une durée de 135 minutes, 30 ml seulement de MGLA ont traversé la membrane (figure III-1).

En analysant la composition en TGs du perméat par rapport à la MGLA initiale, on observe une variation directe de la composition : les TGs correspondants aux pics de 1 à 24 (NP = 26 saturés à 44 tri-insaturés) passent à travers la membrane hydrophobe, alors qu'à partir du pic 25 (NP = 44, di-insaturés) les TGs sont retenus. Ce phénomène est observé jusqu'à l'arrêt de la filtration : ce n'est donc pas un phénomène transitoire.

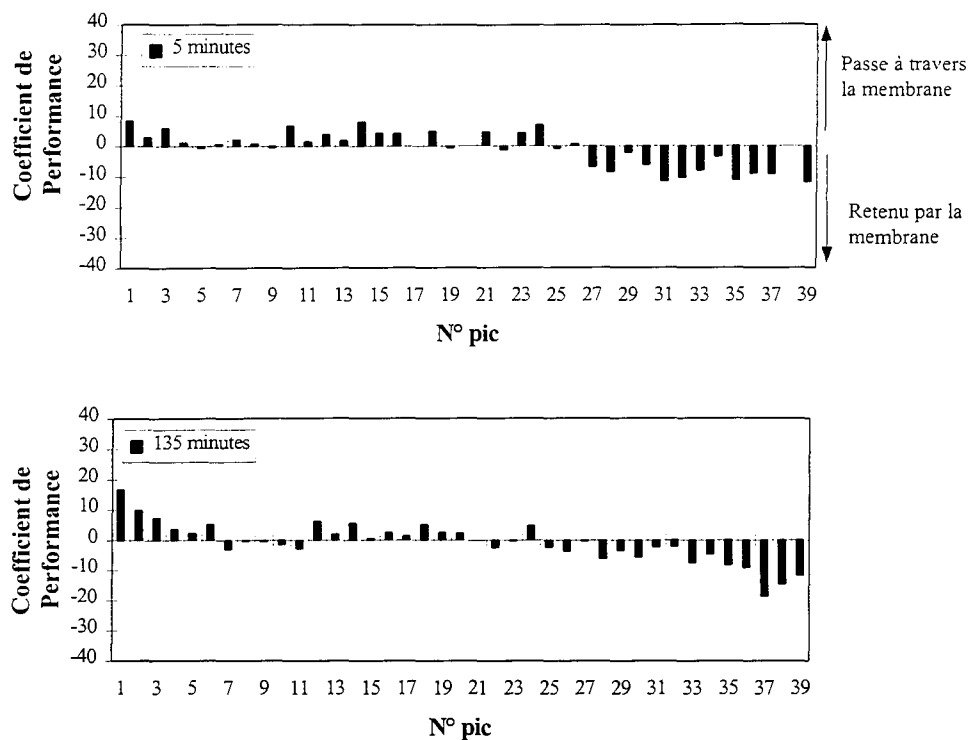


Figure III-1 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) en fonction du N° du pic pour une filtration frontale sur une membrane hydrophobe, à 5 minutes et 135 minutes.

Il est intéressant de calculer, pour tous ces essais de couches filtrantes, la *capacité absolue de rétention de la membrane*, définie comme la somme des coefficients de performance de tous les TGs *retenus* par la membrane, rapportée à la surface filtrante. La capacité absolue de rétention de la membrane hydrophobe (ENVI™-Disk) est de 0,66 % par cm^2 au début de la filtration et reste sensiblement constante tout au long de la filtration.

Le seuil de coupure de comportement pour les différents TGs varie en fonction de leur degré d'insaturation : pour les TGs saturés, ce seuil est observé pour NP = 40 au début de la filtration et NP = 38 après 30 minutes. Pour les mono-insaturés, cette inversion se fait entre NP = 42 et 44, et pour les TGs di, et tri-insaturés, pour NP = 42. A partir de ces seuils, les TGs sont retenus par la membrane hydrophobe.

L'évolution du coefficient de performance de chaque groupe de TGs en fonction de leur poids moléculaire et du temps de filtration, suit une loi du deuxième degré avec un coefficient de régression $\geq 0,7$ pour les TGs saturés et mono-insaturés.

En plus, le SFC du perméat (figure III-2) montre une diminution en fonction du temps, de l'ordre de 15 % à 5 minutes, puis il augmente à nouveau sans jamais dépasser la valeur initiale. Cette diminution du SFC du perméat s'explique à la fois par la rétention des TGs à haut NP et le passage des TGs à petits NP.

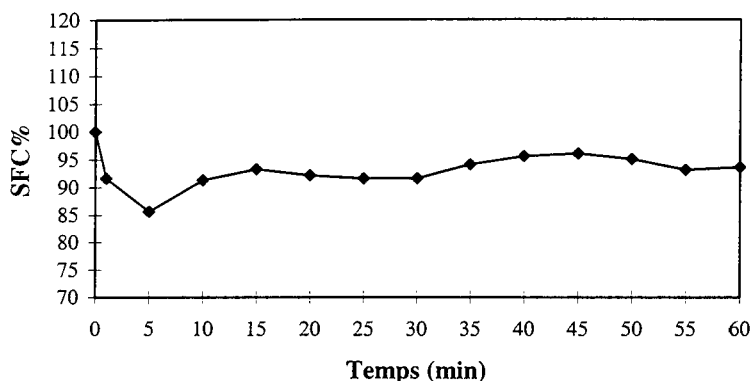


Figure III-2 Evolution du SFC pour le perméat sur une membrane hydrophobe greffée C₁₈ (ENVI™ -DISK) dans le module d'ultrafiltration "Amicon" en fonction du temps.

III-1.2. Essais sur une membrane hydrophobe greffée C18, montée sur le module de laboratoire en écoulement libre

Les essais réalisés sur le module d'ultrafiltration "Amicon" conduisent tous à des débits très faibles, à cause de la faiblesse de la surface de contact entre membrane et MGLA. Afin d'augmenter cette surface de filtration, nous avons utilisé un autre module, dit module "laboratoire", dans lequel le diamètre de la membrane est de 90 mm et la quantité initiale de la MGLA de 350 ml. De plus, nous avons la possibilité d'utiliser une pression hydrostatique pour augmenter le débit de la filtration.

Tout d'abord, nous avons filtré la MGLA dans le module laboratoire sans utilisation de pression motrice : le même phénomène est observé que sur le module "Amicon". Le débit de filtration est très faible (0,5 ml/min.), et nous limitons le temps de percolation à 105 minutes. La quantité totale de MGLA qui passe à travers la membrane est de 50 ml.

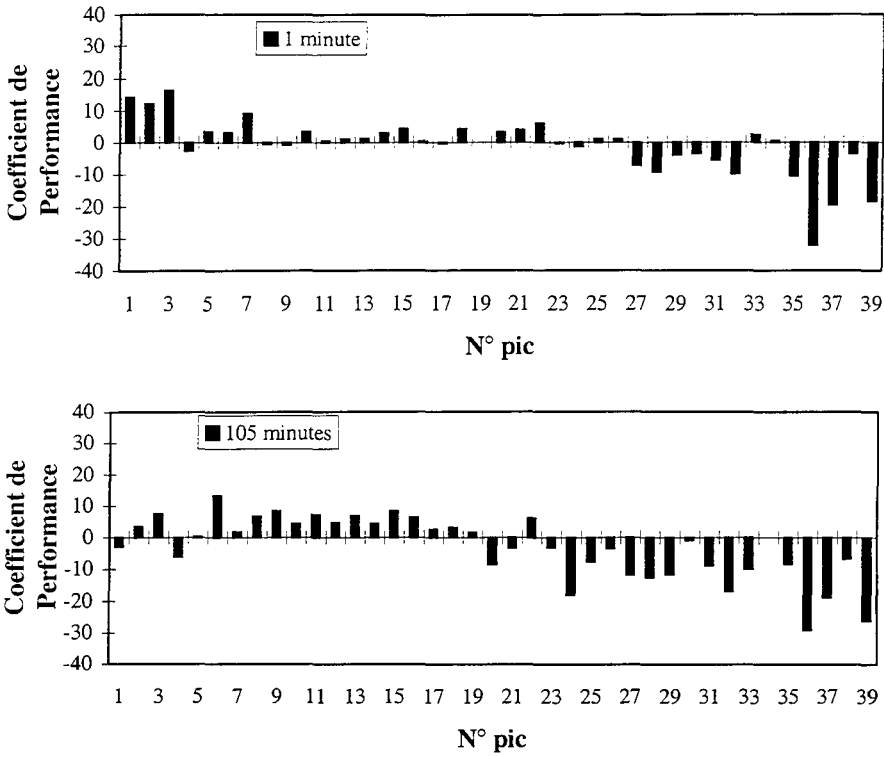


Figure III-3 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) en fonction du N° du pic pour une filtration frontale sur membrane hydrophobe, à 5 minutes et 105 minutes.

L'évolution du coefficient de performance (perméat / initial) des TGs est également nette. Les TGs à haut NP sont retenus à partir du pic 27, qui correspond à un TGs saturé avec un NP = 44 et un poids moléculaire de 750. On observe également une légère évolution du comportement de rétention des différents TGs en fonction du temps de filtration. Toutefois, la difficulté de l'analyse est liée à la variation de certains TGs, retenus à un moment donné, et transmis ensuite. Nous n'avons pu expliquer cette variation (chaque mesure est faite deux fois et chaque échantillon est analysé deux fois).

La filtration de MGLA sur le module "laboratoire" équipé d'une membrane hydrophobe (ENVITM-DISK) de surface 0,0254 m² donne un seuil de coupure à NP = 42 pour les TGs saturés, di, et tri-insaturés, et à NP = 44 et 46 pour les mono-insaturés. La capacité absolue de rétention de la membrane hydrophobe (ENVITM-Disk) dans ce montage est de 0,48

$\%/cm^2$. Elle augmente au cours de la filtration jusqu'à une valeur de $0,84 \%/cm^2$. Ceci nous permet de confirmer qu'en augmentant la surface de contact (ΔA) entre la MGLA et la membrane, une meilleure rétention est observée. Ainsi, nous pouvons émettre l'hypothèse suivante : plus le volume hydrocarboné d'un TG augmente, plus son facteur de rétention augmente.

Le calcul du SFC du perméat (figure III-4) montre une diminution de l'ordre de 15 % en fonction du temps, avec la même variation que précédemment.

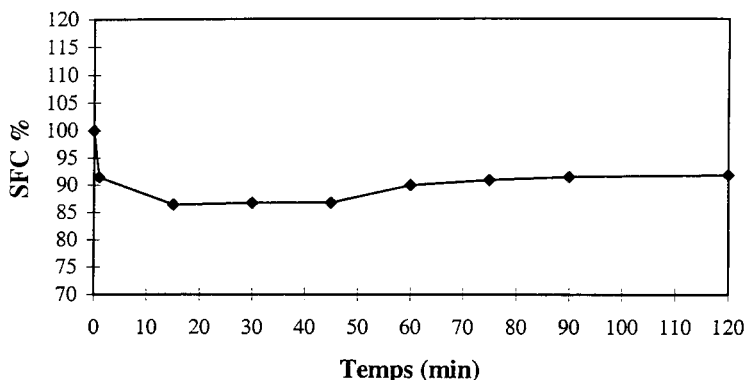


Figure III-4 Evolution du SFC pour le perméat filtré sur une membrane hydrophobe greffée C18 (ENVI™ -DISK) dans le module "laboratoire" sans pression en fonction du temps.

III-1.3. Essais sur une membrane hydrophobe greffée C18, montée sur module de laboratoire avec pression motrice

Une pression statique de 0,1 bar relative a été appliquée pour la filtration de MGLA dans le module "laboratoire", dans le but d'augmenter le débit et d'améliorer la séparation. Ainsi le perméat passe rapidement à travers la membrane dès l'application de la pression. Son débit est alors de 7,8 ml/min : toute la charge initiale de MGLA a traversé la membrane après 45 minutes. Le phénomène de partition n'est pas très net au début de la percolation. La tendance générale est la rétention des TGs à haut NP à partir du pic 22 (NP = 42, PM = 753, di-insaturés), ainsi que des petites molécules (NP petit) : pics 1 à 7 (NP = 26 à 34). Les TGs à NP moyen traversent la membrane. A 30 minutes, le même phénomène est observé mais il y a déplacement de l'inversion. Les TGs à haut NP sont retenus à partir des pics 19 (NP = 40, PM = 694, saturés) et les TGs à faible poids moléculaire retenus sont les pics 1, 2, 3, 4, 7, et 9. Les

autres TGs passent à travers la membrane. A la fin de la filtration (45 minutes), il y a inversion complète, ce qui est normal, puisque à ce moment, toute la charge a traversé la membrane : il y a donc compensation.

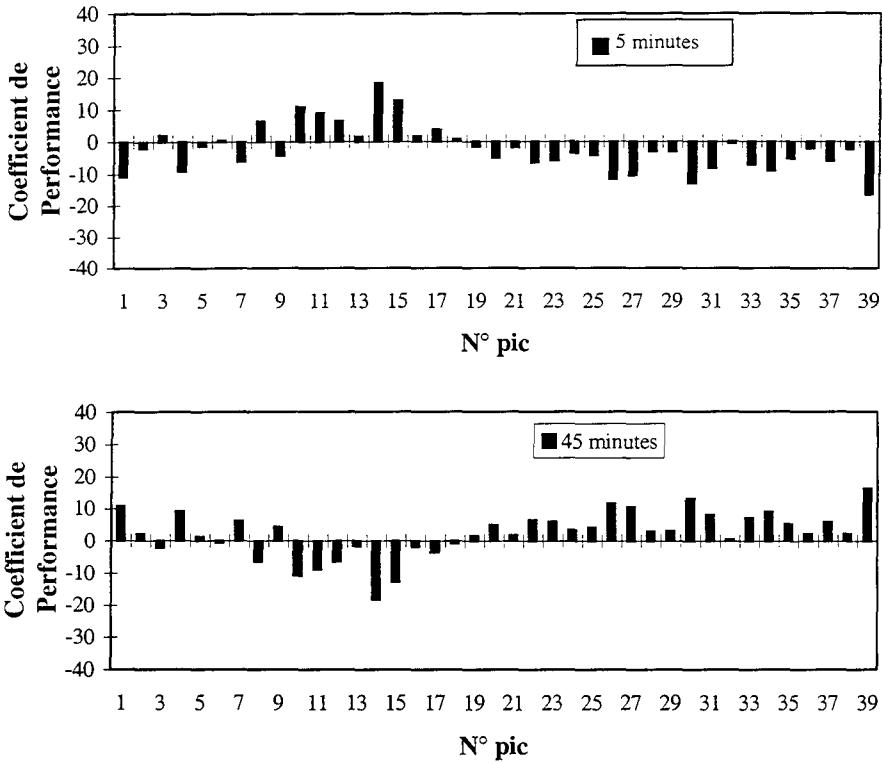


Figure III-5 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) pour une filtration frontale sur membrane hydrophobe pour pression statique de 0,1 bar, à 5 et 45 minutes en fonction du N° du pic.

La capacité absolue de rétention de la membrane hydrophobe (ENVITM-Disk) avec application de pression est de 0,36% / cm² au début de la filtration ; elle augmente ensuite (1,14% / cm²) pour revenir en fin d'expérience à 0,36 %/cm². La pression entraîne une diminution de la capacité de rétention de la membrane. Ceci est dû à la diminution de temps de contact entre les différents TGs et la membrane. A la fin de la filtration, toute la charge de MGLA est passée et ces sont donc les TGs retenus initialement qui traversent la membrane.

Les seuils de coupure du comportement des TGs sont fonction du temps, de leur degré d'insaturation et de leur NP:

- Pour les TGs saturés : passage des TGs à $34 < NP < 40$ jusqu'à 30 minutes puis rétention. Les autres TGs sont retenus.
- Pour les TGs mono-insaturés : rétention des TGs à $NP \geq 42$. Les autres passent.
- Pour les TGs di-insaturés : le phénomène se complique, mais en général, il y a rétention des TGs avec $NP \geq 44$.
- Pour les TGs tri-insaturés : les TGs sont retenus à partir de $NP = 42$.

Tableau III-1 Seuil de coupure dans les trois modes de filtration sur une membrane hydrophobe greffée C18 (ENVITM-DISK).

TGs modes de filtration	saturés	mono-insaturés	di-insaturés	tri-insaturés
module " Amicon " écoulement libre 70 mm	$NP \geq 40$ au début de la filtration, $NP \geq 38$ à partir de 30 minutes de filtration	NP entre 42 et 44	$NP \geq 42$.	$NP \geq 46$
module " laboratoire " écoulement libre 90 mm	$NP \geq 42$.	NP 44 et 46.	$NP \geq 42$.	$NP \geq 42$.
module " laboratoire " pressurisé 90 mm, 0,1 bar	$34 > NP > 40$	$NP \geq 42$ rétention des TGs	$NP \geq 44$ complexe	$NP \geq 42$.

Le calcul du SFC du perméat montre la même diminution en fonction du temps que les essais précédents. Mais en fin de filtration, le SFC du perméat redevient égal à l'initial, ce qui est normal, compte tenu des conditions expérimentales et de la remarque précédente sur ce qui se passe en fin de charge.

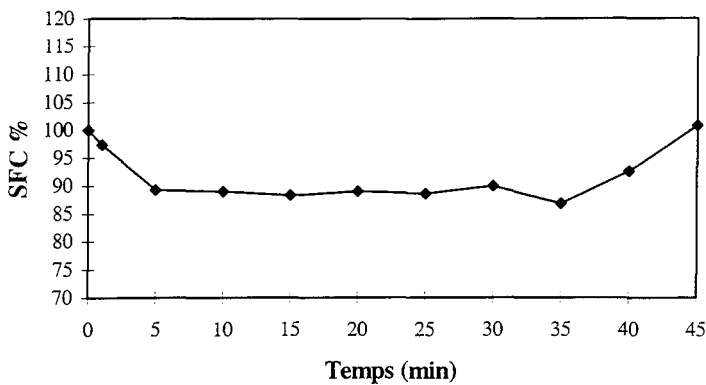


Figure III-6 Evolution du SFC pour le perméat sur une membrane hydrophobe greffée C18 (ENVI™-DISK) dans le module "Laboratoire" sous pression statique en fonction du temps.

III-1.4. Conclusion sur les essais sur membrane hydrophobe greffée C18

Le seuil de coupure à partir duquel il y a rétention, pour les 3 modes de filtration étudiés est présenté dans le tableau III-1. La rétention est fonction des caractéristiques de la membrane, de la surface active, du temps de contact entre TGs et membrane et du débit de perméation. En général, les TGs sont retenus à partir d'un NP = 40, mais le processus est complexe et beaucoup de variations peuvent être observées.

III-2. Percolation frontale de MGLA sur couche d'oxydes métalliques

La percolation de la MGLA sur une couche d'oxyde métallique a été réalisée dans le but d'étudier la partition des TGs de la MGLA, dans le module laboratoire, sur une couche à caractéristique hydrophile, en fonction de son épaisseur. Nous avons d'abord utilisé une couche d'une surface de 38,48 cm², en deux "densités" (5 g et 40 g de matériau), puis une membrane d'une surface de 63,60 cm² et d'une "densité" de 80 g.

III-2.1. Percolation sur couche d'oxyde d'aluminium (Al₂O₃), sur module d'ultrafiltration "Amicon" en écoulement libre

La percolation de la MGLA dans le module d'ultrafiltration "Amicon" est effectuée sur une couche d'oxyde d'aluminium d'une épaisseur indicative de 5 g, à la température constante

de 45°C, sans agitation et sans pression. La quantité de MGLA utilisée est de 350 ml, la percolation est directe, le débit de filtration est de 3 ml/min.

La partition des TGs de la MGLA est caractérisée par un phénomène net au début de la filtration : on observe alors la rétention de TGs à faibles NP (pics 1 à 11 correspondant à des NP de 26 à 36), alors que les TGs à haut NP passent à travers la membrane à partir du pic 12. Ce comportement peut évidemment être relié à l'inversion de la polarité de la membrane, par rapport à ce qui était obtenu dans les essais précédents. En poursuivant la filtration, on observe que le phénomène de partition se brouille complètement.

Le phénomène qui est mis en évidence dans les 15 premières minutes de filtration permet de conclure que la variation de la composition des TGs est fonction de l'état de la membrane. En effet, au début de la filtration, la capacité absolue de rétention de la couche d'oxyde d'aluminium (5 g) est de 0,73 % / cm², et elle diminue par la suite pour arriver à 0,3 % à la fin de la filtration. Après 15 mn de filtration, on n'observe plus aucune variation significative perméat / initial pour l'ensemble des TGs de la MGLA.

Par ailleurs, nous avons observé à une température identique une solidification plus rapide des perméats que de la MGLA initiale, tout spécialement sur les premiers échantillons à 1, 5 et 10 minutes. Cette observation est cohérente avec les résultats de l'analyse, qui montre un enrichissement de ce perméat en TGs à haut poids moléculaire.

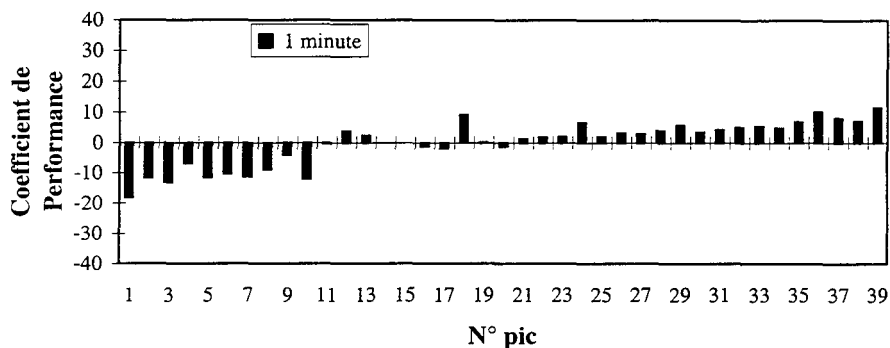


Figure III-7 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) pour une filtration frontale sur une membrane d'oxyde d'aluminium (épaisseur 5 g), à 1 minute en fonction du N° du pic.

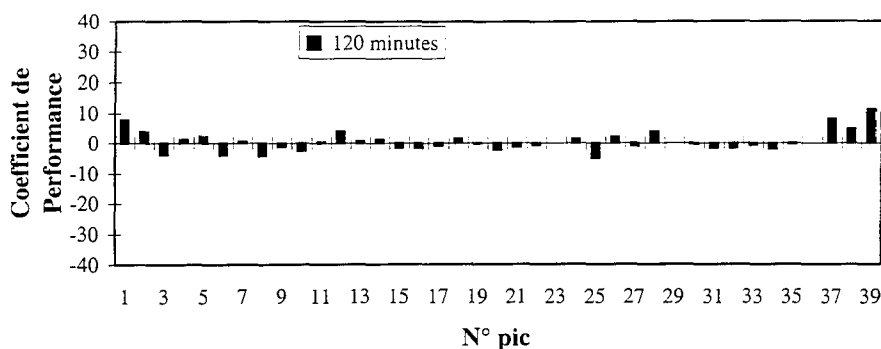


Figure III-8 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) pour une filtration frontale sur une membrane d'oxyde d'aluminium (épaisseur 5 g), à 120 minutes en fonction du N° du pic.

En augmentant l'épaisseur de la couche filtrante de 5 à 40 g, nous observons une accentuation du phénomène de partition : les coefficients de performance sont plus élevés par rapport à ceux issus de la filtration sur une couche d'alumine de 5 g. On observe de la même façon la rétention des TGs jusqu'au pic 13 et passage des TGs à partir du pic 18 (NP = 40). Au cours du temps, la partition s'atténue et la variation de la composition (perméat / MGLA initiale) devient très faible et même finalement nulle. Une des caractéristiques d'adsorption de l'oxyde d'aluminium, est que les composés très polaires y sont fortement adsorbés, tandis que les non-polaires ne le sont que très peu. Ceci est dû à la formation possible de liaisons hydrogène, en plus de la possibilité de formation additionnelle d'interactions avec les molécules à sites riches en électrons.

La capacité absolue de rétention de la couche d'oxyde d'aluminium (40 g) est de 2 \%/cm^2 au début de la filtration et diminue pour arriver à 0,53 \%/cm^2 en fin de filtration. En augmentant l'épaisseur de la couche filtrante de 5g à 40 g, on génère une augmentation de la capacité absolue de rétention de 40 %.

Le seuil de coupure des différentes familles de TGs en fonction de leur NP est le suivant : passage des TGs saturés et mono-insaturés à partir $\text{NP} \geq 38$, des di-insaturés et tri-insaturés, à partir de $\text{NP} \geq 42$.

Le même phénomène de solidification différentielle est observé avec cette épaisseur de matériau filtrant.

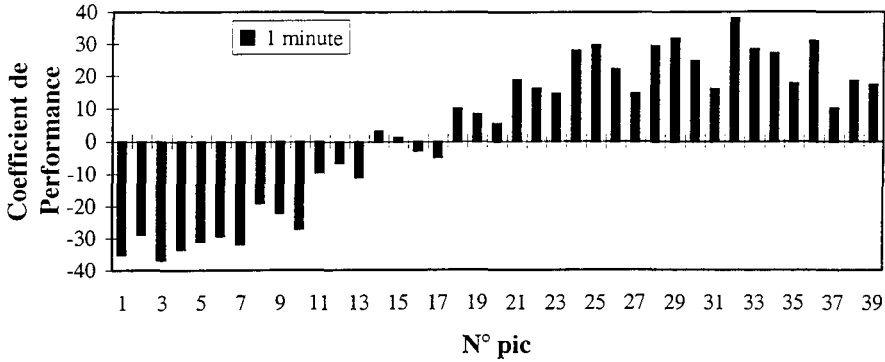


Figure III-9 Evolution du coefficient de performance (perméat / MGLA initiale) pour une filtration frontale sur une membrane d'oxyde d'aluminium (épaisseur 40 g), à 1 minute en fonction du N° du pic.

Le calcul du SFC d'éluat obtenu sur couche d'oxyde d'aluminium d'épaisseurs 5 g et 40 g fait apparaître une augmentation au début de la filtration, ce qui s'explique par le passage des TGs à haut NP à travers la couche filtrante et la rétention des TGs à faible NP.

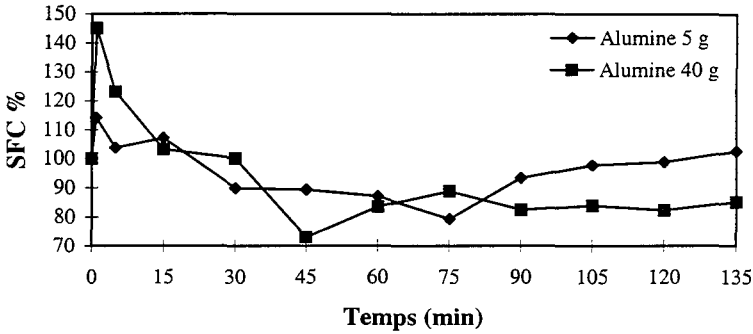


Figure III-10 Evolution du SFC pour le perméat sur une couche d'oxyde d'aluminium d'épaisseur 5 et 40 g dans le module "Amicon" en fonction du temps.

La diminution du SFC du perméat qui suit cette augmentation initiale est due à la saturation des sites d'adsorption de l'oxyde d'aluminium, et sa couverture progressive par une pellicule d'huile qui constitue une *seconde membrane* complètement différente en termes d'hydrophobicité. Par ailleurs, la couche mince (5 g) d'oxyde d'aluminium présente une capacité absolue de rétention qui est égale à sa capacité de passage $0,77 \text{ \%}/\text{cm}^2$, alors que la

couche épaisse (40 g), à une capacité de rétention (1,03 %) nettement inférieure à sa capacité de passage (1,63 %)

III-2.2. Percolation sur couche d'oxyde d'aluminium G, sur module d'ultrafiltration "Amicon", en écoulement libre

Nous avons également fait des essais de percolation sur le module "Amicon" équipé avec une barrière en oxyde d'aluminium G (poudre d'oxyde d'aluminium + CaSO_4). Le premier but de ces essais a été de préparer une couche plus compacte afin de déterminer le rôle de ce paramètre mécanique concernant la barrière. Par ailleurs, cette formulation rend plus facile et plus reproductible la préparation des couches : en effet, les couches filtrantes à base de poudres d'oxyde sont très difficiles à préparer et leur épaisseur n'est, de fait, jamais homogène. L'oxyde d'aluminium G a permis d'avoir une surface homogène, très compacte, générant une filtration très lente : les premières gouttes sont sorties après 35 minutes, et le volume final récupéré est de 5 ml seulement.

Les premières gouttes d'éluat (après 1 mn de percolation) montrent la rétention des TGs à petits NP (pics 1 à 11 et pics 36, 37). Après 30 minutes et plus nettement encore après 40 min, seuls les TGs "moyens", traversent la couche filtrante. On observe alors la rétention des molécules triglycéridiques petites (pics 1 à 8) et grosses (pics 24 à 39). Les TGs de tailles moyennes (pics 9 à 23) passent à travers la couche. Le phénomène de partition de MGLA sur l'alumine G est donc particulièrement complexe et par la suite, nous ne nous intéresserons plus à ce type de couche filtrante, essentiellement à cause de la lenteur de la percolation. La capacité absolue de rétention est très élevée : $1,9 \text{ \%}/\text{cm}^2$ en début de filtration, puis $1,1 \text{ \%}/\text{cm}^2$ en fin de filtration.

Le SFC de l'éluat obtenu varie de la même façon que ceux réalisés sur des couches d'oxyde d'aluminium simple d'épaisseur 5 et 40 g. Il y a augmentation du SFC de l'éluat au début de la filtration (passage des TGs à haut NP et rétention des autres), puis diminution en cours de filtration, pour les mêmes raisons que précédemment (figure III-12).

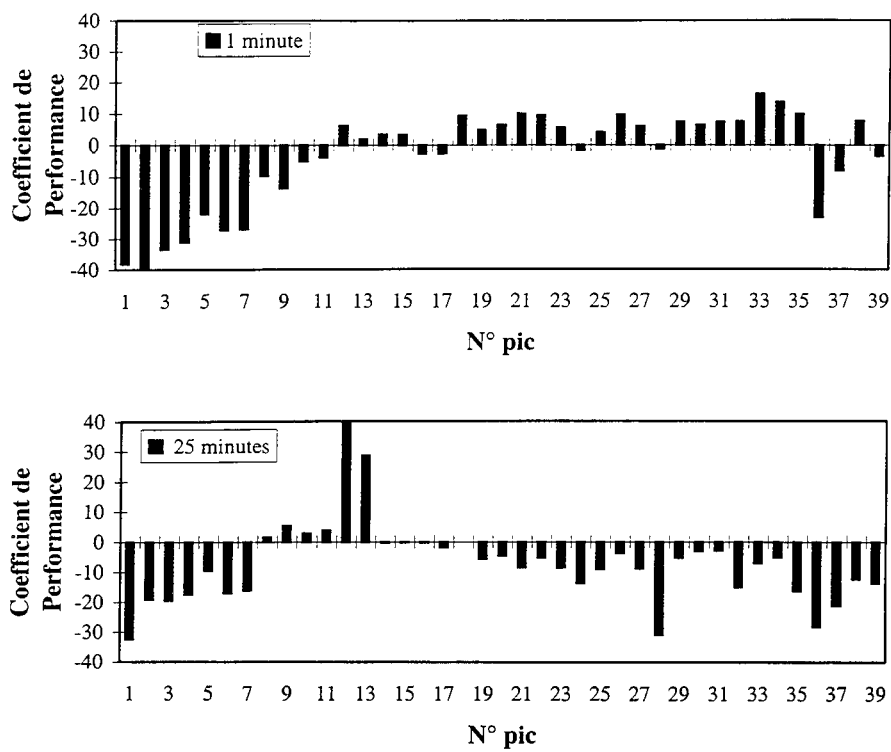


Figure III-11 Evolution du coefficient de performance (éluat / MGLA initiale) pour une filtration frontale sur couche d'oxyde d'aluminium G, à 1 minute et 25 minutes en fonction du N° du pic.

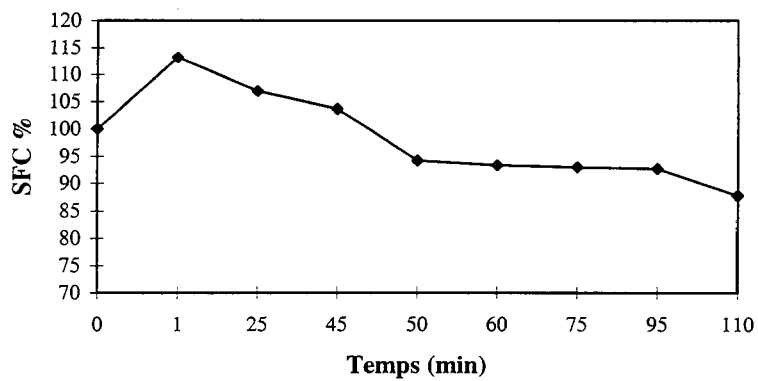


Figure III-12 Evolution du SFC pour l'éluat filtré sur une couche d'oxyde d'aluminium G dans le module "Amicon" en fonction du temps.

III-2.3. Percolation sur couche d'oxyde d'aluminium, sur module de laboratoire sous faible pression motrice

Pour augmenter la surface de la couche filtrante, nous avons utilisé le module "laboratoire" qui permet un diamètre de membrane de 90 mm et une surface de $63,6 \text{ cm}^2$. Nous utilisons une faible pression motrice (0,1 bar) pour augmenter le débit de filtration (5,6 ml/min). Le comportement global des TGs en fonction de leur taille moléculaire présente le même profil que précédemment, mais les coefficients de performance - donc l'intensité du phénomène de partition - sont plus grands que ceux observés sur couche d'oxyde d'aluminium dans le module "Amicon". Au début de la percolation, on met nettement en évidence la rétention des petits TGs (pics 1 à 17) et passage à partir du pic 18 (NP = 40). Au cours du temps, le phénomène de filtration s'atténue : on observe un décalage au niveau des TGs retenus après 15 minutes, et en fin de la filtration, il y a passage des tous les TGs dans l'éluat.

Le seuil de coupure des différents TGs en fonction de leur NP est le suivant : on note le passage des TGs saturés, mono-insaturés, di-insaturés et tri-insaturés, respectivement à partir de $\text{NP} \geq 38, 40, 42$, et 42 .

Le phénomène de solidification rapide spontanée, observé pour les premiers échantillons prélevés, confirme visuellement la rétention des petites molécules.

La capacité absolue de rétention de la couche d'oxyde d'aluminium (80 g) avec le module laboratoire est de 2 \%/cm^2 , mais à la fin de la filtration, il diminue largement pour atteindre 0,34 %. Cette forte diminution peut être due à l'utilisation de la pression qui *force* en fin d'expérience l'ensemble des TGs à travers la couche filtrante.

L'observation des courbes de SFC d'éluat pour l'alumine 80 g montre une augmentation forte (45%) au début de la filtration, phénomène dû au passage des TGs à haut NP et à la rétention des autres. A partir de 30 minutes, on observe une légère diminution du SFC de l'éluat par rapport à l'initial. Ceci est dû à l'inversion de tendance : plusieurs TGs à faible NP traversent la membrane alors que des TGs saturés à haut poids moléculaire sont retenus, comme MMM, LaMP, LaLaS (pic 23, NP = 42, PM = 722), PPP, MPS, LaSS (pic 35, NP = 48, PM = 806) et PPS, SSM (pic 39, NP = 50, PM = 834).

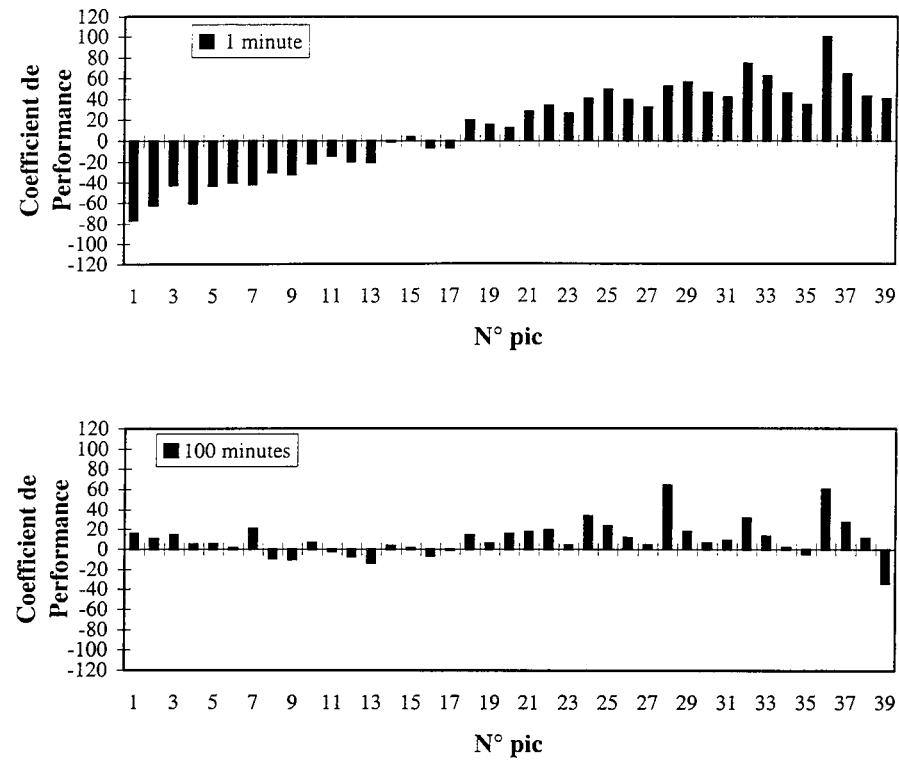


Figure III-13 Evolution du coefficient de performance (éluat / MGLA initiale) pour une filtration frontale sur couche d'oxyde d'aluminium dans le module laboratoire, à 1 minute et 100 minutes en fonction du N° du pic.

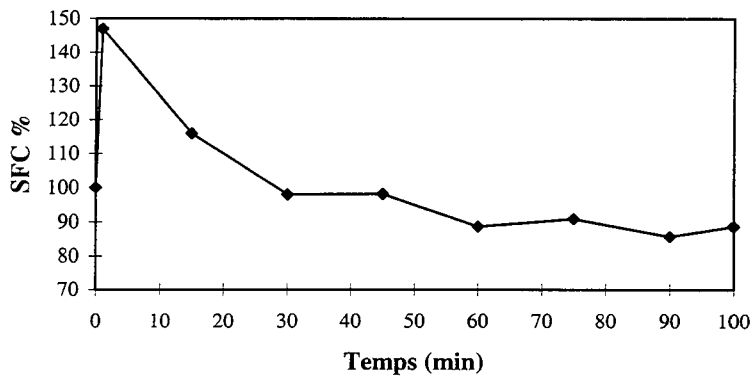


Figure III-14 Evolution du SFC pour l'éluat filtré sur une membrane d'alumine d'épaisseur 80 g dans le module "laboratoire" en fonction du temps.

III-2.4. Essais sur membrane "DURAPORE", sur module de laboratoire, en écoulement libre

Nous avons réalisé une série de filtrations frontales de MGLA sur une membrane "DURAPORE" dite hydrophile, afin de mieux comprendre le phénomène de filtration et de comparer les résultats obtenus entre filtrations frontale et tangentielle. La membrane "DURAPORE" a été adaptée sur le module de filtration frontale "laboratoire" (diamètre 90 mm et surface 254,5 cm²). Elle est caractérisée par un diamètre de pores de 0,22 µm. La filtration est effectuée à une température de 45°C, sans agitation et sans pression. Le volume de la charge initiale est de 350 ml et la durée de filtration est de 75 minutes. La filtration est très lente, les premières gouttes sortant du module après 20 minutes. Il est impossible d'utiliser une pression motrice avec ce type de membrane, car la plus faible pression entraîne le passage quasi immédiat de l'ensemble de la charge.

Les résultats, en termes de coefficient de performance des TGs (éluat / MGLA initiale) sont complètement différents de ceux obtenus par filtration tangentielle (voir chap. II). En effet, en filtration frontale (figure III-14), nous observons deux comportements dès le début de la percolation.

- Rétention : ce sont des TGs à poids moléculaires moyens (du pic 8 au pic 25). Quelques TGs à haut NP sont aussi retenus (pics 29 et 35).
- Passage : les TGs à faible poids moléculaire (pics 1-4, 6-7) et des TGs à haut poids moléculaire à partir du pic 26. Avec le temps, le pic 5 est également retenu.

Il n'y a pas une grande variation en fonction du temps de percolation, ceci est partiellement dû à la faiblesse du débit de perméation. A la fin de l'expérience, seulement 35 ml ont traversé la membrane "DURAPORE". La capacité absolue de rétention de cette membrane en filtration frontale est de 0,22 %/cm²) mais la capacité de passage des grosses molécules est très importante. Les seuils de coupure des différents TGs en fonction de leur degré d'insaturation sont les suivants :

- pour le TGs saturés : à $36 \leq NP \leq 44$, il y a rétention.
- Pour le TGs mono-insaturés : à $NP \leq 40$ rétention et à partir de $NP \geq 42$, passage dans le perméat.
- Pour le TGs di-insaturés : à $36 \leq NP \leq 44$ rétention.
- Pour le TGs tri-insaturés : $NP \geq 46$.

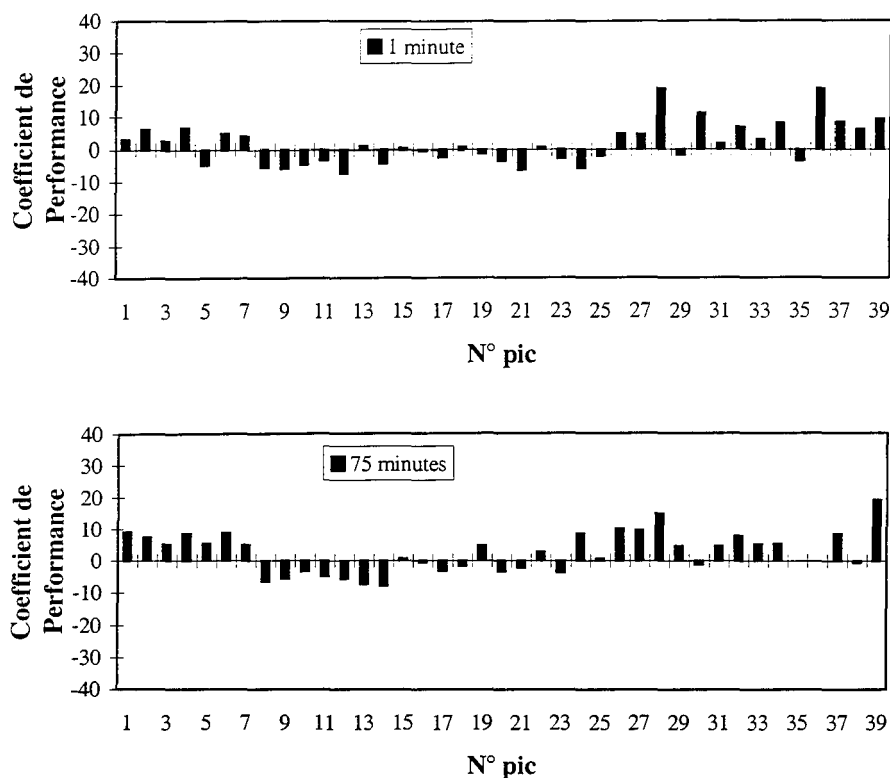


Figure III-15 Evolution du coefficient de performance (éluat / MGLA initiale) pour une filtration frontale sur membrane "DURAPORE" hydrophile, sans pression, à 1 minute et 75 minutes en fonction du N° du pic.

Le calcul du SFC conduit également un désaccord entre les résultats issus de la filtration tangentielle et ceux provenant de la filtration frontale. Le SFC du perméat tangential diminue en fonction du temps, alors qu'il augmente par rapport à l'initial en filtration frontale. Cette augmentation du SFC du perméat peut s'expliquer par le passage des TGs à haut NP. Une telle inversion du phénomène de partition par rapport à la filtration tangentielle peut être dû à la cinétique lente de la filtration frontale, qui offre des temps de séjour au contact de la membrane beaucoup plus grands, ce qui permet aux équilibres d'interaction de s'établir en régime transitoire de longue durée. Au contraire, en filtration tangentielle, un régime permanent s'établit rapidement, avec des couches de polarisation différentes du fait de leur abrasion par le flux.

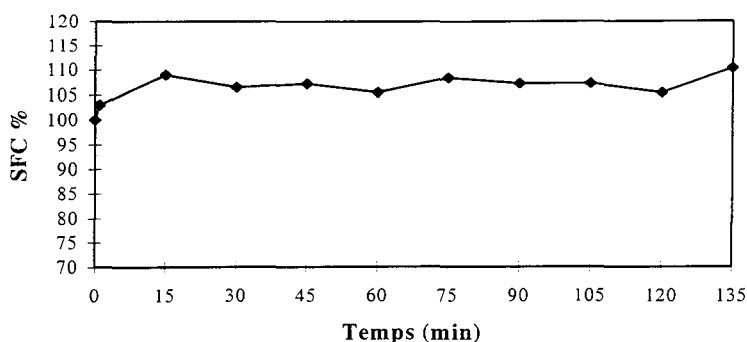


Figure III-16 Evolution du SFC pour le perméat filtré sur une membrane "DURAPORE" hydrophile dans le module "Amicon" en fonction du temps.

III-2.5. Percolation sur couche d'acide silicique ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) sur module de laboratoire avec pression motrice

Ces essais ont été effectués avec de l'acide silicique ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) sous différentes conditions expérimentales. L'un des points délicats a été de trouver la bonne méthode de préparation de la couche afin de contrôler son compactage, dont les conditions influent notablement sur les résultats obtenus en percolation. En effet, en utilisant 40 g d'acide silicique et une force de compactage de 12 kN/m^2 , rien ne passe à travers la couche, même après trois heures de filtration. Il faut alors contraindre le passage de la MGLA, par l'utilisation d'une pression motrice, ce qui a posé quelques problèmes. En effet, plusieurs fuites ont été observées à cause de la fissuration de la couche sous une pression de 0,8 bar, fissures qui ne peuvent être observées qu'à la fin de l'expérience. Une autre méthode de préparation de la membrane a consisté à utiliser une plus faible quantité d'acide silicique (20 g) et une plus faible pression (0,1 bar). Dans tous ces cas, les résultats en termes de partition de la MGLA sur ce type de matériau se sont avérés très difficiles à interpréter. Les premières gouttes d'éluat montrent une très légère variation par rapport à la MGLA initiale : rétention des petites molécules triglycéridiques et passage des grosses. En fonction du temps, ces résultats deviennent variables et peuvent s'inverser de façon aléatoire.

Pour mieux comprendre de tels résultats, il faut considérer la structure de la surface l'acide silicique ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), solide poreux dont la surface spécifique est inversement proportionnelle à la taille des pores. Cette surface complexe est caractérisée par deux types distincts de fonctions chimiques actives (voir bibliographie) : les silanols (Si-OH) et les

siloxanes (Si-O-Si). Ce sont les silanols qui confèrent à la silice ses capacités d'adsorption et qui sont les fonctions les plus réactives. L'eau d'hydratation est associée aux silanols de la surface, si bien qu'il existe trois formes d'eau sur la surface de la silice : (1) eau faiblement liée en quantité variable, qui peut être enlevée par chauffage à 110°C, (2) eau fortement liée et qui se désorbe par chauffage à 250-650°C, et (3) eau très fortement liée que seul un chauffage à 1100°C élimine pour donner le siloxane. En chromatographie d'adsorption sur silice, il est conseillé de chauffer la silice à 110°C avant utilisation : de tels gels de silice, caractérisés par une mono-couche d'eau liée par liaison hydrogène à la surface des silanols (Simpson, 1982) donnent des résultats fiables et reproductibles. Quand cette silice est au contact de molécules insaturées et polaires, une couche de ces molécules va s'adsorber sur la surface de silice. Dans notre cas, lorsque l'on s'intéresse à un triglycéride particulier, on peut considérer qu'il est "dissous" dans la matrice des autres, qui en constituent en quelque sorte le solvant. Une telle molécule peut être plus ou moins polaire. La composition de la MGLA étant complexe, il est très difficile d'expliquer ces types d'interactions sur l'acide silicique où la quantité d'eau est variable et non contrôlée. En effet on verra par la suite qu'en travaillant avec des gels de silice présentant des tailles de particules bien définies et des quantités d'eau adsorbées contrôlées, les résultats sont meilleurs.

Les SFC des éluats obtenus sur des couches à base d'acide silicique à différentes épaisseurs : (20 g et 40 g) ne montrent pas de variations entre eux. L'épaisseur de la couche ne joue pas un rôle important.

III-2.6. Percolation sur couche d'oxyde de Titane (TiO₂), sur module de laboratoire avec pression motrice

La percolation de la MGLA sur une couche à base d'oxyde de titane (TiO₂), d'épaisseur de 40 g et sous une pression de 0,8 bar est une opération rapide. L'éluat sort immédiatement et le débit de percolation est alors de 6 ml/min.

L'évolution du coefficient de performance des TGs d'éluat par rapport à la MGLA initiale est très difficile à interpréter. La tendance générale est à la rétention des petites et des grosses molécules triglycéridiques, et au passage des TGs à NP moyens. En fonction du temps de percolation on observe des fluctuations aléatoires. Grossièrement, les graphes des coefficients de performance obtenus sur couche d'oxyde de titane à 1 minute et ceux d'oxyde d'aluminium à 25 minutes se ressemblent. Ceci traduirait le fait que la polarisation de la

surface de la couche d'oxyde de titane est directe et beaucoup plus rapide que celle de l'oxyde d'aluminium, et tout spécialement pour la couche à base d'oxyde d'aluminium G.

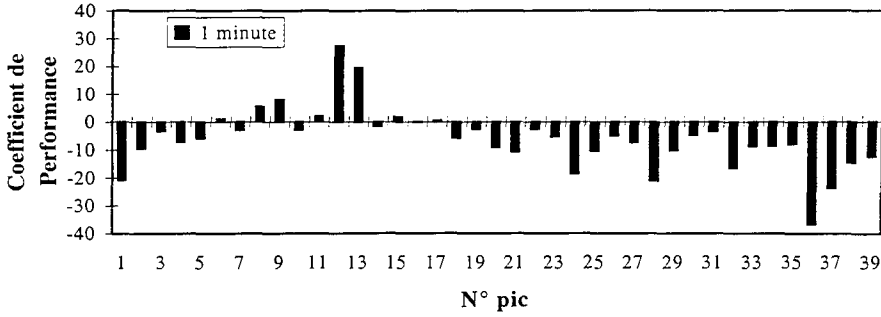


Figure III-17 Evolution du coefficient de performance (éluat / MGLA initiale) pour une percolation frontale sur une membrane d'oxyde de titane, sous une pression de 0,8 bar, après 1 minute en fonction du N° du pic.

Le calcul du SFC d'éluat obtenu sur couche d'oxyde de titane montre une diminution qui peut être due à la rétention des TGs à haut NP mais aussi des TGs à faible NP au début de la percolation.

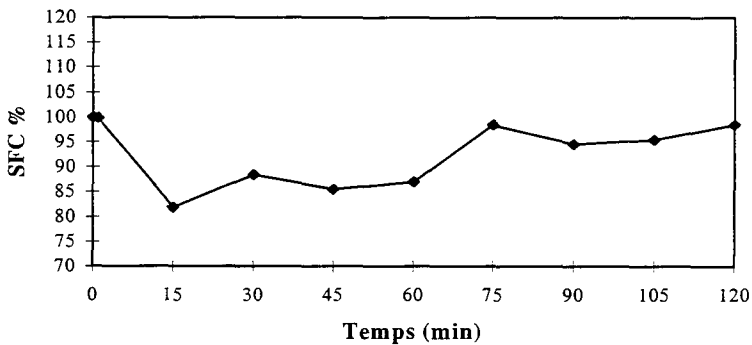


Figure III-18 Evolution du SFC pour l'éluat filtré sur une membrane à base d'oxyde de titane dans le module "laboratoire".

III-2.7. Percolation sur couche d'oxyde de Zirconium (ZrO_2), sur module de laboratoire en écoulement libre

La percolation frontale de MGLA sur une couche à base d'oxyde de zirconium (ZrO_2) d'épaisseur 80 g, sans pression, est également un processus rapide. L'éluat sort immédiatement et le débit de percolation s'établit à 3 ml/min.

L'évolution du coefficient de performance des TGs de l'éluat par rapport à la MGLA initiale est fonction du temps de percolation. Au début de la percolation, aucune variation n'est observée par rapport à la MGLA initiale. Après 15 minutes de percolation, on observe la rétention des petites et des grosses molécules triglycéridiques et le passage des TGs à poids moléculaire moyens. La variation en fonction du temps de percolation donne des résultats très aléatoires et ininterprétables.

Le calcul du SFC de l'éluat obtenu sur couche d'oxyde de zirconium montre que le SFC varie très peu par rapport à l'initial : il n'y a quasiment pas de séparation des TGs.

III-2.8. Conclusion sur les essais sur les couches d'oxydes métalliques

Ces essais de percolation frontale de MGLA sur différents types de milieux filtrants montrent la complexité du phénomène. En général, on observe une variation des mécanismes de rétention entre les différents milieux filtrants plus ou moins hydrophiles. Pour les milieux plus hydrophobes, il y a rétention des TGs à haut NP, alors que pour les milieux hydrophiles, il y a passage de ces mêmes TGs à haut NP. La partition des TGs sur les milieux filtrants hydrophiles est très complexe : elle est observée au début de la percolation, s'atténue par la suite, puis s'inverse complètement. Tous les milieux filtrants hydrophiles ne donnent pas les mêmes résultats. C'est l'oxyde d'aluminium qui donne la meilleure partition, ce qui s'explique par ses caractéristiques chromatographiques et sa capacité de rétention des molécules polaires et insaturées.

Comme nous observons de grandes différences de comportement vis à vis des molécules triglycéridiques entre les oxydes des 4 éléments aluminium (Al), silicium (Si), titane (Ti) et zirconium (Zr), nous avons cherché à expliquer ces particularités par des considérations déduites de la classification périodique des éléments. Leur structure électronique est la suivante : l'aluminium, groupe III A ($n^{\circ}13$) masse atomique 26,98, distribution électronique : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^1$, le silicium, groupe IV A ($n^{\circ}14$), masse atomique 28,089, distribution : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^2$, le titane, groupe IVB ($n^{\circ}22$), masse atomique 47,90,

distribution : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^2 4s^2$, et enfin le zirconium, période 5, groupe IVB, ($n^\circ 40$), masse atomique 91,22 et distribution : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4d^2 5s^2$.

Ces structures électroniques sont voisines et ne permettent pas d'expliquer les variations de rétention par les différentes couches filtrantes hydrophiles, mis à part l'aptitude à engager des liaisons hydrogène, qui jouent un rôle prépondérant dans les interactions entre couches filtrantes et molécules en fonction de leur polarité et de leur degré d'insaturation. L'explication est donc plutôt à rechercher dans l'énergie des liaisons M - O que peuvent engager ces divers métaux. Cette énergie est fonction de la structure électronique de l'élément, directement, et indirectement par le biais de la taille de l'ion correspondant. Cet élément va bien dans le sens d'une meilleure polarisabilité de la liaison Al - O par rapport aux autres liaisons M - O considérées. Un calcul plus précis de ces énergies de liaison métal-oxygène pourrait permettre d'aller plus avant dans l'explication.

III-3. Percolation frontale d'un mélange d'huile sur différents supports.

Pour des raisons historiques liées au passé des programmes de recherche du laboratoire, nous avons d'abord réalisé l'étude de la partition des TGs de la MGLA sur membrane, mais un tel phénomène ne peut être strictement spécifique aux TGs de cette graisse particulière et complexe. Il était donc intéressant de valider nos résultats sur une huile, et pour ne pas retomber dans les spécificité de chaque huile naturelle, nous avons cherché à en équilibrer le contenu triglycéridique dans les différentes classes de TGs en utilisant un mélange d'huile. Cette huile est caractérisée par la présence de 27 pics seulement, chaque pic correspondant la plupart du temps à 1 seul TG ou au maximum à deux. La composition du mélange d'huile est présentée dans le tableau (III-2).

Ceci peut faciliter l'interprétation des interactions entre TGs et membrane et TGs entre eux. Dans le cas du mélange d'huile, il est possible d'identifier les TGs pour chaque huile individuelle (pépins de raisin, lin, olive, et huile de coprah hydrogénée) par la comparaison des NP et l'injection des TGs standards. Par rapport à la MGLA, elle est très riche en TGs poly-insaturés (60 %), dont sont très riches les huiles de base utilisées : lin, pépins de raisin, olive.

L'étude de la partition des TGs de mélange d'huile a été étudiée seulement sur le module "laboratoire", équipé d'une membrane à base d'oxyde d'aluminium, oxyde de titane, acide silicique, et oxyde de zirconium.

Tableau III-2 Identification des TGs d'un mélange d'huile

N° pic	Tr (min)	Nom	% Aire de pic	NP	TCN
1	6,417	CCC	0,66	30	30,00
2	7,617	LaCC	4,02	32	32,00
3	9,267	LaLaC	5,26	34	34,00
4	10,100	LnLnLn	9,77	36	34,74
5	11,333	LaLaLa	5,42	36	36,00
6	12,367	LLnLn	3,63	38	36,44
7	14,267	LaLaL, LaCO	3,29	38	37,28, 37,40
8	14,500	LaLaM	0,7	38	38,00
9	15,367	LLLn	0,63	40	38,14
10	15,833	OLnLn	3,35	40	38,61
11	16,600	PLnLn	0,99	40	39,16
12	18,217	LaLaO	1,92	40	39,45
13	19,000	LLL	19,32	42	39,84
14	19,7	LaMM	0,79	40	40,00
15	21,233	OLLn	0,33	42	40,31
16	21,383	PLLn, SLnLn	0,34	42	41,16
17	23,617	MMM	1,00	42	42,00
18	24,950	OLL	7,28	44	42,01
19	26,383	OOLn	4,84	44	42,48
20	26,95	PLL	0,49	44	42,56
21	30,883	PPLa	0,29	44	44,00
22	33,100	OOL	3,22	46	44,18
23	34,750	SLL	3,14	46	44,56
24	40,633	POL	0,13	46	44,73
25	43,617	OOO	13,35	48	46,35
26	46,783	OOP, SOL	5,26	48	46,90, 46,70
27	62,683	PSO	0,48	50	49,45

III-3.1. Essais sur couche d'oxyde d'aluminium, sur le module de laboratoire en écoulement libre

La percolation de mélange d'huile sur une couche à base d'oxyde d'aluminium standard (80 g) dans le module laboratoire, en écoulement libre et à température constante de 45°C, est caractérisée par une partition des TGs entre l'éluat et la charge initiale. La percolation est rapide : débit de 8,3 ml/min, et toute la charge initiale passe à travers la membrane après environ 60 minutes. La percolation est conduite deux fois dans les mêmes conditions et chaque échantillon est analysé deux fois. Les résultats présentés sont les moyennes des deux essais et le coefficient de variation ne dépasse pas 3 %.

Au bout d'une minute de percolation, nous observons deux comportements sur la membrane :

- rétention globale des TGs à faible NP (pics 1 à 8),
- passage général de TGs à grand NP à partir du pic 9 à 27. Quelques exceptions sont observables sur les pics 12, 14 et 17.

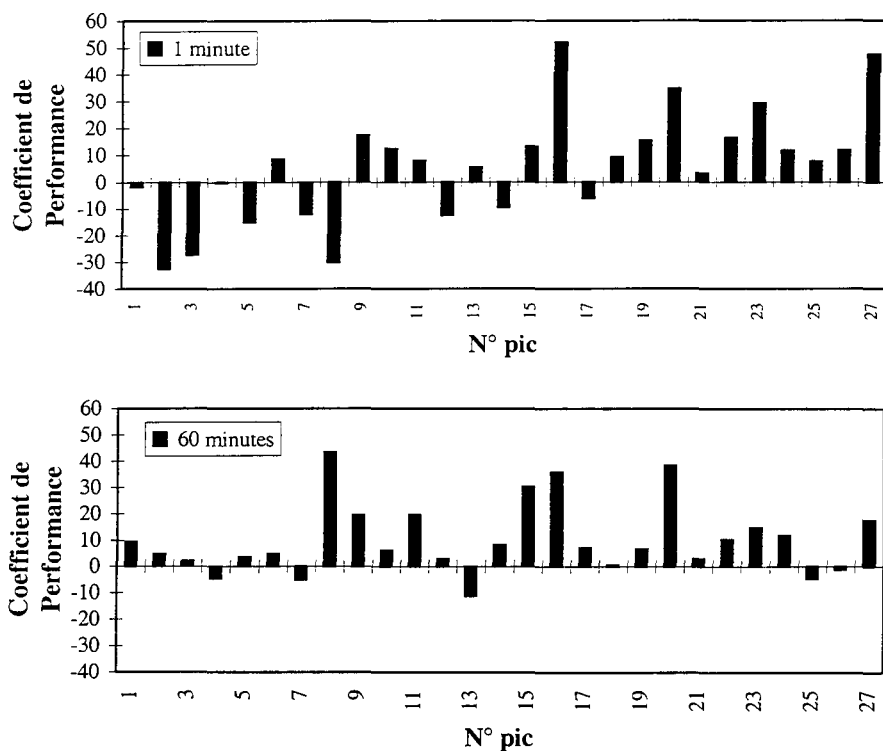


Figure III-19 Evolution du coefficient de performance (éluat / mélange d'huile initial) pour une percolation frontale sur une couche d'oxyde d'aluminium, à 1 minute et 60 minutes en fonction du N° du pic.

Après 15 minutes de percolation, presque tous les TGs traversent la membrane à l'exception des pics suivants : pic 4 (LnLnLn), pic 13 (LLL) et pic 25 (OOO), c'est à dire les TGs homogènes tri-insaturés.

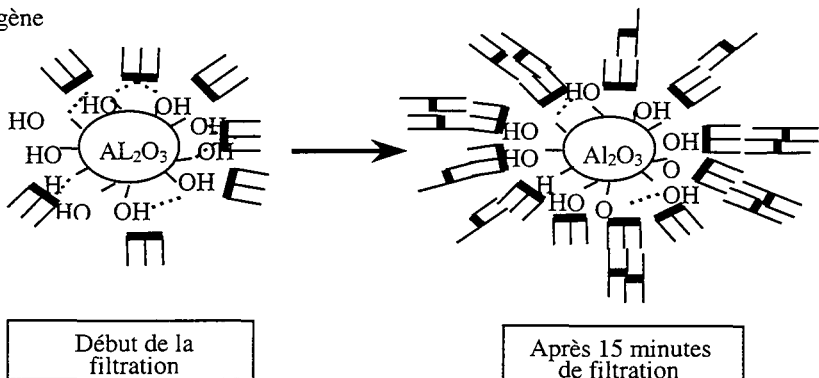
Nous avons essayé de relier ce phénomène de partition en début de percolation au calcul de l'indice de non-polarité (INP) proposé par Van der Waal (1985). Les calculs des INP sont donnés dans le tableau (III-3).

Tableau III-3 Caractéristiques des TGs d'un mélange d'huile (PM = poids moléculaire ; ND = nombre de doubles liaisons ; INP = indice de non-polarité ; HA = hydrophobicité apparente)

N° pic	Nom	NP	ND	PM	INP	H.A
1	CCC	30	0	554	60,94	60,94
2	LaCC	32	0	582	67,90	67,90
3	LaLaC	34	0	610	75,23	75,23
4	LnLnLn	36	9	872	165,70	16,57
5	LaLaLa	36	0	638	82,94	82,94
6	LLnLn	38	8	874	166,06	18,45
7	LaLaL, LaCO	38	2, 1	718	107,7	35,90
8	LaLaM	38	0	666	99,90	99,90
9	LLLn	40	7	876	166,44	20,80
10	OLnLn	40	7	876	166,44	20,80
11	PLnLn	40	6	850	155,83	22,26
12	LaLaO	40	1	720	108,00	27,00
13	LLL	42	6	878	166,82	23,83
14	LaMM	40	0	694	99,50	99,50
15	OLLn	42	6	878	166,82	23,83
16	PLLn, SLnLn	42	5, 6	865	164,40	27,40 ; 23,50
17	MMM	42	0	722	108,30	108,30
18	OLL	44	5	880	167,20	27,86
19	OOLn	44	5	880	167,20	27,86
20	PLL	44	4	854	156,57	31,32
21	PPLa	44	0	750	117,50	117,50
22	OOL	46	4	882	167,60	33,52
23	SLL	46	4	882	167,60	33,52
24	POL	46	3	856	156,94	39,24
25	OOO	48	3	884	168,00	42,00
26	OOP, SOL	48	2, 3	871	159,70	53,23 ; 39,93
27	PSO	50	1	860	157,67	78,83

La couche à base d'oxyde d'aluminium standard a la capacité de retenir des TGs avec $INP < 110$ et permet le passage des TGs avec $INP > 110$. En effet l'indice de non polarité est un des moyens possibles pour le calcul de l'hydrophobicité d'un TG. Plus l'INP est grand, plus la molécule est hydrophobe, et inversement, sans que l'on puisse parler de TG hydrophile, mais plutôt d'hydrophobicité relative. La couche à base d'oxyde d'aluminium standard sépare donc les TGs du mélange d'huile en fonction de leur hydrophobicité. Les TGs les moins hydrophobes sont plus fortement adsorbés par l'oxyde d'aluminium que ceux qui présentent un INP élevé. La structure d'un TGs à l'état solide est en diapason dite "Tuning fork". C'est une structure dans laquelle les deux chaînes extrêmes sont orientées dans le même sens, tandis que la troisième s'oriente dans le sens opposé. Selon Bursh *et al.*, (1968) et Dorset *et al.*, (1978) lorsque les TGs sont en solution, il y a libre rotation des liaisons dans la molécule. De plus, il

Il convient donc de distinguer une couche d'oxyde d'aluminium vierge de celle qui prévaut après qu'il y ait eu formation d'un dépôt de TGs "hydrophiles" sur la surface de la couche, et à l'intérieur des pores, phénomène qui génère de nouvelles caractéristiques pour la membrane. Les TGs les moins hydrophobes sont donc fixés sur la couche d'oxyde d'aluminium par liaison hydrogène et également par la présence de dipôles permanent sur ces molécules. Les TGs les plus hydrophobes vont alors entrer en relation avec cette nouvelle couche, en engageant différents types d'interactions : hydrophobe, Van der Waals, et quelques liaisons hydrogène



149

III-3.2. Essais sur couche d'acide silicique, sur module de laboratoire avec pression motrice

Le mélange d'huile a été filtré sur une couche d'acide silicique (40 g) avec une pression de 0,8 bar et à une température de 45°C. La percolation est effectuée sur le module "laboratoire", le débit constaté est de 2 ml/min.

La partition des TGs à travers l'acide silicique semble s'effectuer plus en fonction de leur encombrement stérique, plutôt que de leur poids moléculaire ou de leur l'hydrophobicité. En effet les TGs avec NP < 42 (di-insaturés) sont généralement retenus (figure III-20) par l'acide silicique, alors que les TGs avec NP > 42 passent à travers la couche. Cela s'apparente à ce que l'on observe en chromatographie liquide phase normale, où la séparation des différentes molécules est fonction du nombre de carbone et non de la présence ou de l'absence de double liaison.

III-3.3. Essais sur couche d'oxyde de titane, sur module de laboratoire avec pression motrice

La percolation du mélange d'huile sur une couche à base d'oxyde de titane (40 g) est effectuée dans les mêmes conditions que précédemment. La percolation est rapide, elle dure 120 minutes, avec un débit de 2,5 ml/min.

Pendant toute la percolation du mélange d'huile, nous observons deux comportements vis à vis de la couche d'oxyde de titane (figure III-21) : passage de tous les TGs, à l'exception des pics 13, 18, 22, 25, et 26, (LLL, OLL, OOL, OOO, OOP), c'est à dire des NP élevés (à partir 42). Il s'agit donc d'une partition qui n'a rien à voir avec le poids moléculaire, et qui semble ne dépendre que de la structure.

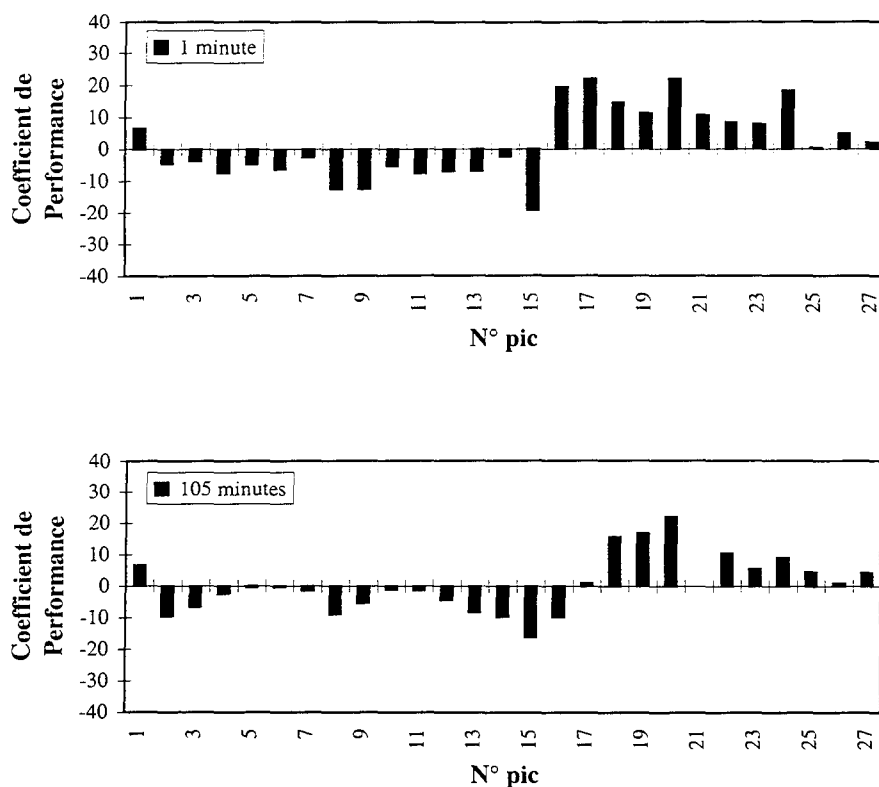


Figure III-21 Evolution du coefficient de performance (éluat / mélange d'huile initial) pour une percolation frontale sur couche d'acide silicique, à 1 minute et 105 minutes en fonction du N° du pic.

III-3.4. Essais sur couche d'oxyde de zirconium, sur module de laboratoire avec pression motrice

La percolation du mélange d'huile sur une couche à base d'oxyde de zirconium (80 g) est conduite à 45°C, avec seulement 0,1 bar de pression motrice. Le débit de percolation est constant et fort : 6,7 ml/min. Comme ci-dessus, nous observons deux comportements des TGs sur la couche d'oxyde de titane : passage de tous les TGs, à l'exception de pics 4, 13, 15, 22, et 24 (LnLnLn, LLL, OLLn, OOL, OOP).

D'une manière générale, après "polarisation" du support filtrant, ce sont les TGs tri-insaturés qui semblent être retenus préférentiellement,.

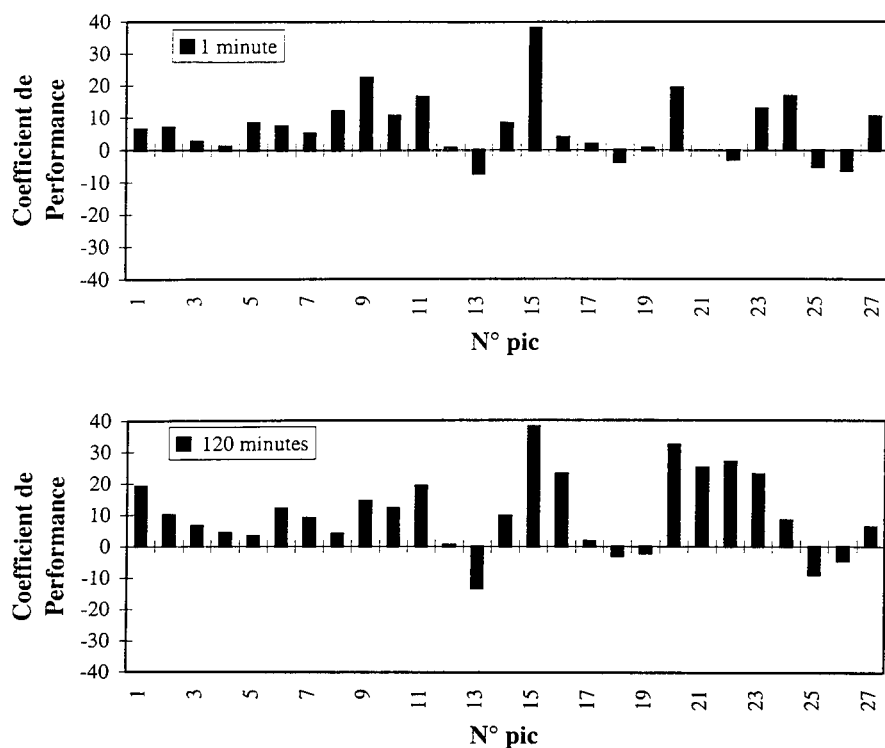


Figure III-22 Evolution du coefficient de performance (éluat / huile formulée initiale) pour une percolation frontale sur une couche d'oxyde de titane (40g), à 1 minute et 120 minutes en fonction du N° du pic.

III-3.5. Conclusion des essais sur le mélange d'huile

Le but de l'utilisation de l'huile formulée est de faciliter la compréhension des interactions entre les molécules de TGs et les différentes couches filtrantes. En effet, la composition de l'huile formulée est plus simple que la MGLA et chaque pic dans le chromatogramme correspond à un TGs ou deux maximum.

La rétention des TGs de l'huile formulée est non seulement fonction du temps de percolation et de la couche filtrante (épaisseur, composition) mais aussi des caractéristiques des molécules des TGs : longueur des chaînes hydrocarbonées, degré d'insaturation, voluminosité et indice de non-polarité.

La rétention des TGs sur une couche d'oxyde d'aluminium est fonction de l'indice de non polarité. Les TGs avec indice de non-polarité < 110 sont retenus et les TGs avec INP > 110 passent. Mais sur une couche d'acide silicique, la rétention s'effectue plutôt en fonction de leur encombrement stérique plutôt que de leur poids moléculaire. Sur des couches d'oxyde de titane et d'oxyde de zirconium, le phénomène de partition est moins net que sur les matériaux précédents, la rétention est fonction de la présence de doubles liaisons et non du poids moléculaire.

Tous les milieux filtrants hydrophiles ne donnent pas les mêmes résultats. C'est l'oxyde d'aluminium qui donne la meilleure partition, ce qui s'explique par ses caractéristiques chromatographiques et sa capacité de rétention des molécules polaires et insaturées. En général, les surfaces métalliques sont considérées comme hydrophiles et ceci a été confirmé par la mesure des angles de contact (θ) sur des surfaces de Ti, Al, Cr, Ni et Cu (Williams et Williams, 1988) mais ce caractère hydrophile est différent selon le métal. L'oxyde d'aluminium est moins hydrophile que le métal Al^0 .

A noter le rôle important du temps de percolation, où un dépôt des TGs est formé à la surface de la membrane et même à l'intérieur des pores, jouant ainsi le rôle d'une deuxième membrane superposée à la première et possédant de nouvelles caractéristiques.

IV- Percolation frontale sur colonne, études des éluats et des adsorbats

IV-1. Etude des éluats obtenus en percolation frontale

Les résultats observés dans le chapitre précédent (percolation en "couche plate"), montrent l'existence d'une partition des TGs sur les différents supports. Cette partition est particulièrement complexe pour la MGLA. L'utilisation d'une huile formulée a montré son intérêt en fournissant différents modèles de partition en fonction, non seulement des caractéristiques des supports, (caractère plus ou moins polaire) mais aussi de la composition triglycéridique: son hydrophobicité, sa voluminosité, sa saturation, son poids moléculaire.

Pour mieux expliquer la partition de la matière grasse sur différentes couches, nous avons décidé de simplifier encore le montage de percolation frontale, en travaillant avec une colonne figurant en quelque sorte, une "couche épaisse". Une pompe est utilisée pour accélérer la percolation. Le but est de mieux comprendre les différents modèles de partition et de mieux appliquer les différentes théories de rétention décrites en chromatographie liquide. De plus, certaines couches utilisées dans cette partie présentent différentes polarités, cela va nous rapprocher de la HPLC en phase inversée, dans laquelle les supports présentent des caractères non polaires et sur lesquels d'autres types d'interactions vont intervenir.

IV-1.1. Percolation de la MGLA sur colonne de microbilles de verre (150-212 μ m) nues.

La percolation de la MGLA sur une colonne en verre de diamètre 1cm, remplie de microbilles de verre (150-212 μ m) est réalisée à une température constante de 45°C ; la quantité de microbilles utilisées est de 30 g, la hauteur est de 32 cm et le débit d'entrée de la MGLA dans la colonne est de 0,9 ml/min.

Comme il est impossible de mettre la pompe péristaltique à l'intérieur de l'étuve à 45°C, la MGLA peut subir une légère cristallisation avant d'entrer dans la colonne. Nous avons donc augmenté la température par l'application d'air chaud ventilé dans l'environnement de la pompe, ce qui permet d'éviter toute cristallisation.

Les premières gouttes de MGLA sortant de la colonne après passage sur une couche épaisse de microbilles de verre (150-212 μ m) sont caractérisées par la rétention des TGs à faible NP (26 à 40) et le passage des TGs à partir du pic 19 (NP = 40, PM = 694, (TGs saturés), et NP = 42, PM = 878, (TGs tri-insaturés comme LLL). Ce phénomène est observé jusqu'à la fin de percolation et le passage de 100 ml de MGLA.

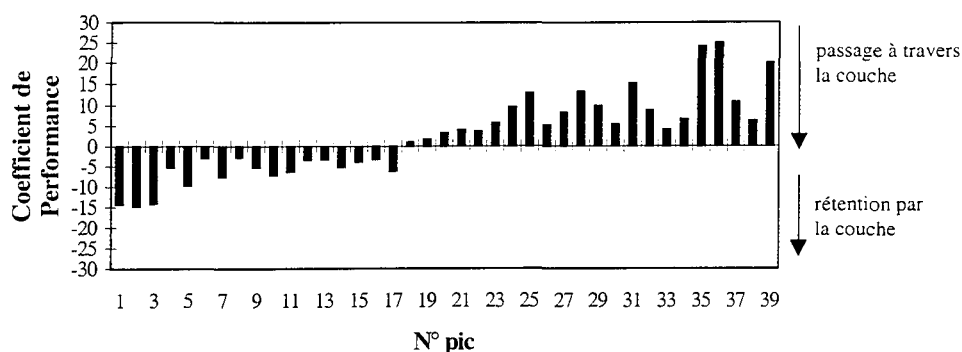


Figure IV-1 Coefficient de performance éluat / MGLA initiale en percolation sur une couche épaisse de microbilles des verres (150-212 μm), à 1 minute.

Le seuil de coupure pour les différents TGs en fonction de leur insaturation est le suivant : NP = 40, PM = 694 pour les TGs saturés, et NP = 42, 40, 42 avec des poids moléculaires de 753, 760 et 878, pour les mono-, di, et tri-insaturés. La capacité de passage des gros TGs est de 1,55 % / cm^2 . La variation totale des TGs sur un support en microbilles de verre (150-212 μm) est de 2,6% / cm^2

Les mêmes résultats sont observés sur des microbilles de verre de taille plus grosse (212-300 μm), sous les mêmes conditions expérimentales, mais les coefficients de performance sont plus faibles, ce qui est dû à la diminution de la surface de contact entre la MGLA fondue et les microbilles. La variation totale des TGs sur un support en microbilles de verre (150-212 μm) est de 1,42 %/ cm^2 , et la capacité de passage des gros TGs n'est plus que de 0,57 %/ cm^2 .

Les microbilles de verres sont considérées comme un support imperméable à la phase liquide, sur lequel on dépose une fine couche d'adsorbant à caractère hydrophobe variable. Le chemin à parcourir par diffusion dans la phase stationnaire est faible et les colonnes obtenues ont une grande efficacité, les pertes de charge étant peu importantes. Elles sont toutefois difficiles à préparer de façon reproductible.

La première clé d'explication de la rétention est l'*indice de non-polarité* (INP), qui n'augmente pas linéairement en fonction de n° du pic (voir chapitre suivant) : il se décrit en 4 droites qui correspondent aux différents groupes des TGs : saturés, mono, di et tri-insaturés (l'INP augmente avec l'insaturation). La considération de l'INP pour expliquer la rétention des

TGs sur les microbilles de verre nues ne conduit pas à une explication simple. Toutefois, il existe un seuil de coupure à partir duquel il y a passage ou rétention des TGs (pic 18). L'INP seuil à partir duquel il y a passage est différent en fonction du groupe de TGs : respectivement 91, 113, 130, et 167 pour les TGs saturés, mono, di, et tri-insaturés. La deuxième clé est l'*hydrophobicité apparente* (HA) qui se différencie en fonction du groupe de TGs : respectivement 91, 50, 36, et 30 pour les TGs saturés, mono, di, et tri-insaturés. En effet, la polarité ou non polarité des TGs en fonction de leur degré d'insaturation joue un rôle important dans la rétention. Il n'existe pas un seul seuil de coupure mais plusieurs. Ceci peut être dû aux autres facteurs, comme la taille des molécules (NC) leur poids moléculaire (PM), leur conformation dans l'espace donc leur voluminosité, et leur énergie potentielle.

Le SFC de l'éluat obtenu sur les microbilles de verre augmente légèrement en fonction du temps par rapport à la MGLA initiale (figure IV-2).

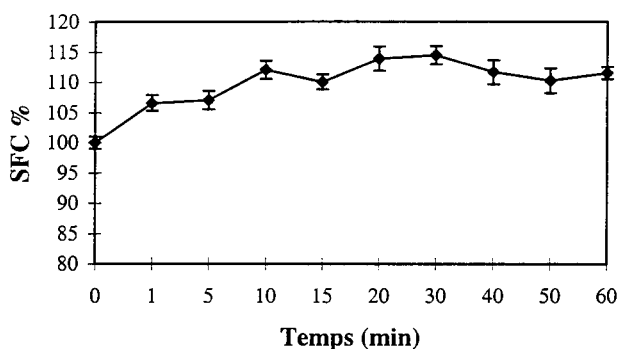


Figure IV-2 SFC de l'éluat obtenu sur des microbilles de verre (150-212 μm) nues, en fonction du temps.

Dans le cas de la percolation de la MGLA sur les microbilles de verre nues, on observe le passage des TGs à haut NP et la rétention des TGs à bas NP. En plus, selon Lavigne (1995), dans les thermogrammes, les TGs qui sont présents dans l'ensemble à bas point de fusion sont : POO (NP = 48), BuPO (NP = 36) et BuOO (NP = 36). Pour les points de fusion moyens, ce sont : BuPP (NP = 36) et PPO (NP = 48) et pour le pic à hauts points de fusion, PPP (NP = 48) et PPO (NP = 48). Les pics à bas et moyens points de fusion sont souvent confondus en un seul pic dans la courbe de fusion de la MGLA obtenue par DSC. Certains TGs jouent un rôle primordial dans la variation du SFC et des propriétés physiques qui en découlent pour la

MGLA (Bornaz, 1995). C'est le cas pour de légères variations de PPP et de MMM qui influencent fortement le SFC de la MGLA.

IV-1.2. Percolation de la MGLA sur couche épaisse de microbilles de verre (150-212µm) avec couche d'imprégnation de silicone SE 30 et SE 52

Le dépôt de silicones tels que SE 30 et SE 52 sur la surface des microbilles de verre (150-212 µm) permet de mieux étudier l'effet de l'augmentation de l'hydrophobicité de la couche de percolation sur la rétention des TGs. Le Silicone SE 30, composé de 100% de méthyl-gomme (E801) a une apolarité assez forte (degré 5). Le silicone Se 52 est composé de 95% de méthyl-gomme et 5% de phenyl-gomme (voir Méthodes et Matériels), et présente une apolarité plus faible (force 8 du Catalogue Chrompack).

Nous avons utilisé quatre concentrations de silicone SE 30 et SE 52 (entre 0,1 % à 10 %). La méthode de préparation des microbilles des verre imprégnées avec différentes concentrations de SE 30 et SE 52 est détaillée en Méthodes et Matériels.

IV-1.2.1. Imprégnation à 0,1 % de Silicone SE 30

En augmentant légèrement l'hydrophobicité du support microbilles de verre avec 0,1 % de silicone SE 30, on observe la rétention des TGs correspondant aux pics 7 à 18 ($34 < NP \leq 40$ (di-insaturés)) et passage des TGs 19 à 39 ($40 < NP \leq 50$) ainsi que 2, 3, 5 et 6 (figure IV-3).

Les seuils de coupure pour les différentes classes de TGs sont peu différents de ce qui a été observé sur billes de verre nues. En augmentant l'hydrophobicité du support, les seuls TGs qui varient sont les petites molécules, pour lesquelles on constate une inversion. Elle n'affecte pas globalement le phénomène de rétention, ce qui peut être dû au faible pourcentage de la surface des microbilles couvertes par le silicone SE 30. En effet, les angles de contact d'une goutte d'huile sur une lame de verre imprégnée avec 0,1 % SE 30 et sur la même lame de verre nue sont très voisins : 22,8° et 22,7°.

IV-1.2.2. Imprégnation avec 0,1 % de Silicone SE 52

Le passage de la MGLA sur une colonne remplie de microbilles de verre imprégnées avec 0,1 % SE 52 s'effectue dans les mêmes conditions que précédemment. Le passage de la MGLA à travers le support est très lent : le débit d'entrée varie de 0,80 ml/min à 0,40 ml/min. Le même phénomène est observé (figure IV-4) qu'avec l'imprégnation avec SE 30 à l'exception des TGs avec de $NP > 48$ qui sont retenus par le support. Après 5 minutes de

percolation, il y a inversion partielle du phénomène, et rétention de toutes les grosses molécules.

Cette inversion semble être due à l'augmentation de l'hydrophobicité des microbilles de verre, ce qui dépend du pourcentage de la surface des microbilles couvertes par le silicone SE 52. En effet, l'angle de contact d'une goutte d'huile sur une lame de verre imprégnée avec 0,1% SE 52 est significativement plus grand que sur une lame de verre nue ($32,4^\circ$ au lieu de $22,7^\circ$).

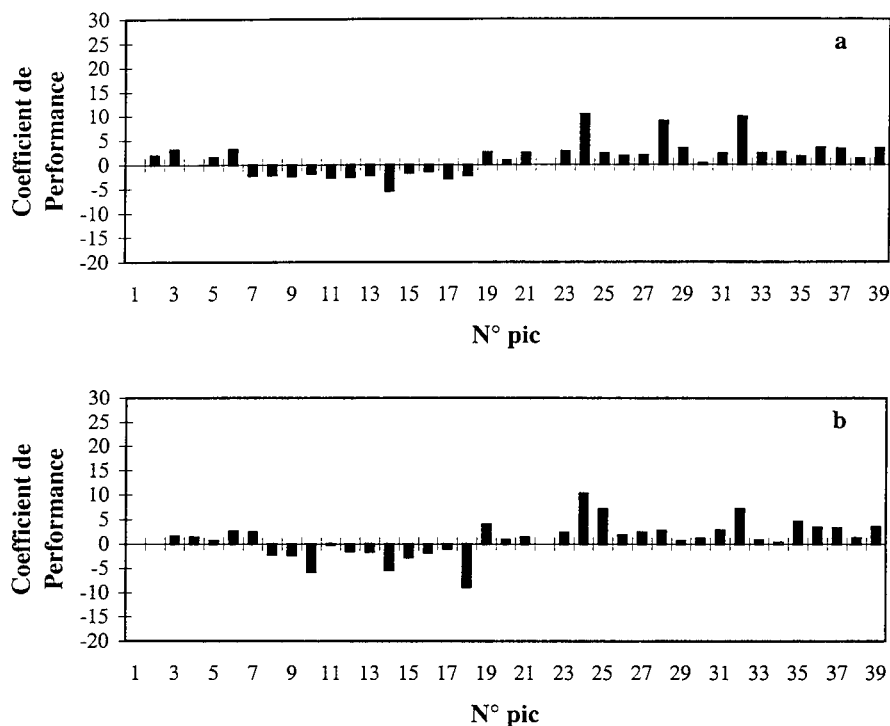


Figure IV-3 Coefficient de Performance éluat / MGLA initiale sur microbilles de verre (150-212 μ m) imprégnées avec 0,1 % SE 30, a) 1 minute et b) 5 minutes de percolation en fonction du N° du pic.

A partir de 5 minutes, il y a rétention des grosses molécules qui sont caractérisées par une hydrophobicité élevée, et sont donc capables d'engager des interactions hydrophobe-hydrophobe avec exclusion des molécules moins apolaires. Au cours des premières minutes, le temps de contact entre le support imprégné et les molécules de TGs n'est pas assez long pour permettre la stabilisation d'une deuxième couche de TGs hydrophobes. C'est l'inverse de ce qui se passe sur microbilles de verre nues. En effet, nous pouvons supposer que les

microbilles de verre imprégnées de silicone SE 52 et SE 30 ressemblent à une phase stationnaire (apolaire), utilisée en CLHP en phase inversée : les molécules apolaires sont celles qui seront les plus retenues par une phase stationnaire apolaire, alors que les moins apolaires sont éluées en premier par la phase mobile.

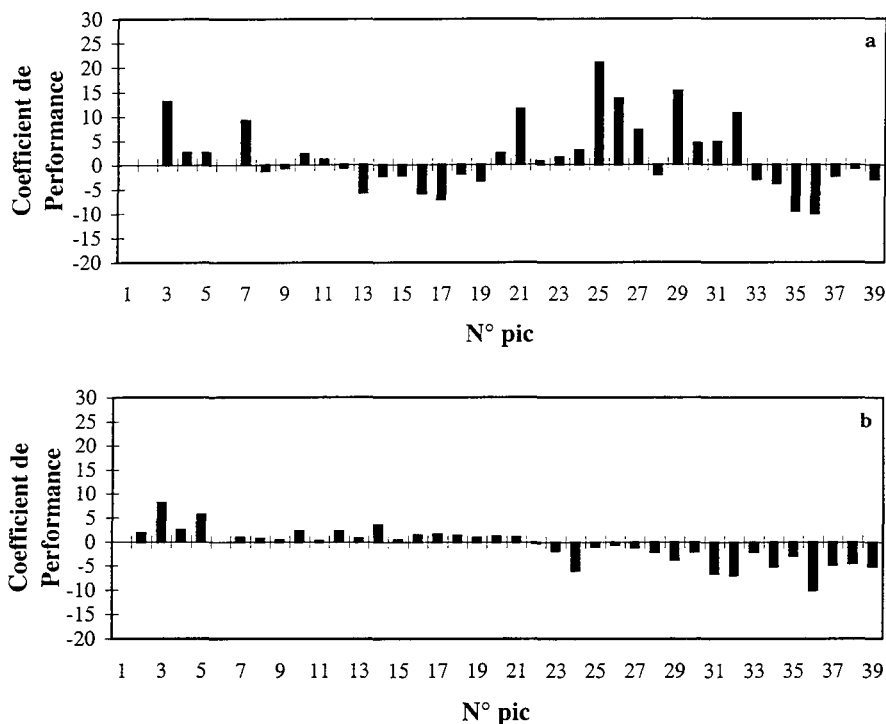


Figure IV-4 Coefficient de Performance éluat / MGLA initiale, sur microbilles de verre (150-212µm) imprégnées avec 0,1% SE 52 a) début de la percolation b) à 5 minutes en fonction du N° du pic.

IV-1.2.3. Différentes imprégnations plus importantes des microbilles de verre (150-212µm) avec du silicone SE 30

Au vu des résultats obtenus avec des faibles imprégnations des microbilles de verre, le taux d'imprégnation a été augmenté à 1, 5 et 10 % de silicone SE 30. La quantité de microbilles de verre mises en oeuvre a été la même pour les trois imprégnations, et les mêmes conditions de percolation ont été appliquées.

Des résultats similaires sont obtenus pour 1 % et 5 % de SE 30 (figure IV-5) : rétention des TGs petits (pics 1 à 7) et gros (pics 18 à 39) et passage des TGs moyens (pics 8 à 17). Il

existe, en effet, deux points de coupure : à $NP \geq 34$ (saturé), il y a passage des TGs et à $NP \geq 40$ (saturé), il y a rétention.

Comme en chromatographie d'exclusion sur colonne, on peut considérer que les petites molécules triglycéridiques sont retenues en raison d'un effet stérique : les petites molécules, dont la polarité est la plus élevée, en contact avec une surface apolaire, se disposent probablement en position "trident", les chaînes carbonées orientées vers la surface hydrophobe. Les gros TGs sont retenus également par le biais d'interactions hydrophobes. Par contre, les TGs moyens (MCT : medium chain triglycerides) sont dans une situation intermédiaire : d'une part, les chaînes ne sont pas assez longues pour interagir fortement avec la surface, d'autre part, elles sont trop longues pour prendre une conformation "trident" analogue aux très petits TGs.

Avec 10 % d'imprégnation, on observe le même phénomène (figure IV-5), mais la quantité de TGs passant à travers le support augmente : les TGs qui passent correspondent aux pics 8 à 29 ($36 \leq NP \leq 46$). En comparant la surface totale active des microbilles plus ou moins imprégnées (voir matériels et méthodes), on observe que la surface ne varie pas même si la taille des microbilles augmente très légèrement. Mais l'effet de l'imprégnation (% SE) conduit à l'élargissement des classes de TG qui traversent facilement le support, c'est à dire la plage des MCT. Plus la couche est hydrophobe, plus cette plage MCT transmise est large.

Tableau IV-1 Capacité d'adsorption et de passage des TGs sur des supports en microbilles de verre imprégnées à différents concentrations 1 %, 5 % et 10 % de SE 30.

SE 30	0,1 %	1 %	5 %	10 %
Coefficient de Performance total (%/cm ²)	2,60	3,00	3,30	3,55
Capacité rétention (%/cm ²)	1,40	1,90	2,60	3,00
Capacité de passage (%/cm ²)	1,20	1,10	0,70	0,55

Le SFC de l'éluat a été étudié pour les trois différentes imprégnations des microbilles de verre avec les silicone SE 30 (1 %, 5 % et 10 %) : on observe dans tous les cas une diminution du SFC de l'éluat par rapport à la MGLA initiale (figure IV-6). C'est l'inverse de l'évolution du SFC obtenue sur les microbilles de verre nues, mais conforme aux données de l'analyse de composition. La rétention de PPP (2%) peut être en partie responsable de la diminution du SFC de l'éluat en fonction du temps de percolation.

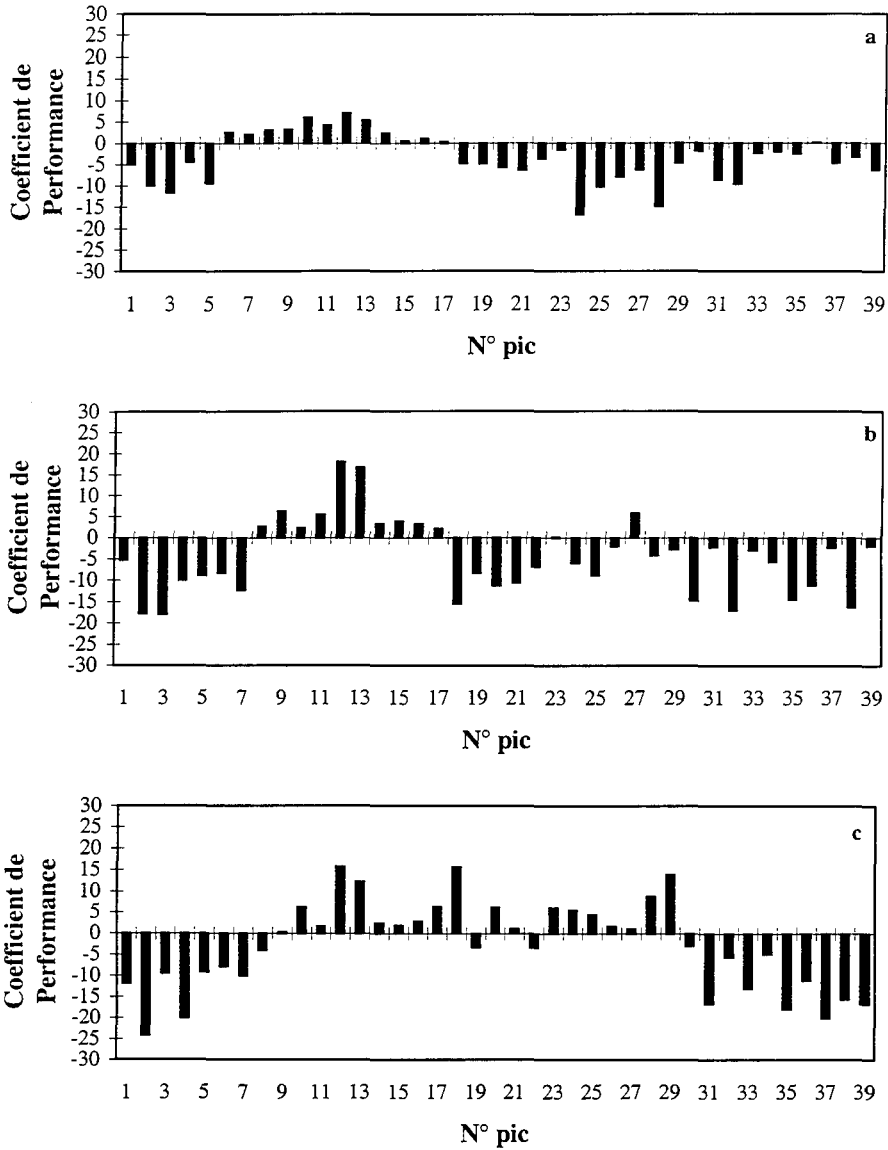


Figure IV-5 Coefficient de Performance éluat / MGLA initiale, sur microbilles de verre imprégnées en début de percolation a) 1 % SE 30 b) 5 % SE 30 c) 10 % SE 30.

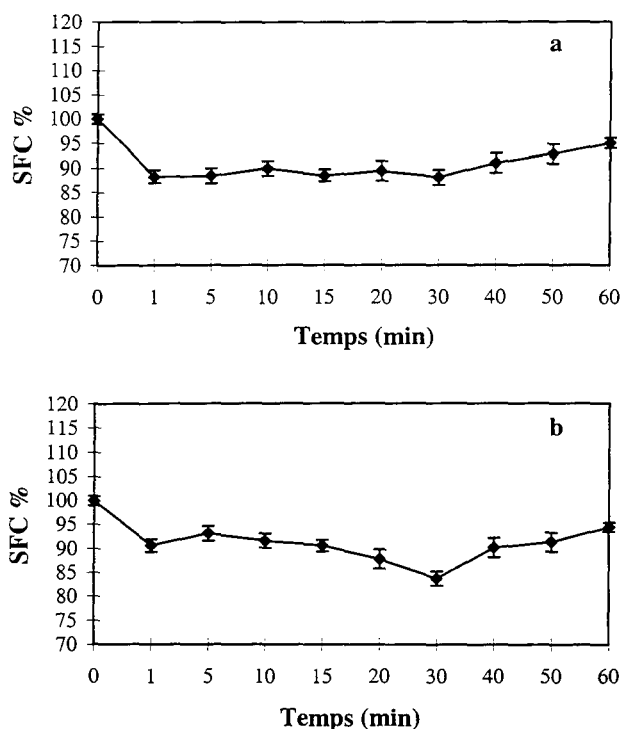


Figure IV-6 SFC % de l'éluat obtenu sur des microbilles de verre imprégnées avec du silicone SE 30 en fonction du temps a) 1 % SE 30 b) 10 % SE 30 en fonction du temps.

IV-1.2.4. Différentes imprégnations de microbilles de verre (150-212 μ m) avec du silicone SE 52

Comme vu précédemment, le silicone SE 52 est théoriquement moins apolaire que le silicone SE 30 et les résultats obtenus sur microbilles de verre imprégnées avec 0,1 % SE 52 sont très intéressants. En effet, une surface imprégnée avec 0,1 % SE 30 paraît moins hydrophobe que la même surface imprégnée avec 0,1 % SE 52, ce qui peut paraître contradictoire. Nous avons donc augmenté le degré d'imprégnation de silicone SE 52 à 1, 5 et 10 % pour vérifier cet effet d'augmentation de l'hydrophobicité du support, possiblement liée à la proportion de la surface polaire des billes de verre recouvertes par le silicone apolaire.

Les trois imprégnations, 1, 5 et 10 % de SE 52, donnent les mêmes résultats, et on observe deux phénomènes (figure IV-7) :

- Passage des TGs (petits et moyens) 26 (saturé) \leq NP \leq 38 (di-insaturés)

- Rétention des gros TGs, à partir de NP 38 (mono-insaturés).

Cette différence des résultats entre les silicones SE 30 et SE 52, est fonction de leur hydrophobicité. Le silicone SE 30, plus hydrophobe que le SE 52 à cause de la présence dans ce dernier des 5% de groupements phényl, s'étale moins bien sur la surface des microbilles de verre. Certaines régions du support restent alors nues, zones sur lesquelles les petits TGs entrent en interaction. Ceci ne peut pas se faire avec le silicone SE 52 (moins hydrophobe), qui donc s'étale un peu mieux sur la surface des microbilles de verre, ce qui explique la différence de comportement des petites molécules. Les TGs à grands NP sont quant à eux retenus sur les microbilles de verre imprégnées avec SE 30 et SE 52 par le biais d'interactions hydrophobes fortes sans empêchement stérique : l'interaction est stable dans le temps. En effet, l'hydrophobicité du support entraîne une inversion du phénomène de partition des TGs de MGLA sur des microbilles de verre (150-212 μm) imprégnées avec SE 52 par rapport aux microbilles de verre nues.

Tableau IV-2 Capacité de rétention et de passage des TGs sur des supports en microbilles de verre imprégnées à différents concentrations 1 %, 5 % et 10 % de SE 52.

SE 52	0,1 %	1 %	5 %	10 %
Coefficient de Performance total ($\%/cm^2$)	2,0	2,40	2,74	2,40
Capacité de rétention ($\%/cm^2$)	1,40	2,00	1,97	1,00
Capacité de passage ($\%/cm^2$)	0,60	0,65	0,77	1,40

Le SFC des éluats obtenus sur les microbilles de verre imprégnées avec le silicone SE 52 donne les mêmes résultats que ceux obtenus avec SE 30 à différentes concentrations (figure IV-8). La relation entre la composition des différents TGs avec le SFC est très difficile à faire, car on observe une rétention de TGs comme PPP mais en même temps que POO et le passage (ou la rétention) de TGs possédant à la fois une ou plusieurs chaînes courtes ou insaturées.

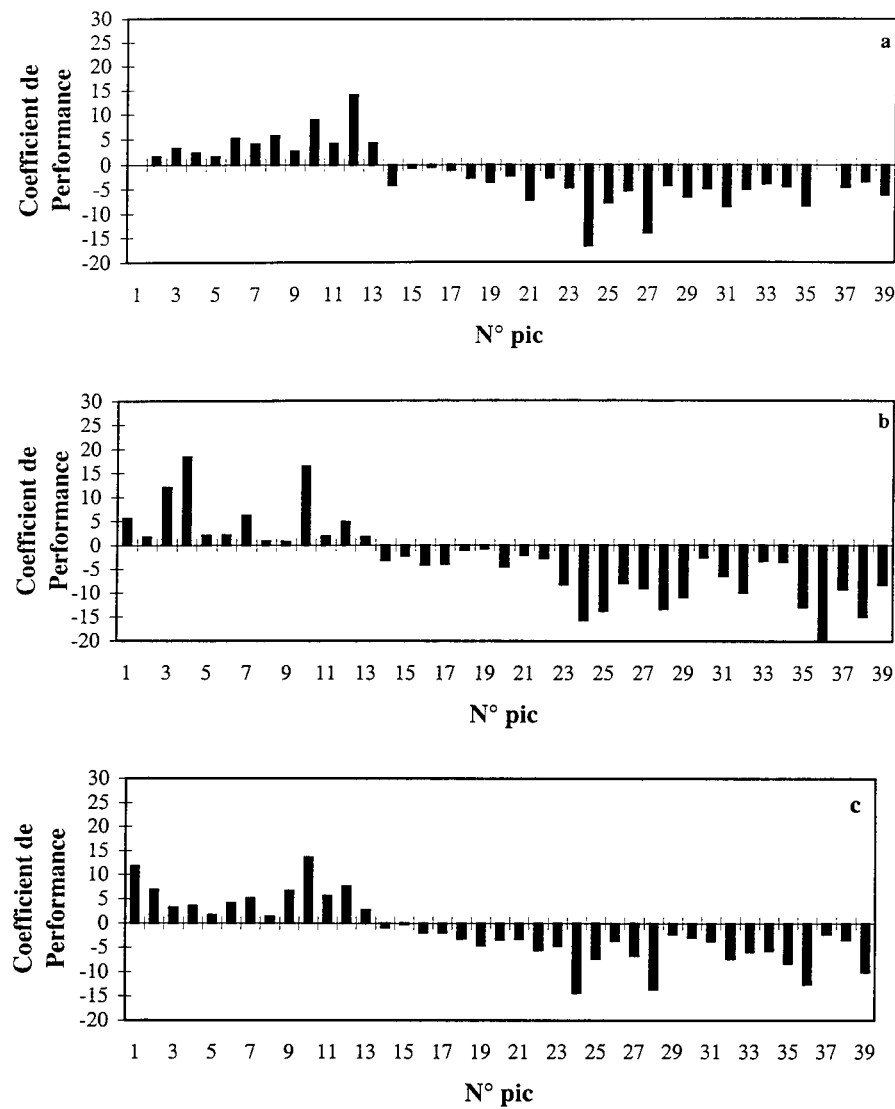


Figure IV-7 Coefficient de Performance éluat / MGLA initiale, sur microbilles de verre (150-212µm) imprégnées, au début de la percolation a) 1 % SE 52 b) 5 % SE 52 c) 10 % SE 52 en fonction du N° du pic.

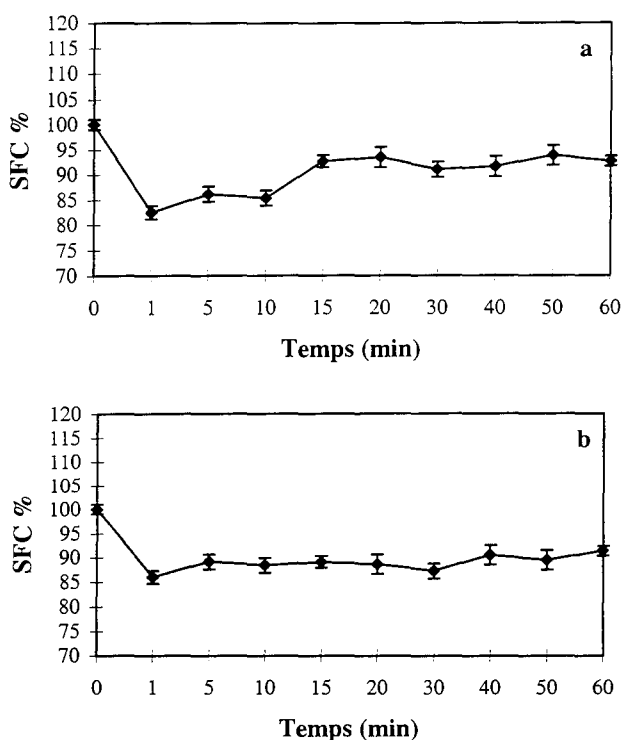


Figure IV-8 SFC de l'éluat obtenu sur des microbilles de verre imprégnées avec le silicone SE 52 en fonction du temps a) 1 % SE 52 b) 10 % SE 52 en fonction du temps.

IV-2. Etude de la MG résiduelle adsorbée sur un support, après percolation

Nous étudierons dans cette partie, les TGs adsorbés qui restent fixés sur le support à la fin de la percolation. La méthode consiste donc à faire passer toute la charge sur les supports par aspiration grâce à une pompe à vide. En effet, une très faible quantité de MG reste adsorbée sur la surface des supports. La manipulation consiste à récupérer les supports à la fin de la percolation, à les laver avec du dichlorométhane pour en extraire les TGs adsorbés.

IV-2.1. Influence de la nature du support

Différents supports ont été utilisés pour réaliser la percolation. Les billes de verre sont des supports pelliculaires qui ont la capacité d'être recouverts avec une couche fine d'imprégnation à différentes épaisseurs et à différents caractères polaires. Nous avons utilisé des billes de verre (150-212 μm) nues, puis imprégnées avec des silicones SE 30 où SE 52 à différentes concentrations. Ces supports dérivés des microbilles de verre ont été réalisés dans

le but d'en faire varier le caractère polaire, afin d'étudier en fonction de cette caractéristique la répartition par rapport à la MGLA initiale des TGs restant adsorbés après l'épuisement de la charge.

Afin de caractériser l'hydrophobicité des surfaces utilisées, l'angle de contact sur lame de verre soit nue, soit imprégnée à différentes concentrations, a été mesuré (figure IV-9). L'hydrophobicité du support augmente avec la concentration de silicone SE 30 et SE 52, et l'angle de contact pour le silicone SE 52 est plus grand que pour le silicone SE 30, indiquant qu'il est plus hydrophobe à la même concentration. De plus, il existe une concentration limite au-dessus de laquelle l'angle de contact ne varie plus : 20 g/m² pour SE 30, et 10 g/m² pour SE 52. Compte tenu de la plus grande facilité d'étalement de SE 52, la surface de verre devient complètement hydrophobe plus rapidement avec SE 52 qu'avec SE 30. Avec les microbilles de verre (150-212 µm), nous n'arrivons jamais à cette valeur limite. A 5 % de SE 30, la quantité de silicone par unité surface est 4 g/m².

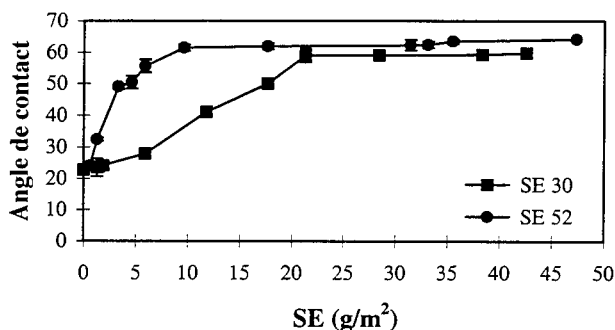


Figure IV-9 Angle de contact de l'huile d'olive à 20°C sur une lame microscopique en verre imprégnée à différentes concentrations avec de SE 30 et SE 52.

IV-2.1.1. Quantité de MGLA adsorbée

Les résultats présentés sont les moyennes de 4 essais de percolation de MGLA sur des supports en microbilles de verre (150-212 µm) imprégnées à différentes concentrations de SE 30 et SE 52. Pour chaque essai, nous avons versé 5 ml de MGLA sur un support de 10 g d'épaisseur, et après écoulement total à travers la couche filtrante, les quantités de MGLA adsorbées sur le support et percolée sont pesées. Les résultats sont présentés dans le tableau (IV-3).

Tableau IV-3 Caractéristiques d'adsorption et de passage de MGLA sur des billes de verre nues (150-212 μm) où imprégnées à différents concentrations de silicone SE 30 et SE 52.

billes de verre (150-212 μm)	masse ini. (g)	masse rec.(g)	masse ads. (g)	A (m^2)	masse ads./ A (g/m^2)
nues (0% SE 30)	4,46 (0,09)	4,11	0,350 (0,010)	0,133 (0,015)	2,63
0,01 % SE 30	4,46	4,09	0,367 (0,015)	0,130 (0,008)	2,82
0,1 % SE 30	4,46	4,04	0,399 (0,008)	0,127 (0,009)	3,14
1 % SE 30	4,46	4,04	0,420 (0,007)	0,125 (0,009)	3,36
3 % SE 30	4,46	3,99	0,470 (0,007)	0,124 (0,008)	3,80
5 % SE 30	4,46	3,88	0,517 (0,013)	0,123 (0,009)	4,20
0,1 % SE 52	4,46	4,07	0,390 (0,011)	0,130 (0,009)	3,00
1 % SE 52	4,46	3,76	0,700 (0,012)	0,127 (0,009)	5,50

(masse ini. : masse initiale, masse rec : masse de MGLA sortant de la colonne, masse ads. : masse de MGLA retenue sur le support, A : surface des microbilles. (coefficient de variation)

La quantité de MG adsorbée sur le support montre une augmentation de la rétention de la MGLA en fonction de l'imprégnation. La quantité adsorbée augmente en fonction la concentration de SE 30 (figure IV-10). Cette augmentation peut être due à une augmentation légère du volume mort et de sa stabilisation. Le volume mort des billes de verre est constant au-dessus d'une imprégnation de SE 30 à 1 %. Il faut noter la présence de certaines régions de la colonne où la MGLA ne circule pas : ceci est dû au remplissage de la colonne dont les caractéristiques sont différentes à cause du % de SE 30.

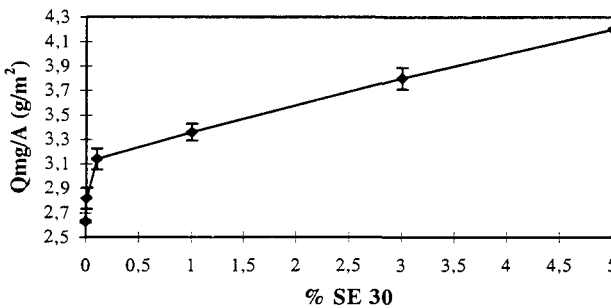


Figure IV-10 Evolution de la quantité de MGLA adsorbée par rapport à la surface de support ($\text{Qmg}, \text{g}/\text{m}^2$) en fonction du degré d'imprégnation en silicone SE 30

IV-2.1.2. Profils des TGs sur supports microbilles de verre

IV-2.1.2.1. Microbilles de verre nues

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, une conformation particulière ("trident") d'un TG à une interface polaire-apolaire peut être envisagée, dans laquelle les trois chaînes d'AGs sont orientées dans la même direction (Bursh *et al.*, 1968 et Dorset *et al.*, 1978), afin de permettre une interaction maximale des chaînes avec la partie apolaire en vis-à-vis, et / ou une interaction maximale entre les trois atomes d'oxygène des fonctions esters et la couche filtrante polaire.

Face aux groupements terminaux hydrophiles du verre, la conformation "Trident" des TGs s'impose au moins dans la première couche. Cette conformation n'est pas énergétiquement la plus favorable, à cause de l'effet stérique. Mais il existe trois présentations possibles des différentes conformations, ayant pour base une position décalée des substituants de telle que les oxygènes vicinaux soient en "anti" les uns par rapport aux autres, minimisant ainsi leurs interactions. Les petits TGs saturés ($NP < 34$) sont favorisés, par la conjonction de cet effet stérique, et d'une meilleure aptitude énergétique à cette conformation particulière.

La capacité de rétention sur les billes de verre est de $2,54 \text{ \% /cm}^2$ et la capacité de passage des gros TGs est de $4,95 \text{ \% /cm}^2$. L'adsorption des TGs sur les billes de verre s'ordonne conformément à ces considérations liées à l'hydrophobicité et à la présence des hydroxyle (OH) à la surface des billes de verre.

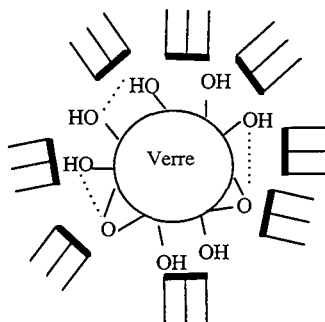


Figure IV-11 Schéma d'adsorption des TGs sur la surface de billes de verre nues. (----- : liaison hydrogène)

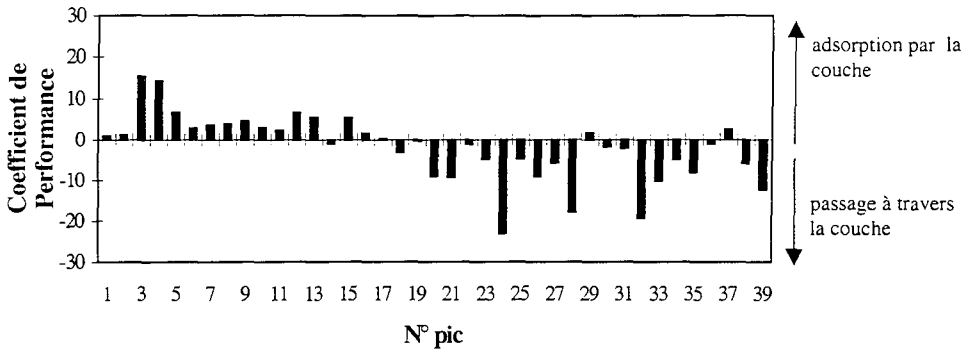


Figure IV-12 Coefficient de performance (TGs adsorbé / initial) sur les microbilles de verre (150-212 μm).

IV-2.1.2.2. Microbilles de verre revêtues avec le silicone SE 30

Les TGs en contact avec le silicone SE 30 ont tendance à s'orienter en conformation chaises (tête-bêche), conformation proche de leur arrangement naturel au voisinage des points de fusion.

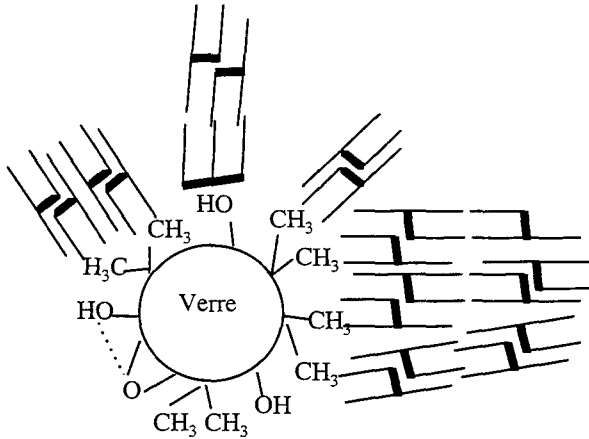


Figure IV-13 Schéma d'adsorption des TGs sur la surface de billes de verre imprégné avec 0,01% SE 30%. (----- : liaison hydrogène)

Ces couches en regard des plages de Silicone SE 30 peuvent perpétuer à distance cet arrangement, car il est favorisé énergétiquement (Brush *et al.*, 1968 et Dorset *et al.*, 1978).

Avec les microbilles de verre imprégnée entre 0,01 % et 1 % de silicone SE 30, la quantité fixée augmente en valeur absolue, et également par rapport à la surface des microbilles (voir tableau IV-4). Cependant, elle défavorise déjà les petites et les grandes molécules, en fixant préférentiellement les TGs moyens (MCT).

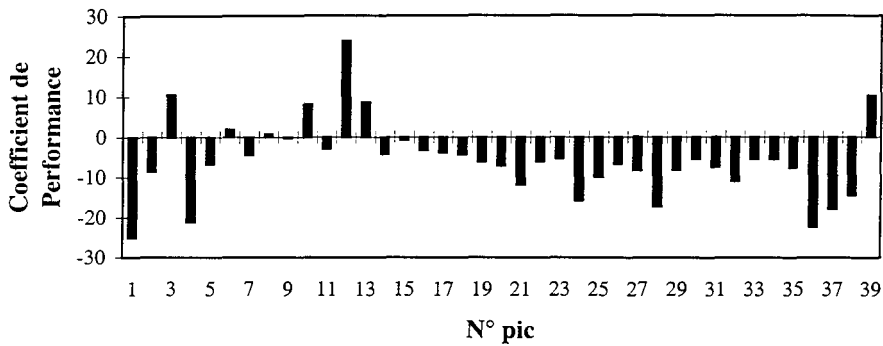


Figure IV-14 Coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) sur microbilles de verre imprégnées à 0,01 % Se 30 en fonction du N° du pic.

Tableau IV-4 Capacité d'adsorption et de passage sur microbilles de verre à différentes imprégnations par rapport à la surface totale (cm²)

SE 30	0,01 %	0,1 %	1 %	3 %	5 %
Coefficient de Performance total (%/cm ²)	8,43	8,50	10,42	9,54	9,94
Capacité d'adsorption (%/cm ²)	2,03	1,90	2,40	1,72	1,44
Capacité de passage (%/cm ²)	6,40	6,60	8,02	7,82	8,50

La capacité d'adsorption par unité de surface est maximale à 1 % SE 30 (tableau IV-4). Du point de vue de la composition de la matière grasse adsorbée, on observe une fixation des 4 pics 10, 12, 13, et 39. Le passage des gros TGs est favorisé à travers le support (figure IV-14, IV-15). En effet, à la fin de l'aspiration, il n'y a pas de variation entre la composition de l'éluat (sortant de la colonne) par rapport à la charge initiale.

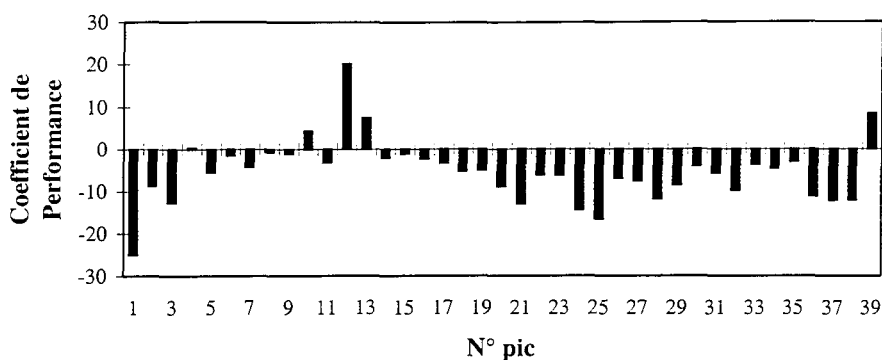


Figure IV-15 Coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) sur les microbilles de verres imprégnées à 0,1 % Se 30 en fonction du N° du pic.

En augmentant le pourcentage de Silicone SE 30 à 3 et 5 %, nous sommes en présence d'une surface "complètement" revêtue qui masque totalement le verre et ses terminaisons polaires. On observe une rétention préférentielle des TGs moyens saturés et insaturés (figure IV-16). Les petits TGs sont exclus car énergétiquement défavorisés. Les très grands sont également éloignés (tous les C_{18}) largement insaturés pour les deux raisons qui sont :

- l'effet stérique (taille et rigidité)
- la conformation double chaise qui est moins favorisée d'où l'exclusion relative des clusters fixés sur le SE 30.

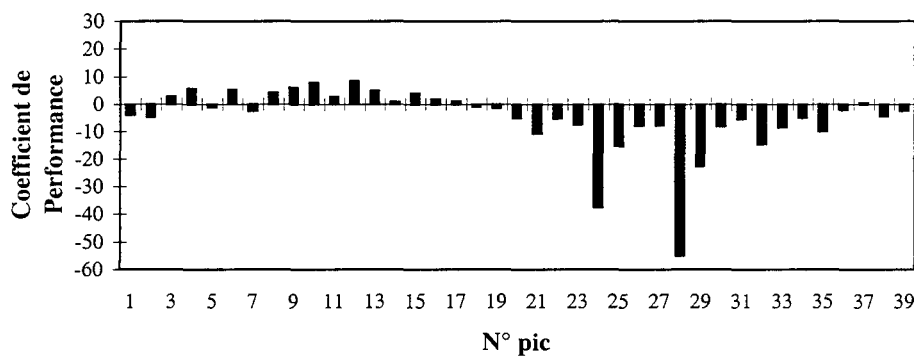


Figure IV-16 Coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) sur les microbilles de verres imprégnées à 3 % SE 30 en fonction du N° du pic.

En comparant l'adsorption des pics 12 et 13 (NP = 38), en fonction du taux d'imprégnation des microbilles de verre (figure IV-17), on observe que cette adsorption est

favorisée par le revêtement par rapport aux billes nues, mais elle diminue à partir de 1 % SE 30. Une interprétation possible pour ce phénomène est que les interactions sont favorisées à faible concentration de SE 30, mais à plus grande concentration, le phénomène s'inverse et une exclusion est observée, puisque à 5 %, la quantité adsorbée devient plus faible que sur les billes nues.

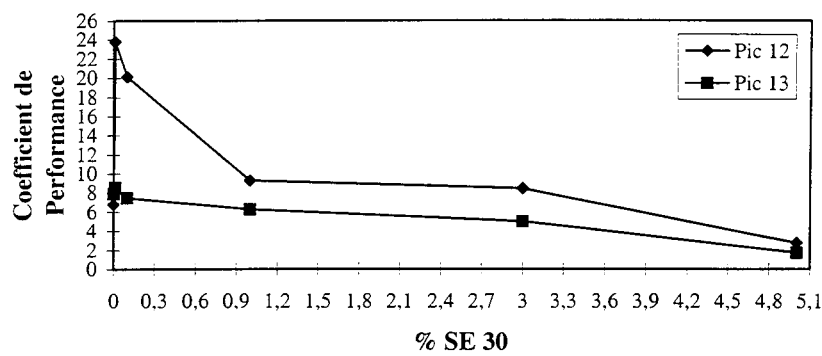


Figure IV-17 Evolution du coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) pour les pics 12 et 13 en fonction du pourcentage de silicone SE 30.

IV-2.1.2.3. Microbilles de verre revêtues avec du silicone SE 52

En utilisant du silicone SE 52 à 0,1 et 1 %, on observe une tendance à l'adsorption des TGs identique à celle décrite sur SE 30 (figure IV-18). En effet, ce sont les TGs correspondant aux pics 9, 10, 11,12, 13 qui sont adsorbés sur le support.

On observe une légère variation (+2 %) due à la teneur de l'imprégnation entre les capacités d'adsorption des supports à base de microbilles de verre à 0,1 % et à 1 % SE 30.

Tableau IV–5 Capacité d'adsorption et de passage sur microbilles de verre à différentes imprégnations.

SE 52	0,1 %	1 %
Coefficient de Performance total (%)	8,90	10,00
Capacité d'adsorption (%)	1,30	1,60
Capacité de passage (%)	7,60	8,40

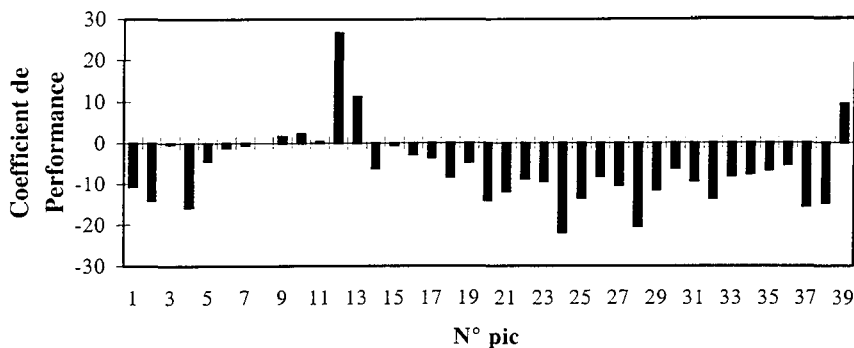


Figure IV-18 Coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) sur les microbilles de verres imprégnées à 1% SE 52 en fonction du N° du pic.

IV-2.1.3. Profils des TGs sur support silica-gel

Le Silica-gel (Kieselgel 40) utilisé est caractérisé par une taille de particules de 0,063-0,22 nm. Nous l'avons utilisé à la place de l'acide silicique, d'une part à cause de la taille des particules mieux définies, et d'autre part parce que ce gel est largement utilisé pour la préparation de colonnes en chromatographie d'adsorption et en chromatographie liquide.

La quantité de Silica gel (Kieselgel 40) est de 10 g. La quantité de MGLA est de 9,5 g, car le Silica gel a tendance à absorber la MGLA et à gonfler. La quantité de MGLA restant sur la silice est de 4,9 g, sa capacité d'adsorption étant de 37,50 %.

Le Silica gel, par rapport aux microbilles de verre nues, montre une forte tendance à la rétention de la MGLA : 54 % de la MGLA initialement ajoutée reste sur le support, alors que seulement 7,7 % étaient fixés par les microbilles de verre. L'adsorption sur le Silica gel est donc très forte, et les TGs à faible NP sont adsorbés (pics 1 à 17), le point de coupure étant le pic 18 (NP = 40, mono-insaturés). Les TGs à faibles NP ont presque disparu dans l'éluat : ils s'adsorbent fortement sur les supports hydrophiles, et tout particulièrement les TGs correspondant aux pics 12 et 13. En plus, certains TGs à haut NP ont tendance à sortir très vite de la colonne, comme s'il existait une répulsion entraînant leur expulsion à travers le support (figure IV-20).

Ces deux comportements sont donc particulièrement bien différenciés sur un support de Silica gel avec un point de coupure sur le pic 18 :

- fixation des petits et moyens TGs (NP < 40) : pour les raisons exposées précédemment, les groupement OH du support induisent la conformation "trident" défavorable aux TGs à haut

NP. Il y a alors formation des liaisons hydrogène entre les "OH" du support et les "O" des fonctions esters des TGs. Le comportement est le même que sur les microbilles de verre nues, mais plus exacerbé et cohérent encore, à cause du caractère fortement hydrophile du Silica gel.

- Les grands TGs, pour lesquels, cette conformation "trident" n'est pas favorisée, sont exclus. Ces TGs qui ne sont pas retenus ($NP > 40$) sont en fait les plus hydrophobes. Il est donc net que les effets conformationnel et stérique l'emportent sur les forces d'interactions hydrophile/hydrophile, et que les liaisons hydrogène entre support et groupement "O" des esters sont très faibles.

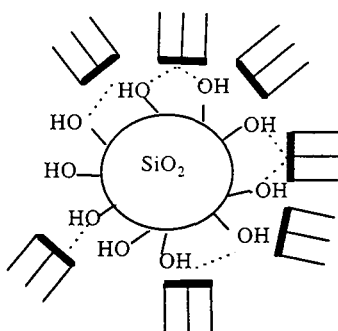


Figure IV-19 Schéma d'adsorption des TGs sur la surface d'un support en Silica gel. (- - - - : liaison hydrogène)

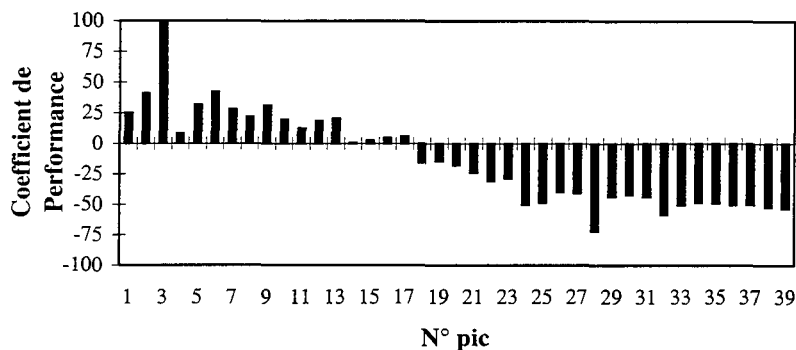


Figure IV-20 Coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) sur Silica gel en fonction du N° du pic.

IV-2.1.4. Profils des TGs sur supports d'oxydes divers à caractère plus ou moins hydrophile.

IV-2.1.4.1. Support d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3)

Nous avons observé dans le chapitre de percolation frontale en colonne plate, que l'oxyde d'aluminium donne de très bons résultats de partition sur la MGLA. On observe une rétention très sélective, et on peut considérer que dans les premières minutes de la percolation, les TGs à faible NP sont retenus (pics 1 à 17) alors que les TGs à partir du pic 18 (NP = 40) traversent facilement. Au cours du temps de percolation, le phénomène s'atténue, et après 15 minutes, on observe un décalage au niveau des TGs retenus qui ne concernent alors que les pics de 1 à 14 (NP = 38). A la fin de la percolation, il y a passage de tous les TGs dans l'éluat. Dans ces essais, nous utilisons une colonne en verre remplie d'oxyde d'aluminium (10 g), sur laquelle nous versons 4,5 g de MGLA. La quantité de graisse restant sur l'oxyde d'aluminium est de 3,3 g et la quantité de récupérée en bas de colonne est 1,4 g. La capacité de rétention est de 54,5 %.

L'adsorption de la MGLA sur l'oxyde d'aluminium est très forte et appelle la même interprétation que sur le gel de silice, qui est un autre support hydrophile : les TGs à faible NP sont adsorbés, mais un déplacement du seuil de coupure est observé, du pic 18 (sur gel de silice) vers le pic 13 (sur Al_2O_3) (figure IV-21). Ceci traduit une implication encore plus forte de l'effet stérique qui favorise la fixation sur les terminaison hydrophiles du support. La structure des oxydes d'aluminium et de silicium joue un rôle primordial : Al_2O_3 cristallise en octaèdres réguliers alors que SiO_2 cristallise sous forme de tétraèdres. La géométrie de ces structures implique donc des conditions de contact particulières.

Dans la chromatographie d'adsorption (solide-liquide), les silices conviennent mieux pour la séparation des solutés basiques (ex: amines aliphatiques et aromatiques), à cause de leur caractère acide. Par contre, l'oxyde d'aluminium convient mieux pour la séparation des solutés acides comme les phénols et les acides carboxyliques. Mais en général, pour ces deux supports, les molécules polaires sont toujours plus adsorbées que les molécules non polaires : Acides carboxyliques > amides > alcools > cétones > esters >....> hydrocarbures saturés

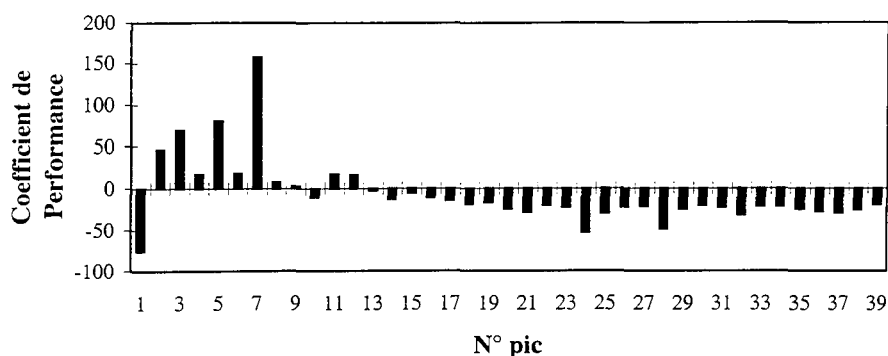


Figure IV-21 Coefficient de performance (TGs adsorbé / initial) sur oxyde d'aluminium en fonction du N° du pic.

Le processus de cette adsorption est complexe et les forces mises en jeu, qui dépendent des supports et des molécules à retenir sont diverses (forces de dispersion de London, forces inductives, forces électrostatiques, liaisons hydrogène). Il est très difficile de préciser la part relative de ces différentes forces d'adsorption car pratiquement, on ne peut observer que leur résultante.

IV-2.1.4.2. Sur support d'oxyde de zirconium (ZrO_2) et d'oxyde de titane (TiO_2)

La percolation frontale en colonne plate d'oxyde de zirconium (ZrO_2) et d'oxyde de titane (TiO_2) ne donne pas des résultats interprétables. En effet, la tendance générale est à la rétention des petites et des grosses molécules alors que les TGs moyens passent. Mais les résultats sont très variables.

La percolation frontale sur colonne remplie d'oxyde de titane TiO_2 (10 g) d'un diamètre de 1 cm et de 9,9 cm de longueur est un processus très lent. L'aspiration de la MGLA (9,5 g) est très difficile à cause de la formation d'un mélange MGLA-Oxyde de titane ressemblant à une émulsion de peinture. La quantité sortant de la colonne est de 0,7 g et la quantité restant sur l'oxyde de titane est 8,8 g. En revanche, la percolation sur colonne remplie d'oxyde de zirconium (10 g) d'un diamètre de 1 cm et 9,9 cm de longueur est aisée. La quantité de MGLA sortant de la colonne est égale à 50 % de la quantité initiale.

Il est très intéressant d'observer qu'en travaillant sur divers supports hydrophiles, le comportement de rétention est presque le même, mais les pourcentages d'adsorption et de passage différent. Ceci peut être dû à la structure cristalline de ces oxydes. L'oxyde de titane existe sous trois formes cristallines :

- l'anatase : 8 molécules/maille, chaque atome de Ti étant entouré de 6 atomes d'oxygène pratiquement équidistants et chaque atome d'oxygène est entouré de 3 atomes de Titane.
- brookite : 8 molécules/maille, les octaèdres TiO_6 sont disposés en chaînes parallèles, et les chaînes en couches parallèles. Chaque atome d'oxygène est entouré de 3 atomes de Ti.
- rutile : 2 molécules/maille, chaque atome de Ti est entouré de 6 atomes d'oxygène suivant un octaèdre et chaque atome d'oxygène est entouré de 3 atomes de Ti.

L'oxyde de zirconium (ZrO_2) existe sous deux variétés: monoclinique et quadratique

- monoclinique : la zircone (type fluorine déformée), dont la maille élémentaire renferme 4 molécules ZrO_2
- quadratique : très instable, la zircone quadratique est aussi de type fluorine déformée. La maille élémentaire renferme également 4 molécules ZrO_2

Comme en percolation, les résultats sont peu homogènes (figure IV-22) : les comportements sur l'oxyde de zirconium et de titane sont globalement du même type, mais en général, il y a plus de variation sur le premier support. La première raison (la plus importante) est expérimentale : ces deux supports sont caractérisés par un état pulvérulent, très fin, avec une tendance à créer une pâte qui ne laisse pas passer la MG (peinture). Par ailleurs, les caractères hydrophiles sont forcément moins grands, puisque ce sont des oxydes de métaux de transition. Tout ceci concourt à des répartitions de TGs, surtout sur TiO_2 , qui ne sont plus interprétables (voir figure IV-22)

Tableau IV-6 La capacité d'adsorption et de passage des TGs sur des supports d'oxyde de zirconium et de titane.

support	Oxyde de zirconium	Oxyde de titane
Coefficient de Performance total (%)	462,24	233,71
Capacité d'adsorption (%)	12,70	44,30
Capacité de passage (%)	87,30	55,70

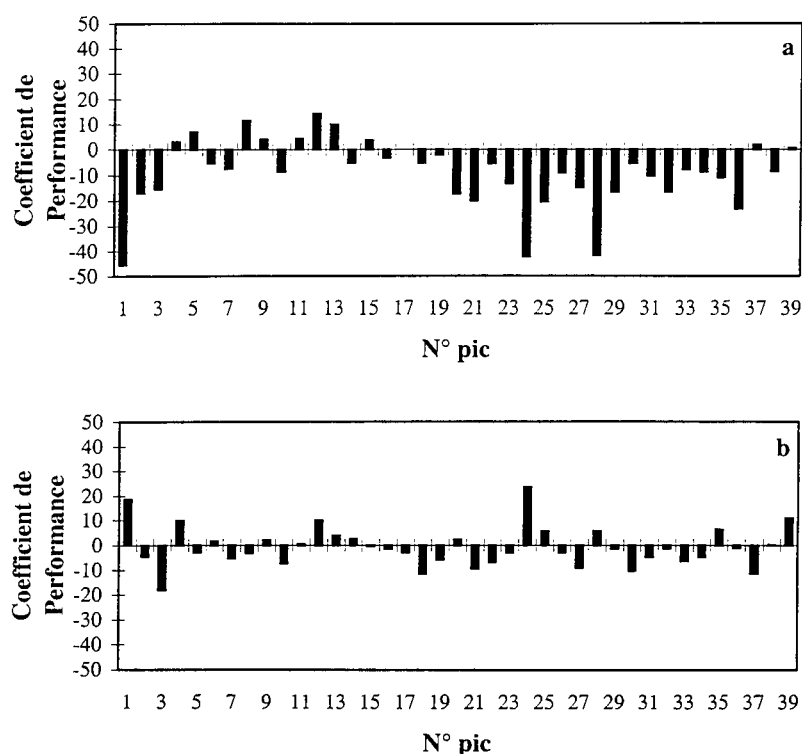


Figure IV-22 Coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) sur différents supports : a) oxyde de zirconium; b) oxyde de titane en fonction du N° du pic..

IV-2.2. Influence de la composition de l'huile (huile formulée).

Comme vu au chapitre III de Résultats et discussion, l'utilisation d'une huile formulée peut faciliter l'explication des interactions entre les TGs et les différents supports, car la composition triglycéridique en est plus simple (voir tableau au chap III (III-2)).

IV-2.2.1. Profils des TGs d'une huile formulée sur des supports microbilles de verre (150-212 μ m) nues et imprégnées à différentes concentrations de silicone SE 30

Les microbilles de verre sont utilisées pour faciliter la compréhension du rôle de l'hydrophobicité des supports dans les interactions TGs/supports. L'aspiration de l'huile formulée sur les microbilles de verre à 0, 1, 3 et 5 % de silicone SE 30 a été réalisée comme pour la MGLA, mais la température a été portée à 60°C. L'épaisseur des microbilles de verre (150-212 μ m) est de 10 g. La quantité de l'huile formulée ajoutée est de 10 ml et la quantité

restant sur les supports varie en fonction du pourcentage de silicone SE 30. En effet, la quantité adsorbée augmente légèrement quand la concentration de silicone SE 30 augmente (voir tableau IV-7).

Tableau IV-7 Quantité d'huile aspirée et adsorbée sur un support en microbilles de verre à différentes imprégnations de silicone SE 30. (coefficient de variation)

Silicone SE 30	0 %	1 %	3 %	5 %
Huile aspirée (g)	8,212 (0,06)	8,14 (0,03)	8,09 (0,05)	7,96 (0,04)
huile adsorbée (g)	0,418 (0,02)	0,492 (0,03)	0,542 (0,02)	0,675 (0,03)

L'analyse des coefficients de performance montre l'adsorption de quelques groupes de TGs (fig IV-23) sur microbilles de verre nues, la moitié des TGs passent et l'autre moitié est retenue. Pour les microbilles à différentes concentrations de silicone SE 30, on observe une adsorption des TGs de NP 30 à 40 à l'exception du pic 13 (LLL) qui est élué.

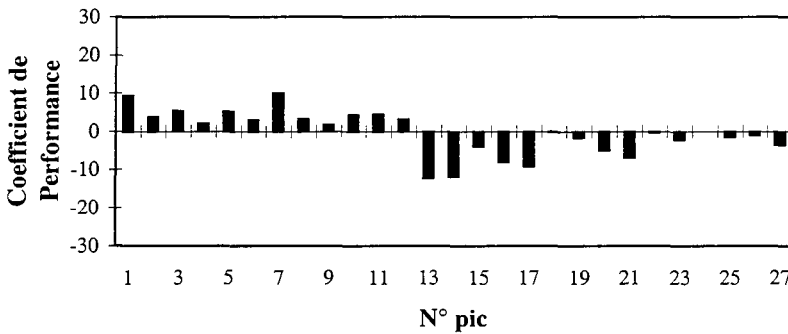


Figure IV-23 Coefficient de performance (TGs adsorbés / initial) sur microbilles de verre nues (150-212 μm) en fonction du N° du pic.

Tableau IV-8 Capacité d'adsorption et de passage des TGs sur des supports en microbilles de verre imprégnées à différentes concentrations 1 %, 3 % et 5 % de SE 30.

support	0 % SE 30	1 % SE 30	3 % SE 30	5 % SE 30
Coefficient de Performance total (%)	88,28	178,59	170,70	159,33
Capacité d'adsorption (%)	48,22	29,40	19,10	35,30
Capacité de passage (%)	51,78	70,60	80,90	64,70

IV-2.2.2. Profils des TGs de l'huile formulée sur d'autres supports hydrophiles

Les différents supports hydrophiles utilisés dans une colonne en verre pour étudier les TGs de l'huile modèle adsorbés sont : Silica gel (Kieselgel 40), oxyde d'aluminium (Al_2O_3), oxyde de titane (TiO_2) et oxyde de zirconium (ZrO_2).

L'adsorption des TGs de l'huile formulée est comparable pour les trois premiers supports : les TGs à NP < 40 sont adsorbés, et de plus, l'oxyde de titane est caractérisé par l'adsorption des pics 13 (LLL) et 25 (OOO).

Par contre l'adsorption des TGs sur le support d'oxyde de zirconium est complètement différente : seulement 3 TGs sont adsorbés : LnLnLn, LLL, OOO, ce qui constitue une série remarquable : C18:1, 2, 3 en TG homogènes.

Les résultats sur Silica gel confirment ce qui a été observé sur la MGLA. Le point de coupure est différent, du fait de la simplification de la composition, mais globalement l'interprétation est identique. Ceci est cohérent également dans le cas de l'oxyde d'aluminium. Les résultats sur l'oxyde de zirconium sont aussi ininterprétables que pour la MGLA. La capacité d'adsorption sur l'oxyde de zirconium est très faible par rapport aux autres supports.

Tableau IV-9 Capacité d'adsorption et de passage des TGs sur des supports en Silica gel, oxyde d'aluminium, oxyde de titane et oxyde de zirconium.

support	Silica gel	oxyde d'aluminium	oxyde de titane	oxyde de zirconium
Coefficient de Performance total (%)	599,52	624,74	585,11	394,54
Capacité d'adsorption (%)	49,32	31,30	24,30	9,10
Capacité de passage (%)	50,68	68,70	75,70	90,90

IV-2.3. Influence de la température

La température joue un rôle important sur la structure et l'organisation des TGs. A basse température, la matière grasse naturelle cristallise (K. Larsson, 1986). La cristallisation est complexe à cause du grand nombre de triglycérides présents, et du polymorphisme qui résulte principalement des différentes possibilités d'empilement des chaînes hydrocarbonées dans le réseau cristallin.

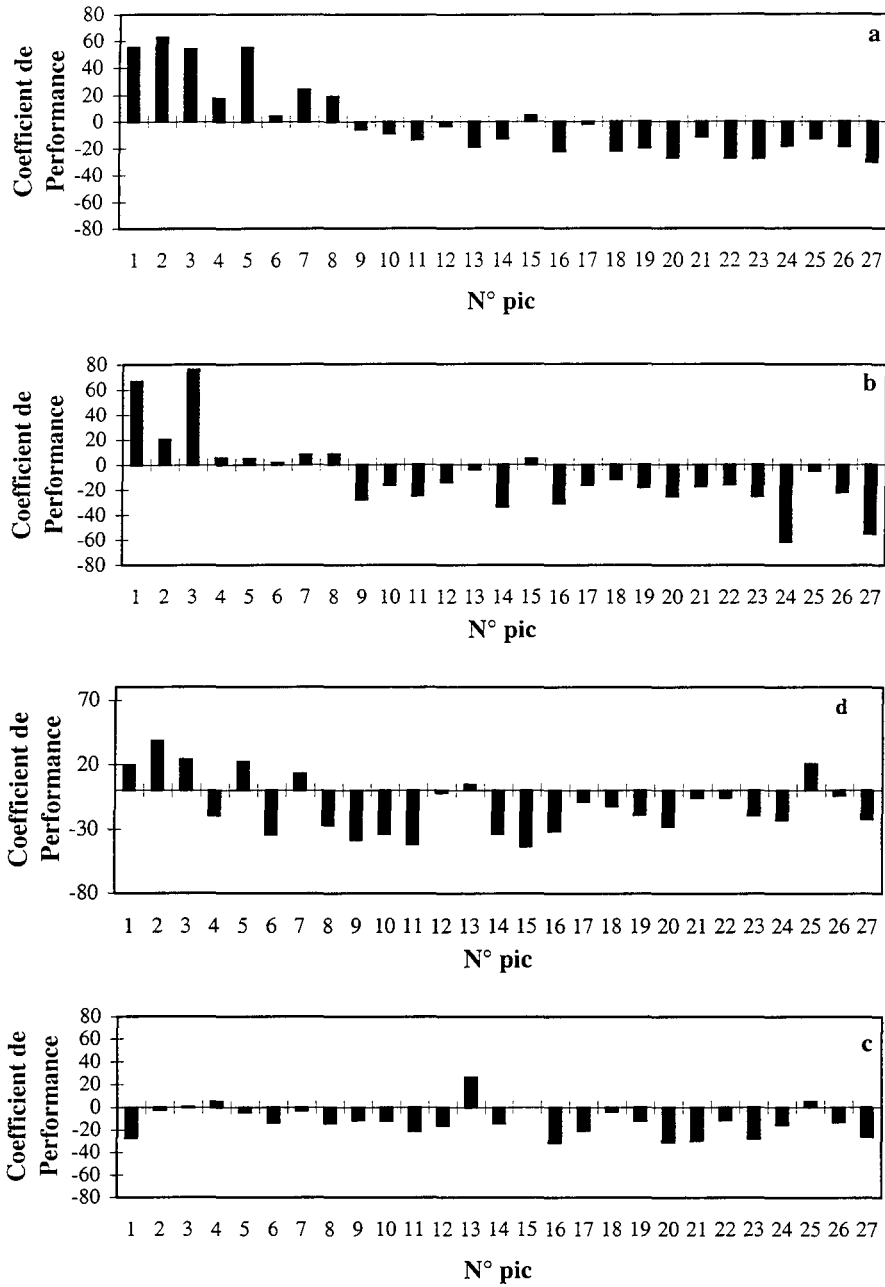


Figure IV-24 Coefficient de performance (TGs adsorbé / initial) sur différents supports pour une huile formulée. a) silica gel; b) oxyde d'aluminium; d) oxyde de titane) oxyde de zirconium en fonction du N° du pic.

L'empilement de ces chaînes procède d'interactions correspondant à des forces de dispersion s'exerçant à courte distance (Van der Waals, London). On sait aussi que les triglycérides se présentent sous trois formes cristallines principales : formes α , β , et β' .

A température élevée, la MG est à l'état liquide. Larsson (1972) a proposé que la structuration du liquide corresponde à l'existence d'une phase cristalline liquide due à la persistance de micelles de type smectique (les agrégats conservent une certaine stratification), les groupements glycérols resteraient associés entre eux tandis que les chaînes aliphatiques seraient fortement désorganisées et constitueraient un continuum paraffinique. Hernqvist en 1984 considère que l'état liquide des triglycérides n'est pas totalement désorganisé et que l'ordre des différents segments des chaînes hydrocarbonées est constant avec la température et varie avec la longueur des chaînes. La phase liquide (Larsson, 1972) ressemblerait à une organisation de micelles inverses, caractérisée par la formation de structures lamellaires, les lamelles étant composées d'une bicouche de triacylglycérols dont la longueur des chaînes d'acides gras correspond à l'épaisseur. La longueur moyenne de ces lamelles a été estimée à 200 Å.

Selon Cebulla *et al.*, (1992) l'organisation de la phase liquide de type smectique n'est pas observée et ceci, indépendamment de la température. L'état de la phase liquide s'approche de celui rencontré dans les phases nématiques de types cristaux liquides.

L'influence de la température sur l'adsorption des TGs a été étudiée sur deux différents supports jugés intéressants dans l'étude précédente : le Silica gel et les microbilles de verre à cause de la possibilité d'imprégnation permettant de faire varier l'hydrophobicité. Nous avons utilisé des huiles naturelles telles que l'huile de pépins de raisin et l'huile d'olive pour simplifier la composition en TGs par rapport à la MGLA.

IV-2.3.1. Comparaison entre adsorbat et filtrat sur un support Silica gel

L'adsorption de la MGLA sur le Silica gel a été effectuée dans les mêmes conditions que précédemment, mais à 3 températures différentes : 45, 60 et 70°C. La quantité de MGLA restant adsorbée sur le Silica gel diminue quand la température augmente. Ceci peut être en partie dû à la diminution de la viscosité de l'huile.

Tableau IV-10 : Caractéristiques d'adsorption de la MGLA sur un support en Silica gel.
(coefficient de variation)

	45°C	60°C	70°C
viscosité (cp)	42,36 (0,02)	26,58 (0,02)	16 (0,02)
MGLA initiale (g)	9,50	9,50	9,50
MGLA récupérée (g)	4,70 (0,02)	4,85 (0,02)	5,00 (0,02)
MGLA adsorbée (g)	4,90 (0,02)	4,65 (0,02)	4,50 (0,02)
capacité de variation totale (%)	933,80 (0,05)	837,20 (0,05)	677,00 (0,05)
capacité d'adsorption (%)	37,50 (0,05)	33,20 (0,05)	28,30 (0,05)
capacité de passage (%)	62,50 (0,05)	66,80 (0,05)	71,70 (0,05)

La quantité de MGLA adsorbée et la capacité de rétention diminuent en fonction de la température (voir tableau (IV-10)). Le point de coupure aux trois températures est le même : pic 18 (NP = 40; PM = 724; TGs mono-insaturés). De plus, on observe une complémentarité parfaite entre le filtrat et adsorbat.

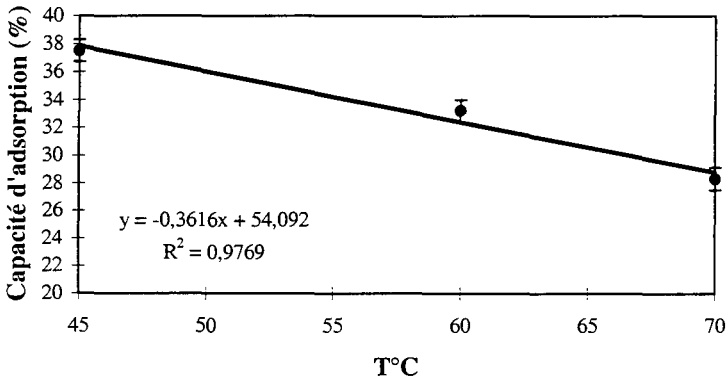


Figure IV-25 Capacité d'adsorption des TGs sur Silica gel en fonction de la température.

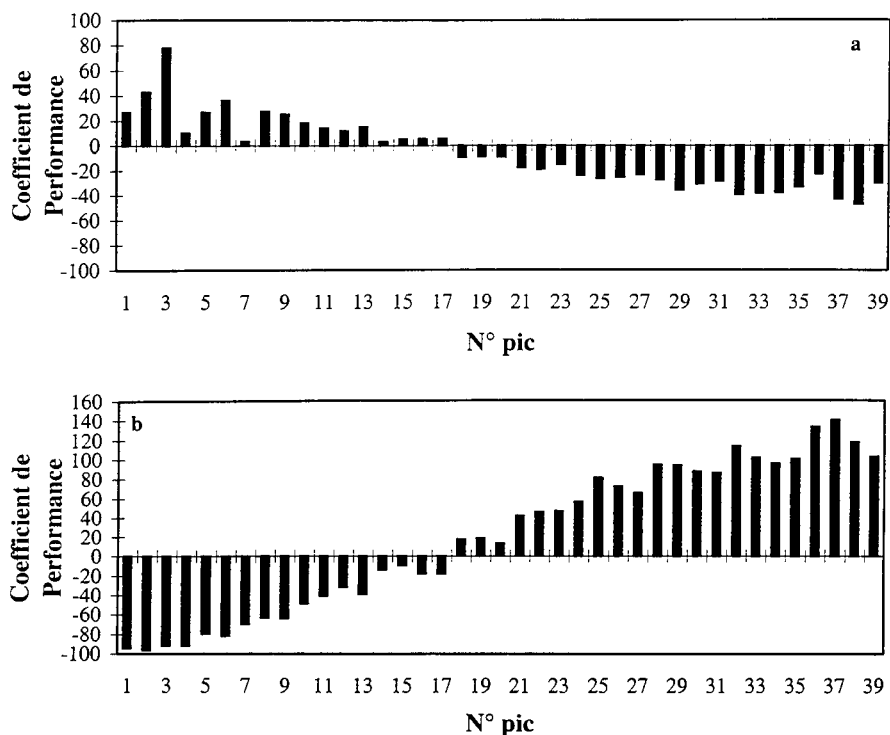


Figure IV-26 Coefficient de performance sur Silica gel à 45°C. a) MGLA adsorbée/ initiale; b) éluat/ initiale en fonction du N° du pic.

IV-2.3.2. Comparaison entre adsorbat et filtrat sur un support en microbilles de verre nues

L'évolution du coefficient de performance de la MGLA adsorbée par rapport à l'initiale est également étudiée en fonction de la température. En effet, on a vu précédemment qu'à la température de 45°C, les petits TGs NP < 40 sont favorisés, par conjonction de l'effet stérique et d'une meilleure aptitude énergétique à la conformation "trident". A 60°C, ce sont encore les petits TGs qui sont favorisés, mais à 70°C, il y a destruction apparente de la couche d'interaction et de la structuration de la MGLA qui semble perdre toute organisation interne dans la phase liquide. La meilleure température pour l'étude de l'adsorption de la MGLA sur une couche des microbilles de verre est donc de 45°C, où la quantité de MGLA retenue sur le support est la plus grande, la capacité de rétention du matériau étant maximale.

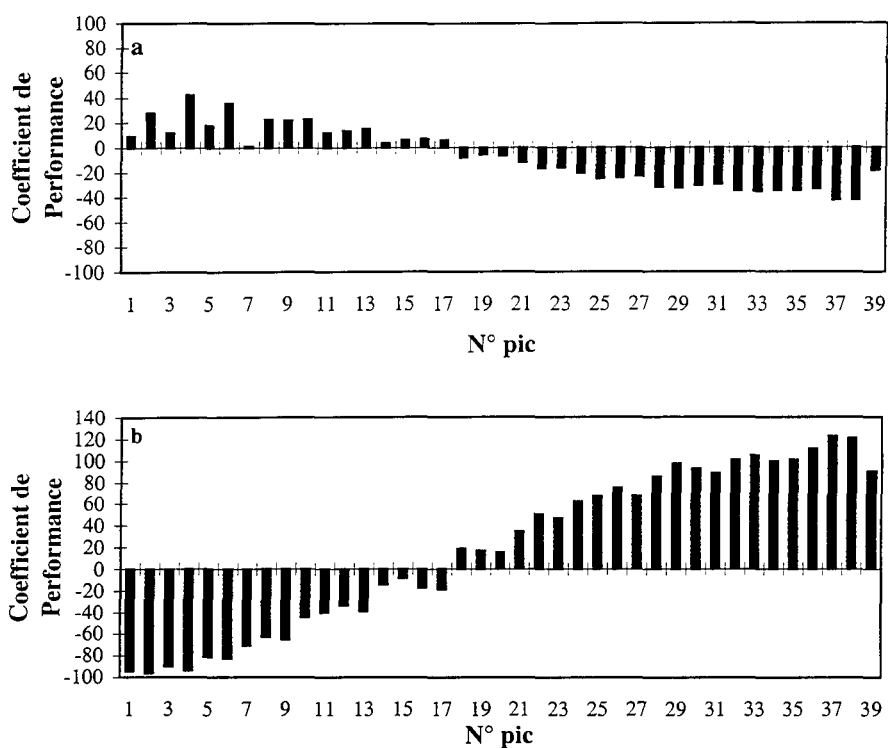


Figure IV-27 Coefficient de performance sur Silica gel à 60°C a) MGLA adsorbée/initiale; b) éluat/initiale en fonction du N° du pic.

Tableau IV-11 Caractéristiques d'adsorption de la MGLA sur microbilles de verre (150-212 μm). (coefficient de variation)

	45°C	60°C	70°C
viscosité (cp)	42,36 (0,02)	26,58 (0,02)	16,00 (0,02)
MGLA initiale (g)	4,50	4,50	4,50
MGLA récupérée (g)	4,15 (0,02)	4,20 (0,02)	4,25 (0,02)
MGLA adsorbée (g)	0,350 (0,02)	0,300 (0,02)	0,250 (0,02)
capacité de variation totale (%)	329,00	248,00	221,00
capacité d'adsorption (%)	34,50 (0,07)	21,60 (0,07)	17,70 (0,04)
capacité de passage (%)	65,50 (0,07)	78,4,80 (0,07)	82,30 (0,07)

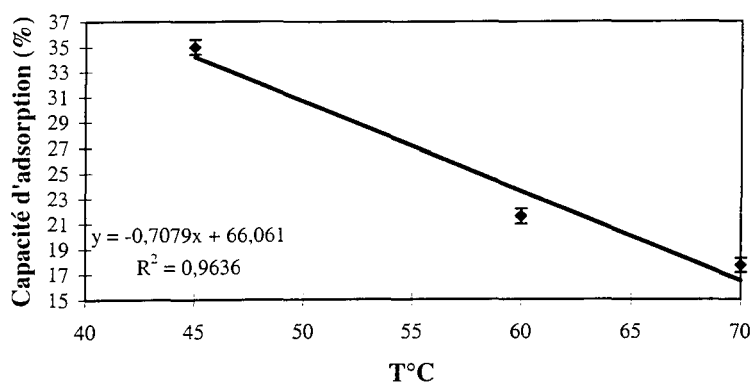


Figure IV-28 Capacité d'adsorption des TGs sur microbilles de verre (150-212μm) en fonction de la température.

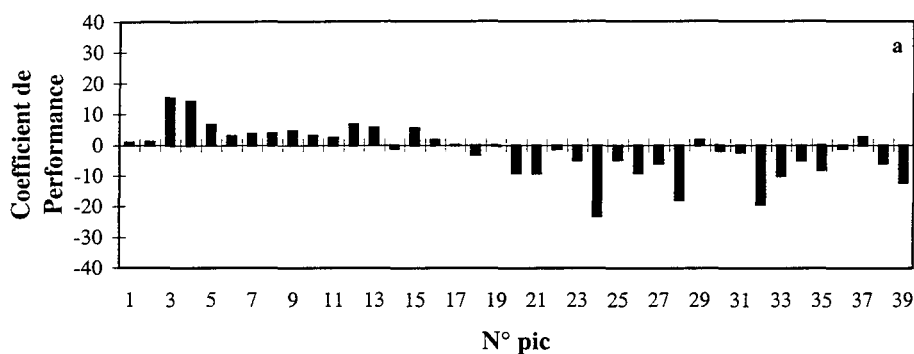


Figure IV-29 Coefficient de performance des TGs (adsorbé/ initial) sur microbilles de verre (150-212 μm) à 45°C en fonction du N° du pic.

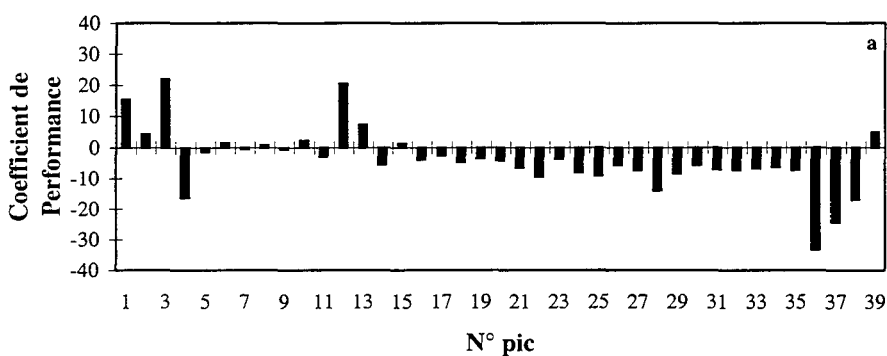


Figure IV-30 Coefficient de performance des TGs sur microbilles de verre (150-212μm) à 60°C a) MGLA adsorbée/ initiale en fonction du N° du pic.

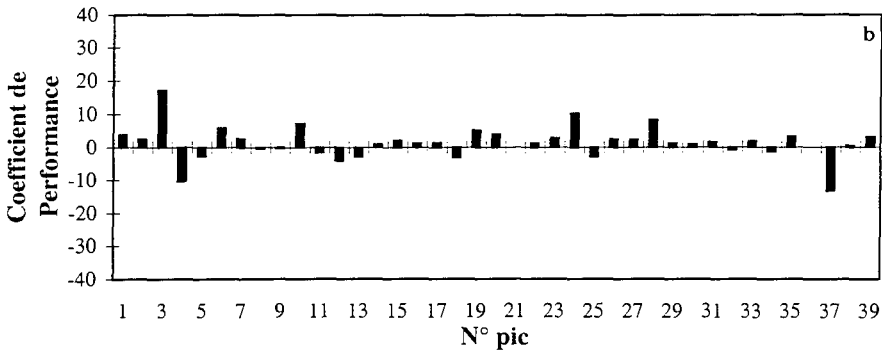


Figure IV-31 Coefficient de performance des TGs sur microbilles de verre (150-212 μ m) à 60°C b) MGLA éluat/initiale en fonction du N° du pic.

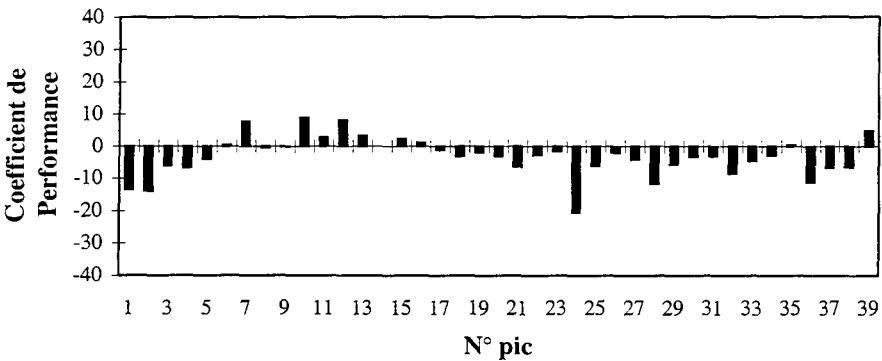


Figure IV-32 Coefficient de performance des TGs adsorbés sur microbilles de verre (150-212 μ m), à 70°C (MGLA adsorbée/ initiale) en fonction du N° du pic.

IV-2.3.3. Adsorption de l'huile de pépins de raisin sur un support Silica gel (Kieselgel 40)

Nous avons choisi l'huile de pépins de raisin à cause de sa composition triglycéridique. En effet, cette huile est caractérisée par la présence des TGs hautement insaturés (1 à 7 doubles liaisons et absence de TGs saturés). La composition de l'huile de pépins de raisin est donnée dans le tableau (IV-12). On observe d'ailleurs une variation de la composition entre nos résultats et la littérature, probablement due à l'origine de l'huile.

Tableau IV-12 Composition triglycéridique de l'huile de pépins de raisins. (NP : équivalent carbon number; ND : nombre de double liaison; INP : indice de non polarité; HA : hydrophobicité apparente)

N° pics	Nom	% des TGs totaux (Rezanka <i>et al.</i> , 1991)	% des TGs totaux (expérimentaux)	NP	ND	INP	HA
1	LLLn	-	0,16	40	7	166,00	20,75
2	LLL	32,60	35,40	42	6	166,82	23,83
3	OLL	19,10	28,90	44	5	167,20	27,87
4	SLL + PLL	17,60	18,40	46, 44	4	167,58	33,52
5	OOO	6,90	3,70	48	3	168,00	42,00
	POL	15,50	-	46	3		
	OOL	3,4	-	46	4		
	POO	1,40	-	48	2		
6	SOL	-	11,60	48	3	168,00	42,00
7	PSO	-	1,00	50	1	158,00	79,00
	SOO	-	0,16	50	2		
	SSL	1,90	-	50	2		

Cette huile étant majoritairement composée des acides gras de la série C18, il est particulièrement intéressant de relier l'adsorption à l'insaturation, toutes choses égales par ailleurs. On observe une adsorption sélective des TGs à grand nombre de doubles liaisons (7, 6, 5) et passage des TGs à faible insaturation (4, 3, 1). Le point de coupure est à 5 ND. Il existe une complémentarité parfaite entre les profils de TGs adsorbé / initial, et éluat / initial. Mais il faut noter que l'éluat semble varier davantage en valeur absolue.

C'est l'effet polaire qui joue un rôle primordial dans l'adsorption des TGs de l'huile de pépins de raisin. Les TGs les plus insaturés sont les plus hydrophiles : ils s'adsorbent préférentiellement. Par contre, les TGs moins insaturés sont moins hydrophiles : à partir de HA = 33, on constate le passage à travers le support. L'évolution de l'hydrophobicité apparente pour la composition des TGs de l'huile des pépins de raisin suit une loi logarithmique (voir ci-dessous).

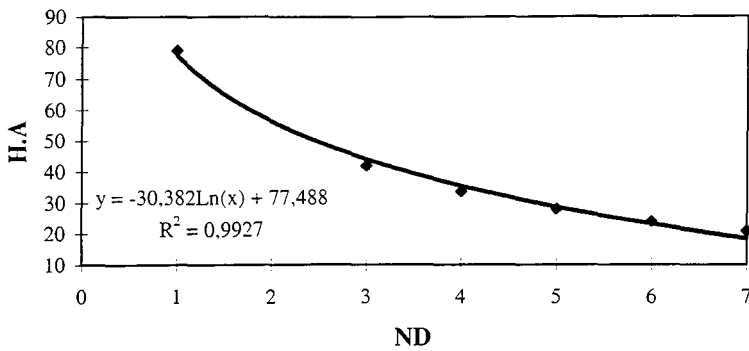


Figure IV-33 Evolution de HA en fonction de nombre de double liaisons (ND)

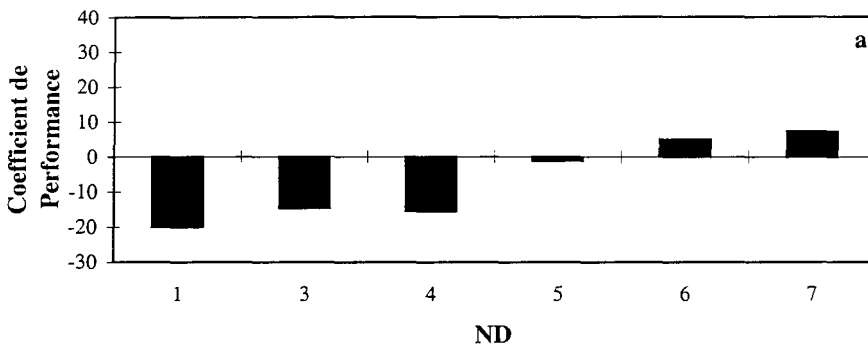


Figure IV-34 Coefficient de performance des TGs de l'huile de pépins de raisin sur Silica gel à 45°C (TGs adsorbé/ initial) en fonction de nombre de double liaisons (ND).

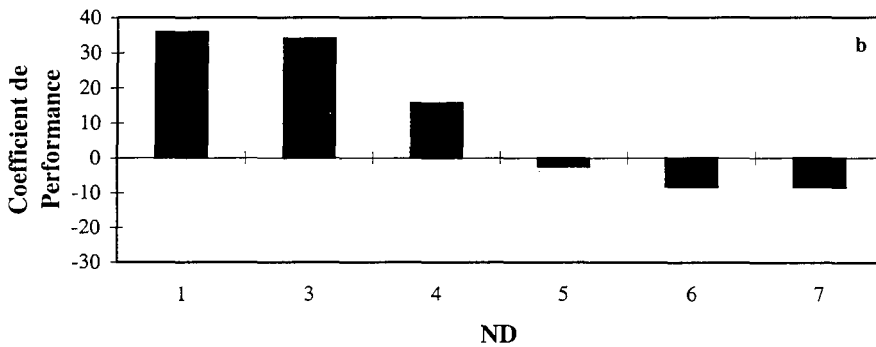


Figure IV-35 coefficient de performance des TGs de l'huile de pépins de raisin sur Silica gel à 45°C. (éluat / initial) en fonction de nombre de double liaisons (ND).

IV-2.3.4. Profils des TGs de l'huile de pépins raisin sur microbilles de verre nues (150-212 μm)

L'huile de pépins de raisin donne les mêmes résultats que sur le support en Silica gel : adsorption sélective des TGs à grand nombre de doubles liaisons (7, 6, 5) et passage des TGs à faible insaturation (4, 3, 1). Le point de coupure correspond aux TGs à 5 ND.

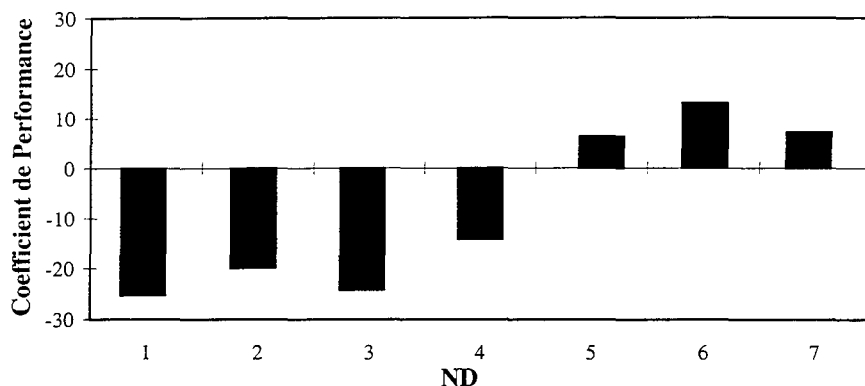


Figure IV-36 Coefficient de performance des TGs de l'huile de pépins de raisin sur microbilles de verre à 45°C (adsorbé/initial) en fonction de nombre de double liaisons (ND).

L'effet de la température sur l'adsorption des TGs de l'huile de pépins de raisin sur microbilles de verre donne un résultat remarquable : en effet, on observe une différence dans la quantité adsorbée et transmise. En diminuant la température; on a une meilleure adsorption en fonction de NP, ce qui est homogène avec les résultats précédents. Plus on augmente la température, moins la différenciation est nette. En revanche, fait inattendu, la température n'influence pas le point de coupure de comportement qui reste calé à 5 ND.

Les interactions qui conduisent à l'adsorption sont thermo-labiles. Comme presque tous les TGs sont composés d'acides gras longs (C18), les masses sont voisines, donc seul l'effet de l'insaturation intervient sur l'hydrophobicité par :

- le nombre de doubles liaisons : sur un support hydrophile, l'adsorption croît avec l'insaturation. Au-dessous d'une HA de 33,50, il y a rétention, au-dessus de cette HA, passage. Donc la HA est pertinente pour expliquer ce phénomène.
- Effet stérique : le volume des molécules de TGs augmente avec le NP. Plus un TG est long, plus son rayon de gyration est élevé.

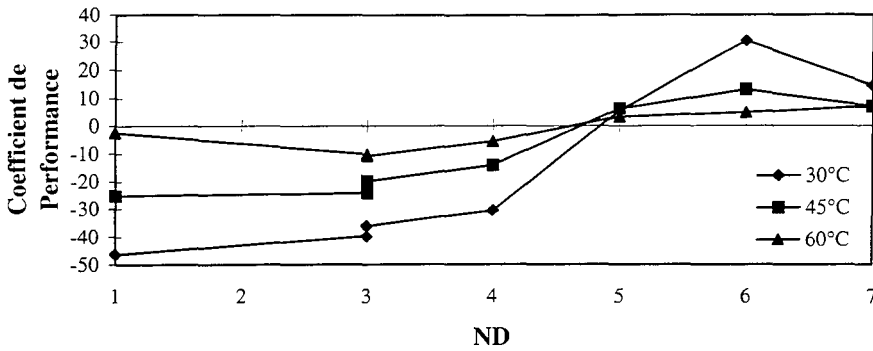


Figure IV-37 Coefficients de performance des TGs de l'huile de pépins de raisin en fonction du nombre de doubles liaisons (ND) à différentes températures.

L'interaction hydrophile / hydrophobe sur un support hydrophile est maximale quand la molécule est plus insaturée et que son volume est plus faible (moins stable). L'interaction apparaît nulle (point de coupure avec l'axe, coefficient de performance. = 0) pour le TG : OLL, dont le volume est minimal. (voir tableau IV-13)

Tableau IV-13 Caractéristiques des TGs de l'huile de pépins de raisins. (ND : nombre de doubles liaisons; INP : indice de non polarité, énergie totale de molécules des TGs isolées dans le vide (kcal:mole))

N° pics	Nom	NP	ND	volume (kA ^{o3})	énergie totale (kcal/mol)
1	LLLn	40	7	46,80	46,40
2	LLL	42	6	59,80	44,40
3	OLL	44	5	57,31 et 43,80	45,80
4	SLL + PLL	46, 44	4	56,50	43,90
5	OOO	48	3	48,94	43,60
6	SOL	48	3	74,60	42,60
7	PSO	50	1	76,63	41,60

Tableau IV-14 : caractéristiques d'adsorption de l'huile de pépins de raisin sur microbilles de verre. (*coefficient de variation*)

Température	30°C	45°C	60°C
quantité initiale (g)	8,60	8,60	8,60
quantité récupérée	7,98 (0,02)	8,18 (0,02)	8,30 (0,02)
quantité adsorbée	0,613 (0,02)	0,420 (0,02)	0,300 (0,02)
capacité de variation totale (%)	203,21	109,90	44,50
capacité d'adsorption (%)	24,80 (0,04)	24,00 (0,03)	34,80 (0,04)
capacité de passage (%)	75,20	76,00	65,20

IV-2.3.5. Profil des TGs de l'huile d'olive sur Silica gel (Kieselgel 40)

L'huile d'olive a été choisie comme deuxième huile de référence pour conforter les résultats obtenus avec l'huile de pépins de raisin. En effet, cette huile est caractérisée par la présence de TGs hautement insaturés, mais également de TGs mixtes contenant les acides palmitique et stéarique. Le nombre de doubles liaisons dans les molécules varie de 1 à 5 et ce sont de grosses molécules : NP > 44. La composition de l'huile d'olive est donnée dans le tableau suivant (même remarque que pour l'huile de pépins de raisin).

L'adsorption des TGs de l'huile d'olive est également sélective : rétention des TGs à faible HA et passage des TGs à grande HA. Le point de coupure est observé pour une HA de 52,40. Il y a toutefois une exception : POL qui passe à travers le support. L'hydrophobicité apparente (HA) prend en considération le poids moléculaire, le nombre de groupes carboxyliques et le nombre de doubles liaisons. De plus, la présence d'un acide gras saturé dans la molécule suffit à entraîner le passage à travers le support. Il existe une complémentarité parfaite entre les profils TGs adsorbé / initiale et éluat / initiale, avec encore une fois la même remarque sur les valeurs absolues.

L'effet hydrophile joue un rôle primordial dans l'adsorption : les molécules longues et insaturées, plus hydrophiles, sont adsorbées. Par contre, les TGs moins insaturés, ou contenant des acides gras saturés sont moins hydrophiles ($52,40 < HA$), et traversent le support. L'évolution de l'hydrophobicité apparente pour les TGs de l'huile d'olive est plus compliquée que pour ceux de l'huile de pépins de raisin, car le volume hydrocarboné joue un rôle important.

Tableau IV–15 Composition des TGs de l'huile d'olive. (NP : equivalent carbon number; ND : nombre de double liaison; INP : indice de non polarité; HA : hydrophobicité apparente)

N° pics	Nom	% des TGs totaux (Rezanka <i>et al.</i> , 1987)	% des TGs totaux (expérimentaux)	NP	ND	INP	HA
1	OLL	3,70	0,58	44	5	167,20	27,87
2	OOLn	2,80	0,53	44	5	167,20	27,87
3	OOL	-	11,30	46	4	167,60	33,52
4	POL	8,20	3,04	46	3	156,90	39,23
5	OOO	31,60	48,36	48	3	168,00	42,00
6	POO	20,10	29,00	48	2	157,30	52,43
7	PPO	4,20	1,20	48	1	147,00	73,50
8	SOO	4,90	4,02	50	2	168,30	56,10
9	PSO	1,30	0,36	50	1	157,70	78,85

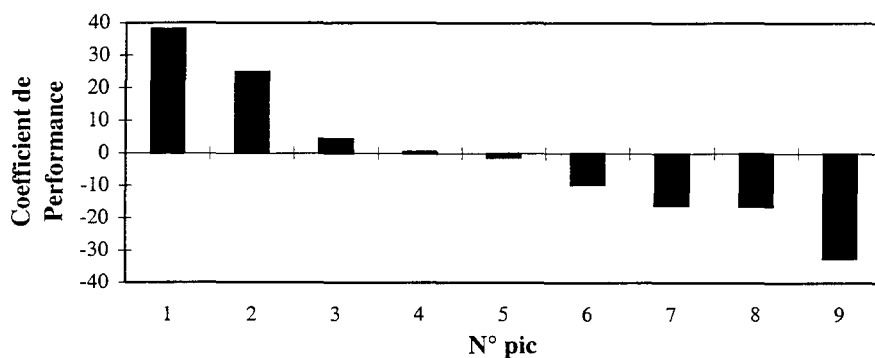


Figure IV-38 Coefficient de performance des TGs de l'huile d'olive adsorbés sur Silica gel à 45°C (TGs adsorbé / initial) en fonction du N° du pic.

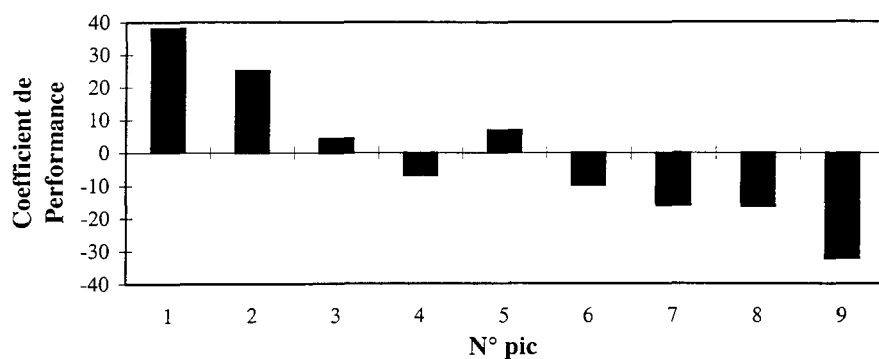


Figure IV-39 Coefficient de performance des TGs de l'huile d'olive adsorbés sur Silica gel à 60°C (TGs adsorbé / initial) en fonction du N° du pic

IV-2.3.6. Profil des TGs de l'huile d'olive sur microbilles de verre (150-212 μ m) nues

L'huile d'olive, percolée sur un support en microbilles de verre donne des résultats inattendus : à différentes températures, tous les TGs passent à travers le support et seul OOO est adsorbé. Ceci peut être dû à la forte concentration de ce TGs (48%) : il servirait de "phase mobile" pour les autres TGs. Il est en effet possible que OOO, compte tenu de sa concentration, occupe la majeure partie de la surface des microbilles, rejetant les autres par exclusion. Toutefois, les deux supports (Silica gel et verre) sont hydrophiles, et normalement les résultats obtenus devraient être comparables, comme c'est le cas pour l'huile de pépins de raisin.

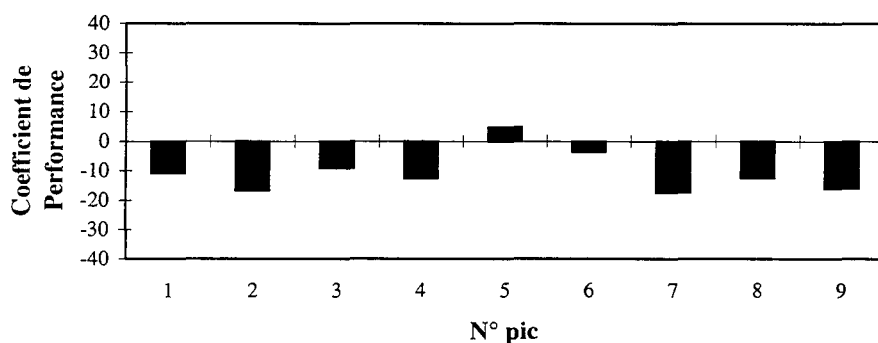


Figure IV-40 Coefficient de performance des TGs de l'huile d'olive sur microbilles de verre à 45°C (TGs adsorbé / initial) en fonction du N° du pic.

IV-2.4. Influence de la composition triglycéridique en percolation sur divers supports hydrophiles.

La complexité de la MGLA nous a conduit à utiliser un mélange de TGs standards : une large gamme de TGs standards saturés (CoCoCo, CyCyCy, CCC, LaLaLa, MMM, PPP) et deux TGs standards insaturés (OOO, LLL). Le mélange est percolé sur différents types de supports (Silica gel (Kieselgel 40), Oxyde d'aluminium, microbilles de verre nues).

Les caractéristiques du mélange de TGs standards sont données dans le tableau IV-16.

Tableau IV-16 Composition et caractéristiques du mélange de TGs standards

N° pics	TGs	%	NP	PM	INP	HA	Volume (KA ^{o3})	Energie (kcal/mol)
1	CoCoCo	7,80	18	386	27,00	27,00	5,13	14,10
2	CyCyCy	7,90	24	470	42,30	42,30	10,40	21,62
3	CCC	9,80	30	554	60,90	61,00	18,40	25,63
4	LaLaLa	11,60	36	638	83,00	83,00	29,95	29,76
5	LLL	15,40	42	878	167,00	23,86	59,80	44,40
6	MMM	15,00	42	722	108,30	108,30	46,10	34,00
7	OOO	20,60	48	884	168,00	42,00	49,45	43,60
8	PPP	11,20	48	806	137,00	137,00	67,20	38,00

Avec les matières grasses naturelles complexes (MGLA le mélange d'huile), les supports en Silica gel (Kieselgel 40) et oxyde d'aluminium (Al₂O₃) adsorbent les petites molécules et laissent passer les grosses. Pour une huile à base des TGs insaturés (huile de pépins de raisin), l'adsorption sur les supports s'effectue en fonction de HA. Dans le cas d'un mélange de TGs standards, nous observons le même phénomène sur les deux supports hydrophiles (Silica gel et oxyde d'aluminium).

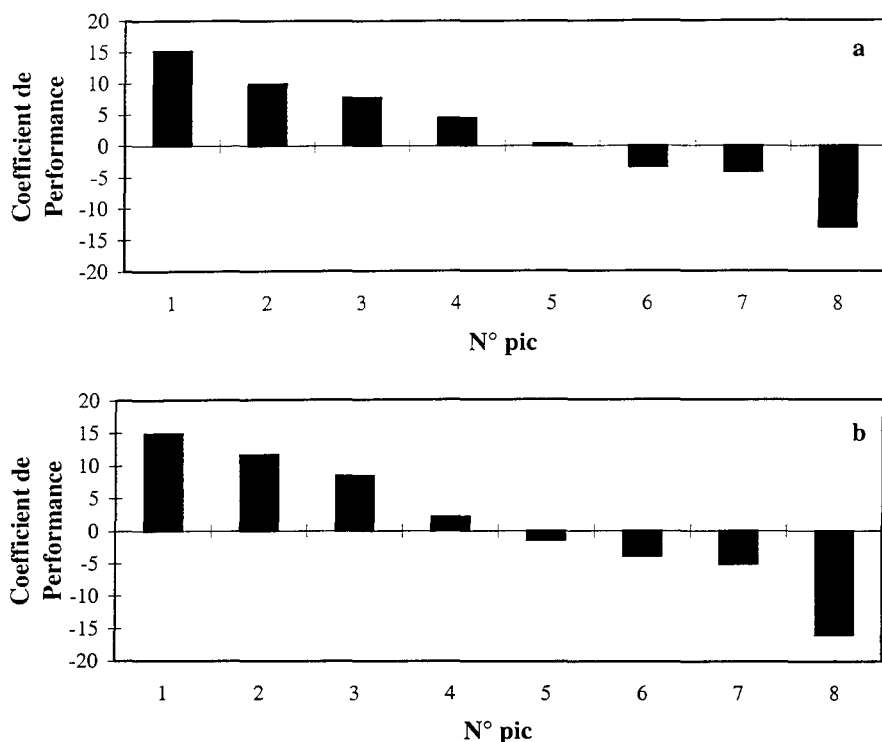


Figure IV-41 Coefficients de performance (adsorbés/initial) du mélange TGs standards sur deux différents supports à 70°C en fonction du N° du pic. a) Silica gel (Kieselgel 40); b) Oxyde d'aluminium

Sur Silica gel, on observe l'adsorption de 4 pics : CoCoCo, CyCyCy, CCC et LaLaLa. LLL ne varie pas par rapport au mélange initial. Les TGs qui traversent le support sont MMM (pic 6), OOO (pic 7) et PPP (pic 8). En comparant ces résultats avec ceux de l'huile de pépins de raisin sur Silica gel, on note que les HA n'expliquent pas l'adsorption des TGs dans un tel mélange (très particuliers) de TGs homogènes : les éléments discriminants semble être la taille,

traduite par le NP ($18 < NP < 42$), le poids moléculaire (taille brute) et l'INP (hydrophobicité). Le seuil de coupure est $NP = 42$, à partir duquel, il y a passage des gros TGs.

Les mêmes résultats sont observés sur le support d'oxyde d'aluminium, et peuvent s'expliquer par la faible hydrophobicité des petites molécules et les effets stériques dus à la présence des longues chaînes hydrocarbonées et insaturées.

On peut interpréter ces résultats en termes de chromatographie en phase normale : un support à caractère polaire retenant les molécules les moins apolaires. Nous ne sommes pas en présence d'un phénomène de tamisage moléculaire, mais plutôt devant une interaction liée aux paramètres NP, PM et INP. Par ailleurs, on peut noter dans cet essai, la faiblesse relative des facteurs de variation ($\pm 15\%$ entre retenus / traversant) en comparaison avec les divergences obtenues sur des mélanges complexes de TGs. L'adsorption des TGs standards sur des microbilles de verre nues est caractérisée par la rétention des pics : 1, 2, 3, 4, et 5. Les indices INP et HA n'explique pas bien ce phénomène : le TG "LLL" présente un INP de 167,00 et une HA de 23,86. Or il est retenu.

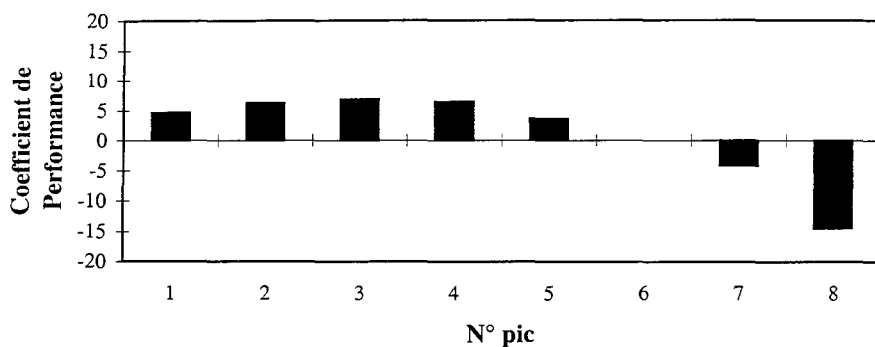


Figure IV-42 Coefficient de Performance des TGs standards sur des microbilles de verre (adsorbé / initial) en fonction du N° du pic.

Il est important de noter que le mélange de TGs purs est très difficile à réaliser : en effet, malgré la similitude moléculaire ces mélanges présentent rarement des comportements simples ou idéaux (Gibon *et al.*, 1986). Quand la différence de longueur entre chaînes n'est que de 2 carbones, il y a séparation de phase dans l'état solide (présence d'une état eutectique) ; quand cette différence s'accroît, l'incompatibilité augmente et s'étend à l'état liquide. Or, il faut avoir une bonne compatibilité pour obtenir des mélanges simples et stables. La compatibilité des TGs insaturés dans les TGs saturés augmente avec leur insaturation. Plusieurs tentatives ont été proposées pour tenter de modéliser le comportement complexe des mélanges naturels mais la bonne technique de mélange n'a pas encore été trouvée (Wesdorp, 1990; Lavigne, 1995).

V- Interprétation : modèle de calcul de l'hydrophobicité

La MGLA est un des corps gras naturels les plus complexes. Elle est caractérisée par une grande diversité des TGs :

- des TGs saturés avec une augmentation régulière du nombre de groupements méthylènes.
- des TGs possédant le même nombre total de carbone mais une insaturation différente. Ce sont des composés de même volume hydrocarboné mais de polarité différente.
- des TGs possédant le même nombre total de carbone et de doubles liaisons, mais réparties différemment sur la molécule.
- des conformations particulières liées aux isomères de position.

Nous nous intéresserons dans cette partie aux TGs possédant des polarités différentes, dans le but de mieux comprendre la rétention. Nous développerons plusieurs méthodes pour relier la polarité, le poids moléculaire et le volume hydrocarboné à l'adsorption préférentielle des TGs sur les supports. A cause de la complexité triglycéridique, il est impossible d'interpréter le caractère hydrophobe par un calcul simple et universel, comme c'est le cas pour les tensioactifs avec la HLB. Nous avons donc pris en compte successivement un certain nombre de modèles possibles de calcul en tenant compte des différents paramètres : longueur des chaînes, insaturation, PM,...

V-1. Calcul de la HLB

Griffin en 1949 a développé une équation simple permettant le calcul de la balance hydrophile-lipophile (HLB) pour certains types des surfactants non-ioniques, et spécialement, l'alcool ethoxylates $R (CH_2CH_2O)_x OH$ et les esters d'acides gras polyhydriques. La HLB peut être calculée par la formule :

$$HLB = 20 \left(1 - \frac{S}{A}\right)$$

S est l'indice de saponification et A l'indice d'acidité.

Une autre méthode de calcul de la HLB est connue pour des produits non ioniques et calculée approximativement grâce à la formule :

$$HLB = 20 \times \frac{\text{masse moléculaire de la partie hydrophile}}{\text{masse moléculaire totale}}$$

Nous utiliserons la première équation pour le calcul de la HLB. L'indice de saponification et l'indice d'acidité sont calculés théoriquement en fonction du poids moléculaire du TG et des poids moléculaires des acides gras présents. Le poids moléculaire attaché à un pic dans le chromatogramme HPLC est assimilé à la moyenne pondérale de tous les TGs pouvant être présents dans ce pic. Les valeurs de HLB varient entre 1,5 et 0,8. Selon la définition de la HLB, nous sommes en face de molécules très hydrophobes et insolubles dans l'eau. En plus, même si la différence entre TGs est très faible, nous pouvons déjà noter dans la répartition sur le chromatogramme de la présence d'une sorte de quartet. La HLB augmente en fonction du N° pic pour chaque groupe du quartet (figure V-1, V-II). Ces quartets sont observés à partir du pic 8. La HLB diminue avec l'augmentation du poids moléculaire, ce qui peut être dû à la diminution de l'indice d'acidité (A) avec le PM des AGs. La variation de la HLB étant très faible, nous n'utiliserons pas cette méthode pour expliquer et interpréter les différents résultats de partition de MGLA sur les supports, car elle est trop peu discriminante.

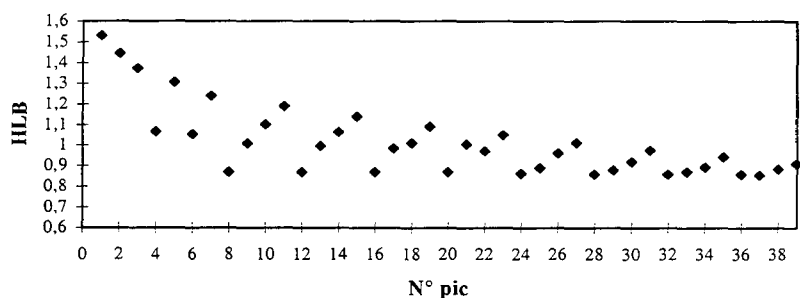


Figure V-1 Balance hydrophile-lipophile (HLB) des TGs de la MGLA en fonction de leur ordre de sortie en HPLC

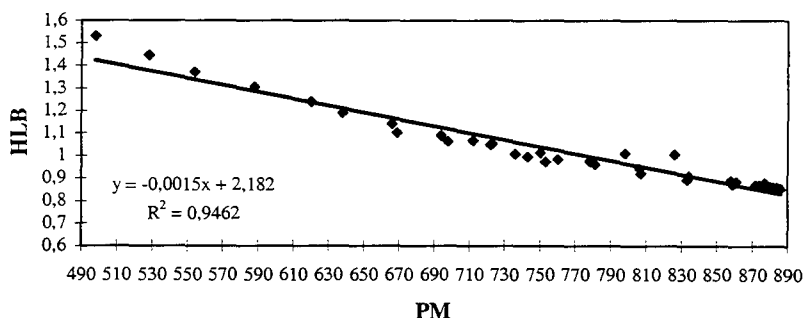


Figure V-2 Balance hydrophile-lipophile (HLB) des TGs de la MGLA en fonction du poids moléculaire (PM)

V-2. Calcul de rapport PM/NP

Pendant toute l'étude, nous avons noté le rôle important du nombre de partition (NP) mais aussi du poids moléculaire des TGs sur la partition. Le but de ce calcul est de montrer le rôle joué par la taille de la molécule (PM) mais aussi le nombre de carbones et de doubles liaisons présentes dans les molécules. Le calcul du rapport entre PM et NP donne des résultats inverses de ceux obtenus avec la HLB, montrant que les deux modes de calcul concernent des paramètres opposées. Le même phénomène de quartet est observé pour PM/NP en fonction du numéro de pic (figure V-3). En traçant le rapport PM/NP en fonction du PM et en fonction de NP (figure V-4), on obtient des lignes droites liées au degré d'insaturation. Le rapport PM/NP ne sera pas utilisé par la suite parce que le rôle des doubles liaisons et du PM ne sont pas assez mis en exergue (figure V-5). En effet, il n'y a pas de grosses différences entre les TGs de même taille et comportant un nombre différents de doubles liaisons.

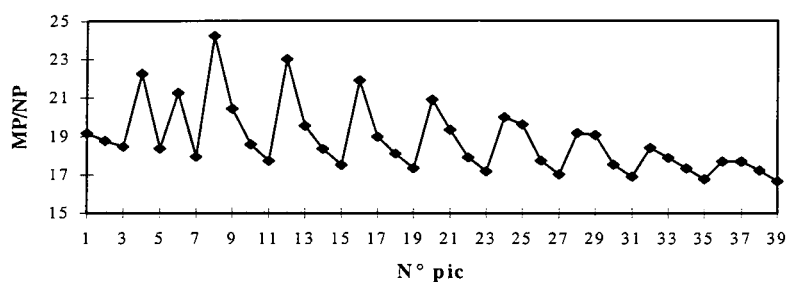


Figure V-3 Rapport poids moléculaire / nombre de partition (PM/NP) des TGs de la MGLA en fonction du N° pic

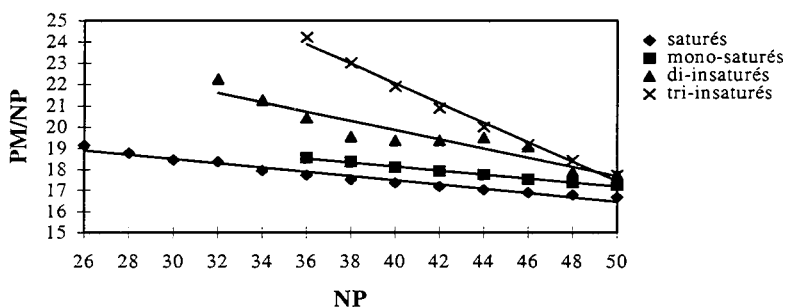


Figure V-4 Rapport poids moléculaire et nombre de partition (PM/NP) des TGs de la MGLA en fonction de NP (nombre de partition)

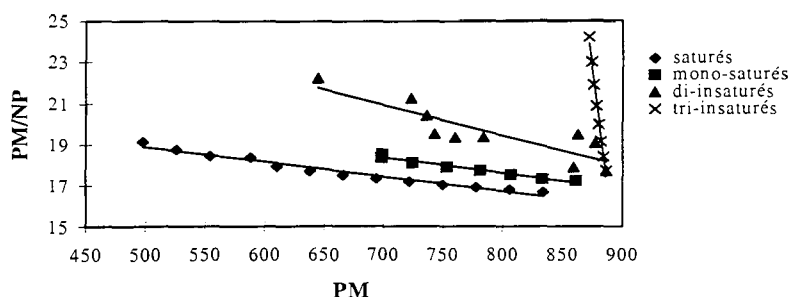


Figure V-5 Rapport poids moléculaire et nombre de partition (PM/NP) des TGs de la MGLA en fonction de PM (poids moléculaires)

Tableau V-1 Equations de régression de PM/NP des TGs de la MGLA en fonction de NP et PM (R^2 : coefficient de régression linéaire)

PM/NP en fonction de NP			PM/NP en fonction de PM		
TGs	Equation	R^2	TGs	Equation	R^2
saturés	$-0.0072 x + 22.513$	0,967	saturés	$-0.0072 x + 22.513$	0,967
mono-insaturés	$-0.0076 x + 23.671$	0,967	mono-insaturés	$-0.0076 x + 23.671$	0,967
di-insaturés	$-2.164 x + 28.511$	0,890	di-insaturés	$-0.0151 x + 31.530$	0,768
tri-insaturés	$-0.4613 x + 40.5$	0,991	tri-insaturés	$-0.4613 x + 426.10$	0,991

V-3. Poids moléculaire des TGs

Dans le premier travail sur ce sujet, Bornaz, 1994, a proposé un classement des TGs en quatre catégories : saturés, mono-, di- et tri-insaturés. Le poids moléculaire moyen pondéré est calculé pour chaque groupe de triglycérides, et le rendement de la filtration est relié au poids moléculaire. En filtration sur une membrane métallique, Bornaz *et al.*, 1995 ont observé la présence d'un seuil de coupure en fonction du poids moléculaire à partir duquel les TGs sont retenus. Ce poids moléculaire varie en fonction des catégories de TGs. Ces auteurs ont souligné que le seuil de coupure est d'autant plus grand que la molécule de TG est plus insaturée.

Il est très difficile d'utiliser le PM comme explication de la rétention des TGs sur nos supports. Premièrement, le PM calculé pour chaque pic est la moyenne des tous les TGs possibles dans ce pic, d'où la possibilité de variations en fonction de la distribution au hasard

d'un TGs et de son pourcentage dans un pic donné. Deuxièmement, l'évolution du PM avec le nombre de pics n'est pas uniformément croissant, il peut diminuer en fonction du nombre de carbones et de l'insaturation, présente spécialement pour les TGs di-insaturés. Mais en général, en filtration tangentielle, on observe une rétention des grosses molécules et le passage des petites. Le seuil d'inversion varie en fonction des catégories des TGs, ce qui est en accord avec les résultats de Bornaz *et al.*, 1995. En effet, le PM joue un rôle très important dans la rétention, mais ne l'explique pas. La taille des pores des supports et des membranes est très largement supérieure à la taille des TGs. Les résultats de rétention sont variant en fonction des caractéristiques de la membrane ou du support et les conditions opératoires peuvent influencer l'adsorption préférentielle de certaines molécules.

Il est plus simple et plus juste d'utiliser le NP, nombre de carbone NC du triglycéride diminué de deux fois le nombre de doubles liaisons (le glycérol n'est pas pris en compte). En effet, en considérant l'élution dans l'ordre croissant des NP, et en considérant le règle de Frede (1987), on obtient des quartets possédant le même NP, mais à différentes insaturations. Normalement, les TGs tri-insaturés sont élués en premier, suivis par les di-, puis les mono-, et enfin les saturés. On a donc la possibilité d'utiliser le NP pour mieux comprendre l'effet de rétention lié à l'insaturation.

Le poids moléculaire, la longueur des chaînes, et le degré d'insaturation semblent être les trois paramètres les plus importants dans l'adsorption et l'interaction avec le support.

V-4. Indice de non-polarité (INP)

L'indice de non-polarité a été mentionné pour la première fois en 1985 par Van der Waal, qui a utilisé ce terme pour classer les matières premières fluides utilisées pour la synthèse des esters selon leur polarité ou non-polarité. Ces bases compatibles avec l'huile minérale sont utilisées comme lubrifiant. L'indice de non-polarité est donné par l'équation suivante :

$$\text{INP} = \frac{\text{Nombre totale de C} \times \text{Poids moléculaire}}{\text{Nombre de groupes carboxyliques (COO)} \times 100}$$

Il est à noter que même s'il y a plusieurs autres méthodes pour déterminer les caractéristiques polaires, l'auteur considère celle-ci comme très simple et d'une grande utilité. L'indice de non-polarité (INP) va être utilisé ici, pour caractériser la polarité (non-polarité) des TGs de la MGLA dans le but de mieux comprendre leur adsorption préférentielle sur des supports de différentes polarités : silica gel, oxyde d'aluminium, oxyde de titane, microbilles

de verre nues où imprégnées avec une couche hydrophobe de silicone SE 30 et SE 52 à différentes concentrations.

V-4.1. INP en fonction de N° de pic

L'INP dépend non seulement de nombre total de carbone mais aussi du poids moléculaire des TGs. Nous utilisons le tableau (I-2) de la composition de la MGLA pour calculer le PM moyen pondéré. Le pic correspondant, selon la théorie de Frede et Thiele (1987), à un TGs tri-insaturé va être considéré comme si il était composé de TGs tri-insaturés même si en réalité, il est composé des TGs saturés contenant de l'acide butyrique et d'autre AGs courts, d'où la difficulté de ce calcul.

En traçant l'INP en fonction du N° de pic (figure V-6), on observe la présence de quartets comme ceux observés dans le chromatogramme de CLHP phase inverse de la MGLA (Frede et thiele, 1987), et ceci à partir du pic numéro 8. L'indice de non-polarité (INP) le plus élevé est celui des TGs tri-insaturés. Cet indice diminue en fonction du degré d'insaturation :
 $INP(\text{tri-insaturés}) > INP(\text{di-insaturés}) > INP(\text{mono-insaturés}) > INP(\text{saturés})$.

Selon Brauman, (1986), la chromatographie peut fournir des informations quantitatives sur l'hydrophobicité des molécules de solutés, en considérant la rétention comme un processus d'équilibre dynamique avec une constante d'équilibre K_R . Une relation entre $\log k'$ et $\log P_{oct}$ a été observée avec un coefficient de régression correct, en fonction de la phase mobile utilisée.

La variation de l'INP, considérée en fonction du N° de pic et du degré d'insaturation (tri-, di-, mono-insaturés et saturés) forme des lignes droites non parallèles.

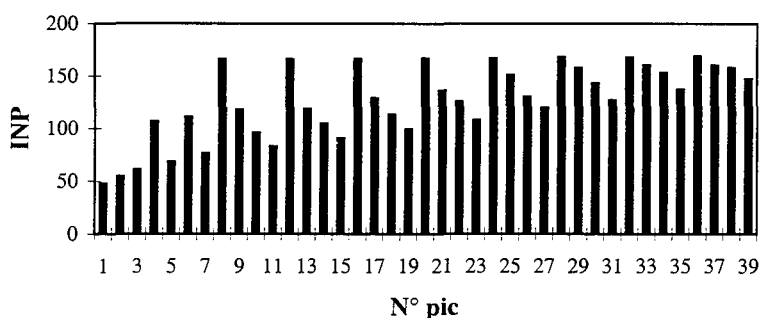


Figure V-6 Indice de non-polarité en fonction du N° pic du chromatogramme de CLHP.

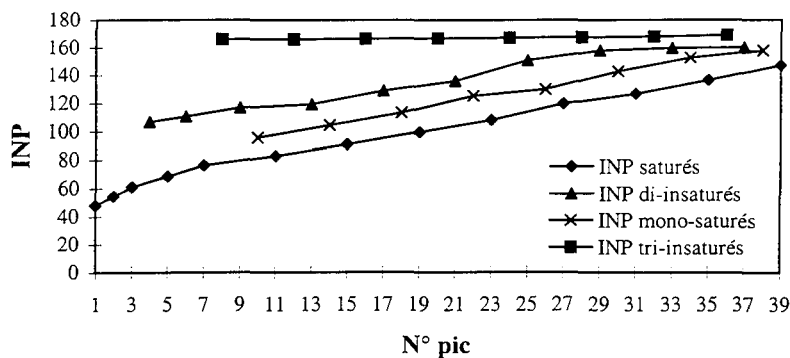


Figure V-7 Indice de non-polarité en fonction du N° pic du chromatogramme de CLHP.

V-4.2. INP en fonction de NP

L'étude de l'INP en fonction de nombre de partition (NP) et du degré d'insaturation (figure V-8) montre la formation de lignes droites ($R^2 > 0,90$). L'indice de non-polarité (INP) augmente pour chaque groupe de TGs en fonction de NP. Sauf pour les TGs tri-insaturés, pour lesquels l'INP reste quasiment constant en fonction de NP. Ceci signifie que l'indice de non-polarité est dépendant non seulement du poids moléculaire et du nombre de carbones total, mais aussi du nombre de doubles liaisons présentes : l'INP le plus élevé est celui des TGs tri-insaturés.

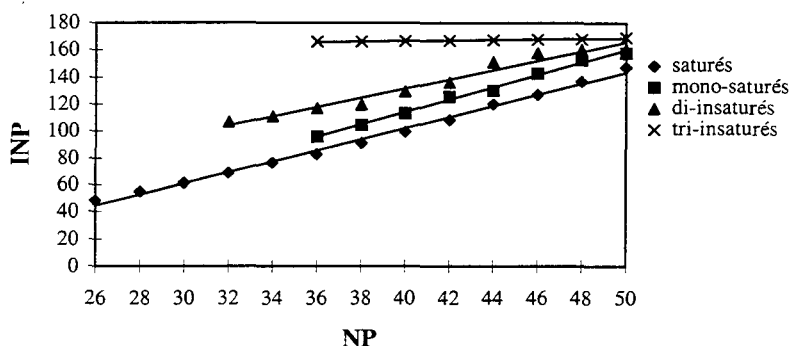


Figure V-8 Indice de non-polarité en fonction du NP (nombre de partition)

Tableau V-2 Equations de régression de l'INP des TGs de la MGLA en fonction de NP (R^2 coefficient de régression linéaire)

TGs	Equation	R^2
saturés	$4,1374 x - 63,23$	0,995
mono-insaturés	$4,580 x - 68,83$	0,994
di-insaturés	$3,423 x - 5,42$	0,960
tri-insaturés	$0,174 x + 159,6$	0,983

V-4.3. INP en fonction de PM

L'INP augmente linéairement avec le PM (figure V-9) et le nombre de carbonés. Les coefficients de régression (R^2) sont $> 0,99$.

L'INP en fonction du PM et du degré d'insaturation forme des lignes droites, mais quasiment superposées, pouvant être regroupées en une seule. Le coefficient de régression est $> 0,96$ (voir tableau V-3).

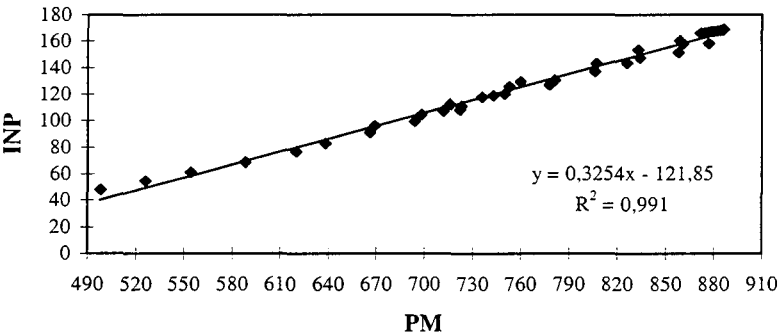


Figure V-9 Indice de non-polarité (INP) en fonction du poids moléculaire (PM)

Tableau V-3 Les équations de régression de l'INP des TGs de la MGLA en fonction de PM à différentes insaturations (R^2 coefficient de régression linéaire)

TGs	Equation	R^2
saturés	$0,298 x + 104,40$	0,993
mono-insaturés	$0,322 x + 118,78$	0,988
di-insaturés	$0,320 x + 118,42$	0,970
tri-insaturés	$0,174 x + 14,18$	0,978

V-4.4. INP en fonction de NC total

Une augmentation linéaire de l'INP est aussi observée en fonction du nombre total de carbones (NC) présents dans la molécule (Glycérol et AGs). (figure V-10)

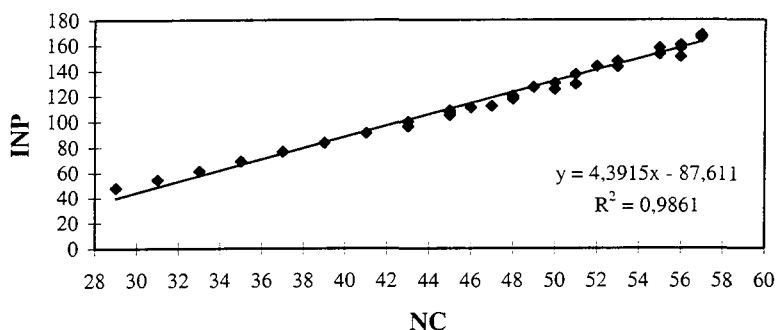


Figure V-10 Indice de non-polarité (INP) en fonction du nombre total de carbones (NC)

V-5. Hydrophobicité apparente (HA)

L'indice de non-polarité (INP) ne prend pas en considération la double liaison. Or, l'hydrophobicité d'une molécule est affectée par la présence de doubles liaisons susceptibles de donner naissance à des liaisons hydrogène et à la création d'interactions π - π .

L'objet du présent calcul est d'amplifier l'effet des accidents d'insaturation dans la quantification de l'hydrophobicité. Le calcul de l'hydrophobicité apparente a été élaboré en introduisant dans le calcul de l'INP, la prise en compte des doubles liaisons affectées d'une coefficient multiplicateur adéquat.

$$HA = \frac{\text{Nombre total de C} \times \text{Poids moléculaire}}{(\text{Nombre de groupes carboxyliques (COO)} + 3 \times \text{ND}) \times 100}$$

En calculant la HA pour les différents TGs présents dans la MGLA, on observe que les TGs saturés ont la HA la plus élevée et les tri-insaturés la moins élevée. Les TGs saturés sont les plus hydrophobes, en fonction de leur nombre de carbones. Quand la longueur des chaînes d'AGs augmente, l'hydrophobicité apparente augmente. Par contre quand le nombre des doubles liaisons augmente même si les chaînes sont assez longues, il y a diminution de l'hydrophobicité apparente.

En traçant la HA en fonction de N° pic (figure V-11), on observe l'inverse de ce que montrait l'INP, mais la présence des quartets persiste à partir du pic 8.

Une représentation sous forme de points (figure V-12) fait mieux apparaître les différences entre les groupes triglycéridiques. On note que ce sont surtout les TGs saturés qui sont les mieux discriminés, comme d'ailleurs dans le calcul de l'INP. Il est vrai que les TGs mono, di et tri-insaturés ne sont pas parfaitement différenciés, mais il a malgré tout été tenu compte du nombre de doubles liaisons qui jouent un rôle primordial dans les interactions.

En revanche, lorsqu'on représente la HA en fonction du PM (figure V-14) , la discrimination entre les familles de TGs apparaît nettement. Cependant, on observe un écrasement des TGs tri-insaturés en raison du très faible écart de PM (870-886) qui les caractérise.

Le calcul de la HA est un calcul qui exacerbe l'effet de l'insaturation et fait apparaître en fait deux groupes seulement : Les TGs saturés et les autres, présentant différents degrés d'insaturation. Ceci signifie que la présence d'une (ou plusieurs) double liaison suffit à donner un caractère moins apolaire à la molécule.

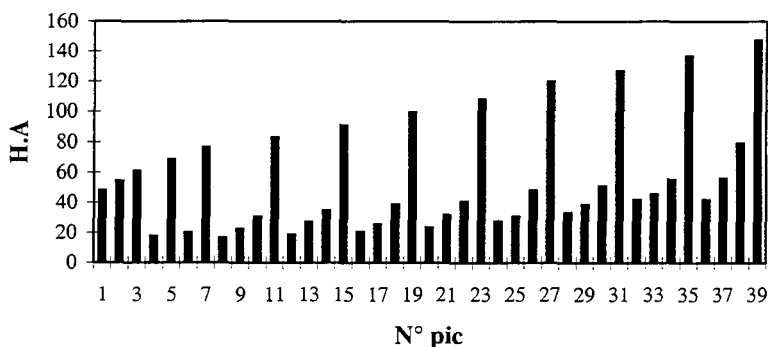


Figure V-11 Hydrophobicité apparente (HA) en fonction du N° du pic

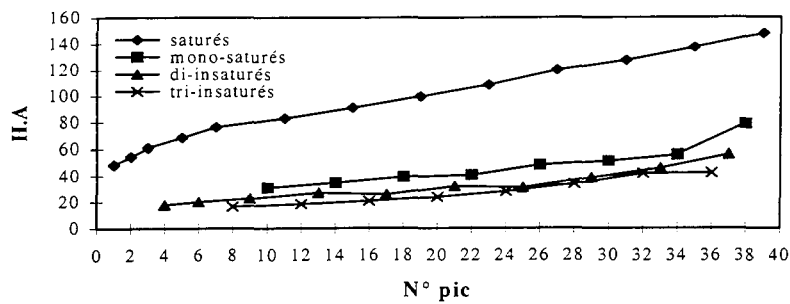


Figure V-12 Hydrophobicité apparente (HA) en fonction du N° du pic et du degré d'insaturation.

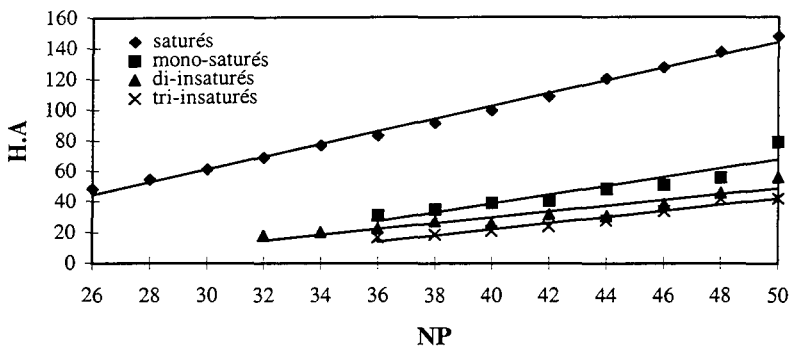


Figure V-13 Hydrophobicité apparente (HA) en fonction du NP (nombre de partition)

Tableau V-4 Equations de régression de la HA des TGs de la MGLA en fonction de NP (R^2 : coefficient de régression linéaire)

TGs	Equation	R^2
saturés	$4,14 x - 63,39$	0,995
mono-insaturés	$1,88 x - 45,50$	0,894
di-insaturés	$2,88 x - 76,391$	0,857
tri-insaturés	$2,01 x - 58,33$	0,957

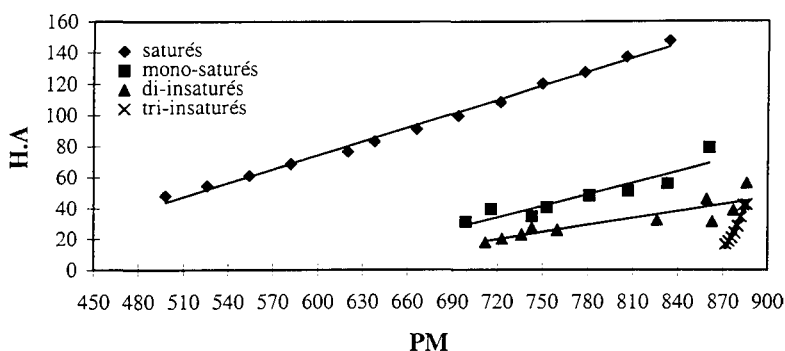


Figure V-14 Hydrophobicité apparente (HA) en fonction du Poids Moléculaire.

Tableau V-5 Equations de régression de la HA des TGs de la MGLA en fonction de PM (R^2 : coefficient de régression linéaire)

TGs	Equation	R^2
saturés	$0,298 x - 103,65$	0,994
mono-insaturés	$0,248 x - 144,72$	0,865
di-insaturés	$0,150 x - 87,88$	0,755
tri-insaturés	$2,01 x - 1739,3$	0,956

V-6. Prise en compte du volume des TGs

L'influence des effets stériques a été mise en évidence dans les essais par aspiration, en termes de favoriser, ou d'empêcher les interactions, donc l'adsorption ou non des molécules sur les supports. Nous avons cherché à quantifier cet effet stérique, par le calcul théorique du volume et de l'énergie minimale des molécules de TGs isolées dans le vide.

V-6.1. En fonction de NP

La géométrie des différentes molécules de TGs a été calculée grâce au logiciel HyperChem®, qui permet d'estimer leur volume et leur énergie minimale dans le vide (Tableaux V-6, V-7). Le processus d'optimisation informatique est assez long, en fonction de la longueur des chaînes hydrocarbonées et de la présence de double liaisons : ce temps d'optimisation peut varier pour un TG entre 30 minutes et deux heures.

Nous avons tout d'abord tracé l'évolution du volume de certains TGs caractérisés par leur NP en fonction du poids moléculaire (PM), du nombre de doubles liaisons (ND), de l'INP et de la HA. Les résultats sont présentés sous la forme des équations de régression dans les tableaux ci-dessous (tableaux V-8, V-9). Pour les TGs à différents NP (sauf TGs à NP = 50), nous observons une augmentation linéaire du volume (kA^3) des TGs en fonction de ND, PM, INP et une diminution linéaire en fonction de HA. L'énergie minimale (kcal/mol) des molécules de TGs isolées dans le vide augmente aussi en fonction de ND et PM (figure V-16). En effet, quand le nombre de doubles liaisons augmente, la molécule est moins stable. Cette énergie augmente aussi en fonction de la "polarité", en effet, quand la molécule est grande (PM) l'INP est grand et alors l'énergie minimale augmente. Mais si on prend la HA pour calculer l'hydrophobicité, on observe un phénomène inverse. L'énergie minimale des TGs diminue avec l'augmentation de HA. Ceci est logique puisque un TGs possédant un haut poids moléculaire et un nombre élevé de doubles liaisons à un INP grand mais sa HA diminue avec ND. Pour un TG saturé on a $\text{INP} = \text{HA}$. Les mêmes variations en série homogène, donc les mêmes phénomènes, sont observés pour des TGs à différents NP (38, 40, 42, 44, 46 et 48). En général, il existe une relation linéaire positive entre le volume et l'énergie minimale des TGs en fonction de PM, ND, INP. (Volume et énergie augmentent avec ces 3 paramètres). Inversement, ils diminuent linéairement avec HA. Il a été noté que la linéarité meilleure est pour l'énergie minimale que pour le volume des TGs, et que pour un NP donné, le volume des TGs tri-insaturés est significativement plus faible que celui des autres catégories de TGs. Ceci est dû au repliement sur elles-mêmes des chaînes des molécules contenant des doubles liaisons (voir figure V-17). Le repliement des chaînes des TGs est fonction des positions des acides gras sur le glycérol, certains isomères ayant des volumes moléculaires plus grands où plus petits en fonction de l'isomérisation. A NP = 50, on observe un phénomène inverse de tous les autres, quel que soit NP. En effet, le volume des TGs reste quasiment constant (à partir de 77 kA^3) en fonction de ND, PM ou INP. L'énergie minimale des TGs à NP 50 augmente légèrement de 39 à 42 kcal/mol en fonction de ND, PM et INP.

Tableau V-6 Caractéristiques de quelques TGs (PM. Poids moléculaire ; ND. nombre de doubles liaisons ; INP, indice de non-polarité ; HA. Hydrophobicité apparente ; volume ; énergie minimale)

NP 36						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kA ^{o3})	Energie (kcal/mol)
LaLaLa	638	0	83,00	83,00	29,95	29,76
CCP	638	0	63,00	83,00	29,96	29,50
CCO	664	1	86,32	86,32	33,20	31,82
CLaL	690	2	98,90	42,40	36,50	34,20
LaLaLn	716	3	107,40	35,80	38,50	37,20
CMLn	716	3	107,40	35,80	38,50	37,04
CyLL	742	4	116,25	31,70	38,30	37,70
LaLnLn	794	6	134,98	27,00	45,50	41,60
LnLnLn	872	9	165,65	23,70	43,90	47,10
NP 38						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kA ^{o3})	Energie (kcal/mol)
CLL	770	4	125,00	34,40	44,33	39,15
LaLaL	718	2	107,70	46,20	42,90	35,54
CMM	666	0	91,02	91,02	33,87	31,20
LLnLn	874	6	166,06	26,22	50,56	46,13
CCS	666	0	91,00	91,02	36,30	31,23
LaLaM	666	0	91,63	91,023	36,20	31,10
COLn	770	4	125,77	34,30	44,23	38,40
LaMLn	744	3	116,56	37,20	39,40	39,74
LaLLn	796	5	135,32	31,23	43,72	40,30
CPLn	744	3	116,56	37,20	39,20	38,40
CML	718	2	107,70	46,20	39,48	35,60
NP 40						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kA ^{o3})	Energie (kcal/mol)
CLaS	694	0	99,50	99,50	39,70	32,54
LaMM	694	0	99,50	99,50	39,70	32,50
LaML	746	2	116,56	48,00	45,80	36,82
MLnL	824	5	145,60	39,70	51,30	40,57
LaLL	798	4	135,70	37,00	50,00	40,43
OLnLn	876	6	166,44	29,40	43,90	45,30
MMLn	722	3	126,00	42,00	42,50	39,70
LaLaO	720	1	108,00	64,80	43,60	34,51
LLLn	876	7	166,44	29,40	46,80	46,40

Tableau V-7 Caractéristiques de quelques TGs (PM, Poids moléculaire ; ND, nombre de doubles liaisons ; INP, indice de non-polarité ; HA, Hydrophobicité apparente ; volume ; énergie minimale)

NP 42						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kÅ ³)	Energie (kcal/mol)
LaLaS	722	0	108,30	108,30	49,00	34,00
MLL	826	4	146,00	39,80	56,60	41,80
LaPl	774	2	126,42	54,20	51,00	39,35
PLLn	852	5	156,20	36,00	56,77	43,0
LaOL	800	3	136,00	45,30	53,77	38,90
OLLn	878	6	166,82	33,36	53,23	44,17
LLL	878	6	166,82	33,36	59,70	45,00
CPP	722	0	108,30	108,30	46,80	34,00
NP 44						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kÅ ³)	Energie (kcal/mol)
MMP	750	0	117,50	117,50	53,53	34,70
OOLn	776	1	126,70	63,40	55,90	40,50
MPL	802	2	136,35	45,44	54,85	39,30
LaPO	828	3	146,30	36,60	56,00	41,00
PLL	854	4	156,60	31,31	56,50	42,71
OLL	880	5	167,00	27,87	57,31	45,80
NP 46						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kÅ ³)	Energie (kcal/mol)
MPP	740	0	120,90	120,90	53,00	36,70
MMS	740	0	120,90	120,90	53,90	36,77
MOP	804	1	136,70	68,34	54,50	38,70
OOM	830	2	146,63	48,88	58,20	39,87
POL	856	3	156,93	39,23	57,40	41,00
OOL	882	4	167,60	33,58	59,74	42,92
NP 48						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kÅ ³)	Energie (kcal/mol)
LaSS	806	0	137,00	137,00	65,00	38,00
PPP	806	0	137,00	137,00	67,20	38,00
POP	832	1	147,00	88,20	66,00	40,30
POO	858	2	151,60	90,94	70,00	42,00
SSLn	884	3	168,00	55,98	85,74	44,00
OOO	884	3	168,00	55,98	48,94	43,60
NP 50						
TGs	PM	ND	INP	HA	Volume (kÅ ³)	Energie (kcal/mol)
PPS	834	0	147,34	147,34	77,00	39,00
POS	860	1	157,70	94,60	76,60	41,60
SOO	886	2	168,34	72,00	75,90	42,60

Tableau V-8 Equations de régression du volume et de l'énergie minimale des TGs isolés dans le vide à NP = 36, 38, 40, 42 en fonction de ND, PM, INP et HA (R^2 : coefficient de régression)

NP 36 (volume)				NP 36 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	+	$1,719 x + 31,79$	0,85	+	$1,934 x + 30,20$	0,99
PM	+	$0,066 x - 10,38$	0,85	+	$0,074 x - 17,28$	0,99
INP	+	$0,166 x + 19,34$	0,85	+	$0,186 x + 16,30$	0,97
HA	-	$-0,189 x + 46,57$	0,82	-	$-0,189 x + 45,64$	0,75

NP 38 (volume)				NP 38 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	+	$2,113 x + 35,36$	0,83	+	$2,18 x + 31,24$	0,93
PM	+	$0,07 x - 11,15$	0,87	+	$0,074 x - 17,28$	0,99
INP	+	$0,166 x + 19,34$	0,85	+	$0,186 x + 16,30$	0,97
HA	-	$-0,189 x + 46,57$	0,82	-	$-0,161 x + 45,26$	0,81

NP 40 (volume)				NP 40 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	+	$1,109x + 41,48$	0,49	+	$1,951 x + 32,68$	0,97
PM	+	$0,038x + 15,37$	0,47	+	$-0,065 x - 11,575$	0,88
INP	+	$0,099x + 32,04$	0,40	+	$0,192 x + 13,93$	0,97
HA	-	$-0,100x + 49,83$	0,68	-	$-0,165 x + 47,74$	0,81

NP 42 (volume)				NP 42 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	+	$1,515 x + 48,53$	0,75	+	$1,740 x + 34,42$	0,97
PM	+	$0,0583 x - 6,44$	0,75	+	$0,067 x - 13,92$	0,97
INP	+	$0,154 x + 32,01$	0,74	+	$0,178 x + 15,32$	0,97
HA	-	$-0,114 x + 59,74$	0,72	-	$-0,125 x + 46,97$	0,85

Tableau V-9 Equations de régression du volume et de l'énergie minimale des TGs isolés dans le vide à NP=44, 46, 48, 50 en fonction de ND, PM, INP et HA (R^2 : coefficient de régression)

NP 44 (volume)				NP 44 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	+	$0,624 x + 54,12$	0,78	+	$1,785 x + 36,16$	0,85
PM	+	$0,024 x - 36,11$	0,78	+	$0,069 x - 15,33$	0,85
INP	+	$0,063 x + 46,78$	0,77	+	$0,180 x + 15,18$	0,85
HA	-	$-0,034 x + 57,52$	0,73	-	$-0,096 x + 45,79$	0,80

NP 46 (volume)				NP 46 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	+	$1,562 x + 53,52$	0,89	+	$1,490 x + 36,85$	0,99
PM	+	$0,043 x + 21,76$	0,87	+	$0,041 x + 6,42$	0,97
INP	+	$0,207 x + 25,43$	0,91	+	$0,128 x + 21,23$	0,99
HA	-	$-0,620 x + 60,55$	0,82	-	$-0,058 x + 43,50$	0,88

NP 48 (volume)				NP 48 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	+	$6,707 x + 64,037$	0,86	+	$1,917 x + 38,10$	0,99
PM	+	$0,258 x - 143,88$	0,86	+	$0,074 x - 21,343$	0,99
INP	+	$0,660 x + 25,05$	0,85	+	$0,186 x + 12,744$	0,99
HA	-	$-0,200 x + 92,50$	0,59	-	$-0,007 x + 47,46$	0,96

NP 50 (volume)				NP 50 (énergie)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ND	-	$-0,55 x + 77,05$	0,98	+	$1,800 x + 39,26$	0,94
PM	-	$-0,021 x - 94,69$	0,98	+	$0,069 x - 18,47$	0,94
INP	-	$-0,052 x + 84,78$	0,98	+	$0,171 x + 14,07$	0,94
HA	+	$0,013 x + 75,102$	0,86	-	$-0,048 x + 46,09$	0,93

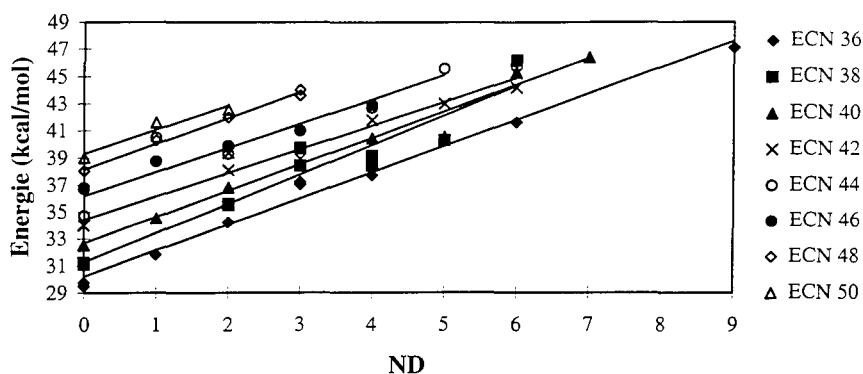


Figure V-15 Energie minimale des molécules de TGs isolées dans le vide (kcal/mol) en fonction de ND.

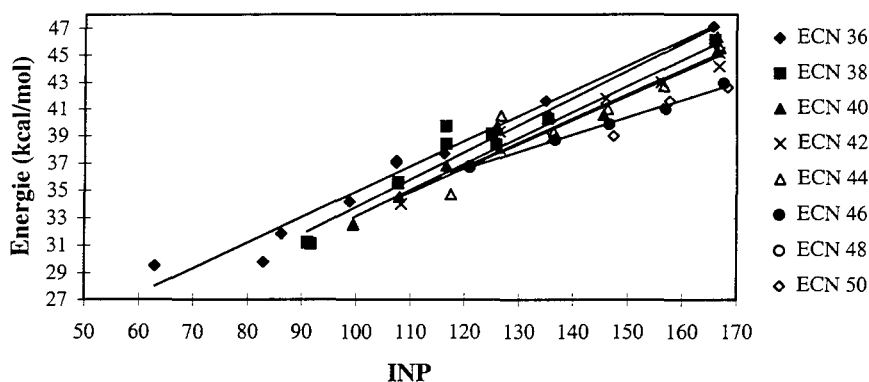


Figure V-16 Energie minimale des molécules de TGs isolées dans le vide (kcal/mol) en fonction de INP

V-6.2. En fonction de l'insaturation

V-6.2.1. TGs saturés

Nous nous intéressons à l'évolution du volume des TGs et de leur énergie minimale en fonction de l'insaturation. Sur le cas particulier des TGs saturés, nous avons étudié l'effet de l'augmentation du nombre de carbones (volume hydrocarboné) sur ces paramètres stéréochimiques et énergétiques. On observe une linéarité entre l'évolution du volume et de l'énergie minimale des TGs saturés en fonction de PM et INP.

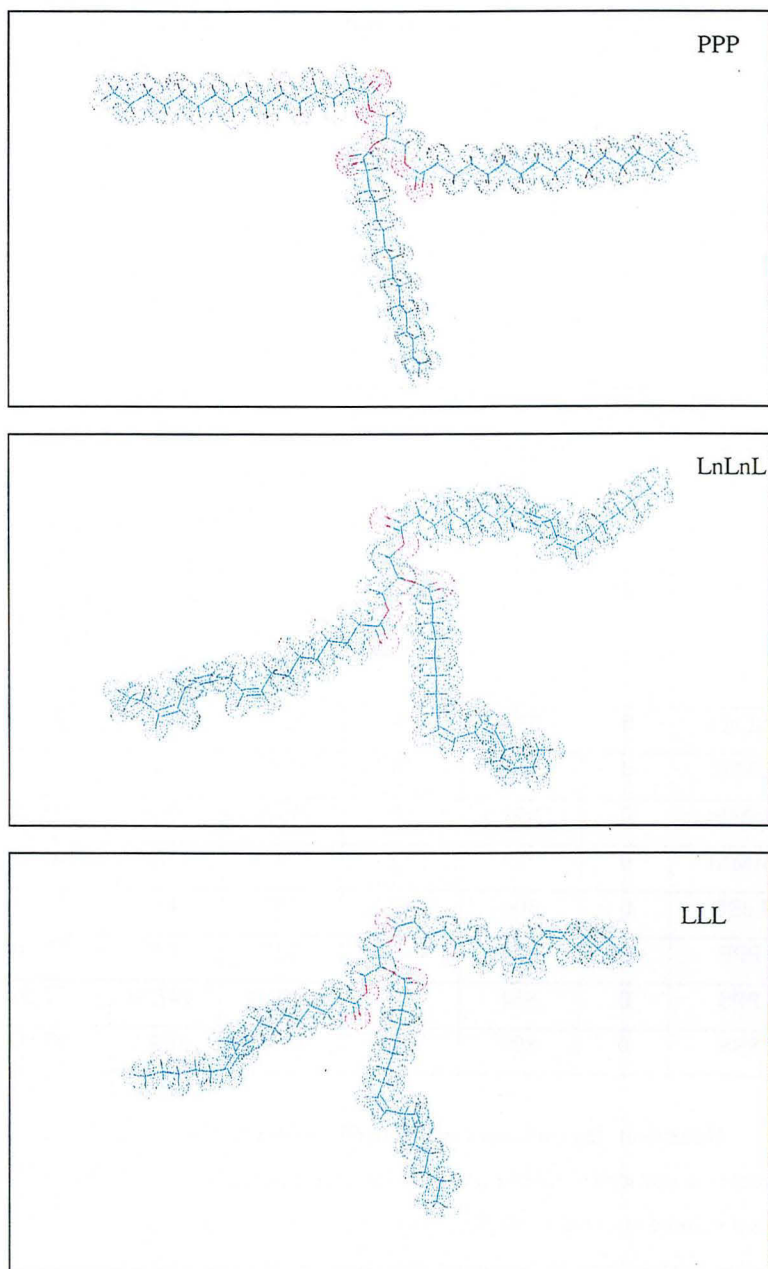


Figure V-17 Visualisation des molécules de TGs isolées dans le vide (PPP, LnLnL, LLL) (bleu : atome de carbone ; rouge : atome d'oxygène et noir : atome d'hydrogène)

Le volume et l'énergie minimale augmentent avec la taille des TGs et avec leur non-polarité. Ceci signifie qu'en augmentant la taille de la molécule, un TG saturé devient non seulement plus volumineux mais aussi moins stable.

Pour ce qui concerne les TGs saturés, la variation du volume comme de l'énergie s'explique bien, lorsqu'on l'exprime en fonction d'un paramètre lié à la condensation en carbone (PM, NP). Cette variation linéaire dans la série homologue des TGs est cohérente. Si on considère les TGs de la MGLA adsorbés sur un support Silica gel (Kieselgel 40), ces sont les TGs avec NP < 40 qui sont retenus. Ils sont caractérisés par des énergies minimales faibles < 32 et des volumes < 39 kA^{o3}. Une molécule possédant une faible énergie est une molécule stable d'où la possibilité d'avoir la conformation "Trident" dans un interface polaire-apolaire.

Tableau V-10 Caractéristiques de quelques molécules de TGs saturés

TGs	ND	PM	ECN	INP	HA	volume (kA ^{o3})	Energie (kcal/mol)
LaLaLa	0	638	36	82,9	82,9	29,95	29,80
CMM	0	666	38	91,02	91,02	33,80	31,20
LaMM	0	694	40	99,5	99,5	39,00	32,60
MMM	0	722	42	108,3	108,3	46,00	34,20
LaSS	0	806	48	137	137	77,60	38,20
PPP	0	806	48	137	137	67,70	38,00
PPS	0	834	50	147,34	147,34	77,20	39,70
SSS	0	890	54	169,1	169,1	97,60	42,60

Nettement, les caractères de volume et d'énergie sont liés à la facilité pour ces TGs (saturés) à s'adsorber (faible volume, faible énergie), ou à traverser les matériaux poreux (grand volume et grande énergie). Les points d'inversion de comportement peuvent s'exprimer pour ces 2 paramètres, et les limites observées dépendent du support.

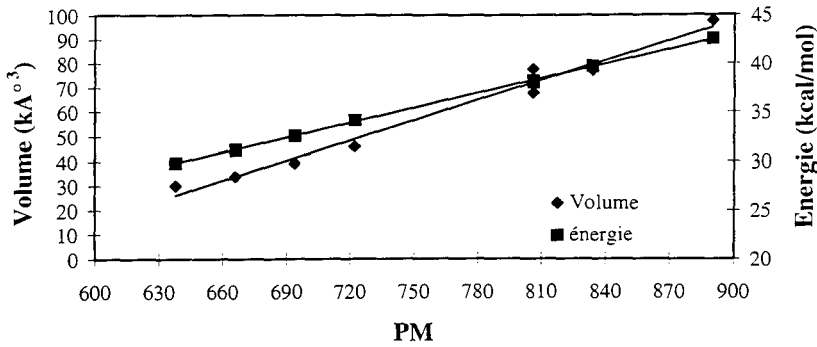


Figure V-18 Evolution du volume (kÅ^3) et de l'énergie minimale (kcal/mole) des TGs saturés en fonction de leur poids moléculaire (PM)

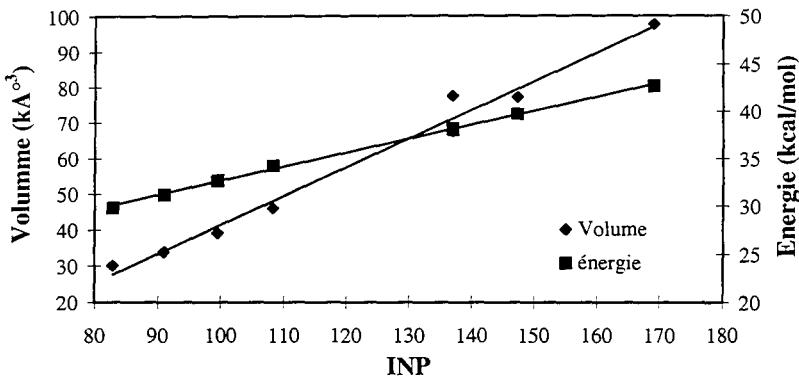


Figure V-19 Evolution du volume (kÅ^3) et de l'énergie minimale (kcal/mol) des TGs saturés en fonction de leur INP.

Tableau V-11 Equations de régression du volume et de l'énergie minimale des molécules de TGs saturés isolés dans le vide en fonction de ECN, PM, INP (R^2 : coefficient de régression linéaire)

Volume (kÅ^3)				Energie (kcal/mol)		
	Tendance	équation	R^2	Tendance	équation	R^2
ECN	+	$3,833 x - 111,80$	0,98	+	$0,714 x + 3,95$	0,99
PM	+	$0,210 x - 148,44$	0,98	+	$0,051 x - 2,88$	0,99
INP	+	$0,800 x - 39,30$	0,98	+	$0,150 x + 17,51$	0,96

V-6.2.2. TGs tri-insaturés

L'effet de la présence des trois AGs insaturés sur une molécule était particulièrement intéressante à étudier. Le nombre de doubles liaisons dans ces TGs varie entre 3 et 9. Il est important de noter que INP, HA et PM diminuent avec ND. L'évolution de l'énergie minimale et du volume des molécules des TGs tri-insaturés est très difficile à interpréter. En effet, certains TGs tri-insaturés montrent une diminution du volume calculé par HyperChem®. On peut supposer que la position de l'AG insaturé sur le glycérol peut influencer ce calcul. En général, on peut considérer que l'énergie minimale des molécules tri-insaturées augmente quand le nombre doubles liaisons augmente, ce qui défavorise leur stabilité.

Tableau V-12 Caractéristiques de quelques molécules de TGs tri-insaturés

TGs	ND	PM	ECN	INP	HA	volume (kÅ ³)	Energie (kcal/mol)
OOO	3	884	48	168	41.99	48,90	43,60
OLL	5	880	44	167,2	27.87	57.30	45,80
LLL	6	878	42	166,82	23.83	59,72	45,00
OLLn	6	878	42	166,82	23.83	59,20	44,17
LLLn	5	876	40	166,44	27.74	46,80	46,40
OLnLn	7	876	40	166,44	20.8	43,89	45,30
LLnLn	8	874	38	166,06	18.45	53,56	46,13
LnLnLn	9	872	36	165,68	16.57	43,90	47,00

Si on prend l'exemple d'un TG tri-insaturé mixte, LOL, en considérant les différents isomères de position, LLO, OLL, LOL, le calcul de volume permet de discriminer les différents isomères.

Isomères	OLL	LOL
Energie min. (kcal/mol)	35,90	26,025
Volume (kÅ ³)	45,80	57,37

L'évolution de l'énergie des TGs tri-insaturés est cohérent avec les autres caractéristiques moléculaires telles que INP, HA, PM etc... (coefficient de régression linéaire $\geq 0,70$). L'évolution du volume des TGs tri-insaturés est peu interprétable.

V-7. Conclusion

La prise en compte de l'INP, de la HA, du volume et de l'énergie potentielle minimale permet de bien discriminer les TGs famille par famille. Autrement dit, à l'intérieur de ces classes (mono-, di-, tri- et saturés) des comparaisons intéressantes de comportement peuvent être réalisées. Toutefois, aucun de ces paramètres pris séparément ne permet d'expliquer la totalité des phénomènes de partition.

Les résultats obtenus dans la série de TGs saturés sont particulièrement intéressants, car ils permettent d'expliquer l'existence d'un seuil de comportement en rétention, par le calcul de plusieurs paramètres liés à l'hydrophobicité, qui reste en soi une grandeur très difficile à déterminer dans notre cas.

Dans le cas des triglycérides tri-insaturés, le fait que l'on ne puisse pas, dans la cadre de ce calcul, prendre en considération la position de la double liaison, brouille les résultats. Ceci est cohérent avec ce qui a été montré précédemment : la position de la double liaison dans la molécule est influente sur le calcul de certains paramètres comme la volume (fortement), et l'énergie minimale (faiblement).

CONCLUSION GENERALE

Le but initial de ce travail était de comprendre le mécanisme de rétention des triglycérides, en filtration tangentielle de matière grasse du beurre (MGLA). En effet la technique mise au point au laboratoire, brevetée et appliquée industriellement souffrait d'un déficit d'explication théorique quant à la discrimination physico-chimique conduisant certains TGs à traverser préférentiellement la membrane. Nous avons dans un premier temps précisé la composition triglycéridique de la MGLA obtenue par CLHP-PI, en utilisant un modèle de répartition des acides gras au hasard, sachant très bien les insuffisances de ce calcul, qui donne toutefois satisfaction dans notre cas.

Pour ce qui concerne l'étude de la rétention, nous nous sommes d'abord attachés à l'étudier sur un montage de filtration tangentielle, qui paraissait la continuation des travaux menés au laboratoire, avec pour objectif de mettre en évidence les comportements individuels des TGs. Ce montage a donné des résultats difficilement interprétables : on observe bien la relation avec le poids moléculaire des TGs, et l'influence de la nature de la membrane, mais on est limité par le nombre et la nature des membranes utilisables : ce sont des matériaux de filtration que nous ne maîtrisons pas. De plus la microfiltration tangentielle met en oeuvre des paramètres techniques hydrodynamiques, qui sont très influents sur la partition, mais non directement liés aux propriétés physico-chimiques des triglycérides et de la membrane. En fait, le montage tangentiel introduit un biais technologique qui rend difficile l'interprétation moléculaire.

Compte tenu de ces remarques, nous avons décidé de simplifier le montage, en revenant à une percolation frontale sur des matériaux support de filtration que nous fabriquions, et qui donc offrait une diversité de supports bien plus large, malgré de nombreuses difficultés expérimentales. Par ailleurs, l'intérêt de ce montage est de se rapprocher des conditions de la chromatographie liquide, avec cette réserve de taille qu'il n'y a pas de phase mobile solvant d'élution. On peut toutefois considérer que la matière grasse fondue est elle-même le propre solvant de chacun de ses constituants. Par voie de conséquence, il permet d'étudier les éluats, les adsorbats, en comparaison avec la charge. Nous avons développé ce montage via plusieurs variantes : colonnes dont le diamètre est grand devant l'épaisseur, et conditions inverses (épaisseur grande devant le diamètre). De plus, devant la complexité de la MGLA, il est apparu intéressant de filtrer des huiles plus simples, à profil triglycéridique moins étendu (C12 - C18). Ainsi, nous avons utilisé des huiles végétales pures (olive, pépins

de raisin), un mélange formulé d'huiles végétales (olive, pépins de raisin, lin, coprah hydrogénée), ainsi que des mélanges de TGs purs.

Le premier montage concernait des couches plate épaisses, constituées des matériaux suivants : support hydrophobe greffé C18 et différentes couches d'oxydes métalliques. Les difficultés de percolation sur certains supports nous ont conduits à utiliser une pression motrice faible. En filtration de MGLA, on met très bien en évidence sur ces supports l'influence sur la partition des poids moléculaires, et l'inversion de comportement des triglycérides en fonction des caractéristiques d'hydrophobicité du matériau. Systématiquement, la meilleure partition est obtenue dans les premières minutes de la filtration, au cours desquelles la différence de comportement en fonction du nombre de partition (NP) des TGs est particulièrement évidente. Par la suite, le phénomène devient de moins en moins net, ce qui peut s'expliquer par le montage : toute la charge finit par passer. Certains matériaux supports (oxydes de titane et de zirconium) donnent des résultats peu interprétables du fait de la difficulté de percolation (formation d'une émulsion de type "peinture").

Des résultats comparables sont obtenus avec une huile formulée, pour laquelle les 2 phénomènes d'adsorption et de passage, particulièrement nets sur l'oxyde d'aluminium, peuvent être aisément interprétés en considérant les indices de non-polarité, grâce à la simplification qu'apporte la composition de l'huile. Cette interprétation est basée sur la considération de 2 facteurs : les interactions à l'interface polaire-apolaire, et les empêchements stériques découlant de la structure des molécules de TGs.

Dans une quatrième partie, nous avons cherché à faire varier l'hydrophobicité des surfaces adsorbantes. L'utilisation d'une surface filtrante en billes de verres, nues, et imprégnées d'une couche hydrophobe à base de silicones de 2 types et à plusieurs taux a permis de faire varier cette propriété. De plus, sur ces supports ainsi qu'avec les oxydes métalliques, nous avons analysé les éluats et les adsorbats obtenus en fin de filtration. En ce qui concerne les perméats de MGLA obtenus sur billes de verre, les comportements des TGs sont caractérisables en 3 groupes : petits, moyens et grands TGs. Les pourcentages de TGs transmis s'inversent exactement entre les billes de verre nues et revêtues, montrant bien l'influence du caractère plus ou moins hydrophobe de la surface active. L'adsorption des TGs sur la surface de verre revêtue ou non s'interprète bien en considérant les conformations que

peuvent présenter ces molécules dans les conditions de la percolation et en fonction de leur propre stéréochimie. Les conformations "trident" et "diapason" sont favorisées ou non suivant les caractéristiques de la surface. Par ailleurs, la capacité de rétention de la membrane augmente avec le taux d'imprégnation en silicones.

Les supports hydrophiles (gel de silice et oxyde d'aluminium) donnent des résultats particulièrement démonstratifs : on observe une parfaite symétrie dans les profils triglycéridiques entre les adsorbats et les éluats. En revanche, les points d'inversion du comportement moléculaire des TGs de la MGLA sur la surface active sont différents ; toutefois, l'interprétation en est encore impossible. La température joue un grand rôle sur la quantité de MGLA adsorbée, mais il est difficile de discriminer entre l'effet de la diminution de la viscosité, et celui de la déstructuration d'une matière "surfondue".

L'étude des adsorbats obtenus sur les mêmes supports avec des huiles végétales permet de confirmer les résultats obtenus sur la MGLA. Là encore, les oxydes les plus hydrophiles donnent les résultats les plus nets, avec symétrie des profils. L'huile de pépins de raisin a, compte tenu de sa particulière composition, permis de mettre en évidence l'effet de l'insaturation sur la rétention, laquelle se relie bien au calcul de l'hydrophobicité apparente. De plus, le point d'inversion est indépendant de la température, alors que les quantités absolues adsorbées diminuent avec celle-ci.

Avec des mélanges de triglycérides purs, on confirme ces résultats sur les 2 supports hydrophiles.

Dans un dernier chapitre, nous avons cherché à caractériser l'hydrophobicité des molécules triglycéridiques, dans le but d'expliquer les inversions de comportement avec cette clé. Ainsi, 5 méthodes d'approches de ce paramètre particulièrement difficile à déterminer dans le cas des TGs ont été mises en oeuvre : HLB, PM/NP, PM, INP et HA. De plus, les aspects stéréochimiques et énergétiques ont été approchés, grâce à une visualisation informatique des structures moléculaires. Les résultats sont les suivants : la HLB est un calcul très insuffisant, qui ne permet pas de discriminer les différents TGs. Les autres modes de calcul permettent de classer les TGs en quartets, conformément à la théorie chromatographique proposée par Frede et Thiele. De plus, le tracé des droites représentant ces différents calculs en fonction des poids moléculaires et des NP discrimine bien les 4 familles

de TGs en fonction de leur insaturation. Il apparaît que la meilleure quantification est obtenue avec l'INP et la HA, lesquels rendent assez bien compte des facteurs influents sur l'hydrophobicité que sont le poids moléculaire, la condensation en carbone, et l'insaturation.

En conclusion, ce travail fait avancer le problème très compliqué de la quantification des caractères hydrophile / hydrophobe des surfaces filtrantes et des triglycérides, mais les modèles de calcul ne sont pas encore satisfaisants. Il conviendrait de travailler molécule par molécule, pour pouvoir calculer les différentes énergies d'interaction surface - particule. Ce travail, expérimentalement cher, et fondamentalement complexe a été abordé, mais non encore mené à bonne fin et fera l'objet d'une poursuite dans le laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMSON, A. W. *Physical chemistry of surfaces*. New York : Wiley & sons, 1976.
- AIMAR, P. , BAKLOUTI, S. et SANCHEZ V. Membrane-solute interaction: Influence on pure solvent transfert during ultrafiltration. *J. of membrane Science Publishers*. 1986, 207-224.
- AIZETMULLER, K. Flow gradients in the HPLC analysis of triacylglycerols in fats and oils. *J. High Resol. Chromatogr.* 1990, 13, 375-377.
- AIZETMULLER, K., GRONHEIM, M. Gradient elution HPLC of fats and oils with laser light scattering detection. *Fat Sci. Technol.* 1993, 95, 164-168.
- AIZETMULLER, K., GRONHEIM, M. Separation of highly unsaturated triacylglycerols by reversed phase HPLC with short wavelength UV detection. *J. High Resol. Chromatogr.* 1992, 15, 219-226.
- AIZETMÜLLER, K. Recent progress in the high performance liquid chromatography of lipids. *Prog. Lip. Res.* 1984, 21, 171-193.
- ALAIS, C. *Science du lait. Principes des techniques laitières*. Paris : SEPAIC, 1984.
- AMER, M. A. , KUPRANYCZ, D. B. , BAKER, B. E. Physical and chemical characteristics of butterfat fractions obtained by crystallization from molten fat. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1985, 62, 1551-1557.
- ANTILLA, V. The fractionnation of milkfat. *Milk Ind.* 1979, 81, 17-25.
- ANTLE, P.E. , GOLBERG, A.P. , SNYDER, L.R. Characterization of silica-based reversed-phase columns with respect to retention selectivity. Solvophobic effects. *J. Chromatogr.* 1985, 321, 1-32.
- ANTLE, P.E., SNYDER, L.R. Selecting columns for reversed-phase HPLC. PartI : column selectivity. *Liq. Chromatogr.* 1984, 2, 840-845.
- ARUL, J. , TARDIF, R. , BOUDREAU, A. , MCGINNIS, D.S. , LENCKRI, R. W. Solubility of milk fat triglycerides in supercritical carbon dioxide. *Food Res. Int.* 1994, 27, 459-467.
- AVEYARD, R. , HAYDON D.A. *An introduction to the principale of surface chemistry*. Cambridge : Cambridge chemistry texts, 1973.
- BADINGS, H. T. , SCHAAP, J. E. , DEJONG, C. , HAGEDOOM, H. G. An analytical study of fractions obtained by stepwise cooling of melted milk fat. 2. Results. *Milchwissenschaft* 1983b, 38, 150-156.
- BADINGS, H.T. , SCHAAP, J.E. , DEJONG,C. , HAGEDOOM, H.G. An analytical study of fractions obtained by stepwise cooling of melted milk fat. 1. Methodology. *Milchwissenschaft* 1983a, 38, 95-97.

- BAER, R.J. Alteration of the fatty acid content of milk fat. *J. Food Protection*. 1991, 54, 383-386.
- BALESDENT D. , KAPSEU, C. , KAYEM, G.J. Caractérisation des triglycérides de l'huile de coton par chromatographie liquide haute performance (CLHP) en une seule étape. *Rev. Fr. Corps Gras*. 1989, 36, 27-33.
- BANKS, W. , CLAPPERTON, J. L. , FERRIE, M. E. The physical properties of milk fat of different chemical compositions. *J. Soc. Dairy Technol.* 1976a, 29, 86-90.
- BANKS, W. , CLAPPERTON, J. L. , FERRIE, M. E. Effect of feeding fat to dairy receiving a fat-deficient basal diet. *J. Soc. Dairy Res.* 1976b, 43, 219-227.
- BANKS, W. , CLAPPERTON, J. L. , GIRDLER, A. K. On the fractional melting of milk fat and the properties of the fractions. *J. Sci. Food Agric* 1985, 36, 421-432.
- BANKS, W. Milkfat production. In Rajah, K. K. , Burgess, K. J. *Milk fat production, Technology and Utilization*. Cambridgeshire : Society for Dairy Technology. 1991b. 1-8
- BANKS, W. Possibility of changing the composition of milk fat by feeding. *Int. Dairy Fed. Bull.* 1991a, N°260, 5-6.
- BARRON, L.J.R. , HIERRO, M.T.G. , SANTA-MARIA, G. HPLC and GLC analysis. Influence of triglycerides composition of bovine, ovine and caprine milk fat. *J. of Dairy Research*. 1990, 57, 527-540.
- BARRON, L.J.R. , SANTA-MARIA, G. , DIEZ MASA, J.C. Influence of bonded-phase column type, mobile phase composition, temperature and flow-rate in the analysis of triglycerides by reverse-phase high performance liquid chromatography. *J. Liq. chromatogr.* 1987, 10, 3193-3212.
- BARRON, L.J.R. , TERESA, M. , HIERRO, G. , SANTA-MARIA G. HPLC and GLC analysis of the triglyceride composition of bovine, ovine, and caprine milkfat. *J. dairy Sci.* 1990, 57, 517-526.
- BARRON, L.J.R. , CELAA, M.V. , SANTA-MARIA, G. , CORZO, N. Determination of the triglyceride composition of grapes by HPLC. *Chromatographia*. 1988, 25, 609-612.
- BARTSCH, A. , BUNIN-PFEAU, H. comparaison of milk fat fractions obtained by crystallisation with those obtained in a fractionation process using supercritical carbon dioxide. Agriculture, food chemistry and the consumer. Paris : INRA. 1989.
- BASSETTE, R. , ACOSTA, J.S. Composition of milk products. *Fundamentals of dairy chemistry*. In Wong, N.P. (ed). NY : Van Norstrand Reinhold. 1988, 39-79.

- BELOUSSOV, A.P. , VERGELOSISOV, V.M. Polyporphism in butterfat. 16th Int. Dairy Congr., Copenhagen. 1962, b3.1, 43 -61
- BEN AIM, A. , DAVIN, A. Les différents procédés de filtration. Bases théoriques et panorama des types d'appareillage. Ind. Agro. Alim. 1985, Septembre, 895-901.
- BEN-NAIM, A. *hydrophobic interactions*, NY : Interscience Publishers Ltd, 1980.
- BEN-NAIM, A., Hydrophobic interaction, *Colloques internationaux du C.N.R.S. N° 246- L'eau et les systèmes biologiques*. Paris : Edition du centre Nationale de la recherche scientifique. 1976, pp 215-221.
- BENNASAR, M. , TARODO DE LA FUENTE, B. Model of the fouling mechanism and of the working of a mineral membrane in tangential filtration. *Science des Aliments*. 1987, 7, 647-655.
- BERENDSEN, G.E. , DE GALAN, L. Role of the chain length of chemically bonded phases and the retention mechanism in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1980, 196, 21-37.
- BERENDSEN, G.E. , PIKAART, K.A. , De GALAN, L. Heptadecafluorodecyl dimethylsilyl bonded phase for reversed-phase liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1980, 52, 1990-1993.
- BERENDSEN, G.E. , SCHOENMAKERS, P.J. , DE GALAN, L. , VIGH, G. , VARGA-PUCHONY, Z. , INCZEDY, J. On the determination of the hold-up time in reversed phase liquid chromatography. *J. Liq. Chromatogr.* 1980, 11, 1669-1686.
- BEZARD, J.A. , OUEDRAOGO, M.A. Fractionation of oil triacylglycerols by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1980, 196, 279-293.
- BHATTACHARJEE S. , SHARMA, A. Lifshitz-van der Waals energy of spherical particles in cylindrical pores. *J. Colloid Interface Sci.* 1995, 171, 288-296.
- BHATTACHARJEE, S. , SHARMA, A. , BHATTACHARYA P.K. Estimation and influence of long range solute. Membrane interactions in ultrafiltration. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1996, 35, 3108-3121.
- BHATTACHARJEE, S. , SHARMA, A. Apolar, Polar, and electrostatic interactions of spherical particles in cylindrical pores. *J. Colloid and Interface Science.* 1997, 187, 83-95.
- BHATTI, L.A. Fatty acid sequence in triglycerides and compounds. In Hamilton, R.J. , Bhatti, L.A. (ed)- *Recent advances in chemistry and technology of fat and oils*. London : Elsevier Applied Science Publisher. 1987, 13-30.
- BLACK, R.G. Partial crystallization of milkfat and separation of fractions by vacuum filtration. *Austr. J. Dairy Technol.* 1975, 30, 153-156.

- BLACK, R.G. Pilot-scale studies of milkfat fractionation. *J. Dairy Technol.* 1973,, 28, 116-227.
- BLANK, M.L. , PRIVETT, O.S. Evaluation of mathematical distribution methods for the determination of triglycerides composition. *Lipids*, 1966, 1, 27-30.
- BORNAZ, S. , FANNI, J. , PARMENTIER, M. Filtration in hydrophobic media : 1- Evidence of a molecular selection by crossflow filtration of butter oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1995a, 72, 1139-1142.
- BORNAZ, S. , FANNI, J. , PARMENTIER, M. Filtration in hydrophobic media : 2- A triglyceride partition phenomenon as observed by tangential filtration of butter oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1995b, 72, 1143-1148.
- BORNAZ, S. , FANNI, J. , PARMENTIER, M. Limit of the solid fat content modification of butter. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1994, 71, 1173-1180.
- BORNAZ, S. , NOVAK, G. , PARMENTIER, M. Seasonal and regional variation in triglyceride composition of French butter fat. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1992, 69, 1131-1135
- BORNAZ, S. Modèle de variation de la texture du beurre et effet de modifications physiques et chimiques de la composition. Thèse INPL-Nancy II. 1994.
- BRAUMANN, T. Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography : Theory, experimental techniques and application in studies on quantitative structure activity relationship. *J. Chromatogr.* 1986, 373, 191-225.
- BREITSCHUCH, B. , WINDHAB, E.J. Direct measurement of thermal fat crystal properties for milk-fat fractionation. *J. Amer. Oils Chem. Soc.* 1996, 73,1603-1609.
- BRODIN, D. La tartinabilité du beurre: Méthodes d'appréciation. Amélioration par cristallisation fractionnée. Thèse de l'Université de Caen, 1989.
- BRUN, J.P. Ultrafiltration et Microfiltration. *Procédé de séparation par membrane transport, techniques membranaire, applications.* Paris : Masson. 1989, 122-158.
- BURSH, T. , LARSSON, K. LUNDQUIST, M. Polymorphism in monomolecular triglyceride films on water and formation of multimolecular films. *Chem. Phys. Lipids.* 1968, 2, 102-113.
- BUGAUT, M. , BEZARD, J. Comparaison de la structure glycéridique des huiles de coprah et de palmiste. III.- Types de triglycérides. *Oléagineux*, 1979, 34, 77-87.
- BUGAUT, M. , In vivo incorporation of lauric acid into rat adipose tissue triacylglycerols. *Lipids.* 1989, 193-203.
- CABONI, M.F. , CONTE, L.S. , LERCKER, G. Rapid HPLC analysis of triacylglycerols by isocratic elution and light scattering detection. *Ital. J. Food Sci.* 1992, 2, 25-132.

- CARR, J.W. , HARRIS, J.M. Temperature-induced changes in reversed-phase chromatographic surfaces. C8 and C9 polymeric ligands. *J. Chromatogr.* 1989, 481, 135-146.
- CARR, P.W. , DOHERTY, R.M. , KAMLET, M.J. , TAFT, R.W. , MELANDER, W. , HORVATH, C. Study of temperature and mobile-phase effects in reversed-phase high-performance liquid chromatography by the use of solvatochromic comparison method. *Anal. Chem.* 1986, 58, 2674-2680.
- CEBULA, D.J. , McCLEMENTS, D.J. , POVEY, M.J.W. , SMITH, P.R. Neutron diffraction studies of liquid and crystalline trilaurine. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1992, 69, 130-136.
- CHAMBON, M. Matière grasse laitière. In Karleskind, H. *Manuel des crops gras*. Paris : Lavoisier. 1992, Tome 1, 271-274.
- CHAPMAN, D. The polymorphism of glycerides. *Chem. Rev.* 1962, 62, 433-456.
- CHARLESWORTH, J.W. Evaporative analyzer as a mass detector for liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1978, 50, 1414-1420.
- CHOE, T.B. , MASSE, P. , VERDIER, A., CLIFTON, M.J. Membrane fouling in the ultrafiltration of polyacrylic acid and bovine serum albumin. *J. memb. Sci.* 1986, 26, 17-30.
- CHRISTIE, W.W. , HUNTER, M.L. , NOBLE, R.C. The mass (or light-scattering) detector in the analysis of lipids separated by high-performance liquid chromatography. *Biomed. Soc. Transactions* 1985, 13, 1221-1222.
- CHRISTIE, W.W. Rapid separation and quantification of lipid classes by HPLC and mass (Light scattering) detector. *J. Lipid Res.* 1985, 26, 507-512.
- CHRISTIE, W.W. The effect of diet and other factors on the lipid composition of ruminant tissues and milk. *Prog. Lipid Res.* 1979, 17, 245.
- CLAUDY, P. , LETOFFE, J.M. , GAGET, C. , MOREL, D. , SERPINET, J. Long-chain alkyl grafts and mixed alkyl-alkane layers at the surface of microporous silicas. Their gas chromatographic properties below and above the phase transition. *J. Chromatogr.* 1985, 329, 331-349.
- COHEN-MAUREL, E. Perspectives d'utilisation des techniques de filtration sur membranes dans l'industrie laitière. *Technique Laitière et Marketing*. 1988, N° 1033, 57-61.
- COLE, L.A. , DORSEY, J.G. Temperature dependence of retention in reversed-phase liquid chromatography. 1. Stationary-phase considerations. *Anal. Chem.* 1992, 64, 1317-1323.
- COLEMAN, M.H. , Further studies on the pancreatic hydrolysis of some natural fats. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 1961, 38, 685-688.

- COLIN, H. , GUIOCHON, G. Comparison of some packings for reversed-phase high-performance liquid-solid chromatography. II. Some theoretical considerations. *J. Chromatogr.* 1978, 158, 183-205.
- COLIN, H. , KRSTULOVIC, A. , GONNORD, M.F. , GUIOCHON, G. Investigation of selectivity in reversed-phase liquid-chromatography- effects of stationary and mobile phases on retention of homologous series. *Chromatographia*, 1983, 17, 9-15.
- DAUBERT, B.F. The composition of fats. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1949, 26, 556-558.
- DEFFENSE, E. Application de la chromatographie liquide haute performance à l'analyse des triglycérides des graisses végétales et animales et de leurs fractions obtenues par cristallisation fractionnée. *Rev Fr Corps Gras* 1984, 31, 123-129.
- DEFFENSE, E. Milk fat fractionation today: A review. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1993, 70, 1193-1201.
- DEFFENSE, E. Nouvelle méthode d'analyse pour séparer, via HPLC, les isomères de position 1-2 et 1-3 des triglycérides mono-insaturés des graisses végétales. I. Description de la méthode. *Rev Fr Corps Gras* 1993, 40, 33-39.
- DEFFENSE, E. Tertiaux fractionation : Analytical data of end-products through HPLC. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1983, 60, 474-475.
- DEFFENSE, E. Fractional milkfat products in bakery product. In *Proc. New uses for milk*. Quebec : The Dairy Science Research Center, Laval University, 1989.
- DEFFENSE, E. Multi-step butteroil fractionation and spreadable butter. *Fat Sci. Technol.* 1987, 89, 502-507.
- DEMAN, J. M. Modification of milk fat by removal of a high melting glyceride fraction. *J. Inst. Can. Technol. Aliment.* 1968,1, 90-97.
- DERJAGUIN, B.V. , LANDAU, L.D. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Acta Phys. Chim. USSR*. 1941, 14, 633-662.
- DEROANNE, C. La cristallisation et le fractionnement naturel de la matière grasse butyrique. *Le Lait*.1976, 56, 39-55.
- DEROANNE, C. L'analyse calorimétrique différentielle, son intérêt pratique, pour le fractionnement de l'huile de palme et la détermination de la teneur en phase solide. *Lebesm. Wiss. U.-Technol.* 1977, 10, 251-255.
- DESOUZA, V. , DEMAN, J.M. , DEMAN, L. Short spacings and polymorphic forms of natural and commercial solid fat- A review. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1990, 67, 835-843.

- DIAGANA, Y. Optimisation et faisabilité industrielle d'un procédé de fractionnement de la MGLA par microfiltration hydrophobe. Thèse INPL-Nancy, 1997.
- DILL, K.A. The mechanism of solute retention in reversed-phase liquid chromatography. *J. Phys. Chem.* 1987, 91, 1980-1988
- DOLEZALEK, J. , FORMAN, L. , VODISKOVA, M. Fractionation of milk fat by centrifugation in dispersed state. In *Scientific Papers of the Prague Institute of chemical Technology*, Prague : E45 food. 1976.
- DORSET, D.L. , PANGBORN, W.A. , HANCOCK, A.J. , VAN SOEST, T.C. , GREENWALD, S.M. Glycerol conformation and the crystal structure of lipids II. A further study of tripalmitine and conformationally fixed analogs by small-angle X-ray diffraction and reflection electron diffraction. *Zeitschrift. Natureforsch. Biosci.* 1978, 33c, 50-55.
- DORSEY, J.G. , Dill, K.A. The molecular mechanism of retention in reversed-phase liquid chromatography. *Chem. Rev.* 1989, 89, 331-346.
- ELAMA, C. , DIAGANA, Y. , FANNI, J. , PARMENTIER, M. High-performance liquid chromatography coupled to evaporative-light scattering detection of formulated oil used as a model for butter oil. *Seminars in food analysis.* 1997, 2, 145-158.
- EL-HAMDY, A.H. , PERKINS, E.G. High performance reversed-phase chromatography of natural triglyceride mixtures. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1981, 58, 49-53.
- EL-HAMDY, A.H. , PERKINS, E.G. High performance reversed-phase chromatography of natural triglyceride mixtures : Critical pair separation. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1981, 58, 867-872.
- ESBECK, L.S. , SEGERS, J.C. Dewaxing of dried oil. Demande de brevet européen, 0397233b1, 1994.
- FANE, A.G. , FELL, C.J.D. , SUKI, A. The effect of pH and ionic environment on the ultrafiltration of protein solutions with retentive membranes. *J. Memb.Sci.* 1983, 16, 195-210.
- FANNI, J. , BORNAZ, S. , DIAGANA, Y. , PARMENTIER, M. Physical treatments affecting the solid fat content of butter oil : Thermal treatment of cream and membrane partition of butter oil. *J. Dairy Sci.* 1996, 79, 1460-1466.
- FIRESTONE, D. Liquid chromatographic method for determination of triglycerides in vegetable oils in terms of their partition numbers : Summary of collaborative study. *J. Amer. Oils. Assoc. Chem. Inter.* 1994, 77, 954-957.
- FORSSELL, P. , KERVINEN, M. , ALKIO, M. , POUTANEN, K. Comparaison of methods for separating polar lipids from oat oils. *Fat Sci. Technol.* 1992, 6, 355-358.

- FOUAD, F.M. , VAN DE VOORT, F.R. , MARSHALL, W.D. , FARREL, P. G. A critical evaluation of thermal fractionation of butter oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1990, 67, 981-988.
- FOUCAULT, A. , ROSSET, R. Greffage non conventionnels des gels silices : synthèse, propriétés et applications des silices "exotiques" en chromatographie en phase liquide. *Analisis*, 1989, 17, 485-507.
- FREDE, E. , THIELE, H. Analysis of milk fat by HPLC. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1987, 64, 521-528
- GEERAERT, E. , DE SCHEPPER, D. Structure elucidation of triglycerides by chromatographic techniques. Part 2 : RP HPLC of triglycerides and brominated triglycerides. *J. High Resol. Chromatogr. & Chromatogr. Com.* 1983, 3, 123-132.
- GIBON, V. , DURANT, F. , DEROANNE, C. Polymorphism and intersolubility of some palmitic, stearic and oleic triglycerides : PP, PSP and POP. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1986, 63, 1047-1055.
- GILPIN, R.K. , JARONIEC, M. , LIN, S. Dependence of the methylene selectivity on the composition of hydro-organic eluents for reversed-phase liquid chromatographic systems with alkyl bonded phases. *Chromatographia*. 1990, 30, 393-399.
- GILPIN, R.K. Conformational changes and molecular dynamics of simple silica immobilized systems. *J. Chromatogr. A*. 1993, 656, 217-229.
- GOIFFON, J.P. , REMINIAC, C. , OLLE, M. Application de la chromatographie liquide haute performance à l'analyse des triglycérides des corps gras. I- Recherche des meilleures conditions opératoires. Cas de l'huile de soja. *Rev. Fr Corps Gras*. 1981a, 28, 167-170.
- GOIFFON, J.P. , REMINIAC, C. , FURON, D. Application de la chromatographie liquide haute performance à l'analyse des triglycérides des corps gras. II- Grandeurs des rétentions des triglycérides. *Revue Fr. Corps Gras*. 1981b, N°5, 199-208.
- GRALL, D.S. , HARTEL, R.W. Kinetics of butterfat crystallisation. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1992, 69, 741-747.
- GRESTI, J. , BUGAUT, M. , MANIONGUI, C. , BEZARD, J. Composition of molecular species of triacylglycerols. *J. Dairy Sci.* 1993, 76, 1850-1869.
- GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. *J. Dairy Sci.* 1991, 74, 3244-3257.
- GUNSTONE, F.D. The distribution of fatty acids in natural glycerides of vegetable origin. *Chem. & Indus.* 1962, 1214-1220.

- GUPTA, S.A.K. Process for refining crude glyceride oils by membrane filtration. U.S. patent. 1977, 4,062,882.
- HAGEMANN, J.W. , ROTHUFUS, J.A. Polymorphism and transformation energetics of saturated monoacid triglycerides from differential scanning calorimetry and theoretical modeling. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1983, 60, 1123-1131.
- HAGEMANN, J.W. Thermal behavior and polymorphism of acylglycerides. In Garti, N., Sato, K. *Crystallisation and polymorphism of fats and fatty acids*. NewYork : Marcel Dekker Inc. 1988.
- HAMAKER, H.C. The London-Van der Waals attraction between spherical particles. *Physica*. 1937, 4, 1058-1072.
- HAMM, W. Trends in edible oil fractionation. *Trend in Food Sci. Technol.* 1995, 6, 121-126.
- HENNION, M.C. , PICARD, C. , CAUDE, M. Influence of the number and length of alkyl chains on the chromatographic properties of hydrocarbonaceous bonded phases. *J. chromatogr.* 1978, 166, 21-35.
- HERNQVIST, L. , HERSLÖF, B. , HERSLÖF, M. Polymorphism of interesterified triglycerides and triglycerides mixture. *Fette Seifen Anstrichmittel*. 1984, 86, 393-397.
- HERNQVIST, L. , LARSSON, K. On the crystal structure of the β' form of triglycerides and structural changes at the phase transition $\text{liq.} \rightarrow \alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$. *Fette Seifen Anstrichmittel*. 1982, 84, 349-354.
- HERNQVIST, L. On the crystal structure of the $\beta'1$ -form of triglycerides and the mechanism behind the $\beta'1 \rightarrow \beta$ transition of fats. *Fette Seifen Anstrichmittel*. 1988, 90, 451-454.
- HERNQVIST, L. On the structure of triglycerides in the liquid state and fat crystallisation. *Fette Seifen Anstrichmittel*. 1984, 86, 297-300.
- HERON, S. , TCHAPLA, A. Choix des phases stationnaires et mobiles pour la séparation en chromatographie en phase liquide de triglycérides de corps gras. *Analisis*. 1994, 22, 114-126.
- HERON, S. , TCHAPLA, A. Les théories prévisionnelles en chromatographie liquide à polarité de phase inversée. *Analisis*. 1994, 22, 161-177.
- HERON, S. , TCHAPLA, A. Propriétés et caractérisations des phases stationnaires et mobiles de chromatographie liquide à polarité de phase inversée. *Analisis*. 1993, 21, 327-347.
- HERON, S. , TCHAPLA, A. Reversible solvent and temperature induced "Monomeric-like" - "polymeric-like" transitions in alkyl bonded silica. *Chromatographia*. 1993, 36, 11-18.

- HERON, S. , TCHAPLA, A. Utilisation d'un modèle d'interaction moléculaire pour l'optimisation de la séparation des triglycérides de corps gras en CLPI. *OCL*. 1994, 1, 219-227.
- HERON, S. , TCHAPLA, A. Description of retention mechanism by solvophobic theory. Influence of organic modifiers on the retention behaviour of homologous series in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1991, 556, 219-234.
- HERON, S. *Contribution à l'étude des mécanismes d'interactions moléculaires en Chromatographie Liquide à Polarité de Phases Inversée. Application à la séparation de triglycérides*. 1992, Thèse de doctorat de l'université Paris 6.
- HERSLÖF, B. , PODLAHA, O. , TÖREGARD, B. , KARLSHAMNS, A.B. HPLC of triglycerides. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1979, 56, 864-866.
- HERSLÖF, B. HPLC of triglycerides using UV detection. *J. High Resol. Chromatogr. & Chromatogr. Com.* 1981, 4, 471-473.
- HIERRO, M.T.G. , NAJERA, A.I. , SANTA-MARIA, G. Analysis of triglycerides by reversed-phase HPLC with gradient elution using a light-scattering detector. *Revista Espanola de Ciencia y Tecnologia de Alimentos*. 1992, 32, 635-651
- HIERRO, M.T.G. , TOMAS, M.C. , FERNANDEZ-MARTIN, F. , SANTA-MARIA, G. Determination of the triglycerides composition of avocado oil by high-performance liquid chromatography using a light-scattering detector. *J. chromatogr.* 1992, 607, 329-338.
- HILDITCH, T.P. *The chemical constitution of natural fats*. London : Chapman and Hall, 1949.
- HORVATH, C. , MELANDER, W. , MOLNAR, I. Solvophobic interactions in liquid chromatography with nonpolar stationary phases. *J. chromatogr.* 1976, 125, 129-156.
- HOWELL, J. Overview of membranes. *The membrane alternative-Energy implication for the industry*. 1990, N° 21, 1-8.
- HUBER, J.F.K., MEIJERS, C.A.M. , HULSMAN, R.J. New method for prediction of partition coefficients in liquid-liquid systems and its experimental verification for steroids by static and chromatographic measurements. *Anal. Chem.* 1972, 44, 111-116.
- HUBER, J.F.K., ALDERLIESE, E.T. , HARREN, H. , POPPE, H. Static and chromatographic measurement and correlation of liquid-liquid partition coefficients. *Anal. Chem.* 1973, 45, 1337-1343.
- ISRAELACHVILI, J. , PASHLEY, R. The hydrophobic interaction is long range, decaying exponentially with distance. *Nature*. 1982, 30, 25, 341-342.

- ISRAELACHVILI, J.N. , TABOR D. The measurement of van der Waals dispersion forces in the range 1,5 to 130 nm. *Proc. R. Soc. Lond. A.* 1972, 331, 19-38.
- ISRAELACHVILI, J.N. , TABOR D. Van der Waals forces : Theory and experiment. *Progress in Surface and membrane Science*. NY : Academic press. 1973, vol. 7, pp. 1-55.
- ISRAELACHVILI, J.N. *Intermolecular and Surface forces*. London : Academic press, 1992.
- ISRAELACHVILI, J.N. Van der Waals forces in biological systems. *Q. Rev. Biophys.* 1974, 6, 341-387
- JARONIEC, M. Partition and displacement models in reversed-phase liquid chromatography with mixed eluents. *J. Chromatogr. A*. 1993, 656, 37-50.
- JENSEN, G.W. Improved separation of triglycerides at low temperatures by reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1981, 204, 407.
- JENSEN, R.G. , CLARK, R.M. Lipid composition and properties. In Wong, N.P.- *Fundamentals of Dairy Chemistry*. NY : Van Nostrand reinhold, 1988, 171-213.
- JENSEN, R.G. , FERRIS, A.M. , LAMMI-KEEFE, C.J. Milk fat composition, Function, and potential for change. *J. Dairy Sci.* 1991, 74, 3228-3243.
- JINNO, K. Effect of the alkyl chain length of the bonded stationary phase on solute retention in reversed high performance liquid chromatography. *Chromatographia*. 1975, 8, 242-255.
- JINNO, K. OZAKI, N. Enthalpy-entropy compensation of octylsilica stationary phase in reversed-phase HPLC. *J. Liq. Chromatogr.* 1984, 7, 877-882.
- JURRIENS, G. , KROESEN, C.J. Determination of glyceride composition of several solid and liquid fats. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1965, 42, 9-14.
- KALO, P. Triglyceride composition and melting and crystallization properties of interesterified butter fat/ tallow mixtures. *Meijeritieteellien Aikakauskirja*. 1986, 44, 37-49.
- KALO, P. Pseudomonas fluorescens lipase catalysed interesterification of butter fat in the absence of a solvent. *Milchwissenschaft*. 1990, 45, 281-285.
- KALO, P. , HUOTARI, H. , ANTILA, M. Chemical composition of butter fat interesterified with Pseudomonas fluorescens lipase at various temperature. *Meijeritieteellien Aikakauskirja*. 1989b, 47, 1, 29-38
- KALO, P. , HUOTARI, H. , ANTILA, M. Pseudomonas fluorescens lipase-catalysed interesterification of butter fat. *Fat Sci. Technol.* 1989a, 91, 276-281
- KANKARE, V. , ANTILA, V. Fractionation of milk fat. In *Proc. XIX Int. Dairy Congr.*, New Delhi, 1974, Vol. E, P. 225.

- KARSCH, K. , SEBESTIAN, I. , HALASZ, I. Preparation and properties of reversed phases. *J. Chromatogr.* 1976, 122, 3-16..
- KARTHA, A.R.S. , The glyceride structure of natural fats. I. A technique for the quantitative determination of glyceride types in natural fats. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1953, 30, 280-282.
- KARTHA, A.R.S., The glyceride structure of natural fats. II. The rule of glyceride type distribution in natural fats. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1953, 30, 326-239.
- KELLENS, M. , MEEUSSEN, W. , C. , RAYNAERS, H. Study of the polymorphism and Crystallization kinetics of tripalmitin - A microscopic approach. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1992, 9, 906-911.
- KELLENS, M. , MEEUSSEN, W. , RIEKEL, C. , RAYNAERS, H. Time resolved X- ray diffraction studies of the polymorphic behaviour of tripalmitin using synchrotron radiation. *Chem. Phys. Lipids.* 1990, 52, 79-98.
- KELLENS, M. , RAYNAERS, H. Study of the polymorphism of saturated monoacid triglycerides I : Melting and crystallization behavior of tristearin,. *Fette Seifen Anstrichmittel*, 1992, 94, 3, 94-100.
- KEURENTJES, J.T.F. , BOSKLOPPER, T.G. , VAN DROP, L.J. The removal of metals from edible oils by a membrane extraction procedure. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1990, 67, 28-32.
- KEURENTJES, J.T.F. Physical chemistry and engineeringg of membranes for fat/fatty acid separations. Thèse de doctorat, Agricultural university of Wageningen. Pays-Bas. 1991.
- KING, N. The physical structure of butter. Part I. *Dairy Ind.* 1955a, 20, 311-314.
- KING, N. The physical structure of butter. Part II. *Dairy Ind.* 1955b, 20, 409-412.
- KOHLER, J. , CHASE, D.B. , VEGA, A.J. , KIRJLAND, J.J. Comprehensive characterization of some silica-based stationary phases of high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1986, 352, 275-305.
- KOSEOGLU, S.S. Membrane technology for edible oil refining. *Oil and fats Inter.* 1991, 7, 16-21.
- KOSEOGLU, S.S. , ENGELAU, D.E. Membrane applications and research in the edible industry: an assessment . *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1990,, 67, 239-249.
- KOSEOGLU, S.S. , LAWHON, J.T. , LUSAS, E.W. Membrane processing of crude vegetables oils: Pilot plant scale of solvent from miscellas. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1990, 67, 315-322.
- KOSEOGLU, S.S. , RHEE, K.C. , LUSAS, E.W. Membrane processing of crude vegetables oils: Laboratory scale membrane degumming, refining and bleaching. In Erikson. World

- Conference proceeding, edible fats and oil processing : basic principles and modern practises. Champaign IL : American Oil Chemists Society. 1989, 182-185.
- KUZDZAL-SAVOIE, S. L'analyse des acides gras du lait ou du beurre variations par chromatographie phase gazeuse. *La Technique Laitière*. 1984, 994, 43-47.
- KUZDAL-SAVOIE S. , SAADA M. , Cristallisation et fractionnement de la matière grasse laitière anhydre. *La technique laitière*. 1978, 921, 28-33.
- LAFOSSE, M. , DREUX, M. , MORIN-ALLORY, L. Champs d'application d'un nouveau détecteur évaporatif à diffusion de lumière pour la chromatographie liquide hautes performances et la chromatographie en phase supercritique. *J. Chromatogr.* 1987, 404, 95-105.
- LAI, S. , SANGERMANO, L. LOCKE, D.C. Phenyl-bonded phase liquid chromatography of styrene oligomers. *J. Chromatogr.* 1984, 312, 313-326.
- LAMBELET, P. Comparaison of N.M.R. and D.S.C. Methods for the determination solid content of fats application to milk fat and its fractions. *Lebensm.Wiss. u. -Technol.* 1983, 16, 90-95.
- LARGUEZE, C. *Raffinage des huiles végétales par microfiltration- Interaction milieu hydrophobe/membrane*. Thèse de Doctorat. Montpellier II. 1997.
- LARSSON, K. Molecular arrangement in glycerides. *Fette Seifen Anstrijmittel*. 1972, 74, 136-142.
- LARSSON, K. On the structure of the liquid state of triglycerides. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1992, 69, 835-836.
- LAVIGNE, F. *Polymorphisme et transitions de phases des triglycérides. Applications aux propriétés thermiques et structurales de la matière grasse laitière anhydre et de ses fractions*. Thèse de doctorat de l'université Paris, 1995
- LEONG, Y.K. , BOGER, D.V. , SCALES, P.J. , HEALY, T.W. Interparticle forces from adsorbed surfactants in colloidal suspensions: An additionnal attractive force. *J. Colloid Interface Sci.* 1996, 181, 605-612.
- LETTRE, W.S. A qualitative method for triglyceride analysis by HPLC using an evaporative light-scattering detector. *J. Liq. Chromatogr.* 1993, 16, 225-239.
- LITCHFIELD, T. *Analysis of triglycerids*. NY : Academic Press.1972.
- LIU, S.T role of hydrophobic interaction in flotation and flocculation. *Colloid, J. USSR*. 1991, 52, 743-749.

- LOCHMÜLLER C.H. , REESE, C. , ASCHMAN, A. J. , BREINER, S. J. Current strategies for prediction of retention in high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1993, 656, 3-18.
- LOCHMÜLLER, C.H. , COLBURN, A.S. , HUNNICUTT, M.L. , HARRIS, J.M. Organization and distribution of molecules chemically bound to silica. *Anal. Chem.* 1983, 55, 1344-1348.
- LOCHMÜLLER, C.H. , HUNNICUTT, M.L. , MULLANEY, J.F. Effect of bonded-chain rigidity on selectivity in reversed phase liquid chromatography. *J. Phys. Chem.* 1985, 89, 5770-5772.
- LOCHMÜLLER, C.H. , WILDER, D.R. The sorption behavior of alkyl bonded phases in reverse-phase, high performance liquid chromatography. *J. chromatogr. Sci.* 1979, 17, 574-579.
- LONGENECKER, H.E. Composition and structural characteristics of glycerides in relation to classification and environment. *Chem. Rev.* 1941, 29, 201-224.
- LUTTON, E.S. Review of polymorphism of saturated even glycerides. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1950, 27, 276-281.
- MACRAE, R. Light scattering detectors for use with HPLC. *Intern. Analys.* 1987, 1, 14-24.
- MAKHLOUF, J. , ARUL, J. ,BOUDREAU, A. , VERRET, P. , SAHASRABUDHE, M.R. Fractionnement de la matière grasse laitière par cristallisation simple et son utilisation dans la fabrication de beurres mous. *Can. Inst. Food Sci.* 1987, 20, 236-245.
- MANIONGUI, C. , GREST, J. , BUGAUT, M., GAUTHIER, S. , BEZARD, J. Determination of bovine butterfat triacylglycerols by reversed-phase liquid chromatography and gas chromatography. *J. Chromtogr.* 1991, 543, 81-103.
- MARGENAU, H. , KESTNER N.R. *Theory of intermolecular forces.* Oxford: Pergamon,, 1971.
- MARTIN, A.J.P. , SYNGE, R.L.M. A new form of chromatogram employing two liquid phases. 1. A theory of chromatography 2. Application to the micro-determination of the higher monoamino-acids in proteins. *Biochem. J.* 1941, 35, 1358-1368.
- MARTIRE, D.E. , BOEHM, R. E. Unified theory of retention and selectivity in liquid chromatography. 2. Reversed-phase liquid chromatography with chemically bonded phases. *J. Phys. Chem.* 1983, 87, 1045-1062.
- MATTIL, K.F. , NORRIS, F.A. The glyceride structure of natural fats. *Science.* 1947, 105, 257-259.

- MATTSON F.H. , LUTTON E.S. The specific distribution of fatty acids in the glycerides of animal and vegetable fats. *J. Biol. Chem.*, 1958, 233, 868-871.
- McLACHLAN, Retarded dispersion forces between molecules. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. A.* 1963a, 202, 224-243.
- McLACHLAN, Retarded dispersion forces in dielectrics at finite temperature. *Mol. Phys.* 1963b, 6, 423-427.
- MEIRELLES, M. , AIMAR, P. , SANCHEZ, V. Les techniques à membranes : micro et ultra filtration. *Biofutur*. 1992, N°111, 3-18.
- MELANDER, W. , CAMPBELL, D. E. , HORVATH, C. Enthalpy-entropy compensation in reversed-phase chromatography. phases. *J. Chromatogr.* 1978, 158, 215-225.
- MELANDER, W. , HORVATH, C. Advances and Perspective. In Horvath Cs. (ed.) *High Performance liquid chromatography*. NewYork : Academic Press 1980, 113-319.
- MELANDER, W.R. , CHER, B.K. , HORVATH, CS. Mobile phase effects in reversed phase-phase chromatography VII. Dependence of retention on mobile phase composition and column temperature. *J. Chromatogr.* 1985, 318, 1-20.
- MELANDER, W. , STOVEKEN, J. , HORVATH, C. Stationary phase effects in reversed-phase chromatography. I- Comparison of energetics of retention on alkyl-silica bonded phases. *J. Chromatogr.* 1980, 199, 35-56.
- MERIN, U. , DAUFIN, G. Crossflow microfiltration in the dairy industry : state of the art. *Le Lait*. 1990, 70, 281-291.
- MIETTON-PEUCHOT, M. Contribution à l'étude de la microfiltration tangentielle - Application à la filtration des boissons. Thèse, Institut National polytechnique de Toulouse. 1984.
- MOHR, P. , POMMERENNING, K. *Affinity chromatography-Practical and theoretical aspects*. Bâle : Marcel Dekker Inc. 1985.
- MOREL, D. , SERPINET, J. , LETOFFE, J.M. , CLAUDY, P. Liquid chromatographic Retention of Homologous alkanes in the two states of C18-bonded reversed phase silicas. *Chromatographia*. 1986, 22, 103-108.
- MOREL, D. , SERPINET, J. Gas chromatographic evidence for phase transitions in very compact octadecyl bonded silicas. *J. Chromatogr.* 1980, 200, 95-104.
- MOREL, D. , SERPINET, J. influence of the liquid chromatographic mobile phase on the transitions of alkyl-bonded silicas studied by gas chromatographytwo. *J. Chromatogr.* 1981, 214, 202-208.

- MOREL, D. , SERPINET, J. Liquid chromatographic study of the two physical states of densely bonded alkyl-silica and the corresponding retention processes. *J. Chromatogr.* 1982, 248,231-240.
- MOUREY, T.H. , OPPENHEIMER, L.E. Principles of operation of an evaporative light-scattering detector for liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1984, 56, 2427-2434.
- MULDER, H. , WALSTRA, P. Crystallization behavior of milk fat. In Mulder, H. , Walstra, P.(ed)- *The milk fat globule. Emulsion science as applied to milk product.* Amesterdam : Pudoc Wageningen. 1974.
- MULDER, H. Melting and solidification of milkfat. *Neth. Milk dairy J.* 1953, 7, 149-174.
- MUUSE, B.G. , VAN DER KAMP, H.J. Detection of the presence of fractionated butterfat by cristallisation of the high melting saturated triglycerides. *Neth; Milk Dairy J.* 1985, 39, 1-13.
- MYHER, J.J. , KUKSIS, A. , MANGANARO, F. Quantitation of natural triacylglycerols by reversed-phase liquid chromatography with direct liquid inlet mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 1984, 283, 289-301;
- NORRIS, G.E. , GRAY, I.K. , DOLBY, R.M. Seasonal variation in the composition and the thermal properties of New Zealand milk fat. II. Thermal properties of milk fat and their relation to composition. *J. Dairy Res.* 1973, 40, 311-321.
- NURMELA, K.V.V. , SATAMA, L.T. Quantitative analysis of triglycerides by high-performance liquid chromatography using non-linear gradient elution and flame ionization detection. *J. chromatogr.* 1988, 435, 139-148.
- OLLIVON, M. *Contribution à l'étude des triglycérides . polymorphisme et transitions de phases.* Thèse de doctorat d'état. Paris VI. 1982.
- OLLIVON, M. Triglycerides. In Karleskind, A. *Manuel de corps gras.* Paris : Lavoisier. 1992, 469-503.
- OLSSON, M. , SANDER, L.C. , WISE, S.A. Comparison of the liquid chromatographic behaviour of selected steroid isomers using different reversed-phase materials and mobile phase compositions. *J. Chromatogr.* 1991, 537, 73-83.
- PALMER, A.J. , PALMER, F.J. Rapid analysis of triacylglycerols using high-performance liquid chromatography with light scattering detection. *J. Chromatogr.* 1989, 465, 369-377.
- PARODI, P.W. Positional distribution of fatty acid in the triglyceride classes of milk fat. *J. of Dairy Res.* 1982, 46, 73-80.
- PARODI, P.W. Variation in the fatty acid composition of milkfat : effect of stage of lactation. *Austr. J. Dairy Technol.* 1974, 29, 145-148.

- PEI, P.T.S. , HENLY, R.S. , RAMACHAANDRAN, S. New application of high pressure reversed-phase liquid chromatography in lipids. *Lipids*. 1975, 10, 152-156.
- PERKINS, E.G. , HANSON, A.V. Application of computer methods to the calculation of triglyceride structure. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1965, 42, 1032-1035.
- PERRIN, J.L. , NAUDET, M. Identification et dosage des triglycérides des corps gras naturels par CLHP. *Rev. Fr. Corps Gras*. 1983, 30, 279-285.
- PERRIN, J.L. , PREVOT A. Utilisation d'un détecteur à diffusion de la lumière laser dans l'étude des corps gras par CLHP. II-Analyse des triglycérides des huiles et des graisses. *Rev. Fr. Corps Gras*. 1986, 33, 437-445.
- PERRIN, J.L. , PREVOT A. , STOLYHWO, A. , GUIOCHON, G. Utilisation d'un détecteur à diffusion de la lumière laser dans l'analyse des corps gras par CLHP. I-Principe et essais préliminaires. *Rev. Fr. Corps Gras*. 1987, 34, 221-223.
- PERRIN, J.L. , PREVOT A. , TRAITLEU, H. , BRACCO, U. Analysis of triglyceride species of blackcurrant seed oil by HPLC via laser light scattering detector. *Rev. Fr. Corps Gras*. 1987, 34, 221-223.
- PERRON, R.R. Commentaire sur le comportement thermique des triglycérides. Role de l'insaturation. *Rev. Fr. Corps Gras*. 1984, 31, 171-179.
- PETERSON, B. , PODLAHA, O. , TOREGARD, B. HPLC separation of natural oil triglycerides into fractions with the same carbon number and numbers of double bonds. *J. Amer. Oils Chem. Soc.* 1981, 58, 1005-1009.
- PIOCH, D. , LARGUEZE, C. Les techniques membranaires en lipotechnie. *Oléagineux Corps Gras Lipides*. 1995, 2, 5, 355-358.
- PODLAHA, O. , TOREGARD, B. A system for identification of triglycerides in reverse phase HPLC based on equivalent carbon numbers. *J. High Resol. Chromatogr. & Chromatogr. Com.* 1982, 5, 553-558.
- PODLAHA, O. , TOREGARD, B. Some new observations on the equivalent carbon numbers of triglycerides and relationship between changes in equivalent carbon number and molecular structure. *J. Chromatogr.* 1989, 482, 215-226.
- PRECHT, D. Fat crystal structure in cream and butter. In Garti, N. , Sato, K. - *Crystallisation and polymorphism of fat and fatty acids.*, NY : Marcell Decker Inc. 1988, 305-361.
- RAJAH, K. K. *Milk fat: Production, technology and utilisation*. Cambridgeshire : Society of Dairy Technology, 1991.

- RAUTENBACH, R. , ALBRECHT, R. *Membrane process*. London: John Wiley and sons, 1989.
- REZANKA, T. , MARES P. Determination of plant triacylglycerols using capillary gas chromatography, high performance liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 1991, 542, 145-159.
- ROBINSON, J.L. , MACRAE R. Comparison of detection systems for the high-performance liquid chromatographic analysis of complex triglyceride mixtures. *J. Chromatogr.* 1984, 303, 386-390.
- ROBINSON, J.L. , TSIMIDOU, M. , MACRAE, R. Evaluation of the mass detector for quantitative detection of triglycerides and fatty acid methyl esters. *J. Chromatogr.* 1985, 324, 35-51.
- ROSSET R. Connaissance chimique et structurale des gels de silices greffés et conformation avec la chromatographie en phase liquide. *Analisis.* 1987, 15, 1-21.
- ROSSET R. Méthodes électrochimiques, séparations par distribution entre phases chromatographie en phase liquide : appareillage et application. In Charpentier, J.C. (ed.). *Techniques de l'ingénieur*. Paris : ISTR BL. 1996, P1456-P1460.
- ROUMELIOTIS, P. , UNGER, K.K. Structure and properties of n-alkyldimethylsilyl bonded silica reversed-phase packings. *J. Chromatogr.* 1978, 149, 211-224.
- RUCKENSTEIN, E. , LESINS, V. Biotechnology report protein separation by potential barrier chromatography, *Biotechnol. t Bioengin.* 1986, 28, 432-451.
- RUIZ-SALA, P. , HIERRO, M.T.G. , MARTINEZ-CASTRO I. , SANTA-MARIA G. Triglyceride composition of ewe, cow, and goat milk fat. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1996, 73, 283-293.
- SANDER, L.C. , WISE, S.A. Effect of phase length on column selectivity for the separation of polycyclic aromatic hydrocarbons by reversed-phase liquid chromatography. *Anal.Chem.* 1987, 59, 2309-2313.
- SANDER, L.C. , WISE, S.A. Recent advances in bonded phases for liquid chromatography. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* 1987, 4, 299-415.
- SANDER, L.C. , WISE, S.A. Subambient temperature modification of selectivity reversed-phase liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1989, 61, 1749-1754.
- SANDER, L.C. , WISE, S.A. Synthesis and characterization of polymeric C₁₈ stationary phases for liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1984, 56, 504-510.

- SATO, K. , ARASHIMA, T. , WANG, Z.H. , OSHIMA, K. , SAGI, N. , MORI, H. Polymorphism of POP and SOS. 1. Occurrence and polymorphic transformation. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1989, 66, 1044.
- SAVARY P., FLANZY J. , DESNUELLE P. , Quelques renseignements nouveaux sur la structure glycéridique des corps gras naturels. *Rev. Fr. Corps Gras.* 1958, 5, 493-498.
- SCHAAPS, J.E. , BADINGS, H.T., SCHMIDT, D.G. , FREDE, E. Differences in butterfat crystals, crystalized from acetone and from melt. *Neth. Milk Dairy J.* 1975, 29, 242.
- SCOTT, R.P.W. , SIMPSON, C.F. A review of the developments in bonded-phase synthesis carried out at Birkbeck college, London. *J. Chromatogr. Sci.* 1992, 30, 59-64.
- SEMPORE, G. , BEZARD, J. Qualitative and quantitative analysis of peanut oil triacylglycerols by reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1986, 366, 261-282.
- SENTELL, K.B. , DORSEY, J.G. Retention mechanisms in reversed-phase chromatography stationary phase bonding density and solute selectivity. *J. Chromatogr.* 1989, 4610, 193-207.
- SENTELL, K.B. , DORSEY, J.G. Retention mechanisms in reversed-phase chromatography. Stationary-phase bonding density and partitioning. *Anal. Chem.* 1989, 61, 930-934.
- SERAFIN, G. , CAMURATI, F. , FEDELI, E. Technology avanzate di trattamento di effluenti industriali nel settore oleario. *La Rivista Delle Sostanze Grasse.* 1988, LXV, 7-2-11.
- SHAAP, J. , VAN BERRESTEYN, E.C.H. Fractioneren van melkvet. *Voedingsmiddelentechnologie.* 1970, 1, 553-564.
- SHERBON, J.W. Crystallisation and fractionation of milk fat. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1974, 51, 22-25.
- SIMPSON, C.F. Séparation modes in HPLC. In MACRAE, R. (ed.)- *HPLC in food analysis.* London : Academic Press, 1982.79-120.
- SINGLETON, J.A. , PATTEE, H.E. Retention behavior of triglycerides on reverse phase columns using pseudophase liquid chromatography. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1985, 62, 739-742.
- SMALL, D.M. The physical chemistry of lipids. In Hanattan, D.J. *Hand book of lipid research.* NY : Plenum. 1986.
- SONNTAG, N.O.V. Composition and characteristics of individual fats and oils. In Swern, D. (ed). *Bailey's Industriel Oil and fat products.* New York : John Wiley et Sons, 1979 a, 289-477.

- SONNTAG, N.O.V. Structure and composition of fats and oils. In Swern, D. *Bailey's industrial oil and fats products*. New York : A. Wiley Interscience Publication. 1979b, pp. 1-98.
- SPANOS, G.A. , SCHWARTZ, S.J. , VAN BREEMEN, R.B. , HUANG, C. High-performance liquid chromatography with light-scattering detection and desorption chemical-ionization tandem mass spectrometry of milk fat triacylglycerols. *Lipids*, 1995, 30, 85-90.
- STAMATAKIS, K. , TIEN, C. A simple model of crossflow filtration based on particle adhesion. *AICHE J.* 1993,39,8,1292-1302.
- STAROVEROV, S.M. , FADEEV, A.Y. Apparent simplicity of reversed stationary phases for high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1991, 544, 77-98.
- STEELE, W. , MOORE, J.H. Effects of a series of saturated fatty acids in the diet of milk fat secretion in the cow. *J. Dairy Res.* 1968, 35, 361-370.
- STOLYHWO, A. , COLIN, H. , GUIOCHON G. Use of light scattering as a detector principale in liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1983, 265, 1-18.
- STOLYHWO, A. , COLIN, H. , MARTIN, M. , GUIOCHON G. Study of the qualitative and quantitative properties of light-scattering detector. *J. Chromatogr.* 1984, 288, 253-275.
- STOLYHWO, A., COLIN, H. , GUIOCHON G. Analysis of triglycerides in oils and fats by liquid chromatography with the laser light scattering detector. *Anal. Chem.* 1985, 57, 1342-1354.
- SUFFOLK, B.R. , GILPIN, R.K. Infrared spectrometric studies of cyanoalkyl ligands immobilized on chromatographic surfaces. *Anal. Chem.* 1985, 57, 596-601.
- SZANIAWSKI, A.R. , SPENCER, H.G. Microfiltration of pectin by titanium dioxide membrane. *Key Engineering materials*. 1991, 61&62, 243-248.
- TANAKA, N. , KIMATA, K. , HOSOYA, K. , MIYANISHI, H. , ARAKI, T. Stationary phase effects in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1993, 656, 265-287.
- TANFORD, C. *The hydrophobic effect*. New York : Wiley. 1980.
- TANI, K. , SUZUKI, Y. Comparison of surface states of chemically modified silicas in aqueous acetonitrile and methanol. *Chromatographia*, 1991, 31, 347-350.
- TAYLOR, M.W. , HAWKE, J.C. Influence of nutritional factors on the yield, composition and physical properties of milkfat. In Fox (ed). *Developments in Dairy Chemistry-2 Lipids*. London : Elsevier Applied Science Publisher, 1983, 37-81.

- TCHAPLA, A. , COLIN, H. , GUIOCHON, G. Linearity of homologous series retention plots in reversed-phase liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1984, 56, 621-625.
- TCHAPLA, A. , HERON, S. , LESELLIER, E. , COLIN, H. General view of molecular interaction mechanisms in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1993, 656, 81-112.
- THEVENON, G. *Mécanismes de rétention en Chromatographie Liquide à polarité de phases Inversée en milieux non aqueux. Etude de la rétention des triglycérides.* Thèse de doctorat de Université Paris VI. 1986
- THEVENON-EMERIC, G. , TCHAPLA, A. , MARTIN, M. Role of π - π interactions in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1991, 550, 267-283.
- TIMMS, R.E. Phase behaviour of fats and their mixtures. *Prog. Lipids Res.* 1984, 23, 1-38.
- TIMMS, R.E. Physical chemistry of fats. In Moran, R.P.J. , Rajah, K.K. (ed.)- *Fats in food products.* London : Blackie Academic & Professional. 1994. 1-27.
- TIMMS, R.E. The phase behavior and polymorphism of milk fat, milkfat fractions and fully hardened milk. *Austr. J. Dairy Technol.* 1980, 35, 47-53.
- TVERDOKHLEB, G.V. , VERGELESOV, V.M. Brief communication. XIX Int. Dairy Congr. 1974, 1E: 211
- UNGER, K.K. *Packings and stationary phases in chromatographic techniques.* New York : Marcel Dekker Inc. 1990.
- UTRILLA, M.N. , JUAREZ, M. , MARTINEZ, I. El factor tiempo en la conversion de grasas en ésteres metilicos. *Grasas y Aceites* 1976, 27, 323-327.
- VAN DEN BERG, G.B. , SMOLDERS, C.A. Flux decline in membrane processes. *Filtration and Separation.* 1988, March/Avril, 115-121.
- VAN DER MIE, H.C. , ROSEN BERG, M. , BUSSCHER, H.J. Assesment of microbial cell surface hydrophobicity. In Mozes, N. , Handley, P.S. , Busscher, H.J. (eds)- *Microbial Cell Surface Analysis.* New York : VCH. 1991, pp 263-287.
- VAN DER WAAL, G. The relationship between the chemical structure of ester base fluids and their influence on elastomer seals, and wear characteristics. *J. Synth. Lubri.* 1985, 1 , 280-301.
- VAN OSS, C.J. , GOOD, R.J. , CHAUDHURY, M. K. The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in "Hydrophobic Interactions" between biopolymers and low energy surfaces. *J. of Colloid and Interface Sci.* 1986, 111, 2, 378-390.

- VAN OSS, C.J. Acid-base interfacial interactions in aqueous media. *Colloids and surfaces A*. 1993, 78, 1-49.
- VAN OSS, C.J., CHAUDHURY, M.K. , GOOD, R.J. Interfacial Lifhitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems. *Chem. Rev* .1988, 88, 927-941.
- VANDER WAL, R.J. Calculation of the distribution of the saturated and unsaturated acyl groups in fats, from pancreatic lipase hydrolysis data. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1960, 37, 18-20.
- VANDER WAL, R.J. The glyceride structure of fats and oils. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1960, 37, 595-598.
- VERWEY, E.J.W. , OVERBEEK, J.T.G. Theory of stability of lyophobic colloids. Amsterdam : Elsevier. 1949, p34.
- VERZELE, M. , MUUSSCHE, P. Monomeric and polymeric derivatization in reversed-phase high-performance liquid chromatographic materials. *J. Chromatogr.* 1983, 254, 117-122.
- VOSS, E. , BEYERLEIN, U. , SCHMANKE, E. Problem der technischen fraktionierung von butterfett mit hilfe des fettkörnchen-filtrationsverfahrens. *Milkwissenschaft*. 1971, 26, 905-613.
- WALSTRA, P. Physical chemistry of milk fat globules. In Fox, P.F. (ed.) *Developments in Dairy chemistry-2 Lipids*. London : Applied Science Publishers. 1983, 119-157.
- WANG, Z.H. , SATO, K. , SAGI, N. , IZUMI, T. , MORI, H. Polymorphism of 1,3-di(saturated acyl)-2-oleylglycerols : POP, SOS, AOA and BOB. *J. Amer. (JPa) Oil Chem. Soc.* 1987, 36, 671-679.
- WESDROP, L.H. *Liquid-multiple solid phase equilibria in fats-theory and experiments*. Thèse de doctorat de Université de Delft, 1990.
- WILLIAMS, R.L. , WILLIAMS, D.F. The effect of albumin on the wettability of pure metal and metal oxide surfaces. *J. Colloid Interface Sci.* 1988, 126, 596-603.
- WISE, S.A. , SANDER, L.C. Factors affecting the reversed-phase liquid chromatographic separation of polycyclic aromatic hydrocarbon isomers. *J. of high resolution chromatography & chromatography communications*. 1985, 8, 248-255.
- WOJTUSIK, M.J. , BROWN, P.R. , TURCOTTE, J.G. Separation and detection of triacylglycerols by high-performance liquid chromatography. *Chem. Rev.* 1989, 89, 397-406.
- WOLFF, J.P. *Manual d'analyse des corps gras*. Paris : Azoulay. 1968.

WOODBURN, K.B. , RAO, P.S.C. , DELFINO, J.J. Energetics of hydrophobic solute retention on reversed-phase chromatography supports : Effects of solute, solvent, and solvent properties. *Chromatographia*. 1992, 33, 403-412.

YAACOBI, M. , BEN -NAIM, A. Solvophobic interaction, *J. Phys. Chem.* 1974, 78, 175-178.

ZEITOUN, M.A.M , NEFF, W.E. , SELK, E. , MOUNTS, T.L. Analysis of vegetable oil triglycerides molecular species by reversed phase high performance liquid chromatography. *J. Liq. Chrom.* 1991, 14, 2685-2695.

ANNEXES

ANNEXE 1 : CLHP de différents corps gras et huiles.

(ACN: Acétonitrile, ACE: Acétone, CH₂Cl₂: Dichlorométhane, CH₃Cl: Chloroforme, Hex: Hexane, iPrOH: Isopropanol, THF: tétrahydrofuranne

Pr: n-Propanol, MeOH: Methanol, EtOH: Ethanol) - iso: isocratique, grad: gradient

Huiles et graisses	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/min)	Détecteurs	Références
Arachide, coton	iso	Bondapak C18 30 cm x 3.9 mm I.D (5 µm)	1	ACE/ACN 42 / 58	1,3	IR	Bézard <i>et al.</i> , 1980
Noix de coco	iso	Partisil ODS1, ODS2 Zorbax ODS 25 cm x 4.6 mm I.D (10 µm, 7 µm) LC1, LC8, LC18 25 cm x 4.6 mm I.D (5 µm)	2	MeOH/ACE/iPrOH/ACN 1 / 0 / 3 / 4 à 1 / 6 / 3 / 4	?	IR	EL-Hamdy <i>et al.</i> , 1981
Olive, soja, maïs, palme	iso	Supelcosil ODS LC-18 25 cm x 4.6 mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE 36.4 / 63.6	?	IR	EL-Hamdy <i>et al.</i> , 1981
Soja, coprah	iso	Lichrosorb RP-18 ODS 25 cm x 4.6 mm I.D (5 µm)	1	ACN/CH ₃ Cl 50 / 50	1,5	IR	Goiffon <i>et al.</i> , 1981
Soja, palme	iso	Nucleosil C18 15 cm x 4.6 mm I.D (5 µm)	1	ACN/iPrOH/Hex	0,8	UV	Hersloff, 1981
Olive, noix de coco	iso	Lichrosorb Rp-18 (5 µm)	1	ACN/THF/Hex 224 / 123.3/39.6 (P/P/P)	1,5	IR	Jensen, 1981

Huiles grasses	et	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/mn)	Détecteurs	Références
Palme, cacao, Colza		iso	Nucleosil 5 C-18 25 cm x 4.6 mm I.D 75 cm x 4.6 mm I.D 100 cm x 4.6 mm I.D (5 µm)	1	ACN/ACE 50/50 ACN/ACE 60/40	1,8	IR	Peterson <i>et al.</i> , 1981
Palme		iso	Hibar Rp -18 25 cm x 4mm (5 µm)	2	PrCN	0,5	IR	Podlaha <i>et al.</i> , 1982
Palme		iso	C-18 (5 µm)	2	ACE/ACN 62.5 / 37.5	1,1	IR	Deffense, 1983
Cacao, maïs, colza, coton		iso	Rsil C-18 HI 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)		Pr/iPr/EtOH		IR	Geeraert et De Schepper 1983
Olive, tournesol, maïs, soja		iso	Lichrosorb Rp-18 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)	1	ACN/ACN 40 / 60	1,5	IR	Perrin et Naudet, 1983
Beurre		grad.	Sphérisorb 5 ODS 2 25cm x 4.6mm I.D 5cm x 4.6mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE	1,5	DDL	Robinson et Macrae, 1984
Arachide, soja		grad.	Supelcosil LC-18 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)	1	PrCN/ ACN 30/70 à 90/10	1,5	SM	Myher <i>et al.</i> , 1984

Huiles et graisses	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/mn)	Détecteurs	Références
Beurre	grad.	Sphérisorb 50DS 2 25cm x 4.6mm I.D 5cm x 4.6mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE	1,5	DDL	Robinson <i>et al.</i> , 1985
Arachide	iso	MCH-10 (C18) MCH-10 (C18) end capped (30cm x 4mm)	2	ACN/EtOH ACN/MeOH 80/20 ou 50/50	1,5	UV	Singleton et Pattee, 1985
Olive	iso	Sphérisorb 50DS 2 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)	1	ACN/ACE 35 / 65	1	DDL	Tsimidou et Macrae, 1985
Soja, tournesol, arachide, colza	grad.	Lichrospher 100 CH-18 25cm x 4mm I.D. (3-4 µm)	2	ACN/CH ₂ Cl ₂ /ACE 80/15/5 à 20/60/20 en 60 minutes	1	DDL	Perrin et Prevot, 1986
Pépins de cassis	grad.	Lichrosorb 100 CH-18 25cm x 4mm I.D. (3-4 µm)	2	ACN/CH ₂ Cl ₂ 80/20 à 40/60 en 80 minutes	1	LLSD	Perrin et Prévot, 1986
Arachide	iso	Hibar LiChrosorb 100 CH-18 25cm x 4mm I.D. (3 µm)	1	ACE/ACN 70 /30	1,2	IR	Sempore et Bézard, 1986

ANNEXE 1 : CLHP de différents corps gras et huiles.

Huiles et graisses	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/mn)	Détecteurs	Références
Cheval, tournesol, lin, colza	iso	Lichrospher 100CH 18 :3 25cm x 4mm I. (5 µm)	2	ACN/ACE 5/95	1	LLSD	Stolyhwo <i>et al.</i> , 1985
Olive	iso	Lichrospher 100CH 18 :3 25cm x 4mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE 5/95	0,7	LLSD	
olive	grad.	Lichrospher 100CH 18 :3 25cm x 4mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE 5/95	0,7	LLSD	
Beurre, palme	grad.	Lichrospher 100CH 18 :3 25cm x 4mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE 5/95	0,8	LLSD	
Arachide	grad.	Lichrospher Rp 18 25cm x 4mm I.D (5 µm)	1	ACN/ACE 5/95	1	LLSD	
MGLA	iso	Nucleosil C18 15cm x 4.6mm I.D (5 µm) Microsher C18 10cm x 4.6mm I.D (3 µm)	2	ACE/ACN 63/35	0,8	IR	Frede et Thiele., 1987
Raisin	iso	Sphérisorb ODS 20cm x 4.6mm I.D (5 µm)	1	ACN/ACE/THF 58/38/4	1,5	IR	Barron <i>et al.</i> , 1988

Huiles et graisses	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/mn)	Détecteurs	Références
Huile de beurre	grad. non linéaire	Hibar Lichrospher 100 CH-18/2 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE		Ionis. de flamme	Nurmela et Satama, 1988
Coton	iso	Supelcosil LC-18 15cm x 4.6mm (5 µm)	2	ACN/ACE 37 /63	1	IR	Balesdent <i>et al.</i> , 1989
Cacao, soja, olive	grad.	Supelcosil LC-18 15cm x 4.6mm (5 µm)	1	CH ₂ Cl ₂ /ACN 30/70 à 70/30 en 60 min.	0,6	DDL	Palmer et Palmer, 1989
Huile	grad. débit	Sphérisorb ODS-II 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)	1	ACN/ACE 58 /38	0,6 - 1,6 (20 mn)	IR	Aitzetmüller, 1990
MG de vache, chèvre,	grad.	Sphérisorb ODS-II 20cm x 4.6mm I.D (5 µm)	2	MTBE/ACN 23/77	1	UV	Barron <i>et al.</i> , 1990.
MGLA	iso	LiChrosorb 100 Rp-18 25cm x 4.6mm I.D (4 µm)	1	ACE/ACN 55/45	1	IR	Maniongui <i>et al.</i> , 1991.
Palme, tournesol, maïs, arachide	grad.	Zorbax 50cm x 4.9mm I.D (5 µm)	2	ACN/CH ₂ Cl ₂ 60/40 à 30/70 en 120 min	0,8	ionisation de flamme	Zeitoun <i>et al.</i> , 1991
MGLA	iso	Supelcosil LC-18 15cm x 4.6mm I.D (5 µm)	2	ACN/ACE 41/59	0,8	IR	Bornaz <i>et al.</i> , 1992

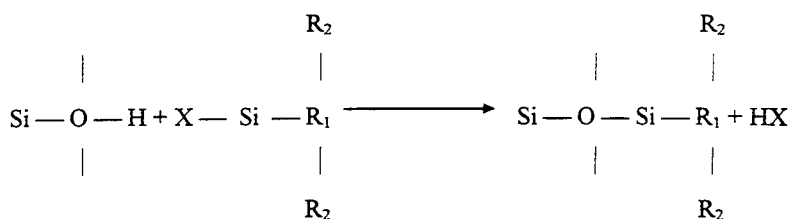
Huiles graisses	et	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/mn)	Détec- teurs	Références
Olive		iso	Sphérisorb C18 15cm x 4.6mm I.D (3 µm)	1	ACN/ACE/ethyl ether 25/65/10	1	IR, SM	Caboni <i>et al</i> , 1992.
Soja, MGLA		grad.	Sphérisorb ODS-2 25cm x 4.6mm I.D (3 µm)	1	ACE/ACN ACN/ CH2Cl2 ACN/ACE/MTBE	1,2	DDL	Hierro <i>et al</i> , 1992.
Avocat		grad.	Sphérisorb ODS-2 25cm x 4.6mm I.D (3 µm)	2	ACE/ACN 35/65 à 70/30	0,8	DDL	Hierro <i>et al</i> , 1992.
Maïs, olive	coton,	grad	Hypersil ODS 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)	1	CH2Cl2/ACN	1	DDL	Lettre, 1993
Beurre		iso	Lichrosphere 100 Rp 18 (25cm x 4mm I.D (4 µm)	1	ACE/ACN (55/45) ACE/ACN (50/50)	1	IR	Gresti <i>et al.</i> , 1993
Huiles végétales Soja,... ;		iso	Lichrosorb Rp 18 25cm x 4.5mm I.D (5 µm) Lichrosphere 100 CH18 (25cm x 4.5mm I.D (5 µm)	1	ACE/ACN 50/50	1,5	IR	Firestone, 1994

Huiles et graisses	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/mn)	Détecteurs	Références
Soja, lin, palme, noix de coco, olive	grad.	Superspher Rp-18 25cm x 4.6mm I.D (4 µm)	1	Solvant A : ACN Solvant B : 2- PrOH Solvant C : ACN/2-PrOH/Hex (60:20:20) A :70/ B : 30/ C :0 To A :0/ B : 0/ C :100 Solvant A: ACN/2-PrOH/Hex (60:20:20) Solvant B: EtOH/ hex. (80 :20)	1	UV IR	Aitzetmüller et Gröheim, 1993
Beurre	iso	Brownlee Spheri 5 ODS 25cm x 4.5mm I.D (5 µm)	1	ACN/CH ₂ Cl ₂ 73/27	1	DDL	Heron et Tchaplà, 1994
Olive, Palme, Raisin,.....	iso	Brownlee Spheri 5 ODS 25cm x 4.5mm I.D (5 µm) Lichrospher 100CH 18 :2	1		1	DDL	Heron et Tchaplà, 1994

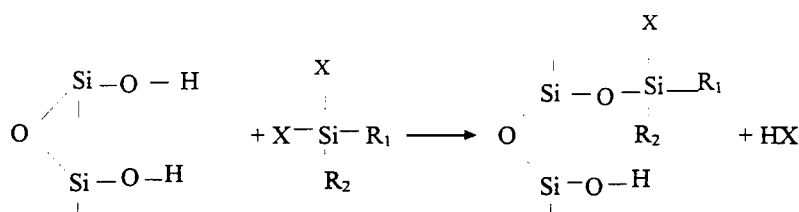
Huiles et graisses	Elution	Colonne	Nombre	Phase mobile	Débit (ml/min)	Détecteurs	Références
Olive, Palme, Raisin,.....	iso	25cm x 4.6mm I.D (10 µm) Ultracab 3ODS 15cm x 4.6mm I.D (3 µm) Supelcosil LC PAH 15cm x 4.6mm I.D (5 µm) Zorbax phenyl 25cm x 4.6mm I.D (5 µm)	1		1	DDL	Heron et Tchaplal, 1994
MGLA	grad.	Spherisorb ODS-2 Zorbax C18 25cm x 4.5mm I.D (5 µm)	2	ACN / PCN/ (PCN / MCL) 30/70/0 à 5/95/0 en 50 min 5/95/0 à 0/0/100 en 70 minutes	0,7	DDL MS	Spanos <i>et al.</i> , 1995
MGLA	grad.	Spherisorb ODS-2 25cm x 4.5mm I.D (5 µm) 15cm x 4.6mm I.D (5 µm)	2	ACN /ACE	0,9	DDL	Ruiz-Sala <i>et al.</i> , 1995

1- Les greffes monomériques

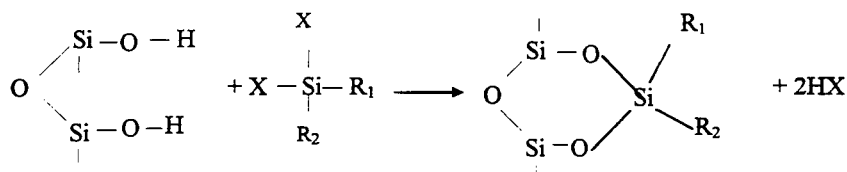
Avec des silanols monofonctionnels:



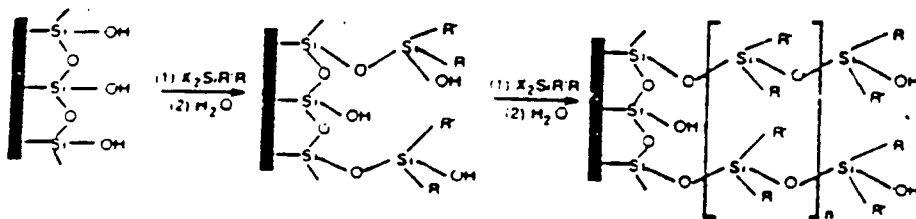
Cas de silanols difonctionnels en l'absence d'eau.



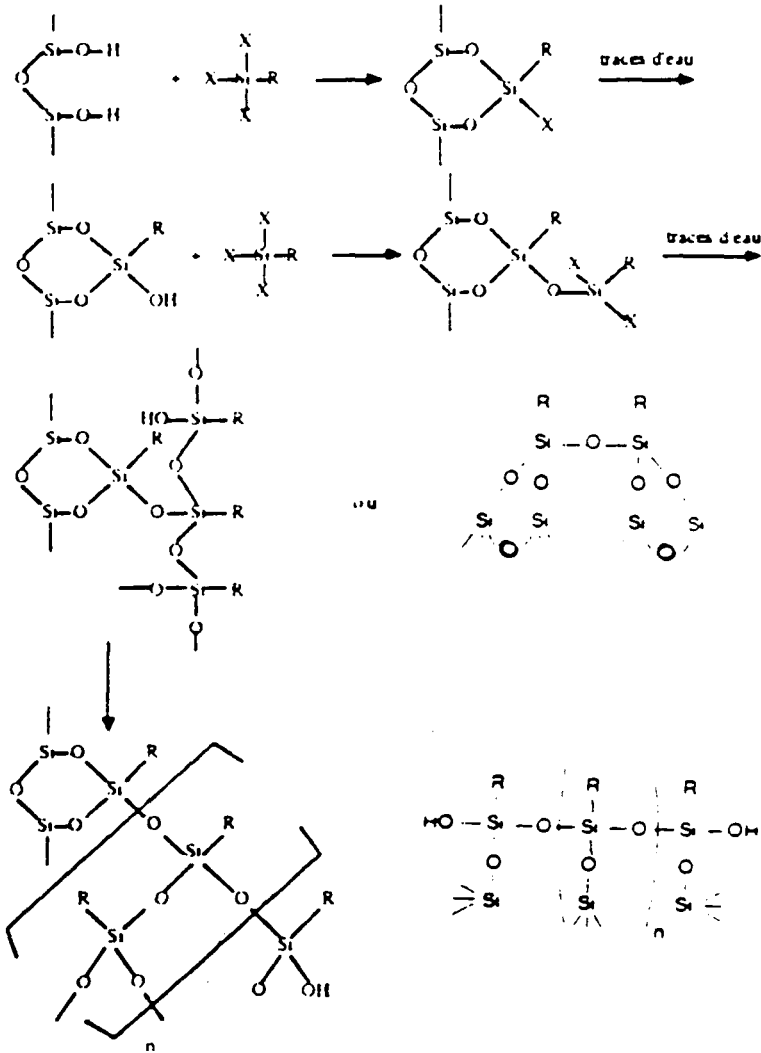
ou



2- Les greffes oligomériques



3- Les greffes polymériques



**AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE**

oOo

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Monsieur GANDEMER G., Directeur de Recherches, INRA Nantes,

Monsieur GRAILLE J., Directeur de Recherches, CIRAD-CP Montpellier.

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Mademoiselle EL'AMA Claude

à soutenir devant l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, une
thèse intitulée :

**"Contribution à l'étude des interactions entre molécules et matériau-
barrière en filtration hydrophobe de mélanges complexes de
triglycérides : exemple de l'huile de beurre et de différentes huiles
végétales".**

en vue de l'obtention du titre de :

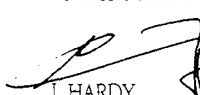
DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : **"BIOTECHNOLOGIES & INDUSTRIES ALIMENTAIRES"**

NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 5 4 5 0 1
VANDŒUVRE CEDEX

Fait à Vandoeuvre le, 4 Mai 1998

Le Président de l'I.N.P.L.,


J. HARDY



TEL. 33/83.59.59.59
FAX. 33/83.59.59.55

RESUME

Cette étude est une contribution à la compréhension des phénomènes de partition des triglycérides du beurre sur des supports filtrants. Suite à des résultats difficilement interprétables obtenus en filtration tangentielle, la percolation frontale à travers différents matériaux poreux a été utilisée pour caractériser la rétention. Celle-ci est fonction de la surface de contact et de la nature du matériau : les matériaux hydrophobes retiennent les triglycérides à nombre de partition élevé, alors qu'ils traversent les matériaux hydrophiles.

La percolation sur des couches épaisses de matériaux filtrants a été étudiée afin de se placer dans des conditions telles que la théorie de la rétention chromatographique puisse s'appliquer. La comparaison adsorbat / initial et éluat / initial a permis de caractériser la rétention en fonction du temps, de la couche filtrante (épaisseur, composition) et des caractéristiques des triglycérides (longueur de chaîne, insaturation, voluminosité et indice de non-polarité). Les oxydes d'aluminium et les gels de silice donnent la meilleure partition.

Devant la complexité de la MGLA, nous avons également utilisé des mélanges d'huiles et de triglycérides standards, afin de préciser l'influence du caractère hydrophobe des triglycérides, estimé à l'aide de divers modèles (indice de non-polarité, hydrophobicité apparente, condensation hydrocarbonée, insaturation, voluminosité et énergie minimale).

A study of the interactions between molecules and boundary materials in hydrophobic filtration of complex mixtures of triacylglycerols : butter oil and different vegetable oils as examples

SUMMARY

A contribution to the understanding of membrane partitioning of triacylglycerols of butter oil on different filtration materials is presented in this work.

Crossflow filtration was preferred to tangential filtration because of confusing results. Crossflow percolation through different porous media was used so as to characterize retention. This was found to be function of contact surface and the nature of media : hydrophobic materials retained triacylglycerols with high partitioning number while the same triacylglycerols passed through Hydrophilic materials.

Percolation of triacylglycerols on thick layers of porous materials were studied so as to apply the theory of chromatographic retention in the explanation of this partitioning.

Comparison between adsorbed/initial and eluted/ initial allowed the characterization of retention as a function of time, filtration layer (thickness, composition) and triacylglycerols characteristics (chains length, saturation, voluminosity and non polarity index).

Aluminum oxide and silica gels were considered as the best support for triacylglycerols partitioning.

As a result of the complexity of anhydrous milk fat composition, mixtures of oils and standards triacylglycerols were used so as to precise the hydrophobic character of triacylglycerols which is estimated by the use of different models (non polarity index, apparent hydrophobicity, chains length, saturation, voluminosity and minimal potential energy).

MOTS-CLES : MGLA, triglycérides, huile formulée, hydrophobicité, interaction, partition, adsorption.
