

I.3. DIALYSE

La dialyse est une méthode de séparation qui permet d'éliminer, d'une solution macromoléculaire, des ions ou de petites molécules, par le passage de ceux-ci à travers une membrane jouant le rôle de tamis.

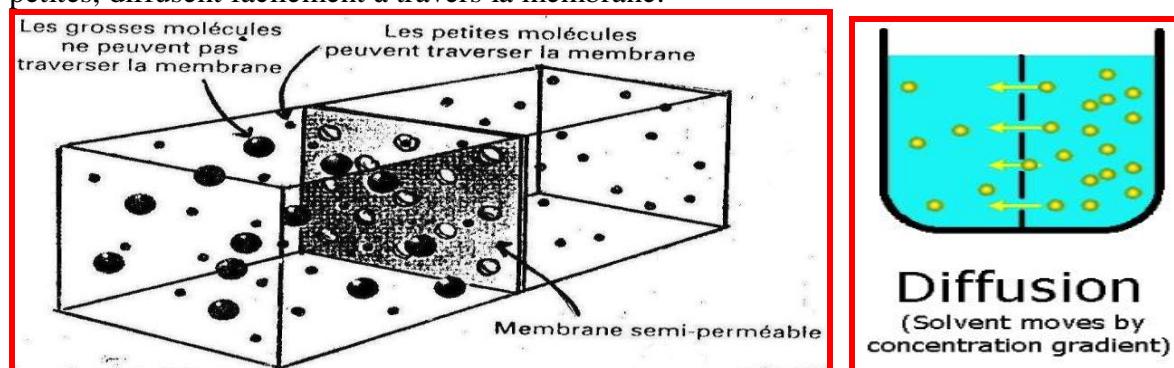
Le transfert des ions est nettement amélioré lorsqu'on applique un champ électrique : c'est l'*electrodialyse*. En analyse automatique, en flux continu la dialyse remplace toutes les opérations de purification (déprotéinisation, centrifugation, etc.). La dialyse n'est pas seulement une méthode de purification : elle a été utilisée comme méthode de concentration des protéines. Cette technique permet également d'équilibrer l'échantillon à analyser avec le tampon, avant d'effectuer une électrophorèse.

I.3.1. Définition

La dialyse est la *diffusion* ou *échange* de substances dissoutes (solutés) entre deux liquides de composition différentes à travers une membrane sélective (semi-perméable) appelée membrane de dialyse. C'est un processus efficace permettant de séparer les molécules selon leur taille, mais lent car il est basé sur les lois de la diffusion.

I.3.2. Principe

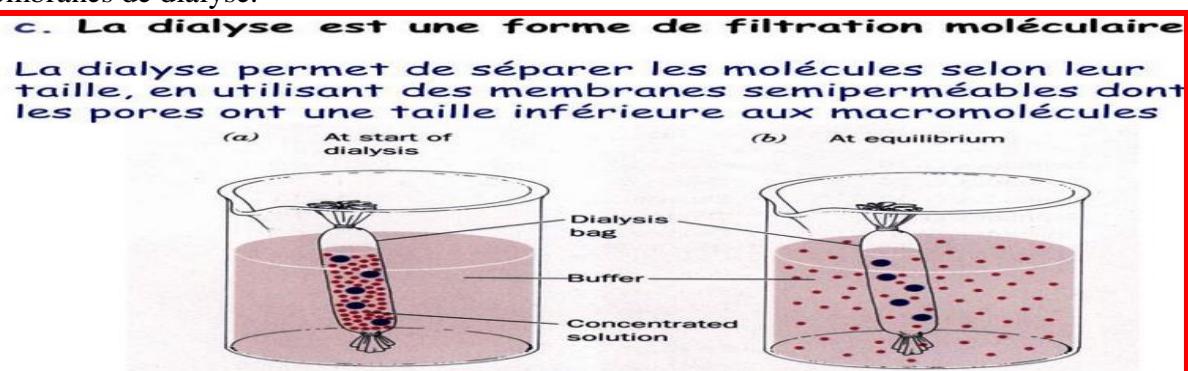
La séparation des substances selon leurs capacités à franchir une membrane de dialyse. Principe basé sur la différence de vitesse de diffusion entre molécules de tailles différentes à travers une membrane de dialyse. Les molécules de tailles ou dimensions supérieures aux diamètres des pores de la membrane restent d'un côté de la membrane. Les molécules les plus petites, diffusent facilement à travers la membrane.



Les molécules diffusibles traversent la membrane selon leur gradient de concentration \Rightarrow déplacement net des molécules du côté le plus concentré vers le côté le moins concentré.

À l'équilibre, les concentrations de chaque espèce diffusible seront égales de part et d'autre.

La dialyse permet de séparer les cristalloïdes des colloïdes \Rightarrow Les colloïdes ne traversent pas les membranes de dialyse.



I.3.3. Membranes de dialyse

Les membranes à dialyse utilisé en laboratoire se présente sous forme de cylindre allongé qu'il faut permet aux 2 extrémités, lorsque il est remplie de liquide qu'on veut dialyser, la membrane cylindrique prend le nom de boudin de dialyse, ces membranes sont caractérisées par une limite d'exclusion «cut-off » ou seuil de coupure ⇒ donne une idée de la taille des molécules qui ne pourront pas la traverser (de masse supérieure à la limite) et de celles qui pourront diffuser (de masse inférieure à la limite).

- ❖ Le cut-off ⇒ représente la taille maximale des molécules qui peuvent passer la membrane semi-permeable. Le cut-off s'exprime en masse moléculaire.
- ❖ Autrefois, on utilisait ⇒ le parchemin, la vessie de porc et la baudruche.
- ❖ Les membranes en collodium de préparation extemporanée ne sont plus utilisées.
- ❖ Actuellement, on emploie les membranes de cellulose modifiée transparentes ou opaques, rigides ou souples. Les membranes en esters de cellulose sont adaptées aux protéines.

I.3.4. Facteurs influençant la dialyse (vitesse de diffusion d'une substance)

- ❖ Une membrane de dialyse ne doit pas être chargée électriquement ⇒ diminution les phénomènes parasites ⇒ répulsion par charge identique ou adsorption sur la membrane du produit à dialyser ⇒ utilisation de celluloses modifiées.
- ❖ Épaisseur de la membrane ⇒ plus elle est faible, plus la vitesse de dialyse sera grande.
- ❖ Rapport surface de la membrane/volume de la solution à dialyser ⇒ la vitesse augmente avec la surface de la membrane.
- ❖ Température ⇒ la vitesse de diffusion d'une substance s'élève avec l'augmentation de la T° ; elle amplifie l'agitation des molécules ⇒ augmentant la probabilité pour une molécule donnée de traverser la membrane.
- ❖ La dialyse dépend également du pH de liquide à dialysé et de celui de contre dialyse.

I.3.5. Méthodologie

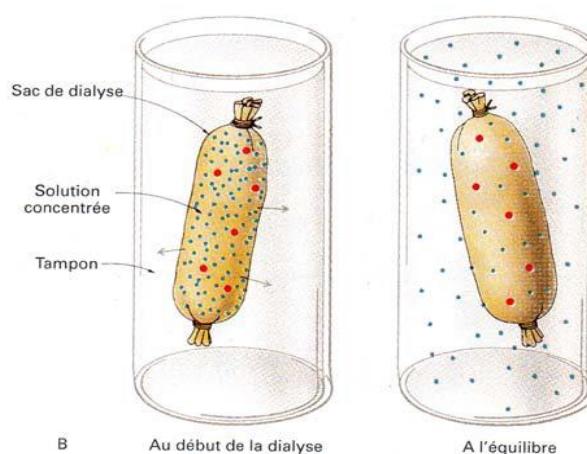
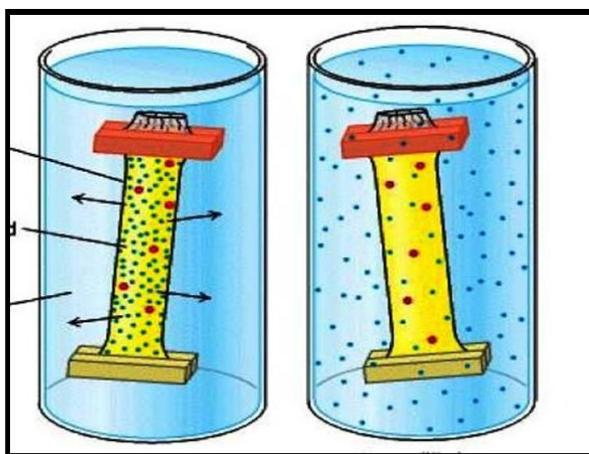
Il existe 3 types de montage pour faire des dialyses :

- ✓ Dialyse en milieu clos
- ✓ Dialyse en continue
- ✓ Electro-dialyse

I.3.5.1. Dialyse en milieu clos

Les membranes de dialyse se présentent sous forme de cylindre allongé qu'il faut fermer aux deux extrémités par un nœud.

Ce cylindre contient le liquide à dialyser ⇒ le cylindre prend le nom de boudin de dialyse. Le boudin est placé dans un récipient contenant le liquide contre lequel s'effectue la dialyse ou liquide de contre-dialyse.



NB :

Pour l'élimination complète des molécules diffusibles :

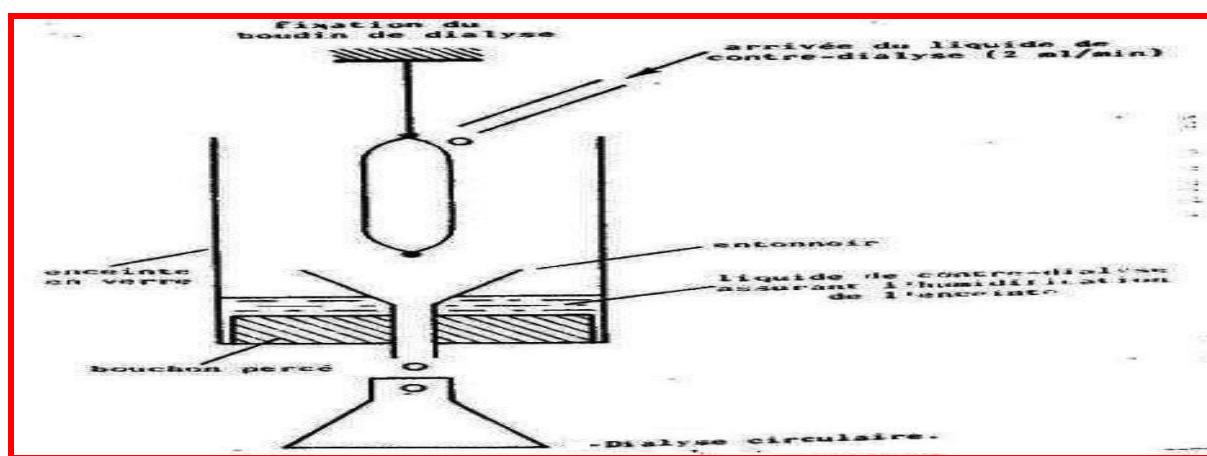
- ✓ assurer une agitation convenable du liquide de contre-dialyse \Rightarrow évite la formation de gradients de concentration des substances diffusibles dans le récipient contenant le liquide de contre-dialyse.
- ✓ renouvellement du liquide de contre dialyse \Rightarrow accélération de la dialyse \Rightarrow disparition des substances diffusibles (dialyse extensive).
- ❖ Dilution du liquide à dialyser :
 - Le contenu du sac à dialyse est souvent plus concentré que le liquide de contre-dialyse.
 - l'eau, par osmose, entrera dans le sac de dialyse \Rightarrow courant endosmotique.
 - Augmentation du volume de liquide dans le sac \Rightarrow dilution de l'échantillon.

I.3.5.2. Dialyse en continu

a) Dialyse circulaire

Permet une élimination plus importante des molécules diffusibles que la dialyse en milieu clos.
Le boudin est exposé à un courant continu du solvant désiré. Le courant continu du liquide de contre dialyse :

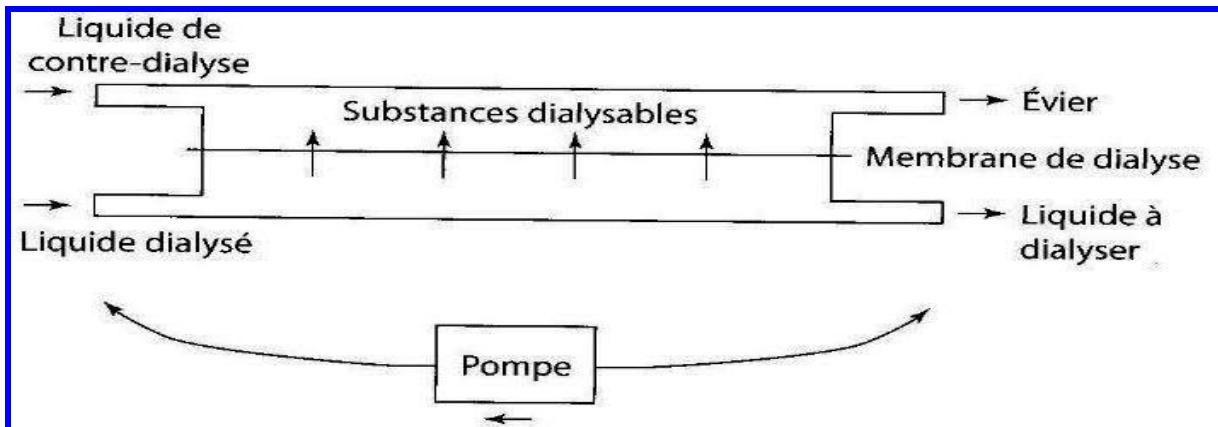
- \Rightarrow Les petites molécules n'atteignent jamais une concentration d'équilibre.
- \Rightarrow Continuent de diffuser en dehors du sac à dialyse.



b) Dialyse sur grands volumes

La dialyse s'effectue sur une grande surface. Le liquide à dialyser passe au contact du liquide de contre-dialyse dont il n'est séparé que par une membrane.

Le liquide de contre-dialyse est renouvelé en permanence. Le liquide de dialyse repasse sans cesse dans le système grâce à une pompe.



I.3.5.3. Électrodialyse

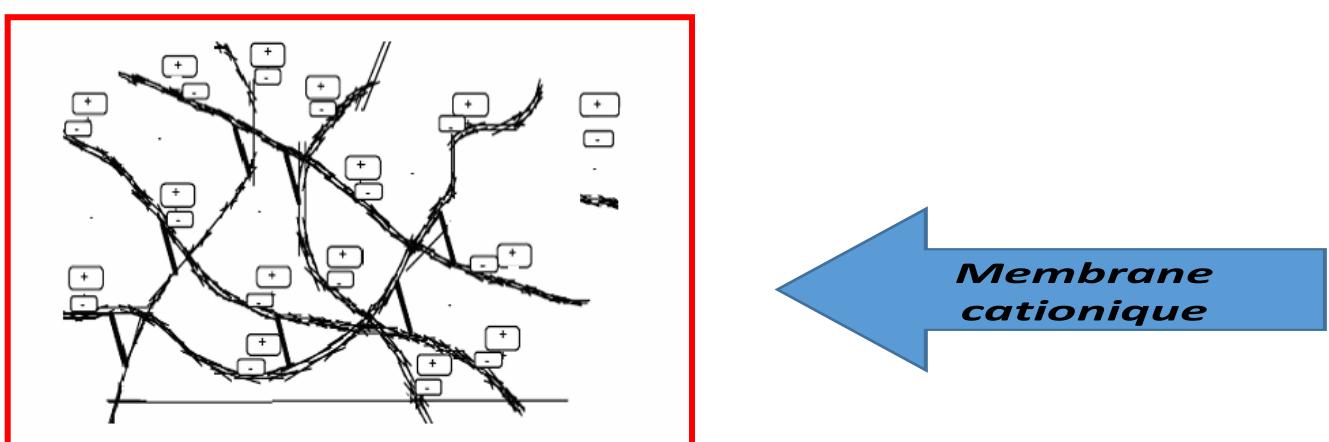
A. Définition

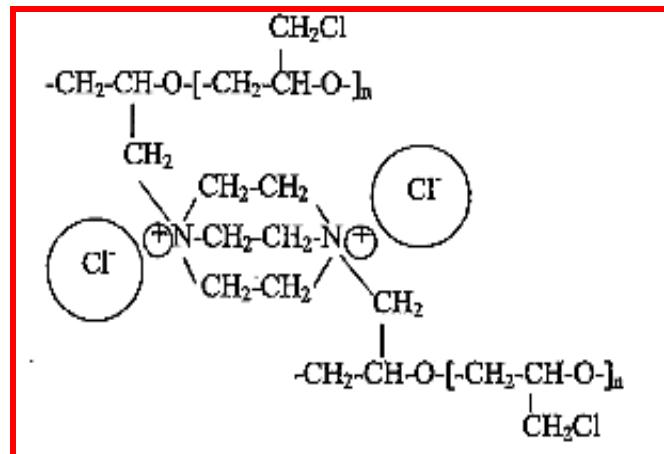
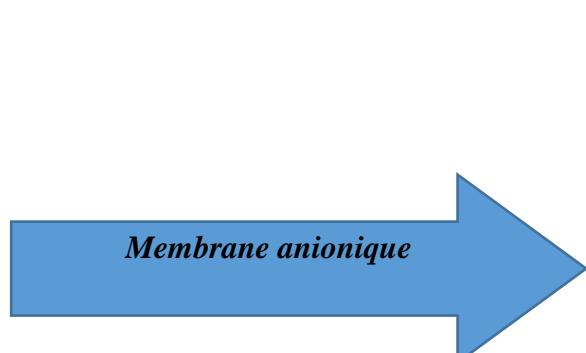
Electrodialyse est un procédé de nature électrochimique. Il permet d'extraire en partie ou en totalité les ions contenus dans une solution, en conservant des substances pas ou très peu ionisées.

Electrodialyse est une dialyse réalisée sous l'influence d'un champ électrique \Rightarrow accélération de la diffusion.

L'extraction des ions se fait par migration des ions à travers des membranes sélectives (anioniques ou cationiques).

- Les membranes cationiques (MC) \Rightarrow constituées de polystyrène sulfonaté ;
- Les membranes anioniques (MA) \Rightarrow constitués de polystyrène avec des ammoniums quaternaires.

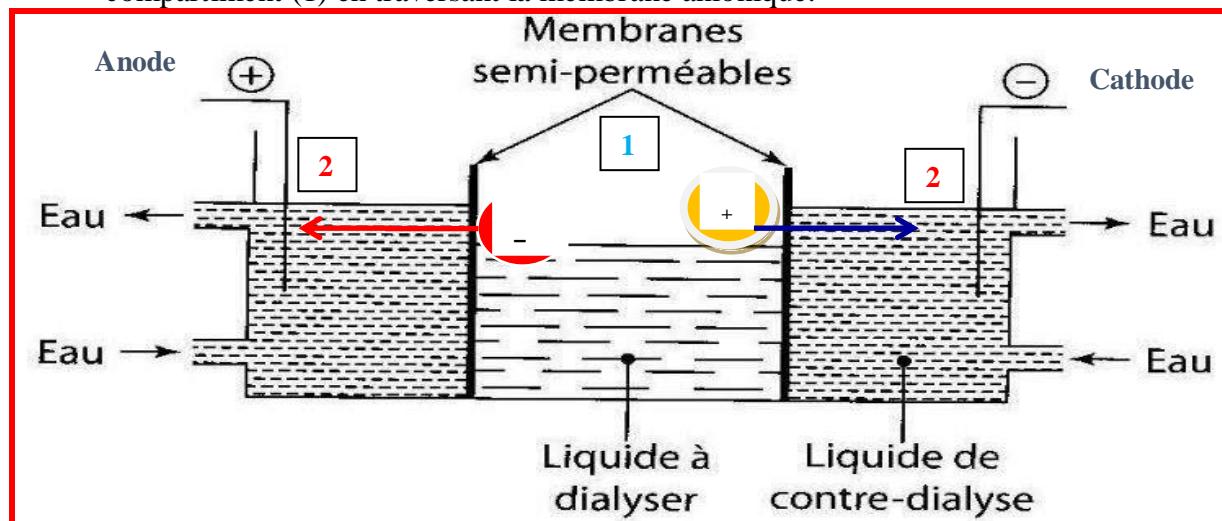




B. Principe

Un électrodialyseur fonctionne de la manière suivante :

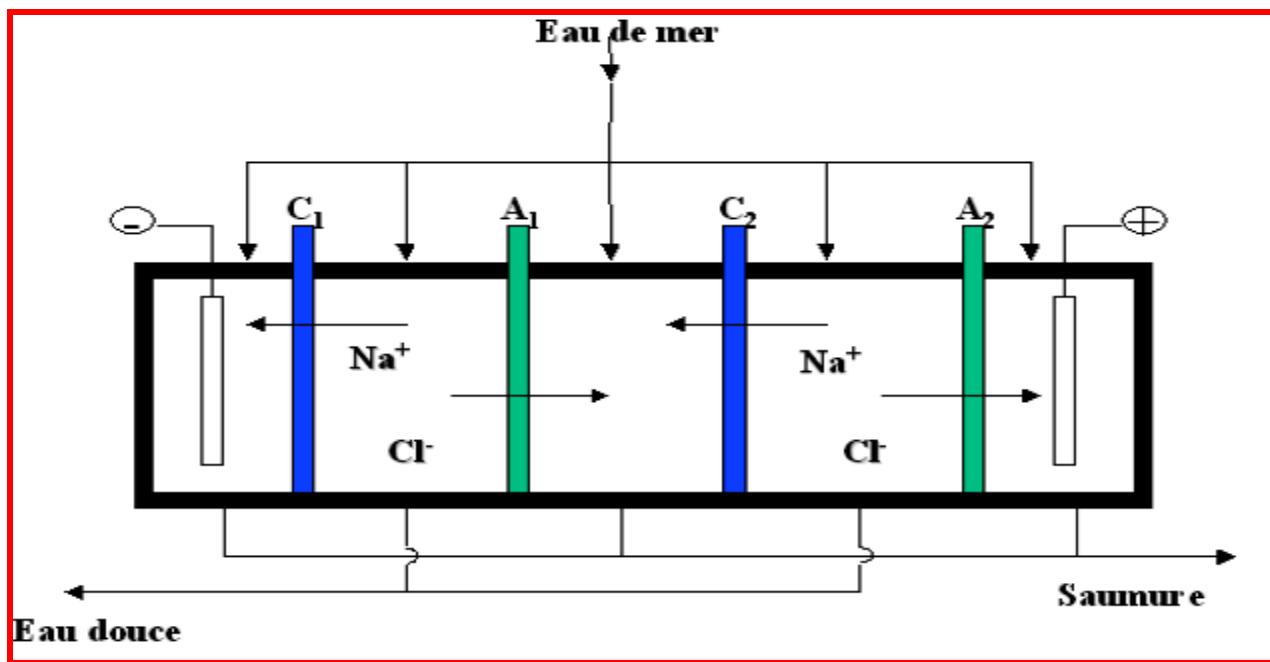
- 2 compartiments (1) et (2) séparés par des membranes alternativement anioniques et cationiques.
- Seuls les anions peuvent traverser une membrane anionique et seuls les cations peuvent traverser une membrane cationique :
 - Les cations migrent dans le sens du courant électrique ⇒ Ils sortent du compartiment (1) en traversant la membrane cationique ;
 - Les anions migrent dans le sens inverse du courant électrique ⇒ ils sortent du compartiment (1) en traversant la membrane anionique.



- ✓ En conséquence, le compartiment (1) s'appauvrit en sel dissous.
- ✓ Les particules qui ne portent pas de charge électrique ne sont pas éliminées.
- ✓ Les ions minéraux sont ainsi éliminés sans perte de produits organiques.
- ✓ L'élévation thermique produite par le courant ne permet pas cette utilisation avec des produits thermolabile.

NB

L'électrodialyse est utilisée pour le dessalement d'eau de mer. En fin de chaîne de traitement on récupère à la fois de l'eau douce et du saumure.



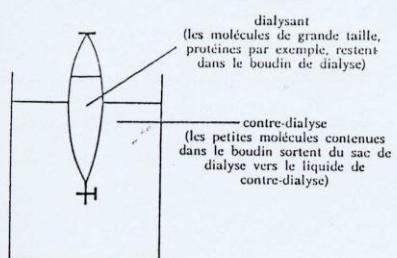


Fig. 1-64. Schéma général d'une dialyse.

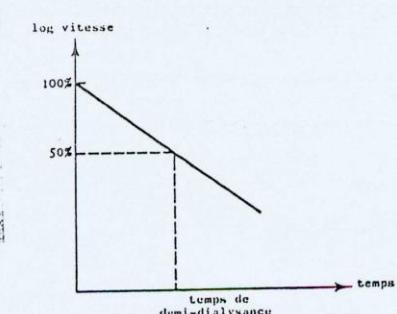


Fig. 1-66. Mesure du temps de demi-dialysance.

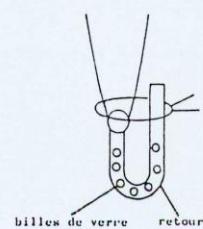


Fig. 1-67. Fermeture des bouchons de dialyse.

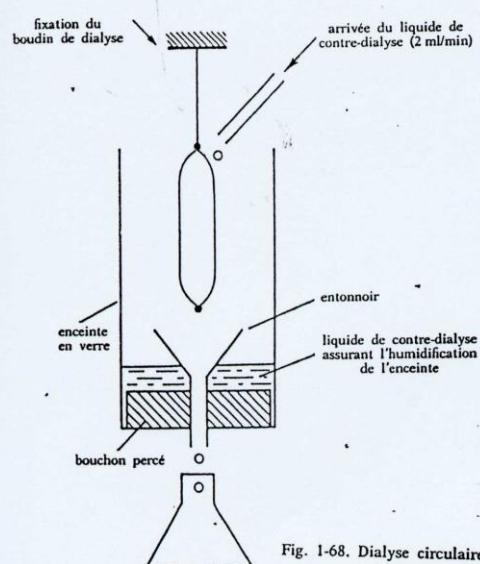


Fig. 1-68. Dialyse circulaire.

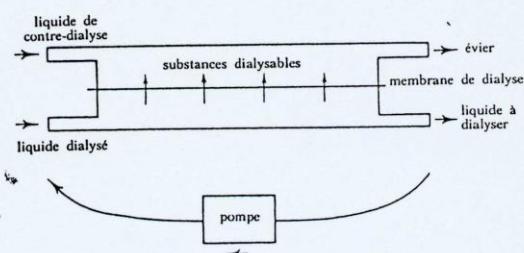


Fig. 1-69. Dialyse en flux continu.

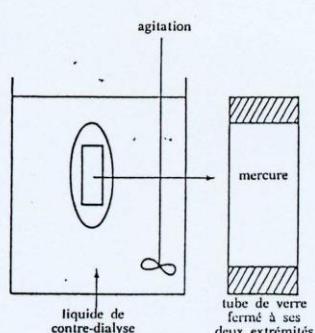


Fig. 1-70. Dialyse sur petits volumes.

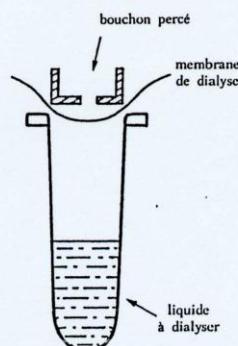


Fig. 1-71. Dialyse de petits volumes.

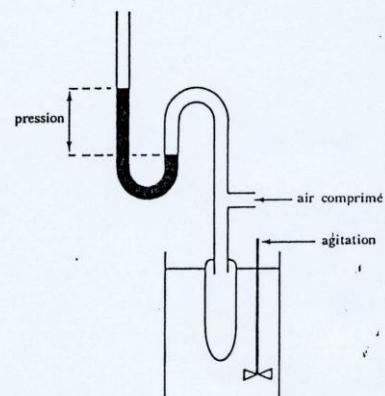


Fig. 1-72. Dialyse à volume constant.

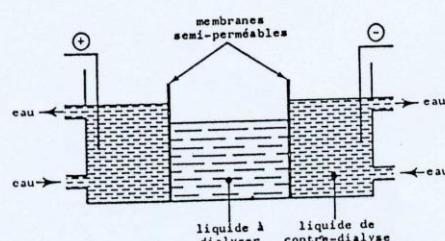


Fig. 1-73. Electrodialyse.