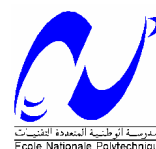


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

**ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE**

**Département du génie de l'Environnement**

**Laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés (BIOGEP)**



## **MEMOIRE DE MAGISTER**

En vue de l'obtention du grade de

**Magister en Génie de L'Environnement**

Option : **Biotechnologies**

**THEME :**

Récupération des protéines d'un rejet marin par une technique  
membranaire

Etudié par :

**Mme OULD ALI ép. KACHA Hassina**

**Ingénieur d'Etat en Génie de L'Environnement**

Soutenu le 22 Juin 2008 Devant le jury composé de :

<b>Président du jury :</b>	N. MAMERI	Professeur	E.N.P.
<b>Promotrice :</b>	N. HAIDER-ABDI	Maître de conférences	E.N.P.
<b>Co-Promoteur :</b>	M. S. BENHABILES	Chargé de Cours	U.M.M.T.O.
<b>Examineurs :</b>	D. ABDESSEMED	Maître de conférences	U.S.T.H.B.
	R. BOUARAB	Maître de conférences	E.N.P.
	M. DROUCHE	Maître de conférences	E.N.P.

**Année Universitaire 2007 – 2008**

ENP- 10 avenue Hacén Badi – El Harrach - ALGER



## REMERCIEMENTS

*Ce travail a été réalisé au laboratoire des biotechnologies environnementales de l'École Nationale Polytechnique (E.N.P.). Sous la direction de monsieur le professeur N. Mameri.*

*Je tiens tous d'abord à remercier le Pr. N. Mameri pour la confiance qu'il m'a accordé en m'accueillant au sein de son équipe du laboratoire des biotechnologies environnementales (BIOGEP).*

*Je tiens à remercier vivement ma promotrice Madame N. Abdi, Maître de conférences à l'E.N.P., pour m'avoir encadrer, conseiller et aider à réaliser le présent travail, ainsi que pour sa générosité, sa compréhension et sa gentillesse.*

*Un grand merci pour mon co-promoteur, Monsieur M.S. Benhabiles Chargé de cours à l'U.M.M.T.O., pour sa gentillesse, ces conseils et suggestions prodiguée tout le long de la réalisation de ce travail*

*Ma gratitude s'adresse à Monsieur H.Lounici pour sa disponibilité, ses conseils et surtout pour sa patience. Qu'il trouve ici mes meilleurs remerciements et l'expression de mon profond respect.*

*Mes remerciements s'adressent à Monsieur N.Mameri Professeur à l'E.N.P., pour l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de ma soutenance.*

*Je tiens à remercier également le Monsieur R. Bouarab, Maître de conférences à l'E.N.P., Monsieur D. Abdessemed, Maître de conférences à l'U.S.T.H.B., et Monsieur M. Drouiche, Maître de conférences à l'E.N.P., pour avoir accepté d'examiner mon travail.*

*Je remercie tous mes collègues du laboratoire biotechnologies, Samira Slam, Samira Benchaita, Hanane Hamadou, Hassiba, Kenza, wassila, soraya, Assira,*

*Hassiba, sans oublier Malya Abdelouhab qui m'ont soutenue depuis le début de mon travail.*

*Je remercie également Monsieur A. Nouar, Maître de conférences à l'U.S.T.H.B., pour ses conseils ainsi que son aide prodiguée dans l'identification de notre espèce.*

*Mes remerciements s'adressent également à :*

*Madame Hamida, secrétaire du département du Génie de l'environnement pour sa gentillesse.*

*Monsieur Ahmed Zaid Chef du département Génie chimique.*

*Soumia, Ingénieur du laboratoire de technologie alimentaire, INA, pour son aide en acceptant de nous faire des analyses au sein de leur laboratoire.*

*Sans oublier les enseignants qui ont contribué à ma formation, du primaire à l'université. En particulier les enseignants du département de Génie de l'Environnement.*

*Finalement, je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance, mes meilleurs remerciements et l'expression de mon profond respect.*

# Sommaire

Introduction.....	1
<b>Partie Bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Production de la chitine.....</b>	<b>5</b>
I.1 Introduction.....	5
I.2 Définition de la chitine.....	5
I.3 Propriétés de la chitine et ces dérivés (chitosane).....	6
I.4 Les sources de la chitine.....	7
I.5 Préparation de la chitine .....	8
I.5.1 Méthode chimique.....	8
I.5.1.1 Déminéralisation.....	8
I.5.1.2 Déprotéinisation.....	9
I.5.1.3 Blanchiment.....	10
I.5.2 Méthode biologique.....	10
I.5.3 Avantages et inconvénients des méthodes chimiques et biologiques.....	11
I.6 Applications de la chitine et chitosane.....	12
I.6.1 Applications biomédicales.....	12
I.6.2 Applications environnementales et contrôle de la pollution.....	12
I.6.3 Applications à l'industrie alimentaire.....	12
I.6.4 Application à l'agriculture .....	13
I.6.5 Autres applications.....	13
<b>Chapitre II : Les protéines.....</b>	<b>15</b>
II.1 Introduction.....	15
II.2 Définition des protéines.....	15
II.3 Rôle des protéines.....	16
II.4 Classification.....	16

II.4.1 Structure primaire.....	17
II.4.2 Structure secondaire.....	17
II.4.3 Structure tertiaire.....	18
II.4.4 Structure quaternaire.....	18
II.5 Évaluation de la qualité nutritive des protéines.....	18
II.6 Altération de la structure des protéines dénaturation.....	19
II.7 Acides aminés.....	20
<b>Chapitre III : Ultrafiltration .....</b>	<b>23</b>
III.1 Introduction.....	23
III.2 Principe.....	23
III.3 Notions et mécanismes de base.....	24
III.3.1 Définitions.....	24
III.3.2 Lois de comportement.....	24
III.3.2.1 Modèle du tamis moléculaire (Loi de Darcy).....	25
III.3.2.2 Phénomène de polarisation de concentration.....	26
III.3.2.2.1 Modèle du film.....	27
III.3.2.2.2 Modèle de la pression osmotique (loi de transfert de solvant).....	28
III.3.2.2.3 Modèle du gel.....	29
III.3.3 Taux de rejets d'une membrane d'ultrafiltration.....	29
III.4 Les membranes d'ultrafiltration .....	30
III.5 Les module d'ultrafiltration .....	31
III.6 Modes de fonctionnement.....	33
III.6.1 Système discontinu.....	33
III.6.2 Système continu .....	33
III.6.3 Système continu avec recyclage partiel du retentât.....	34
III.6.4 Fonctionnement en diafiltration .....	34
III.7 Mécanisme de colmatage.....	35
III.7.1 Principales origines du colmatage.....	35
III.7.2 Moyens de lutte contre le colmatage .....	36

III.7.3 Régénération des membranes.....	36
III.8 Amélioration du flux de perméat en ultrafiltration par promoteurs de turbulence.....	37
III.9 Les principales applications de l’ultrafiltration en industrie.....	38
III.9.1 Industrie laitière.....	39
III.9.2 Industrie agro-alimentaire et de la boisson.....	39
III.9.3 Industrie du sucre et des polysaccharides.....	40
III.9.4 Industrie pharmaceutique et biologique.....	40
III.9.5 Epuration biologique des eaux résiduaires .....	40
III.9.6 Industrie automobile.....	41
III.9.7 Industrie électronique.....	41
III.9.8 Industrie textile.....	41
III.9.9 Applications médicales et biomédicales.....	41

## **Partie Expérimentale**

<b>Chapitre IV : Matériel et méthodes.....</b>	<b>43</b>
IV.1 Introduction.....	43
IV.2 Matériel.....	43
IV.2.1 La carapace de crevette.....	43
IV.2.2 Dispositif d’ultrafiltration.....	44
IV.2.2.1 Premier Dispositif.....	44
IV.2.2.2 Deuxième Dispositif.....	45
IV.3 Méthodes.....	51
IV.3.1 Préparation de la Poudre de carapace.....	51
IV.3.2 Analyse physico-chimique de la carapace.....	52
IV.3.2.1 Détermination du pH à10%(masse/volume).....	52
IV.3.2.2 Mesure de l’humidité.....	53
IV.3.2.3 Détermination du taux de cendres.....	53
IV.3.2.4. détermination de la teneur en chitine.....	53
IV.3.2.5. Dosage de l’azote total par la méthode de kjeldahl (AFNOR, 1982).....	54
IV.3.3 Optimisation des paramètres de la déminéralisation .....	56
IV.3.4 Optimisation des paramètres de la déprotéinisation .....	57

IV.3.5 Procédé d'ultrafiltration.....	58
IV.3.5.1 Fonctionnement du procédé d'ultrafiltration à concentration constante.....	58
IV.3.5.1.A Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane.....	58
IV.3.5.1.B Tracé des courbes de polarisation.....	59
IV.3.5.2 Fonctionnement du procédé d'ultrafiltration en discontinu.....	60
<b>Chapitre V : Résultats et discussions.....</b>	<b>61</b>
V.1 Introduction.....	61
V.2 Propriétés physico-chimique de la carapace.....	61
V.3 Optimisation de la déminéralisation.....	62
V.3.1 Optimisation de la concentration en acide chlorhydrique.....	62
V.3.2 Optimisation de la durée de déminéralisation.....	63
V.3.3 Optimisation du volume d'acide chlorhydrique.....	64
V.4 Optimisation des paramètres de la déprotéinisation.....	66
V.4.1. Optimisation de la température de réaction de déprotéinisation.....	66
V.4.2. Optimisation de la concentration en hydroxyde de sodium.....	67
V. 4.3 Optimisation de la durée de déprotéinisation.....	68
V.4.4 Optimisation du volume d'hydroxyde de sodium.....	69
V.5 Procédé d'ultrafiltration.....	71
V.5.1.Calcul de perméabilité à l'eau de la membrane.....	71
V.5.2 Influence des paramètres hydrodynamiques sur le flux de Perméat.....	73
V.5.2.1 Essai avec la membrane M5.....	73
V.5.2.1.1 Influence de la pression et de la vitesse de recirculation sur le flux Du perméat.....	73
V.5.2.2 Essai avec la membrane CERAVÉR ®.....	75
V.5.2.2.1 Influence de la pression et de la vitesse de recirculation sur le flux du perméat.....	75
V.5.2.2.2 Influence du débit de recirculation sur les pertes de charge.....	77
V.5.2.2.3. Bilan économique.....	78
V.5.3. Essai de concentration des protéines.....	81



V.5.4 Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane après ultrafiltration.....	87
V.5.5 Mesure du taux d'abattement de la demande chimique en oxygène (DCO) du perméat .	89
V.5.6 Régénération des membranes.....	90
V.6 Conclusion.....	90
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>91</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>93</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>101</b>



## Liste des figures

<b>Fig. 1 :</b> Représentation schématique d'une chaîne de la chitine.....	6
<b>Fig. 2 :</b> Représentation schématique d'une technique membranaire et de son principe de fonctionnement.....	24
<b>Fig. 3 :</b> Représentation schématique d'une installation fonctionnant en discontinu, avec recirculation (en pointillé). .....	33
<b>Fig. 4 :</b> Représentation schématique d'une installation fonctionnant en continu.....	34
<b>Fig. 5 :</b> Schéma de principe d'un fonctionnement en diafiltration.....	34
<b>Fig. 6:</b> <i>Parapenaeus longirostris</i> .....	44
<b>Fig. 7 :</b> Représentation schématique d'une installation fonctionnant en continu.....	45
<b>Fig. 8 :</b> Représentation schématique d'une installation fonctionnant en continu.....	48
<b>Fig. 9 :</b> Photo microscopique d'une coupe du support de la membrane.....	50
<b>Fig. 10:</b> Principe de la filtration tangentielle dans un multi canal.....	51
<b>Fig. 11 :</b> Etapes de la préparation de la chitine .....	52
<b>Fig. 12 :</b> Fonctionnement du procédé d'ultrafiltration à concentration constante.....	59
<b>Fig. 13 :</b> Fonctionnement du dispositif d'ultrafiltration en discontinu.....	60
<b>Fig. 14 :</b> Evolution du taux de déminéralisation en fonction de la concentration en acide chlorhydrique .....	63
<b>Fig. 15 :</b> Evolution du taux de déminéralisation en fonction de la durée de déminéralisation .....	64
<b>Fig. 16 :</b> Optimisation du volume d'acide chlorhydrique .....	65
<b>Fig. 17 :</b> Influence de la température sur la réaction de déprotéinisation .....	67
<b>Fig. 18 :</b> Influence de la concentration en hydroxyde de sodium sur le taux de déprotéinisation .....	68
<b>Fig. 19 :</b> Evolution du taux de déprotéinisation en fonction de la durée de réaction .....	69
<b>Fig. 20 :</b> Influence du volume d'hydroxyde de sodium sur le taux de déprotéinisation .....	70
<b>Fig. 21 :</b> Perméabilité à l'eau de la membrane M5 avant UF .....	72
<b>Fig. 22 :</b> Perméabilité à l'eau de la membrane CERAVER ® avant UF.....	73

<b>Fig. 23</b> : Influence de la pression transmembranaire et de la vitesse de recirculation sur le flux du perméat membrane M5.....	74
<b>Fig. 24</b> : Influence de la pression transmembranaire et de la vitesse ce recirculation sur le flux du la perméat membrane CERAVER®.....	76
<b>Fig. 25</b> : Variation des pertes de charge en fonction du débit de recirculation.....	77
<b>Fig. 26</b> : Variation du coût opératoire en fonction de la pression et de la vitesse de recirculation.....	80
<b>Fig. 27</b> : Variation du facteur de concentration en fonction du temps M5.....	82
<b>Fig. 28</b> : Variation du facteur de concentration en fonction du temps CERAVER® .....	83
<b>Fig. 29</b> : Variation du flux du perméat en fonction du temps.....	84
<b>Fig. 30</b> : Variation de la concentration du retentât et du perméat en fonction du temps. Membrane M5.....	85
<b>Fig. 31</b> : Variation de la concentration du retentât et du perméat en fonction du temps. Membrane CERAVER®.....	85
<b>Fig. 32</b> : Evolution du taux de rejet en fonction tu temps.....	86
<b>Fig. 33</b> : Perméabilité à l'eau de la membrane M5 .....	87
<b>Fig. 34</b> : Perméabilité à l'eau de la membrane CERAVER.....	88
<b>Fig.35</b> : Evolution de la DCO en fonction du temps d'ultrafiltration.....	89

## Liste des Tableaux

<b>Tableau N° 1</b> : Production mondiale de crustacés.....	2
<b>Tableau N° 2</b> : Production algérienne des crustacés et des crevettes ... ..	2
<b>Tableau N° 3</b> : Sources potentielles de chitine .....	8
<b>Tableau N° 4</b> : Contenu en acides aminés de la protéine de carapace de crevette .....	21
<b>Tableau N° 5</b> : Différentes géométries membranaires et quelques-unes de leurs caractéristiques.....	32
<b>Tableau N° 6</b> : Résumé des caractéristiques générales de l'installation.....	46
<b>Tableau N° 7</b> : Légende de la figure (8).....	49
<b>Tableau N° 8</b> : Paramètres physico-chimique de la carapace.....	61
<b>Tableau N° 9</b> : Les conditions optimales de déminéralisation.....	65
<b>Tableau N° 10</b> : Les conditions optimales de la déprotéinisation.....	70



# Introduction

La production de poissons marins et de larves de crevettes sont probablement les plus développées des activités aquacoles côtières à terre, et sont concentrées dans les pays nord méditerranéens qui exportent une partie de leur production. En ce qui concerne la production de l'aquaculture marine et de l'élevage en eau saumâtre, les données indiquent un taux de croissance annuel moyen d'environ 12 % de 1996 à 2000, contre 9 pour cent de 1994 à 1998 (FAO, 2002).

Pour la part de l'aquaculture dans l'économie, il a été constaté qu'en 2000, quinze espèces seulement représentaient 93% de la valeur totale de l'aquaculture. (Franco, 2003). Cette situation résulte pour une grande partie de l'effet combiné d'une demande concentrée sur les produits de haute gamme que constituent les espèces nobles (saumon, langouste, crevette, crabe, coquilles saint jakes. .etc.) et d'une insuffisance de ressources accessibles pour satisfaire la demande.

Le développement de l'aquaculture a aussi des effets spécifiques sur l'environnement. Les principaux rejets générés par la pisciculture marine intensive sont sous forme particulière, riche en matière organique, et sous forme dissoute, riche en nutriments inorganiques rejetés dans le milieu naturel (Barak *et al.*, 2000). Ces effluents peuvent modifier l'équilibre du bassin récepteur, provoquant la diminution de la concentration en oxygène et l'augmentation du pH, contribuant à la mortalité de divers organismes aquatiques (Smith *et al.*, 1999). Ce phénomène appelé eutrophisation est le résultat de l'augmentation de la concentration en nutriments par rejet direct ou par dégradation de matière organique particulière.

Dans le cadre de la préservation de l'environnement, et de la valorisation des sous produits de l'industrie halieutique ; la chitine figure comme parmi les produits à haute valeur ajoutée extraite à partir des carapaces de crustacés à promouvoir (Roller et Covill, 1999). L'objectif vise l'obtention d'un produit peu coûteux, de haute valeur nutritionnelle, conservable longtemps et stable.

Selon les données de la F.A.O, la production mondiale des crustacés est de 8.856.341 tonnes métriques en 2005, en enregistrant une prédominance de la production de crevette qui est de 5.238.843 tonnes métriques. Le tableau N° 1 résume la production mondiale de crustacés. En Algérie ; la production de la crevette est la plus importante par rapport aux autres crustacés. Le tableau N° 2 résume les statistiques de cette production. (Ministère de la pêche et des ressources halieutiques).

**Tableau N° 1 : Production mondiale de crustacés (F.A.O site électronique, 2005)**

<b>Espèces</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>
Crustacés d'eau douce	1.052.305	1.221.011	1.479.719	1.066.931
Crabes	1.233.194	1.247.914	1.301.775	1.506.925
Homards et langoustes	227.669	221.796	224.913	224.109
crevettes	4.241.001	4.288.465	4.348.146	5.328.843
Krill, crustacés planctoniques	114.430	104.218	125.987	117.120
Crustacés marins divers	1.406.201	1.466.886	1.410.288	567.629

-Unité : tonne métrique.

**Tableau N° 2 : Production algérienne des crustacés et des crevettes. (Ministère de la pêche et des ressources halieutiques, 2006)**

<b>Années</b>	<b>Crustacés</b>	<b>Crevette blanche</b>	<b>Crevette grise</b>	<b>Crevette rouge</b>
<b>2000</b>	4822	2696.38	0.08	1115.76
<b>2001</b>	3121	2107.37	2.32	739.94
<b>2002</b>	3520	1653.58	2.7	892.75
<b>2003</b>	2758	1383.86	1.14	1026.71
<b>2004</b>	2775	1133.95	0.93	1310.23
<b>2005</b>	2780	1151	6.03	1541

-Unité : tonne métrique.

Bien que l'on constate que la production algérienne de crevette est faible par rapport à la production mondiale ; la valorisation de ces déchets reste utile, vu la grande valeur ajoutée, et les vastes applications que présente la chitine.

Notre présent travail consiste en la valorisation d'un déchet qui est la carapace de crevette *Parapenaeus longirostris*, par récupération de la chitine (solide) et des protéines en solutions qui sont un sous produit de la production de cette chitine. Ainsi que la concentration de ces protéines par une méthode membranaire qui est l'ultrafiltration.



Cette étude a été réalisée selon les étapes suivantes :

- L'optimisation des paramètres physico-chimiques tels que la température, le temps de réaction, le volume et la concentration de la solution (acides ou bases) pour une déminéralisation et une déprotéinisation maximale de la carapace.
- Optimisation des paramètres hydrodynamiques de l'ultrafiltration, comme la pression transmembranaire et la vitesse de recirculation ; pour une première installation à l'échelle laboratoire et une deuxième installation à l'échelle semi pilote.
- Essai de concentration des protéines par ultrafiltration dans les deux installations.

Pour ce faire, ce mémoire se divise en deux parties :

Une partie théorique qui regroupe des généralités sur la chitine, les protéines ainsi que les procédés membranaires (ultrafiltration).

Une partie expérimentale qui comporte deux chapitres : le premier dans le quel nous présenterons les conditions expérimentales de notre étude ainsi que les différentes méthodes d'analyses utilisées. Le second chapitre consistera à l'interprétation des différents résultats obtenus.



# Chapitre I

## Production de la chitine

### I.1 Introduction

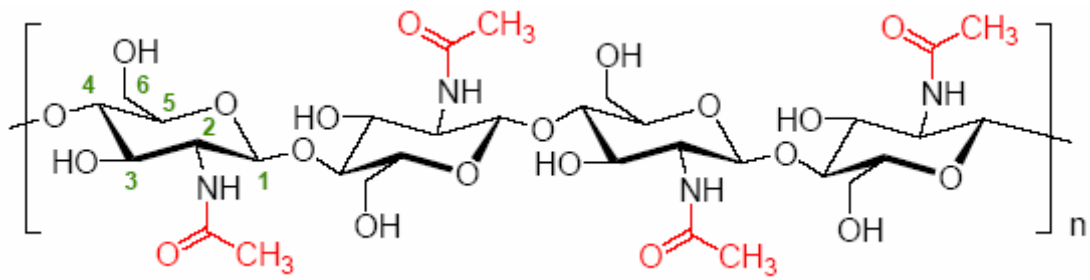
La chitine est le polymère le plus répandu dans la nature après la cellulose. Ce polymère hautement hydrophile est présent dans la cuticule ou exosquelette des insectes, dans la paroi des champignons et de certaines algues chlorophycées, mais surtout dans les carapaces d'invertébrés marins et d'eau douce comme les crevettes, crabes, homards, krill. Les carapaces les plus exploitées sont celles des crevettes et des crabes à cause de leur teneur élevée en chitine qui, représente 14% -27% et 13%- 15% respectivement (**No et al., 1989**).

Dans certains pays (Japon, Etats-Unis, etc...), les résidus chitineux commencent à être revalorisés. Des usines d'extraction et de la production de la chitine et du chitosane ont été mises au point. On utilise ces produits ou leurs dérivées notamment en agriculture, dans l'industrie des cosmétiques, dans l'alimentation, dans le domaine de la santé, dans le traitement des déchets, etc. (**Leclerc, 1997**).

### I.2 Définition de la chitine

La chitine est un bio polymère de haut poids moléculaires ( $1.033 \times 10^6$  à  $2.53 \times 10^6$  Da), non toxique et biodégradable. Elle fait partie des trois polysaccharides les plus répandus dans la nature à savoir la cellulose et l'amidon. La chitine constitue une grande partie du tissu des carapaces des arthropodes (crustacés, mollusque), insectes et champignons.

C'est un polysaccharide constitué d'une chaîne linéaire d'unités de 2-acétamido-2-desoxy-D-glucose ( $C_8H_{12}O_5N$ )<sub>n</sub> avec  $n \gg 1$  (**Kramer et al., 1985**), liées entre elles par des liaisons osidiques  $\beta(1-4)$  (figure N° 1). C'est ce type de liaisons qui relie les groupements de glucose dans la cellulose.



**Figure N° 1 :** Représentation schématique d'une chaîne de la chitine.

Dans les carapaces de crevettes, la chitine existe sous forme de composés liés aux polypeptides et aux carbonates de calcium.

La chitine a été dans un premier temps découverte en 1811 par le français spécialiste en botanique, Henri Bracannot ; cependant elle n'a obtenu son nom que 12 ans après quand un autre scientifique français, A. Odier vient la nommer « chitine » du grec « Kitön » qui veut simplement dire « tunique » ou bien « couverture » (**Domard, 1996**). C'est en 1859 que le chimiste Rouget découvre un dérivé de la chitine : le chitosane.

La chitine est un produit naturel issu de la biomasse. Elle a une structure cristalline, et constitue un réseau de fibres organisées. Elle confère la rigidité et la résistance aux organismes qui en contiennent.

### **I.3 Propriétés de la chitine et ses dérivés (chitosane)**

La chitine est un polysaccharide azoté, basique, cationique, de couleur blanchâtre et non toxique. Elle est caractérisée par sa rigidité, sa faible réactivité chimique, ses propriétés biologiques et physico-chimiques.

Le chitosane est un copolymère cationique qui est soluble dans les acides organiques usuels tels que l'acide formique, l'acide acétique, l'acide oxalique et l'acide lactique. C'est un sous produit, obtenu par modification de la structure chimique de la chitine par désacétylation (élimination du radical acétyle). D'autres dérivés sont obtenus par substitution du polymère avec un composé chimique ou une réaction chimique (**Jeon, et al., 2000**).

La chitine et le chitosane sont :

- Biodégradables : se dégradent lentement en des sous produits inoffensifs ; CO<sub>2</sub>, eau, et sucre simple (**Yang et al., 2004**)
- Biologiquement reproductibles : représentent une majeure partie des composants de la biomasse.

La chitine et le chitosane ont la particularité d'être remarquablement basiques contrairement à la plupart des polysaccharides naturels, tels la cellulose, le dextran, la pectine...etc. Cette singularité est utilisée dans plusieurs applications (**Majeti et kumar, 2000**). Ils ne possèdent aucun caractère antigénique (biocompatibles) ; ils sont parfaitement compatibles avec les tissus vivants (**Chung, et al., 2004**). Ils contiennent, également, des groupements amines et hydroxyle chimiquement modifiables, et peuvent être transformés en; gel, poudre, fibres, colloïdes, et films. Le chitosane est capable de piéger les lipides à leur pH d'insolubilisation dans le tube digestif anti-cholestémiants (**Jeon, et al., 2000**). Ce sont, aussi de bons agents de chélation : grâce à leur grand pourcentage en azote (**Majeti et kumar, 2000**).

#### **I.4 Les source de la chitine**

La chitine se trouve naturellement dans les téguments d'insectes, de nématodes et d'invertébrés marins. On en retrouve, également, dans la paroi cellulaire de certaines algues et dans la paroi des champignons (**Kamst et Spaink, 1999 ; Gogev et al., 2003**). Cependant, le pourcentage de chitine présente chez différents organismes varie en fonction de l'espèce et la région (**Mrunal, 2004**).

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tableau 3), elle est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevettes. Pendant longtemps, ces déchets n'étaient pas récupérés et étaient simplement rejetés à la mer après décorticage. La production de chitine permet de valoriser les déchets de l'industrie agroalimentaire en évitant qu'ils soient rejetés à la mer, ce qui engendre des problèmes de pollution car les carapaces des arthropodes (crustacés, céphalopodes...) sont très résistantes à la biodégradation (**Shahidi et Abuzaytoun, 2005; Shahidi et al., 1999**). Les carapaces de crustacés contiennent environ 30-40% de protéine, 30-50% de carbonate de calcium, et 20-30% de chitine par rapport au poids sec (**Johnson et Peniston, 1982**).

Dans la cuticule des arthropodes et précisément les crustacés, la chitine est associée à des composés protidiques variés qui lui donnent une consistance rigide, molle ou élastique (**Grassé,**

1979). La chitine est disposée en lits de fibres incluses dans la matrice protéique (Hamodrakas et al., 2002).

**Tableau N° 3 :** Sources potentielles de chitine (Tolaimate et al, 2003).

Sources de chitine	Teneur en chitine (%)
Bernacle ( <i>Lepas anatifera</i> )	7
Crabe marbré ( <i>Grapsus marmoratu</i> )	10
Crabe rouge ( <i>Portunus puber</i> )	10
Crabe araignée ( <i>Maia squinado</i> )	16
Homard ( <i>Homarus vulgaris</i> )	17
Homard sauterelle ( <i>Scyllarus arctu</i> )	25
Langouste ( <i>Palinurus vulgaris</i> )	32
Ecrevisse ( <i>Astacus fluviatilis</i> )	36
Crevette ( <i>Palaemon fabricius</i> )	22
Seiche ( <i>Sepia officinalis</i> )	20
Calmar ( <i>Loligo vulgaris</i> )	40

## I.5 Préparation de la chitine

Il existe deux méthodes pour la préparation de la chitine à partir de la carapace de crevettes. Ces deux méthodes de production diffèrent considérablement ; cependant, elles nécessitent toutes les deux, une déprotéinisation et une déminéralisation de la carapace.

### I.5.1 Méthode chimique

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (déminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment)

#### I.5.1.1 Déminéralisation

Elle est généralement réalisée par un traitement acide de la carapace sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides utilisés sont HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCOOH à des concentrations de 1 à 10 mol.L<sup>-1</sup> (Jinjiang, 1996). La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante. Cependant, l'acide

chlorhydrique HCl à température ambiante est le plus utilisé afin de dissoudre le carbonate de calcium CaCO<sub>3</sub>. Ce dernier en réagissant avec l'acide chlorhydrique donne naissance à un composé soluble le chlorure de calcium CaCl<sub>2</sub>, qui sera éliminé par un simple lavage (**Fernandez-Kim, 2004**). Pendant le processus de déminéralisation, des mousses indésirables peuvent se former dues à la production de dioxyde de carbone selon la réaction suivante :



**No et al. (1998)** ont recommandé d'utiliser une antimousse commerciale contenant 10% de solution de silicone active.

Le processus de déminéralisation ne dépasse pas 2 à 3 heures lorsqu'il est effectué avec une bonne agitation. Cependant, des temps de 30 minutes jusqu'à 2 jours dus aux méthodes de préparation, ont été cités. Les études ont démontré que le degré de déminéralisation dépend étroitement de la concentration d'acide utilisé. En général, la quantité d'acide utilisée, pour assurer une réaction complète, doit être stœchiométriquement égale ou supérieure à la quantité de minéraux présents dans la carapace (**Tan et Lee, 2002**).

### **I.5.1.2 Déprotéinisation**

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, CaSO<sub>3</sub>, ou Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, de concentrations de 0,1 à 5 mol.L<sup>-1</sup>. La solution d'hydroxyde de sodium (~10 % massique) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 heures à hautes températures (65-100°C). **No et Meyers (1995)** ont rapporté que la proportion du solide à la solution alcaline allant de 1:10 à 1:20 (w/v) est recommandée pour que l'élimination des protéines soit efficace.

Pendant le processus de déprotéinisation, la formation de mousse peut se produire mais la mousse n'est pas intense comme celle du processus de déminéralisation (**Synowiecki et Al-Khateeb, 2003**). Shahidi et Synowiecki (1991) ont suggéré que la déprotéinisation est optimale en utilisant une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium dont le pH doit être plus bas que le point isoélectrique des protéines pour qu'elles précipitent (**Shahidi et Synowiecki, 1991**).

### **I.5.1.3 Blanchiment**

Pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acide et alcalin (**No et al., 1989**). Le pigment dans les carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine. Fox (1973) a détecté un dérivé de  $\beta$ -carotène solidement relié à la chitine de l'exosquelette des crabes rouges (**Fox, 1973**). Le blanchiment est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{NaOCl}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NaHSO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  ou  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les caroténoïdes.

Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane. No et al. (1989) ont pu fabriquer la chitine quasiment blanche par l'extraction avec l'acétone et le séchage pendant 2 heures à la température ambiante, suivi par le blanchiment en utilisant une solution 0,315% d'hypochlorite de sodium pendant 5 minutes avec un rapport du solide au solvant (1:10, w/v) (**No et al., 1989**). Sans l'extraction préalable par l'acétone, le blanchiment doit être effectué plus de 1 heure pour aboutir à un produit blanc acceptable commercialement.

### **I.5.2 Méthode biologique**

L'intérêt croissant à trouver des méthodes alternatives pour l'extraction de la chitine pouvant maximiser l'utilisation des carapaces tout en préservant l'environnement a conduit à l'utilisation d'enzymes protéolytiques et de bactérie protéolytiques pour éliminer une grande partie des protéines liée a la chitine. Quelques auteurs utilisent la papaine, la pepsine et la trypsine à pH 5.5-6.0 à une température de 37.5°C et d'autres ; la protéinase d'une bactérie a pH 7 à 60°C durant 60 heures. (**Gagné, 1993**).

Certains auteurs, ont proposé une méthode simple d'acidification par des bactéries lactiques. Ce processus fait apparaitre deux fractions : la première liquide contenant des protéines, des minéraux et de l'asthaxanthine (pigment des crevettes) et une fraction solide formée de chitine (**Tan et Lee, 2002 ; Yang et al., 2000**).

Lors de la fermentation des déchets de carapaces en présence de bactéries lactiques dans un milieu de culture adéquat, il y a production d'acide lactique ainsi que différentes protéases (**Rao et al., 2000**). L'acide lactique, produit par catabolisme de la source de Carbone, va créer



un milieu de faible pH qui va inhiber la croissance des autres microorganismes du déchet. Le carbonate de calcium, liée à la chitine est éliminé en réagissant avec l'acide lactique, formant du lactate de calcium qui précipite et qui pourra donc être éliminé par un simple lavage (**Tan et Lee, 2002**). La déprotéinisation et la liquéfaction simultanée des carapaces sont dues à des bactéries présentes dans le système intestinal des crustacés, à des enzymes protéolytiques produites par les bactéries lactiques additionnées aux protéases présentes dans le déchet (**Rao et al., 2000**). Des bactéries lactiques ont, également, été utilisées pour l'extraction de la chitine des carapaces de crevettes. (**Arbia, 2007**).

De nombreuses recherches sur l'utilisation des protéases pour la valorisation des rejets solides de poissonneries ont été réalisées. La pepsine est une des enzymes utilisées pour obtenir un concentré protéique de haute valeur nutritionnelle (**Ben Habiles, 1992**).

Dans le cas de l'extraction de la chitine, l'addition des protéases commerciales telles que l'alcane (**Synowiecki et Al-Khateeb, 2000**), la papaine (**Tan et Lee, 2002**) et les protéases de *Bacillus subtilis* (**Yang et al., 2000**), améliorent la déprotéinisation produisant ainsi une chitine de bonne qualité (**Tan et Lee, 2002**).

### **I.5.3 Avantages et inconvénients des méthodes chimiques et biologiques**

Le principal inconvénient des méthodes chimiques, actuellement utilisées pour la production de la chitine, est la génération d'importants volumes en rejets chimiques corrosifs. Ceci est dû à l'utilisation de grandes quantités d'acides et de bases lors du processus de déminéralisation et de déprotéinisation respectivement. De même, ces effluents sont chargés en protéines dissoutes qui les rendent nuisibles pour l'environnement ; d'où une nécessité de leur traitement, qui peut s'avérer chère, avant leurs évacuations. (**Yang et al., 2000**). L'utilisation de la soude NaOH à forte température conduit à la dépolymérisation et désacétylation de la chitine donnant naissance à des produits de qualité variable, non reproductible et non homogène (**Gagné, 1993**). Contrairement aux méthodes biologiques qui ne génèrent pas d'effluents toxiques, et qui donnent une chitine de meilleure qualité. Le principal inconvénient des méthodes biologiques est leurs coûts élevés (utilisation d'enzymes), et la lenteur de la réaction biologique (utilisation de bactéries) (**Tan et Lee, 2002**).

## **I.6 Applications de la chitine et chitosane**

La production industrielle de la chitine et chitosane n'arrête pas de se développer depuis les années 1970. Grâce à leur capacité de former des films, adsorber des métaux lourds, retenir l'humidité, et bien d'autres caractéristiques; la chitine et ses dérivés ont plusieurs champs d'applications:

### **I.6.1 Applications biomédicales**

Dans le traitement du cancer ; le chitosane, conjugué au 5-fluoro-uracil a démontré une activité antitumorale, il est connu comme étant un agent anticancéreux (**Tan et Lee, 2002**). le chitosane a la capacité de rétention de calcium et la diminution du cholestérol sanguin (**Jeon, et al., 2000**), ainsi que la distribution des médicaments dans l'organisme. Il présente également une activité immunologique et une efficacité dans le traitement des brûlures, des ulcères et cicatrisation des plaies.

Le chitosane et ses dérivés inhibent la croissance d'une variété de microorganismes (bactéries et champignons) (agent antibactérien). Leur avantage est qu'ils sont biodégradables et présentes une faible toxicité vis-à-vis des cellules des mammifères (**Lamontagne, 2004 ; Salah, 2005**).

### **I.6.2 Applications environnementales et contrôle de la pollution**

La chitine et ses dérivés sont également caractérisés par leur grande capacité d'adsorber des ions métalliques tels que les ions de cadmium et du cuivre. Ainsi que le pouvoir d'adsorber certains métaux précieux tels que l'or, palladium et platinium dans l'acide chlorhydrique (**Mrunal, 2004 ; Jaafari et al., 2001**).

Le chitosane est largement utilisé comme agent flocculant dans le traitement des eaux de rejets. Environ 85% du chitosane produit au Japon est utilisé pour le traitement des eaux de rejet de l'industrie agroalimentaire (**Oshima, 1998**)

### **I.6.3 Applications à l'industrie alimentaire**

Dans les industries alimentaires les polysaccharides sont utilisés pour modifier ou contrôler les propriétés fonctionnelles des aliments. Utilisés comme agents gélifiants, agents de texture, agents de conservation, agents de floculation et de clarification des aliments.

La chitine, est également utilisée dans l'alimentation des crevettes pour favoriser leur croissance (**Tan et Lee, 2002**).

### **I.6.4 Application à l'agriculture**

La chitine, le chitosane et leurs oligomères peuvent conférer aux plantes une résistance systémique face à certains agents phytopathogènes (production de pisatine) (**Bouarab, 2000**).

Il a également été démontré que le chitosane et ses dérivés; appliqués sur les tissus des plantes aide à l'augmentation de la lignification dans ces derniers et à l'accumulation de phytoalexines (**Bouarab, 2000**).

La chitine et le chitosane présentent d'autres propriétés intéressantes telles que:

-La propriété antifongique dont le mode d'action est un relâchement des molécules de la paroi des champignons; une augmentation de la vacuolation et la désintégration des protoplastes des hyphes.

-Conservation: ils permettent également de prolonger le temps de conservation de certains fruits et légumes grâce à la capacité de former un film protecteur (**Ait barka et al., 2004 ; Salah, 2005**).

### **I.6.5 Autres applications**

Le chitosane peut être appliqué dans l'industrie cosmétique ; comme agents hydratants tels les vernis à ongles, les lotions pour le corps et les crèmes pour les mains. En industrie papetière comme additif, les chimistes ont remarqué qu'il ressemble étonnamment à la cellulose. Il est possible de séparer des protéines par adsorption grâce à la capacité de la chitine à adsorber des protéines par des liaisons non covalentes. En microbiologie la chitine peut être utilisée pour immobiliser des cellules ou des enzymes (**Yang et al., 2004**).



## Chapitre II

# Les protéines

### II.1 Introduction

Les protéines sont des hauts polymères présents dans tous les tissus et interviennent pour une grande part dans la structure de la cellule. Dans ce chapitre nous allons passer en revue la classification et les différentes structures des protéines, ainsi que leurs intérêts dans l'organisme. Nous parlerons aussi, des acides aminés essentiels et de la composition de la carapace de quelques espèces de crevette en acides aminés.

### II.2 Définition des protéines

Les peptides résultent d'une condensation entre acides aminés : le départ d'eau entre le groupement carboxylique d'un deuxième acide aminé conduit à une liaison amide (-CO-NH) particulière appelée liaison peptidique. Les peptides sont des polymères d'acides aminés à chaînes courtes ou moyennes. Un homopolypeptide est une macromolécule dont le monomère est un acide aminé. Quand le poids moléculaire des chaînes polypeptidique atteint au moins 10000 (une centaine d'acide-amino), celles-ci acquièrent un ensemble de propriétés physiques qui les distinguent des peptides plus courts. On a affaire à des macromolécules appelées « protéines ».

Cette dénomination proposée par Berzelius au début du XIX<sup>e</sup> siècle, rappelle la prééminence de ces composés chez les êtres vivants ; les protéines sont en effet présentes dans toutes les cellules, sous forme d'éléments de structure, de molécules contractiles, d'enzymes etc... **(Percheron, 1980).**

Parmi les acides aminés, il y a ceux qui ont un caractère acido-basique, par conséquent, les protéines seront, le plus souvent, des polyélectrolytes. Le caractère polyélectrolyte des protéines est fondamental: il peut leur permettre de s'adsorber sur des surfaces de charge opposée, ou encore de servir de substrat chargé (histones).

De par leur nature biodégradable, les protéines sont une alternative intéressante aux macromolécules synthétiques et par conséquent jouent un rôle de plus en plus important dans l'industrie (Onesippe, 2005).

### II.3 Rôle des protéines

Les protéines assurent surtout de nombreux rôles fonctionnels vitaux (Masson, 2002) :

**Rôle de catalyseur biochimique:** c'est le cas des enzymes sans lesquelles la quasi-totalité des réactions chimiques seraient impossibles dans l'organisme (Pelmont, 1989).

**Rôle de transporteur sanguin:** l'albumine, qui est la plus importante protéine plasmatique, contribue au transport des acides gras libres ou de certaines vitamines (notamment liposolubles). L'hémoglobine, autre exemple important, est localisée dans les globules rouges, permet le transport de l'oxygène et contribue à celui du CO<sub>2</sub> (Louisot, 1983).

**Rôle de transporteur membranaire:** les protéines contrôlent qualitativement et quantitativement les échanges entre la cellule et le milieu extracellulaire. C'est le cas des pompes Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>.

**Rôle de médiateur chimique** à l'instar des hormones protéiques comme l'insuline et glucagon, de récepteur membranaire comme les récepteurs hormonaux.

**Rôle de maintien de l'intégrité de l'organisme :** les immunoglobulines ou encore les protéines du système du complément jouent un rôle dans la défense immunitaire. Les protéines codées par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité sont intégrées dans la membrane plasmique des cellules. Elles servent de marqueur cellulaire, permettant l'identification du soi et du non-soi, ainsi que l'activation des lymphocytes T.

**Rôle de mouvement :** les protéines contractiles (actine-myosine) permettent le mouvement du squelette (muscles striés) ou de certains organes internes, par exemple le tube digestif (muscles lisses).

### II.4 Classification

Bien que leur classification ne soit pas très aisée (Percheron, 1980), elle peut être établie d'après plusieurs bases :

**a- Chimique :** il y a les holoprotéines qui ne contiennent que des acides aminés et les hétéroprotéines qui sont composés de : glyco-, phospho-, métallo-, nucléoprotéines.

**b- Fonction :** on trouve les protéines structurales, les protéines plasmatiques des liquides biologiques (sang, lait), les protéines à activité biologique (enzymes, hormones, transporteurs...),

et les protéines alimentaires qui sont des protéines économiquement favorisées, digestibles et savoureuses, appartenant à un des groupes précédents (**Pelmont 1989**).

**c- Conformation** : il existe deux types :

- Les protéines fibreuses (scléroprotéines) : elles sont de forme allongées, étirées, elles sont très peu solubles dans l'eau, de poids moléculaires très élevés et ont souvent un rôle mécanique (collagène, kératine....).
- Les protéines globulaires : elles sont de forme plus ou moins sphériques, de poids moléculaires variés mais définis. Elles sont relativement solubles et assurent les différents rôles fonctionnels vitaux (**Percheron, 1980**).

La structure des protéines se décrit sur quatre niveaux d'organisation (**Louisot, 1983**):

#### **II.4.1 Structure primaire**

Ce terme représente la séquence linéaire des acides  $\alpha$ -aminés dans les chaînes protéiques, assurée exclusivement par des liaisons peptidiques, covalentes. La configuration de la chaîne est une forme étirée.

La détermination de cette structure, donc de l'enchaînement des amino-acides, est réalisée au laboratoire par combinaison de méthodes enzymatiques et chimiques. L'hydrolyse partielle par diverses protéases conduit à des mélanges de peptides qui sont séparés par chromatographie. L'analyse de ces peptides permet de reconstituer la structure primaire de la protéine (**Plummer, 1989**).

#### **II.4.2 Structure secondaire**

C'est la conformation prise par la chaîne polypeptidique dans l'espace, stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes de l'ossature, et non des chaînes latérales. La liaison qui est considérée importante, ici, s'établit entre H de NH et O de C O. Deux formes principales peuvent exister :

##### **a- Structure en feuillets plissés (configuration $\beta$ )**

Pour que les atomes de liaison peptidique restent coplanaires, il se constitue une structure plissée, à la façon d'un accordéon. Cette structure concerne principalement les protéines fibreuses, telles que les fibroïnes de la soie ou la forme étirée de la kératine du cheveu. Cette structure est favorisée lorsque prédominent dans la protéine, des amino-acides dont la chaîne latérale est de faible encombrement. (**Plummer, 1989**).

## **b- Structure en hélice $\alpha$**

Cette configuration est stabilisée par des liaisons hydrogène exclusivement intracaténaïres. Ceci est réalisé par un enroulement de la chaîne protéique en spirale, les atomes de chaque liaison peptidique restant coplanaires. Le groupe C O d'un amino-acide contracte une liaison hydrogène avec le groupe NH du troisième amino-acide le suivant dans la chaîne (**Alais, 2003**).

### **II.4.3 Structure tertiaire**

On désigne ainsi la structure spatiale que prend une protéine globulaire par repliement de la chaîne sur elle-même. Bien que théoriquement un grand nombre de structure tertiaire soient possible. Cependant, cette structure a une grande importance au niveau des activités de la protéine. Elle fait que des résidus d'acides aminés éloignés dans la séquence, se retrouvent proches en raison des repliements et forment des « sites actifs » (**Alais, 2003**).

Les liaisons mises en jeu pour la stabilité de cette structure sont : les ponts disulfures, les liaisons hydrophobes, les liaisons hydrogènes, les liaisons ioniques.

### **II.4.4 Structure quaternaire**

C'est l'association de molécules protéiques qui, prises isolément, ne possèdent pas l'activité biologique. Ces molécules peuvent être identiques (oligomères) ou différentes. Un bon exemple de cette structure en biochimie alimentaire est le système actomyosine des muscles. (**Pelmont, 1989**).

## **II.5 Évaluation de la qualité nutritive des protéines**

Un apport adéquat est essentiel pour les animaux supérieurs puisque seuls les organismes inférieurs sont capables de synthétiser leurs protéines à partir d'autres sources d'azote (**Plummer, 1989**).

Cette évaluation est réalisée à l'aide de deux méthodes :

- **Méthode chimique** : c'est la caractérisation du produit par sa composition en acides aminés supposés limitant (lysine, méthionine et tryptophane).
- **Méthode biologique** : elle est réalisée par des tests biologiques sur des animaux en voie de croissance, augmentation de poids de l'animal par rapport à la quantité de protéines ingérées (**Pelmont, 1989**).



## II.6 Altération de la structure des protéines dénaturation

Les protéines sont des édifices tridimensionnels fragiles. Leur altération entraîne leur dénaturation et une désorganisation des liaisons de faible énergie. Les protéines perdent alors leur forme native et donc leur activité fonctionnelle.

Si les modifications structurales sont assez discrètes. La dénaturation peut être réversible, mais si la protéine est incapable de reprendre sa conformation native, il s'agit de dénaturation irréversible (passage à une structure non organisée dite en « pelotes statistiques »).

Il existe différents types d'agents dénaturants dont voici les principaux :

-La chaleur : entraîne une perturbation des liaisons hydrogène et provoque la coagulation des protéines. La plupart des protéines sont dénaturées vers 45°C.

-Les pH extrêmes, entraînant la rupture de liaisons électrostatiques et hydrogène. La précipitation des protéines par les réactifs acides en est une application.

-Les détergents anioniques (effet réversible sans précipitation) dissociant les structures quaternaires, et les solvants organiques.

-Les réactifs rompant les ponts disulfures, de façon réversible tels que les réducteurs ou de façon irréversible, tels les oxydants.

- L'urée provoque une dénaturation par perturbation des liaisons hydrogènes et hydrophobes.
- La tension superficielle: les protéines à l'interface sont souvent dénaturées de façon irréversible.
- Le traitement mécanique : le cisaillement peut entraîner une dénaturation, par exemple des hélices  $\alpha$  (Alais, 2003).

Les effets de la dénaturation sont la perte d'activité biologique, chute de la solubilité (démasquage des groupes hydrophobes), sensibilité accrue aux protéases et défaut de cristallisation.

## II.7 Acides aminés

Les acides aminés (AA) sont des composés bifonctionnels dont les groupes acide carboxylique et amine primaire sont portés par le même carbone : ce sont des 2-amino-acides ou acides  $\alpha$ -aminés. Par ailleurs, le caractère asymétrique du carbone C<sub>2</sub> ou C $\alpha$  fait que tous les acides aminés (sauf la glycine) possèdent deux stéréo-isomères (forme D et L selon la règle de Fischer). Or tous les acides aminés naturels des protéines sont de la forme L.

Les acides aminés des protéines proviennent essentiellement de la digestion des protéines alimentaires. Certains peuvent être synthétisés par l'animal : ils sont dits acides aminés essentiels, tandis que les autres acides aminés doivent être apportés par l'alimentation.

Certains acides aminés doivent obligatoirement être présents dans la ration alimentaire pour une croissance normale. Ce sont les acides aminés indispensables, chez l'homme, ils sont au nombre de huit : Leucine, Isoleucine, Valine, Lysine, Méthionine, Thréonine, Phénylalanine, Tryptophane.

Mary Clegg (1974) montre que la bonne santé peut être maintenue par un régime complètement synthétique : acides aminés, glucose, acides gras essentiels, sels minéraux, vitamines et eau.

Ibrahim et *al.* (1999) ont réalisé une hydrolyse acide des protéines extraite de la carapace de crevette (*Penaeus* spp.). Et déterminé par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) leurs compositions en acides aminés tableau N° 4

Gildberg et *al.* (2001) ont réalisé une hydrolyse enzymatique des protéines extraite de la carapace de crevette (*Pandalus borealis*.). Et déterminé par HPLC leurs compositions en acides aminés tableau N° 4.

**Tableau N° 4 : Contenu en acides aminés de la protéine de carapace de crevette (Ibrahim et al., 1999 ; Gildberg et al., 2001)**

Acides aminés	g/100g de protéine de carapace de crevette	
	<i>Penaeus spp</i>	<i>Pandalus borealis</i>
Thréonine	3.56	6.04
Valine	5.16	6.72
Méthionine	2.78	3.30
Cystine	2.09	0.34
Leucine	3.97	8.86
Isoleucine	1.88	5.77
Lysine	6.65	8.31
Phénylalanine	3.24	5.55
Tyrosine	4.05	5.08
Histidine	5.91	3.12
Proline	3.23	5.67
Alanine	3.21	7.58
Glycine	3.07	6.76
Arginine	3.57	8.90
Serine	4.83	6.29
Acide glutamique	10.93	8.92
Acide aspartique	3.43	2.84
Acides aminés totaux	71.56	91.19
Acides aminés essentiels	27.24	44.55

D'après ce tableau nous remarquons que la carapace de ces deux genres de crevette contient sept acides aminés essentiels, mais toutes les deux elles ne contiennent pas le tryptophane.



## Chapitre III

# Ultrafiltration

### III.1 Introduction

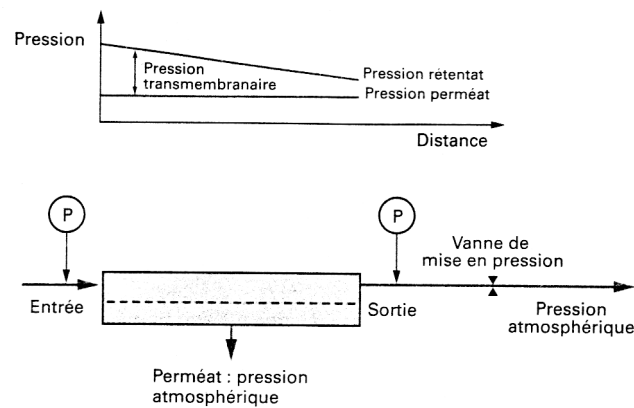
Les opérations de séparation par membrane forment une classe assez large de techniques s'appliquant aux séparations liquide/liquide, gaz/liquide, solide/liquide ou encore gaz /solide. Ces séparations sont, en général appréciées pour leur faible consommation énergétique et leur relative bonne sélectivité (Aptel, 1986). C'est pour cette raison, que les secteurs de l'environnement et du traitement de l'eau ont adopté ces dernières années de telles technologies. Une autre caractéristique importante concerne les conditions particulièrement douces de fonctionnement, en matière de contraintes de cisaillement, de température et d'absence de changement d'état (Van Reis et al., 2001).

Les procédés de séparation sur membrane se rangent en plusieurs classes. La microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse peuvent être définies comme des techniques de séparation de deux liquides par perméation à travers des membranes perméables en utilisant la pression comme force motrice. La pervaporation et la perméation en phase gazeuse utilisant des membranes denses non poreuses, elles se distinguent des précédentes par l'emploi de gaz et non de liquides lors du processus de séparation. En derniers lieu, les techniques électromembranaires reposent toute sur le principe d'échange d'ions et elles utilisent le courant électrique comme force motrice de séparation (Maurel, 1984).

### III.2 Principe

Une membrane est une barrière matérielle (film polymère, céramique ou, rarement métallique) qui permet le passage sélectif de certains composés de fluide à traiter, sous l'action d'une force agissante : gradient de pression, de potentiel électrique ou de potentiel chimique (Maurel, 1984 ; Audinos, 1999). Il existe plusieurs procédés à membrane. La classification des divers procédés de séparation se fait généralement par rapport à deux critères : le type de force

agissante utilisée pour effectuer la séparation, ainsi que la taille ou la nature des espèces susceptibles d'être traitées par ces procédés (**Balman, 2000**).



**Figure N° 2 : Représentation schématique d'une technique membranaire et de son principe de fonctionnement.**

### III.3 Notions et mécanismes de base

#### III.3.1 Définitions

L'ultrafiltration (UF) est une opération de séparation par membrane qui concerne la rétention de macromolécules (protéines, polysaccharides, etc.) et d'autres espèces de taille analogue comme des virus ou de particules colloïdales (argiles, silice..).

Bien entendu toutes les espèces de plus grandes dimensions sont retenues également. Outre la dimension des espèces concernées, la différence majeure avec les autres procédés de filtration tangentielle connexes (microfiltration et nanofiltration) réside dans les mécanismes de transport mis en jeu et les propriétés des fluides (**Aptel, 1986 ; Balman, 2000**).

Le perméat est défini comme étant le fluide qui s'écoule en aval de la membrane. Quant au retentât ; c'est le fluide qui est retenue par la membrane (**Audinos, 1999**).

#### III.3.2 Lois de comportement

Le phénomène de transport à travers les parois poreuses est très complexe. Plusieurs modèles mathématiques tentent de les expliquer. Les mécanismes proposés vont du phénomène du tamis avec transfert par convection dans les pores, à une dissolution dans la membrane avec diffusion dans le milieu lorsqu'on se trouve au voisinage de l'osmose inverse. Des interactions

spécifiques importantes peuvent intervenir avec des membranes chargées. Mais les modèles proposés sont valables pour les membranes non chargés (Mameri et al., 1988).

### III.3.2.1 Modèle du tamis moléculaire (Loi de Darcy)

Il assimile les membranes de filtration à des milieux poreux incompressibles. C'est à dire que le flux de solvant pur  $J$  est proportionnel à la différence de pression appliquée de part et d'autre de ce milieu poreux. Il utilise alors la loi de poiseuille pour décrire cette caractéristique :

$$J_V = L_p \Delta P = \frac{N \pi r^4}{8 \mu e} \Delta P \dots\dots\dots 1$$

Avec :

$L_p$  : Coefficient de perméabilité de la membrane (l/h.m<sup>2</sup>)

$\mu$  : Viscosité du perméat (Pa.s).

$\Delta P$  : Pression transmembranaire (bars).

$J_V$  : Débit par unité de surface de membrane (l/h.m<sup>2</sup>).

$e$  : Épaisseur de la membrane (m).

$N_p$  : Nombre de pores par unité de surface.

$r_p$  : Rayon des pores (m).

Dans la pratique, on parle souvent de perméabilité et non pas de coefficient de perméabilité, pour caractériser le débit de perméat qui traverse la membrane par unité de temps, de pression et d'aire. Si pour un solvant pur, le flux de perméat  $J_V$  varie linéairement avec la pression transmembranaire  $\Delta P$  ; pour une solution de protéines ou une solution synthétique ; ce n'est pas le cas sauf dans la zone des faibles pressions. Ceci est vérifié par Goldsmith(1971) ; qui montre qu'il existe une valeur de la pression au dessus de laquelle le flux  $J_V$  devient stationnaire. Cette valeur de flux est appelée « flux limite » qui dépend des conditions opératoires, de la membrane, et de la solution. De plus lors de l'ultrafiltration de solutés macromoléculaires, il y a phénomène d'adsorption sur la paroi interne de la membrane ce que l'on appelle communément « Phénomène de polarisation de concentration ».

### III.3.2.2 Phénomène de polarisation de concentration

Le phénomène de polarisation de concentration est une constante de tous les procédés de séparation par membranes. Il résulte de la rupture de continuité que crée la membrane dans les propriétés de transfert : les solutés sont transportés avec des débits différents dans le fluide adjacent et dans la membrane, ce qui crée une accumulation ou un dépeuplement à l'interface, modifiant localement la concentration par rapport à la concentration moyenne dans le fluide. Il s'ensuit un phénomène de diffusion qui se couple au mécanisme de transport principal (convection ou migration) et qui agit dans le sens de la dissipation de l'accumulation précédemment décrite.

Dans la pratique, ce phénomène ressemble beaucoup au phénomène de couche limite observé sur des électrodes polarisées, en électrochimie. Ces conséquences sont en général préjudiciables au transfert de matière ou à la stabilité des milieux traités. En effet, si une élévation de concentration amène la solution traitée à une concentration proche d'une limite de solubilité ou d'une limite de transition solution-gel, un changement de phase se produit, un dépôt se forme et modifie les propriétés de la membrane.

Pour les calculs, il faudrait résoudre les équations de mécanique des fluides :

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \text{div} (C \vec{J}) = \text{div} (D \text{ grad } \bar{C}) \dots\dots\dots 2$$

Avec les conditions limites suivantes :

$$J_v(C_m - C_p) = -D\left(\frac{\partial C}{\partial X}\right)_x = 0 \text{ (Bilan sur le soluté au niveau de la paroi) on a :}$$

$$J_v = (\Delta P - \sigma \Delta \Pi) \dots\dots\dots 3$$

Ou

$L_p$  : Perméabilité de la membrane.

$\sigma$  : Coefficient de réflexion de la membrane.

$\Delta \Pi$  : Différence de pression osmotique de part et d'autre de la membrane.



### III.3.2.2.1 Modèle du film

A l'état stationnaire ; ce modèle suppose que le flux de matière vers la membrane est nul puisque la diffusion compense la convection selon la première loi de Fick :

$$J_v(C - C_p) = -D \frac{dC}{dx} \dots\dots\dots 4$$

Avec :

$C_p$  : Concentration du soluté dans le perméat.

$C$  : Concentration du soluté dans la couche limite à l'abscisse  $x$ .

$D$  : Coefficient de diffusion.

Et considérant l'hypothèse du film stagnant c'est-à-dire que le phénomène de la polarisation de concentration se développe seulement sur une couche d'épaisseur finie  $\delta$ , déterminée par l'écoulement tangentielle dans la membrane (diffusion unidimensionnelle). Et que le coefficient  $D$  est constant dans l'épaisseur  $\delta$  dans laquelle la concentration en macromolécules passe de  $C_0$  à  $C_m$  on, l'intégration de l'équation (4) conduit à :

$$J_v = \frac{D}{\delta} \ln \frac{C_m - C_p}{C_0 - C_p} \dots\dots\dots 5$$

Le rapport  $D/\delta$  est appelé coefficient de transfert de matière, souvent noté  $k$  .

$$J_v = k \ln \frac{C_m - C_p}{C_0 - C_p} \dots\dots\dots 6$$

Si l'on exprime la concentration en fonction du flux à partir de cette loi, on obtient une relation exponentielle :

$$C_m = C_r \exp\left(\frac{J\delta}{D}\right) \dots\dots\dots 7$$

Cette relation montre qu'à travers le coefficient de transfert  $k$  , la concentration de surface est très sensible à la valeur du flux aux conditions hydrodynamiques. L'effet de l'écoulement tangential peut donc être décrit, de manière très satisfaisante, comme une modulation de l'épaisseur de la

couche limite de transfert de matière, mais n'intervient pas directement sur les mécanismes de transfert (Aimar et al., 2000).

Ce coefficient k peut être calculé à partir des équations utilisées pour les transferts de matière classiques :

$$Sh = a Re^n S_c^m \quad \dots\dots\dots 8 \quad \text{Régime turbulent}$$

$$Sh = a Re(d/e)^n S_c^m \quad \dots\dots\dots 9 \quad \text{Régime laminaire}$$

$a, n, m$  sont des constantes déterminées empiriquement.

$d$  : Diamètre hydraulique.

$e$  : Épaisseur de la couche active.

$$Re = \frac{U \cdot d}{\gamma} \quad \text{Nombre de Reynolds} \dots\dots\dots 10$$

$$Sc = \frac{\gamma}{D} \quad \text{Nombre de Schmidt} \dots\dots\dots 11$$

$$Sh = \frac{K \cdot d}{D} \quad \text{Nombre de Sherwood} \dots\dots\dots 12$$

$U$  : vitesse moyenne du fluide à ultrafiltrer.

$\gamma$  : Viscosité cinématique.

### III.3.2.2.2 Modèle de la pression osmotique (loi de transfert de solvant)

Une autre conséquence de la couche de polarisation est l'effet de la pression osmotique des solutions macromoléculaires soutenue par Goldsmith (1971).

Il suppose que le gradient de concentration existant de part et d'autre de la membrane devient suffisamment important, quand la pression augmente, pour induire une différence de pression osmotique non négligeable devant la pression appliquée. Le flux de perméat s'écrit alors :

$$J_v = \frac{\Delta P - \sigma \Delta \pi}{\mu R_m} \dots\dots\dots 13$$

$\sigma$  : Coefficient de KEDDEM.

Ce coefficient est déterminé lorsque le flux  $J_v$  est grand ; ce qui traduit le fait qu'un soluté qui n'est pas retenu ne provoque pas de pression osmotique, alors qu'un soluté retenu pleinement développe une pression osmotique complète.

### III.3.2.2.3 Modèle du gel

Le modèle de gel décrit la polarisation de concentration secondaire qui correspond à la formation d'une couche de gel de quelques microns d'épaisseur, à la surface de la membrane. Cette hypothèse avancée par **Michaelis** suppose que l'élévation du flux conduit la concentration  $C_m$  à atteindre une valeur  $C_g$  de la concentration qui est relative à la gélification de la solution. Le flux maximum que l'on peut atteindre est obtenu en remplaçant  $C_m$  par  $C_g$  (concentration du gel) :

$$J_{v \text{ Lim}} = k \ln\left(\frac{C_g}{C_0}\right) \dots\dots\dots 14$$

### III.3.3 Taux de rejets d'une membrane d'ultrafiltration

Le paramètre le plus important pour caractériser la séparation et la sélectivité de la membrane par rapport à une molécule donnée est le taux de rejet observé.

La caractéristique de la membrane d'ultrafiltration est donnée par la courbe de rétention ou l'on porte le taux de rejet observé en fonction du poids moléculaire de soluté retenu.

Le taux de rejet observé ( $R_{obs}$ ) relie les concentrations  $C_0$  dans la solution d'alimentation à celle du perméat  $C_p$  d'après la relation suivante :

$$R_{obs} = 1 - \frac{C_p}{C_0} \dots\dots\dots 15$$

En même temps, la séparation qui s'effectue aux bornes de la membrane, par l'un des mécanismes met en relation la concentration à la membrane  $C_m$ , soit :

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_m} \dots\dots 16$$

La différence entre  $R$  et  $R_{obs}$  provient de la polarisation de concentration, et sera donc d'autant plus importante que le flux de transfert sera élevé (**Mameri, 1987**).

Le calcul du taux de rejet d'un soluté à travers une membrane est un problème très complexe faisant appel à de nombreuses modélisations (rayon des pores et distribution, rayon du soluté, couche de polarisation, traversée de la membrane, adsorption (**Mameri, 1987**).

### III.4 Les membranes d'ultrafiltration

La membrane est l'une des clés de plusieurs techniques de séparation. C'est le matériau au travers duquel a lieu le phénomène de transport. Elles sont conçues de matériaux organiques ou inorganiques (minérales), naturels ou artificiels. Et peuvent être sous forme rigide ou pas avec ou sans pores (**Grib, 2002**). Les premières membranes commercialisées étaient en acétate de cellulose, mais suite à leur sensibilité au pH, à la température et aux agents bactériens ; elles ont été remplacées par les polymères de synthèse dont les polyamides, les polysulfones et les polymères fluorés. Ces polymères ont la caractéristique de supporter de haute température et des pH allant de 2 à 12 qui présente une mauvaise résistance aux désinfectant chlorés, et au compactage mécanique (**Van Reis et al., 2001**).

Les membranes d'ultrafiltration sont caractérisées par leur perméabilité à l'eau et par leur seuil de coupure qui remplace la taille des pores dans l'objectif de classer les membranes par la sélectivité. Les moyens de visualiser ou de mesurer les pores des membranes d'ultrafiltration n'étant apparues que récemment, les caractéristiques des espèces retenues par les membranes sont formulées en masse molaire plutôt qu'en dimension moléculaire (**Maurel, 1989**).

On peut classer les membranes selon leurs structures (**Aimar, 2000**)

- **Membranes asymétriques** : membranes composée d'une couche fine (peau) et d'un support (plus épais) ; qui assure pour la première la sélectivité et pour le second la résistance mécanique (membrane composites, membranes hétérogènes). Les membranes symétriques n'ont pas cette caractéristique.

- **Membrane composite** : membrane composée de plusieurs couches de matériaux différents.

- **Membrane dense** : membrane non poreuse (osmose inverse, électrodialyse, pervaporation, etc...)

### III.5 Les module d'ultrafiltration

On trouve quatre géométries principales pour les modules d'ultrafiltration : tubulaire, fibres creuses, plan et spiralées (**Maurel, 1989**), Le tableau n°5 représente les différentes géométries membranaires et leurs caractéristiques.

- **Spirale** : Par leur disposition compacte et avec une surface relativement grande de membrane par élément, les spirales sont des solutions intéressantes au niveau coût, pour des applications à grand volume, avec un minimum ou pas de solides en suspension. Leur avantage principal est d'avoir un faible coût d'investissement et un faible coût énergétique.
- **Tubulaire** : Le diamètre important des voies de passage de ces modules, très résistants à l'encrassement, les rend parfaitement aptes pour le traitement de liquides contenant un fort taux de solides en suspension et de composés fibreux. Les domaines d'application vont de la Microfiltration à l'Osmose Inverse.
- **Module à fibres creuses** : Modules à faible volume mort, susceptibles d'être nettoyés par le reflux du côté perméat et par l'inversement de la direction du débit. Utilisés surtout pour des produits à faible teneur en solides.
- **Module plan** : Ce type de module est le plus simple et le plus ancien. Sa technologie s'est inspirée directement de celle des filtres presses. Au départ c'était utilisé en osmose inverse mais pour des problèmes de résistance mécanique, il se limite à l'ultrafiltration

**Tableau N°5 : Différentes géométries membranaires et quelques-unes de leurs caractéristiques (Audinos, 2000) :**

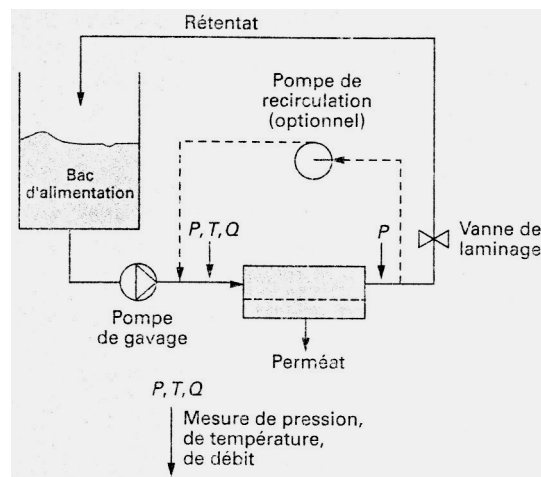
<b>Géométrie et matériau</b>	<b>Rapport aire membranaire/encadrement</b>	<b>particularités</b>	<b>prétraitement</b>
<p><b>Plane :</b></p> <p>sur montage filtre presse.</p> <p>-Polymères et céramiques dans quelques cas.</p>	10 à 100	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Adapté aux pressions faibles.</li> <li>-Séparateurs souvent nécessaires dans les compartiments.</li> <li>-Changement possible membrane par membrane.</li> <li>-Démontage assez aisé</li> <li>-Seule géométrie pour procédés électromembranaires.</li> </ul>	Préfiltration nécessaire, surtout en cas de séparateur
<p><b>Spiralée :</b></p> <p>Polymères exclusivement</p>	100 à 1000	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Séparateurs indispensables.</li> <li>-Nettoyage et désinfection difficiles.</li> <li>-Adapté aux pressions moyennes à élevées.</li> <li>-Mal adaptée aux débits de filtration élevés.</li> <li>-Mal adaptée au traitement de suspensions.</li> </ul>	Préfiltration indispensable.
<p><b>Fibres creuses :</b></p> <p>Polymères surtout et céramiques dans quelques cas</p>	100 à 1000	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Autosupportée : régime laminaire, pression limitée.</li> <li>-Inadapté aux suspensions.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Préfiltration indispensable.</li> <li>-Ecoulement laminaire.</li> </ul>
<p><b>Tubulaire :</b></p> <p>-Céramique essentiellement</p> <p>-Quelques cas de polymères</p>	10 à 100	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Autosupportée : régime turbulent la plupart du temps</li> <li>-très adaptée aux hautes pressions, et aux suspensions.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Préfiltration non nécessaire mais risque d'abrasion si particules dures.</li> <li>-Ecoulement turbulent.</li> </ul>

## III.6 Modes de fonctionnement

L'ultrafiltration s'effectue de quatre manières différentes (Aimar, 2000) :

### III.6.1 Système discontinu

Dans ce cas, le retentât est recyclé sur une cuve et sa concentration augmente au cours du temps au fur et à mesure que le perméat s'écoule au travers de la membrane. Dans un montage simplifié, une seule pompe assure la circulation du retentât. Si nécessaire, une pompe de recirculation peut être ajoutée pour augmenter la vitesse de circulation dans les modules de filtration et améliorer ainsi les transferts. Ce système est surtout utilisé pour les unités ayant à traiter de faibles volumes de solutions diluées ou concentrées.



**Figure N° 3 : Représentation schématique d'une installation fonctionnant en discontinu, avec recirculation (en pointillé)**

### III.6.2 Système continu

Le retentât est soutiré en continu de la boucle de recirculation. compte tenu du rapport en général faible [débit de filtration/débit de circulation], il est indispensable d'installer une pompe de recirculation en plus de la pompe de gavage. La concentration circulante est prise égale à la concentration au soutirage car on considère que la boucle de recirculation est idéalement mélangée grâce à la vitesse de circulation élevée de la pompe

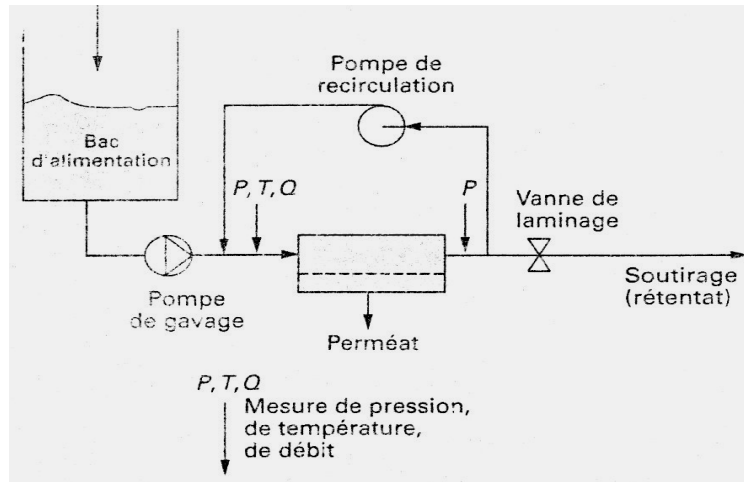


Figure N° 4 : Représentation schématique d'une installation fonctionnant en continu

### III.6.3 Système continu avec recyclage partiel du retentât

Une partie de retentât tourne sur le module d'ultrafiltration an circuit fermé grâce à une pompe de recirculation. Une pompe d'alimentation alimente cette boucle en solution à traiter. Une vanne de détente et de réglage permet de rejeter le retentât en excès. Ce système consomme moins d'énergie que le système en discontinu. Il convient pour de grandes unités.

### III.6.4 Fonctionnement en diafiltration

Le mode de diafiltration est une mise en œuvre qui s'apparente à une extraction. Il consiste à remplacer, dans le retentât, le perméat qui s'écoule à travers la membrane par une solution de composition définie par l'opérateur : il peut s'agir d'eau pure ou d'un tampon ou bien encore d'une solution contenant une molécule que l'on souhaite ajouter au retentât pour remplacer celles qui se trouvent dans le perméat.

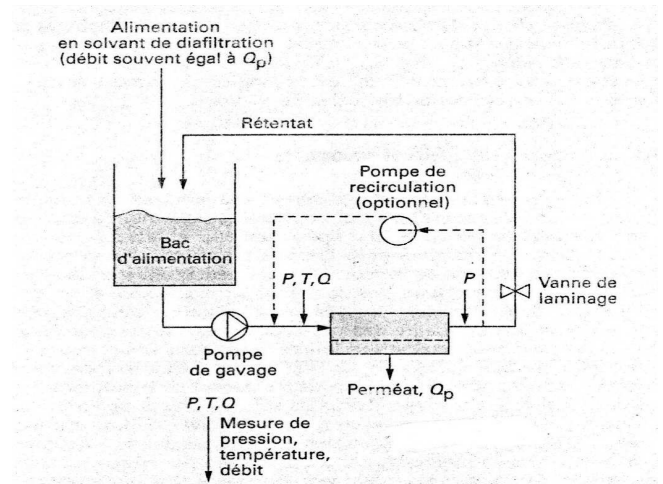


Figure N° 5 : Schéma de principe d'un Fonctionnement en diafiltration.



### **III.7 Mécanisme de colmatage**

Le facteur limitant de l'utilisation de l'ultrafiltration en industrie alimentaire, est la chute au cours du temps du flux de perméat, due principalement à la couche de polarisation de concentration, puis au colmatage.

#### **III.7.1 Principales origines du colmatage**

Il faut distinguer les phénomènes qui conduisent à une évolution des propriétés des membranes pour des raisons mécaniques (compression, fluage du polymère) ou chimique (vieillessement chimique du matériau membranaire à la suite d'exposition à des conditions acido-basiques ou oxydantes, mais ne sont pas liées directement au transfert à travers la membrane), des phénomènes de colmatage, liés aux solutés présents dans le fluide à traiter et à leurs rétention. On distingue habituellement quatre phénomènes qui peuvent être à l'origine du colmatage des membranes en séparation liquide-solide.

#### **Adsorption**

De manière générale l'adsorption d'ions est peu gênante du point de vue du transfert de matière, mais elle peut modifier la charge apparente du matériau. L'adsorption de petites molécules n'a en général que peu d'effet sur les propriétés des membranes. En fin de compte, les molécules dont l'adsorption est la plus gênante pour la filtration sont les macromolécules ou les agrégats de molécules (matière organique), qui s'adsorbent en grandes quantités, car elles sont relativement peu solubles, ont une diffusivité relativement élevée et une capacité à se déformer pour présenter plusieurs sites d'adsorption par molécules (**Mameri et al., 1988**).

#### **Capture des particules**

La capture de particules par le milieu poreux : entraînées par le liquide qui filtre à travers la membrane, les particules dont la taille est de l'ordre de grandeur de celle des pores ou supérieure ont tendance à se bloquer à la surface, à l'entrée ou dans les pores, entraînant une obstruction totale ou partielle de ces derniers, et donc une augmentation de la résistance finale de la membrane.

## Changement d'état des fluides

Il conduit à l'apparition d'un dépôt de matière sur ou dans le filtre qui peut former une phase gel ou solide, qui se dépose obstruant, totalement ou partiellement, le milieu poreux. Ce phénomène est plus lié au comportement collectif de différentes catégories de particules et solutés présents en phase concentrée dans le fluide.

## Biofilm

La matière accumulée selon les mécanismes précédents est une condition favorable à l'encrage de micro-organismes sur les membranes ou dans les modules, et on peut alors assister si quelques précautions élémentaires ne sont prises, à la croissance d'un biofilm qui lui aussi augmente la résistance hydraulique, dégrade les membranes (acétate de cellulose, en particulier) ou contamine le perméat. Le moyen le plus efficace d'empêcher la croissance de biofilms est l'injection en alimentation continue d'antibactériens comme l'hypochlorite.

### III.7.2 Moyens de lutte contre le colmatage

Plusieurs solutions sont proposées pour les installations industrielles :

- Ecoulement diphasique : il s'agit essentiellement d'injecter en continu ou périodiquement de l'air dans le retentât. L'écoulement tangentiel se présente donc comme un écoulement de trains de bulles ou de poches d'air, qui, en balayant la surface de la membrane, y génèrent des contraintes de cisaillement élevées, contribuant ainsi au décollement de la matière déposée, et à son entrainement dans la courant principal (**Laborie et al., 1999**).
- La réduction de la pression pour diminuer le flux transmembranaire.

### III.7.3 Régénération des membranes

Le colmatage des membranes est donc la finalité de tout essai d'ultrafiltration. Ceci met en évidence l'impératif de la régénération, sans quoi la réutilisation des membranes est impossible.

Parmi les techniques de régénération des membranes, on compte :

- Le nettoyage à contre pression Rétrolavage : il s'agit d'inverser le sens de la différence de pression périodiquement (typiquement toutes les dix minutes à toutes les heures), pendant une durée très courte (quelques dizaines de secondes) ce qui a pour effet de pousser un peu du perméat vers le compartiment retentât, et donc de soulever une partie

de la matière déposée sur ou dans la membrane, en l'entraînant dans l'écoulement principal (Srijaroonrat *et al.*, 1999).

- Le nettoyage chimique qui consiste à utiliser, les agents de nettoyage suivants : les acides, les bases, les détergents tel que l'hypochlorite du sodium. Le choix des adents nettoyants dépend du produit colmatant et de la résistance des matériaux constituant le dispositif d'ultrafiltration (Abdessemed, 1992).

### **III.8 Amélioration du flux de perméat en ultrafiltration par promoteurs de turbulence**

En ultrafiltration classique, un gradient de concentration (couche de polarisation) apparaît rapidement au voisinage de la membrane semi-perméable ce qui limitera la densité du flux de perméat et par conséquent l'efficacité de la séparation

Pour palier à ces problèmes on introduit des promoteurs de turbulence qui crée au voisinage de la membrane une turbulence locale, réduisant ainsi l'épaisseur de la couche limite, et donc augmenter le coefficient de transfert  $k$ .

Parmi les promoteurs de turbulence utilisés, on trouve :

- **Les promoteurs fixes** : Constitués en générale de grilles en métal placées parallèlement à la membrane et obtenues par découpage et étirage d'une tôle en inox.
- **Promoteurs mobiles** : Ces promoteurs sont libres de se déplacer avec le fluide. Ce sont principalement des particules sphériques en verre, en graphite, latex..., . qui présentent contrairement aux promoteurs fixes, le risque de détériorer plus au moins rapidement le membrane.
- **Débits pulsés** : Des chercheurs ont constaté que l'emploi d'un débit d'alimentation pulsé permet l'augmentation du débit de perméat jusqu'à un maximum de 70% dans le cas du lait et 140% dans le cas du vin.
- **Les ultrasons** : L'utilisation des ultrasons dans le processus d'ultrafiltration permet de réduire le phénomène de polarisation de concentration. En effet pour une pression transmembranaire donnée, le flux augmente 170% par rapport à un flux dans les conditions normales.
- **Electro ultrafiltration** : La technique d'électro-ultrafiltration permet de réduire ce gradient de concentration dans le cas ou les macromolécules sont chargées

électriquement, ainsi en appliquant un champ électrique continu dans la solution, le sens du champ électrique est prévu de sorte que la migration électrique des macromolécules tende à les éloigner de la membrane (**Käppler et al.,2007 ; Oussedik et al., 2001**).

### **III.9 Les principales applications de l'ultrafiltration en industrie**

Les opérations de filtration tangentielle sont devenues des outils industriels incontournables dans les technologies alimentaires depuis près de 30ans. Les principales applications sont développées dans le secteur laitier (30 à 40% du marché part équivalente à celle des fluides industriels) pour la concentration des protéines du lactosérum, la standardisation du lait en protéines, loin devant les bioproduits (10%) et les autres produits alimentaires (6%) : boissons (vin, bière, jus et concentrées de fruits et légumes) ; ovoproduits (**Aimar, 2000**).

Les raisons de ce formidable succès industriel sont multiples et relèvent de différents niveaux de rupture avec la transformation alimentaire classique.

- Meilleure qualité des produits : La membrane est un filtre physique, elle fonctionne sans ajout de produits chimiques et constitue une barrière absolue à beaucoup de composés. La concentration à basse température par opposition aux opérations thermiques d'évaporation est un atout déterminant de la qualité biologique, nutritionnelle et organoleptique.
- Facilité d'intégration industrielle et fiabilité : Les équipements sont modulaires, ils se prêtent donc bien à un dimensionnement ajusté ; ils sont flexibles généralement compacts ; les opérations peuvent être facilement conduites en continu et automatisées avec fiabilité. Elles peuvent être combinées à des opérations existantes pour améliorer la qualité d'un produit ou augmenter la capacité d'une unité.
- Respect de l'environnement, réutilisation, gain en matière première : Les procédés intégrant les membranes sont à considérer comme propres. Les cofractions obtenues sont souvent valorisables. Par ailleurs l'ultrafiltration, la nano filtration et l'osmose inverse sont des outils de choix pour la récupération de matière alimentaire et le recyclage ou la réutilisation d'effluents à la source (eaux de procédés, condensats solutions de détergents ...). Les bioréacteurs à membrane de micro- et ultrafiltration

acceptent des charges volumiques plus élevées et produisent moins de boues que les traitements biologiques conventionnels pour la dépollution des eaux résiduaires

- Innovations en matière de produits et de procédés : Ces techniques permettent de répondre à une demande de variété et de spécificité par le consommateur.
- Coût compétitif : La consommation énergétique de l'ultrafiltration (1 à 15 kWh/m<sup>3</sup> Perméat) de nanofiltration (3 à 7 kWh/ m<sup>3</sup>) et de l'osmose inverse (9 à 40 kWh/ m<sup>3</sup>) les rend particulièrement attractives pour concentrer de la matière sèche (lait, lactosérum, œuf, jus de fruit..) par oppositions aux opérations thermiques telles que l'évaporation sous vide (100 kWh/ m<sup>3</sup> pour 5 effets) (**Aimar, 2000**).

### **III.9.1 Industrie laitière**

L'industrie laitière profite fortement des potentialités de l'ultrafiltration. Il s'agit de la standardisation du lait en protéines (laits de consommation ou laits de fromagerie), Concentration de protéines de lactosérum. En effet, 80% de la production mondiale de fromages frais est aujourd'hui effectué par ultrafiltration.

La technique de fractionnement concentration et purification appliqué au lait écrémé, permet de valoriser ces protéines en l'état après hydrolyse enzymatique.

L'ultrafiltration est également utilisée dans l'épuration bactérienne et chimique des saumures de fromageries avant réutilisation (c'est plus performant qu'un traitement thermique de pasteurisation) (**Balmann, 1988**).

### **III.9.2 Industrie agro-alimentaire et de la boisson**

De multiples fruits et légumes (concombre, carotte, champignon, céleri ...) sont clarifiés et concentrés par ultrafiltration (**Maurel, 1989**).

L'ultrafiltration est largement utilisée dans la clarification du vin et des moûts de fermentations débourbés, dans la stérilisation de la bière à froid à l'aide de membranes et ca clarification à l'aide de membrane en fibres creuses (**Escudier et al., 2000**).

L'industrie des jus de fruits a su profiter des avantages de la filtration tangentielle (**Maurel, 1989**) :

- La production de jus de pomme clarifié.
- La séparation pulpe-sérum de jus d'agrumes (orange, citron...).

L'ultrafiltration est également utilisée dans la clarification de la saumure de viande pour élimination des bactéries et réutilisation de la saumure, et dans la concentration des blancs d'œufs et la déminéralisation de gélatine de porc, d'os et de bœuf (**Spinner, 1998**).

### **III.9.3 Industrie du sucre et des polysaccharides**

De très nombreuses boissons sont formulées en incorporant des sirops de glucose ou du sucre liquide. L'ultrafiltration de ces ingrédients à l'aide de membranes céramiques procurent des flux élevés, se développent rapidement tel que le jus de canne et le sirop de glucose provenant d'hydrolysats de blé (**Aptel, 1986**).

Dans la valorisation des grignons d'olive en présence de l'enzyme de *trichoderma resei* et d'un champ électrique couplé à l'ultrafiltration, le rendement de production des sucres réducteurs est amélioré ; la séparation du glucose est réalisé par couplage de l'ultrafiltration au réacteur enzymatique (**Abdi-Haider, 2005**).

Les polysaccharides (pectines, alginates, carraghénanes, xanthane....), ingrédients texturants de l'industrie alimentaire, peuvent être concentrés par ultrafiltration à plus de 80°C (**Aptel, 1986**).

### **III.9.4 Industrie pharmaceutique et biologique**

Certains réacteurs enzymatiques sont munis d'une membrane ultrafiltrante qui éliminera au fur et à mesure de leur production les produits d'hydrolyse et permettra la récupération des enzymes. L'industrie pharmaceutique utilise l'ultrafiltration pour la préparation d'eau stérile et apyrogène, qualité indispensable à la préparation de solutions injectables.

La récolte des cellules ou la récupération de la biomasse est une étape importante dans le procédé de fermentation, spécialement dans la fabrication des produits intermédiaires tels que les antibiotiques. La filtration par membranes a remplacé avec succès, dans de nombreuses installations, d'autres méthodes de séparation telles que les filtres rotatifs sous vide ou la centrifugation, en améliorant significativement le rendement de production et réduisant l'intervention d'opérateurs ainsi que les coûts de maintenance (**Balman, 1988**).

### **III.9.5 Epuration biologique des eaux résiduaires**

En épuration biologique, on observe une amélioration de la qualité de l'eau épurée, réduction de la production de boues, compacité. Réduction des charges DBO/DCO pour réduire les coûts de traitement en eaux usées (**Boeglin, 1997**).

### **III.9.6 Industrie automobile**

L'ultrafiltration des effluents de peinture par électrophorèse permet la récupération de celle-ci et éviter la pollution. L'ultrafiltration des huiles de coupe permet la séparation des fines gouttelettes d'huile en émulsion dans l'eau, ainsi le filtrat peut être déversé directement dans le réseau d'assainissement sans risque de pollution (**Aimar, 2000**).

### **III.9.7 Industrie électronique**

Dans les puces électroniques, l'espace entre deux composants est de l'ordre du micromètre. L'eau indispensable au lavage lors des Opérations de gravures des puces doit être exempte de toute particule de taille supérieure à 0.1 cela est actuellement et largement réalisé par ultrafiltration (**Abdeesemed, 1992**).

### **III.9.8 Industrie textile**

L'ultrafiltration est utilisée en industrie du textile dans la récupération et le traitement des effluents provenant du lavage de la laine servant au tissage.

### **III.9.9 Applications médicales et biomédicales**

Utilisé en hémothérapie, pour la préparation de différentes protéines plasmatiques et de facteurs de coagulation à partir du plasma humain. Ainsi que pour la purification des plasmides d'ADN. (**Kahn et al., 2000**)





## Chapitre IV

# Matériel et méthodes

### IV.1 Introduction

L'objectif de notre travail est de récupérer les protéines solubles au cours du processus de la production de la chitine à partir de la carapace de crevette par méthode chimique. Ensuite, concentrer ces protéines par l'ultrafiltration. Pour cela, deux installations ont été utilisées. La première est un montage réalisé à une échelle laboratoire. Tandis que le second dispositif est à l'échelle semi pilote, il s'agit du MICROLAB 130 S de la firme GAMMA FILTRATION®.

### IV.2 Matériel

#### IV.2.1 la carapace de crevette

Les carapaces (têtes et thorax) ont été récupérées au niveau des restaurants de la capitale, elles sont identifiées au niveau du laboratoire halieutique de l'Université Houari Boumediene, comme étant celles de la crevette blanche *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) (Figure N°6). Cette espèce est présente en abondance à différentes profondeurs de 150 à 900m, le long du littoral algérien (Nouar et Maurin, 2001).



Figure N°6 : *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846).

Le choix de cette espèce de crustacés *Parapenaeus longirostris* (**Lucas, 1846**) est basé sur plusieurs avantages plus particulièrement son abondance dans le littoral algérien et sa pigmentation qui permet d'obtenir aisément des produits incolores. *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) est classé comme suit : (**Jessop, 1973 ; Tyrre, 1999**).

Règne : métazoaires  
Sous règne : eumétazoaires  
Embranchement : arthropoda  
Sous embranchement : mandibulata  
Classe : crustacea  
Sous classe : malacostraca  
Super ordre : eucarida  
Ordre : decapoda  
Sous ordre : natantia  
Famille : penaeidea  
Genre : Parapenaeus  
Espèce : longirostris

## **IV.2.2 Dispositif d'ultrafiltration**

Au cours de notre travail nous avons utilisé deux types de dispositifs :

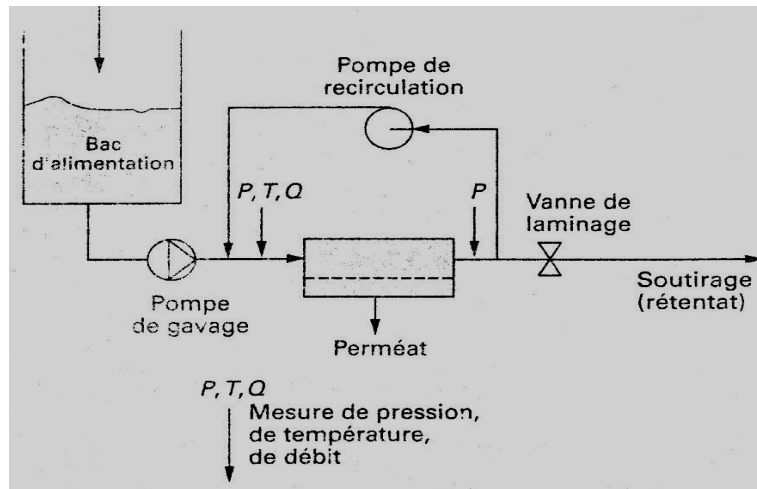
- \* un premier dispositif d'ultrafiltration monté au niveau du laboratoire des biotechnologies.
- \* un deuxième dispositif d'ultrafiltration est un pilote mixte de microfiltration et ultrafiltration : le MICROLAB 130 S de la firme GAMMA FILTRATION®.

### **IV.2.2.1 Premier Dispositif**

L'installation d'ultrafiltration comporte les éléments suivants :

- Une cellule tubulaire d'ultrafiltration.
- Un système d'alimentation fonctionne à partir d'une pompe centrifuge.
- Des prise de pression P1 et P2 permettant de mesurer les pressions d'entrée et de sortie du module d'ultrafiltration.
- Une bouche d'évacuation de la solution du circuit.
- Un circuit de recirculation comportant :
  1. une pompe centrifuge.
  2. un débitmètre.

Le dispositif est schématisé sur la figure N°7.



**Figure N°7 : Représentation schématique d'une installation fonctionnant en continu**

#### ➤ La membrane

Le module est équipé d'une membrane d'ultrafiltration M5 à seuil de coupure de 10 kDa. Elle est composée d'une couche poreuse ultrafine en oxyde de Zirconium  $ZrO_2$  qui est elle-même supportée par un support de carbone poreux. Cette membrane présente une grande résistance aux radiations, à la chaleur et aux contraintes mécaniques et chimiques comprises entre 0-80°C, pH 1-14 et 0-8 bars.

Le module utilisé est de géométrie mono tubulaire de surface active égale à  $0.012m^2$  avec des diamètres interne et externe respectivement de 6 et 10 mm, et d'une longueur de 50 cm. (Mokrane, 2006)

#### IV.2.2.2 Deuxième Dispositif

C'est un pilote mixte de microfiltration et ultrafiltration : le MICROLAB 130 S de la firme GAMMA FILTRATION®.

Le MICROLAB 130 S est le résultat miniaturisé d'installation industrielles conçues pour le traitement des milieux biologiques, ses conditions d'utilisation sont analogues aux installations de taille plus importante.

L'installation comporte une pompe volumétrique d'alimentation à débit réglable suivant la plage de 200 à 800 l/h alimente une boucle dans laquelle se trouve une pompe de recirculation

et module, un débitmètre électromagnétique à débit réglable s'échelonnant entre 0 et 5m<sup>3</sup>/h, un échangeur de chaleur.

La pression sortie module est réglée par une vanne a membrane.

Le débit de retour concentrât réglable entre 100 et 1000 l/h donne accès au traitement de faible volumes.

Le tableau N° 6 résume les caractéristiques générales de l'unité

**Tableau N°6 : Résumé des caractéristiques générales de l'installation**

<b>CARACTERISTIQUES GENERALES</b>	
Température maximale du système	95 °C
Viscosité maximale	900 cps
Pression maximale du système	8 bars
Volume de la cuve	25 litres
Surface membrane CERAVER 50 nm	0.1m <sup>2</sup>
Puissance installée	401Kw

Une sonde de température permet de connaître la température du fluide au voisinage de la membrane, la lecture de l'indicateur de température se trouve sur la façade de l'armoire électrique. Sur l'indicateur de température on trouve deux points de consignes réglables et un point mesure.

- Le premier point de consigne de température permet la régulation de la température et le déclenchement de l'électrovanne EV3ou se fait la convection sur le circuit de refroidissement.
- Le deuxième point de consigne de température permet de fixer l'alarme maximale de température.

Deux capteurs de pression sont placés l'un à l'entrée du module et l'autre à la sortie du module, permettent de mesurer à chaque instant la valeur de la pression en faisant la lecture sur les deux indicateurs de pression sur la façade de l'armoire électrique.

Sur l'indicateur de pression d'entrée module ou de sortie module on trouve deux points de consignes réglables et un point mesure. Le premier point de consigne donne la valeur de la pression minimale, et le second donne la valeur de la pression maximale.

Le dispositif d'ultrafiltration est schématisé dans la figure N° 8.

## ➤ La membrane d'ultrafiltration

La membrane utilisée lors de notre étude est une membrane minérale CEREVER® de diamètre des pores de 500 Angströms. Elle est constituée d'un support et d'une membrane proprement dite ou couche active (voir figure N° 9)

### A. Le support

Le support de structure macroporeuse très perméable et très solide est constitué de l'alumine  $\alpha$ . Il comporte un bloc poreux tubulaire percé de 19 canaux parallèles dont la surface intérieure est revêtue de la membrane.

Le diamètre des pores du support est environ  $15 \mu m$ . Le diamètre d'un canal est de 4 mm. Comme l'indique la figure (10), le liquide à filtrer circule dans chacun des canaux ; le perméat s'écoule à travers la membrane, traverse le support entre les canaux et sort par la surface latérale extérieure.

Cette géométrie multi canal présente l'avantage d'une très grande robustesse. De plus, la réalisation de canaux de petits diamètres permet un faible débit de recirculation dans la boucle de filtration, une faible consommation d'énergie et un faible volume mort.

#### Caractéristique du support

Composition :  $\alpha Al_2O_3$ .

Diamètre moyen des pores :  $15 \mu m$ .

Diamètre du canal : 4mm.

Nombre de canaux : 19.

Longueur : 850 mm.

Surface utile de la membrane :  $0.2 m^2$ .

Pression d'éclatement :  $>100$  bars.

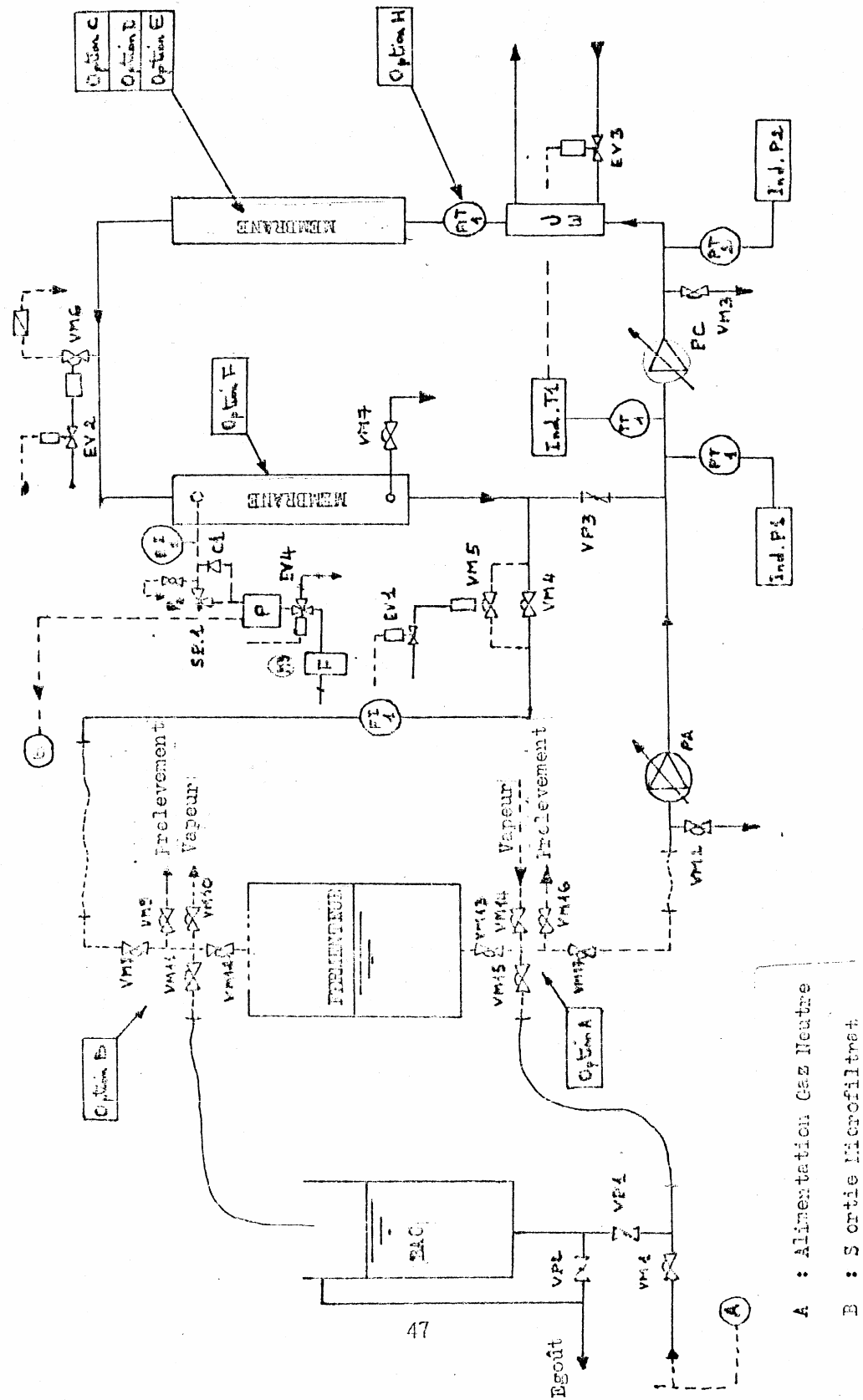


Figure N°8 : Représentation schématique d'une installation fonctionnant en continu

**Tableau N° 7 : Légende de la figure (8)**

<b>REPERES</b>	<b>DESIGNATIONS</b>
VP1	Vanne d'alimentation
VP2	Vanne de vidange
VM1	Vanne d'arrêt vapeur
VM2	Vanne de purge de la pompe d'alimentation
PA	Pompe d'alimentation
PT1 – PT2	Capteur de pression d'entrée et de sortie module
PI <sub>1</sub> -PI <sub>2</sub>	Indicateurs numériques de pression
PC	Pompe de circulation
VM3	Vanne de purge de la pompe de circulation
VM6	Vanne de purge d'air de la boucle
M	Module porte membrane
VP3	Vanne d'ouverture de la boucle
FIT	Débitmètre électromagnétique de boucle
TT1	Sonde de température Pt 100DIN
TI <sub>1</sub>	Indicateur numérique de température
Ech	Echangeur de chaleur
EV3	Electrovanne
VM4	Vanne de réglage de pression
VM7	Vanne de vidange Perméat
P <sub>0</sub>	Robinet de purge d'air Perméat
SP1	Soupape de réglage de pression
P	Pression de décolmatage
C1	Clapet anti-retour
FI <sub>1</sub>	Débitmètre retentât
M3	Manomètre de pression du Perméat

## B. la couche active

La couche active est liée au support de façon monolithique par frittage. Le diamètre moyen des pores de couche est de 500 Å.

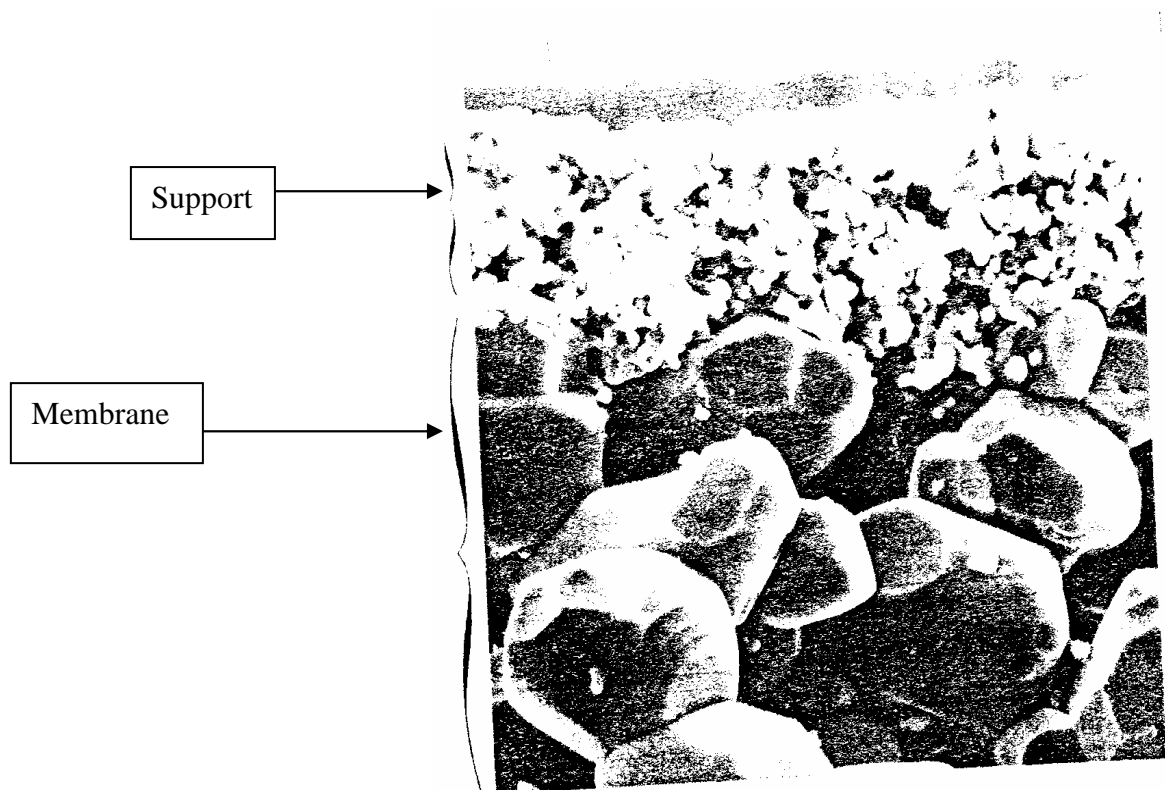
### Caractéristique de la couche active

Composition : oxydes métalliques à base de zircone.

Diamètre moyen des pores : 500 Å.

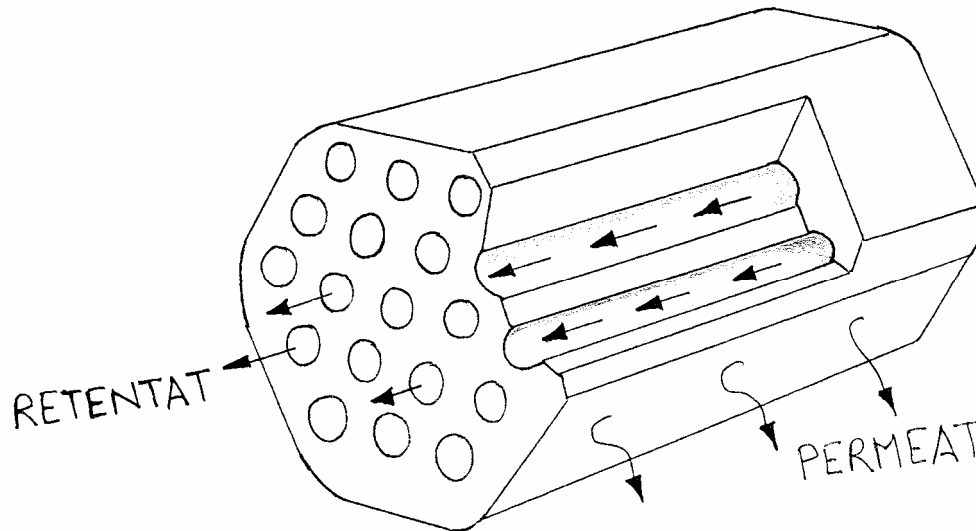
Résistance chimique : très bonne.

Gamme de pH supportée : 0,5 – 13,5.



**Figure N° 9 : Photo microscopique d'une coupe du support de la membrane (Abdessemed, 1992)**





**Figure N° 10: Principe de la filtration tangentielle dans un multi canal**  
(Abdessemed, 1992)

## IV.3 Méthodes

### IV.3.1 Préparation de la Poudre de carapace

La préparation de la poudre de carapace de crevette a été réalisée comme suit : Les carapaces de la crevette blanche sont d'abord débarrassées de la chaire ainsi que de leurs pattes et antennes, lavées puis bouillies dans de l'eau durant une heure. Puis séchées à 163°C à l'étuve pendant 24 heures, les tissus secs sont éliminés plus aisément par frottement. (Mukherjee, 2001).

A la fin les carapaces subissent un choc thermique qui permet de casser la structure cristalline de la chitine et de rendre les carapaces plus faciles à broyer. Pour cela, nous avons placé les carapaces dans l'étuve à 80°C pendant 48 h. les carapaces ainsi chaudes, sont mises dans un récipient puis le tout est rapidement plongé dans un bain d'acétone contenant de la glace. En dernier, les carapaces sont broyées à l'aide d'un broyeur pour obtenir une poudre de granulométrie variable environ de 1 à 3 mm.

Pour en produire de la chitine à partir de cette poudre de carapace, celle-ci subit plusieurs traitements figure (12), qui sont :

- Une déminéralisation de poudre de carapace à l'acide chlorhydrique.
- La carapace déminéralisée subira par la suite une déprotéinisation à la soude concentrée.
- la carapace déminéralisée et déprotéinée subit à la fin une étape de dépigmentation en imbibant la poudre de carapace avec de l'acétone et en la laissant sécher à l'air libre pendant 2 heures. Puis, nous plongeons cette poudre dans une solution d'eau de javel (blanchiment) à 0.315% (1 :10 p/v) sous agitation pendant une heure (No, et al., 1989). Nous obtenons ainsi de la chitine.

## IV.3.2 Analyse physico-chimique de la carapace

### IV.3.2.1 Détermination du pH à 10% (masse/volume)

Ce paramètre nous permet d'avoir une idée sur le caractère alcalin ou acide de la carapace. Pour estimer le pH, 10 g de poudre de carapace sont mis à macérer dans 100ml d'eau distillée pendant une heure. La valeur du pH est déterminée par lecture directe à l'aide d'un pH mètre.

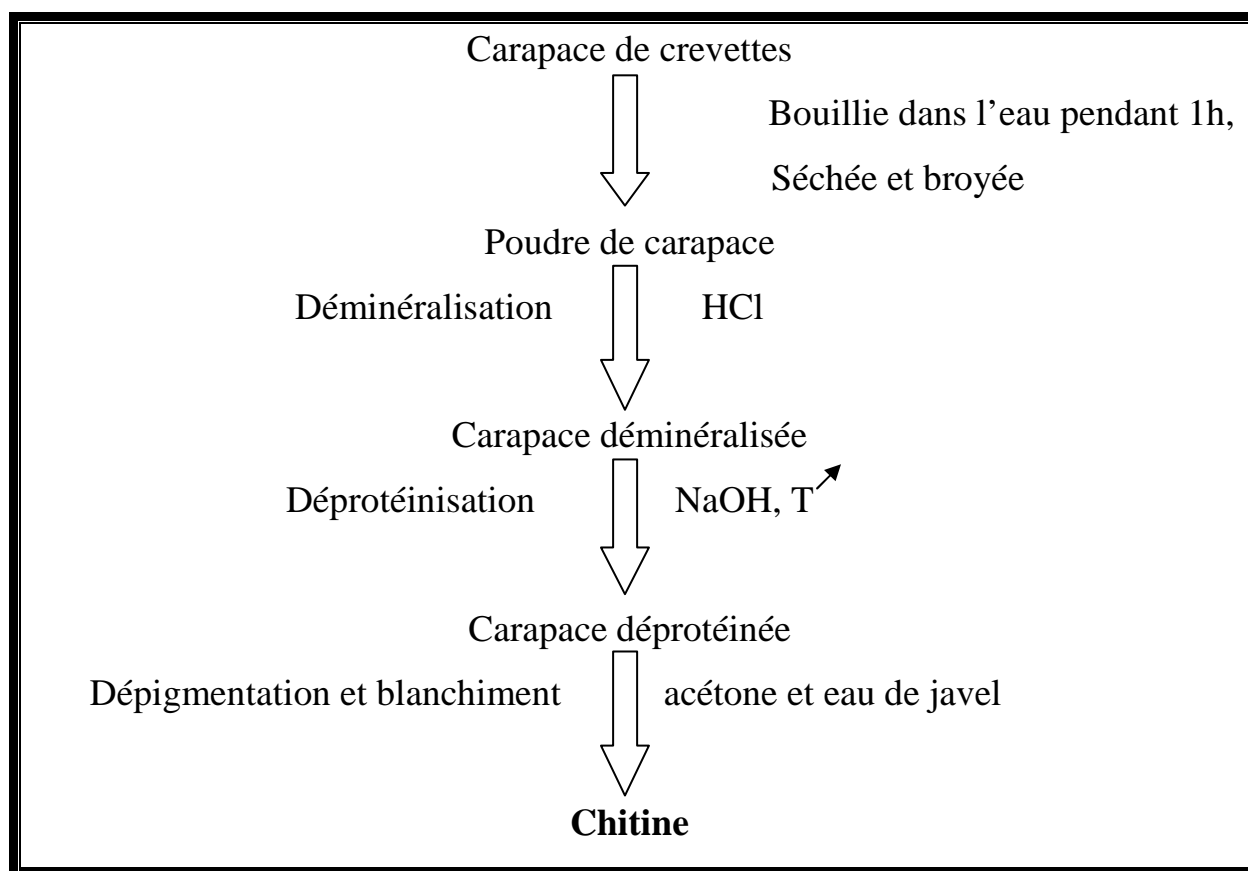


Figure N° 11 : Etapes de la préparation de la chitine (Mukherjee, 2001).

#### IV.3.2.2 Mesure de l'humidité

La teneur en eau de la carapace est déterminée, selon **RAO et al. 2000** ; après étuvage à 105 °C pendant 24 h. la perte de masse est équivalente à la quantité d'eau présente dans la carapace. Le pourcentage d'humidité sera calculé par la relation suivante (**RAO et al., 2000**) :

$$H = \left( \frac{M_0 - M_1}{M_0} \right) * 100 \dots\dots\dots 17$$

$H$  : % d'humidité.

$M_0$  : Masse de la prise d'essai (g).

$M_1$  : Masse de la prise d'essai après étuvage (g).

#### IV.3.2.3 Détermination du taux de cendres

Le taux de cendres correspond au pourcentage de la matière minérale présente dans la carapace. Il nous permet ainsi, de déduire le pourcentage de déminéralisation de la carapace.

Le principe repose sur l'incinération de 1g de carapace non traitée dans un four à moufles à 600°C pendant 6h. (**Mirzadeh et al., 2002**). Ensuite, le creuset est refroidi dans un dessiccateur puis pesée. Le taux de minéraux est donné par la relation :

$$TM = \left( \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \right) * 100 \dots\dots\dots 18$$

$M_2$  : Masse du creuset avec les cendres (après incinération) (g).

$M_0$  : Masse du creuset vide (g).

$M_1$  : Masse du creuset chargé de la prise d'essai (g) (avant incinération).

$TM$  : Taux de cendres ou de minéraux (%).

#### IV.3.2.4. détermination de la teneur en chitine

La détermination de la teneur en chitine dans les carapaces est réalisée par dosage des résidus N-acétyl glucosamines libérées par hydrolyse acide de la chitine réalisée avec de l'acide chlorhydrique 6N pendant 6h. Le dosage des résidus N-acétyl glucosamines libérés se fait par la méthode de Reissig (**Loiseleur, 1963**). Il s'agit de la réaction de Morgan-Elson qui, en milieu

alcalin et à chaud, les N-acétyl glucosamines conduisent à des chromogènes (dérivés du furane) alors qu'en milieu acide les N-acétylhexosamines se condensent au p-diméthylaminobenzaldéhyde (réactif d'Ehrlich) conduisent à une coloration rouge violacée (**Percheron et al., 1981**).

Cette méthode utilise deux réactifs :

- Le tetraborate de potassium (réactif A) : solution de 0.8M dans le borate. Le pH est ajusté à 9.1 avec KOH.
- Réactif à la p-diméthylaminobenzaldéhyde (réactif B) : on dissout 10mg de ce réactif dans 100ml d'acide acétique glacial très pur, qui contient 12.5% en volume de HCl 10N. le réactif se conserve bien pendant un mois à +2°C. au moment de l'usage, on le dilue avec 9 volumes d'acide acétique glacial très pur.

La teneur des carapaces en chitine (%) se calculera par :

$$Teneur\ en\ chitine = \left( \frac{masse\ d'\ acétyl\ glu\ cos\ a\ min\ e}{masse\ d'\ échantillon} \right) * 100 \dots\dots\dots 19$$

La fraction d'azote dans la chitine contenue dans 100g de carapaces se calculera par (**Cremades et al., 2001**) :

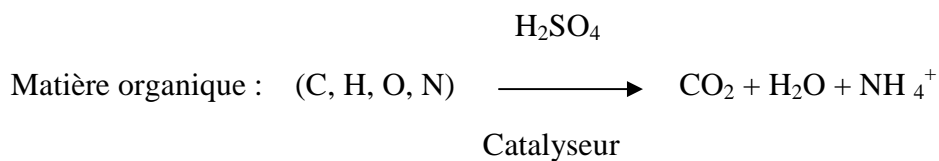
$$N(chitine) = \frac{teuneur\ en\ chitine}{14.5} \dots\dots\dots 20$$

**IV.3.2.5. Dosage de l'azote total par la méthode de kjeldahl (AFNOR, 1982)**

La plus grande partie de l'azote des substances biologique est contenue dans les protéines. La proportion d'azote est généralement constante pour le même type de protéines (de l'ordre de 16 % de masse). Le dosage de l'azote total dans la carapace, nous permet de calculer le taux de protéines dans cette dernière. La méthode utilisée est celle de Kjeldahl (**AFNOR, 1982**). Elle s'effectue en trois étapes : la minéralisation, la distillation de l'ammoniac libéré et le titrage.

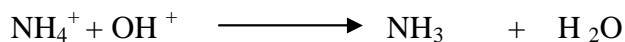
## Principe (Audigié, 1984)

**1-Minéralisation** : on minéralise les matières organique contenues dans la prise d'essai par action de l'acide sulfurique concentré à chaud en présence de catalyseur (généralement utilisé ; le sulfate de sodium ou de potassium). (Opération nécessitant beaucoup de précautions).



## 2-Déplacement de l'ammonium

Un excès d'hydroxyde de sodium neutralise l'acide sulfurique et libère l'ammoniac entraîné par vapeur



Le dosage de l'ammoniac peut être :

- direct : l'ammoniac est dosé directement par un acide étalonné au fur et à mesure qu'il distille.
- indirect (par reste) : il est effectué en recueillant l'ammoniac dans une solution titrée d'un acide fort dont l'excès est dosé par distillation.

## Calcul et expression des résultats

L'azote total est calculé par (AFNOR, 1982)

$$N_t = \left( \frac{0.14 \times V}{m} \right) \times 100 \quad \dots\dots\dots 21$$

$V$  : Volume d'acide sulfurisé utilisé lors du titrage (ml).

$m$  : Masse de la prise d'essai (dans notre cas c'est 2g).

La teneur en azote totale exprimée en g d'azote par g de carapace.

L'azote total comprend l'azote protéique et non protéique (chitine) donc

$$N_{\text{Protéique}} = N_t - N_{\text{Chitine}} \dots\dots\dots 22$$

Finalement la teneur en matière azotée protéique se calcul par :

$$T_{\text{eneur en protéine}} = N_{\text{Protéique}} * 6.25 \dots\dots\dots 23$$

### IV.3.3 Optimisation des paramètres de la déminéralisation

Pour la déminéralisation nous avons optimisé les paramètres suivants :

- la concentration en HCl
- le rapport (ratio) : poids de carapace (g)/volume d'acide (ml)
- le temps de réaction (t).

Nous réalisons les réactions à température ambiante ( $\approx 25^\circ\text{C}$ ) en fixant deux paramètres et variant le troisième.

La déminéralisation est observée par l'effervescence produite. Et appréciée par la mesure du poids de cendres obtenues après incinération (plus le poids de cendre est faible meilleure aura été la réaction de déminéralisation), et aussi par mesure du taux de déminéralisation.

#### Mesure du taux de déminéralisation

Le taux de déminéralisation est calculé par la formule suivante (No, et al., 1989)

$$T_{\text{aux de dé min éralisation}} = \frac{T_{\text{aux de cendre initial}} - T_{\text{aux de cendre de l'échantillon}}}{T_{\text{aux de cendre initial}}} * 100 \dots\dots 24$$

Le taux de cendre est le poids de cendre après incinération de l'échantillon dans le four à moufles.

### IV.3.4 Optimisation des paramètres de La déprotéinisation

Pour la déprotéinisation nous avons optimisé les paramètres suivants :

- la température de réaction
- la concentration en soude (NaOH).
- le rapport (ratio) : poids de carapace (g)/volume de soude (ml)
- le temps de réaction

Pour cela, nous fixons trois paramètres et faisons varier le quatrième. Le taux de déprotéinisation est déterminé par le dosage des protéines dans le surnageant par la méthode de biuret (plus le taux de protéines est élevé plus efficace est la réaction).

Il faut s'assurer que les réactions sont menées sous agitation constante.

Les deux réactions (déminéralisation et déprotéinisation) sont suivies par une étape de lavage à l'eau de robinet jusqu'à pH neutre puis séchage à l'étuve à 100°C.

#### Mesure de la teneur en protéines

Après la réaction de déprotéinisation, le surnageant ainsi que l'eau de rinçage de la carapace sont récupérée et transvaser dans une fiole puis neutralisée par une solution d'acide chlorhydrique 1M. Nous effectuons par la suite le dosage colorimétrique de Biuret.

#### Principe (Apria, 1982)

La méthode au biuret est une méthode de dosage colorimétrique dont le principe est le suivant :

En milieu alcalin les composés contenant au moins deux groupement  $-\text{CO}-\text{NH}-$  ou  $-\text{CO}-\text{NH}_2-$  voisins forment avec les ions cuivriques ( $\text{Cu}^{2+}$ ) un complexe bleu violet. Cette coloration se développe en particulier avec le biuret ( $\text{NH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ) d'où vient la nomination de la méthode.

L'intensité de la coloration est proportionnelle au nombre de liaisons peptidiques. Il en résulte que pour une protéine pure, cette intensité est proportionnelle à sa concentration. Toutefois cette concentration ne doit pas dépasser  $1\text{g.L}^{-1}$ .

## Mesure du taux de déprotéinisation

Il se calcule par la relation suivante :

$$\text{Taux de déprotéinisation (\%)} = \frac{\text{Masse de protéines de l'échantillon}}{\text{Masse de protéines initiale}} * 100 \quad \dots\dots\dots 25$$

Le taux de protéines initialement présent dans la carapace est obtenu par le dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl.

## IV.3.5 Procédé d'ultrafiltration

### IV.3.5.1 Fonctionnement du procédé d'ultrafiltration à concentration constante

Pour le calcul de la perméabilité et le tracé des courbes de polarisation, nous recirculons le perméat dans le bac d'alimentation afin de travailler à concentration constante.

Le calcul de la courbe de perméabilité à l'eau, ainsi que le tracé des courbes de polarisation, pour les deux dispositifs d'ultrafiltration se réaliseront suivant le type de procédé schématisé dans la figure (12).

#### IV.3.5.1.A Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane

Pour réaliser ce calcul nous avons le choix de : travailler en statique (seule la pompe d'alimentation fonctionne) ou en circulation (les deux pompes fonctionnent). Nous avons choisi de travailler en mode statique et suivi les directives ci dessous :

1. Remplir la cuve d'alimentation d'eau en dirigeant les sorties perméat et retentât sur la cuve.
2. Mettre en marche la pompe d'alimentation.
3. Laisser tourner le système à débit et pression constante pendant une heure
4. Pour chaque pression  $\Delta p$  fixée, effectuer un empotage, c'est-à-dire noter le temps  $t$  nécessaire pour remplir un volume  $V$  du perméat.
5. En traçant  $J_v$  en fonction de  $\Delta p$  on obtient la courbe solvant qui est une droite linéaire.

La perméabilité de la membrane est donc donnée par la pente de la droite  $J_v = f(\Delta p)$ .



### IV.3.5.1.B Tracé des courbes de polarisation

Le tracé des courbes de polarisation se déroule comme suit :

1. Remplir le bac d'alimentation avec la solution à traiter, en dirigeant les sorties retentât et perméat sur la cuve.
2. Faire marcher la pompe d'alimentation, puis la pompe de recirculation.
3. Fixer la vitesse de recirculation à l'aide du débitmètre que l'on fait varier par la suite.
4. Faire des empotages pour chacune des pressions transmembranaires  $\Delta p$  étudiées.
5. Tracer la courbe de variation de  $J_v$  en fonction de  $\Delta p$  pour les différentes vitesses de recirculation.

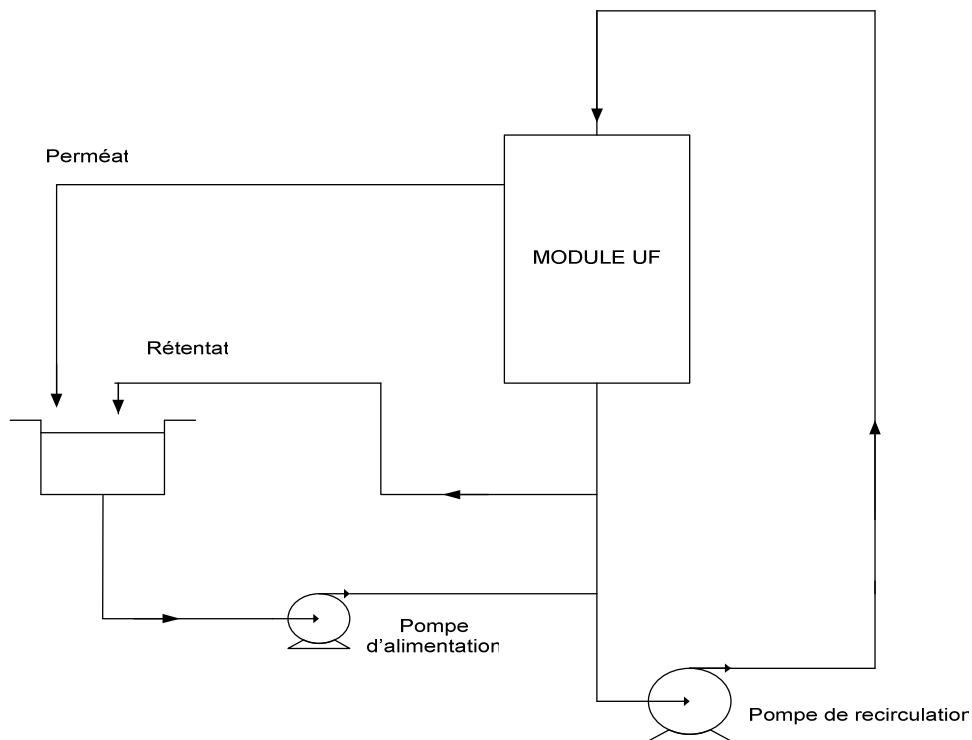


Figure N°12 : Fonctionnement du procédé d'ultrafiltration à concentration constante.

### IV.3.5.2 Fonctionnement du procédé d'ultrafiltration en discontinu

L'essai de concentration de la solution protéique dans les deux dispositifs d'ultrafiltration s'effectue en discontinu comme l'indique la figure (13).

- Remplir le bac d'alimentation par un volume connu de la solution protéique à traiter.
- Fixer les conditions optimales de fonctionnement telles que la pression  $\Delta p$  et la vitesse de recirculation  $U$ .
- Ne pas recirculer le perméat dans le but de concentrer la solution.
- Suivre l'évolution du flux de perméat en fonction du temps en faisant des empotages à des intervalles de temps différents.
- Recueillir simultanément des échantillons de perméat et de retentat pour connaître le taux de rejet et le facteur de concentration.

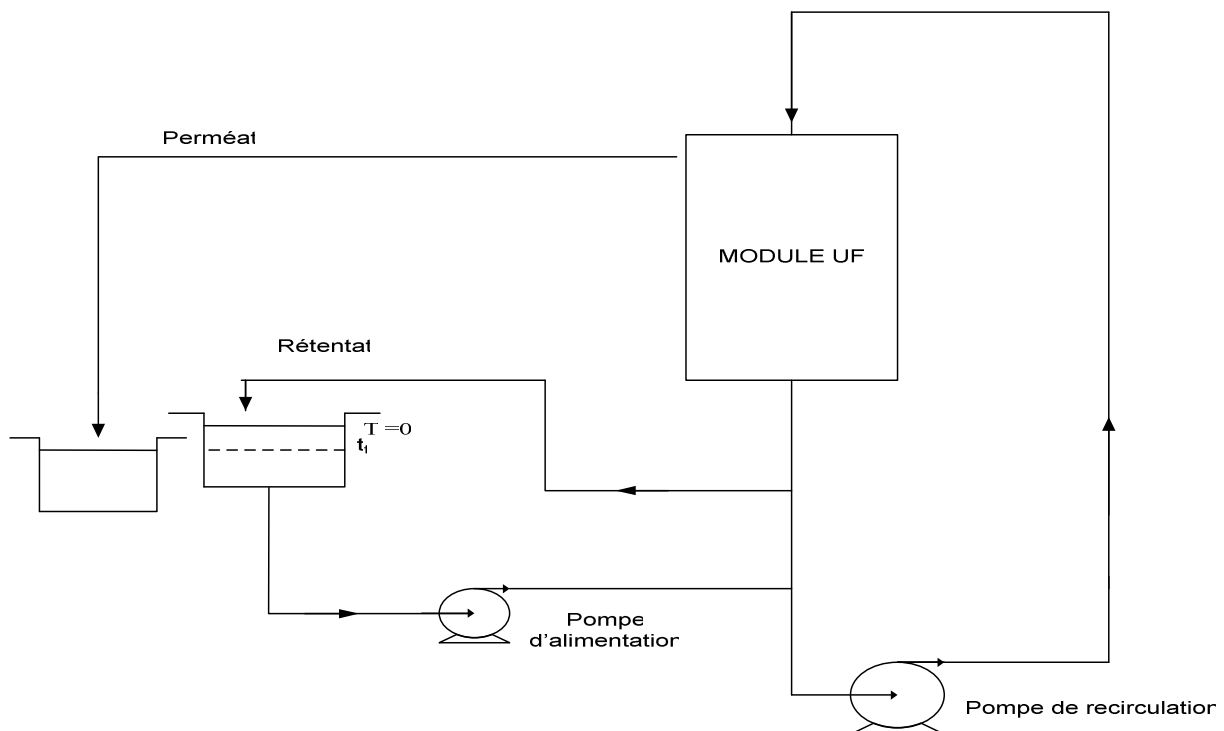


Figure N°13 : Fonctionnement du dispositif d'ultrafiltration en discontinu.

# Chapitre V

## Résultats et discussions

### V.1 Introduction

Dans ce chapitre nous allons illustré et discuté tous les résultats obtenus. Différents paramètres seront optimisés à partir des données expérimentales, i.e., optimisation des paramètres de déminéralisation, de déprotéinisation ainsi que les paramètres hydrodynamiques de fonctionnement des deux installations d'ultrafiltration.

### V.2 Propriétés physico-chimique de la carapace

L'analyse physico-chimique de la poudre de carapace a été basée sur la détermination du pourcentage d'humidité, des taux de minéraux, de protéines et de chitine, ainsi que la teneur en lipides et en pigments. Les résultats obtenus sont repris dans le tableau N° (8).

**Tableau N°8 : Paramètres physico-chimique de la carapace**

pH	8 - 9
Humidité	2.25%
cendres (minéraux)	51%
Protéines	21.6%
chitine	18.61%
Lipides et pigments	6.74%

D'après nos résultats, nous constatons que la carapace de *Parapenaeus Longirostris* est caractérisée par un pH basique qui varie entre 8 et 9. Elle présente un taux de minéraux de 51%, ce dernier est relativement élevé par rapport à celui trouvé par Arbia 2007 (35,5%) pour la même espèce (Arbia, 2007), chez la langoustine (20.8%) par (Zakaria et al., 1998) et chez la crevette

tropicale (18-23%) (**Rao et al ,2000**). (**Ferrer et al. ,1996**) quand à eux proposent une teneur de 28.1%. Chez la langouste le taux de minéraux est de 63.6% selon (**No et al., 1989**) alors que chez les crabes rouges il est de 41.2% (**Jung et al. ,2005b**).

Le taux de protéines présent dans la carapace est de l'ordre de 21.6%. Ce taux est de l'ordre de 22.4% chez les crabes rouges (**Jung et al. ,2005b**), de 16.9% chez la langouste (**No et al., 1989**), et 30 à 40% chez la crevette tropicale (**Rao et al. ,2000**).

La quantité de chitine est de l'ordre de 18.61% elle n'est pas très loin du taux obtenue chez la langouste 23.5% (**No et al., 1989**) et de 14- 27% chez la crevette (**Ferrer et al. ,1996**).

Nous signalons que toutes ces données ne sont pas constante car chez les crustacés, la composition de leurs carapaces peu présenter des variations physiologiques et saisonnières (**Seng, 1988 ; Fernandez-Kim, 2004**).

### **V.3 Optimisation de la déminéralisation**

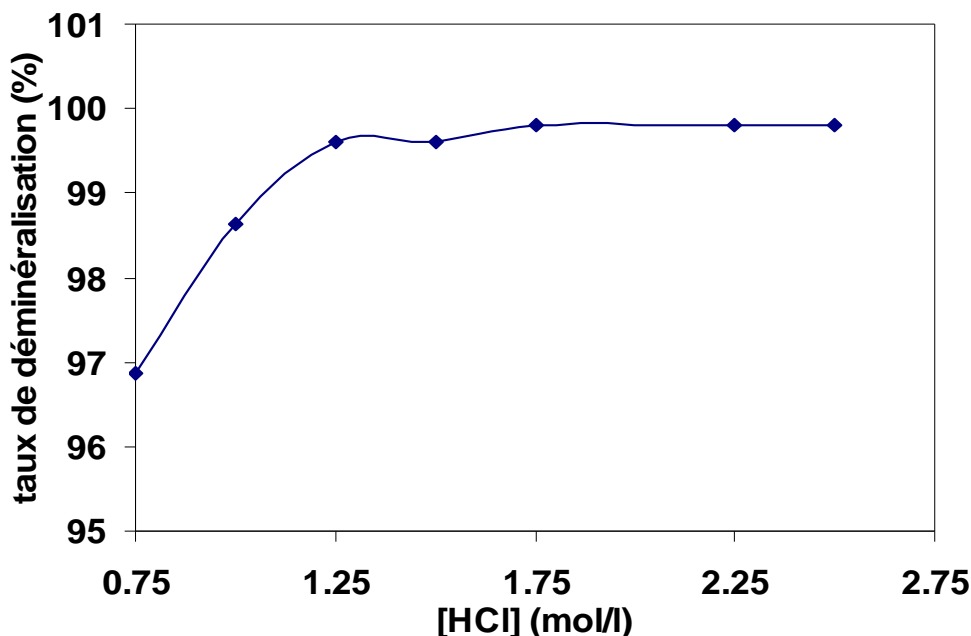
La déminéralisation consiste à extraire les minéraux contenus dans la carapace de crevette. Elle est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Pour notre manipulation nous avons choisi de travailler avec de l'acide chlorhydrique HCl comme agent hydrolysant ; selon les données bibliographiques il donnerait de meilleurs résultats.

Afin d'optimiser les paramètres de la déminéralisation, nous avons effectué plusieurs essais en fixant tous les paramètres et en faisant varier un seul.

#### **V.3.1 Optimisation de la concentration en acide chlorhydrique**

Les paramètres suivant sont maintenus constants : le poids de la carapace est de 1g, la température est ambiante (~25°C), la durée de la réaction est de 24 heures, le volume en acide chlorhydrique est de 15 ml. Nous avons varié la concentration de l'acide chlorhydrique HCl de 0 M jusqu'à 3 M.

Nous avons suivi l'évolution du taux de déminéralisation en fonction de la concentration en acide chlorhydrique. Les résultats obtenus sont représentés par la figure N° 14.



**Figure N° 14 : Evolution du taux de déminéralisation en fonction de la concentration en acide chlorhydrique.** Pds de carapace=1 g ;  $V_{\text{HCl}}=15$  ml ;  $T^{\circ}$  ambiante=25°C ;  $t_{\text{R}}=24$ h

Nos résultats nous permettent d'avoir des taux de déminéralisation importants de l'ordre de 96 % pour de faible concentration en acide chlorhydrique. Ce qui peut parâtre intéressant, mais pas satisfaisant dans notre cas, étant donné qu'on devait atteindre des taux de déminéralisation très proche de 100 % pour avoir une chitine plus au moins pure. Des variations minimales du taux de déminéralisation peuvent engendrer la dégradation de la chitine produite, ainsi que le chitosane (**Mukherjee, 2001**).

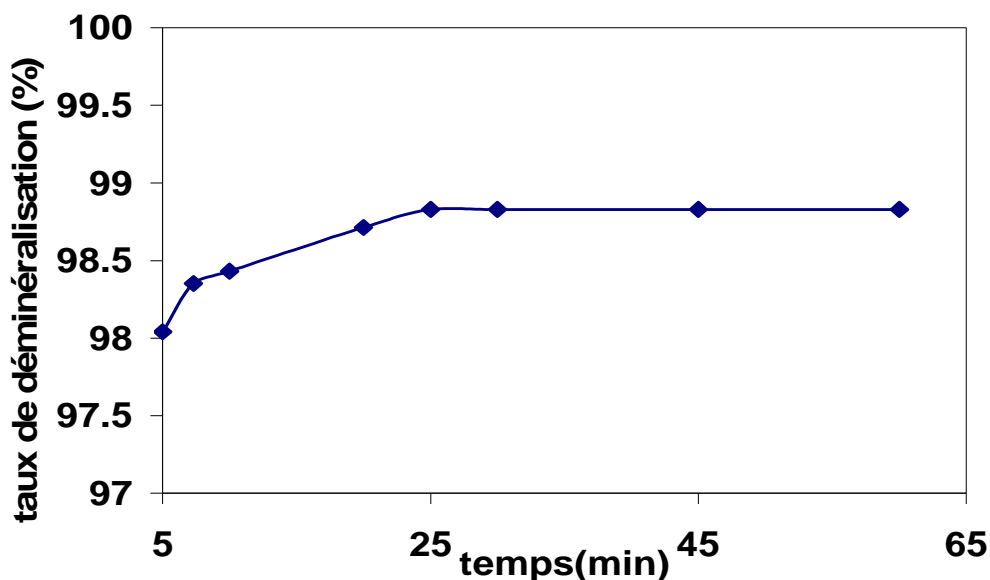
D'après le graphe de la Figure N° 14, nous constatons que pour des concentrations en HCl allant de 0.5 à 1M le taux de déminéralisations augmente linéairement. Nous avons enregistré un taux de déminéralisation de 99,8 % pour une solution de HCl 1,75 M. au-delà de cette valeur l'amélioration apporté sur le taux de déminéralisation n'est pas appréciable.

Ce qui nous permet de conclure qu'une concentration en HCl de 1,75 M serait optimale pour la déminéralisation. Cette valeur sera utilisée dans la suite des expériences.

### V.3.2 Optimisation de la durée de déminéralisation

Après avoir optimisé la teneur en acide chlorhydrique, nous allons étudier l'influence de la durée du traitement sur le taux de déminéralisation. Pour cela nous avons muni une série de manipulations sous les conditions suivantes :

Le poids de la carapace est de 1g, la température est ambiante (~25°C), un volume de 15 ml d'acide chlorhydrique de concentration 1,75 M. Au cours du temps la variation de taux de déminéralisation est représentée par la Figure N° 15.



**Figure N°15 : Evolution du taux de déminéralisation en fonction de la durée de déminéralisation.** Pds de carapace=1 g ;  $V_{\text{HCl}}=15$  ml ;  $[\text{HCl}]=1,75$  M ;  $T^\circ$  ambiante=25 °C

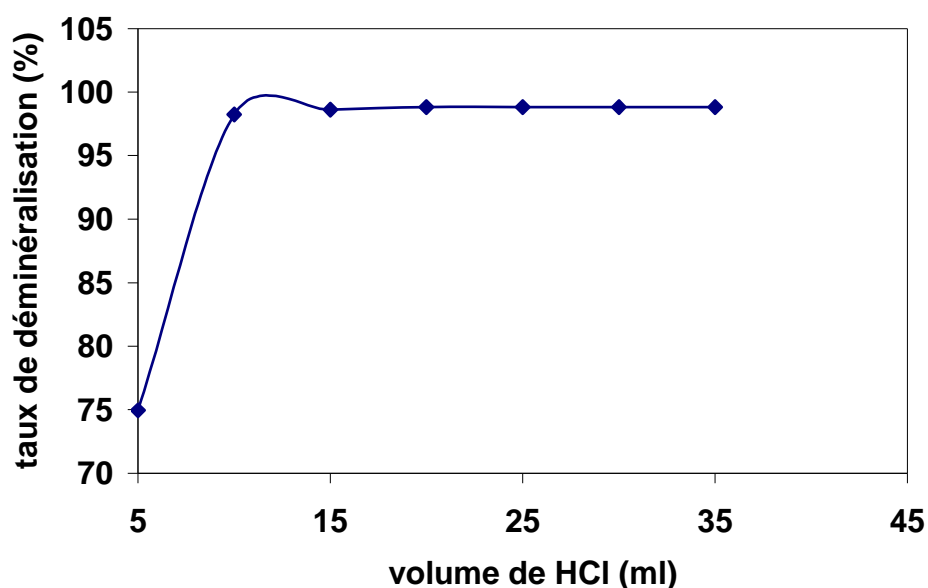
Nous remarquons sur la courbe que la réaction de déminéralisation est une réaction rapide. En effet on obtient un taux de déminéralisation de 98 % au bout de 5 minutes. Le taux de déminéralisation maximal de 98,8% est atteint au bout de 25min de réaction.

Des réactions plus longues n'apporteraient pas une amélioration du taux de déminéralisation. Ce qui nous permet de dire qu'un temps de réaction de 25 minutes est un temps optimal, et nous allons l'utiliser dans la suite de nos manipulations.

### V.3.3 Optimisation du volume d'acide chlorhydrique

Dans cette série d'essais, nous étudions l'influence du rapport poids de la carapace / volume d'acide utilisé sur le taux de déminéralisation. Pour cela nous avons maintenu constants les paramètres suivants : le poids de la carapace est de 1g, la température est ambiante (~25°C), la durée de réaction est de 25 min, la concentration d'acide chlorhydrique est de 1,75 M. nous faisons varier le volume d'acide ajouté.

Les résultats sont illustrés par la Figure N° 16.



**Figure N° 16 : Optimisation du volume d'acide chlorhydrique**

Pds de carapace=1 g ; [HCl]=1.75M ; T° ambiante=25°C ;  $t_R$ =25min

Il apparaît qu'un volume de 15 ml d'HCl à 1.75M est suffisant pour éliminer la partie minérale contenue dans la carapace de crevette. L'optimum du taux de déminéralisation (99,8%) sera donc obtenu en ajoutant 15 ml d'acide chlorhydrique pour 1 g de carapace de crevette correspondant à un ratio de 1 /15.

Les paramètres de la déminéralisation optimisés pour 1 g de carapace sont résumés dans le tableau n°9 suivant :

**Tableau N° 9 : Les conditions optimales de déminéralisation.**

Température (°C)	Concentration en HCL (M)	Temps (min)	Ratio (poids/volume)
Ambiante (~25°C)	1.75	25	1/15

Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par No et *al.* (1989) qui ont extrait de la chitine à partir de la langouste (l'espèce n'a pas été mentionnée) et ont mis en évidence que l'optimum de la déminéralisation est obtenu à température ambiante (20°C) pendant 30 minutes avec de l'HCl 1N et un rapport de 1g de carapace /15ml d'HCl (No et *al.*, 1989). Pour Mukherjee (2001), l'optimum de la déminéralisation a été obtenu à une température de 25°C pendant 2 heures avec de l'HCl 1N et un rapport 1g de carapace /15ml d'HCl (Mukherjee, 2001). Par contre, Chang et Tsai (1997), ont travaillé sur la crevette rose *Solenocera melantho* et sont parvenus à des conditions optimales de déminéralisation de la carapace à température ambiante avec une concentration de HCl de 1.7N et un rapport de 1g de carapace /9ml d'HCl (Chang et Tsai, 1997). Synowiecki et *al.* (2000) ont travaillé sur la crevette Crangon crangon et ont trouvé un optimum de déminéralisation à une température de 20°C pendant 30minutes avec une solution de HCl 1N et un rapport de 1g de carapace /20ml d'HCl (Synowiecki et *al.*, 2000).

#### **V.4 Optimisation des paramètres de la déprotéinisation**

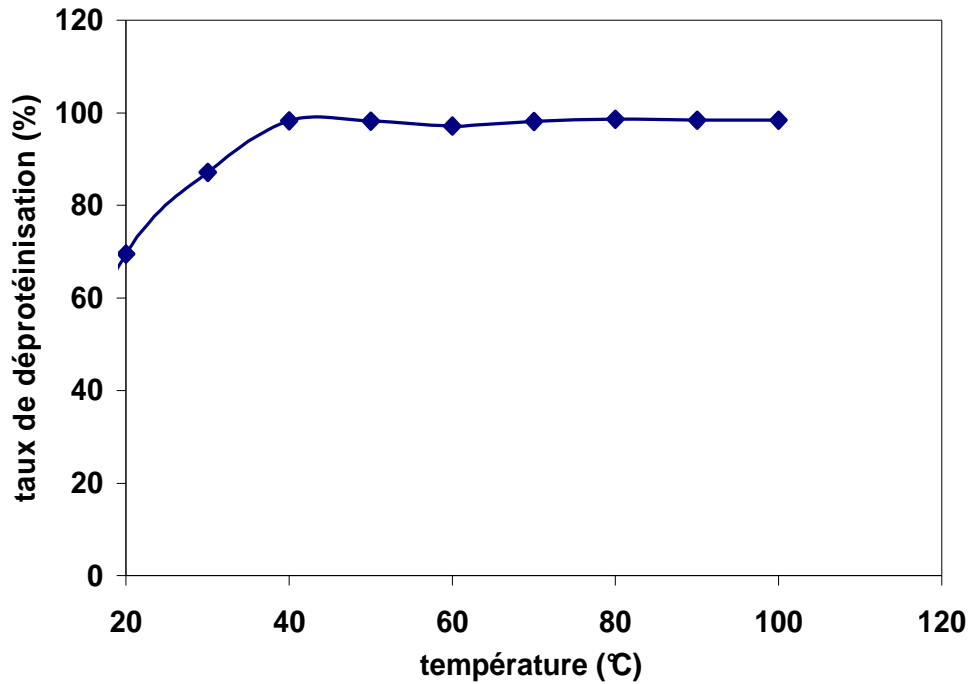
La carapace de crevette contient une chitine qui se présente sous forme de complexes protéiques. Ceci rend la déprotéinisation de celle-ci indispensable pour l'obtention d'une chitine pure (No et *al.*, 1989). La présence de liaisons covalentes chitine-protéine demande généralement des processus de déprotéinisation sévère, en utilisant des bases fortes sous haute températures. Dans notre présent travail nous avons choisi d'utiliser la soude pour des raisons économiques (la soude est moins chère par rapport aux autres bases).

Nous avons opté pour une déprotéinisation chimique car l'extraction des protéines par les enzymes est incomplète (contrairement au procédé chimique). De plus l'utilisation des enzymes protéolytiques peut se révéler coûteuse et ce en fonction de l'enzyme utilisée (Tan et Lee, 2002).

##### **V.4.1. Optimisation de la température de réaction de déprotéinisation**

Les paramètres suivant sont maintenus constants : le poids de la carapace est de 1g, la durée de la réaction est de 6 heures, le volume d'hydroxyde de sodium est de 20 ml à une concentration 3 M. Nous faisons varier la température de réaction de 20°C à 100°C. Les résultats obtenus sont illustrés sur La Figure N° 17.





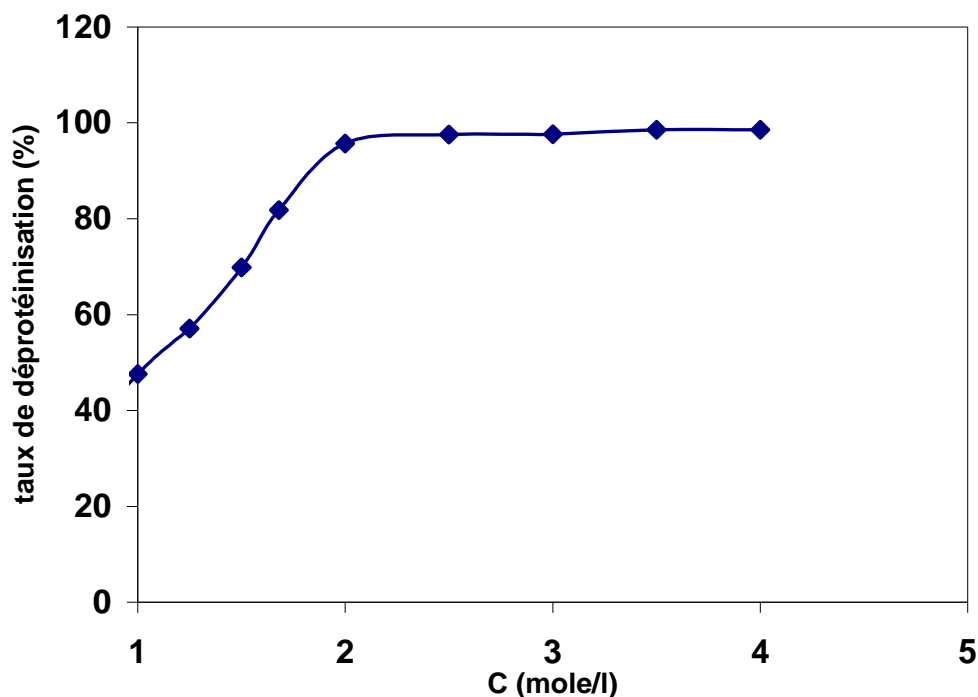
**Figure N°17 : Influence de la température sur la réaction de déprotéinisation**

Pds de carapace=1 g ; [NaOH]=3M ;  $V_{\text{NaOH}}= 20 \text{ ml}$  ;  $t_{\text{R}}=6\text{h}$

Les résultats obtenus montrent que la température a une influence considérable sur le taux de déprotéinisation, et qu'une température de 40°C est suffisante pour une déprotéinisation quasi complète de la carapace (98%). Nous remarquons qu'une température de 20°C nous permet d'avoir un taux de déprotéinisation de 70 % ; et que des températures dépassant les 40°C ne seront d'aucun effet sur le taux de déprotéinisation. La suite de nos expériences sera donc menée à une température de 40°C

#### **V.4.2. Optimisation de la concentration en hydroxyde de sodium**

Les paramètres suivant sont maintenus constants c'est à dire le poids de la carapace de 1g, la durée de la réaction de 6 heures, le volume d'hydroxyde de sodium de 20 ml et la température de réaction de 40°C. Nous suivons l'évolution du taux de déprotéinisation en fonction de la concentration de la soude NaOH. La Figure N° 18 illustre les résultats obtenus.

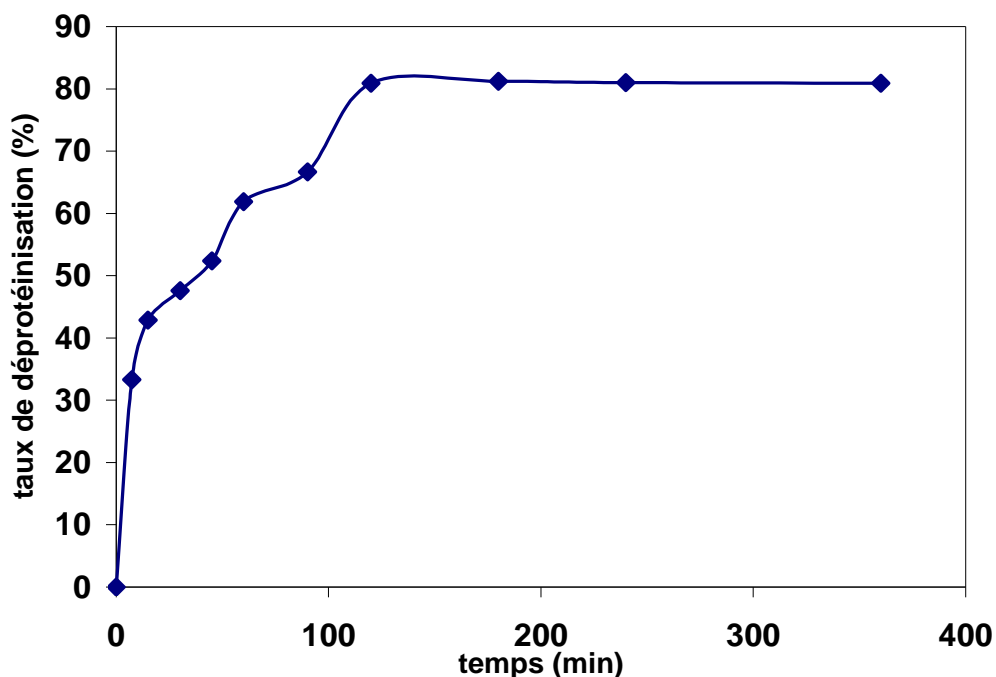


**Figure N°18 : Influence de la concentration en hydroxyde de sodium sur le taux de déprotéinisation.** Pds de carapace=1 g ;  $V_{\text{NaOH}}= 20 \text{ ml}$  ;  $T^{\circ}=40^{\circ}\text{C}$  ;  $t_{\text{R}}=6\text{h}$

La courbe de la Figure 18, nous permet de mettre en évidence qu'un taux de déprotéinisation de 50% est obtenu pour une solution de soude NaOH 1M, cette valeur augmente avec la concentration pour atteindre un maximum de 98% pour une concentration 2M. Ce taux reste cependant constant pour des concentrations plus élevées. Pour les autres manipulations à suivre, nous utiliserons une teneur en NaOH égale à 2M.

#### V. 4.3 Optimisation de la durée de déprotéinisation

Les paramètres suivants sont maintenus constants c'est à dire que le poids de la carapace est de 1g, la température égale à 40°C, le volume de NaOH est de 20 ml et à une concentration 2M. Nous suivons l'évolution du taux de déprotéinisation en fonction du temps de réaction variant de 0 à 6 heures. La Figure N° 19 illustre les résultats obtenus.



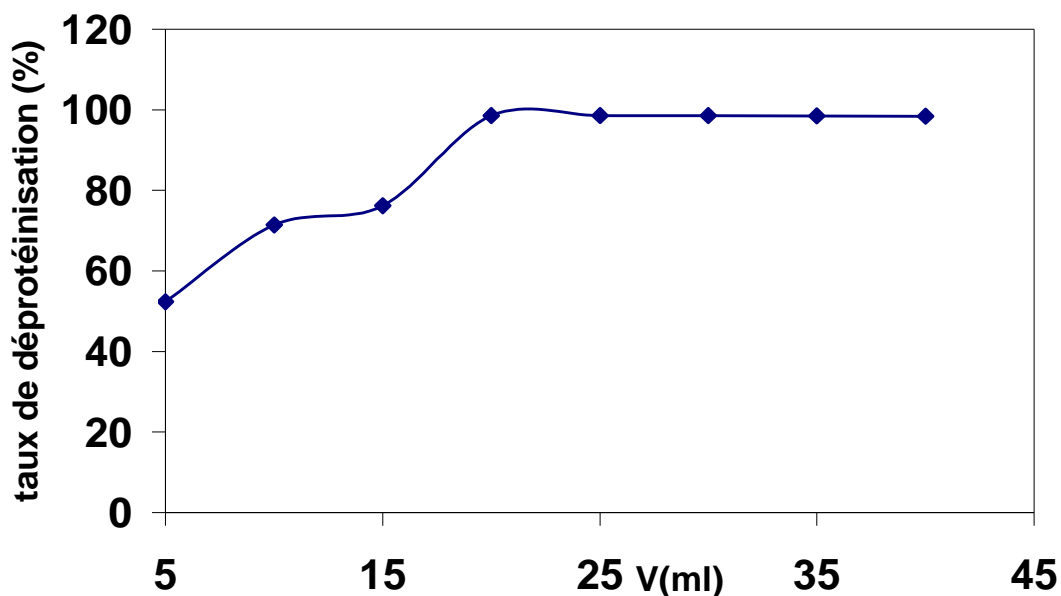
**Figure N° 19 : Evolution du taux de déprotéinisation en fonction de la durée de réaction.**

Pds de carapace=1 g ;  $V_{\text{NaOH}}= 20 \text{ ml}$  ;  $[\text{NaOH}]=2\text{M}$  ;  $T^{\circ}=40^{\circ}\text{C}$

Les résultats obtenus montrent que jusqu'à une durée de 90min la déprotéinisation est proportionnelle au temps de réaction pour atteindre une valeur de 70%. À partir de cette valeur le taux de déprotéinisation tend à se stabiliser à une valeur de 80% qui correspond à un temps de traitement de 2h. Au delà de 2h, le taux de déprotéinisation ne varie plus. Un temps de réaction de 2 heures sera maintenu pour la suite de notre travail.

#### **V.4.4 Optimisation du volume d'hydroxyde de sodium**

Dans cette manipulation, nous étudions l'influence du rapport poids de la carapace / volume de soude utilisé sur le taux de déprotéinisation. Pour cela nous travaillons avec les conditions suivantes à savoir : un poids de carapace égale à 1g, une température de  $40^{\circ}\text{C}$ , une durée de réaction de 2 heures, une concentration en hydroxyde de sodium de 2 M. Nous faisons varier le volume de soude ajouté. Les résultats sont illustrés par la Figure N° 20.



**Figure N° 20 : Influence du volume d’hydroxyde de sodium sur le taux de déprotéinisation.**

Pds de carapace=1 g ; [NaOH]=2M ; T°=40°C; t<sub>R</sub>=2h

Nous remarquons que pour des volumes de NaOH compris entre 0 et 20 ml, le taux de déprotéinisation augmente progressivement pour atteindre un maximum de 98% pour un volume de 20 ml de NaOH. Au delà de ce volume, le taux de déprotéinisation ne varie plus, nous observons un palier. Nous traiterons donc notre carapace avec un ratio de 1g de carapace/20 ml de soude.

Les paramètres de la déprotéinisation optimisés pour 1 g de carapace sont résumés dans le tableau N°10 suivant :

**Tableau N°10 : Les conditions optimales de la déprotéinisation.**

Température (°C)	Concentration en NaOH (M)	Temps (min)	Ratio (poids/volume)
40	2	120	1/20

Nos résultats diffèrent de ceux trouvés par Chang et Tsai (1997) qui sont une température de 70°C, une concentration de NaOH de 2.5 N et un rapport de 1g de carapace /5 ml de NaOH (Chang et Tsai, 1997). D’autres auteurs ont trouvé que l’optimum de la déprotéinisation est situé à la température de 65°C (pendant 2 heures avec du NaOH à 3.5%) et un rapport de 1g de

carapace /10 ml de NaOH (**Mukherjee, 2001 ; No et al., 1989**). Ferre et *al.* (1996) ont trouvé des conditions optimales de déprotéinisation de la carapace de la crevette proches de nos résultats : une température de 30°C, une solution de NaOH 2N pendant 2 heures avec un rapport de 1g de carapace /20 ml de NaOH (**Ferrer et al. ,1996**).

Les protéines ainsi extraites, peuvent être récupérées et valorisées (**Synowiecki et al. ,2000 ; Netto et al., 2006**).

## V.5 Procédé d’ultrafiltration

La préparation de la chitine à partir de la carapace de crevette génère des eaux de lavage chargées en protéines. L’objectif de notre étude est de valoriser ces eaux de lavages en concentrant les protéines qu’elles contiennent par l’ultrafiltration. Pour cela nous utiliserons deux types de dispositifs. Le premiers est à l’échelle laboratoire, il est conçu au niveau de notre laboratoire (Laboratoire des biotechnologies environnementales et génie des procédés), en utilisant la membrane M5. Le deuxième est à l’échelle semi pilote, c’est le MICROLAB 130 S de la firme GAMMA FILTRATION®, en utilisant la membrane CERAVER®.

Dans un premier temps, nous calculons la perméabilité au solvant de la membrane propre (avant ultrafiltration).

Cette perméabilité jouera le rôle de référence le long de notre étude. Nous procéderons, par la suit, à l’étude de l’effet de la pression transmembranaire et celui de la vitesse de recirculation sur le flux de Perméat (courbe de polarisation), et en fin nous réaliserons l’essai de concentration d’une part avec la membrane M5, et d’autre part avec la membrane CERAVER®.

### V.5.1.Calcul de perméabilité à l’eau de la membrane

Le calcul de la perméabilité à l’eau de la membrane se résume au calcul de la variation du flux de Perméat en fonction de la pression transmembranaire appliquée. Le résultat est repris sur les Figures (21; 22). Le calcul de cette perméabilité est réalisé à température T=20°C

Le flux de Perméat  $J_v$  étant calculé à l’aide de la formule

$$J_v = \frac{V}{At} \quad (\text{L} / \text{h.m}^2) \dots\dots\dots 26$$

A est la surface active de la membrane 0.012 m<sup>2</sup> pour la membrane M5 et 0.2 m<sup>2</sup>, pour la membrane CERAVER.

t Et V sont respectivement le temps et le volume d'empotage.

La perméabilité  $L_p$  est donnée par la relation (Goldsmith, 1971 ; cité par Abdessemed, 1992) :

$$L_p = \frac{J_v}{\Delta p} \quad (\text{L/h m}^2 \text{ bar}) \quad \dots\dots\dots 27$$

La pression transmembranaire  $\Delta p$  est donnée par la relation suivante :

$$\Delta p = \frac{P_{T1} + P_{T2}}{2} \quad \dots\dots\dots 28$$

$P_{T1}, P_{T2}$  : sont respectivement les pressions d'entrée et de sortie du module d'ultrafiltration.

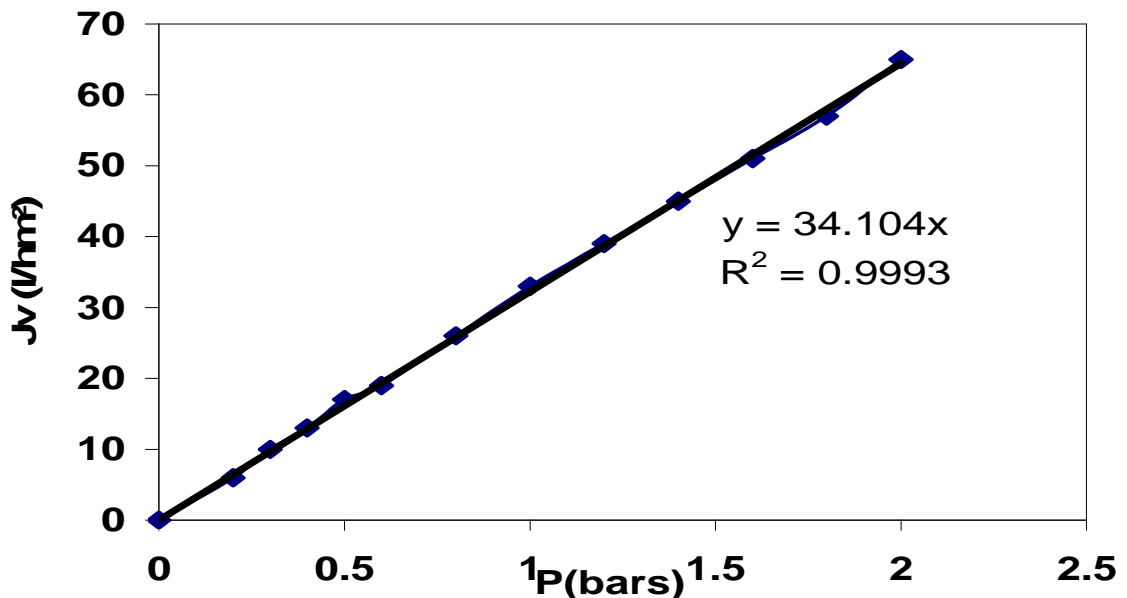


Figure N° 21 : Perméabilité à l'eau de la membrane M5 avant UF.

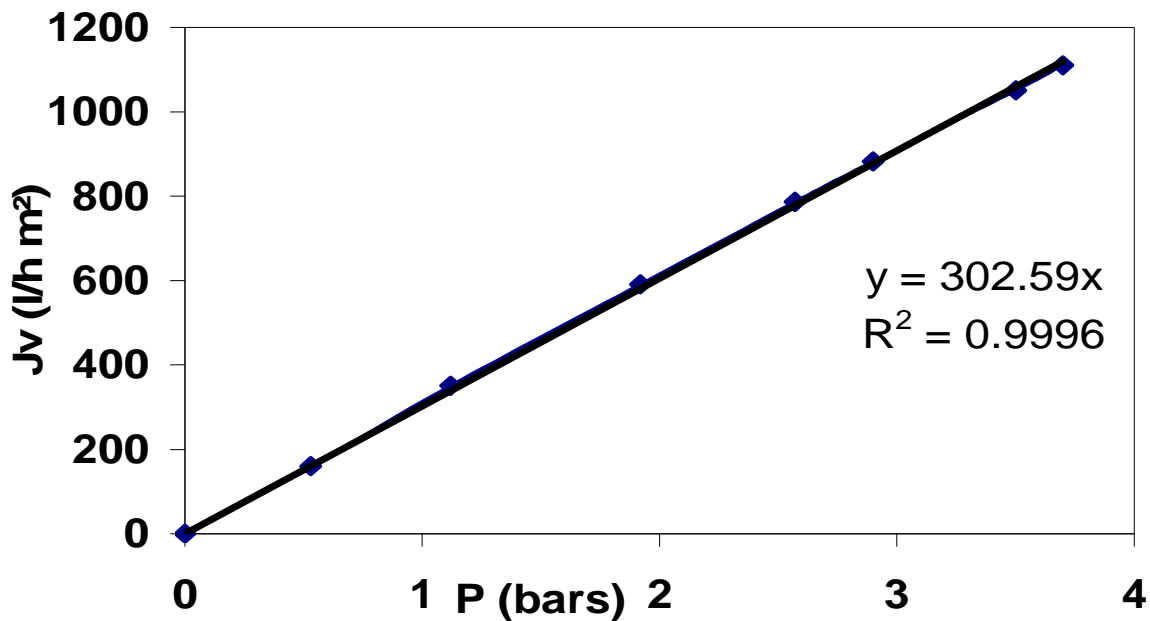


Figure N° 22 : Perméabilité à l'eau de la membrane CERAVÉR® avant UF.

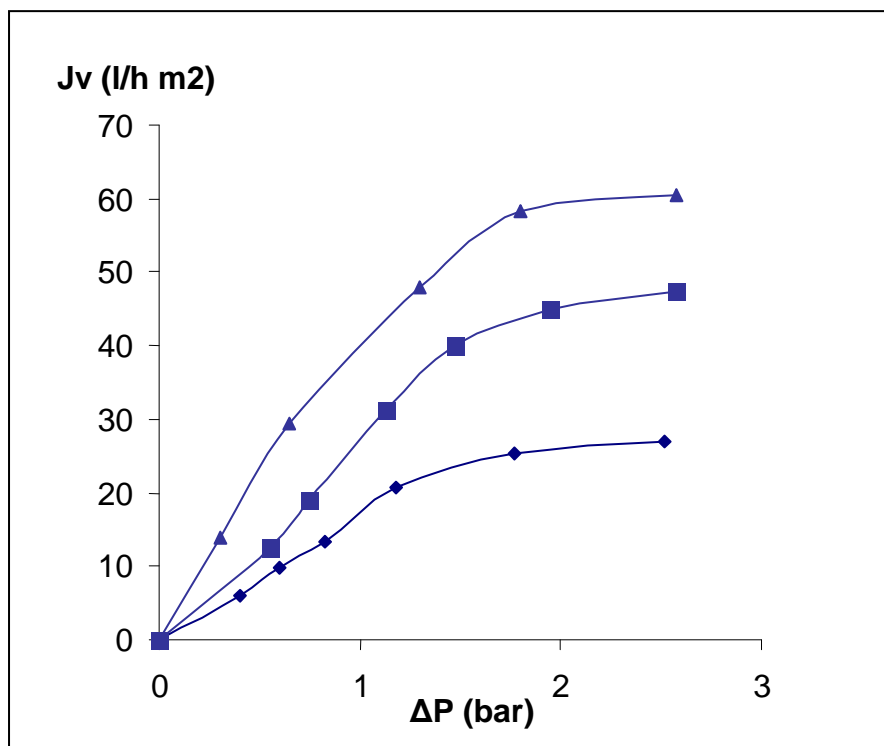
En traçant  $J_v = f(\Delta P)$  on obtient une droite qui passe par l'origine. Le calcul de la pente de cette droite nous permet d'obtenir une perméabilité  $L_p=34.104 l/h m^2 bars$ , pour la membrane M5 et  $L_p= 302.59 l/hm^2bars$  pour la membrane CERAVÉR®.

## V.5.2 Influence des paramètres hydrodynamiques sur le flux de Perméat

### V.5.2.1 Essai avec la membrane M5

#### V.5.2.1.1 Influence de la pression et de la vitesse de recirculation sur le flux du perméat

La réalisation de cette manipulation se fait à concentration constante. Cette concentration est maintenue en dirigeant les sortie de Perméat et du concentrât vers le bac d'alimentation. Le pH est la température doivent, également demeurer constant. Pour chaque vitesse de recirculation fixée on fait varier la pression et on réalise des empotages qui nous permettent de tracer  $J_v = f(\Delta P)$ . Les résultats des expériences sont repris sur la Figure (23).



**Figure N° 23 : Influence de la pression transmembranaire et de la vitesse de recirculation sur le flux du perméat membrane M5. (♦ U= 0.13 m/s ■ U= 0.4 m/s ▲ U= 0.66 m/s)**

On constat que, pour une pression inférieure à 1.2 bars le flux de perméat est proportionnel à la pression transmembranaire. Au-delà d'une certaine valeur de pression et pour chaque vitesse de recirculation, cette proportionnalité n'est plus respectée. Le flux de perméat évolue moins vite et devient indépendant de la pression confirmant ainsi l'existence d'une polarisation de la membrane. Pour une vitesse de recirculation de 0.13m/s, cette pression transmembranaire limite est de 1.2 bars. Pour les vitesses de recirculation de 0.4 m/s et 0.66 m/s, celle-ci s'élève respectivement à 1.5 et 1.8 bars.

D'une manière générale nous constatons que l'augmentation de la vitesse de recirculation provoque une croissance du flux de perméat, les performances de l'ultrafiltration sont donc améliorées. Ce qui nous mène à conclure que la vitesse de recirculation optimale est égale à 0,66m/s.

En résumé, les conditions optimales sont :  $\Delta p = 1,8$  bars et  $U = 0,66$ m/s.



## V.5.2.2 Essai avec la membrane CERAVER®

### V.5.2.2.1 Influence de la pression et de la vitesse de recirculation sur le flux du perméat

Le but de cette expérience est le tracé des courbes de polarisations  $J_v = f(\Delta P)$  pour chaque vitesse de recirculation  $U$ . Pour cela, on travaille à concentration constante en dirigeant la sortie de perméat et retentât vers le bac d'alimentation.

Pour chaque vitesse de recirculation fixée, on fait varier la pression et on réalise des empotages qui nous permettent de tracer  $J_v = f(\Delta P)$ .

La relation qui donne le débit en fonction de la vitesse de recirculation est la suivante :

$$U = \frac{Q_v}{SN} \dots\dots\dots 29$$

Avec

$U$  : Vitesse de recirculation (m/s).

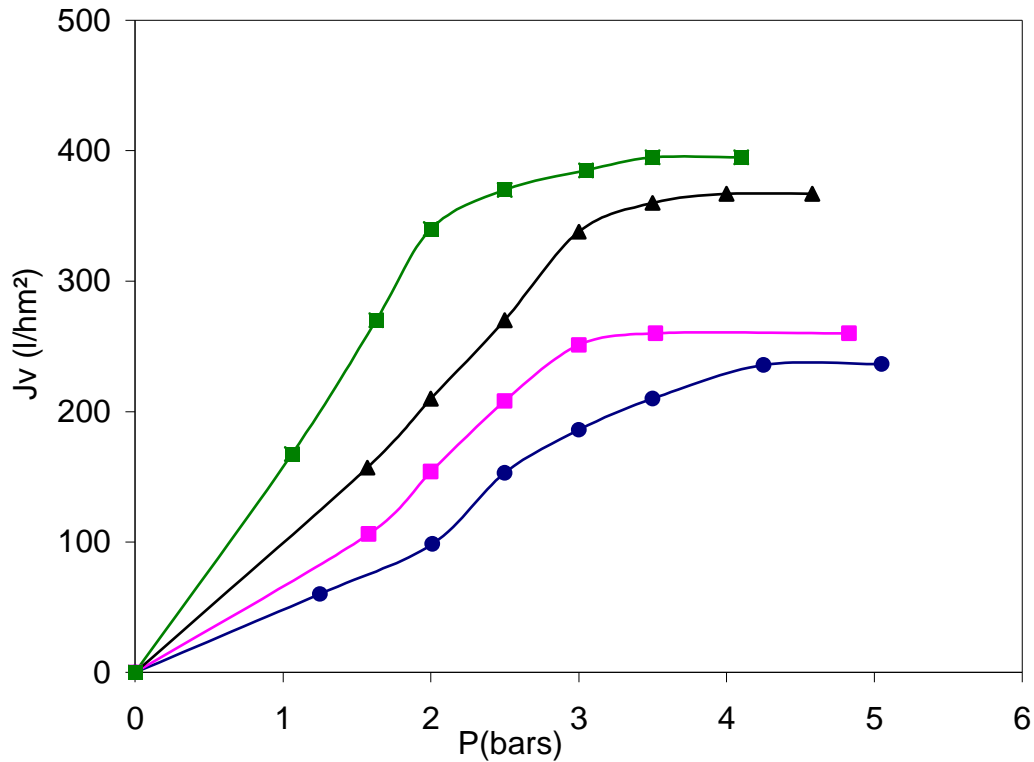
$Q_v$  : Débit de recirculation ( $\text{m}^3/\text{s}$ ).

$S$  : Section d'un canal ( $\text{m}^2$ ),  $S = \pi R^2$  et  $R = 2\text{mm}$ .

$N$  : Nombre de canaux de la membrane d'ultrafiltration.

Après chaque tracé de courbe, le passage à une nouvelle vitesse de recirculation doit être précédé d'une régénération de la membrane, sans quoi les résultats ne seraient plus représentatifs.

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans la Figure N° 24.



**Figure N° 24 : Influence de la pression transmembranaire et de la vitesse de recirculation sur le flux du perméat membrane CERAVÉR® (● U=1.5 m/s ■ U=3 m/s ▲ U=5 m/s ■ U=6 m/s)**

D'après ces courbes on remarque que, pour des pressions transmembranaires inférieures à 1 bar le flux du perméat croît linéairement avec la pression ; et que pour des pressions plus élevées le flux augmente pour atteindre un palier au bout d'une certaine valeur de pression. La variation du flux du perméat en fonction de la pression transmembranaire s'explique par la formation d'une couche de polarisation au niveau de la membrane, dont l'épaisseur augmente avec l'augmentation de la pression jusqu'à la formation d'une couche de gel sur la membrane. Au delà de la pression à partir de laquelle il y a formation de la couche de gel sur la membrane, toute augmentation de la pression n'aura aucune influence sur le flux du perméat. Ce qui est en accord avec les résultats relatifs à l'ultrafiltration des rejets de poissonneries (Mameri *et al.*, 1996).

Ainsi on constate que les valeurs du flux du perméat augmentent avec la vitesse de recirculation, d'où les performances de l'ultrafiltration sont fortement dépendantes de la vitesse de recirculation du retentât.

### V.5.2.2.2 Influence du débit de recirculation sur les pertes de charge

Les pertes de charge  $\Delta P_F$  représentent l'énergie qui est perdue par le fluide au moment où il traverse la membrane.

$$\Delta P_F = P_{T1} - P_{T2} \dots\dots\dots 30$$

Pour un débit de recirculation donnée, les pertes de charge sont pratiquement constantes pour n'importe quelle pression transmembranaire appliquée.

On trace alors les variations des pertes de charge en fonction du débit de recirculation pour notre solvant qui est l'eau, et pour notre solution protéique à traiter.

Les résultats sont repris dans la Figure N° 25.

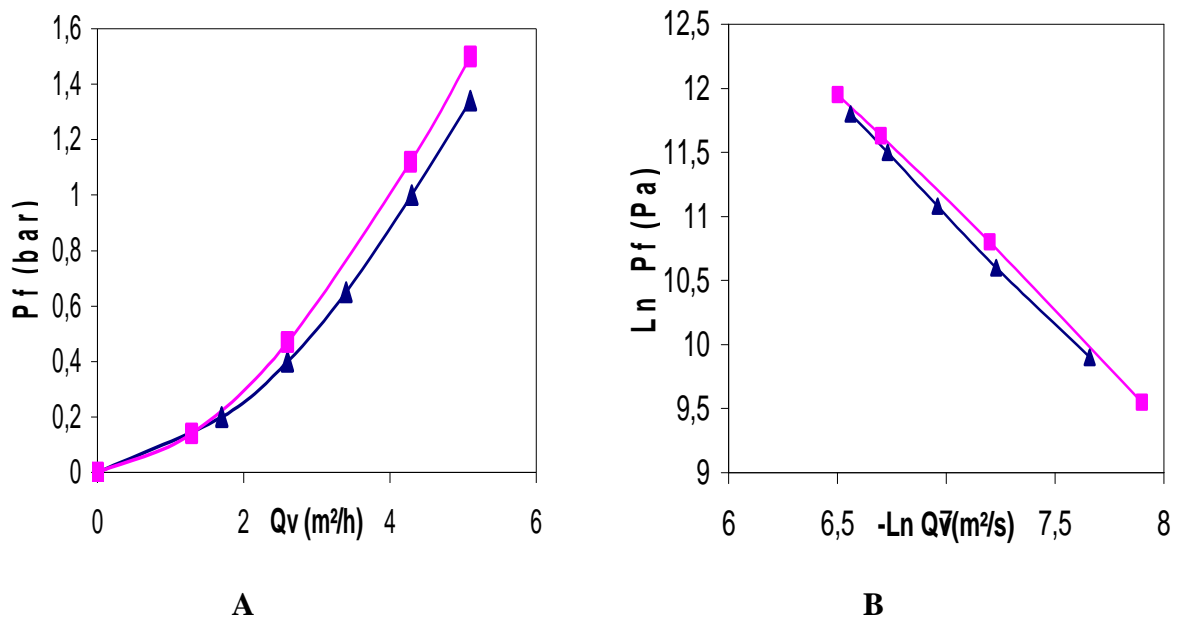


Figure N° 25 : Variation des pertes de charge en fonction du débit de recirculation (▲ eau ■ solution protéique)

On constate que l'augmentation du débit de recirculation  $Q_v$  engendre une augmentation exponentielle de pertes de charge  $\Delta P_F$  dans le module d'ultrafiltration. Donc que se soit pour l'eau ou pour la solution protéique, plus le débit de recirculation est important plus la perte de charge l'est aussi. De plus pour un même débit de recirculation la perte de charge est plus élevée pour la solution protéique que pour l'eau. Ceci est fortement dû à la différence de viscosité entre l'eau et la solution protéique.

Pour représenter linéairement cette variation on trace  $\ln \Delta P_F$  en fonction de  $(-\ln Q_v)$ , le résultat est donné dans la Figure 25, B.

Il a été auparavant mis en évidence que l'augmentation de la vitesse de recirculation fait augmenter le flux de perméat. Par ailleurs il s'avère que cette augmentation de vitesse de recirculation élève également les pertes de charge. Ce qui nous conduisons à faire un bilan économique.

### V.5.2.2.3. Bilan économique

Soit  $K$  le coût global de l'opération de l'ultrafiltration par unité de temps. SHEN et PROBSTEIN le définisse comme étant la somme de trois termes (**Shen et Probststein, 1979 ; Belhocine, 1998**).

- Le coût de l'investissement que l'on suppose en première approximation proportionnel à la surface  $A$  de la membrane ( $K_C A$ ).
- Le coût d'énergie de pompage dû aux pertes de charge ( $K_P Q v \Delta P_F$ ).
- Le coût de l'énergie de pompage dû à la chute de pression  $\Delta p$  que subit le perméat à travers la membrane ( $K_P Q p \Delta p$ ).

L'étude de SHEN et PROBSTEIN n'inclut pas le coût du fluide utilisé, le coût d'enlèvement de l'effluent concentré, et le coût de régénération de la membrane etc... Donc on aura :

$$K = K_C A + K_P Q v \Delta P_F + K_P Q p \Delta p \dots\dots\dots 31$$

Avec

$K$  : Coût global de l'opération (DA/s).

$K_C$  : Coût en investissement par unité de temps et de surface (DA/m<sup>2</sup>s).

$K_p$  : Coût de l'énergie (DA/Joule).

$Q_v$  : Débit de recirculation (m<sup>3</sup>/s).

$Q_p$  : Débit de perméat (m<sup>3</sup>/s) ;

$$Q_p = J_v A \dots\dots\dots 32$$

$J_v$  : flux de perméat (m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>s)

$\Delta P_F$  : Pertes de charge (Pa)

$\Delta p$  : Pression transmembranaire (Pa).

$A$  : Surface active de la membrane (m<sup>2</sup>)

En remplaçant (Eq. 32) dans (Eq. 31) on obtient :

$$K/Q_p = K_p \Delta p + \frac{K_C}{J_v} \left( \frac{K_p Q_v \Delta P_F}{K_C} + 1 \right) \dots\dots\dots 33$$

Le but de notre travail, à ce niveau sera de déterminer les paramètres hydrodynamiques permettant un coût minimum de l'opération  $K/Q_p$ .

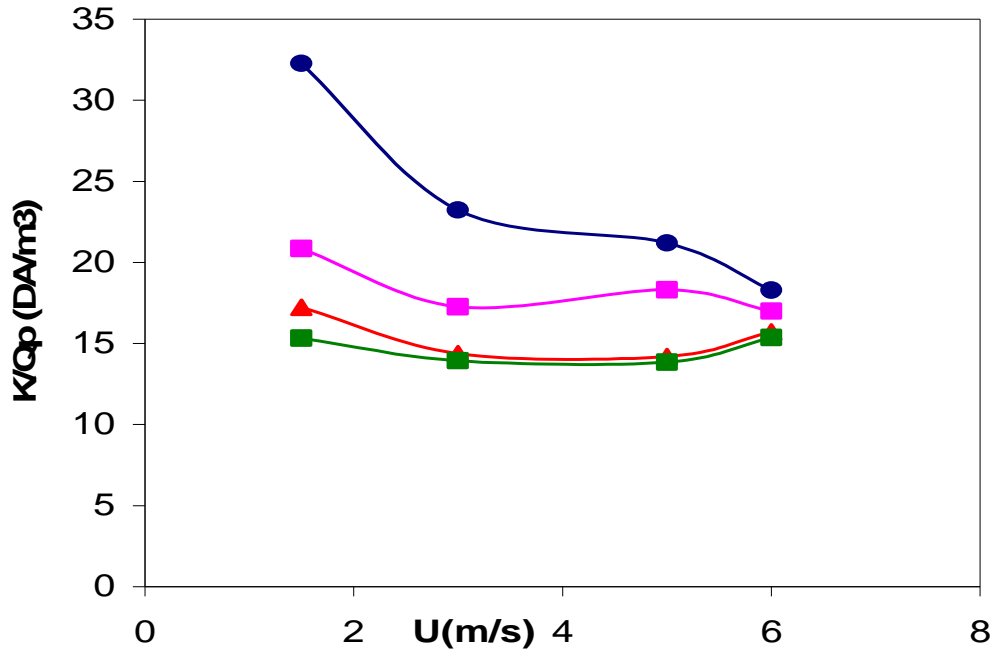
Nous étudions donc l'influence de la pression transmembranaire  $\Delta p$  et la vitesse de recirculation  $U$  sur le coût opératoire.

Pour le calcul de  $K_C$ , nous admettons que la durée de vie de la membrane est de quatre ans, et nous déduisons la valeur de  $K_C = 8.6 \cdot 10^{-4}$  (DA/m<sup>2</sup>s). (Fugère et al., 2005)

Pour le coefficient  $K_P$  qui correspond au coût actuel du KWh électrique est estimé à :

$$K_P = 7.5 \cdot 10^{-7} \text{ (DA/Joule)}$$

On trace alors  $K/Q_P$  en fonction de  $U$  pour plusieurs  $\Delta p$ . Les résultats sont représentés sur la Figure N° 26.



**Figure N° 26 : Variation du coût opératoire en fonction de la pression et de la vitesse de recirculation (● P= 2 bars, ■ P= 2.5 bars, ▲ P= 3 bars, ■ P= 3.5 bars).**

On remarque que pour chaque valeur de pression  $\Delta p$  la courbe  $\frac{K}{Q_P} = f(U)$  passe par un minimum, le coût opératoire diminue avec l'augmentation de la pression jusqu'à 3 bars. Au delà, c'est-à-dire pour une pression de 3.5 bars on obtient pratiquement le même coût opératoire. La pression optimale choisie est de 3 bars.

En ce qui concerne l'influence de la vitesse de recirculation, on remarque que l'augmentation de celle-ci fait diminuer le coût opératoire, et pour une vitesse plus élevée que 5m/s, on observe plus de changement du coût, ce qui nous mène à déduire que la vitesse de

recirculation optimale est égale à 5m/s. En résumé, les conditions optimales sont :  $\Delta p = 3$  bars et  $U = 5$ m/s.

### V.5.3. Essai de concentration des protéines

Les conditions opératoires optimales d’ultrafiltration précédemment déterminées sont :

$$\Delta p = 1,8 \text{ bars}, U = 0,66 \text{ m/s pour la membrane M5}$$

$$\Delta p = 3 \text{ bars}, U = 5 \text{ m/s pour la membrane CERAVÉR®.}$$

La concentration initiale en protéine est de 0.61g/l dans le cas de membrane M5 et 5 g/l dans le cas de la membrane CERAVÉR®. La température est de 20°C, et le pH est de 7 dans les deux cas.

Nous effectuons des empotages à des instants différents pour suivre l’évolution du flux du perméat en fonction du temps ; ainsi que des prélèvements simultanés du retentât et du perméat, afin de suivre l’évolution du facteur de concentration et le taux de rejet.

L’essai de concentration a duré 45 et 50 minutes, pour la M5 et la CERAVÉR respectivement. Le volume de la solution protéique dans la cuve d’alimentation est passé de 500 ml à 198 ml soit un facteur de concentration volumique final de 2.5, pour la M5. Et de 5l à 2,1l soit un facteur de concentration volumique final de 2.38, pour la CERAVÉR®.

Le facteur de concentration volumique FCV est donné par la relation :

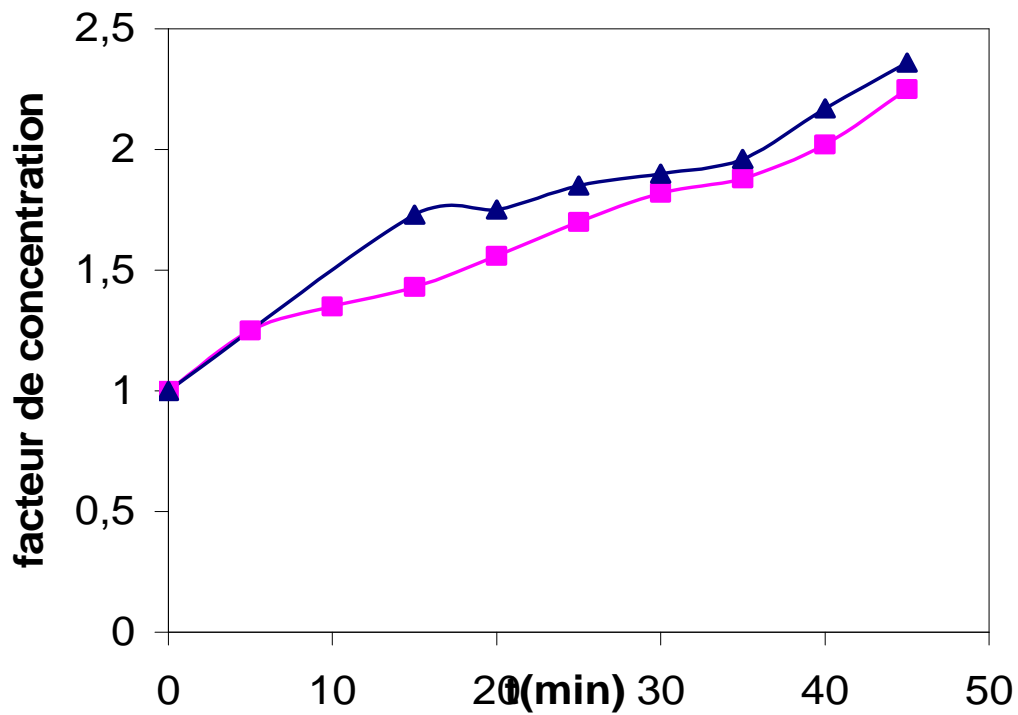
$$FCV = \frac{\text{Volume initial de la solution protéique}}{\text{Volume final de la solution protéique restante dans la cuve}} \dots\dots\dots 34$$

La concentration du retentât est passée de 0.61g/l à 1.44g/l, d’où un facteur de concentration final de 2,36, pour la M5 et de 5g/l à 10g/l, soit un facteur de concentration final de 2, pour la CERAVÉR®.

Le facteur de concentration est donné par la relation suivante :

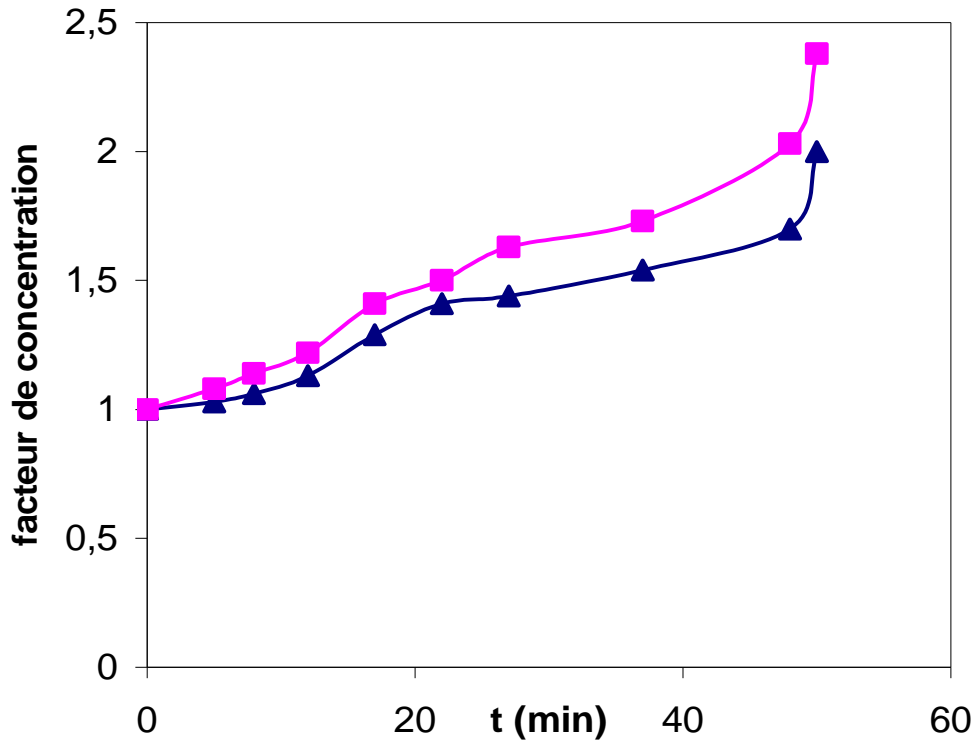
$$FC = \frac{\text{Concentration du retentat à l'insant } t}{\text{concentration initial du retentat}} \dots\dots\dots 35$$

L'évolution du facteur de concentration volumique et massique en fonction du temps est représentée par les figures N° 27 et N° 28 pour les deux membranes M5 et CERAVÉR® respectivement.



**Figure N°27 : Variation du facteur de concentration en fonction du temps M5**  
(▲ FC, ■ FCV).





**Figure N° 28 : Variation du facteur de concentration en fonction du temps CERAVÉR®**  
 (▲ FC, ■ FCV).

De plus, nous suivons l'évolution du flux du perméat, et la concentration du perméat et du retentât en fonction du temps. Ainsi que celle du taux de rejet observé  $R_0$  qui correspond à la fraction de soluté retenu par la membrane. Le taux de rejet observé  $R_0$  se calcul par le biais de l'équation suivante (Mameri, 1987) :

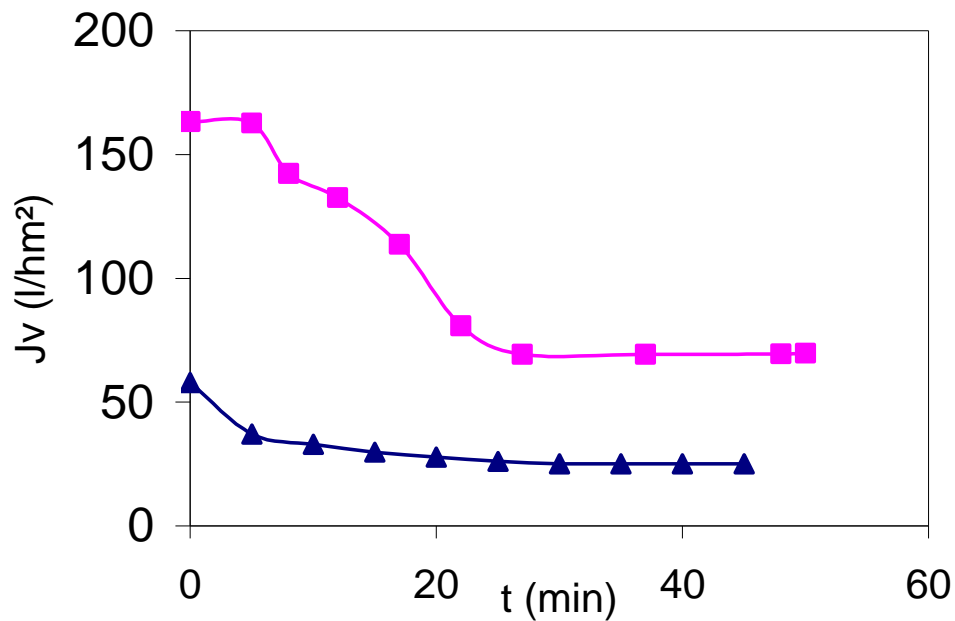
$$R_0 = \left(1 - \frac{C_p}{C_0}\right) * 100 \dots\dots\dots 36$$

Avec

$C_p$  : Concentration du perméat.

$C_0$  : Concentration de la solution initiale.

Les résultats sont représentés dans les Figures (29 à 32) suivantes :



**Figure N° 29 : Variation du flux du perméat en fonction du temps (▲ M5, ■ CERAVÉR®).**

D'après la courbe (Figure 29), on observe une diminution progressive du flux du perméat, ce dernier passe de 58  $l/hm^2$  à 25  $l/hm^2$ , d'où un abaissement d'environ 57%, pour la membrane M5. Il passe de 163  $l/hm^2$  à 69  $l/hm^2$ , d'où un abaissement d'environ 58%, pour la CERAVÉR®.

La décroissance du flux du perméat se fait simultanément au phénomène d'adsorption et à la formation de la couche de polarisation de concentration au niveau de la membrane. Après 25 minutes et 30 minutes de concentration, pour la M5 et la CERAVÉR respectivement la décroissance ralentie et la valeur du flux devient pratiquement constante.

Les différentes évolutions du tracé  $J_v = f(t)$  peuvent s'expliquer par la variation de la concentration du retentât en fonction du temps (Figure N° 30 et 31), pour les membranes M5 et CERAVÉR® respectivement.

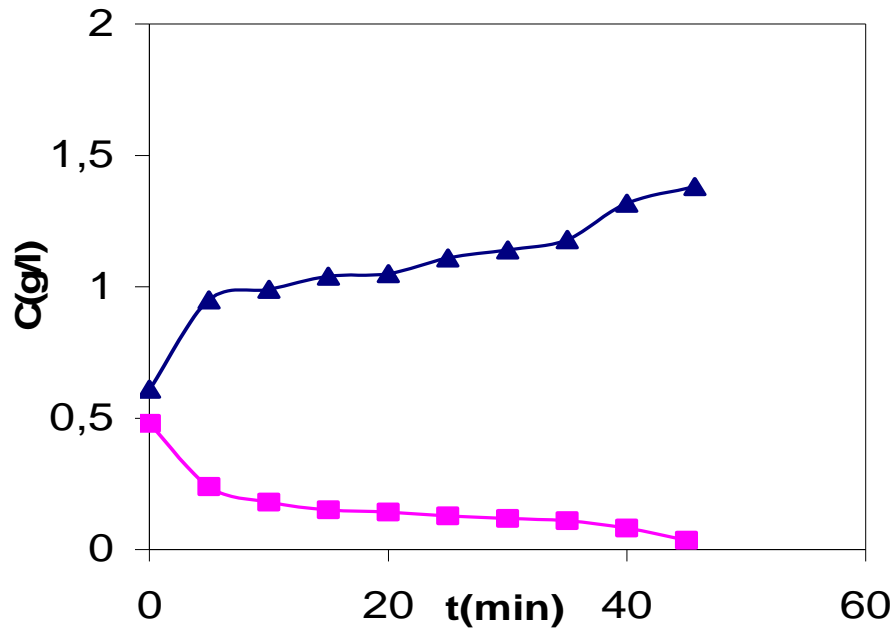


Figure N°30: Variation de la concentration du retentât et du perméat en fonction du temps.

Membrane M5 (▲ retentât, ■ perméat).

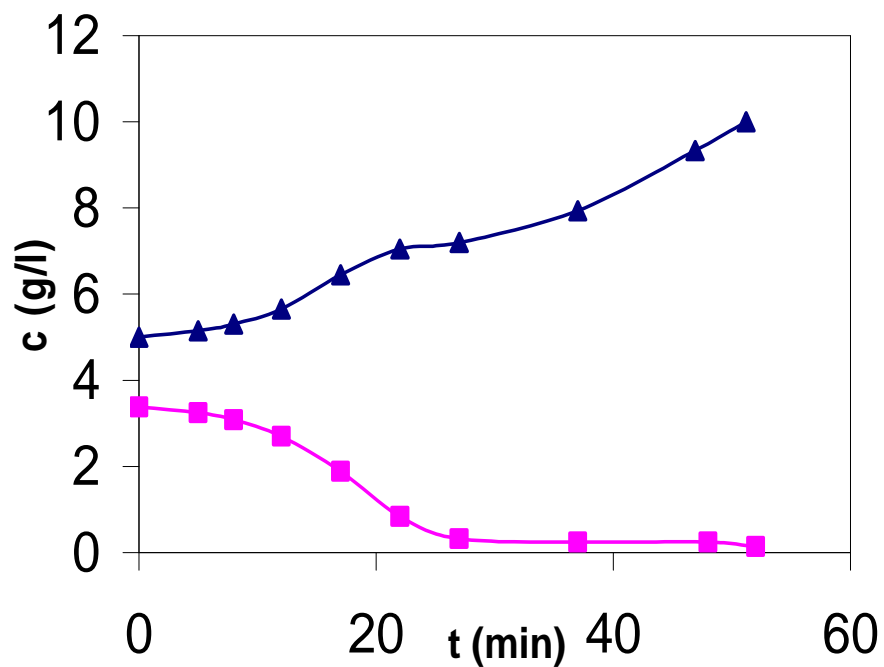
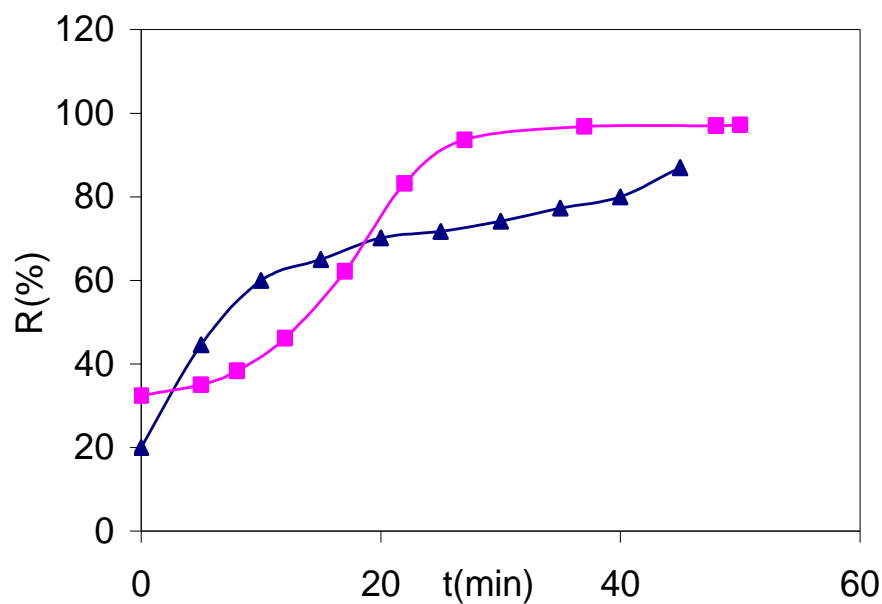


Figure N° 31: Variation de la concentration du retentât et du perméat en fonction du

temps. Membrane CERAVER® (▲ retentât, ■ perméat).

En effet, nous constatons que la concentration initiale du retentât augmente légèrement les 15 premières minutes, et la concentration du perméat est pratiquement proche de la concentration initiale et diminue progressivement. Par la suite la concentration du retentât augmente pour atteindre une valeur plus importante à la fin de l'essai de concentration. Et la concentration du perméat diminue jusqu'à une valeur presque nulle a la fin de l'essai de concentration.



**Figure N° 32: Evolution du taux de rejet en fonction du temps (▲ M5, ■ CERAVER®).**

La Figure N° 32 montre que le taux de rejet augmente progressivement jusqu'à atteindre son maximum (87% pour la M5 et 97% pour la CERAVER®) au bout de 45 minutes d'ultrafiltration. Ceci serait une conséquence du phénomène d'adsorption et de formation de la couche de polarisation qui réduit le diamètre des pores de la membrane. Ce résultat rejoint les travaux de **Abdessemed (1992)** dans le traitement des rejets de poissonnerie.

Donc à la porosité propre de la membrane se superpose celle de la couche déposée, c'est cette dernière qui assurera la rétention des protéines au niveau de la membrane. Meirelles et *al.* (1992) ont montré que le rayon des pores d'une membrane de seuil de coupure de 40000 daltons, initialement de 70Å atteint 36 Å après colmatage en utilisant la BSA (Bovine Sérum Albumine) (**Meireles et al., 1992**).

Abdi (2005) a montré que la rétention des macromolécules telles que les peptides et les acides aminés, s'est effectuée grâce à la formation d'une couche de gel à l'interface membrane fluide créant le phénomène de la couche dynamique qui permet d'atteindre des taux de rejet élevé dans le traitement de l'hydrolysate des rejets solides de poissonneries par ultrafiltration (Abdi-Haïder, 2005).

#### V.5.4 Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane après ultrafiltration

Après la vidange de l'installation et évacuation de la solution protéique qu'elle contenait, on procède au calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane après ultrafiltration.

Les résultats sont repris dans les Figures N° 33 et 34 pour les membranes M5 et CERAVER® respectivement.

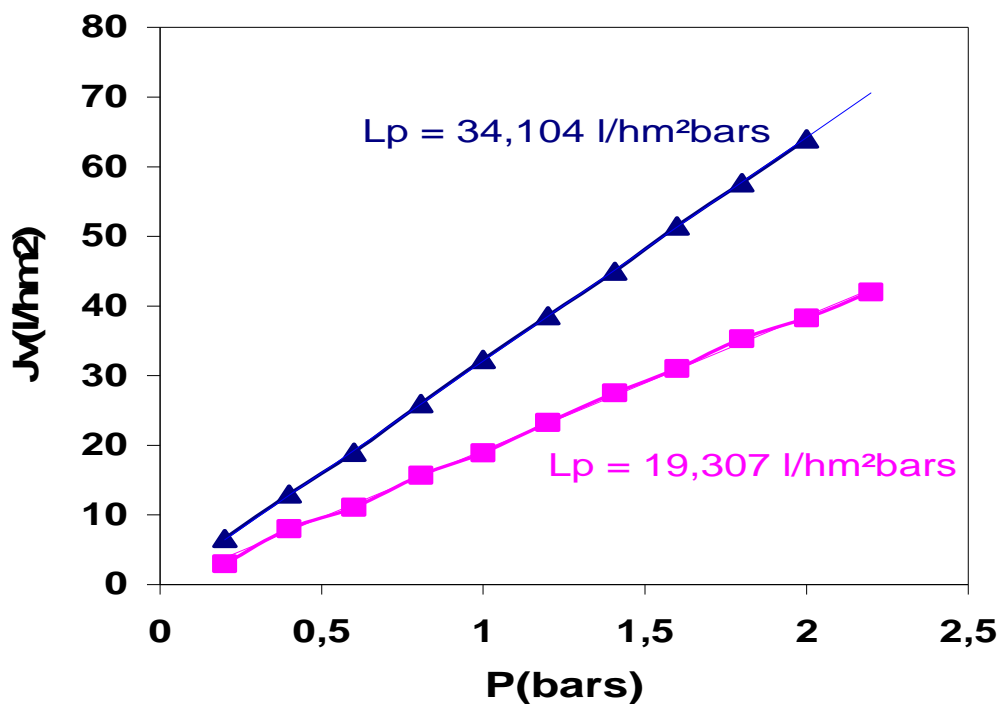
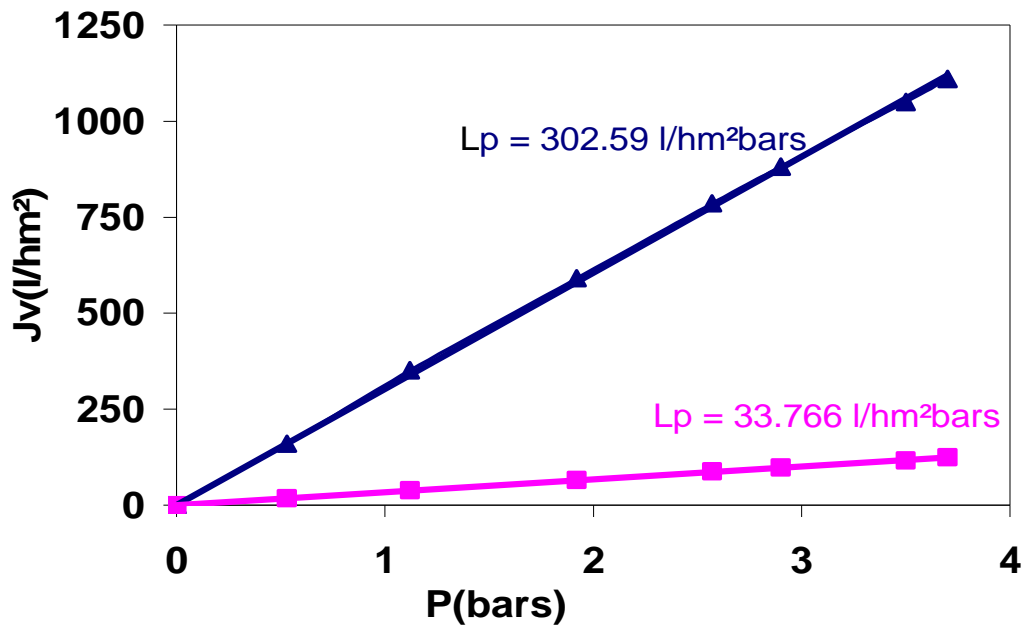


Figure N° 33 : Perméabilité à l'eau de la membrane M5 (▲ avant UF, ■ après UF)



**Figure N° 34 : Perméabilité à l'eau de la membrane CERAVER (▲ avant UF, ■ après UF)**

Les résultats montrent qu'il y a réellement un abattement important de la perméabilité qui s'explique par la réduction du rayon de pores et donc colmatage de la membrane. Ceci serait la conséquence du phénomène d'adsorption à la surface de la membrane.

La variation de la perméabilité, renseigne sur l'évolution du rayon de pores moyen de la membrane d'ultrafiltration. En effet, la loi de POISEUILLE peut s'écrire :

$$L_p = \frac{N_p \pi r_p^4}{8 \mu e} \dots\dots\dots 37$$

$L_p$  : Perméabilité.

$N_p$  : Nombre de pores.

$r_p$  : Rayon de pores moyen.

$\mu$  : Viscosité dynamique.

$e$  : Épaisseur de la couche active.

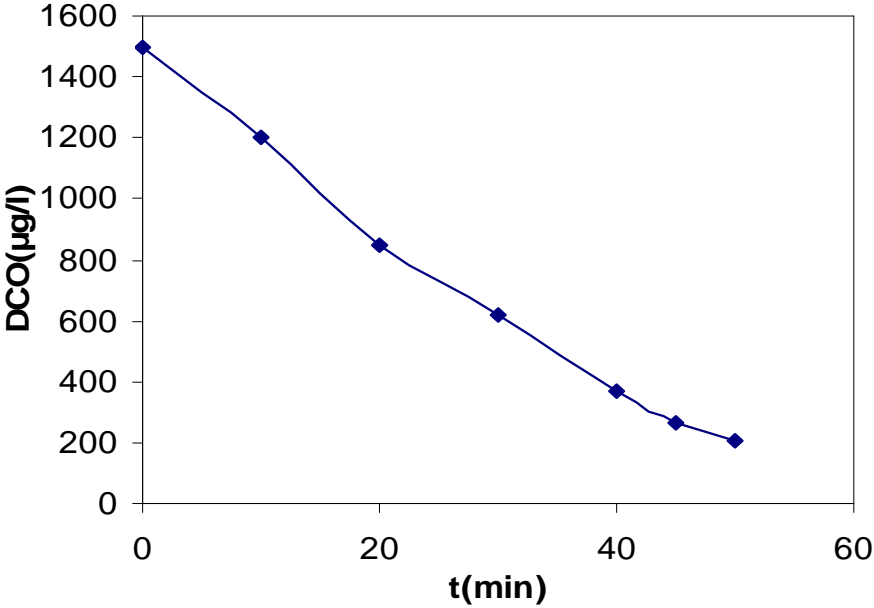
Si  $r_{p0}$  est le rayon de pores moyen de la membrane CERAVER® avant UF, soit 198 Å et  $r_{p1}$  le rayon de pores de la membrane après ultrafiltration, on aura, d'après la relation 37

$$\frac{Lp_0}{Lp_1} = \frac{r_{P0}^4}{r_{P1}^4} \dots\dots\dots 38$$

Nous obtenons  $r_{p1}=114 \text{ \AA}$ , d'où une réduction du rayon moyen des pores. Cette réduction du rayon moyen des pores est la conséquence du phénomène d'adsorption des macromolécules à la surface de la membrane et à l'intérieur même des pores. Ce ci explique que l'augmentation du taux de rejet de la membrane.

**V.5.5 Mesure du taux d'abattement de la DCO du perméat**

Pour contrôler l'impact de notre rejet (perméat) sur l'environnement, nous avons jugé utiles de suivre l'évolution de l'abattement de la DCO (demande chimique en oxygène) au cours du procédé d'ultrafiltration. Pour cela nous mesurons la valeur de la DCO du perméat pour chaque empotage effectuée. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure N° 36.



**Figure N° 35 : Evolution de la DCO en fonction du temps d'ultrafiltration.**

A partir de la courbe (Figure N° 35), nous remarquons que la valeur de la DCO diminue progressivement au courant de l'essai de concentration, et atteint une valeur de 200 µg/l à la fin de l'opération, soit 86,7 % d'abattement. Valeur qui est largement admissible en station d'épuration d'eux usées. Ceci nous mène à conclure que notre rejet (perméat) ne produit aucune nuisance à l'environnement.

## V.5.6 Régénération des membranes

Afin de travailler à une perméabilité hydraulique constante de la membrane, le long des essais d'ultrafiltration, nous étions amenés à faire des nettoyages très fréquents des membranes. En effet, dans le cas de l'étude de l'influence de la pression transmembranaire et de la vitesse de recirculation sur le flux du perméat (courbes de polarisation), nous procédons au rinçage et nettoyage de la membrane utilisée.

1. **Membrane CARBOSEP® M5** : Nous avons nettoyé la membrane M5 avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH à une concentration de 1 % massique, à une température ambiante (~25°C), pendant 1 heure, suivit d'un rinçage à l'eau pendant 10 minutes. Cette méthode nous a permis une restauration de la perméabilité hydraulique de la membrane jusqu'à 98%.
2. **Membrane CERAVÉR®** : Pour nettoyer la membrane CERAVÉR® encrassée par les protéines de carapace de crevette nous avons introduit une solution de détergent alcalin à 10 g/l dans le bac d'alimentation. Nous avons laissé fonctionner l'installation à circuit fermé pendant 45 minutes, en élevant la consigne de température à 70°C. Au dernier quart d'heure nous ajoutant 400 ml d'eau e javel (hypochlorites de sodium) à 12° chlorométrique. Après vidange de l'installation nous la rinçant à l'eau. Ce procédé de nettoyage est très efficace et permet la restauration de la perméabilité hydraulique de la membrane jusqu'à 98%. Ce procédé de nettoyage a été proposé par la firme GAMMA FILTRATION dans le cas de l'ultrafiltration du lait.

## V.6 Conclusion

Les résultats obtenus nous ont permis de déterminer les caractéristiques de la carapace de crevette, ainsi que les paramètres optimaux de la déminéralisation et de la déprotéinisation (volume et concentration d'acide ou de base, temps et température de réaction). De même, nous avons optimisé la pression et la vitesse de recirculation pour un fonctionnement optimal des deux installations d'ultrafiltration. Pour l'essai de concentration des protéines nous arrivons à des taux de rejets de l'ordre de 87% pour la membrane M5 (installation laboratoire), et de 97% pour la membrane CERAVÉR® (installation semi pilote). En fin, la mesure de la DCO du perméat donne une valeur très inférieure à la norme admissible, ce qui permet de conclure que le perméat rejeté n'apporte aucune nuisance à l'environnement.



## Conclusion générale

Le développement économique et industrielle à engendré l'augmentation et la diversification des déchets ; actuellement, leurs gestion est devenue un enjeu environnemental majeur. Dans ce travail nous nous sommes intéressés à la valorisation de la carapace de crevette *Parapenaeus longirostris* par méthode chimique. Ce déchet est riche en chitine, ainsi que d'autres composants importants tels les minéraux et les protéines, qui possèdent d'excellentes qualités nutritives.

La première étape de ce travail a été consacrée pour l'analyse physico-chimique de la carapace de crevette. Cette analyse a révélé que la carapace contient 51 % de minéraux, 21.6 % de protéines, 18.61 % de chitine et 6.74 % en lipides et pigments ; Ensuite, nous avons optimisé les paramètres de déprotéinisation et de déminéralisation de la carapace. L'optimum de la déprotéinisation de 98% a été obtenu à une température de 40 °C avec une solution de NaOH 2N pendant 2heures et un rapport de 1g de carapace /20 ml de NaOH. L'optimum de la déminéralisation de 99 % a été obtenu à une température ambiante avec une solution d'HCl 1.75N pendant 25 minutes et un rapport de 1g de carapace /15 ml de HCl.

Dans une autre étape, nous avons étudié les différents paramètres de fonctionnement de deux installations d'ultrafiltration, la première est une installation à l'échelle laboratoire avec une membrane minérale M5 ; et la deuxième est une installation semi pilote avec une membrane minérale CEREVER®. Cette étude montre que les performances de l'ultrafiltration dépendent de la de recirculation, et de la pression transmembranaire appliquée à la membrane. Nous avons, donc déterminé les paramètres optimaux qui permettent d'avoir un meilleur flux du perméat. Ces paramètres sont P=1.8 bars, U=0.66 m/s pour la membrane M5 et P=3 bars, U=5 m/s pour la membrane CEREVER®.

L'essai de concentration d'une solution protéique (qui résulte du processus de production de la chitine) par ultrafiltration a induit une réduction du flux du perméat de 60% pour les deux membranes après 45 à 50 minutes, avec atteinte en fin d'expériences d'un palier correspondant à la formation d'une couche de gel à l'interface membrane –fluide. La présence de cette couche de

gel est vérifiée par l'analyse de l'évolution du taux de rejet observé qui atteint 87% pour la membrane M5 et 97% pour la membrane CERAVÉR®.

En fin, cette étude a permis d'effectuer un traitement efficace et économique (à faible coût) de l'effluent généré par la déprotéinisation de la carapace. En effet, un coefficient de concentration de l'ordre de 2,36 est atteint en fin d'expérience pour la membrane M5 (à l'échelle laboratoire). Le calcul de la DCO du perméat rejeté nous a permis de vérifier que le rejet n'apporte aucune nuisance pour l'environnement (DCO= 200µg/l).

Comme perspectives à ce travail nous proposons de coupler l'ultrafiltration à un promoteur de turbulence qui permet d'améliorer le rendement du processus de concentration en réduisant la formation de la couche du gel (couche de polarisation) formée. De même, nous recommandons de faire une analyse biochimique de ces protéines afin de déterminer leur composition en acides aminés, et les comparés aux protéines extraites de la carapace de crevette par méthodes biologiques. Enfin, nous proposons de faire une évaluation des qualités et valeurs nutritives de ces protéines *in vitro* sur des rats ou des lapins.

## *Références bibliographiques*

- **Abdessemed D., 1992.** Valorisation et traitement des eaux de lavage de poissonnerie par ultrafiltration. Mémoire de Magister. Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, Algérie.
- **Abdi-Haïder N., 2005.** . Valorisation de rejets solides d'industries agroalimentaires par voie enzymatique. Thèse de doctorat d'état. Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 2005.
- **AFNOR, 1982.** (NA 1158-1990, ISO 1871).
- **Aimar P., Daufin G., 2000.** Séparations par membranes dans l'industrie alimentaire. Technique de l'ingénieur. J 3250.
- **Ait barka E., Eullafroy P., Clément C. and Vernet G., 2004.** Chitosan improves development, and protects *Vitis Vinifera L.* against *Botrytics cinerea*. Plant Cell. Rep. 22, 608-614.
- **Alais C., 2003.** Biochimie alimentaire. 5ème Edition.
- **Apria, 1981.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires : Analyse des constituants alimentaires. Vol 4 Ed. Apria.
- **Aptel P., 1986.** Les procédés de séparation par membrane. La houille blanche, n° 7/8, P.524-529.
- **Arbia W., 2007.** Production de la chitine par voie fermentaire à partir d'une biomasse marine. Mémoire de magister. Ecole nationale polytechnique d'Alger ; Algérie.
- **Audigié CL., Dupont G., 1985.** Principes des méthodes d'analyse biochimiques. Ed. Doin ; Paris.
- **Audinos R., 1999.** Membranes semi-perméables. Généralités K360. Constantes physico-chimiques. Technique de l'ingénieur.
- **Austin, P.R., Brine C. J., castle, J.E & Zikakis, J.P. 1981.** Chitin: new facets of research. Science, 212: 749-753.
- **Balmann H., 1988.** Utilisation de l'ultrafiltration pour le traitement des eaux. Thèse de doctorat. Université de Paul Sabatier.

- **Barak<sup>1</sup>, Y., van Rijn, J., 2000.** “Biological phosphate removal in prototype recirculating. Aquaculture treatment system”, *Aqua cultural Engineering*, 22:121-136.
- **Benhabiles M. S., 1992.** Hydrolyse enzymatique des rejets solides de poissonneries. Thèse de Magister. Ecole nationale polytechnique, Alger, Algérie.
- **Boeglin J. C., 1997.** Inventaire des traitements d’eaux résiduaires. J 3940. Génie des procédés.
- **Bouarab K., 2000.** Bases biochimiques et cellulaires des interactions plante- pathogène dans le système *Chondrus crispus* *Acrochaeteoperculata*. Thèse de doctorat de l’Université Paris 6.
- **Chang, K.L. ; Tsai G., 1997.** Response surface optimization and Kinetics of isolating chitin from pink shrimp (*Solenocera melantho*) shell waste. *J.Afric.Food Chem.*, 45 : 1900-1904.
- **Chung Y. C., Su Y-P., Chen C. C., Jia G., Wang H-L., Wu J. C. G., Lin J. G., 2004.** Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta pharmacologica Sinica*, 25(7): 932-936.
- **Cremades O., Ponce E., Corpas R., Gutierrez J. F., Jover M., Alvarez-Ossorio M. C., Parrado J., Bautista J., 2001.** Processing of crawfish (*Procambarus Clakii*) for the preparation of caretenoproteins and chitin. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5468-5472.
- **Domard A., 1996.** Some physicochemical and structural basis for applicability of chitin and chitosan. In *chitin and chitosan: The Proceedings of the Second Asia Pacific Symposium*, (eds. Stevens, W. F., Rao, M. S., and Chandrkrachang, S.), Asian Institute of technology, Bangkok, Thailand, pp. 1-12.
- **Escudier J. L., Moutounet M. et Vernhet A., 2000.** Applications des membranes dans la filière œnologique. F3270, Agroalimentaire.
- **FAOSTAT, FAO, 2005.** Statistical Databases, Food and Agricultural Organization of the United Nations. <http://fao.org>.
- **Fernandez-Kim S. O., 2004.** Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols. Thesis of the Louisiana State University.
- **Ferrer, J.; Paez G.; Marmol Z.; Ramones E.; GarciaH. ; C. F. Forster, 1996.** Acid hydrolysis of shrimp shell wastes and the production of single cell protein from the hydrolysate. *Bioresource Technology*, 57 : 55-60.

- **Fox D.L. 1973.** Chitin-bound keto-carotenoids in a crustacean carapace. *Comp. Biochem. Physio.* 44B. p. 953.
- **Gagné Nellie, 1993.** Production of chitin and chitosan from crustacean waste and their use as a food processing aid. Master of sciences. Mc Gill University, Montréal, Canada.
- **Gamma filtration, 1991 ;** Dossier Technique Du Bureau d'Etude de la Firme Gamma Filtration.
- **Gildberg Asbjorn, Even Stenberg, 2001.** “A new process for advanced utilization of shrimp waste”. *Process biochemistry* 36: 809-812.
- **Gogev S., Versali M. F. and Thiry E., 2003.** Les chitosanes- nouveaux adjuvants pour la vaccination par voie muqueuse chez les animaux. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 343-350
- **Goldsmith, TH R. L., 1971.** Macromolecular Ultrafiltration with Microporous membranes. *Ind. Eng. Chem. Funda.*, 10 (1): 113-120.
- **Grassé P. P., 1979.** Abrégé de zoologie : 1. Invertébrés. Edition Masson, Paris. Tome 1 ,220.
- **Grib H., 2002.** Séparation et concentration des acides aminés par techniques membranaires. Thèse de doctorat, Ecole nationale polytechnique, Alger, Algérie.
- **Hamodrakas S. J., Willis J. H. and Iconomido V. A., 2002.** A structural model of chitin-binding domain of cuticle proteins. *Insect biochem. And molec. Biology*, 32, 1577-1583.
- **Ibrahim H. M., Salama M. F. and El-Banna H.A., 1999.** Shrimp's waste: Chemical composition, nutritional value and utilization. *Nahrung* 43 Nr. 6; 418—423.
- **Jaafari K., Elmaleh S., Coma J. and Benkhouja K.2001.** Equilibrium and kinetics of nitrate removal by protonated cross- linkedchitosan. *Water SA.* 27(1)
- **Jeon Y. J., Kim S. K., 2000.** Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity. *Carbohydrate polymers*, 41: 133-141.
- **Jessop N. M., 1973.** Biosphère. Ecologie mécanisme de l'adaptation. Tome 1. Ed. Recherche et Marketing. Troisième trimestre: 71-125.
- **Jinjiang L., 1996.** “The colloidal and liquid crystal properties of surface modified chitin crystallites”. These de doctorat. Mc Gill University. Montréal, Quebec, Canada.
- **Johnson, E.L. and Peniston, Q.P, 1982.** Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production. In *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*; Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E., Ward, D.R., Eds.; AVI Publishing: Westport, CT. 1982; Chapter 19.

- **Jung W.; Jo G. H.; Kuk J. H.; Kim K. Y. and Park R. D., 2005b.** Extraction of chitin from red crab shell waste by cofermentation with *Lactobacillus paracasei* sub sp. *Tolerans* sub sp. *Tolerans* kctc-3074 and *Serratia marcescens* FS-3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71(2), 234-237.
- **Kahn DW, Butler MD, Cohen, Gordon M, Kahn JW, Winkler ME., 2000.** Purification of plasmid DNA by tangential flow filtration. *Biotechnol Bioeng*, 69:101-106.
- **Kamst E. and Spaink P. H., 1999.** Functional domains in the chitin oligosaccharide synthase NodC and related  $\beta$ - polysaccharide synthases. *Trends in Glycosc. And Glycotechno.*, 11 (60), 187-199.
- **Kanani D.M.; Ghosh R., 2007.** A constant flux based mathematical model for predicting permeate flux decline in constant pressure protein ultrafiltration. *Journal of Membrane Science* 290, 207–215
- **Käppler T., Posten C., 2007.** Fraction of proteins with two-sided electro-Ultrafiltration. *Journal of Biotechnology.* 128, 895-907.
- **Kramer K. J., Carol D. T. and Daizo K., 1985.** Chitin metabolism in insects, In: Kerkut G. A; and Gilbert L. I. *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology.* 3: In: Integument, respiration and circulation, 625. Pergamon Press Oxford. New York. Toronto. Sydney. Paris. Frankfurt.
- **LABORIE S.; CABASSAUD C.; DURAND-BOURLIER L., 1999.** Characterisation of gas-liquid two-phase flow inside capillaries, *chemical engineering science*, 54(23), p. 5723-5735.
- **Lamontagne P., Lucie, 2004.** Propriétés antibactériennes de molécules dérivées du chitosane en remplacement des antibiotiques pour l'industrie aviaire et porcine. Université de Québec à Montréal.
- **Leclerc Ph., 1997.** Caractérisation microbiologique des composants à base de résidus chitineux. Mémoire de Maîtrise en Science (M. Sc.). Université de Sherbrooke, Canada.
- **Loiseleur J., 1963.** Techniques de laboratoire : Chimie Physique, chimie biologique. Tome 1, 3<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris.
- **Louisot P., 1983.** Biochimie générale et médicale. Vol. 4 ; ed. Simep, Lyon.
- **Majeti N. V. and kumar R., 2000.** A review of chitin and chitosan applications. *React & Func. Poly.* 46, 1-27.

- **Mameri N, 1987.** Contribution à l'étude de l'ultrafiltration : Caractérisation des membranes ; Etude de la couche de polarisation. Thèse de doctorat. Rennes, 1987.
- **Mameri N., Poyen S., Portier M., Bariau B., 1988.** Les différentes modélisations pour la caractérisation de l'ultrafiltration. Bull. Soc. Sc. Bretagne, 59 N° 1-4, p. 11-35.
- **Mameri, N. ; Abdessemed, D ; Belhocine, D. ; Lounici, H. ; Gavach, C. ; Sandeaux, J. ; Sandeaux, R., 1996.** Treatment of Fishery Washing Water by Ultrafiltration. J. Chem. Tech. Biotechnol., 67 : 169-175.
- **Mary Clegg K., 1974.** Dietary enzymic hydrolysates of protein with reduced bitterness. Journal Food Technol.; vol. 9, 21-29.
- **Masson O., 2002.** Bases biochimiques de la diététique. Editions médicales internationales.
- **Maurel A., 1989.** Techniques séparatives à membranes. Considérations théoriques. J 2790. Génies des procédés, Technique de l'ingénieur.
- **Meireles, M. ; Aimer, P. ; Sanchez, V., 1992.** les Techniques à membranes : Micro et Ultrafiltration. Le technoscope de biofutur. N° 111.
- **Miguel Angel FRANCO NAVA ; 2003.** Origine, devenir et contrôle de la matière particulaire dans les Élevages de poissons marins en système recyclé. L'école nationale supérieure agronomique de rennes, thèse de doctorat.
- **Mirzadeh H., Yaghoobi N., Amanpour S., Ahmadi H., Mohagheghi M. A. and Hormozi F., 2002.** Preparation of chitosan derived from shrimp's shell of Persian Gulf as a blood hemostasis agent. Iranian Polym. J., 11(1), 63-68.
- **Mokrane, H. ; Belhocine, D. ; Mameri, N. , 2006.** Comparison and efficiency of two membranes (modified MF and UF) during enzymatic hydrolysis of hemoglobin in a membrane bioreactor. J. of Membrane Sciences, 281 : 170-176.
- **Mrunal R.T., 2004.** Synthesis and, antibacterial assessment of water-soluble hydrophobic, chitosan derivatives bearing, quaternary ammonium functionality. Doctor of, philosophy. Louisiana, State University.
- **Mukherjee, D. P., 2001.** Method for producing chitin or chitosan. United States Patents, 3310: 188.
- **Netto, F.M. ; Holanda H. D., 2006.** Recovery of Components from shrimp (*Xiphopenaeus Kroyeri*) Processing waste by Enzymatic Hydrolysis. J. Food Science, 71 (5): 298-303.

- **No, H. K.; Meyers, S. P.; Lee, K. S., 1989.** Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(3): 575-579.
- **No, H.K. and Meyers, S.P. 1995.** Preparation and characterization of chitin and chitosan--a review. *J. Aquatic Food Prod. Tech.*, 4, 27-52.
- **No, H.K., Hur, E.Y. 1998.** Control of Foam Formation by Antifoam during Demineralization of Crustacean Shell in Preparation of Chitin. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3844-3846.
- **Nouar, A.; Maurin, C., 2001.** Nature of and typical populations on the characteristic facieses of substratum of *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) along the Algerian Coast. *Crustaceana*, 74 (2): 129-135.
- **Onesippe C., 2005.** Etude des systèmes polyélectrolyte / tensioactif en phase aqueuse et à l'interface liquide/ gaz. Thèse de doctorat. Université Montpellier II.
- **Oshima T., 1998.** Recovery and use of nutraceutical products from marine resources. *Food Technology*, 52; p. 51.
- **Oussedik S. M. and Mameri N., 2001.** Electro-Ultrafiltration d'une solution de BSA\_ Etude du cout. *Desalination* ; 137 ; 113-121.
- **Pelmont J., 1989.** Enzymes. Presse universitaire de Grenoble.
- **Percheron F., Perlés R. and Foglietti J. M., 1981.** Abrégé de biochimie générale. Tome 2. Edition Masson, Paris.
- **Plummer D., 1989.** Introduction aux techniques de biochimie. Edition Mc graw-hill, Paris.
- **Rao M. S.; Munoz J. and Stevens W. F., 2000.** Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54, 808-813.
- **Roller, S.; Covill, N., 1999.** The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 67-77.
- **Salah R., 2005.** Préparation d'oligosaccharides à partir d'une biomasse marine: la chitine. Mémoire de Magister, Ecole nationale polytechnique, Alger, Algérie.
- **Seng, J.-M. 1988.** Chitine, chitosane et dérivés: de nouvelles perspectives pour l'industrie. *Biofutur*, 9, 40-44.
- **Shahidi, F. and Abuzaytoun, R. 2005.** Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects. *Adv. Food Nutr. Res.*, 49, 93-135.



- **Shahidi, F. and Synowiecki, J. 1991.** Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoectes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1527-1532.
- **Shahidi, F., Arachi J.K.V. and Jeon Y.J., 1999.** Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci. Tech.*, **10**, 37-51.
- **Shen, J. J. ET Probst, R. L., 1979.** Turbulence promotion and hydrodynamic optimization in ultrafiltration process. *Ind. Eng. Chem. Proc. Dev.*, **3** : 545-554.
- **Smith, V.H., Tilman, G.D., Nekola, J.C., 1999.** “Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine and terrestrial ecosystems, Environ.” *Poll.* **100**:179-196.
- **Spinner H. –E., 1998.** Technologies de transformation des produits agroalimentaires. F 1170. Agroalimentaire, Technique de l’ingénieur.
- **Srijaroonrat P. ; Julien E. ; Aurelle Y., 1999.** Unstable secondary oil/water emulsion treatment using ultrafiltration: fouling control by back flushing. *Journal of Membrane Science* .**159**, 11-20.
- **Synowiecki J. and Nadia Ali Abdul Quawi Al-Khateeb, 2000.** The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp *Crangon crangon* processing discards. *Food Chemistry*, **68**: 147-152.
- **Synowiecki, J. and Al-Khateeb N. A. 2003.** Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **43**, 145-171.
- **Tan, E. W. Y.; Lee, V. R., 2002.** Enzymatic hydrolysis of prawn Shell waste for the purification of chitin. Final year research & development project, Department of chemical engineering Loughboroug University.
- **Tolaimate, A., J. Desbrieres, M. Rhazi and A. Alagui. 2003.** Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polym.*, **44**, 7939-7952.
- **Tsugita, T. 1990.** Chitin/chitosan and their applications. In: Voigt, M.N. and Botta, R.J., eds. *Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability.* Technomic pub. Co., USA, p.287-298.
- **Tyrra S., 1999.** Crustacea. Projet de fin d’études. Université Humboldt, Berlin.
- **Van Reis R. and Zydney A., 2001.** Membrane separations in technology. *Current Opinion in Biotechnology*, **12**, Issue 2(1) ; 208-211 ; Elsevier Science.

- **Yang J-K., Shih I-L., Tzeng Y-M. And Wang S.L., 2000.** “Production and purification of protease from a bacillus subtitles that can deproteinize crustacean wastes”. Enzyme and microbial technology, 26, 406-413.
- **Yang Y-P., Xu X-H. and Chen H-F., 2004.** Treatment of chitin producing waste water by micro-electrolysis-contact oxidization. Journal of Zhejiang University. 5 (4); 436-440.
- **Zakaria Z.; Hall G.M. and Shama G., 1998.** Lactic acid fermentation of scampi waste in a rotating horizontal bioreactor for chitin recovery. Process Biochem. 33 (1), 1-6.

# ANNEXES

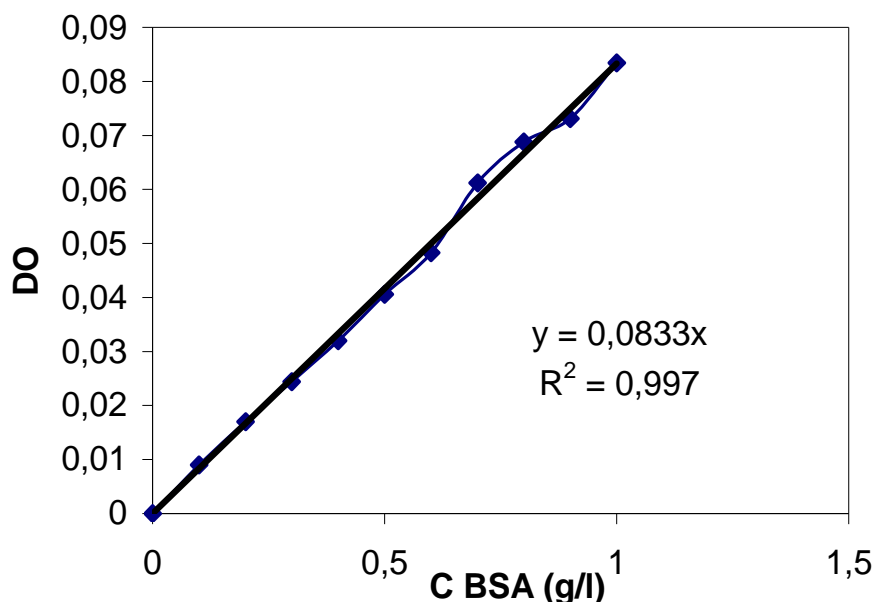
## 1-Dosage des protéines : méthode de BIURET

- Mode opératoire

### A. La courbe d'étalonnage a été obtenue comme suit :

A partir d'un sérum étalon dont le titre en protéines est connu, nous avons utilisé un sérum de BSA (bovin sérum albumine) de concentration initialement 1g/l. On réalise à l'aide d'eau distillée plusieurs dilutions parmi les quelles : 1/10, 1/20, 1/30....1/90 soit (0.1g/l, 0.1g/l, 0.3g/l.....0.9g/l).

Dans une série de tubes à essai, nous introduisons 1 ml chaque dilution et 4 ml du réactif de cornall. Le témoin ou le blanc est réalisé avec 1ml d'eau distillée et 4 ml du réactif de cornall. Les tubes sont bien mélangés et placés à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante pour développer la réaction. Une fois que la coloration est stable, nous faisons la lecture de la densité optique (DO) de chaque tube contre le blanc à 540nm. Les résultats obtenus sont représentés sur la courbe si dessous.



**Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines par la méthode BIURET**

## **B. Dosage des protéines des échantillons**

Diluer l'échantillon à doser au 1/10<sup>ème</sup> pour être toujours dans la marge d'application de la loi. On prélève 1 ml de celle-ci à laquelle on ajoute 4ml du réactif de Cornall, mélanger, mettre à l'obscurité 30min. Ensuite lire la densité optique au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda = 540$  nm.

La concentration en protéine est déduite de la courbe d'étalonnage.

## **C. Préparation du réactif de cornall**

- Dissoudre 1 ,5g de sulfate de cuivre penta hydraté ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) dans 250 ml d'eau distillée.
- Dissoudre 6g de tartrate double de sodium (Na) et de potassium (K) dans 250 ml d'eau distillée.
- Dissoudre 30g de soude caustique analytique (NaOH) dans 300 ml d'eau distillée.
- Faire le mélange de ces trois solutions et compléter à 1 l avec de l'eau distillée.
- Ce réactif est très sensible à la lumière, ceci dit, il doit être conservé à l'obscurité dans un flacon soigneusement bouché

## **2-Dosage de l'azote total par la méthode Kjeldahl (AFNOR1982)**

### **A. Mode opératoire**

- **Minéralisation**

Elle doit être réalisée avec précaution, car elle met en œuvre de l'acide sulfurique concentré et chaud. On introduit dans un matras :

-2g de carapaces broyées ;

-10ml d'acide sulfurique concentré à 98% ;

-une pointe de spatule de catalyseur de minéralisation ;

On prépare également l'essai à blanc ; avec 10ml d'acide sulfurique additionnés de catalyseur.

La minéralisation est assurée à 100°C pendant 30minutes ensuite à 300°C pendant 2heures.

- **Distillation et dosage de l'ammoniac**

On dilue le minéralisât et on prend 20ml, auxquels on ajoute 100ml d'eau distillée et quelques gouttes de phénophtaléine et 10ml de lessive de soude.

On ajuste l'allonge au réfrigérant et on distille en chauffant modérément et régulièrement.

Le dosage est considéré comme terminé lorsque le teint gris sale se maintient stable pendant au moins 5minutes de distillation. Pour le dosage on utilise une quantité d'hydroxyde de sodium correspondant à la quantité d'acide sulfurique totale. (Audigié, 1984).

### **3-Dosage de la DCO (demande chimique en oxygène) (Standard methods page 532. 1985.)**

- **Appareillage**

Un spectrophotomètre UV-visible pour la mesure à  $\lambda = 600\text{nm}$ , et une cellule de mesure en quartz.

- **Préparation du réactif de digestion**

-dissoudre 10.216g de  $\text{K}_2\text{CrO}_7$ , préalablement chauffé à  $103^\circ\text{C}$  pendant 2h, dans 500ml d'eau distillée.

-ajouter 167ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré + 33.3g  $\text{HgSO}_4$ , dissoudre à température ambiante puis diluer à 1000ml.

- **Préparation du réactif d'acide sulfurique.**

-ajouter  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  technique à  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré avec un taux de 5.5g de  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  /kg  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .attendre la dissolution.

#### **Mode opératoire**

1-Prendre 2ml du réactif de digestion, ajouter 1ml du réactif d'acide sulfurique dans des tubes spécifiques, les fermer immédiatement après les avoir bien mélangé, car la réaction est exothermique.

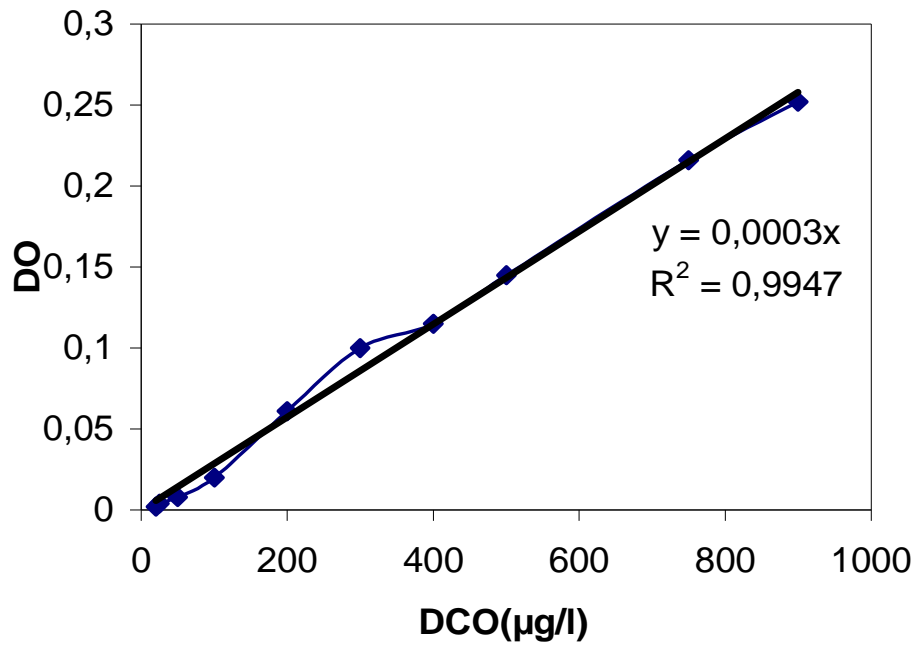
2-ajouter 2ml de l'échantillon à analyser, fermer et agiter.

3-positionner les tubes dans le bloc chauffant préalablement chauffé, régler le minuteur sur 120min.

4-sortir les tubes du bloc après 2h, laisser refroidir.

5-effectuer la lecture sur spectrophotomètre à  $\lambda = 600\text{nm}$ .

6-la valeur de la DCO est déduite de la courbe d'étalonnage.



**Courbe d'étalonnage de la DCO**



## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القوقعة الخارجية للجمبري الأبيض *Parapenaeus longirostris*, وذلك باستخراج مادة الكيتين و البروتينات المنحلة التي تعتبر ناتج ثانوي لعملية استخراج الكيتين بالطريقة الكيماوية. ولقد بحثنا عن الشروط المثالية لمرحلتى نزع البروتينات و الأملاح المعدنية فتحصلنا على النتائج التالية يتم نزع الأملاح المعدنية باستعمال 15 مل من محلول حمض كلور الهيدروجين HCl بتركيز 1.75 نظامي لكل 1 غرام من مسحوق القوقعة لمدة 25 دقيقة تحت حرارة الجو. كذلك يتم نزع البروتينات باستعمال 20 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 2 نظامي لكل 1 غرام من مسحوق القوقعة لمدة ساعتين تحت درجة حرارة 40 ° م .  
في مرحلة ثانية قمنا باستخدام طاهرة ما فوق الترشيح لتركيز البروتينات المنحلة, و ذلك عبر تركيبين أولهما مزود بغشاء معدني M5, و الآخر مزود بالغشاء المعدني CERAVÉR®. و لقد تحصلنا على نسبة ترشيح تقدر ب 70% حيث أن تركيز المحلول الابتدائي انتقل من 0.6 غ/ل إلى 1.8 غ/ل بعد انتهاء العملية, بالنسبة ل M5. بالنسبة ل CERAVÉR® فلقد تحصلنا على نسبة 97% و تركيز المحلول الابتدائي انتقل من 5 غ/ل إلى 10 غ/ل.  
**المفاتيح:** الكيتين, البروتينات, تقييم, قوقعة الجمبري, تركيز, ما فوق الترشيح.

## Résumé :

Le but de cette étude est la valorisation de la carapace de crevette blanche *Parapenaeus longirostris*, par récupération de la chitine (solide) et les protéines en solutions qui sont un sous produit de la production de la chitine. L'optimum de la déminéralisation est obtenu à température ambiante, en utilisant 15 ml de HCl 1.75N pour 1g de carapace, pendant 25 minutes. L'optimum de la déprotéinisation est obtenu à 40°C, en utilisant 20 ml de NaOH 2N pour 1g de carapace, pendant 2 heures de temps.

Nous avons par la suit, concentré ces protéines en solution par un procédé d'ultrafiltration, et cela en utilisant deux dispositifs. Le premier est à l'échelle laboratoire avec une membrane minérale M5 et le second est à l'échelle semi pilot avec une membrane minérale CERAVÉR®. Le taux de rejet obtenu est 70 % pour la M5 et 97 % pour la CERAVÉR®. La concentration du retentât passe de 0.6 g/l à 1.8 g/l d'où un facteur de concentration final de 3.83, pour la M5. Et de 5 g/l à 10g/l, soit un facteur de concentration final de 2, pour la CERAVÉR®.

**Mots clés :** chitine, protéines, valorisation, carapaces de crevette, concentration, ultrafiltration.

## Abstract:

The purpose of this study is to valorize the white shrimp shell waste *Parapenaeus longirostris*. This valorization aim is to recover two main components of shrimp shell waste, chitin and proteins, using chemical treatment. The optimum conditions for demineralization are achieved at the ambient temperature, and a solid/solvent ration of 1g shell/15ml of HCl 1.75N, during 25minutes. However, the optimum conditions for the extraction of proteins from the shell are obtained at 40°C, during 2 hours and a solid/solvent ration of 1g shell/20 ml of NaOH 2N.

Thereafter, we are concentrating the proteins solution by ultrafiltration process. Two devices are used, the first one is equipped with minerals membrane M5, and the second one is equipped with minerals membrane CERAVÉR®. Despite different cut off values, similar apparent rejection coefficients (70% and 97% respectively for M5 and CERAVÉR®) were obtained. The protein concentration in the feed solution was increased from 0.6 to 1.8 g/l for M5 and from 5 to 10 g/l for CERAVÉR®.

**Key words:** chitin, proteins, valorization, shrimp shell waste, concentration, ultrafiltration process.