

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

*Ecole Nationale Polytechnique*



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
Ecole Nationale Polytechnique

DEPARTEMENT DE GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

**Mémoire de Projet de Fin d'Etudes**

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat en Environnement

*Thème :*

— oOo —

***Concentration des protéines d'un  
rejet marin par une technique  
membranaire***

*Réalisé par :*

● *Ammar Kenza*

*Encadré par :*

Mme:Abdi N.  
Mr Lounici H.

Promotion 2006/2007

*E.N.P 10, Avenue Hassen Badi, B.P.182 EL Harrach, Alger*

---

## DEDICACES

---

*« Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents, qui ont tout sacrifié pour mon bien et qui ont éclairé ma route par leurs conseils, compréhension, leurs sacrifices et leur affection et tendresse.*

*A mes chers frères : YACINE, MOHAMED, SOFIANE, et le petit (grand) génie YOUNES, qui m'ont suivi et encouragé.*

*A mon tendre mari : YUCEF qui a fait preuve de beaucoup de patience, de compréhension et surtout de disponibilité et d'amour.*

*A mon petit ange, mon fils adoré : « ZAKARIA » pour le bonheur croissant qu'il m'apporte de jours en jours. Et à qui je souhaite tout le bien et bonheur du monde*

*A mes beaux parents, ainsi qu'à mes beaux frères et belles soeurs qui m'ont précieusement aidé dans les moments difficiles.*

*A ma cousine KAHINA qui a fait preuve de beaucoup de générosité.*

*A MERJEM, son petit bout de chou « ANIS » et à ALIFA.*

*A yemma OVARDA que j'aime et admire particulièrement*

*A toute la famille AMMAR, notamment ma grand-mère.*

*A ma tante Tassadite son mari et ses enfants.*

*A tous mes amis qui ont pu partagé mes joies et mes peines, en particulier KAHINA, KAHINA, AMEL, AMINA, AMIRA, MANSOURA.*



AMMAR K

---

## REMERCIEMENTS

---

*Ma reconnaissance éternelle et mes vifs remerciements à notre grand créateur, «ALLAH», qui m'a donné la santé et la volonté afin d'accomplir ce P.F.E.*

*Tout d'abord, mes remerciements s'adressent à Mr le professeur MAMERI N. qui m'a donné l'opportunité de mener mon travail au sein du laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des procédés à l'Ecole Nationale Polytechnique.*

*Je tiens à remercier vivement ma promotrice Mme N. ABDI, ainsi que mon co-promoteur Mr LOUNICI H. pour leur disponibilité, leur aide et leur conseils qui m'ont servis de références dans l'élaboration de ce travail.*

*Je tiens à remercier, sincèrement, Mr KERBACHI professeur à l'E.N.P d'avoir accepté d'être le président du jury.*

*Je tiens, également, à remercier vivement Mr BENGHABILES M. S. ainsi que M. ZITOUS d'avoir accepté de faire partie du jury*

*J'aimerais également remercier l'ensemble de l'équipe de recherche au laboratoire Hassina, Hassiba, Leïla, Samira... pour l'ensemble des interactions que nous avons entretenues.*

*Je tiens à remercier :*

*\* Mr AHMED ZAID chef du département de Génie chimique, ENP.*

*\* SOUMIA, ingénieur au laboratoire de technologie alimentaire à l'INA pour m'avoir aidé énormément en acceptant d'effectuer des analyses au sein de leurs laboratoires.*

*Mes sincères remerciements s'adressent aux enseignants du département de génie de l'environnement qui ont participé à ma formation d'ingénieur et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent, ici, le témoignage de ma reconnaissance et l'expression de mon profond respect*

*Ammar K,*



# Sommaire

# Sommaire

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

## Chapitre I Généralités sur la chitine et dérivés

I-1.HISTORIQUE .....	4
I-2.DEFINITION .....	4
I-3.PROPRIETES DE LA CHITINE ET DERIVEE (CHITOSANE) .....	5
I-4.PREPARATION DE LA CHITINE :.....	6
I-4-1.Méthode chimique.....	6
I-4-2.Méthode biologique :.....	7
I-4.3 Avantages et inconvénients des méthodes chimiques et biologique :.....	8
I-5.APPLICATIIONS DE LA CHITINE:.....	9
I.5.1 Application biomédicale : .....	9
I.5.2 Applications environnementales et contrôle de la pollution : .....	9
I.5.3 Applications à l'industrie alimentaire :.....	9
I.5.4 Application à l'agriculture : .....	10
I.5.5 Autres applications : .....	10

## Chapitre II les protéines

II-1-ACIDES AMINES.....	11
II-2-LES PEPTIDES ET PROTEINES :.....	11
II-2-1-Rôle des protéines :.....	12
II-2-2-Classification :.....	13
II-2-3-Structure primaire :.....	13
II-2-3-Structure secondaire :.....	14
II-2-4-Structure tertiaire :.....	14
II-2-5-Structure quaternaire :.....	14
II-3-EVALUATION DE LA QUALITE NUTRITIVE DES PROTEINES .....	14
II-4-ALTERATION DE LA STRUCTURE DES PROTEINES : DENATURATION .....	15

## Chapitre III L'ultrafiltration

III-1.INTRODUCTION : .....	16
III-2-PRINCIPE.....	16

III-3. NOTIONS ET MECANISMES DE BASE :.....	17
III- 3.1. Définitions : .....	17
III-3-2-Lois de comportement : .....	18
III-3-2-1-Modèle du tamis moléculaire (Loi de Darcy) : .....	18
III-3-2-2-Modèle du film : .....	19
III-3-3-Taux de rejets d'une membrane d'ultrafiltration : .....	20
III-4-LES MEMBRANES D'ULTRAFILTRATION : .....	21
III-5-LES MODULES D'ULTRAFILTRATION : .....	21
III-6-MODES DE FONCTIONNEMENT : .....	22
III.6.1 Système discontinu : .....	22
III.6.1 Système continu : .....	23
III.6.3 Système continu avec recyclage partiel du retentât : .....	23
III.6.4 Fonctionnement en diafiltration : .....	23
III-7- MECANISME DE COLMATAGE.....	23
II-7-1-Principales origines du colmatage : .....	24
III-7-2-Moyens de lutte contre le colmatage : .....	24
III-7-3.Régénération de la membrane : .....	24
III-8-LES PRINCIPALES APPLICATIONS DE L'ULTRAFILTRATION EN INDUSTRIE :25	
III-8-1-Industrie laitière : .....	25
III-8-2-Industrie agro-alimentaire et de la boisson : .....	26
III-8-3-Industrie du sucre et des polysaccharides : .....	26
III-8-4-Industrie pharmaceutique et biologique : .....	26
III-8-5-Epuration biologique des eaux résiduaires : .....	27
III-8-6-Industrie automobile.....	27
III-8-7-Industrie électronique : .....	27
III-8-8-Industrie textile : .....	27
III-8-9-Applications médicales et biomédicales : .....	27

#### **Chapitre IV : Matériels et méthodes**

IV-1- MATERIELS : .....	28
IV-1.1.la carapace .....	28
IV-1.2.DISPOSITIF EXPERIMENTAL: .....	28
IV-2-METHODES : .....	29

IV.2.1. Préparation de la carapace de crevette : .....	29
IV.2.2.Optimisation des conditions opératoires pour la préparation de la chitine .....	30
IV.2.2.1.La déminéralisation .....	30
IV.2.2.2.La déprotéinisation : .....	31
IV.2.3.Ultrafiltration: .....	32
IV.2.3.1-Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane neuve : .....	32
IV.2.3.2- Influence de la pression sur le flux de Perméat : .....	33
IV.2.3.3.Essai de concentration : .....	33
IV.2.3.4.Essai de concentration avec recirculation .....	34
IV.2.3.5. Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane après ultrafiltration : .....	35
IV.2.3.6. Régénération de la membrane .....	35
V.1.PREPARATION DE LA CHITINE : .....	36
V.1.1.Caractérisation de la carapace utilisée: .....	36
V.1.2 Optimisation de la déminéralisation : .....	36
V.1.2.1 Optimisation de la concentration en acide chlorhydrique : .....	36
V.1.2.2 Influence de la durée de traitement sur le taux de déminéralisation .....	37
V.1.2.3 Optimisation du volume d'acide chlorhydrique : .....	38
V.1.3.Optimisation des paramètres de la déprotéinisation : .....	39
V1.3.1 Influence de la température de réaction de déprotéinisation : .....	39
V.1.3.2 Optimisation de la concentration en hydroxyde de sodium : .....	40
V.1.3.3 Optimisation de la durée de déprotéinisation .....	41
V-2. PROCEDE D'ULTRAFILTRATION : .....	45
V.2.1.Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane avant usage: .....	45
V.2.2.Influence de la pression sur le flux de Perméat : .....	46
V.2.3.Essai de concentration des protéines sans recirculation .....	47
V.2.4.Influence de la recirculation sur l'efficacité de l'ultrafiltration: .....	49
V.2.5.Essai de concentration avec recirculation : .....	50
V.2.6.Mesure du taux d'abattement de la pollution (DCO) du perméat : .....	50
V.2.7.Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane après ultrafiltration : .....	51
Conclusion générale .....	53
Références bibliographiques .....	55
<a href="#"><u>ANNEXES</u></a> .....	58

# Partie bibliographique

# 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 % de 1994 à 1998 (FAO, 2002).

En ce qui concerne la part de l'aquaculture dans l'économie mondiale, 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 part de l'effet combiné d'une demande concentré sur les produits de haute gamme que constituent les espèces nobles (saumon, langouste, crevette, crabe, coquilles Saint\_Jaques..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 particulaire, riche en matière organique, et sous forme dissoute riche en nutriments inorganiques rejetés dans le milieu naturel (Barak, Y. *et al.*, 2000). Ces effluents peuvent modifier l'équilibre du bassin récepteur, provoquer une diminution de la concentration en oxygène et une augmentation de pH, et contribuer 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 particulaire.

Dans le cadre de la préservation de l'environnement, et de la valorisation des sous produits de l'industrie halieutique ; la chitine figure parmi les produits à haute valeur ajoutée extraite à partir des carapaces de crustacés à promouvoir. L'objectif y est très important ; il s'agit d'obtenir un produit peu coûteux, pauvre en lipides, 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 des crevettes dépasse également celle des autres crustacés.

Le tableau (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)**

<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

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.

L'extraction de la chitine à partir de carapaces peut se faire par deux méthodes; biologique et chimique.

La méthode biologique est basée sur l'utilisation de bactéries lactiques, qui ont la capacité de produire l'acide lactique conduisant ainsi à la déminéralisation et d'excréter des enzymes protéolytiques qui assurent la déprotéinisation des carapaces de crustacés. À noter que cette voie est encore au stade des études aux laboratoires (Salah, 2005 ; Arbia,2007).

Quant à la méthode chimique; elle fait appel à l'utilisation des acides et des bases pour assurer les deux opérations de déminéralisation et de déprotéinisation. (Gagné, 1993).

Seulement cette dernière technique génère elle-même des rejets ayant une forte charge organique dont l'impact sur le milieu récepteur n'est pas anodin.

Ce présent mémoire présente le double objectif : celui tout d'abord de pouvoir traiter ces rejets afin de les ramener à des niveaux de pollution atténuée de façon à qu'ils soient acceptés par les STEP conventionnelles, le second qui nous paraît fort intéressant est de pouvoir valoriser ces rejets étant donné leur consistance en protéines non négligeable.

Notre travail consiste en l'essai de concentration des protéines présentes dans les eaux de lavages lors de la préparation de la chitine par voie chimique en utilisant le procédé d'ultrafiltration. Cette étude a été réalisée selon les étapes suivantes :

- L'optimisation des paramètres physico-chimiques : 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.
- L'optimisation des paramètres dynamiques de l'ultrafiltration; pression transmembranaire et vitesse de recirculation.
- L'essai de concentration des protéines par ultrafiltration.

Pour ce faire, nous avons jugé utile de diviser ce présent mémoire en deux volets :

Le premier constitue la partie bibliographique qui regroupe les généralités sur la chitine, les protéines ainsi que les procédés membranaires (ultrafiltration).

Le deuxième volet concerne la partie expérimentale qui est composée de deux chapitres :

- -Chapitre IV : matériel et méthodes ou nous présentons les conditions expérimentales de notre travail.
- -Chapitre V: résultats et discussions ou nous présentons les résultats obtenus de notre travail ainsi que les essais d'interprétations.

**Chapitre I :**  
**Généralités sur**  
**la chitine et dérivés**

## I-1.HISTORIQUE :

En 1811, le Pr. H. Braconnot, a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon, de plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provenant du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, le Pr. C. Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, seulement en 1894 cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler (Domard, 1996).

Entre 1930 et 1940, ces biopolymères ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau. Aujourd'hui, nous savons que la chitine et le chitosane se trouvent abondamment dans la nature et sont des ressources renouvelables (Muzzarelli, 1977). La production annuelle de chitine dans la nature est estimée à  $10^9$  -  $10^{10}$  tonnes et actuellement elle n'est pas très exploitée et commercialisée par rapport à la cellulose (Peter, 2002).

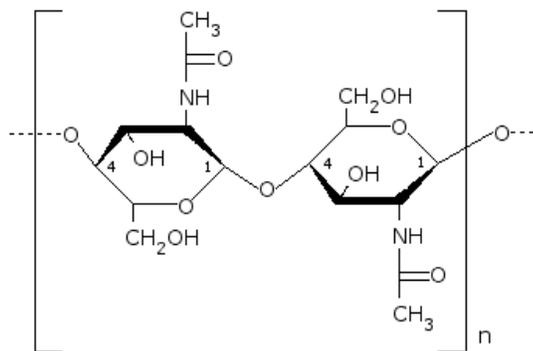
## I-2.DEFINITION :

La chitine est un biopolymère de haut poids moléculaires ( $1.033 \times 10^6$  à  $2.53 \times 10^6$  Da). C'est un polysaccharide linéaire formé d'unités d'acétylglucosamine (N-acétyl-glucosamine) liées entre elles par des Liens glycosidiques de type  $\beta$ -1,4. C'est ce type de liaison qui relie les groupes de [glucoses](#) dans la molécule de [cellulose](#).

C'est le deuxième polymère le plus abondant dans la nature après la cellulose. Elle a une structure cristalline et constitue un réseau de fibres organisées. Elle confère la rigidité et la résistance aux organismes qui en contiennent.

Le chitosane (ou chitosan) est un dérivé partiellement ou totalement déacétylé de la chitine. Le nom chimique de la molécule est : *Poly N-acétyl-D-glucosamine,  $\beta$ -(1,4)-2-Acétamido-2-désoxy-D-glucose*

La structure d'une molécule de chitine est présentée à la figure N° 1.



**Figure N°1 : Représentation de la molécule de la chitine.**

La chitine se retrouve naturellement dans les téguments d'insectes, de nématodes et d'invertébrés marins (Meyers et *al*, 1989). On en retrouve également dans la paroi cellulaire de certaines algues et dans les parois de champignons.

Chez les champignons, la chitine est un constituant essentiel de la paroi latérale qui entoure et protège les cellules fongiques vis à vis de l'environnement. La principale source de chitine exploitée commercialement demeure néanmoins les carapaces d'invertébrés marins qui sont fournis en grandes quantités par l'industrie de la transformation alimentaire des crustacés (Mrunal, 2004) comme les crevettes, les crabes, les homards et les krill. Pour ces industries, les téguments constituent un véritable déchet, et leur réutilisation ou recyclage est une forme de revalorisation de la biomasse.

Dans la cuticule des crustacés, la chitine est associée à des composés minéraux et protidiques variés. Elle contient approximativement 20-30% de chitine, 50% de carbonate de calcium et 30-40% de protéines (Fernandez –Kim, 2004).

Les carapaces les plus exploitées sont celles des crevettes et des crabes à cause de leur teneur relativement élevée en chitine (Meyers et *al*, 1989).

### **I-3.PROPRIETES DE LA CHITINE ET DERIVEE (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. 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 à de 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 c'est un 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.PREPARATION 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, une déprotéinisation et une déminéralisation de la carapace.

##### ***I-4-1.Méthode chimique\_:***

Cette méthode contient deux étapes:

- **La déminéralisation :**

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique à des concentrations de 1 à 10 mol.L<sup>-1</sup>. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante. La condition optimale est obtenue par traitement des carapaces sèches en poudre avec HCl 1 mol.L<sup>-1</sup> pendant

30 minutes à la température ambiante et un rapport du solide/solvant égale à 1:15 (w/v), c'est-à-dire 1 g de carapaces en poudres pour 15 ml de solvant (No *et al.*, 1989). Pendant le processus de déminéralisation, des mousses indésirables peuvent se former dues à la production de dioxyde de carbone [ $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} \Rightarrow \text{CaCl}_2 + \text{CO}_2(\uparrow) + \text{H}_2\text{O}$ ]. No *et al.* (1998) ont recommandé d'utiliser une antimoussante commerciale contenant 10% de solution de silicone active. (Tan et Lee, 2002).

- **La déprotéinisation :**

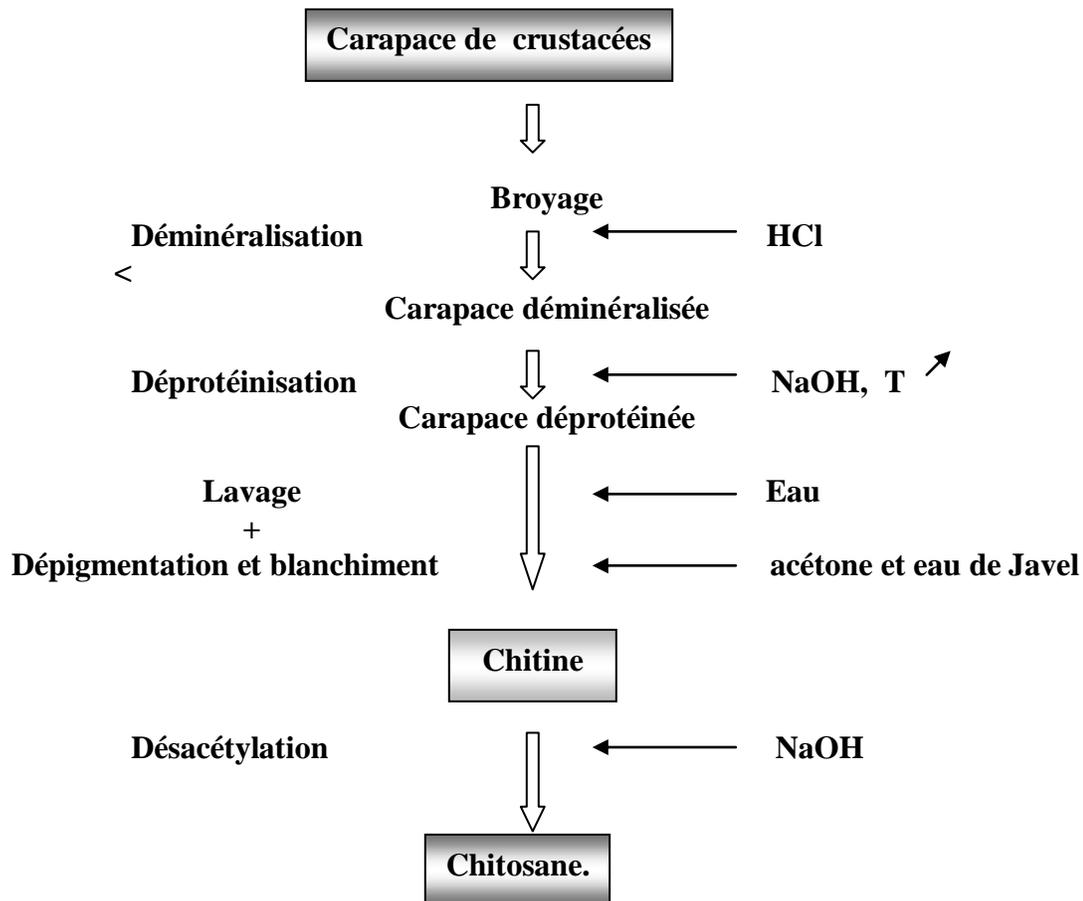
A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , KOH,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{CaSO}_3$ , ou  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ , 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). Meyers *et al* (1995) ont rapporté que la proportion du solide à la solution alcaline allant de 1:10 à 1:20 (g/v) est recommandée pour que l'élimination des protéines soit efficace.

Un traitement alcalin prolongé sous des conditions sévères conduit à une dépolymérisation et une desacétylation (Tan et Lee, 2002).

Une étape facultative de blanchiment et dépigmentation peu être rajoutée pour la décoloration et l'obtention d'une poudre blanche. Ces étapes sont résumées dans la figure N° 2.

#### ***1-4-2.Méthode biologique :***

Cette méthode consiste en l'utilisation de bactéries lactiques et d'enzymes protéolytiques pour éliminer une grande partie des protéines liées à la chitine. Lors de la fermentation des déchets des carapaces en présence de bactéries lactiques dans un milieu adéquat; il y a production d'acide lactique ainsi que différentes protéases. Les carbonates de calcium liées à la chitine sont éliminées en réagissant avec l'acide lactique, formant du lactate de calcium qui précipite et qui sera éliminé par un simple lavage (Tan et Lee, 2002, Gildberg et Stenberg, 2000).



**Figure N° 2 Principales étapes de préparation de la chitine et du chitosane à partir de carapace de crustacées.**

La déprotéinisation et la liquéfaction simultanées des carapaces sont dues à des bactéries présentes dans le système intestinal des crustacés, à des enzymes protéolytiques produites par les bactéries lactiques additionnées ou bien aux protéases présentes dans le déchet.

#### ***I-4.3 Avantages et inconvénients des méthodes chimiques et biologique :***

La méthode chimique présente de nombreux inconvénients. Parmi eux; on cite la pollution chimique provoqué par les effluents d'acides, de bases et de sels générés lors de l'extraction de la chitine ainsi que le coût élevé de leur traitement avant leurs évacuations dans l'environnement (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 produit de qualité variable, non reproductibles et non homogènes (Gagné, 1993).

Quant à la méthode biologique ; elle est lente et incomplète (Tan et Lee, 2002).

## **I-5.APPLICATIONS DE LA CHITINE:**

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.5.1 Application biomédicale :**

Dans le traitement du cancer : le chitosane, conjugués au 5-fluoro-uracyl 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 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.5.2 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.5.3 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.5.4 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.5.5 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.

-séparation 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 de cellules ou des enzymes (Yang et *al.*, 2004).

# **Chapitre II : Les protéines**

## II-1-ACIDES AMINES

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 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. figure N° 3.



*Figure N° 3: Structure des acides aminés naturels standards (Percheron, 1980).*

Les acides aminés ne peuvent pas exister sous la forme non chargée représentée usuellement ; les deux fonctions de l'acide aminés sont ionisées, et la charge est neutre : notion de Zwitterion. (Alais, 2003).

Il existe 20 acides aminés dans la nature. Sur le plan biochimique, il est important de prendre en compte la nature de la chaîne latérale R (Masson, 2002). Selon laquelle on peut classer les acides aminés en :

- **Acides aminés aliphatiques** : Dans ce cas ; le radical est uniquement constitué d'atomes de carbone et d'hydrogène. Ces acides aminés ont une chaîne latérale apolaire donc hydrophobes.
- **Acides aminés alcools** : Il existe deux acides aminés standards présentant une fonction alcool au niveau de leur radical : la serine et thréonine. Cette fonction rend leur chaîne latérale polaire donc hydrophile.
- **Acides aminés soufrés** : La cystéine et la méthionine présentent une fonction thiol. Elle rend la chaîne latérale polaire donc hydrophile.
- **Acides aminés dicarboxyliques** : Leur nom générique vient du fait qu'ils présentent une deuxième fonction carboxylique.

## **II-2-LES PEPTIDES ET PROTEINES :**

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 unités d'acides aminés (une centaine d'amino-acide), 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 de 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-2-1-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 d'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, et 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-2-2-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 :

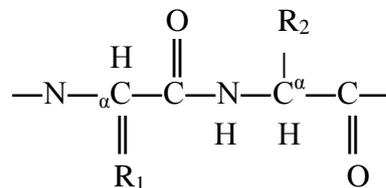
1-Les protéines fibreuses (scléroprotéines) : elles sont de forme allongées, étirées, elles sont très peu solubles dans l'eau, de poids moléculaires très élevé et ont souvent un rôle mécanique (collagène, kératine...).

2 -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-2-3-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.



**Figure N° 4 : Schéma représentatif d'une liaison peptidique (Alais 2003).**

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-2-3-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  $\text{—NH}$  et O de  $\text{—C=O}$ . 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 prédominant 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  $\text{—C=O}$  d'un amino-acide contracte une liaison hydrogène avec le groupe  $\text{—NH}$  du troisième amino-acide le suivant dans la chaîne. (Alais, 2003).

### **II-2-4-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-2-5-Structure quaternaire :**

C'est l'association de molécules protéiques qui, prises isolément, ne possèdent pas d'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-3-EVALUATION DE LA QUALITE NUTRITIVE DES PROTEINES :**

Un apport adéquat de protéines 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 limitants (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-4-ALTERATION DE LA STRUCTURE DES PROTEINES : DENATURATION**

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, ainsi que 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.

# **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 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 membranes 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 permselectives. La pervaporation et la perméation en phase gazeuse utilisent 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 dernier lieu, les techniques électromembranaires reposent toutes sur le principe d'échange d'ions et elles utilisent le courant électrique comme force motrice de séparation. (Maurel , 1984 ). Le tableau N°III.3 résume ces différentes techniques membranaires.

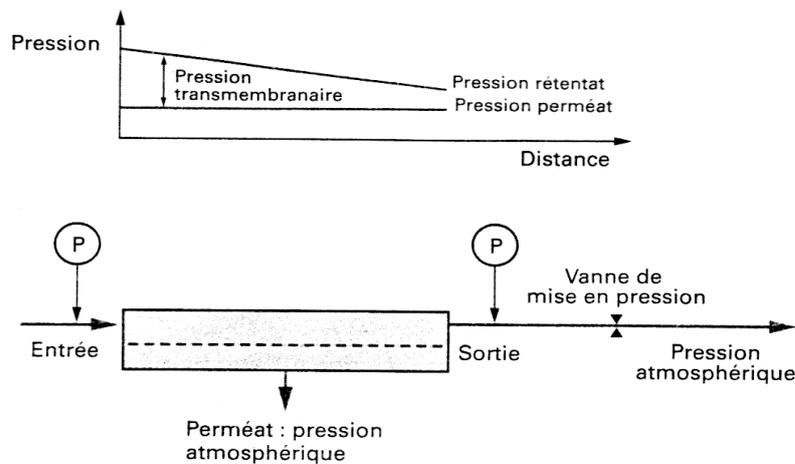
**Tableau N°3: Les techniques membranaires**

<b>Comparaison des différentes techniques séparatives à membrane :</b>				
	<b>Osmose inverse</b>	<b>Nanofiltration</b>	<b>Ultrafiltration</b>	<b>Microfiltration</b>
<b>Diamètre des pores</b>	< 0,5 nm	env. 1 nm	1 à 100 nm	0,1 - 10 um
<b>Rôle de la pression osmotique</b>	Importante	Moyenne à faible	Très faible	Négligeable
<b>Débits spécifiques</b>	10 à 60 l/h/m <sup>2</sup>	50 à 100 l/h/m <sup>2</sup>	40 à 200 l/h/m <sup>2</sup>	100 à1500 l/h/m <sup>2</sup>
<b>Procédés concurrents</b>	Evaporation Electrodialyse Echange d'ions	Echanges d'ions Chromatographie	Précipitation chimique Chromato sur gel Dialyse	Centrifugation Filtration sur diatomées Décantation

### **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 (Balmann,2000). La figure suivante montre le principe de fonctionnement des procédés à membrane.



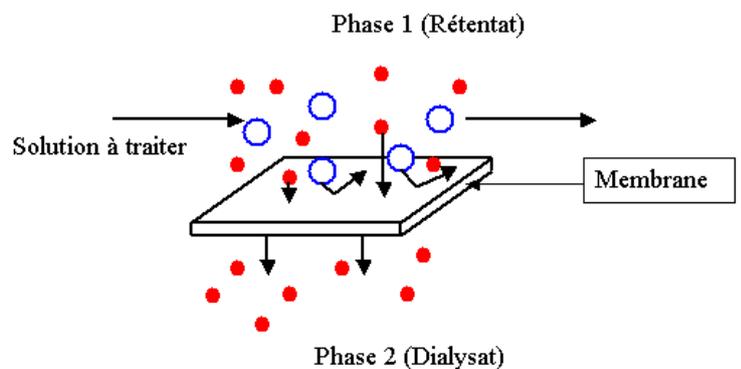
**Figure N°5. Représentation schématique d'une technique membranaire et de son principe de fonctionnement.**

### **III-3. NOTIONS ET MECANISMES 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 toute 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. Balmann, 2000).



**Figure N° III.5.a Notion de rétentat et de dialysat.**

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 retenu 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 l'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 chargées (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 :

$$J_v = L_p \Delta P = \frac{N_p \pi r_p^4}{8 \mu e} \Delta P \dots\dots\dots \text{II.1}$$

- Avec  $L_p$  coefficient de perméabilité de la membrane (l/h.m<sup>2</sup> bar)
- $\mu_p$  viscosité du perméat (Pa.s).
- $\Delta P$  : pression transmembranaire (bar)
- $J_v$  : débit par unité de surface de membrane ( l/h.m<sup>2</sup>).
- $N_p$  : nombre de pores par unité de surface.
- $e$  : épaisseur de la membrane (m).
- $r_p$  : rayon des pores (m)

Dans la pratique, on parle souvent de perméabilité (et non plus de coefficient de perméabilité), pour caractériser le débit de perméat qui traverse la membrane par unité de temps, de pression et d'air. 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 a montré 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".

- **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 observée sur des électrodes polarisées, en électrochimie. Ses conséquences sont en général préjudiciables au transfert de matière ou à la stabilité des milieux traités.

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

Avec les conditions limites suivantes :

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

$$J_v = L_p (\Delta P - \sigma \Delta \Pi) \dots\dots\dots \text{II.3}$$

- $L_p$  : 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-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 :

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

- $C_p$  : concentration du soluté dans le perméat.
- $C$  : concentration du soluté dans la couche limite à l'abscisse  $x$ .
- $D$  : coefficient de diffusion.

Et en faisant 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 cette épaisseur  $\delta$ , l'intégration de l'équation (II.4) conduit à :

$$J_v = \frac{D}{\delta} \text{ Ln } \frac{C_m - C_p}{C_o - C_p} \dots\dots\dots \text{II-5}$$

$C_m$  : concentration à la membrane.

Le rapport  $D/\delta$  est appelé coefficient de transfert de matière, souvent noté  $k$ . Si l'on exprime la concentration en fonction du flux à partir de cette loi, on obtient une relation exponentielle :

$$C_m = C_r \exp \left( \frac{J\delta}{D} \right) \dots\dots\dots \text{II-6}$$

Cette relation montre qu'à travers le coefficient de transfert  $k$ , la concentration de surface est très sensible à la valeur du flux et aux conditions hydrodynamiques. L'effet de l'écoulement

tangentiel 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. , Daufin, 2000).

**Loi de transfert de solvant (loi de la pression osmotique) :**

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 :

$$J_v = \frac{\Delta P - \sigma \Delta \pi}{\mu R_m} \dots\dots\dots \text{II-12.}$$

$\sigma$  : Coefficient de Keddem, déterminé lorsque le flux  $J_v$  est grand et qui traduit le fait qu'un soluté qui n'est pas retenu ( $R_m=0$ ) ne provoque pas de pression osmotique, alors qu'un soluté retenu pleinement ( $R_m=1$ ) développe une pression osmotique complète.

***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 où 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 :

$$R_{obs} = 1 - \frac{C_p}{C_0} \dots\dots\dots \text{II-13}$$

Dans le 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  $C_m$  (Grib, 2002) soit :

$$R_m = 1 - \frac{C_p}{C_m} \dots\dots\dots \text{II-14}$$

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, 1988).

### **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 transport. Elle est conçue de matériaux organiques ou inorganiques (minérales), naturels ou artificiels. Et peut être sous forme rigide ou pas avec ou sans pores. (Grib, 2002). Les premières membranes commercialisées étaient en acétate de cellulose, mais suite à leurs 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, mais qui présentent 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 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. Daufin, 2000).

- **Membranes asymétriques** : membranes composée d'une couche fine (peau) qui assure la sélectivité et d'un support (plus épais) qui assure 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 MODULES D'ULTRAFILTRATION :**

On trouve quatre géométrie principales pour les modules d'ultrafiltration : tubulaire, fibres creuses, plan et spiralées (Maurel , 1989)

- **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 résistant à l'encrassement, les rend parfaitement aptes pour le traitement de liquides contenant un fort taux de solides en suspension et de composés fibreux.

- **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° 4. Les différentes géométries membranaires et quelques-unes de leurs caractéristiques (Audinos, 2000).**

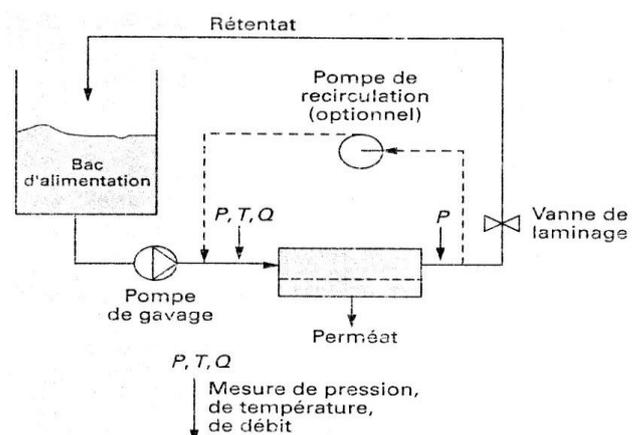
Géométrie et matériau	Rapport aire membranaire/ encombrement	particularités	prétraitement
<b>Plane</b> : sur montage filtre presse. -Polymères et céramiques dans quelques cas.	10 à 100	-Adapté aux pressions faibles. -Séparateurs souvent nécessaire dans les compartiments. -Changement possible membrane par membrane. -Démontage assez aisé -Seule géométrie pour procédés électromembranaires.	Préfiltration nécessaire surtout en cas de séparateurs.
<b>Spiralée</b> : Polymères exclusivement	100 à 1000	-Séparateurs indispensables. -Nettoyage et désinfection difficiles. -Adapté aux pressions moyennes à élevées. -Mal adaptée aux débits de filtration élevés. -Mal adaptée au traitement de suspensions.	Préfiltration indispensable.
<b>Fibres creuses</b> : Polymères surtout et céramiques dans quelques cas	100 à 1000	-Autosupportée : régime laminaire, pression limitée. -Inadapté aux suspensions.	-Préfiltration indispensable. -Ecoulement laminaire.
<b>Tubulaire</b> : -Céramique essentiellement -Quelques cas de polymères	10 à 100	-Autosupportée : régime turbulent la plupart du temps -très adaptée aux hautes pressions, et aux suspensions.	-Préfiltration non nécessaire mais risque d'abrasion si particules dures . -Ecoulement turbulent.

### III-6-MODES DE FONCTIONNEMENT :

L'ultrafiltration s'effectue de quatre manières différentes (Aimar, Daufin , 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,

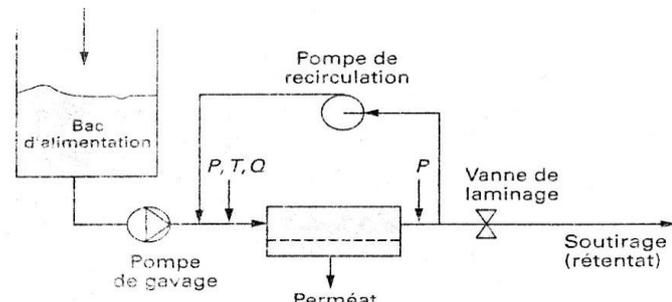


**Figure N° 6 Représentation schématique d'une installation fonctionnant en discontinu, avec recirculation (en pointillé)**

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.

### **III.6.1 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.



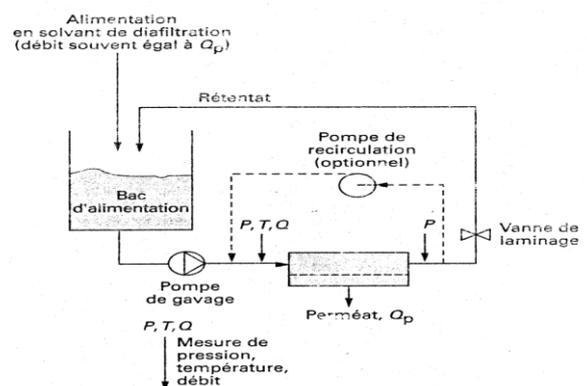
**Figure N° 7. Représentation schématique d'une installation fonctionnant en continu**

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

Une partie de retentât tourne sur le module d'ultrafiltration en 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° 8. Schéma de principe d'un fonctionnement en diafiltration**

### **III-7- MECANISME 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 polarisation de concentration, puis au colmatage.

#### **II-7-1-Principales origines du colmatage :**

On distingue habituellement quatre phénomènes qui peuvent être à l'origine du colmatage des membranes en séparation liquide-solide (Aimar, Daufin , 2000).

**Adsorption** : 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 N et al 1988), (dénaturation dans le cas des protéines).

**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. (Golberg M., Chevrier D., 1979).

#### **III-7-2-Moyens de lutte contre le colmatage :**

Plusieurs solutions sont proposées pour les installations industrielles :

- Ecoulements diphasiques : 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 entraînement dans le courant principal (Laborie et al 1999).

- La réduction de la pression pour diminuer le flux transmembranaire.
- L'utilisation de vitesses élevées, ou de turbulences au niveau des pores membranaires et diminuer ainsi l'épaisseur de la couche limite (Brun, 1989) cité par Abdessemed (1992).

### **III-7-3.Régénération de la membrane :**

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

Parmi les techniques de régénération des membranes, on compte :

- Le nettoyage par contre pression (back flushing) 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 une quantité de 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 (Abdessemed,1992).

- Le nettoyage chimique qui consiste à utiliser, les agents de nettoyage suivants :

Les acides, les bases, les détergents tel que l'hypochlorite de sodium.

Le choix des agents de nettoyage dépend du produit colmatant et de la résistance des matériaux constituant le dispositif d'ultrafiltration (Abdessemed, 1992).

### **III-8-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., Daufin , 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.
- Facilité d'intégration industrielle et fiabilité.
- Respect de l'environnement, réutilisation, gain en matière première.
- Innovations en matière de produits et de procédés.
- Coût compétitif.

### **III-8-1-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), de la concentration de protéines de lactosérum. En effet ; 80% de la production mondiale de fromages frais est aujourd'hui effectuée par ultrafiltration.

La technique de fractionnement, concentration et purification appliquée au lait écrémé, permet de valoriser ces protéines en l'état ou 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) (Balman, 1988)

### **III-8-2-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 sa clarification à l'aide de membranes 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 l'élimination des bactéries et la réutilisation de la saumure, ainsi que pour la concentration des blancs d'œufs et la concentration et déminéralisation de gélatine de porc, d'os et de bœuf (Spinner, 1998).

### **III-8-3-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 procurant des flux élevés, se développent rapidement tel que le jus de canne et sirop de glucose provenant d'hydrolysats de blé (Aptel, 1986).

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-8-4-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, d'autres méthodes de séparation telles que les filtres rotatifs sous vide, en améliorant significativement le rendement de production et réduisant l'intervention d'opérateurs ainsi que les coûts de maintenance ( Balmann, 1988).

#### **III-8-5-Epuration biologique des eaux résiduaires :**

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-8-6-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. , Daufin, 2000).

#### **III-8-7-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. (Abdessemed,1992).

#### **III-8-8-Industrie textile :**

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

#### **III-8-9-Applications médicales et biomédicales :**

Utilisée 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).

# Partie expérimentale

# **Chapitre IV :**

## **Matériels et méthodes.**

## **IV-1- MATERIELS :**

### **IV-1.1.la carapace :**

La carapace utilisée dans notre travail est celle de la crevette *Parapenaeus longirostris*. C'est un crustacé appartenant à la sous classe des malacostracés qui constitue les crustacés supérieurs. *Parapenaeus longirostris* est la seule espèce du genre *Parapenaeus* présente en méditerranée. C'est une crevette de coloration beige plus ou moins nacré. Son rostre, ses pattes et articulations des appendices ainsi que son telson, sont de couleur plus foncée.

Ce crustacé est très répandu sur les cotes algériennes, il est présent en abondance à différentes profondeurs (Nouar et Maurin, 2001). L'affiliation de cette espèce a été confirmée au niveau du laboratoire halieutique de la faculté des sciences biologiques de l'U.S.T.H.B ( Figure VI.1)



**Figure N° 9 : *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846)**

*Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) est classée comme suit :

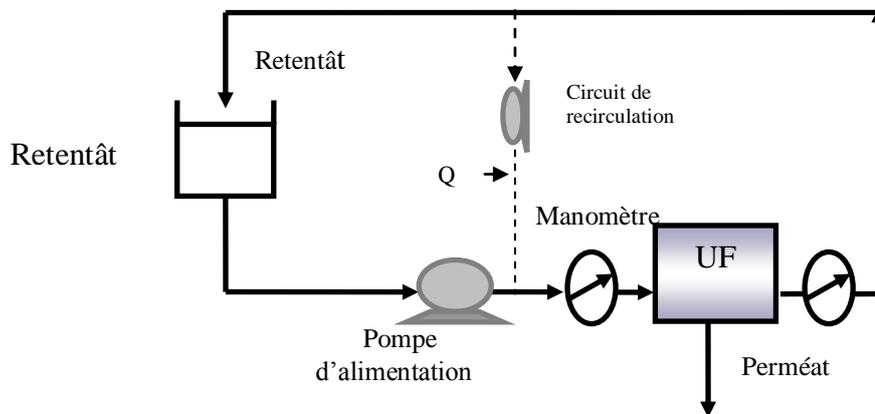
<i>Règne :</i>	<i>métazoaires.</i>
<i>Sous-règne :</i>	<i>eumétazoaires.</i>
<i>Embranchement :</i>	<i>arthropoda.</i>
<i>Sous-embranchement :</i>	<i>mandibulata</i>
<i>Classe :</i>	<i>crustacea</i>
<i>Sous-classe :</i>	<i>malacostraca</i>
<i>Super-ordre :</i>	<i>eucarida</i>
<i>Ordre :</i>	<i>decapoda</i>
<i>Sous-ordre :</i>	<i>natantia</i>
<i>Famille :</i>	<i>penaidae</i>
<i>Genre :</i>	<i>parapenaeus</i>
<i>Espèce :</i>	<i>longirostris</i>

### **IV-1.2.DISPOSITIF EXPERIMENTAL:**

Le dispositif utilisé est un petit module d'ultrafiltration « Carbosep M5 » représenté sur la figure (Au cours de notre travail nous avons utilisé un dispositif d'ultrafiltration monté au niveau du laboratoire de biotechnologies.

L'installation d'ultrafiltration comporte les éléments suivants :

- Une cellule tubulaire d'ultrafiltration.
- Un système d'alimentation fonctionnant à partir d'une pompe doseuse.
- 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.



*Figure N° 10 : Schéma représentatif du dispositif expérimental*

➤ **La membrane :**

Le module est équipé d'une membrane d'ultrafiltration M5 avec un seuil de coupure de 10kDa. Elle est composée d'oxyde ultrafine pore zircon ZrO<sub>2</sub> montée sur un support de carbone poreux.

Cette membrane présente une grande résistance aux radiations, à la chaleur et contraintes mécaniques et chimiques comprises entre 0-80°C, pH 1-14 et 0-8 bar

Le module utilisé est de géométrie mono tubulaire de surface active égale à 0.012m<sup>2</sup> avec des diamètres interne et externe respectivement de 6 et 10 mm. D'une longueur de 50 cm.

Le module est relié à deux manomètre de précision 0.05 bar. L'un correspond à la pression à l'entrée du module, l'autre à la pression de sortie. Ces deux pressions nous permettent de calculer la pression transmembranaire  $\Delta P$  tel que :

$$\Delta P = \frac{P1 + P2}{2}$$

## **IV-2-METHODES :**

### **IV.2.1. Préparation de la carapace de crevette :**

La préparation de la carapace de crevette pour notre travail a été réalisée comme suit :

Les carapaces de la crevette blanche sont d'abord débarrassées des pattes et antennes, lavées puis bouillies dans de l'eau pendant une (1) heure. Elles sont, ensuite séchées à l'étuve à une température de 160°C (Mukherjee, 2001). Puis réduites en poudres à l'aide d'un moulin à café et conservées.

### **IV.2.2.Optimisation des conditions opératoires pour la préparation de la chitine :**

#### **IV.2.2.1.La déminéralisation :**

Nous avons optimisé les paramètres suivants :

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

Les essais sont réalisés à température ambiante ( $\approx 20^\circ\text{C}$ ) en fixant deux paramètres et faisant varier le troisième.

La déminéralisation est observée par l'effervescence produite, et déterminée par la mesure de taux de cendres (Meyers et *al.*, 1989).

- **Mesure du taux de déminéralisation :**

La poudre de carapace est pesée (1g) dans un creuset puis incinérée au four à moufles à 600°C pendant 6h. Elle est refroidie puis pesée, on estime donc le taux de minéraux restant (taux de cendres) qu'on rapporte au taux de minéraux initial (avant traitement). On détermine, ainsi, le taux de déminéralisation. (Meyers et *al.*, 1989).

Taux de déminéralisation (%) : 
$$\frac{\text{taux de cendres initial} - \text{taux de cendres de l'échantillon}}{\text{taux de cendres initial}} * 100$$

- **Calcul de taux de cendres initial :**

Mettre 1g de poudre de carapace sans traitement dans un creuset et on l'incinère dans un four à moufles à 600°C pendant 6h. Ensuite, elle est refroidie dans un dessiccateur et pesée. Le poids restant correspond au taux de minéraux initial.

#### IV.2.2.2. 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

Nous réalisons les réactions en fixant trois paramètres et faisant varier le quatrième.

On apprécie le taux de déprotéinisation 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).

Les deux réactions (déminéralisation et déprotéinisation) sont suivies par une étape de lavage à l'eau courante jusqu'à pH neutre puis séchage à l'étuve à 110°C. Il faut également s'assurer que les réactions sont menées sous agitation constante.

- **Dosage des protéines : méthode de BIURET**

##### **Principe :**

La méthode au Biuret est une méthode de dosage colorimétrique dont le principe est basé sur : En milieu alcalin, les composés contenant au moins deux groupement  $-\text{CO}-\text{NH}-$  ou  $-\text{CO}-\text{N}-\text{H}_2-$  voisins forment avec les ions cuivrique ( $\text{Cu}^{2+}$ ) un complexe bleu violet l'intensité de la coloration est proportionnelle au nombre de liaisons peptidiques selon la loi de BEER LAMBERT. Donc pour une protéine pure, elle est proportionnelle à sa concentration. Toutefois on doit rester dans la marge de validité de cette loi ; ceci dit, la concentration ne doit pas excéder 10mg/l.

- **Mesure du taux de déprotéinisation :**

Après avoir mesuré les taux de protéines dans tous les échantillons à chaque optimisation, on rapporte le résultat au taux de protéines initial :

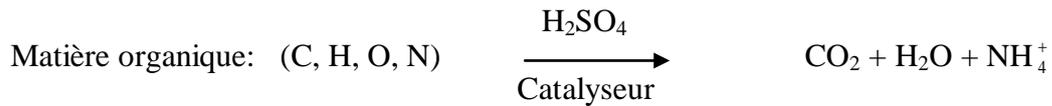
$$\text{Taux de déprotéinisation (\%)} = \frac{\text{Masse de protéines de l'échantillon}}{\text{masse de protéines initiale}} * 100$$

Le taux de protéines initial est calculé à l'aide de la méthode **Kjeldahl**.

- **Mesure de l'azote total par la méthode 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. Le dosage de l'azote dans la carapace, nous permet de calculer le taux de protéines et par conséquent estimer le pourcentage de déprotéinisation de la carapace après traitement. Elle s'effectue comme suit :

**1-Minéralisation** : on minéralise les matières organiques contenues dans la prise d'essai par action d'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 la 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. (Audigié, 1984).

## 3-Calcul et expression des résultats :

L'azote total est calculé par :

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

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

$$N_{\text{protéique}} = N_t - N(\text{chitine})$$

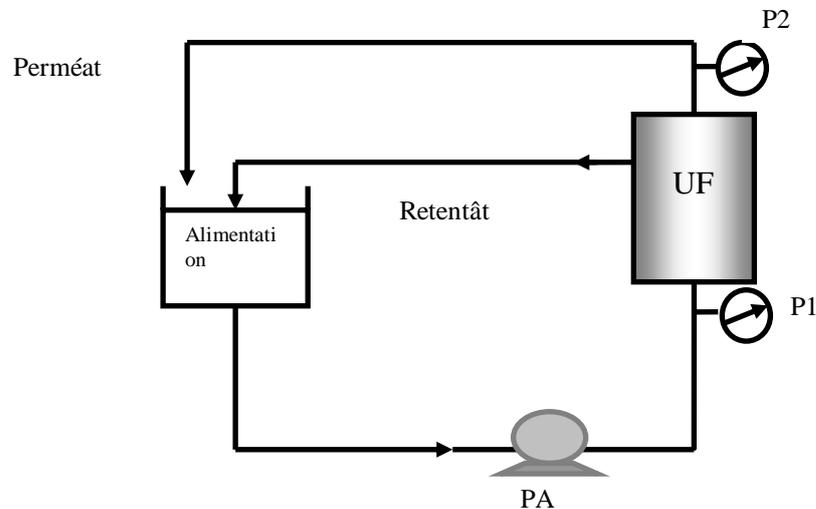
Finalement la teneur en matière azotée protéique se calcule par :

$$\text{Teneur en protéine} = N_{\text{protéique}} \times 6.25. \text{ (AFNOR, 1982).}$$

### IV.2.3.Ultrafiltration:

#### IV.2.3.1-Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane avant usage :

Elle est réalisée avec de l'eau déminéralisée en mode statique ; c'est-à-dire : diriger les sorties concentrât et perméat sur la cuve d'alimentation comme le montre le schéma suivant :



*Figure N° 11 : Fonctionnement du dispositif d'ultrafiltration en mode statique.*

Mettre en marche la pompe d'alimentation, et pour chaque  $\Delta P$  fixée on effectue un empotage (noter le temps  $t$  nécessaire pour récupérer un volume  $V$ ) pour le calcul du débit  $J_v$ . Ensuite tracer la courbe  $J_v = f(\Delta P)$ .

$$\Delta P = \frac{P1 + P2}{2} .$$

$P1$  et  $P2$  sont respectivement les pressions en amont et en aval du module d'ultrafiltration.

#### IV.2.3.2- Influence de la pression sur le flux de Perméat :

Pour cela on remplit le bac d'alimentation avec de l'eau protéique (eau de lavage de la carapace). On met en marche la pompe. Pour chaque  $\Delta P$  fixée on effectue un empotage comme précédemment et on calcule  $J_v$ .

#### IV.2.3.3.Essai de concentration :

L'essai de concentration s'est déroulé comme suit :

On met le dispositif en fonctionnement discontinu ; c'est-à-dire on récupère le concentrât et le perméat dans des cuves séparées. On suit les étapes suivantes :

- Remplir la cuve d'alimentation de la solution protéique.
- Démarrer la pompe d'alimentation.

- Fixer la pression transmembranaire optimale.
- Recycler le perméat et le concentrât sur le bac d'alimentation pendant 15 min.
- Retirer la sortie du perméat et la mettre à part
- Effectuer des empotages à différents instants pour déterminer le flux de perméat.
- Recueillir simultanément des échantillons de perméat et de concentrât pour suivre l'évolution de leur concentration en protéine afin de déterminer le taux de rejet (R) et le facteur de concentration.
- Faire la mesure de la DCO à chaque échantillon du perméat et suivre le taux d'abattement de la DCO au cours du temps.

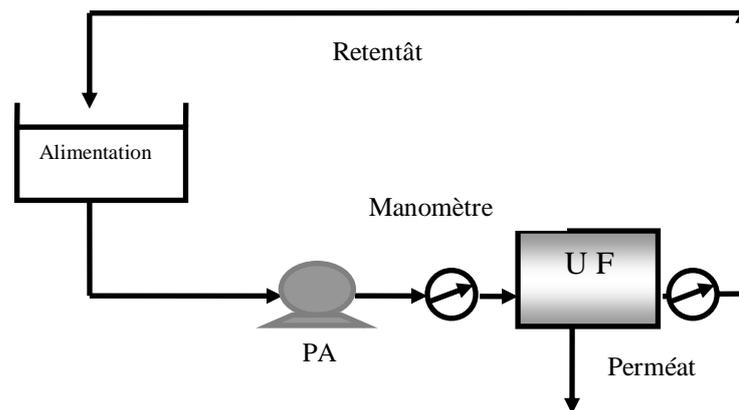


Figure N° 12 : Fonctionnement du dispositif d'ultrafiltration en discontinu sans recirculation

#### IV.2.3.4. Essai de concentration avec recirculation

- **Influence de recirculation sur l'efficacité de l'ultrafiltration:**

Pour voir l'effet de recirculation sur les performances de l'ultrafiltration on refait l'essai de concentration comme expliqué précédemment et on recircule une partie du retentât à l'aide d'une pompe centrifuge du type (ND100 KT.23.18) et d'un débitmètre comme le montre le schéma suivant :

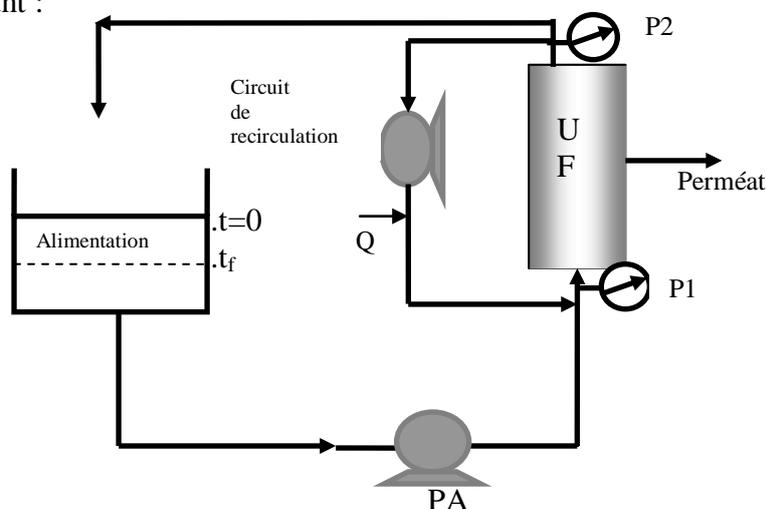


Figure N° 13: Fonctionnement du dispositif d'ultrafiltration en discontinu avec recirculation

Avant de faire l'essai de concentration ; on doit d'abord déterminer la vitesse optimale de recirculation qui nous permet d'avoir un meilleur flux de perméat et ceci selon les étapes suivantes :

- Remplir la cuve d'alimentation de la solution protéique.
- démarrer la pompe d'alimentation.
- fixer un débit à l'aide de la pompe de recirculation.
- faire varier la pression transmembranaire ( $\Delta P$ )
- faire un empotage pour chaque  $\Delta P$  pour le calcul du flux de perméat  $J_v$ .
- faire varier le débit et refaire les mêmes étapes.

Une fois que le débit optimal (donc vitesse de recirculation) est fixé on passe à l'essai de concentration avec recirculation, en suivant les mêmes étapes que pour l'essai sans recirculation.

#### **IV.2.3.5. Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane après ultrafiltration :**

Après vidange de l'installation, on procède au calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane. Le mode opératoire est identique à celui décrit lors du calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane avant usage.

#### **IV.2.3.6. Régénération de la membrane :**

Selon Aimar et Daufin (2000), l'adsorption peut être très importante dans le cas des protéines, même à faible concentration, en supposant un mécanisme de rejet lié à l'encombrement stérique. (Zeman cité par (Abdessemed, 1992).

Une régénération de la membrane est nécessaire avant chaque essai d'ultrafiltration, selon le protocole détaillé en annexe.

# **Chapitre V :**

## **Résultats et discussions**

## **V.1.PREPARATION DE LA CHITINE :**

### **V.1.1.Caractérisation de la carapace utilisée:**

Les analyses physico-chimiques de la poudre de carapace *Parapenaeus longirostris* ont porté sur la détermination des taux de protéines et de minéraux ainsi que du pH. Les résultats obtenus nous donnent les valeurs suivantes :

- Chitine : 22.18 % M.S.
- Protéines libres et liés : 21.6%. M.S.
- Minéraux (cendres) : 51%. M.S.
- Humidité : 2.25 %.
- Lipides et autres : 2.97 % M.S.

Pour les valeurs relevées du pH de la carapace de la crevette, elles confèrent un caractère légèrement basique (entre 8-9). D'ailleurs c'est ces mêmes valeurs qui ont été relevées par différents auteurs (Gagné, 1993. Gildberg, 2000)

La carapace contient un taux de minéraux 51% M.S. Ce taux peut être considéré comme très élevé et ce par rapport aux taux trouvés par Arbia (2006) (35.5% M.S.) pour la même espèce et à celui trouvé chez la crevette tropicale (18-23%M.S.) (Gagné, 1993) ou chez les crabes rouges (41.2%M.S.) (Jung et *al.*, 2005).

La poudre de carapace étudiée renferme un taux de protéines de l'ordre de 21% M.S. qui est largement inférieur à celui trouvé par Salah (2005) 40.6% M.S. Ce taux est de 30-40% M.S. chez la crevette tropicale et de 22.4% M.S chez les crabes rouges (Jung et *a.*, 2005).

Ces fluctuations peuvent être expliquées par diverses raisons tel que la différence de saison ou de l'endroit de pêche comme cité par (Poirier, 2000).

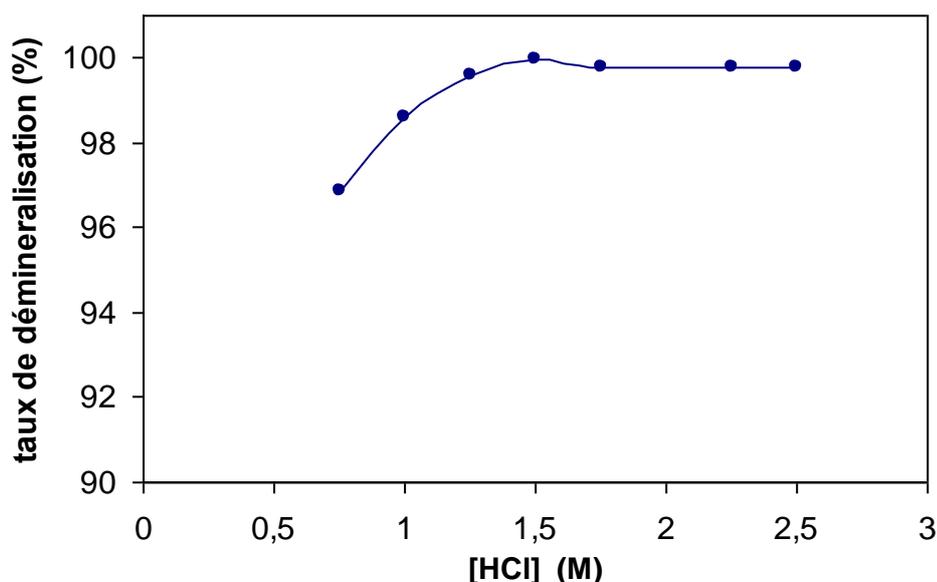
### **V.1.2 Optimisation de la déminéralisation :**

L'étape de la déminéralisation est très importante pour l'obtention de la chitine. Pour se faire, nous utilisons un agent hydrolysant qui est l'acide chlorhydrique HCl. Quoique plus cher que l'acide sulfurique; le choix fut porté sur lui, étant donné que selon la littérature, on obtient de meilleur taux de déminéralisation.

#### **V.1.2.1 Optimisation de la concentration en acide chlorhydrique :**

Les paramètres suivants sont maintenus constants : le poids de la carapace est 1g, la température est ambiante (~20°C) la durée de réaction est 2 heures, le volume en acide chlorhydrique est 15 ml. On fait varier la concentration d'acide chlorhydrique HCl de 0M jusqu'à 3M.

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



**Figure N° 14 : Influence de la concentration en acide chlorhydrique sur le taux de déminéralisation**, Poids de la carapace= 1g, temps de réaction = 2h, T= 20°C. volume HCl= 15ml.

Le taux de déminéralisation obtenu est très important et a des répercussions sur la qualité du produit final, des variations minimales sur le taux de déminéralisation peuvent engendrer une dégradation de la qualité du produit final (Mukherjee, 2001)

Ce qui explique l'allure de la courbe ci-dessus : à des concentrations 0,7 M on obtient des taux de déminéralisation >à 96 %, ce qui prime abord peut paraître intéressant mais pas tout à fait satisfaisant, de ce fait, nous avons tenu à avoir des taux de déminéralisation de la carapace lors de la préparation de la chitine, proche de 100%

D'après la courbe de la figure V.1, nous constatons que pour des concentrations en HCl allant de 0,5 à 1M le taux de déminéralisation augmente linéairement. Nous avons enregistré un taux de déminéralisation de 99,8 % à 1,5M de HCl. Au delà de cette valeur l'amélioration apportée sur le taux de déminéralisation n'est guère perceptible.

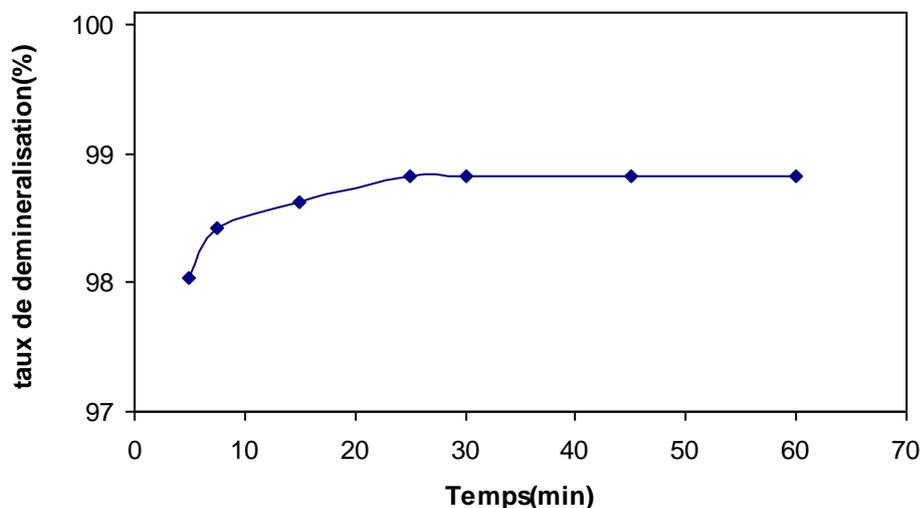
Ce qui nous amène à adopter une concentration en acide HCl de 1,5 M comme concentration de travail et que nous adoptons d'ailleurs pour la suite des expériences.

#### **V.1.2.2 Influence de la durée de traitement sur le taux de déminéralisation**

Une fois que la teneur en acide chlorhydrique est optimisée, nous allons étudier l'influence de la durée du traitement de déminéralisation sur le taux de conversion, pour cela nous avons mené cette série d'expériences sous les conditions suivantes :

Poids de carapace est 1g, la température est ambiante ( $\sim 20^{\circ}\text{C}$ ), le volume d'acide chlorhydrique est 15ml et de concentration 1.5 M. Nous faisons varier le temps de réaction, et nous suivons, au fur et à mesure, l'évolution du taux de déminéralisation.

Les résultats sont représentés sur la figure N° 15



**Figure N° 15 : Influence de la durée de réaction sur le taux de déminéralisation**

*Poids de la carapace = 1g,  $T = 20^{\circ}\text{C}$ ,  $[\text{HCl}] = 1.5 \text{ M}$ , volume HCl = 15ml.*

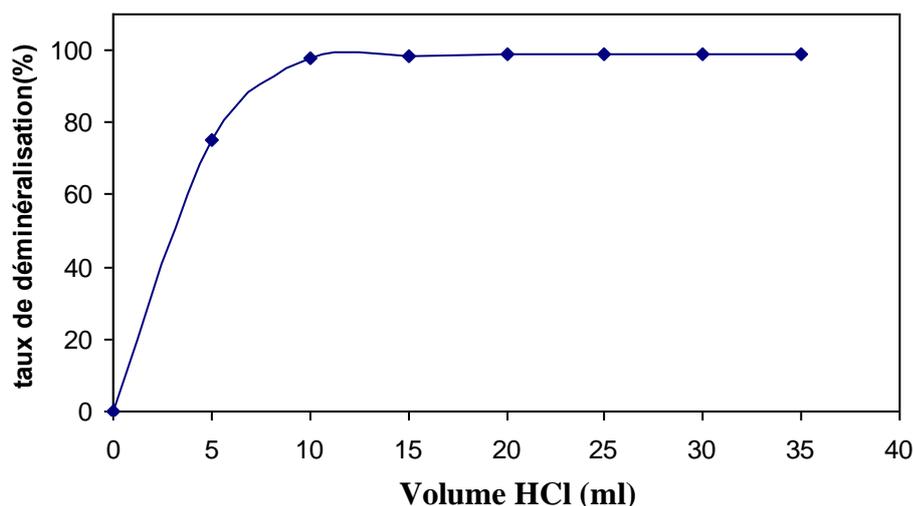
Nous remarquons sur la courbe que la réaction de déminéralisation est une réaction rapide. En effet on obtient un taux de déminéralisation de 98% au bout de 5min de réaction. Le taux de déminéralisation maximal 98.8% est atteint au bout de 25min. Des temps de réaction plus longs n'apporteraient pas d'amélioration.

En tenant compte d'une marge de sécurité temporelle, nous retiendrons le temps de 30 min comme étant le temps de déminéralisation à l'acide chlorhydrique.

### V.1.2.3 Optimisation du volume d'acide chlorhydrique :

Dans cette série d'essais, nous étudions l'influence du volume d'acide chlorhydrique ajouté sur le taux de déminéralisation de la carapace obtenu. Pour ce faire, nous avons maintenu constants les paramètres: le poids de la carapace : 1g, la température est ambiante ( $\sim 20^{\circ}\text{C}$ ) la durée de réaction : 30min, une concentration d'acide chlorhydrique HCl de 1.5 M dont on fait varier le volume de 0 à 40ml.

Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 16.



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

Poids de carapace = 1g. T= 20°C. Durée de réaction = 30 min. [HCl]= 1.5 M

Il apparaît d'après la figure qu'un volume de 15 ml d'HCl à 1.5 M est suffisant pour éliminer la partie minérale. Donc un rapport de (1 g/15 ml) (poids de carapace /volume).

Dans le tableau N° 5 nous résumons les conditions optimales de déminéralisation retenues.

**Tableau N° 5 : Les conditions optimales de déminéralisation**

Température (°C)	Concentration en HCl (M)	Temps (min)	Ratio (poids/volume)
Ambiante (20°C)	1.5	30	1/15

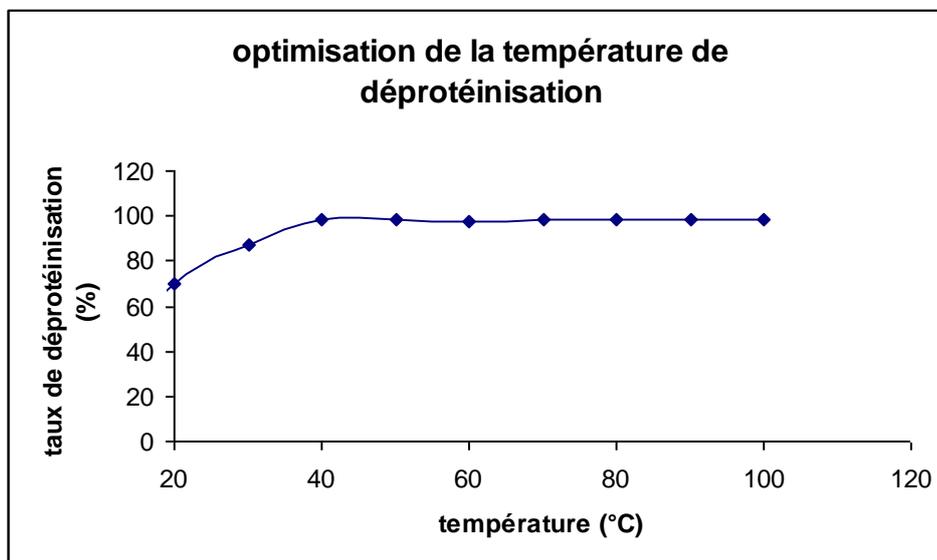
### **V.1.3.Optimisation des paramètres de la déprotéinisation :**

Rappelons que la chitine provenant des carapaces de crustacés se présente sous forme de complexes protéiques. La déprotéinisation de celle-ci est indispensable (Meyers et al,1989). La présence de liaisons covalentes chitine-protéines demande généralement des processus de déprotéinisation sévères qui font appel à l'usage de bases fortes sous hautes températures.

En ce qui concerne notre travail, nous avons opté pour l'utilisation de la soude NaOH pour des raisons économiques (la soude est bon marché par rapport aux autres bases).

### V1.3.1 Influence de la température de réaction sur la déprotéinisation :

Les paramètres suivants sont maintenus constants : le poids de la carapace est 1g, le volume d'hydroxyde de sodium NaOH est 20ml et de concentration 2N. Le temps de réaction est 2 heures, nous faisons varier la température de réaction de 20°C à 100°C et nous suivons l'évolution du taux de déprotéinisation. Les résultats obtenus sont illustrés figure 17.



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

Poids de la carapace= 1g. Temps de réaction =2h. [NaOH] = 2N. V NaOH =20ml.

Les résultats obtenus nous révèlent que la température a une influence considérable sur le taux de déprotéinisation et qu'une température minimale de 40 °C est nécessaire pour avoir une déprotéinisation quasi complète de la carapace.

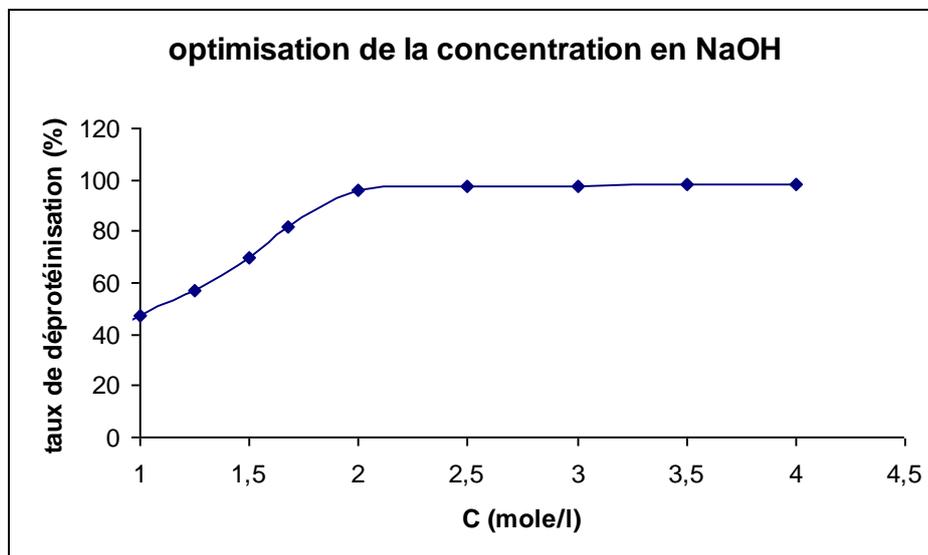
Il est à noter qu'à la température ambiante  $T= 20^{\circ}\text{C}$  , le taux de déprotéinisation ne dépasse pas 70 % et aussi que des températures supérieures à 40 °C ne sont pas nécessaires, même à déconseiller pour des raisons évidentes d'énergie.

La suite de nos expériences sera, donc menée sous une température de 40°C.

### V.1.3.2 Optimisation de la concentration en hydroxyde de sodium :

Nous avons mené les essais sous les conditions suivantes : Le poids de la carapace est 1g, la température est à 40°C, le volume de la soude est 20ml et le temps de réaction est 2heures.

Nous suivons l'évolution du taux de déprotéinisation en fonction de la concentration de la soude NaOH. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 18.



**Figure N° 18 : Influence de la concentration de soude sur la déprotéinisation**  
 Poids de la carapace= 1g. Temps de réaction =2h. T= 40°C. V NaOH =20ml.

D'après la courbe, nous constatons qu'on a un taux de déprotéinisation de 50 % pour une solution de soude NaOH 1N, cette valeur augmente avec la concentration pour atteindre un maximum 98 % pour une concentration 2N. Ce taux réalisé reste constant pour des concentrations plus élevées.

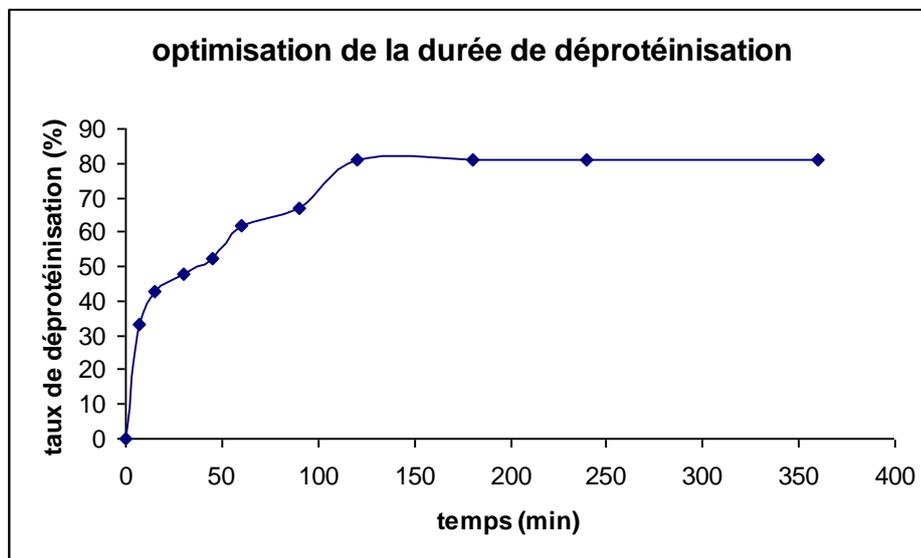
Pour les manipulations à suivre, la solution de NaOH choisie sera de teneur 2N.

### V.1.3.3 Optimisation de la durée de déprotéinisation :

Les paramètres suivants sont maintenus constants : le poids de la carapace est de 1g, la température (40°C), le volume d'hydroxyde de sodium est de 15 ml et de concentration 2N. On fait varier le temps de réaction de 0 jusqu'à 6h. Les résultats sont représentés sur la figure 19

Les résultats montrent que le taux de déprotéinisation augmente avec le temps jusqu'à l'obtention d'un palier à un maximum de 80 % qui correspond à un temps de traitement minimal d'une durée de 2heures. Un traitement plus long s'avérerait inefficace.

Ceci fait, pour la suite de notre travail nous maintiendrons les réactions durant 2heures.

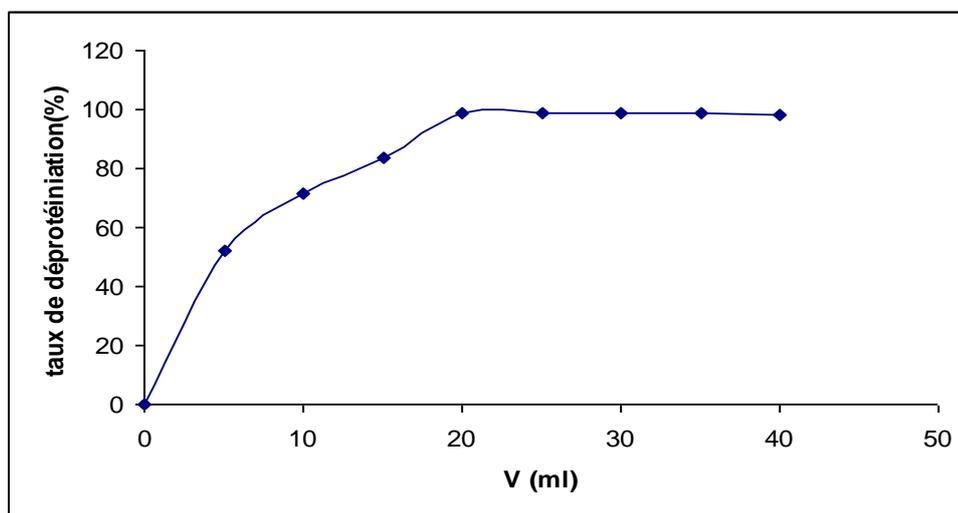


**Figure N°19 : Influence du temps de réaction sur la de déprotéinisation**

Poids de la carapace= 1g. T= 40°C. V NaOH =20ml. [NaOH]= 2N.

#### **V.1.3.4 Optimisation du volume d'hydroxyde de sodium :**

Pour se faire, nous avons travaillé sous les conditions opératoires suivantes: le poids de la carapace est 1g, la température (40°C), la concentration en hydroxyde de sodium est 2N, le temps de réaction est 2 h .On fait varier le volume de soude de 5 à 40 ml, et nous suivons l'évolution du taux de déprotéinisation. Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure 20.



**Figure N°20: Influence du rapport poids de carapace (g)/ volume d'NaOH sur la déprotéinisation ;**

Poids de la carapace= 1g. T= 40°C. [NaOH]= 2N. Temps de réaction= 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 20ml. Au delà de ce volume, nous observons un palier.

Dans le tableau N° 6 nous résumons les conditions optimales de déprotéinisation retenus :

**Tableau N° 6 : Les conditions optimales de déprotéinisation**

Température (°C)	Concentration en NaOH(N)	Temps (min)	Rapport poids (g)/volume (ml)
40	2	120	1/20

L'optimum de la déminéralisation des carapaces de la crevette de *Parapenaeus longirostris* est obtenu en utilisant un ratio 1/15 (g/ml) d'HCl à 1.5 N à la température ambiante (20 °C) sous une agitation moyenne (250 rpm) constante durant une demi heure de traitement.

Ces résultats corroborent avec ceux trouvés par Salah (2005) au laboratoire de biotechnologie de l'ENP avec la carapace de la crevette de *Parpenaeus longirostris*. En effet ; elle a trouvé que l'optimum de la déminéralisation est atteint en utilisant un rapport 1 g/15ml d'HCl à 1.5N à la température ambiante (25°C) pendant une heure de traitement.

Gagné (1993) a travaillé, lui aussi, sur l'extraction de la chitine à partir des carapaces de la crevette *Pandalus borealis* et a mis en évidence que l'optimum de la déminéralisation est situé à la température de 25°C pendant une durée de traitement de 12 heures avec l'acide HCl à 1.75 N et un rapport de poids/volume de 1/15. Par contre, Chang et Tsai (1997) qui ont extrait la chitine à partir de carapaces de la crevette rose *Solenocera melantho* ont obtenu l'optimum de la déminéralisation en utilisant un rapport de 1/9 d'HCl à 1.7 N à température ambiante. Ceci indique que les caractéristiques de la chitine diffèrent d'une espèce à une autre. La structure minérale de la crevette blanche *Parpenaeus longirostris* est différente de celle de crevette rose *Solenocera melanthoou* et celle de la crevette *Pandalus borealis*.

En ce qui concerne la déprotéinisation de la carapace de *Parpenaeus longirostris* ; l'optimum est atteint en utilisant un rapport de 1/20 de solution d'NaOH 2N sous une température de 40°C pendant 2heures de traitement. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Salah (2005). Elle a trouvé que l'optimum de la déprotéinisation est atteint en utilisant un rapport de 1/20 de NaOH 2M à 45°C pendant 2 heures. Par contre ; ils sont différents de ce qu'a trouvé Meyers *et al.* (1989) qui ont extrait la chitine à partir de la langouste en utilisant un rapport de 1/10 de NaOH à 3.5 % sous une température de 65°C pendant 2heures. Chang et Tsai (1997) ont déterminé les conditions optimales de déprotéinisation : un rapport de 1/5 de NaOH 2.5N et une température 75°C.

Les caractéristiques de la matière première (carapace de crustacés) utilisée pour la production de chitine peuvent influencer considérablement les propriétés fonctionnelles du produit résultant. Les différences de constitution de chaque espèce, mais aussi de la période annuelle où l'espèce est pêchée, sont des facteurs importants qui peuvent occasionner des variations au niveau de la reproductibilité dans un processus de production (Poirier, 2000). Les propriétés fonctionnelles de la chitine sont souvent reliées à la masse moléculaire et peuvent être affectées par la présence d'impuretés (Poirier, 2000). Il est donc nécessaire que chaque procédé de production soit ajustable selon les caractéristiques de la matière première utilisée.

## **V-2. PROCEDE D'ULTRAFILTRATION :**

Comme nous l'avons si bien confirmé précédemment ; la préparation de la chitine à partir des carapaces de crevettes génère des eaux de lavage chargées en protéines. Nous rappelons que l'objectif essentiel de notre étude, est la récupération et la concentration de ces protéines pour la préservation de l'environnement et pour une éventuelle valorisation.

Pour se faire, nous avons fait appel à une technique membranaire qui est l'ultrafiltration, et ce pour des raisons techniques.

Dans cette partie, nous avons essayé de trouver les conditions dynamiques optimales (pression transmembranaire et vitesse de recirculation) pour un fonctionnement efficace de l'ultrafiltration. En premier lieu, nous débutons nos expériences par le calcul de la perméabilité au solvant de la membrane avant usage. Cette perméabilité jouera le rôle de référence le long de notre étude. Ensuite nous procéderons à l'étude de l'effet de la pression transmembranaire (courbe de polarisation) et celui de la vitesse de recirculation sur le flux de perméat. Ceci fait, nous réaliserons l'essai de concentration, avec et sans recirculation, et nous comparerons les résultats.

### **V.2.1.Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane avant usage:**

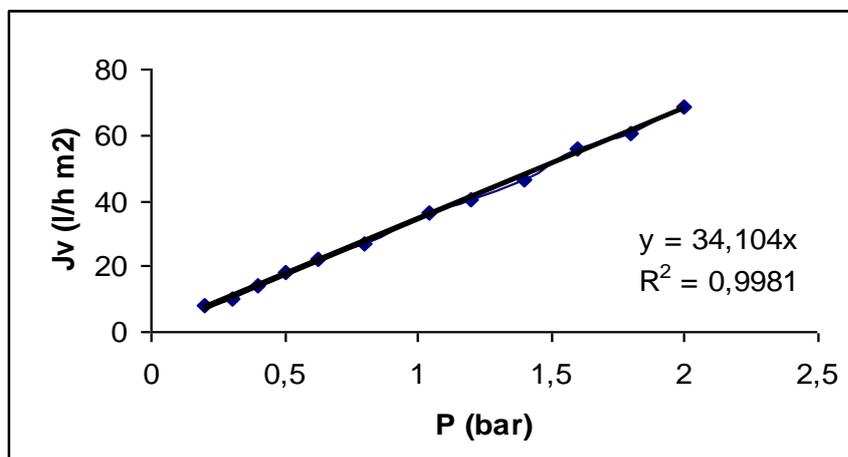
Le calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane, se résume au calcul de la variation du flux de perméat en fonction de la pression transmembranaire appliquée. Le résultat est représenté sur la figure 21. Le calcul de cette perméabilité étant fait à température  $T=20^{\circ}\text{C}$

Le flux de Perméat  $J_v$  est calculé à l'aide de la formule

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

A est la surface active de la membrane  $0.012 \text{ m}^2$

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



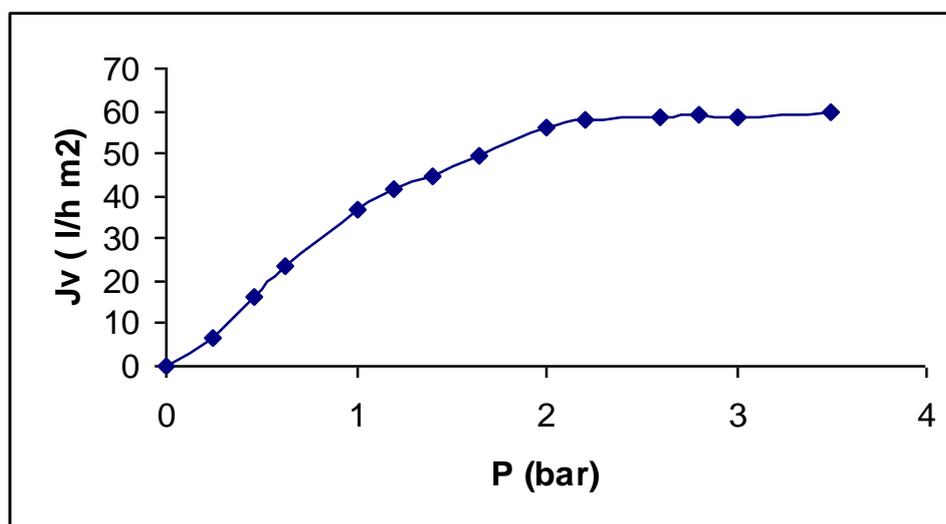
**Figure N° 21 : Perméabilité à l'eau de la membrane avant usage**

La perméabilité initiale à l'eau de la membrane avant usage est de 34.104 l/h m<sup>2</sup> bar. La variation du flux de perméat Jv en fonction de la pression transmembranaire  $\Delta P$  obéit donc à l'équation de Darcy (équation II-1).

### **V.2.2. Influence de la pression sur le flux de Perméat :**

Pour minimiser les erreurs lors de la réalisation de cette étape on doit travailler 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.

Les résultats des expériences sont représentés sur la figure 22.



**Figure N° 22 : Courbe de polarisation de la membrane M5.**

Nous pouvons déduire que la variation du flux de perméat Jv est pratiquement proportionnelle a la pression transmembranaire lorsqu'on travail à une  $\Delta P=1.8$ bars. Au delà de celle-ci, le flux devient indépendant de la pression et tend vers une valeur limite.

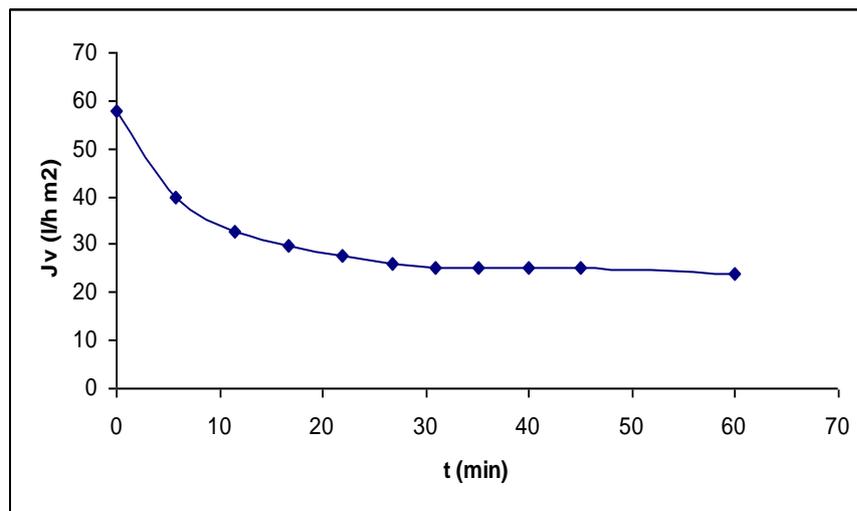
Ceci indique qu'il y a apparition du phénomène de polarisation de concentration à partir de cette pression. (Belhocine et al., 2000).

Ceci dit ; notre choix de pression de travail est porté sur une pression transmembranaire  $\Delta P=1.8$  bars.

### **V.2.3.Essai de concentration des protéines sans recirculation :**

Après avoir fixé les conditions opératoires optimales d'ultrafiltration  $\Delta P= 1.8$  bars, pour une concentration initiale en protéine de 0.54g/l, une température de 20 °C et pH =7.

L'expérience est détaillée au chapitre matériels et méthodes. Les résultats sont représentés sur la courbe suivante:

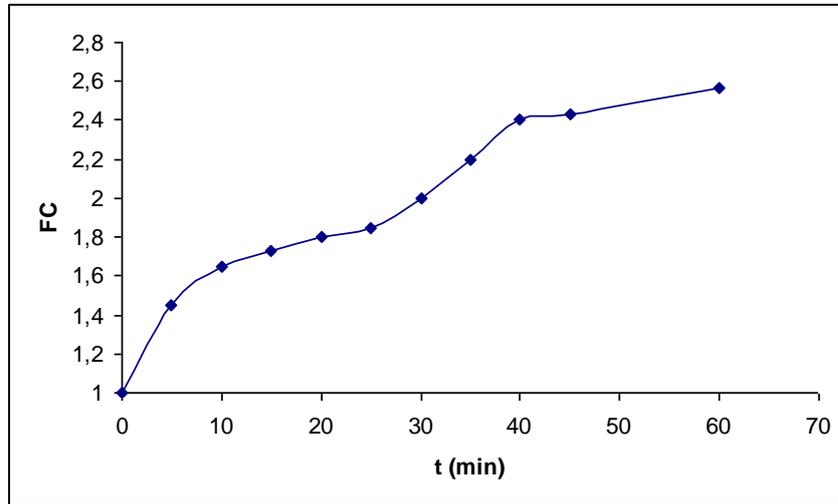


**Figure N° 23 : Variation du flux du perméat en fonction du temps**

Dès le début de l'essai, on observe une diminution progressive du flux de perméat, celui-ci passe de 58 l/h m<sup>2</sup> au début, pour atteindre 24 l/h m<sup>2</sup> à la fin de l'expérience; c'est-à-dire après 60 minutes.

La décroissance du flux de perméat se fait simultanément au phénomène de formation d'une couche de polarisation de concentration sur la membrane. Au bout de 30 minutes cette décroissance ralentit et le flux devient relativement stationnaire. Ceci peut s'expliquer par le fait que cette couche de polarisation atteint une certaine épaisseur puis se stabilise (Mameri, 1988). La décroissance du flux de perméat est une conséquence principale du phénomène d'adsorption.(Belhocine et al., 2000).

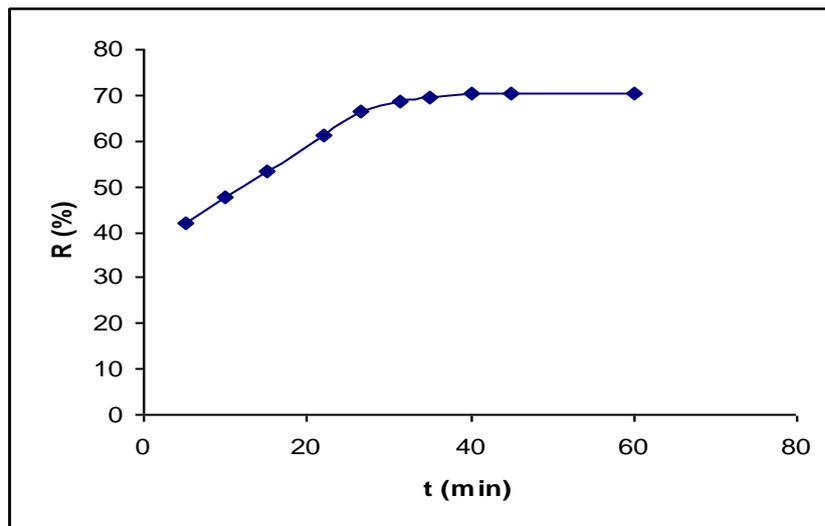
La figure 24 représente l'évolution du facteur de concentration en fonction du temps d'ultrafiltration.



**Figure N° 24 : Variation du facteur de concentration en fonction du temps.**

Nous avons pu doubler la concentration du retentât ( $FC = 2$ ) dans la cuve d'alimentation au bout de 45 minutes d'ultrafiltration.

Pour estimer la sélectivité et l'efficacité de la membrane nous avons étudié l'évolution du taux de rejet en fonction du temps. Les résultats sont repris sur la figure (25).



**Figure N° 25 : Evolution du taux de rejet en fonction du temps**

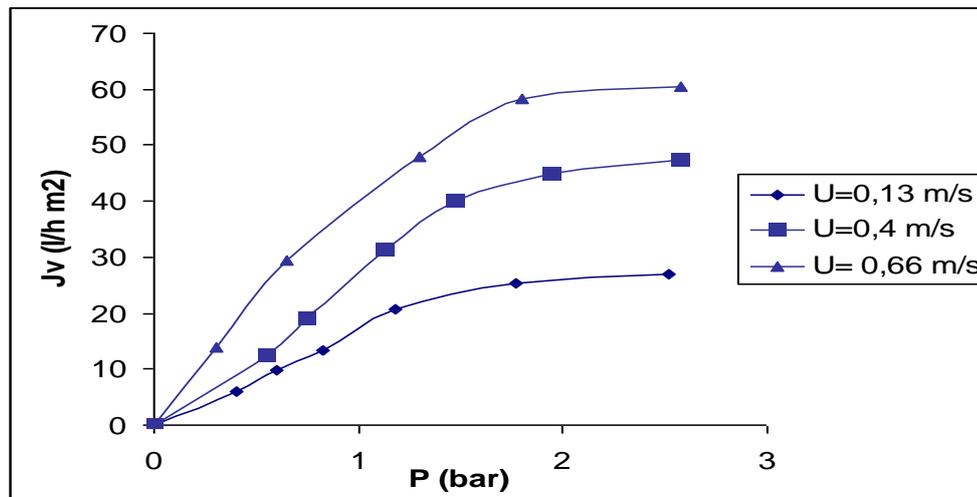
Le taux de rejet observé augmente progressivement avec le temps d'ultrafiltration pour atteindre une valeur de 68 % au bout de 30 min. Puis nous remarquons que celui-ci tend vers une valeur limite qui est de 70.5 % jusqu'à la fin de notre expérience. Ceci peut s'expliquer par la réduction du diamètre des pores de la membrane due à la formation de la couche de polarisation dont on a présupposé l'existence précédemment.

En effet, à la porosité de la membrane se superpose celle de la couche adsorbée. Nous constatons également que le temps  $t=30\text{mn}$  représente, apparemment la fin du régime transitoire durant lequel a lieu le phénomène de polarisation de concentration.

#### **V.2.4. Influence de la recirculation sur l'efficacité de l'ultrafiltration:**

Pour montrer l'effet de la recirculation sur l'efficacité de l'ultrafiltration nous devons d'abord fixer une vitesse de recirculation optimale qui donnera un meilleur flux de perméat  $J_v$ .

Les courbes de variations du flux de perméat  $J_v$  en fonction de la pression transmembranaire  $\Delta P$  pour différentes vitesses de recirculation 0.13 m/s, 0.4 m/s, et 0.66 m/s sont représentées sur la figure 26.



**Figure N° 26 : Influence de la vitesse de recirculation et de la pression transmembranaire sur le flux de perméat**

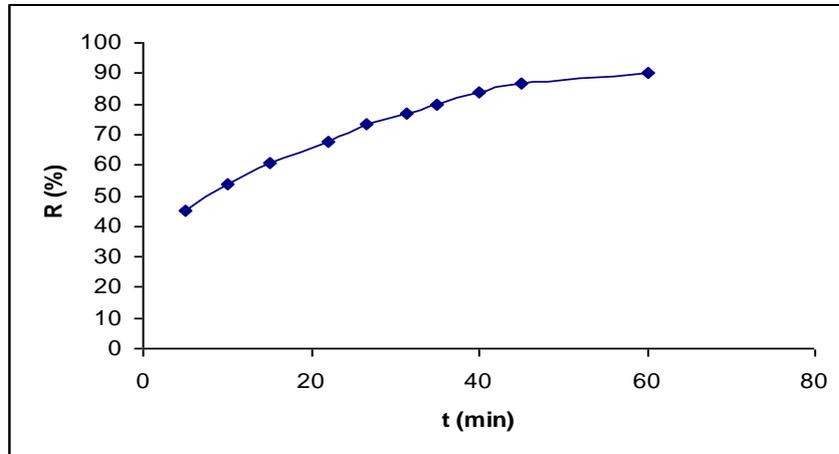
L'analyse de la figure, conduit aux interprétations suivantes:

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 bar. 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 bar.

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.

### **V.2.5.Essai de concentration avec recirculation :**

Nous menons l'expérience de l'essai de concentration comme précédemment mais cette fois-ci en recirculant une partie du retentât à une vitesse de 0.66m/s et une  $\Delta P= 1.8$  bar. La figure suivante montre l'évolution du taux de rejet en fonction du temps pour une vitesse de recirculation égale à 0.66m/s.

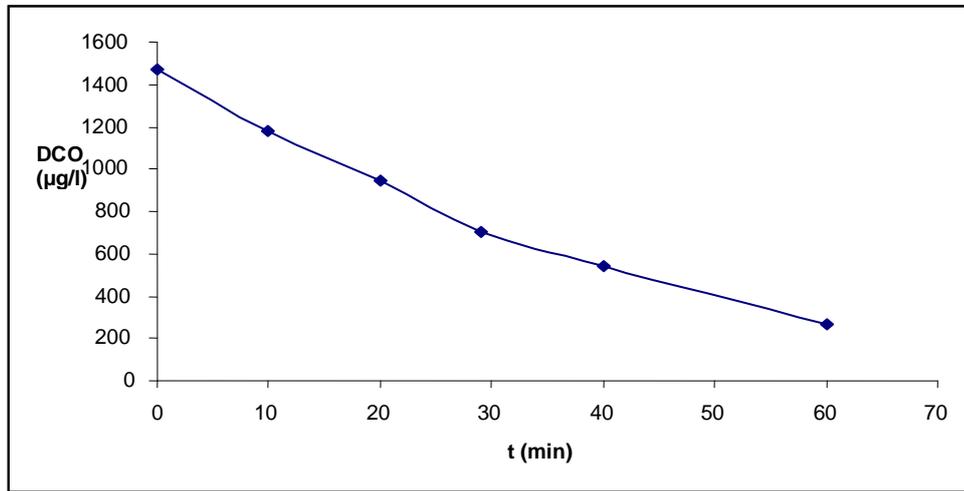


**Figure N° 27 : Evolution du taux de rejet en fonction tu temps (avec recirculation partiel du retentât)**

Le graphe montre que le taux de rejet évolue de la même manière que pour l'essai sans recirculation ; c'est-à-dire qu'il augmente progressivement avec le temps d'ultrafiltration. Nous remarquons seulement que le taux de rejet de la membrane atteint une valeur de 70% au bout de 30 mn et 87% à la fin de l'expérience.

### **V.2.6.Mesure du taux d'abattement de la pollution (DCO) du perméat :**

Durant les essais de concentrations ; nous récupérons des échantillons de perméat à chaque empotage et nous calculons la DCO. Les résultats obtenus sont portés sur la figure 28.



**Figure N°28 : Abatement de la pollution au cours du temps d’ultrafiltration**

La courbe nous montre que la DCO diminue progressivement avec le temps d’ultrafiltration. En effet; au bout de 30mn d’ultrafiltration nous abattons de moitié la pollution DCO =700 µg/l. A la fin de l’expérience nous atteignons une DCO = 200 µg/l. qui est une valeur acceptable en sortie d’une station de traitement. Le rejet du perméat dans les eaux d’égouts est sans danger.

**V.2.7.Calcul de la perméabilité à l’eau de la membrane après ultrafiltration :**

Il est clair que le seuil de coupure de la membrane vierge a été altéré par l’adsorption de molécules de protéines. Pour évaluer l’importance de l’adsorption, nous avons mesuré la perméabilité à l’eau de la membrane avant et après l’ultrafiltration de la solution protéique. Les résultats sont représentés sur la figure 29.

La perméabilité à l’eau de la membrane après ultrafiltration est :

$$Lp_1 = 17,874 \text{ l/hm}^2 \text{ bar.}$$

La chute de la perméabilité est estimé à 48%.La variation de la perméabilité, renseigne sur l’évolution du rayon de pores moyen de la membrane d’ultrafiltration (Mameri, 1987). En effet la loi de Poiseuille peut s’écrire :

$$Lp = \frac{Np \pi r_p^4}{8\mu e} \Delta P$$

Si on prend  $r_{po}$ , le rayon de pores moyen de la membrane neuve, et  $r_{p1}$  le rayon de pores moyen de la membrane après ultrafiltration, on aura, donc :

$$r_{p1} = r_{po} \left( \frac{Lp_1}{Lp_0} \right)^{0.25}$$

Cette réduction du rayon de pores est la conséquence du phénomène d’adsorption des macro molécules à la surface de la membrane (Belhocine et al, 2000).

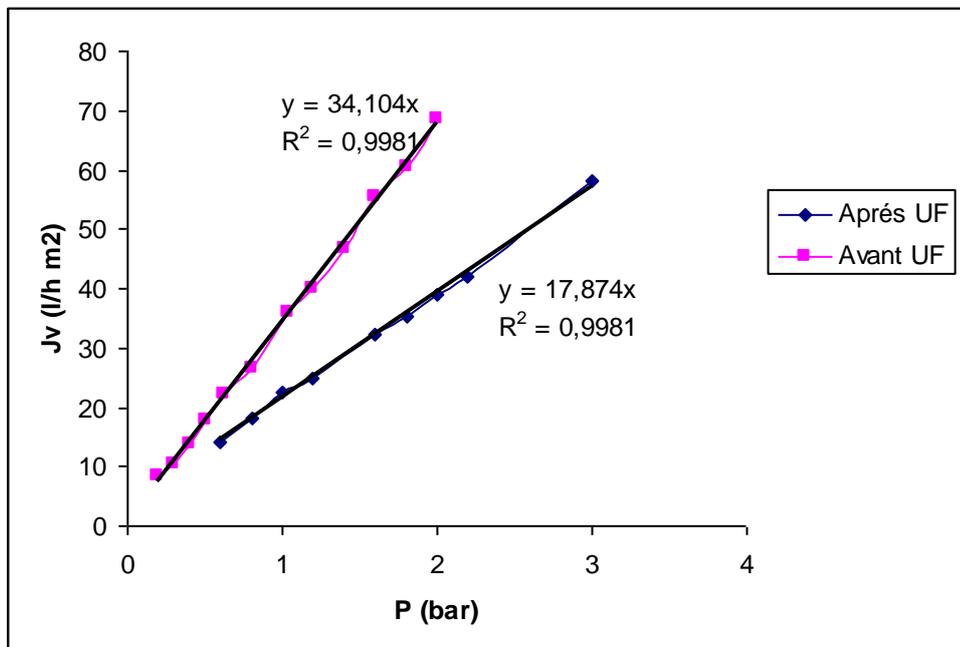


Figure N° 29 : Perméabilité à l'eau de la membrane avant/après ultrafiltration.

# CONCLUSION

## Conclusion générale

L'extraction de la chitine à partir des carapaces de crustacés devient de plus en plus utilisée en industrie (F.A.O, 2004).

La préservation de l'environnement, ainsi que le développement de cette technologie dans l'industrialisation sont liés à la minimisation de la pollution générée par ces procédés d'extractions et à la capacité de couvrir une proportion significative des coûts de production par la récupération, et vente des autres composants des carapaces. C'est le cas des protéines qui possèdent d'excellentes qualités nutritives.

Dans une première étape, notre étude a révélé que la carapace de la crevette *Parapenaeus longirostris* est composée de 22.18% MS de protéines, 51% MS de minéraux, chitine, lipides et pigments.

Dans une deuxième étape, nous avons fixé les conditions optimales de la déminéralisation de cette carapace et qui sont : l'utilisation d'un rapport de 1g de carapace / 15ml de solution d'acide chlorhydrique HCl 1.5N, pendant une demi heure de traitement, sous une température ambiante (20°C) et sous une agitation constante. Quant à l'optimisation de la déprotéinisation, elle a révélé que l'utilisation d'un rapport de 1g de carapace/ 20ml de solution de soude NaOH 2N, pendant 2 heures de traitement, sous une température de 40°C avec une agitation constante; nous a permis d'atteindre des taux de déprotéinisation de 98%.

Dans une troisième étape, nous avons pu concentrer les protéines issues des eaux de lavage lors de la préparation de la chitine en utilisant une membrane d'ultrafiltration CARBOSEP M5.

L'étude des paramètres hydrodynamiques montre l'influence de la vitesse de recirculation et de la pression transmembranaire sur les performances du procédé. Nous avons fixé les meilleures conditions qui nous permettent d'avoir le meilleur flux de perméat et qui sont :

Une vitesse de recirculation égale à 0.66m/s et un pression transmembranaire égale à 1.8 bars.

Sous ces conditions, nous avons mené les essais, qui nous ont permis de doubler la concentration en protéines du retentât (facteur de concentration FC =2) au bout de 45minutes d'ultrafiltration.

Cette ultrafiltration a permis, également, de diminuer la concentration en protéines du perméat et par conséquent d'abattre la DCO de 88 %.

La formation d'une couche de gel sur la membrane a été confirmée par l'évolution du taux de rejet observé, de la membrane en fonction du temps d'ultrafiltration, ce taux était faible au début et atteint 87% à la fin.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'utilisation de l'ultrafiltration pour la concentration des protéines issues des eaux de lavage lors de la préparation de la chitine à partir de carapaces de crustacés, permettrait de préserver l'environnement et de récupérer des produits valorisables que sont les protéines.

Pour confirmer la faisabilité de ce procédé, des études à l'échelle pilote doivent être munis.

Le problème rencontré lors de notre étude était la formation d'une couche de gel sur la membrane qui diminuait significativement le flux de perméat ; pour cela nous proposons de coupler l'ultrafiltration à un promoteur de turbulence adéquat.

# Références bibliographiques

- Abdessemed D.** Valorisation et traitement des eaux de lavage de poissonnerie par ultrafiltration. Thèse de Magister. ENP.1992.
- 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., Eullaffroy P., Clément C. and Vernet G. 2004.** Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera L* against *Botrytis cinerea*. Plant Cell. Rep. 22, 608-614.
- Alais Charles.** Biochimie alimentaire 5<sup>ème</sup> édition 2003.
- Aptel P. 1986.** Les procédés de séparation par membranes, la houille blanche, n°7/8, p.524-529.
- Audigié cl., Figarella J., Zonszain.** Manipulation d'analyse biochimique. Biologie appliquée. 1<sup>ère</sup> édition. 4<sup>ème</sup> tirage. Doin éditeur. 1984.
- Audinos R.** Membranes semi-perméables. Généralités K360. Constantes physico-chimiques (1999). Technique de l'ingénieur.
- **Audinos R.** Membranes semi-perméables. Généralités K360. Constantes physico-chimiques 2000. Technique de l'ingénieur.
- Balmann H.** Utilisation de l'ultrafiltration pour le traitement des eaux. Thèse de doctorat. Université de Paul Sabatier ,1988.
- Barak, Y., van Rijn, J., 2000.** Biological phosphate removal in prototype recirculating aquaculture treatment system, Aquacultural Engineering, 22:121-136.
- Belhocine D., Mokrane H., Grib H, Lounici H., Pauss A., Mameri N. 2000.** Optimization of enzymatic hydrolysis of haemoglobin in a continuous membrane bioreactor. Chemical Engineering Journal 76 (2000) 189–196
- Boeglin J.-C.** Inventaire des traitements d'eaux résiduaires. J 3940. Génie des procédés (1997).

- 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.
- 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.
- Drouiche M., Lounici H., Belhocine D., Grib H., Piron D and Mameri N. 2001.** Economic study of the treatment of surface water by small ultrafiltration units.
- Escudier J.-L. , Moutounet M. et Vernhet A., 2000.** Applications des membranes dans la filière œnologique F3270. Agroalimentaire.
- Gagné N., 1993.** Production of chitin and chitosan from crustacean waste and their use as a food processing aid. These Master, Mc Gill University, Montréal.
- Gildberg A. et Stenberg E.,2000.** A new process for advanced utilisation of shrimp waste. *Journal of process chemistry* 36 p 809-812.
- Golberg M., Chevrier D., 1979.** Traitement du plasma de bovins par ultrafiltration. Estimation des surfaces nécessaires, industries alimentaires et agricoles.
- Goldsmith, TH R. L. 1971.** Macromolecular ultrafiltration with microporous membrane ind
- Grib.H ;** séparation es concentration des acides aminés par technique membranaires. Thèse de doctorat ENP. 2002.
- Jaafari K., Elmaleh S., Coma J. and Benkhouja K., 2001.** Equilibrium and kinetics of nitrate removal by protonated cross-linked chitosan. *Water SA*, 27 (1): 9-13.
- Jeon, Y.-J. ; Kim, S.-K. (2000).** Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity. *Carbohydrate polymers*, 41: 133-141.
- Kahn DW, Butler MD, Cohen, Gordon M, Kahn JW, Winkler ME:** Purification of plasmid DNA by tangential flow filtration. *Biotechnol Bioeng* 2000, 69:101-106.).

- Laborie S. Cabassaud C. Durand-Bourlier S., 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 du Québec à Montréal.
- Louisot P.,** Biochimie générale et médicale. Vol. 4 ; ed. simep ; Lyon 1983.
- Majeti N. V. Ravi Kumar, 2000.** A review of chitin and chitosan applications. *React & Func. Poly.* 46, 1-27.
- Mameri N.,** 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., Bariou B., 1988.** Les différentes modélisations pour la caractérisation des membranes d'ultrafiltration. *Bull. Soc. Sc. Bretagne*, 59 n°1-4, p. 11-35.
- Masson olivier.,** bases biochimiques de la diététique éditions médicales internationales) 2002.
- Maurel A.,** techniques séparatives à membranes. Considérations théoriques. J 2790. Génie des procédés. Technique de l'ingénieur. 1989.
- Meyers S. P., Hong K. No., and Lee K.S., 1989.** Isolation and characterisation of chitin from crawfish shell waste. *Journal of agricultural and food chemistry*. 37 (3), 575-579.
- Miguel Angel F.-N., 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.
- Mukherjee D.-P., 2001.** Method for producing chitin or chitosan. *United States patents*, 6, 310,188.
- Onesippe C, 2005.** Étude des systèmes polyélectrolyte / tensioactif en phase aqueuse et à l'interface Liquide / Gaz. Thèse de doctorat. Université Montpellier II.

- Pelmont J.** « enzymes » presse universitaire de Grenoble 1989.
- Percheron.F, Perlés.R ,Foglietti. J,M .**,Abrégé de biochimie générales tome1 (1980).
- Plummer David., 1989.** Introduction aux techniques de biochimie ; ed. mc graw-hill ; paris
- Poirier M., 2000.** Fractionnement et caractérisation de la chitine dans le système N,N-Diméthylacétamide /chlorure de lithium. Maîtrise en science. Université Laval, Canada.
- 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.,** Technologies de transformation des produits agroalimentaires. F1170. Agroalimentaire (1998).
- 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 Loughborough University.
- Van Reis R., Zydney A., 2001.** Membrane séparations in biotechnology. Elsevier Science.
- Yang Y- P., Xu X-H., Chen H- F., 2004.** Treatment of chitin-producing wastewater by micro-electrolysis- contact oxidization. Journal of Zhejiang University Science. 5 (4); 436-440.

**ANNEXE**

## 1-Dosage des protéines : méthode de BIURET

- **Mode opératoire :**

a)-La courbe d'étalonnage a été obtenue comme suit :

A partir d'une protéine pure la BSA (bovin sérum albumine) de concentration initialement connue (1g/l) on réalise à l'aide d'eau distillée les dilutions suivantes :

1/4 , 1/2 , 3/4 (0.25g/l ,0.5g/l , 0.75g/l).

De chaque dilution on prélève 1ml auquel on rajoute 4 ml du réactif de cornall, on obtient donc quatre tubes et un cinquième qui est le témoin préparé à partir d'1ml d'eau distillée et 4ml de réactif de cornall.

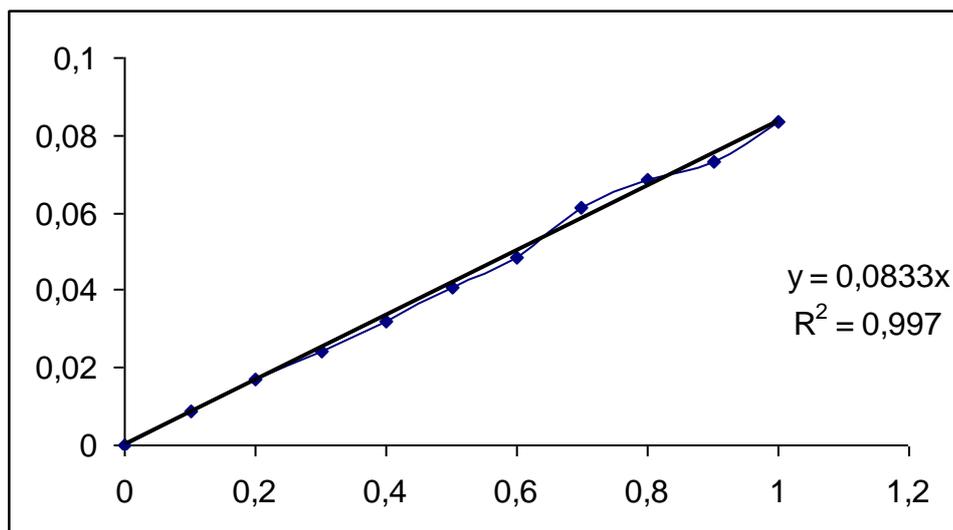
Les cinq tubes sont placés à l'obscurité pendant 30 min a température ambiante pour développer la réaction.

On lit alors au spectrophotomètre la densité optique (DO) de chaque tube contre le blanc à 540nm.

b)-Dosage des protéines des échantillons :

Diluer l'échantillon à doser au 1/10ème 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.

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



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

- **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) :**

### **-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 600nm, et une cellule de mesure en quartz.

- **Préparation du réactif de digestion :**

-dissoudre 10.216g de  $K_2CrO_7$ , préalablement chauffé à 103°C pendant 2h, dans 500ml d'eau distillée.

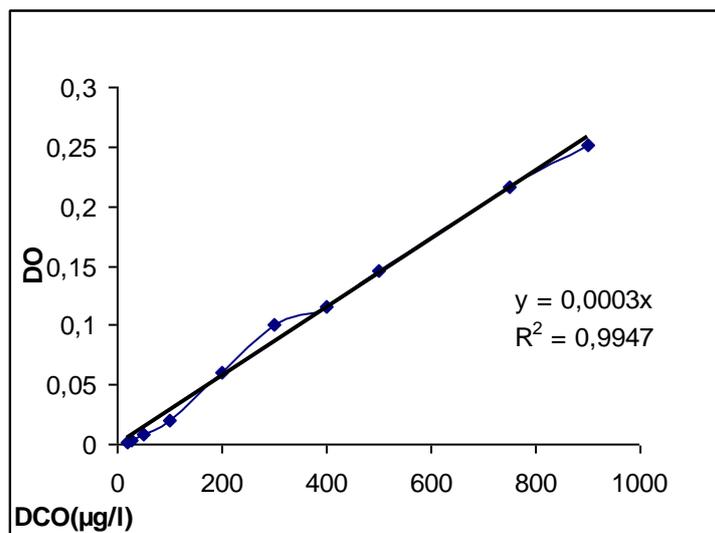
-ajouter 167ml de  $H_2SO_4$  concentré + 33.3g  $HgSO_4$ , dissoudre à température ambiante puis diluer à 1000ml.

Préparation du réactif d'acide sulfurique.

-ajouter  $Ag_2SO_4$  technique à  $H_2SO_4$  concentré avec un taux de 5.5g de  $Ag_2SO_4$  /kg  $H_2SO_4$ .attendre la dissolution.

#### Mode opératoire :

- 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.
- Ajouter 2ml de l'échantillon à analyser, fermer et agiter.
- Positionner les tubes dans le bloc chauffant préalablement chauffé, régler le minuteur sur 120min.
- Sortir les tubes du bloc après 2h, laisser refroidir.
- Effectuer la lecture sur spectrophotomètre à  $\lambda = 600nm$ .
- La valeur de la DCO est déduite de la courbe d'étalonnage.



Courbe d'étalonnage de la DCO

#### **4- Régénération de la membrane : (Watanabé,1986) cité par (Abdessemed, 1992).**

Le protocole utilisé pour la régénération de la membrane CARBOSEP M5, encrassée de protéines est le suivant :

- Introduire la solution de NaOH concentré (60°C) dans le bac d'alimentation.
- Laisser tourner la solution dans l'installation pendant 1heure.
- Rincer à l'eau pendant 10min.
- Arrêter l'opération.

Une régénération de la membrane est nécessaire avant chaque essai d'ultrafiltration.

## Résumé ;

L'objectif principal de cette étude ; à savoir la récupération et concentration des protéines issues des eaux de lavage lors de l'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevette *Parapenaeus longirostris* en utilisant une technique membranaire ; l'ultrafiltration. Les résultats obtenue au cours de notre travail sont ; doubler la concentration en protéine des eaux de lavage par l'utilisation d'une membrane d'ultrafiltration 'CARBOSEP M5' sous une pression 1.8 bars avec une vitesse de recirculation 0.66m/s pendant 45min d'ultrafiltration.

Nous avons également pu abattre la pollution (DCO) de 88%.

*Mots clés* ; extraction de la chitine, protéines, déminéralisation, déprotéinisation, ultrafiltration

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو استرجاع البروتينات الموجودة في مياه الغسل عند استخلاص الكيتين من قوقعة الجمبري *Parapenaeus longirostris* و ذلك باستعمال تقنية غشائية "ما فوق الترشيح". النتائج المتحصل عليها خلال دراستنا هي تركيز بروتينات مياه الغسل بالضعف باستعمال غشاء ما فوق الترشيح 'CARBOSEP M5' تحت ضغط 1.8 بار و بسرعة 0.66م/ثا خلال 45 دقيقة. كما استطعنا تقليل التلوث بنسبة 88%.

الكلمات المفتاح استخلاص الكيتين , بروتينات , ما فوق الترشيح

## Abstract

The aim of this work is to recover and to concentrate proteins contained in the waste water during the extraction of the chitin from shrimp shell *Parapenaeus longirostris* using membrane technics « ultrafiltration ».

The result obtained during our work is ; doubling the waste water's protein concentration by using a « CARBOSEP M5 » membrane under pressure 1.8 bars with recirculation's speed 0.66 m/s during 45min. We also shot down the pollution (COD) to 12%.

*Key words* ; chitin extraction, proteins, demineralisation, deproteinisation, ultrafiltration.