

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE



Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des Biotechnologies Environnementales



Projet de Fin d'Etude
en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en
Génie de l'Environnement

Thème

**Optimisation des paramètres opératoires
d'ultrafiltration
des protéines a partir d'un rejet**

Présenté par : FEDDAOUI FARAH

Président : Mr. N. MAMERI

Examinatrice: Mme. N.ABDI

Promoteur : Mr. H. GRIB

Co-promoteur : Mlle. L. BENSADALLAH

Professeur à l'ENP

Professeur à l'ENP

Maître de conférences à l'ENP

Maitre-assistante à UMBB

Année Universitaire 2011-2012

Dédicace

*A mes Parents qui m'ont poussé aidé épaulé dans
tout ce que j'ai entrepris*

A mes frères

A mes amis qui ont toujours été là pour moi

A toutes les personnes chères à mon cœur

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire des biotechnologies environnementales et génie des procédés du département de Génie l'Environnement de l'École Nationale Polytechnique (BIOGEP).

C'est avec grand plaisir que j'adresse mes sincères remerciements à Monsieur GRIB H., maître de conférences à l'ENP et directeur de thèse qui m'a orienté aidé conseillé tout au long de mes recherches qu'il me soit permis de lui exprimer mon profond respect.

Je remercie Mlle BENSADALLAH L., Maître Assistante à l'Université de Boumerdes, et Co-promoteur de thèse avec laquelle le travail et l'acharnement avaient un autre gout sa disponibilité et sa gentillesse m'on été d'une aide précieuse.

Il m'est agréable de témoigner toute mon estime et ma reconnaissance à Monsieur MAMERI N., Professeur à l'ENP qui a fait de mon travail l'une de mes expériences les plus enrichissantes en me poussant toujours à faire mieux et me fait un grand honneur en présidant ce jury de thèse.

Je suis également très honorée de compter parmi les membres du jury madame ABDI N., professeur à l'ENP, qu'elle trouve ici mes profonds remerciements.

Je remercie également monsieur A.Mozaoui et son équipe pour leur aide, conseils et surtout pour leur gentillesse reconfortante tout au long de ce travail.

Je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Enfin je remercie mon fiancé Amine d'avoir toujours été là pour moi et de me pousser toujours en avant.

كان الهدف من هذا العمل هو تحسين المعلمات الهيدروديناميكية من الترشيح الفائق للبروتينات، من رفض لإنتاج مصل ضد لسعات العقارب، أنتجت في معهد باستور في الجزائر العاصمة

خلصنا بعد دراسة لتطور التكلفة الإجمالية سيكون من الأفضل للعمل في معدل إعادة تدوير: 1.45 متر / ثانية، والضغط عبر الغشاء من 4.1 بار

بعد ذلك حاولنا استرداد املاح الامونيوم دياليزا كهربائية

Resumé :

le but de ce travail est d'optimiser les paramètres hydrodynamiques de l'ultrafiltration des protéines, issues du rejet de production du sérum contre les piqûres de scorpions, produit à l'institut pasteur d'Alger.

nous avons conclu après une étude de l'évolution du coût global qu'il serait préférable de travailler à une vitesse de recirculation de: 1.45 m/s est une pression transmembranaire de 4.1 bar .

après cela nous avons tenté de récupérer la fraction saline par electro-dialyse.

Summary:

The main of this work is to optimize the hydrodynamic parameters of the ultrafiltration of proteins, stemming from the rejection of production of the serum against the stings of scorpions.

We concluded after the study of the evolution of the global cost that it would be preferable to work on a speed of recirculation of 1.45 m/s and a pressure of 4.1 bars.

After that we have to try to get back the salt fraction by electro-dialysis.

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	i
Introduction	1
Chapitre I : Scorpion et sérum antiscorpionique	
I-1 Caractéristiques du Scorpion.....	3
I -1-1 Morphologie.....	3
I -1-2 Habitat.....	3
I -1-3 Activité.....	3
I -1-4 Venin	4
I-2 Traitement.....	4
I-2-1 Unités du service de l'Institut Pasteur d'Algérie.....	5
I -2-1-1 Unité de Production de sérums bruts.....	5
I -2-1-2 Unité de Purification.....	5
I-2-1-3 Unité de Recherche Développement des venins.....	5
I -2-2 Description générale du Procédé.....	6
I -2-3 Présentation et caractérisation du rejet issu de la production du sérum.....	6
Chapitre II : Notions sur les procédés membranaires utilisés	
II-1 Présentation des différents procédés membranaires à gradient de Pression.....	7
II-1- 2 caractérisation d'une membrane.....	11
II -1-3 Domaines d'application des procédés membranaires à gradient de pression.....	13
II-1-3-1 Biotechnologie et biopharmacie.....	13
a) Le traitement des moûts de fermentation.....	13
b) La concentration et la purification de principes actifs de vaccins et d'antibiotiques.....	14
c) La production d'eau hautement purifiée.....	14
II-1-3-2 Industrie automobile.....	15
A) Dégraissage et traitement des huiles.....	15
B) Procédés membranaires dans les dépôts de peinture par électrophorèse.....	16
II-1-3-3 Recyclage des saucages de couchage dans l'industrie papetière.....	16
II -1-4 Les avantages des méthodes de séparation membranaire à gradient de pression....	17
II -1-5 Les limitations et freins au développement des méthodes de Séparation membranaire à gradient de pression.....	17
II -2 Electrolyse.....	18
II -3 Efficacité d'un procédé membranaire.....	20
II -3 -1 Perméation : densité de flux volumique.....	20
II -3 -2 Sélectivité d'une membrane.....	21
II -4-Nettoyage et de colmatage des membranes.....	22
Chapitre III : Partie expérimentale	
III-1 Matériels et méthodes.....	27
III -1-1 Dispositif expérimental.....	27
III-1-2 Produits utilisés.....	29
III-1-3 Méthodes d'analyse.....	29
III -2 Résultats et discussions.....	29
III-2-1 Essai d'ultrafiltration.....	29
III -2-1.1 Détermination de la courbe solvant.....	29
III -2-1.2 Optimisation de l'ultrafiltration du rejet.....	30
III -2-1.3 Influence du débit de recirculation sur les pertes de charge.....	32
III -2-1.4 Bilan économique.....	33
III -2-1.5 Effet du rejet sur la perméabilité de la membrane.....	34
III -2-1.6 Essai de concentration du rejet.....	35

a) Variation du taux de rejet observé	36
b) Evolution des concentrations des ions sulfates et ammonium avec le temps.....	37
III -2-1.7 Régénération des membranes.....	38
III-2-2 Essai d'électrodialyse.....	38
III -2-2.1 Concentration des sels d'ammonium.....	39
Conclusion générale	42
Références bibliographiques	43
Annexe	

Liste des figures :

Figure n° 1 : schéma général de production de sérums thérapeutiques.....	5
Figure n° 2 : domaines de séparation des techniques membranaires à gradient de pression.....	10
Figure n° 3 : consommation d'énergie relative des procédés de séparation.....	11
Figure n° 4 : principe de fonctionnement d'un électrodialyse.....	19
Figure n° 5 : détermination du seuil de coupure d'une membrane d'UF à partir d'une courbe de tamisage.....	22
Figure n° 6 : illustration du principe de la séparation par UF.....	22
Figure n° 7 : effet du colmatage et de la polarisation sur J_v	23
Figure n° 8 : mécanismes de polarisation et variation des paramètres à l'interface de la membrane.....	23
Figure n° 9 : Schéma représentatif de l'appareil de l'Ultrafiltration.....	28
Figure n° 10 : Vue éclatée du pilote de laboratoire P1.....	28
Figure n° 11 : courbe solvant avant utilisation du rejet.....	30
Figure n° 12 : évolution du flux d'ultrafiltration en fonction de la pression pour différentes vitesse de recirculation.....	31
Figure n° 13 : variation du flux de perméat en fonction du débit de recirculation.....	31
Figure n° 149 : variation des pertes de charge en fonction du débit de recirculation.....	32
Figure n° 15 : variation du cout global de l'opération en fonction de la vitesse de recirculation pour différentes pressions opératoires.....	34
Figure n° 16 : courbe solvant avant et après UF.....	35
Figure n° 17 : évolution du flux de perméat au cours du temps pour l'essai de concentration du rejet.....	36
Figure n° 18 : évolution du taux de rejet observé en fonction du temps.....	37
Figure n° 19 : évolution de la concentration des ions NH_4^+ en fonction temps.....	38
Figure n° 20 : évolution de la concentration des ions SO_4^{2-} en fonction temps.....	39
Figure n° 21 : évolution de l'intensité de courant en fonction du potentiel.....	40
Figure n° 22 : évolution de la conductivité en fonction du temps, dans les .compartiments concentrât et diluât.....	40
Figure n° 23 : évolution de la concentration des ions NH_4^+ dans les compartiments concentrât et diluât en fonction du temps.....	41
Figure 24 : évolution de la concentration des ions SO_4^{2-} dans les compartiments concentrât et diluât en fonction du temps.....	

Liste des tableaux :

Tableau n° 1 : caractérisation du rejet issu de la production de SAS.....	7
Tableau n° 2 : Ordre de grandeur de la perméabilité selon le procédé choisi.....	21

Introduction :

Bien que la chimie soit indispensable au développement des sociétés modernes, son image auprès de la majeure partie de la population est celle d'une industrie polluante et dangereuse.

Depuis la prise de conscience des répercussions des activités économiques sur les systèmes naturels qui a conduit la première conférence mondiale sur l'environnement en juin 1972 à Stockholm, divers programmes de recherches visant à réduire la pollution ont été mis en place [1].

Les effluents liquides d'un établissement industriel ne peuvent généralement pas être rejetés dans le milieu naturel sans avoir subi préalablement un prétraitement ou un traitement. Les valeurs limites de rejet sont déterminées en fonction de valeurs limites fixées au niveau national et des capacités d'acceptation du milieu récepteur, en l'occurrence le cours d'eau ou la station d'épuration collective. Leurs teneurs en matière organique et composés chimiques sont imposées dans le cadre de la procédure d'autorisation et de déclaration de certaines installations industrielles dites installations classées pour la protection de l'environnement [2], [3].

Les membranes organiques et minérales sont aujourd'hui présentes dans de très nombreux domaines d'application. Leur utilisation devrait encore croître dans les années à venir grâce à une meilleure connaissance chez les industriels à cause de normes d'utilisation ou de rejet de plus en plus drastiques conduisant ceux-ci vers le «zéro rejet» et la valorisation de celui-ci [4].

L'unique producteur de sérum anti scorpionique en Algérie est l'Institut Pasteur d'Alger, le rejet résultant de cette production est riche en sels d'ammonium et en protéines. Nous allons par ce travail essayer d'optimiser les paramètres de séparation pour pouvoir par la suite récupérer les sels d'ammonium [5].

Ce modeste travail contient trois chapitres :

- dans le premier chapitre on parlera des scorpions leur mode de vie, leur venin et de la production de sérum anti scorpionique et enfin on caractérisera le rejet sur lequel on va travailler
- le second chapitre va porter sur la présentation des différentes techniques membranaires.
- le troisième et dernier chapitre sera consacré à la partie expérimentale ou on commencera par l'optimisation des paramètres hydrodynamiques de l'ultrafiltration puis on fera une application sur un rejet réel.

CHAPITRE I :

Scorpion et sérum antiscorpionique

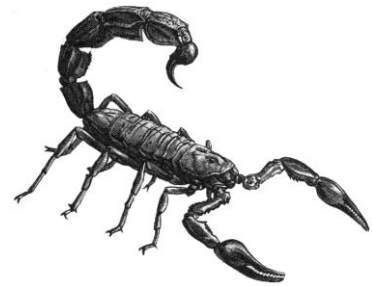
I-1 Caractéristiques du Scorpion:

I-1-1 Morphologie :

Les pattes locomotrices sont composées de huit articles et se terminent par une paire de griffes. Les pédipalpes couramment appelés «pinces» servent principalement pour la capture des proies mais aussi lors des danses nuptiales. Ils sont divisés en six segments. Le premier est la pince elle-même, divisée en un doigt fixe (tibia) et un doigt mobile (tarse). Leur taille varie fortement selon les espèces [6].

Les peignes, organes spécifiques aux scorpions sont recouverts de milliers de capteurs chimiques [5]. Leurs fonctions sont mal connues, ils servent à détecter la texture et sans doute d'autres caractéristiques du sol.

La cuticule des scorpions qui constitue leur exosquelette, a la particularité d'être fluorescente en lumière noire (rayonnement UV de 350 à 370 nm). Cette fluorescence due à la structure même de la cuticule se conserve à la mort de l'animal, et certains fossiles sont encore fluorescents. Les chélicères sont les "mâchoires" des scorpions [6]. Situées à l'extrémité antérieure du prosoma, elles se composent de trois articles dont deux distaux forment une pince, l'ensemble étant dans un plan horizontal ; les doigts sont recouverts de longues soies et certaines espèces possèdent des soies spatulées qui ont une fonction stridulatoire. Les doigts mobiles et fixes des chélicères possèdent des dents pour la mastication [7].



I -1-2 Habitat :

Les espèces actuelles sont toutes terrestres et elles peuvent être retrouvées dans une zone limitée au nord comme au sud aux environs du 50° degré de latitude. Les scorpions sont des animaux particulièrement résistants que ce soit au froid, à la chaleur, au jeûne ou même aux radiations ionisantes (plus de 150 fois la dose mortelle pour l'homme : 900 Gy contre 6). Ils ont une grande faculté d'adaptation qui leur a permis de s'installer sur tous les continents et dans tous les biotopes, y compris sous la neige et des zones marines intertidales. On peut aussi bien les trouver à 800 m de profondeur qu'à 5 500 m d'altitude. La plus forte concentration de scorpions se trouve dans l'hémisphère sud, et on les trouve surtout dans les régions chaudes [8].

I -1-3 Activité :

Leur activité est essentiellement nocturne et crépusculaire. Les scorpions sont des prédateurs essentiellement insectivores. Ils se nourrissent uniquement de proies vivantes

qu'ils paralysent à l'aide de leur venin ou maintiennent solidement entre leurs pinces (appelées pédipalpes). Ils utilisent toutefois leur venin avec parcimonie, le stock mettant deux semaines à se reconstituer. Leur piqure est très douloureuse, produit des accidents qui peuvent devenir mortels pour l'homme, surtout quand il s'agit des grands *Androctonus* d'Afrique et *Centruroides* d'Amérique du sud.

Ils sont retrouvés sous les pierres, dans les endroits arides, dans les vieux murs, mais quelques-uns y préfèrent les habitations : ils peuvent se cacher sous les lits, les draps ou dans les couvertures [7] [8].

I -1-4 Venin :

Plus d'un million de personnes sont piquées chaque année par un scorpion, le nombre de décès s'élevant à un peu plus de 3000, mais les chiffres sont très vraisemblablement sous-estimés car les piqûres sont loin d'être toutes inventoriées et les décès souvent en dehors de toute prise en charge médicale [5].

Toutes les espèces de scorpions sont venimeuses et la quasi-totalité des espèces utilisent des venins neurotoxiques (à l'exception d'*Hemiscorpius lepturus* qui possède un venin cytotoxique). Les neurotoxiques utilisés sont en général de petites protéines et des ions sodium et potassium qui vont interférer avec le système nerveux de la victime [7].

Leur action est en général très rapide. Les espèces les plus dangereuses se trouvent au Sahara. À titre d'exemple, selon les statistiques du ministère de la santé algérien, sur 45 391 personnes piquées par des scorpions, 62 sont mortes en 2006. Au Maroc, plus de 80 personnes sont mortes durant l'année 2006. Tandis que durant des années record au Mexique, il a été fait état de 1 000 morts en une seule année [8].

I-2 Traitement :

Le laboratoire des sérums thérapeutiques de l'Institut Pasteur d'Algérie demeure à l'heure actuelle l'unique producteur de sérum antivenimeux en Algérie. A ce titre, il joue un rôle essentiel dans le programme national de lutte contre les envenimations scorpioniques et ophidiennes. La production d'immuns sérums suit un processus qui commence par l'immunisation des chevaux, suivi de la ponction sanguine et le recueil de l'immun sérum et se termine par l'étape de la purification du produit obtenu qui précède le conditionnement en formes galéniques. Chaque étape se révèle très importante car il s'agit des produits issus du

vivant et donc les risques de contamination sont présents. La production se fait dans le respect scrupuleux de la trinité pharmaceutique: qualité, efficacité et sécurité [7].

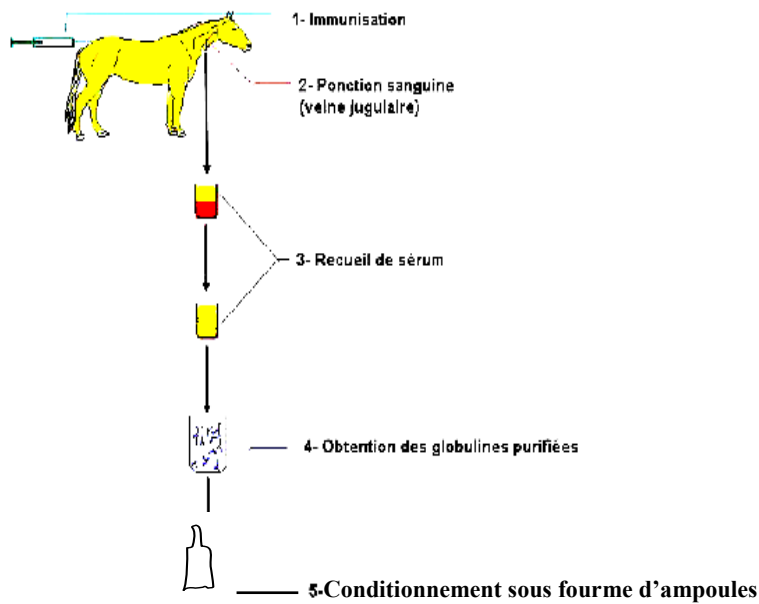


Figure n° 1 : schéma général de production de sérums thérapeutiques

I-2-1 Unités du service de l'Institut Pasteur d'Algérie:

Le service des Sérums Thérapeutiques est constitué de 3 unités :

- **Une Unité de production de sérums bruts** comportant deux compartiments :
 - Salle de saignée
 - Atelier d'entretien des animaux venimeux
- **Une Unité de purification :**
 - Atelier précipitation
 - Atelier dialyse et filtration
- **Une Unité de recherche de développement des venins :**
 - Atelier Recherche sur les venins scorpioniques
 - Atelier Recherche sur les venins ophidiens

et d'un atelier de développement des techniques de purification

I -2-2 Description générale du procédé :

Les chevaux sont généralement stationnés dans une ferme expérimentale dont l'accès est sous contrôle permanent et limité aux professionnels [6].

La ferme est sous la responsabilité d'un vétérinaire qui contrôle les animaux en quarantaine, effectue les immunisations, les prélèvements sanguins et assure le suivi sanitaire régulier du troupeau. Des examens cliniques et biologiques sont effectués régulièrement [9].

Les chevaux sont régulièrement vaccinés contre la grippe équine, le tétanos et la rage. Un traitement périodique contre les parasites internes et externes est effectué. Une fois par année, les écuries sont complètement désinfectées [10].

Les animaux sont nourris exclusivement d'herbages et de fourrages (paille, foin), ainsi que de sels minéraux.

Avant la saignée, on procède à l'immunisation du cheval en lui administrant par voie intraveineuse (veine jugulaire) les antigènes spécifiques aux anticorps à produire [8].

La ponction est ensuite effectuée sous anesthésie locale et est assurée par un vétérinaire. Le volume de sang récupéré dépend du poids et des données hématologiques de l'animal. Cette opération se fait de façon stérile à la ferme comme le montre la figure n°1, puis se poursuit dans une salle blanche (une salle blanche est une pièce ou une série de pièces où la concentration de particules est maîtrisée afin de minimiser l'introduction, la génération, la rétention de particules à l'intérieur, Le sérum est ensuite séparé du sang par centrifugation puis contrôlé par électrophorèse pour en déterminer certains pourcentages protéiques, et enfin recueilli dans des flacons stériles et conservé sous forme liquide à -20°C [7].

Pour assurer l'innocuité des produits et la sécurité des patients, des analyses biochimiques et microbiologiques sont effectuées sur le sérum obtenu avant d'être libéré pour débiter le procédé de production des globulines. Le sérum antiscorpionique purifié est produit à partir de venin d'*Androctonus australis Hector* [5].

Le traitement des formes graves requiert une hospitalisation en milieu spécialisé avec administration de fortes doses de benzodiazépines. L'utilisation de sérum antivenimeux, lorsqu'il est disponible, permet la rétrocédation rapide des symptômes [11].

I -2-3 Présentation et caractérisation du rejet issu de la production du sérum:

Le sérum recueilli contient une panoplie de protéines et compte tenu des objectifs thérapeutiques de production des sérums, la nécessité d'obtention des immunoglobulines purifiées s'impose. Ainsi, l'étape de purification consiste dans un premier temps, à précipiter les Ig dans le sérum obtenu en se débarrassant de l'albumine. Secondairement, au cours de cette purification, les techniques ont été adaptées pour assurer en même temps l'inactivation et/ou l'élimination virale totale [7].

Parmi les différents protocoles de purification des immunoglobulines étudiés dans la première partie, les laboratoires utilisent la précipitation par les sels d'ammonium, qui est la plus connue ou Le pH du sérum est ajusté à 3,3 par ajout d'acide acétique à 1,76 N. La prochaine étape consiste à précipiter les anticorps contenus dans le sérum en présence des sels d'ammonium (sulfate d'ammonium) [9].

Ensuite, la digestion des immunoglobulines précipitées, en présence de pepsine, aboutit à l'obtention des fragments F(ab')₂ et Fc. La filtration qui suit permet d'éliminer le fragments Fc et en ne retenant que les fragment F(ab')₂ qui constituent le principe actif des sérums thérapeutiques. La filtration se fait en présence des agents de filtration qui ont pour rôle de stériliser le produit [10].

Le rejet auquel on va s'intéresser est collecté après la première précipitation. Il est de couleur jaune, est riche en sels et en particulier en sulfates d'ammonium qui sont nocifs pour l'environnement [11].

Selon le rapport d'activité de l'institut Pasteur d'Alger, celui-ci produit annuellement environ 1000L de sérum purifié et 14.000 L de rejet.

Tableau n° 1 : Caractérisation du rejet issu de la production de SAS

Eléments	Teneurs (g/L)
SO ₄ ²⁻	80
NH ₄ ⁺	76
Ca ²⁺	6
Na ⁺	1,6
K ⁺	0,03
Cl ⁻	2,5
Protéines	18
pH	6,74

Chapitre II :

Notions sur les procédés membranaires utilisés

II-1 Présentation des différents procédés membranaires à gradient de Pression :

Les procédés à membranes sont des procédés physiques de séparation. Par définition, une membrane est une barrière de quelques centaines de nanomètres à quelques millimètres d'épaisseur, sélective, qui sous l'effet d'une force de transfert, va permettre ou interdire le passage de certains composants entre deux milieux qu'elle sépare.

Lors du choix d'une membrane, les caractéristiques structurales et de transfert (Perméabilité hydraulique et courbe de sélectivité) sont les plus importantes car elles nous renseignent sur les performances de la membrane pour une séparation choisie: débit de perméat que nous pouvons espérer et taille des molécules qui sont susceptibles d'être retenues par la membrane [12].

Interviennent également dans le choix des membranes, les propriétés physico-chimiques et chimiques de surface (charge, caractère hydrophile-hydrophobe, composition chimique) qui permettent, dans une certaine mesure, de prédire les phénomènes de colmatage et les interactions entre les différents types de molécules à la surface de la membrane. De plus, elles peuvent avoir un rôle dans les mécanismes de transport [13].

Il existe 4 procédés membranaires à gradient de pression: la microfiltration (MF), l'ultrafiltration (UF), la nanofiltration (NF) et l'osmose inverse (OI). Ces procédés se distinguent par la taille et le type des espèces qu'ils peuvent séparer. Ces procédés membranaires sont utilisés pour séparer et/ou concentrer des molécules ou des espèces ioniques en solution et/ou séparer des particules ou microorganismes en suspension dans un liquide [1].

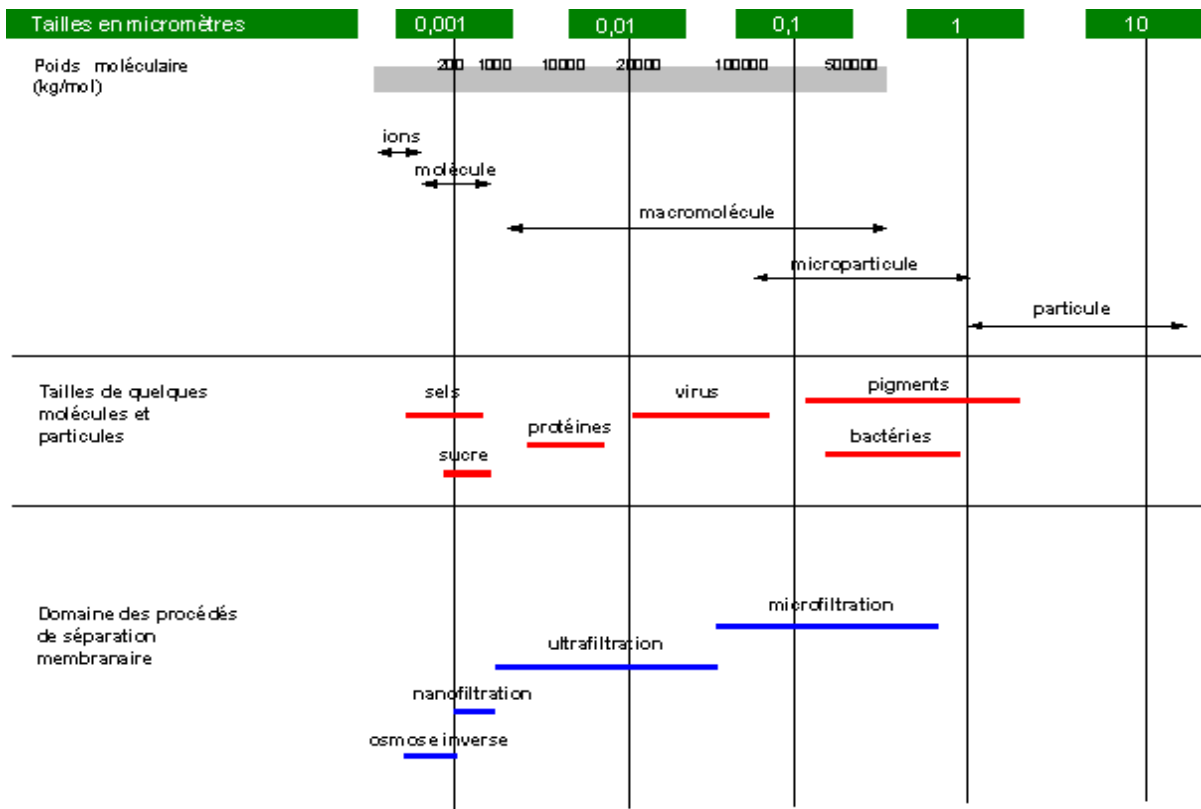


Figure n°2 : Domaines de séparation des techniques membranaires à gradient de pression [13].

La figure ci-dessus représente les techniques membranaires à utiliser selon la taille des particules à séparer.

Les procédés membranaires sont des techniques de séparation peu consommatrices d'énergie: de 1 à quelques dizaines de kWh m⁻³ de produit traité, suivant la taille des composés qui doivent être séparés. Leur consommation énergétique est faible (quelques kWh/m³ de perméat) par rapport à des procédés thermiques (de 100 à 900 kWh m⁻³ de produit traité pour un évaporateur, avec ou sans effets multiples) [14].

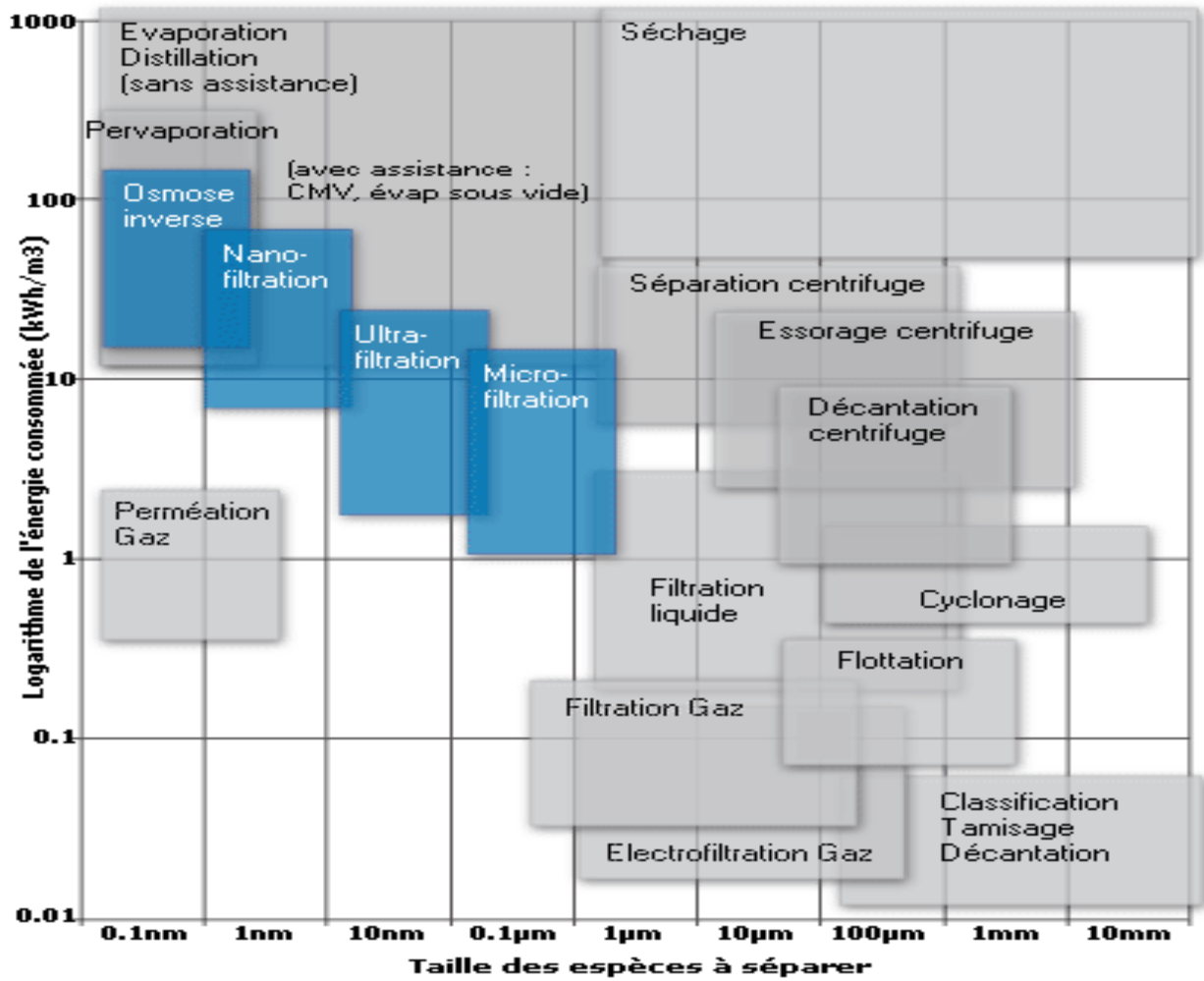


Figure n° 3: Consommation d'énergie relative des procédés de séparation [13].

La figure n°3 montre clairement que pour des molécules dont la taille se situe entre 10nm et 0,1μm comme les protéines, il est plus intéressant énergétiquement parlé de travailler avec l'ultrafiltration.

II-1- 2 Caractérisation d'une membrane: [12], [15], [16]

Une membrane est caractérisée selon :

- **Le diamètre moyen des pores:** il donne un équivalent de la taille de pore de la membrane, permettant ainsi d'estimer si les molécules visées vont être retenues ou non. Cette valeur est utilisée essentiellement en microfiltration.

- **le seuil de coupure:** masse moléculaire des molécules retenues à 90 % par la membrane dans des conditions opératoires données; il s'exprime en Dalton (Da, équivalent à g mol^{-1}) et est utilisé pour l'ultrafiltration et la nanofiltration. Il permet également d'estimer si les molécules visées vont être retenues ou non.
- **le taux de rétention:** il donne la proportion de molécules retenues par la membrane par rapport à la concentration de ces molécules dans la solution d'alimentation ; autrement dit il donne une idée de ce qui passera dans le filtrat et caractérise le travail de séparation d'une membrane. Une membrane d'osmose inverse est caractérisée par son taux de rétention en NaCl, dans des conditions opératoires données.
- **la densité de flux de perméation de la membrane :** donne le flux volumique ou massique (en $\text{l.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ou en $\text{kg.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$) traversant la membrane pour 1 m^2 de surface membranaire; pour connaître la surface à installer, il suffit de diviser le débit de filtrat à produire par ce flux (Il est noté J_v).
- **la pression transmembranaire:** différence entre la pression côté alimentation (retentât) et côté filtrat de la membrane.

Les technologies de séparation par membrane en phase liquide offrent une batterie très large de solutions économiques et opérationnelles à l'industrie, en permettant de combiner rendements élevés avec développement de nouveaux produits ou coproduits. La démarche qui permet de conduire à la mise en place de telles solutions demande bien entendu une approche rationnelle dans le choix des membranes et des configurations de procédés. Le choix d'une membrane devra se faire par rapport à ses propriétés chimiques, physico-chimiques et structurales initiales mais aussi par rapport à ses performances en fonctionnement.

Le choix se fait tout d'abord par rapport à la séparation à réaliser: de façon générale, la taille des pores est généralement 2 fois plus petite que l'espèce la plus petite à retenir (pour assurer une bonne rétention tout en limitant le colmatage en profondeur de la membrane). Le matériau doit être choisi afin de limiter les affinités avec les espèces du fluide à traiter (pour limiter les phénomènes d'adsorption). Il faut enfin satisfaire les contraintes du fluide (pH, température) et du domaine d'utilisation (stérilisation, agrément ...) et que le coût soit compatible avec la valeur ajoutée du produit.

II -1-3 Domaines d'application des procédés membranaires à gradient de pression :

Même si les membranes sont depuis de très nombreuses années présentes dans les deux grands domaines de production, potabilisation de l'eau et l'hémodialyse, de très nombreuses autres applications font appel à cette technologie. Voici quelques exemples d'applications membranaires dans les domaines de la biologie et de la pharmacie, de l'industrie automobile, de l'industrie papetière et, enfin, de la pétrochimie [2].

II-1-3-1 Biotechnologie et biopharmacie :

Trois types d'applications peuvent être présentés dans le domaine de la biologie et de la pharmacie, à savoir :

a) Le traitement des moûts de fermentation :

Le traitement des moûts de fermentation est de plus en plus réalisé à l'aide de la technologie membranaire, avec des membranes minérales, des membranes organiques planes ou encore des membranes d'électrodialyse. Il consiste à séparer la ou les fractions valorisables pour favoriser les étapes situées en aval (étapes de purification des métabolites, de reconcentration, et enfin, d'évaporation et de cristallisation.

L'exploitation industrielle, avec des unités de grosse capacité (débit d'alimentation supérieur à $300 \text{ m}^3\text{j}^{-1}$), nécessite de plus en plus de traiter ces moûts de fermentation dans un fonctionnement global en continu. Les plus petites unités (pour un débit d'alimentation inférieur à $300 \text{ m}^3\text{j}^{-1}$) fonctionnent, quant à elles, le plus souvent avec un procédé batch ou batch alimenté. Suivant la taille des installations, les surfaces membranaires installées vont donc de quelques dizaines à plusieurs milliers de mètres carrés, pour des débits d'alimentation de quelques dizaines de litres à quelques centaines de mètres cubes par heure.

L'extraction des métabolites des moûts de fermentation est effectuée par deux étapes successives :

- **Première étape:** Concentration du moût de fermentation suivant un procédé en discontinu ou batch alimenté,
- **Deuxième étape:** Diafiltration du moût de fermentation suivant un procédé continu ou batch [17], [13].

b) La concentration et la purification de principes actifs de vaccins et d'antibiotiques :

Ce domaine d'utilisation est essentiellement présent dans l'industrie pharmaceutique (vaccins, antibiotiques, principes actifs de type protéines thérapeutiques).

Cette étape peut avoir lieu après les étapes primaires de séparation/purification (par exemple, traitement des moûts de fermentation). On valorisera donc le plus souvent le retentât avec ce type d'opération.

Les volumes à traiter sont faibles (2 à 3 m³), nécessitant de petites installations membranaires (quelques mètres carrés à quelques dizaines de mètres carrés). Le procédé le plus communément employé correspond ainsi au mode batch pour la phase de concentration, suivi si nécessaire d'une diafiltration pour la phase de purification [18].

c) La production d'eau hautement purifiée :

L'industrie pharmaceutique est une industrie produisant et consommant de grands volumes d'eau. La pharmacopée européenne (Ph Eur) [3] y qualifie trois qualités d'eau, alors que la norme américaine USP [4] n'en reconnaît que deux :

- L'eau purifiée, définie par les deux normes, est obtenue par distillation, ou sur résines échangeuses d'ions ou d'osmose inverse ;
- L'eau hautement purifiée est seulement décrite dans la pharmacopée européenne. Cette eau doit être exempte de toute bactérie, mais aussi de tout fragment de parois cellulaires ou substances sécrétées par des bactéries (endotoxines) désignées sous le terme de pyrogène (qui donne la fièvre). L'eau hautement purifiée, dite «apyrogène», peut être utilisée dans la préparation de solutions pharmaceutiques et pour le rinçage des flacons.
- L'eau injectable, définie par les deux normes, est obtenue par bidistillation et sert à la fabrication des préparations pour injectables (PPI).
- Dans le cas de la production d'eau hautement purifiée, la pharmacopée européenne autorise, par exemple, l'utilisation de l'osmose inverse combinée à l'ultrafiltration. Les membranes minérales céramiques d'ultrafiltration (par exemple, gamme Kerasep™, seuil de coupure de 15 k Daltons) permettent, à partir d'un batch alimenté d'eau purifiée, d'obtenir un perméat apyrogène suivant les directives du tableau n° 1. L'avantage des membranes céramiques réside dans leur grande résistance thermique permettant :

- La réalisation de l'étape de rétention à haute température (85°C), et ainsi de maintenir des conditions opératoires où le taux de pyrogènes est divisé par 500 toutes les heures ;
- la stérilisation des membranes et du réseau par une eau pressurisée à 121°C, lors des phases de sanitation spécifique qui ont lieu de façon périodique.

Un test à l'air est réalisé systématiquement avant toute remise en production afin de garantir l'intégrité des membranes. De plus, ces unités d'ultrafiltration sont réalisées en accord avec les procédures de qualification des installations (Good Manufacturing Practices) [1].

II-1-3-2 Industrie automobile :

Depuis plus de trente ans, les membranes organiques sont utilisées dans l'industrie automobile au niveau du bain de peinture cataphorèse de la ligne de traitement de surface. L'utilisation des membranes minérales a permis de développer de nouvelles applications telles que le traitement des effluents huileux avant destruction et, plus encore, le recyclage des bains de dégraissage.

A) Dégraissage et traitement des huiles :

Au cours de leur utilisation, les liquides d'usinage se dégradent progressivement et n'assurent plus leurs fonctions, et ce, malgré les traitements physiques de maintenance (filtres à bande, filtres à cartouche, filtres à terre diatomée, centrifugation, séparateur magnétique, hydrocyclone) permettant d'éliminer les fines particules en suspension, les huiles étrangères, et malgré l'ajout de produits chimiques pour rééquilibrer les formulations ou pour annihiler tout développement de micro-organismes.

Les fluides usagés présentent alors une source de pollution très importante :

- Demande chimique en oxygène (DCO) très élevée: de 50 000 à 300 000 mgL⁻¹;
- Teneur en hydrocarbures comprise entre 2 et 8 % ;
- Rejet impossible de ces fluides vers une station d'épuration.

Dans le cas des émulsions classiques et des microémulsions usagées, l'ultrafiltration peut être utilisée à la place de l'évaporation en utilisant des membranes minérales afin de concentrer les huiles solubles contenues dans ces effluents. Le mode de fonctionnement proposé par certains fabricants correspond au procédé par batch en boucle fermée, qui

permet de concentrer les fluides de coupe par retour du retentât dans le bac de travail, jusqu'à arriver au «cassage des émulsions» (séparation de l'huile et des émulseurs). Cette phase concentrée (ou retentât) est constituée d'huile pouvant atteindre une teneur de 10 à 60%. La technologie membranaire permet ainsi :

- Une plus faible consommation d'énergie par rapport à l'évaporation;
- La production d'un faible volume de concentrés huileux, dont le potentiel thermique de plus de $4\,500\text{ kcal kg}^{-1}$ (soit environ $20\,000\text{ kJ kg}^{-1}$) ;
- La production d'un perméat pré-épuré (clarifié et déshuilé) ne perturbant pas la station d'épuration et limitant ainsi la production de boue ;
- La production d'un perméat qui peut être traité par osmose inverse [16], [18], [19].

B) Procédés membranaires dans les dépôts de peinture par électrophorèse :

L'industrie automobile, où la qualité de la protection anticorrosion est d'une importance primordiale, a été amenée à utiliser des peintures «cataphorèses» (peintures chargées positivement) constituées principalement d'eau déminéralisée (supérieure ou égale à 80 %), de solvants organiques (à environ 1 %) et, pour le reste, de résine (appelée aussi liant), de pigments, de charges minérales et d'additifs.

Le dépôt de peinture sur les caisses est réalisé suivant le procédé au trempé, qui permet d'appliquer cette couche sur toutes les surfaces y compris les corps creux.

Les carrosseries en sortie du bain de cataphorèse présentent une épaisseur de 15 à $30\mu\text{m}$ de peinture électrodéposée, mais aussi d'une quantité non négligeable de peinture non électrodéposée (et donc soluble dans l'eau), qui est entraînée physiquement par les carrosseries lors de l'immersion. La technique membranaire d'ultrafiltration est indispensable économiquement, car elle permet d'assurer les rinçages de ces pièces en sortie de bain et de récupérer au moins 99 % de la peinture non électrodéposée. Les types de membranes utilisées correspondent à des membranes organiques planes, spiralées ou tubulaires [14].

II-1-3-3 Recyclage des saucés de couchage dans l'industrie papetière :

Les saucés de couchage sont utilisées dans l'industrie papetière dans les phases de finition de la fabrication du papier. Cette enduction permet d'apporter au support papier des propriétés de surface. Le couchage consiste à déposer, sur une ou deux faces du papier, un enduit afin d'obtenir une meilleure imprimabilité de celui-ci : en comblant les vides et en recouvrant les fibres, la surface du support, initialement rugueuse et macroporeuse, devient alors une face unie microporeuse. La qualité du papier est ainsi améliorée en jouant sur sa

blancheur, son aspect (brillance ou matité), son épair (aspect de la structure du papier observable par transparence), ainsi que sur son toucher.

II-1-4 Les avantages des méthodes de séparation membranaire à gradient de pression :

Les méthodes de séparation membranaire permettent de travailler dans les conditions favorables suivantes :

- Une température modérée favorable à la séparation de composés thermosensibles.
- Un caractère compact et modulaire des installations et donc une construction sur mesure par ajout d'éléments standards et une maintenance relativement souple.
- Une extraction de produits en continu de milieux entièrement isolés de l'extérieur par le film séparateur et donc l'élimination de toute contamination croisée entre l'amont et l'aval
- Un coût d'exploitation modéré.
- Un temps de séparation relativement court.
- Le fractionnement se fait sans changement de phase, ce qui est très avantageux au niveau énergétique comparé à la distillation ou à l'évaporation;
- Il n'y a pas d'utilisation d'adjuvants ou de tiers corps;
- Les installations sont modulables et peuvent fonctionner en continu [20] [21].

II-1-5 Les limitations et freins au développement des méthodes de Séparation membranaire à gradient de pression :

Malgré les nombreux avantages déjà cités, les méthodes membranaires souffrent encore de certaines limitations voire inconvénients :

- Le colmatage, par des particules ou des microorganismes et donc la diminution des flux transmembranaires et la nécessité de mettre en œuvre des opérations de lavage.
- La durée de vie limitée des membranes.
- Le coût énergétique résultant des fortes pressions à appliquer.
- Sélectivité insuffisante.

Cependant, toutes les possibilités des procédés à membranes n'ont pas encore été explorées. En particulier, leur couplage avec d'autres procédés de séparation dans notre cas l'électrodialyse [19] [22].

II -2 Electrolyse:

L'électrodialyse est une technique qui permet d'extraire, tout en restant en phase liquide et à température constante, les ions d'un milieu liquide ou pâteux en utilisant un empilement de membranes échangeuses d'ions disposées en alternance orthogonalement à un champ électrique. Selon l'arrangement des membranes dans l'empilement, diverses configurations peuvent être obtenues.

Le domaine courant d'utilisation de l'électrodialyse est la déminéralisation de liquides contenant initialement des ions minéraux en solution, aqueuse ou non aqueuse, à des concentrations de l'ordre de 0,05 à 1 mol L⁻¹ : eaux de mer, eaux saumâtres, jus sucrés, eaux résiduelles de bains d'électrodeposition. Mais, à côté de ces utilisations à caractère industriel, il existe un certain nombre d'applications de type analytique qui ont pris naissance dès 1903 avec la purification des colloïdes lyophiles et peuvent concerner des solutions beaucoup plus diluées (quelques milligrammes par litre) et entrent dans la catégorie des analyses assistées par des membranes.

Il est possible d'utiliser l'électrodialyse comme moyen de séparation pré analytique de trois façons différentes :

- Soit pour débarrasser une solution de traces de façon à ne conserver que le produit noble unique qui pourra être dosé par une méthode classique ou servir lui-même de réactif de dosage ;
- Soit pour concentrer une ou plusieurs traces dans le compartiment du concentrât, de façon à obtenir une concentration susceptible d'être mesurée par une méthode de dosage classique ;
- Soit pour séparer les composés nobles les uns des autres, pour pouvoir les doser facilement ensuite.

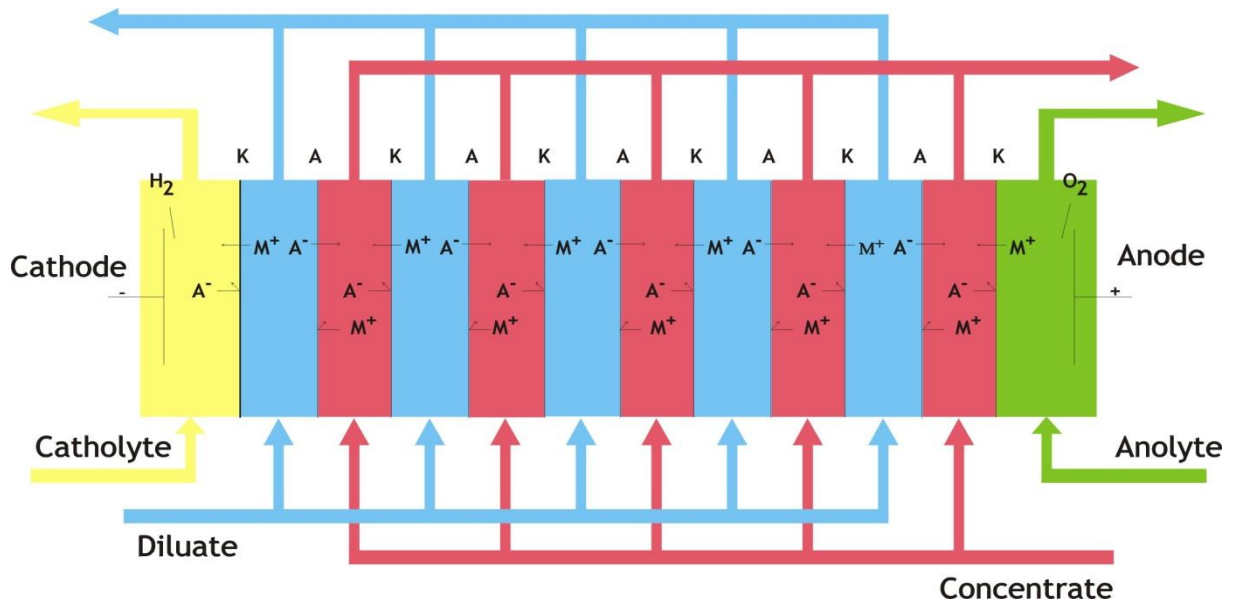


Figure n° 4: Principe de fonctionnement d'un électrodialyseur

Lorsqu'une différence de potentiel continue est établie, les anions de la solution à traiter se dirigent par migration vers l'anode et les cations vers la cathode. Toutefois, même si tous les paramètres physiques, comme la pression ou la température, sont égaux dans tous les compartiments, à ce mouvement de migration sous l'effet du champ électrique viennent se coupler des transports par diffusion, sous l'effet de gradients de concentration du solvant ou des solutés et des transports par convection, sous l'effet de gradients de densité, ces derniers étant généralement considérés comme négligeables. La solution contenue dans le compartiment de dilution s'appauvrit en ions: c'est le diluât (ou dialysat), tandis que les deux compartiments contigus, ou compartiments de concentration, voient augmenter la teneur en ions de leur solution (le concentrât). En outre, les solutions, diluât et concentrât, doivent rester électriquement neutres: selon la nature des membranes et l'agencement des compartiments, l'électroneutralité est obtenue, dans le compartiment du concentrât, par l'apport de la charge électrique soit des ions formés aux électrodes (figure n°4), soit des ions provenant du diluât voisin, tandis que dans le compartiment du diluât, la neutralité électrique est maintenue soit par la charge des ions provenant des réactions aux électrodes (figure n°3) ou du concentrât, soit par le départ simultané de deux charges ioniques opposées, ou par la combinaison de ces deux processus [24], [1].

II -3 Efficacité d'un procédé membranaire :

L'objectif de l'utilisateur d'un procédé membranaire est double :

- Assurer une productivité (perméation) maximale pour minimiser les coûts de fonctionnement
- Avoir une efficacité (sélectivité) répondant aux contraintes fixées.

La perméation et la sélectivité du procédé sont donc à la base de l'optimisation des procédés membranaires.

II-3-1 Perméation : densité de flux volumique :

Le débit-volume par unité de surface (ou densité de flux volumique ou par abus de langage flux de perméation) est le rapport du débit de perméation par la surface membranaire :

$$J = Q_v / S$$

Pour une sélectivité donnée le flux de perméation doit être le plus élevé possible de manière à minimiser la surface de filtration à mettre en œuvre et, par là même, l'investissement. La densité de flux s'exprime le plus souvent en ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$).

La densité de flux en cours d'opération est la plupart du temps bien inférieure à celle que l'on peut mesurer avec du solvant pur, ou calculer par le biais de la perméabilité. Cette densité de flux dépend :

- De la perméabilité de la membrane
- De la différence de pression appliquée
- De la quantité et du type d'espèces retenues par la membrane.

Du point de vue pratique, les densités de flux volumique augmentent lorsque l'on passe de l'osmose inverse à la microfiltration bien que les différences de pression appliquées diminuent. Cela s'explique par les phénomènes de polarisation de concentration

ont moins d'impact sur la pression effective, et la perméabilité des membranes augmente de l'osmose inverse vers la Microfiltration [19], [22], [25], [12].

II -3 -2 Sélectivité d'une membrane :

La sélectivité d'une membrane est en général caractérisée par le taux de rétention (appelé aussi taux de rejet), TR, de l'espèce (sel, macromolécule, particule). On peut préciser ce terme en parlant de taux de rétention observé, TR_{obs}, pour préciser que ce taux de rétention est le taux de rétention le plus directement accessible par l'expérimentation

$$TR_{obs} = 1 - C_p/C_o$$

C_o: concentration massique de l'espèce à retenir dans la solution,

C_p: concentration massique de la même espèce dans le perméat.

Tableau n° 2: Ordre de grandeur de la perméabilité selon le procédé choisi

Catégorie	Perméabilité à l'eau à 20 °C, A*		Perméabilité A (m)
	(m · s ⁻¹ · Pa ⁻¹)	(L · h ⁻¹ · m ⁻² · bar ⁻¹)	
Micro-filtration	1,4 × 10 ⁻⁹ à 2,8 × 10 ⁻⁸	500 à 10 000 (voire plus)	1,4 × 10 ⁻¹² à 2,8 × 10 ⁻¹¹
Ultra-filtration	1,4 × 10 ⁻¹⁰ à 1,4 × 10 ⁻⁹	50 à 500	1,4 × 10 ⁻¹³ à 1,4 × 10 ⁻¹²
Nano-filtration	2,8 × 10 ⁻¹¹ à 2,8 × 10 ⁻¹⁰	10 à 100	2,8 × 10 ⁻¹⁴ à 2,8 × 10 ⁻¹³
Osmose inverse	8,3 × 10 ⁻¹² à 5,5 × 10 ⁻¹¹	3 à 20	8,3 × 10 ⁻¹⁵ à 5,5 × 10 ⁻¹⁴

- En ultrafiltration, l'efficacité de la membrane est en général caractérisée par le seuil de coupure (cut-off), qui peut être défini comme étant la masse molaire M (gmol⁻¹) correspondant à une rétention élevée (90% le plus souvent) d'une macromolécule déterminée. Cette notion est spécifique à l'ultrafiltration; elle n'a pas de sens en osmose inverse ou en nanofiltration dans la mesure où des entités chimiques de même masse molaire peuvent avoir, dans les mêmes conditions opératoires, des taux de rejet très différents. Elle n'a pas non plus de sens en microfiltration malgré une certaine analogie sur le plan des mécanismes, les espèces retenues (micro-organismes, boues) ne pouvant être définies ni par une masse molaire ni par une taille en dehors d'un diamètre apparent ou équivalent.

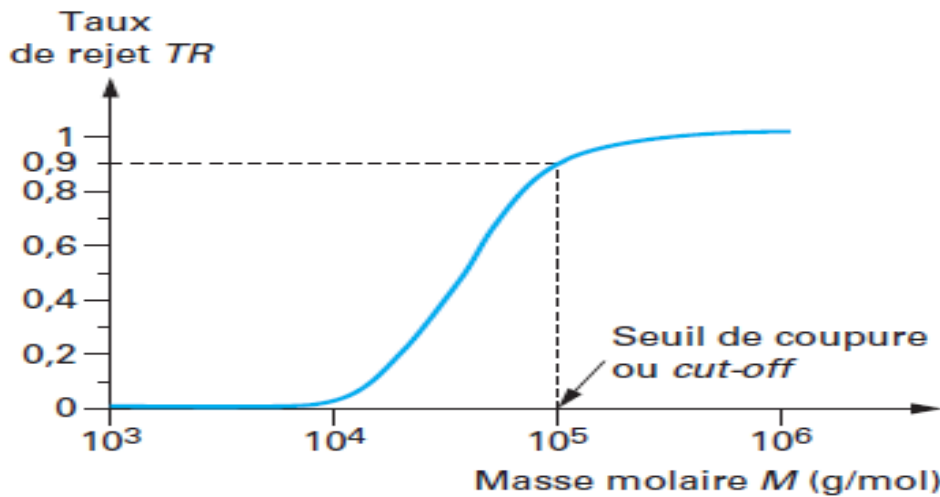


Figure n° 5: Détermination du seuil de coupure d'une membrane d'UF à partir d'une courbe de tamisage

Toute molécule de taille supérieure au seuil de coupure est retenue comme on le voit sur la figure n°6

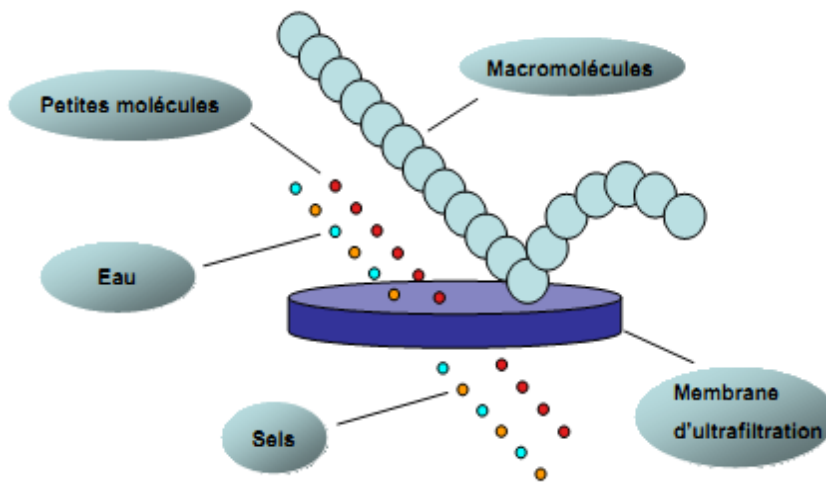


Figure n° 6: Illustration du principe de la séparation par UF

II-4 Nettoyage et de colmatage des membranes: [24] [25]

En fonctionnement, les procédés de filtration membranaire subissent une baisse de productivité: le flux de perméation diminue à pression appliquée constante ou la pression augmente à flux de perméation constant. Cette baisse de perméabilité est imputable à l'accumulation de matière sur la surface (ou dans) la membrane.

Nous distinguons deux phénomènes :

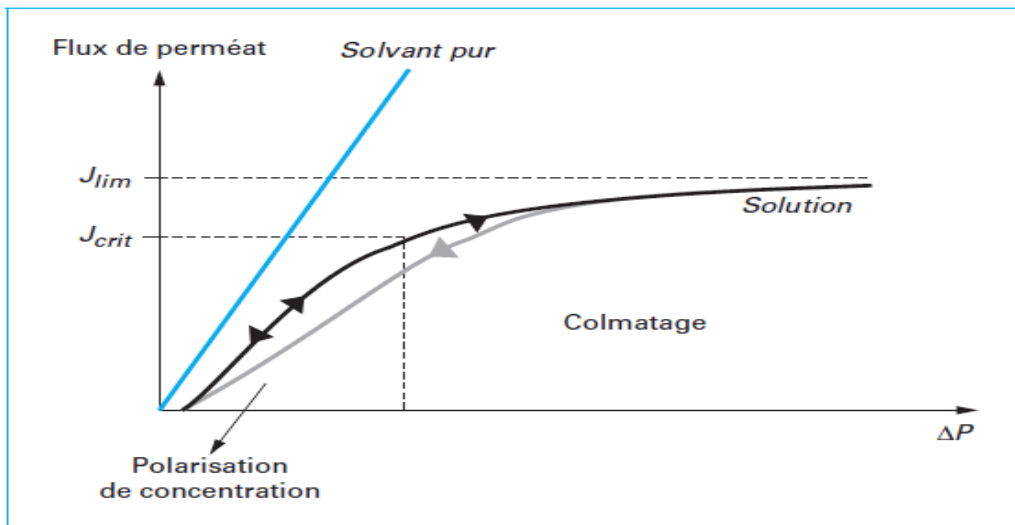


Figure n° 7: Effet du colmatage et de la polarisation sur J_v

A – La polarisation de concentration qui résulte de l'accumulation de la matière à l'interface sous forme solubilisée ou dispersée. La matière à l'interface est dans le même état que dans la solution mais à des concentrations bien plus importantes. Ces concentrations importantes peuvent réduire la perméabilité notamment en générant une contre-pression osmotique [24], [26].

Ce phénomène est réversible si l'on baisse la pression, la matière solubilisée ou dispersée dans la couche revient en solution par diffusion

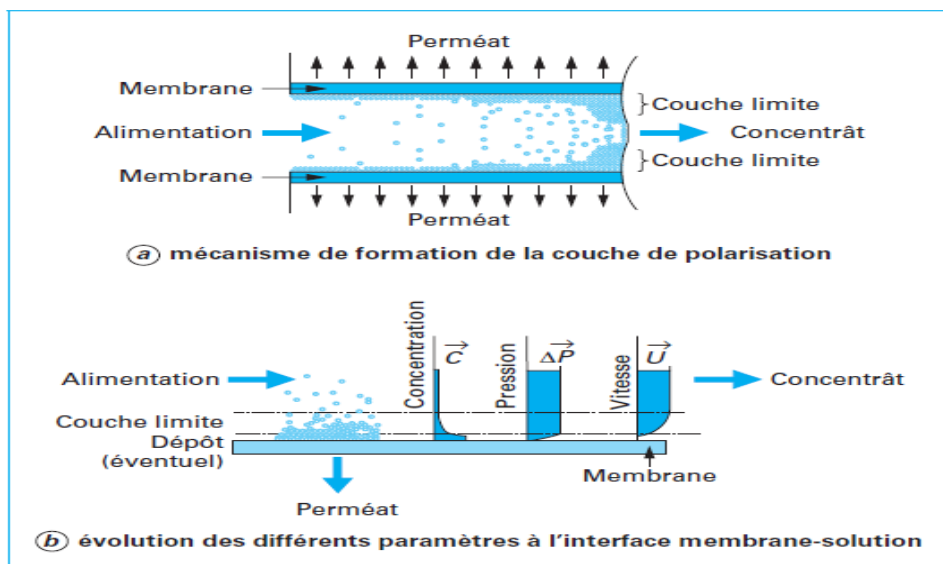


Figure n° 7: Mécanismes de polarisation et variation des paramètres à l'interface de la membrane

B- Le colmatage on regroupe sous ce terme de colmatage l'ensemble des phénomènes physiques, chimiques, biologiques se produisant à l'interface membrane solution ou dans le volume poreux (formation d'un gâteau, adsorption, bouchage de pores...), dont la conséquence est une variation de perméabilité et de sélectivité. En général, la densité de flux de perméation décroît et la membrane retient des molécules plus petites.

Le colmatage engendre une résistance à l'écoulement supplémentaire, La partie superficielle du colmatage peut être éliminée par un balayage tangentiel (utilisation d'une vitesse tangentielle importante dans le module de filtration pour éroder le dépôt) le plus souvent combiné à un rétrolavage (ou backflush). Les effets du colmatage et de la polarisation sur le flux de perméation à travers une membrane sont illustrés sur la figure n° 8.

Le flux de perméat à l'état stabilisé y est porté en fonction de la pression transmembranaire, ΔP , de manière schématique, pour un solvant pur (pas de rétention) puis pour une solution contenant des espèces retenues par la membrane [4].

La courbe représente la variation typique que prendrait la densité de flux en fonction de la différence de pression appliquée, en l'absence de toute évolution des propriétés de la membrane, et ce quel que soit le type d'opération (OI, NF, UF, MF). Cette variation peut être la conséquence d'un phénomène de polarisation de concentration (quelquefois appelé polarisation primaire) et/ou de colmatage (quelquefois appelé polarisation secondaire). La différence importante entre ces deux phénomènes est leur réversibilité à une réduction de pression : la polarisation de concentration est réversible lorsque la pression est réduite alors que le colmatage ne disparaît pas avec une baisse de pression (la courbe de la figure 4 présente une hystérésis si le flux critique marquant la transition entre ces deux phénomènes est dépassé). Les raisons pour que cette courbe prenne cette allure varient d'une technique à une autre car les mécanismes prépondérants à la base de l'accumulation de la matière dépendent de la nature du fluide [26].

- Le nettoyage : Lorsque le colmatage est installé sous forme d'un dépôt, différentes, techniques physiques de décolmatage sont possibles qui consistent toutes en une rétrofiltration pendant un temps court (backpulse, backflush) : l'inversion du flux est comparable à « un coup de bélier » qui décolle le dépôt [27].
- Dans les cas de colmatage organique récalcitrant au nettoyage, le recours au nettoyage enzymatique peut être efficace, puisqu'il fonctionne en hydrolysant les liaisons spécifiques des colmatants. Il faut alors choisir une enzyme ou un cocktail d'enzymes spécifiques pour les polysaccharides ou les protéines, par exemple [28].

Notons que, cette fois encore, le choix doit être adapté au matériau membranaire. En 2007, une unité de production ayant complètement détruit ses membranes neuves en 5 jours

d'exploitation à cause d'un nettoyage enzymatique mal choisi : l'enzyme attaquant les liaisons peptidiques (ou amides) des protéines peut produire le même effet sur la matrice membranaire en polyamide (NF, OI : majoritaires). Ajoutons que le nettoyage enzymatique a la réputation d'être plus onéreux que le nettoyage chimique, mais il peut s'avérer indispensable dans des situations délicates, et les prix évoluent à la baisse.

- On peut aussi bien opter pour une solution chimique qui consiste à utiliser des produits de désinfection qui sont plus ou moins sophistiqués mais presque tous appartiennent à la classe des oxydants et sont soit générateurs d'oxygène actif (peroxyde d'hydrogène, acide peracétique...), soit de chlore actif (hypochlorite de sodium à 100 ou 200 ppm en chlore actif, prohibé dans le traitement du vin car à l'origine de mauvais goût). Notons que ces composés peuvent également servir au nettoyage par action oxydante de la matière organique des dépôts colmatants. Ces produits oxydants sont à prohiber avec la plupart des membranes de NF et d'OI (celles constituées de polyamide), car les liaisons covalentes de type amide, communes aux protéines, aux peptides et à la membrane, sont alors oxydées, conduisant à la destruction irréversible de la membrane. Quand il n'est pas possible de faire autrement, une teneur cumulée en chlore, à ne pas dépasser, est alors indiquée. Les membranes en PSU et PES sont connues pour être résistantes au chlore, cependant les liaisons entre le carbone et le groupement sulfone SO_2 sont susceptibles d'être rompues à long terme et la désinfection par les oxydants est finalement la raison majeure de vieillissement accéléré de ces matériaux membranaires, que ce soit en conditions douces d'utilisation comme en traitement d'eau à potabiliser (PSU, à température ambiante, 3 à 10 ppm chlore, toutes les 30 à 60 min pendant 1 min en backflush, au pH de l'eau traitée et une fois par semaine 50 à 400 ppm à pH 12 pendant 15 à 30 min) [29].

Chapitre III :

Partie expérimentale

Notre but à travers ces manipulations est d'optimiser les paramètres opératoires de l'ultrafiltration des protéines issues d'un rejet de la fabrication de sérum antiscorpionique à savoir la pression d'entrée, la vitesse de recirculation et l'influence des ions présents dans notre échantillon .

III-1 Matériels et méthodes :

III -1-1 Dispositif expérimental :

Le dispositif expérimental utilisé est le MICROLAB 130S de la firme GAMMA FILTRATION-France qui est le résultat miniaturisé d'installations industrielles conçues pour le traitement des milieux biologiques.

L'installation comporte une pompe volumétrique à débit réglable 200-800 l h⁻¹, un débitmètre réglable entre 0 et 5 m³ h⁻¹ et un échangeur de chaleur.

La membrane utilisée est de type CERAVER minérale avec un seuil de coupure de l'ordre de 10000DA.

Trois manomètres sont utilisés, le premier pour régler la contre pression, le deuxième ainsi que le troisième sont utilisés pour régler la pression d'entrée et de sortie de la membrane.

Le débit de retour du concentrât est réglé à 350 l h⁻¹.

Le support du module est composé de $\gamma\text{Al}_2\text{O}_3$, le diamètre moyen des pores est de 15 μm , le diamètre du canal est de 4mm et le nombre de canaux est de 19.

La surface utile de la membrane est de 0,2 m².

Le support et la membrane sont liés de façon monolithique par frittage.

On a aussi utilisé un électrodialyseur pilote de laboratoire de type P1 (à deux compartiments), modèle Aqualyseur de la société CORNING constitué d'un empilement de 19 membranes anioniques (AMV) et de 20 membranes cationiques (CMV). La surface utile

de chaque membrane est de 69 cm^2 . Aux deux extrémités du dispositif se trouvent des électrodes en graphite munies d'un circuit de rinçage. Dans tous les compartiments, la circulation des solutions sont en circuit fermé, utilisant des pompes de marque Seibec 38600 Fontaine M15. Le courant a été appliqué à l'aide d'un générateur de type MATRIX modèle MPS-3010L⁻¹.

On a utilisé des conductimètres de type HANNA HI8733.

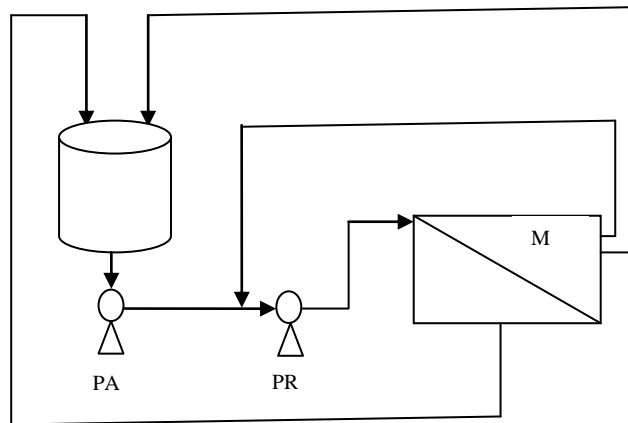


Figure n°9 : Schéma représentatif de l'appareil de l'Ultrafiltration

Avec :

- M : module de l'ultrafiltration
- PR : pompe de recirculation
- PA : pompe d'alimentation

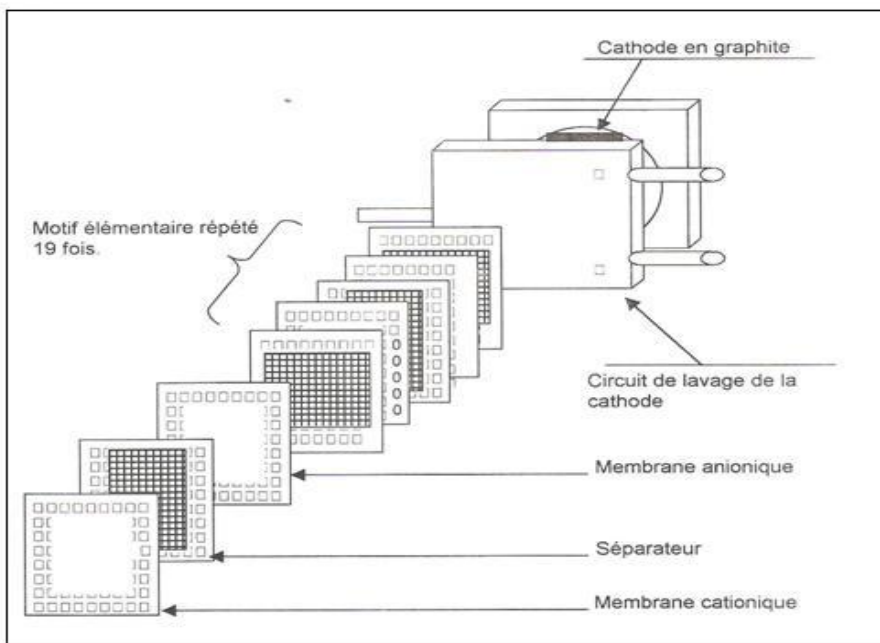


Figure n°10 : Vue éclatée du pilote de laboratoire P1

III-1-2 Produits utilisés :

- Sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.
- Sulfate de sodium Na_2SO_4

III-1-3 Méthodes d'analyse :

- Les ions ammonium sont dosés par colorimétrie à l'aide de la méthode de Nessler.
- Les ions sulfates sont analysés par une méthode turbidimétrique.
- Le spectrophotomètre utilisé pour le dosage de ces deux ions est de type Spectrum sp_2000.
- Les ions chlorure sont dosés chimiquement selon la méthode de MOHR.
- Les ions K^+ , Na^+ et Ca^{2+} sont dosés par spectrophotomètre à flamme.
- Les protéines sont dosées par la méthode de Bradford.

III -2 Résultats et discussions :**III-2-1 Essai d'ultrafiltration :****III -2-1.1 Détermination de la courbe solvant :**

En premier lieu nous avons déterminé la perméabilité de la membrane avant utilisation du rejet pour quantifier par la suite les phénomènes de colmatage. Le rejet étant riche en protéines et en sulfates d'ammonium donc le solvant utilisé dans notre cas est une solution synthétique de 100 g l^{-1} de sulfates d'ammonium.

Si S est la surface active de la membrane, alors le flux de perméat J_v est tel que :

$$J_v = V / S \Delta t$$

V: volume d'empotage

Δt : temps correspondant à un volume de 250 ml de perméat.

La perméabilité L_p est donnée par :

$$L_p = \text{Flux} / \Delta P$$

Les résultats sont reportés sur la figure n°11 donnant l'évolution du flux de solvant J_v en fonction de la pression transmembranaire ΔP .

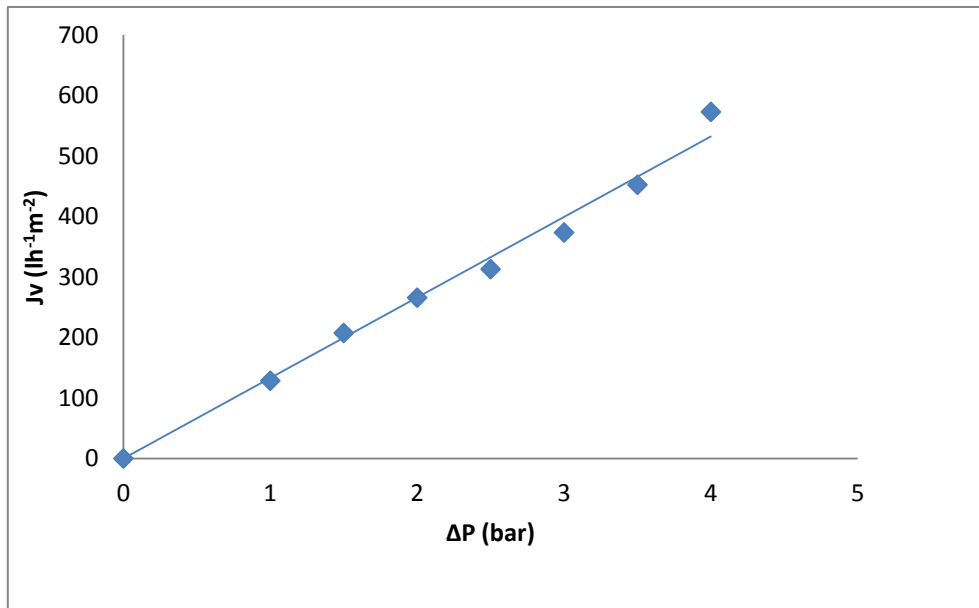


Figure n° 11 : Courbe solvant avant utilisation du rejet

La détermination de la pente de la droite obtenue nous donne une perméabilité au solvant utilisé de $133 \text{ lh}^{-1}\text{m}^{-2}$

III -2-1.2 Optimisation de l'ultrafiltration du rejet :

Avant d'entamer l'UF de notre rejet, nous l'avons préalablement filtré pour éliminer toutes particules solides.

Pour optimiser le procédé d'UF, nous avons, dans une première partie, étudié l'influence des paramètres hydrodynamiques puis par la suite évalué le cout optimal de l'opération.

A l'aide des résultats obtenus, nous avons tracé les graphes montrant l'évolution du flux de perméat en fonction de la pression transmembranaire pour différentes vitesses de recirculation (voir figure n° 12).

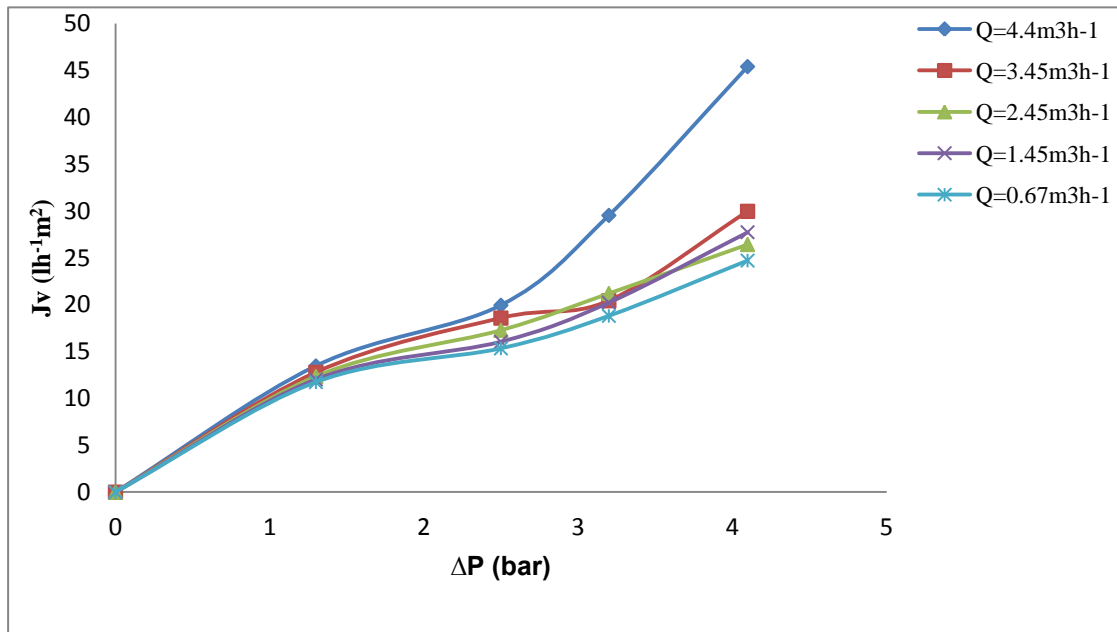


Figure n° 12 : Evolution du flux d'ultrafiltration en fonction de la pression pour différentes vitesses de recirculation.

Nous remarquons que les courbes obtenues ont la même allure sauf pour $Q=4,4\text{ m}^3\text{h}^{-1}$, on constate qu'à partir d'une pression égale à 2,45 bars, l'augmentation du flux est plus importante que les autres débits de recirculation. Pour les autres courbes et pour une pression maximale de 4.1 bars, la variation du débit est faible. Ceci peut être expliqué par le phénomène de polarisation qui conduit à la formation d'une couche limite qui freine le débit du perméat pour des débits de recirculation inférieurs ou égaux à $3,45\text{ m}^3\text{h}^{-1}$ tandis que pour un débit de $4.4\text{ m}^3\text{h}^{-1}$ cette couche devient moins importante vu que la vitesse qui traverse la membrane est grande. Le tracé de la courbe donnant la variation du flux de perméat en fonction du débit de recirculation (Figure n° 13) montre que le flux a tendance à aller vers un palier pour des débits allant de $0,67$ et $3,45\text{ m}^3\text{h}^{-1}$.

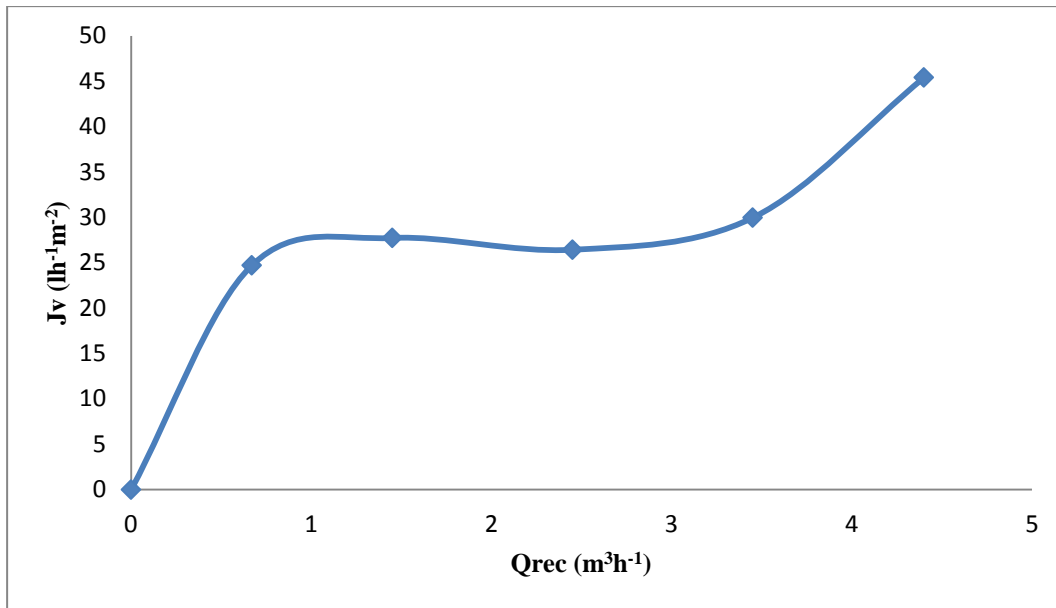


Figure n°13: Variation du flux de perméat en fonction du débit de recirculation à une pression transmembranaire de 4,1bars

III -2-1.3 Influence du débit de recirculation sur les pertes de charge :

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'influence du débit de recirculation sur les pertes de charge sont illustrés sur la figure n°14 .

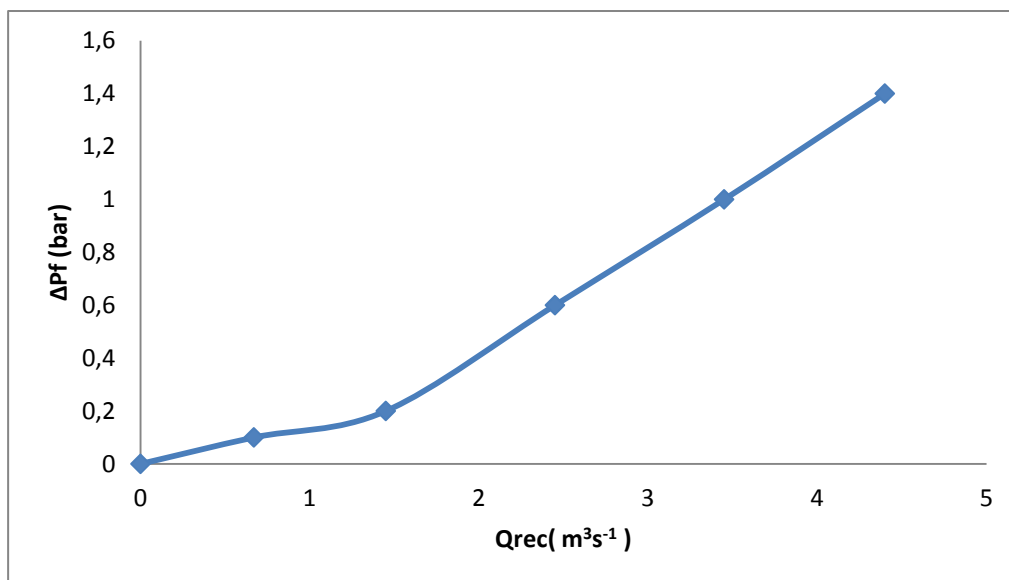


Figure n°14: Variation des pertes de charge en fonction du débit de recirculation

Nous remarquons que l'augmentation du débit de recirculation engendre une augmentation des pertes de charge dans le module d'ultrafiltration. En effet l'élévation de la vitesse augmente la turbulence, ce qui entraîne des frottements accrus entre les molécules du rejet et la membrane, induisant de ce fait, des pertes d'énergie supplémentaire. Ces dernières se traduisent par une élévation de la température.

III-2-1.4 Bilan économique :

Pour la détermination des performances du procédé, on doit, bien entendu, effectuer une étude sur le coût opératoire pour cela on va calculer le coût global de l'opération qui est la somme de trois termes.

Le coût de l'investissement que l'on suppose proportionnel à la surface A de la membrane.

- ✚ Le coût de l'énergie de pompage due aux pertes de charges ΔP_f .
- ✚ Le coût de l'énergie de pompage due à la chute de pression ΔP que subit le perméat à travers la membrane.

$$\text{Soit : } K/Q_p = K_o \cdot \Delta P + K_o/J_v (1 + K_p/K_o Q_{rec} \Delta P_f)$$

Q_p : le débit de perméat (m^3/s)

K_o : le coût en investissement par unité de temps et de surface ($DA m^{-2} s^{-1}$)

Q_{rec} : le débit de recirculation (m^3/s)

K_p : le coût de l'énergie ($DA/joule$)

Concernant les valeurs de K_o et K_p , sont respectivement:

$$1.99 \cdot 10^{-4} DA m^{-2} s^{-1} \text{ et } 4.47 \cdot 10^{-7} DA J^{-1}$$

En faisant varier ΔP pour différentes valeurs de U, on trace $K/Q_p = f(U)$ (figure n° 15), on obtient un faisceau de courbes grâce auxquelles on peut déterminer les conditions optimales de travail.

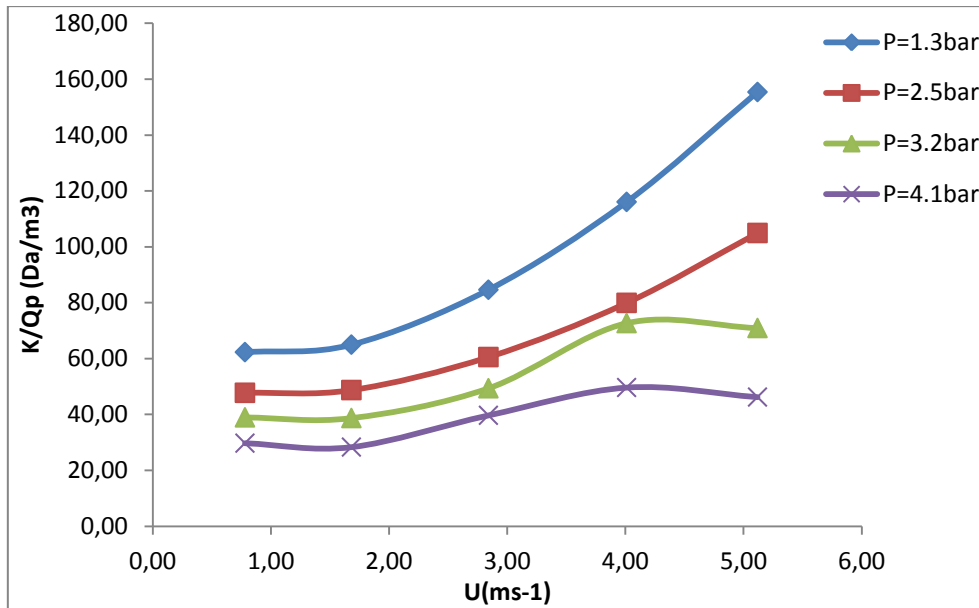


Figure n° 15 : Variation du cout global de l'opération en fonction de la vitesse de recirculation pour différentes pressions opératoires

On constate que le cout de l'opération d'ultrafiltration diminue avec l'augmentation de la pression transmembranaire.

On en déduit que le point optimal se situe à $\Delta P=4,1$ bars pour une vitesse $U=1,45\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ qui correspond à $(K/Q_p)_{\text{opt}}= 28 \text{ Da}\cdot\text{m}^{-3}$ et $J_{v \text{ opt}}= 28 \text{ lh}^{-1}\text{m}^{-2}$ car c'est à ce point précisément que le cout global est le moins élevé.

III -2-1.5 Effet du rejet sur la perméabilité de la membrane :

Cette étude nous a permis de comparer la perméabilité de la membrane au solvant (eau synthétique de sulfate d'ammonium) avant et après ultrafiltration. Les résultats de flux solvant obtenus après ultrafiltration du rejet sont portés sur la figure n°16.

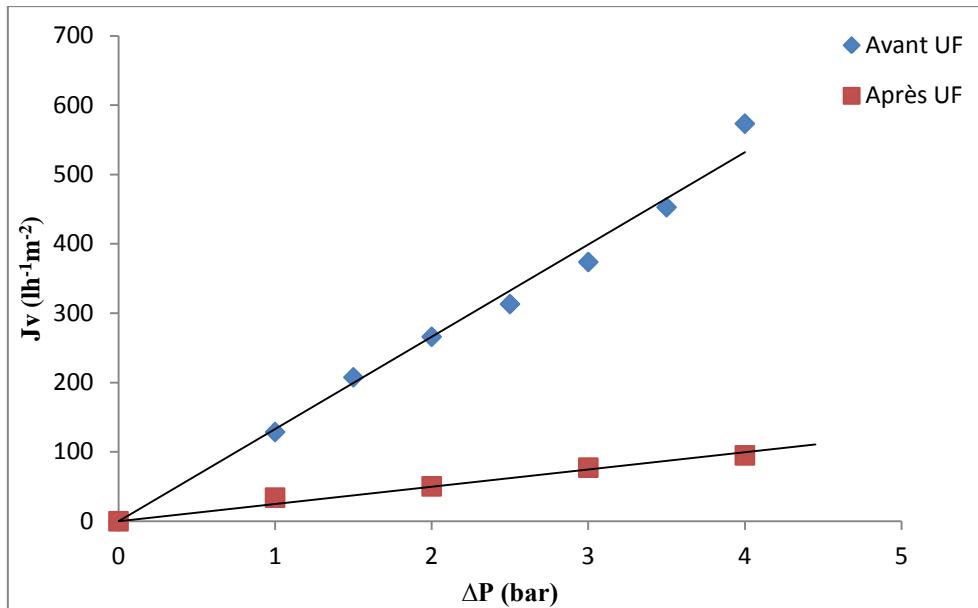


Figure n° 16 : Courbe solvant avant et après UF

D'après cette courbe, la perméabilité de la membrane au solvant est de $25 \text{ l h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{ bar}^{-1}$. En comparant cette dernière avec celle avant ultrafiltration qui était de $133 \text{ l h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{ bar}^{-1}$, on remarque un abaissement de celle-ci de 81%, traduisant ainsi l'effet du colmatage du a la concentration des protéines mais aussi à la viscosité de l'échantillon qui est 2,5 fois plus élevée que celle de l'eau. D'où la nécessité d'une régénération de la membrane.

III -2-1.6 Essai de concentration du rejet:

Après avoir déterminé les conditions optimales de fonctionnement de l'ultrafiltration du rejet à savoir $\Delta P=4,1 \text{ bars}$ et $U=1,45 \text{ ms}^{-1}$, nous l'avons concentré sur une durée de 90 minutes, la concentration de la charge initiale est de 17 g l^{-1} en protéines.

On a suivi la variation du flux de perméat en fonction du temps. La courbe obtenue est illustrée sur la figure n°17.

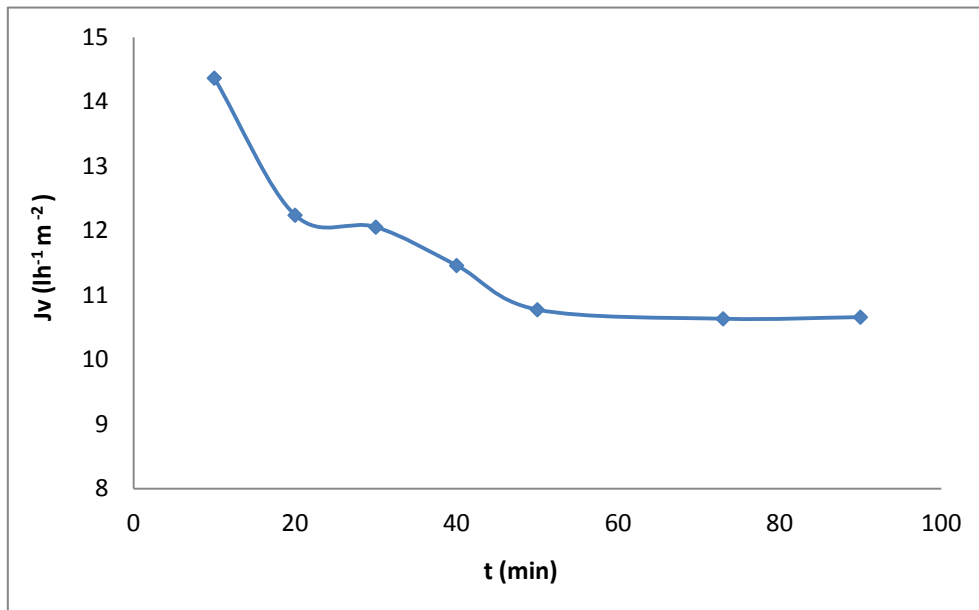


Figure n°17 : Evolution du flux de perméat au cours du temps pour l'essai de concentration du rejet

On remarque que le flux J_v décroît rapidement de 0-40 min puis se stabilise peu à peu ceci est dû au colmatage des membranes causé par le dépôt des protéines d'une part et à la polarisation de concentration d'autre part. Les courbes solvants avant et après UF (figure n°14) illustrent mieux ces phénomènes.

a) Variation du taux de rejet observé :

Pour un FCV connu qui est de 1,7 nous nous sommes intéressés à la variation du taux de rejet des protéines pour déterminer l'efficacité de notre méthode. Nous obtenons la courbe suivante :

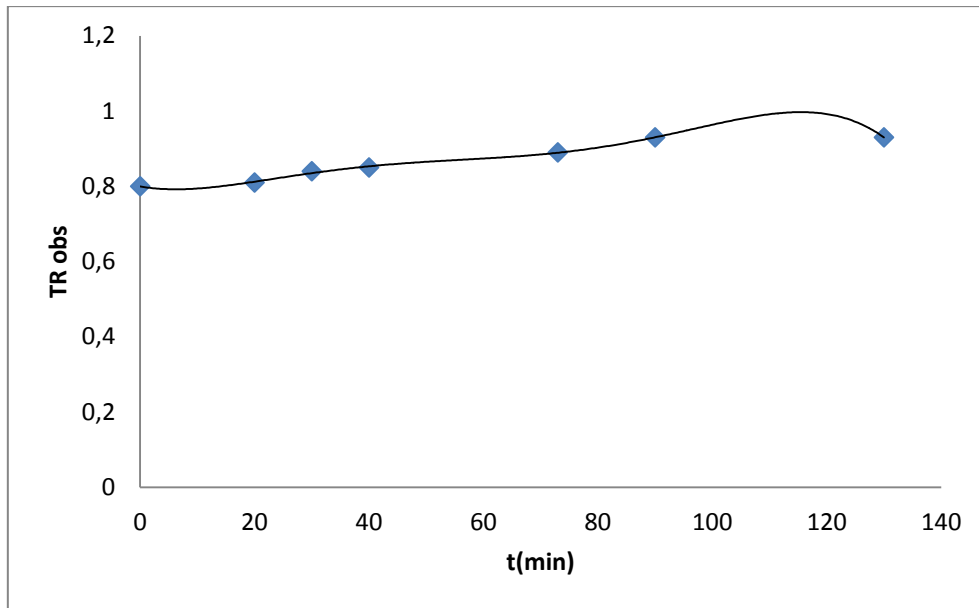


Figure n° 18 : Evolution du taux de rejet observé en fonction du temps

On remarque que T_{Robs} augmente légèrement avec le temps mais à tendance à se stabiliser.

b) Evolution des concentrations des ions sulfates et ammonium avec le temps :

Au cours de l'essai de concentration, nous avons dosé les ions NH_4^+ et SO_4^{2-} , les résultats obtenus sont illustrés sur les figures n°19 et 20.

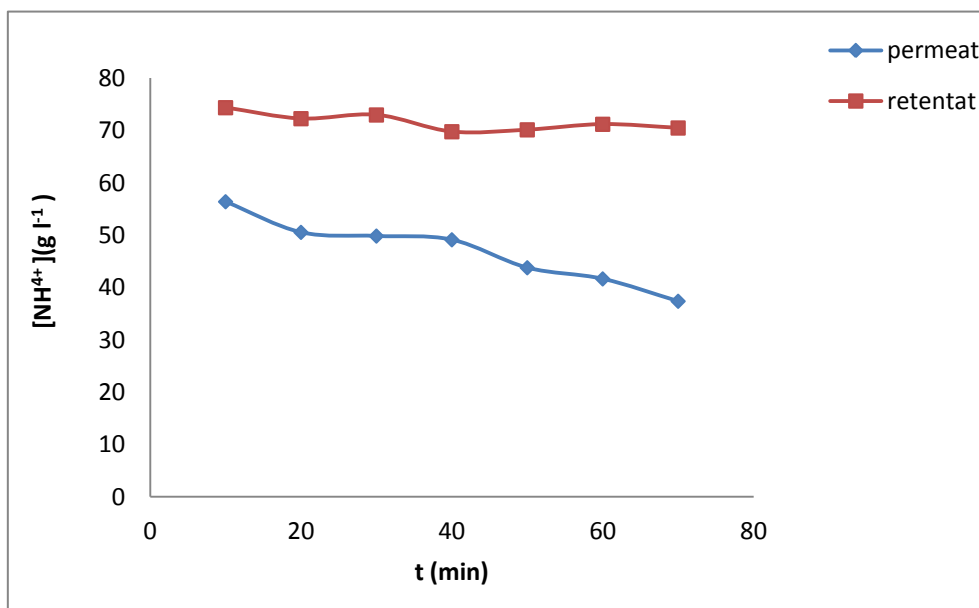


Figure n° 89 : Evolution de la concentration des ions NH_4^+ en fonction du temps

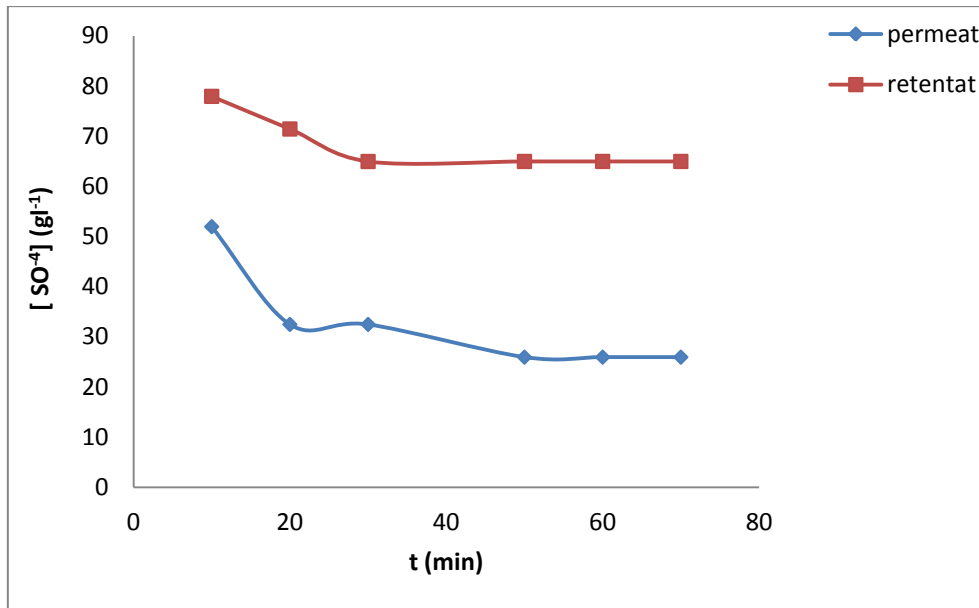


Figure n°20 : Evolution de la concentration des ions SO_4^{2-} en fonction temps

On remarque que pour ces deux ions il ya une différence de concentration entre le perméat et le retentât même si la membrane utilisée n'empêche en aucun cas le passage de ceux-ci, on explique ça par la précipitation des protéines par les sels d'ammonium au niveau de la couche de la membrane ce qui se traduit par une baisse de la perméabilité d'une part et une diminution de la concentration en sels d'ammonium et des protéines de l'autre. En effet la réaction de précipitation des protéines par les sels d'ammonium est une cinétique lente.

III -2-1.7 Régénération des membranes :

Après chaque application nous avons d'abord rincé l'appareil d'UF avec l'eau du robinet jusqu'à disparition de la mousse ensuite on a effectué des lavages chimiques qui consistent à préparer une solution de H_2SO_4 à un pH=2, puis on remplit le bac d'UF avec et on laisse l'appareil en marche, ensuite on répète la même opération mais avec de l'eau distillée puis avec une solution de NaOH à un pH=12 et pour finir on fait un rinçage à l'eau distillée. En effectuant ces étapes on arrive à une régénération de 90% de la membrane.

III-2-2 Essai d'électrodialyse :

III -2-2.1 Concentration des sels d'ammonium :

Pour ceci on a utilisé l'électrodialyse nous avons d'abord procédé a la détermination du courant limite afin d'éviter le phénomène de polarisation. Comme le montre la figure n° 21 on ne l'a pas encore atteint même après avoir fixé la valeur maximale de U à 31V. Par conséquent, il est possible de travailler sur toute cette gamme de courant.

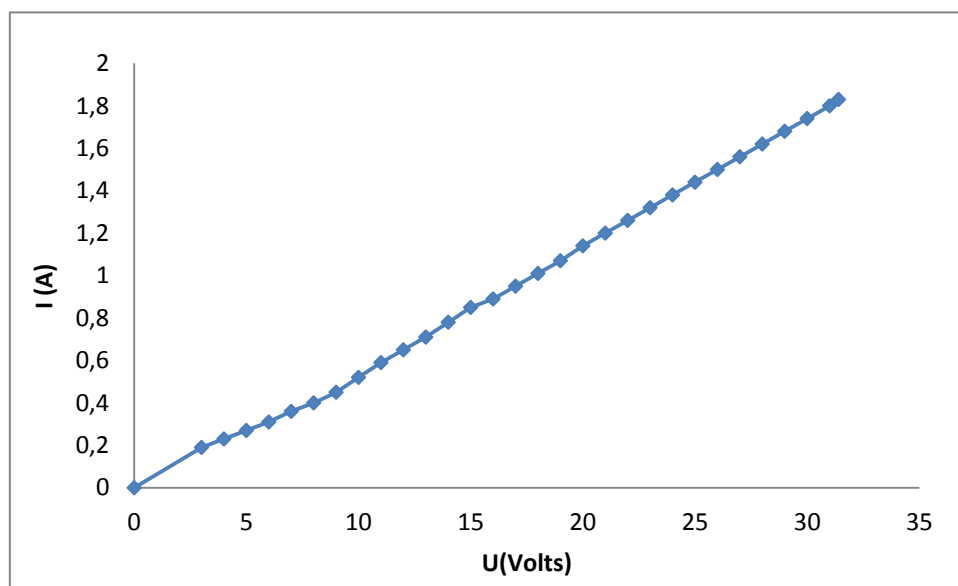


Figure n°21 : Evolution de l'intensité de courant en fonction du potentiel

Ensuite on a procédé à la concentration en sels d'ammonium pour cela nous avons introduit dans le compartiment diluât le perméat obtenu lors de l'essai de concentration par UF, nous avons fixé le courant à 0,8 A, la concentration initiale dans le compartiment diluât est de 18 g l⁻¹. Nous avons suivi la variation de trois composantes qui sont : la conductivité des compartiments concentrât et diluât, la concentration en ions SO₄⁻² et NH₄⁺.

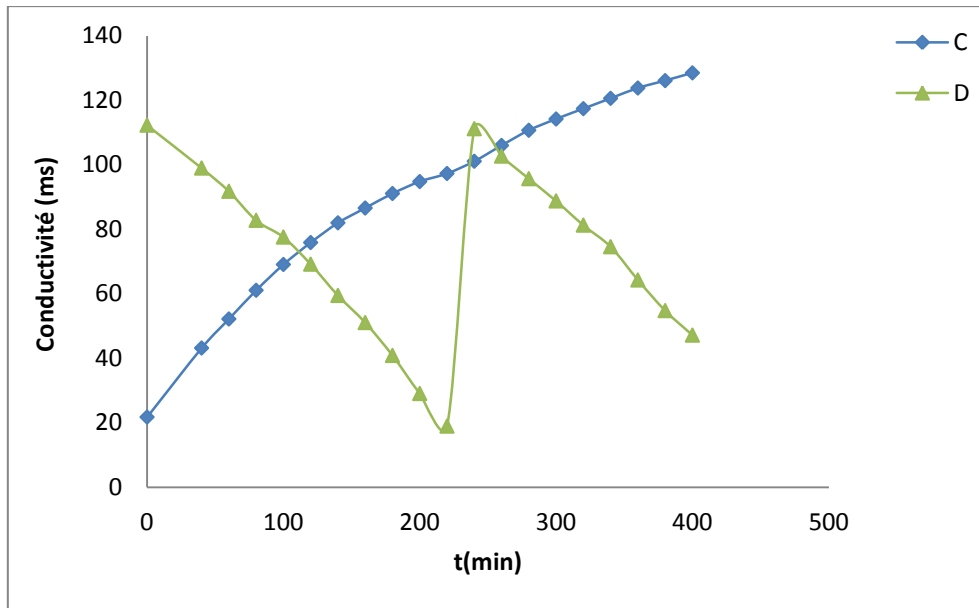


Figure n° 22: Evolution de la conductivité en fonction du temps, dans les compartiments concentrât et diluât.

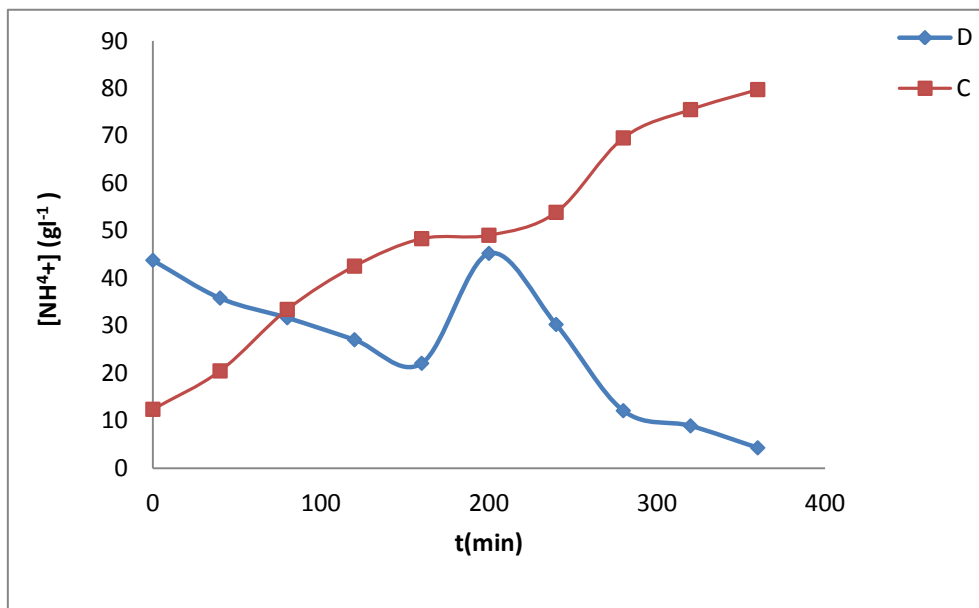


Figure n°23 : Evolution de la concentration des ions NH₄⁺ dans les compartiments concentrât et diluât en fonction du temps.

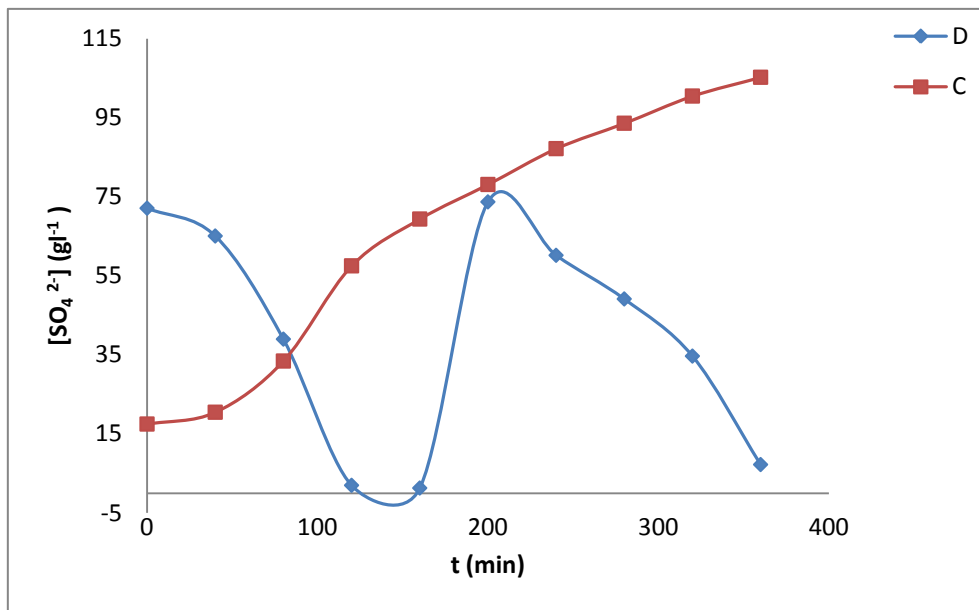


Figure n° 24: Evolution de la concentration des ions SO_4^{2-} dans les compartiments concentrât et diluât en fonction du temps

On en déduit que la baisse de la conductivité dans le compartiment diluât est due à un transfert d'ions à travers les membranes échangeuses d'ions du compartiment diluât vers le compartiment concentrât des l'application d'une différence de potentiel aux bornes de l'electrodialyseur comme le montrent les figures n°23 et 24.

Conclusion générale :

L'objectif de cette étude était la récupération de la fraction saline d'un rejet de production de sérum antiscorpionique par deux techniques membranaires : ultrafiltration et électrodialyse.

La première partie était consacrée à l'application de l'ultrafiltration sur un rejet réel, à travers ces manipulations on a pu déterminer l'influence des paramètres expérimentaux (ΔP , ΔP_f , Q_v , et U) sur le cout du procédé. En effet on a trouvé que pour ce rejet il serait plus intéressant de travailler à $U=1,45 \text{ m.s}^{-1}$ et $\Delta P=4,1 \text{ bar}$. En travaillant avec ces conditions le cout de l'opération est de 28.33 Da m^{-3} .

En seconde partie nous avons utilisé l'électrodialyse pour concentrer le perméat recueilli lors de l'essai de concentration pour en récupérer la fraction saline dans un but de la valoriser.

A l'avenir on pourrait envisager après avoir fait une étude de faisabilité à grande échelle d'introduire ces deux dispositifs à savoir l'ultrafiltration et l'électrodialyse juste après l'étape de précipitation des protéines pour gagner en efficience, en effet la réaction de précipitation des protéines ne s'arrête pas et donc on aurait beaucoup à y gagner si on réduisait le temps entre la précipitation et l'ultrafiltration, on pourrait aussi récupérer la fraction de protéines après la concentration pour l'utiliser comme compléments alimentaires ou autre et une partie des sels d'ammonium pourrait être réutilisée après un traitement approprié pour la précipitation des protéines.

Références bibliographiques

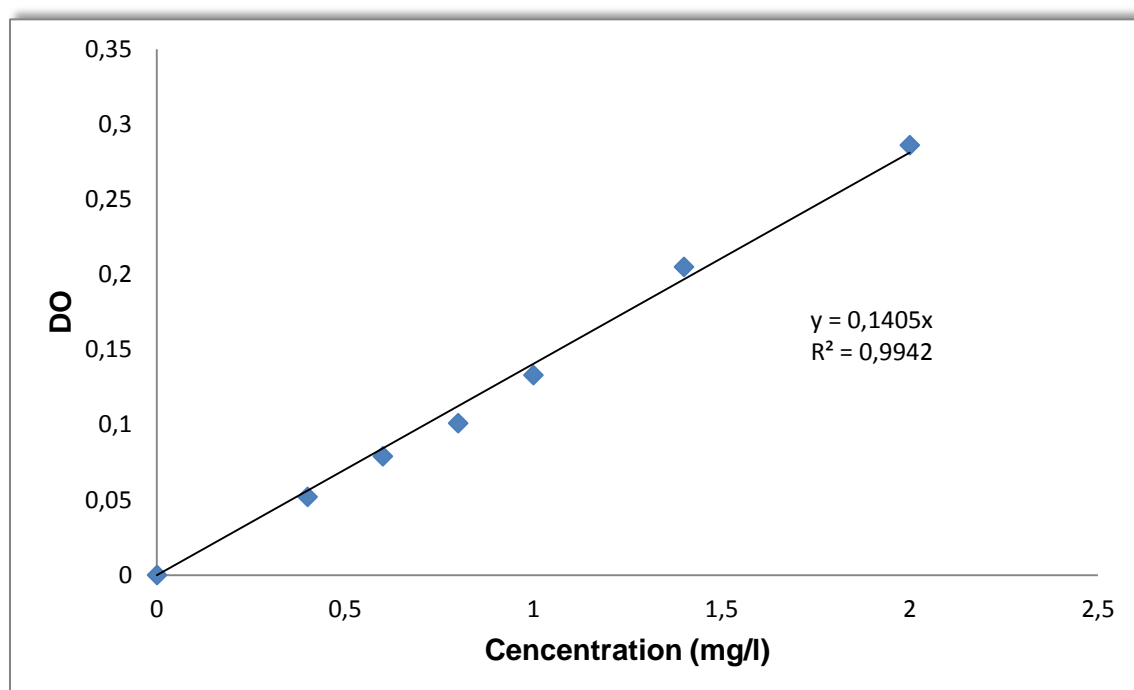
- [1] SITS, AGENCE DE L'EAU RHONE MEDITERRANEE CORSE, *Traitements de surface, épuration des eaux*, p 287 (1998).
- [2] P. APTEL, P. MOULIN, F. QUEMENEUR, C. GUIZARD, *Les cahiers du CFM (Guide de la nanofiltration)*, (2000).
- [3] B. VAN DER BRUGGEN, A. KONINCKX, C. VANDECASTEELE, *Separation of monovalent and divalent ions from aqueous solution by electrodialysis and nanofiltration*, Water Research, (2004).
- [4] S. F. E. BOERLAGE, M. KENNEDY, M. P. ANIYE, J. C. SCHIPPERS, *Applications of the MFI-UF to measure and predict particulate fouling in RO system*, Journal of Membrane Science (2003).
- [5] M. GOYFFON, M. EL AYEYB, *Epidémiologie du scorpionisme*, Infotox- Bulletin de la Société de Toxicologie Clinique, (2000).
- [6] M. P. REVELO, E. A. BAMBIRRA, A.P. FERREIRA, C.R. DINIZ, C. ORTEGUI, *Body distribution of Tityus serrulatus scorpion and effects of scorpion antivenom*, Toxicon, (1996)
- [7] J. IRUNBERRY, E. PILO-MORON, *Etude antigenique de quelques venins de scorpions du bassin Méditerranéen*, Arch. Inst. Pasteur. Algerie, (1965).
- [8] J.M. POTTER, W.T. NORTHEY, *An immunological valuation of scorpions venans*, American J. Trop. Med. Hyg. (1962).
- [9] A.B. FALL, *Les lymphangites équinees au Sénégal. Epidémiologie et étiologie*. Thèse de doctorat de l'Université de Dakar, (1988).
- [10] A. CASSADEVALL, *Passive Antibody Administration (Immediate Immunity) as a Specific Defense against Biological Weapons*, Emerging Infectious Diseases, (2002)
- [11] N. A. DE REZENDE, D. M. BORGES, D. CAMPOLINO, C. ORTEGUI, C.R. DINIZ, C.F.S. AMAREAL, *Efficacy of antivenom therapy for neutralising circulating venom antigens in patients stung by Tityus serrulatus scorpions*, Am. J. Trop. Med. Hyg. (1995)
- [12] C. CABASSUD, S. LABORIE, L. DURAND-BOURLIER, J.M. LAINE, *Air sparging in ultrafiltration hollow fibers: relationship between flux enhancement, cake characteristics and hydrodynamic parameters*. Journal of Membrane Science (2001)
- [13] - RENE et P. AIMAR coordinateurs G. DAUFIN, F- Les séparations par membrane dans les procédés de l'industrie alimentaire, Lavoisier Tec & Doc, 1998.
- [14] J.C. BOEGLIN, *Traitements physicochimiques de la pollution soluble*, Technique de l'ingénieur G 1 271 Environnement ; Technologie de l'eau (2002)
- [15] L. BÉGOIN, M. RABILLER-BAUDRY, B. CHAUFER, M.C. HAUTOBOIS, T. DONEVA, *Ageing of PES industrial spiral-wound membranes in acid whey ultrafiltration*. Desalination (2006).

- [16] **S. ROUAIX**, *Caractérisation et étude du vieillissement d'une membrane d'ultrafiltration*, Thèse de doctorat de l'Université Paul Sabatier, Toulouse, France (2005), Consultable auprès de C. Causserand
- [17] **G. DAUFIN, F. RENE, P. AIMAR**, *Les séparations par membrane dans les procédés de l'industrie alimentaire coordinateurs*, Lavoisier Tec & Doc, (1998).
- [18] **P. MOULIN, F. QUEMENEUR**, *Micro et ultrafiltration : Conduite des essais pilotes, traitement des eaux et des effluents*, Cahier du CFM n°2, (2002).
- [19] **P. APTEL**, *Filtration membranaire (OI, NF, UF). Applications en traitement des eaux*, Technique de l'ingénieur J 2 794 Génie des procédés (2006).
- [20] **P. MOUCHET**, *Traitement des eaux avant utilisation*, G 1171, G1172. Technique de l'ingénieur Environnement et Technologie de l'eau (2000).
- [21] **K. FETHI**, *La station de dessalement de Gabès. Comment le colmatage biologique a été maîtrisé*, Hydrotop, (1998).
- [22] **S.M. OUSSEDIK, N. MAMERI**, *Electro-ultrafiltration d'une solution de BSA - Etude du coût*, Désalination, (2001).
- [23] **Y. BESSIERE**, *Filtration frontale sur membrane : mise en évidence du volume filtré critique pour l'anticipation et le contrôle du colmatage*, Thèse de doctorat de l'Université Paul Sabatier (2005).
- [24] **M.Y. JAFFRIN**, *Dynamic shear-enhanced membrane filtration: a review of rotating disks, rotating membranes and vibrating systems*, Journal of Membrane Science (2008).
- [25] **B. ESPINASSE**, *Approche théorique et expérimentale de la filtration tangentielle de colloïdes : flux critique et colmatage*, Thèse de doctorat de l'Université Paul Sabatier (2003).
- [26] **B. CHAUFER, D. DELAUNAY, M. RABILLERBAUDRY, F. LUTIN**, *Anion exchange electro dialysis membrane fouled by wine: characterisation by FTIR-ATR and contact angle*. Poster at Euromembrane (2004).
- [27] **P. BACCHIN, P. AIMAR, R.W. FIELD**, *Critical and sustainable fluxes: theory, experiments and applications*, Journal of membrane science (2006).
- [28] **A. BAUDOT, S. BOURDON**, *Filtration membranaire (OI, NF, UF) : Présentation des membranes et modules*, technique de l'ingénieur, J 2796, (2012)
- [29] **R. GOULD, A.R. NITSCH**, *Lubricating oil dewaxing with membrane separation of cold solvent*. US Patent, (1996).

Annexe 1 : DOSAGE DES ions ammonium : méthode de NESSLER**Mode opératoire :**

Verser à 5mL d'échantillon à doser (convenablement dilué), 0,1 mL de réactif de NESSLER. Décaler l'ajout du réactif 1mn par tube. Laisser incuber à température ambiante pendant 10minutes après l'ajout du réactif de NESSLER. Lire la DO à 420nm.

Enfin, déduire de la courbe d'étalonnage dont la gamme de concentration est de 0 à 2 ppm en NH_4^+ , la teneur en azote ammoniacal présente de l'échantillon.



Courbe d'étalonnage NH_4^+

Annexe 2 : Dosage des sulfates par la méthode turbidimétrique

Principe :

Cette méthode est basée sur le fait que les ions SO_4^{2-} se précipitent en milieu acide et en présence du chlorure de baryum (BaCl_2) pour former (BaSO_4).

Réactifs :

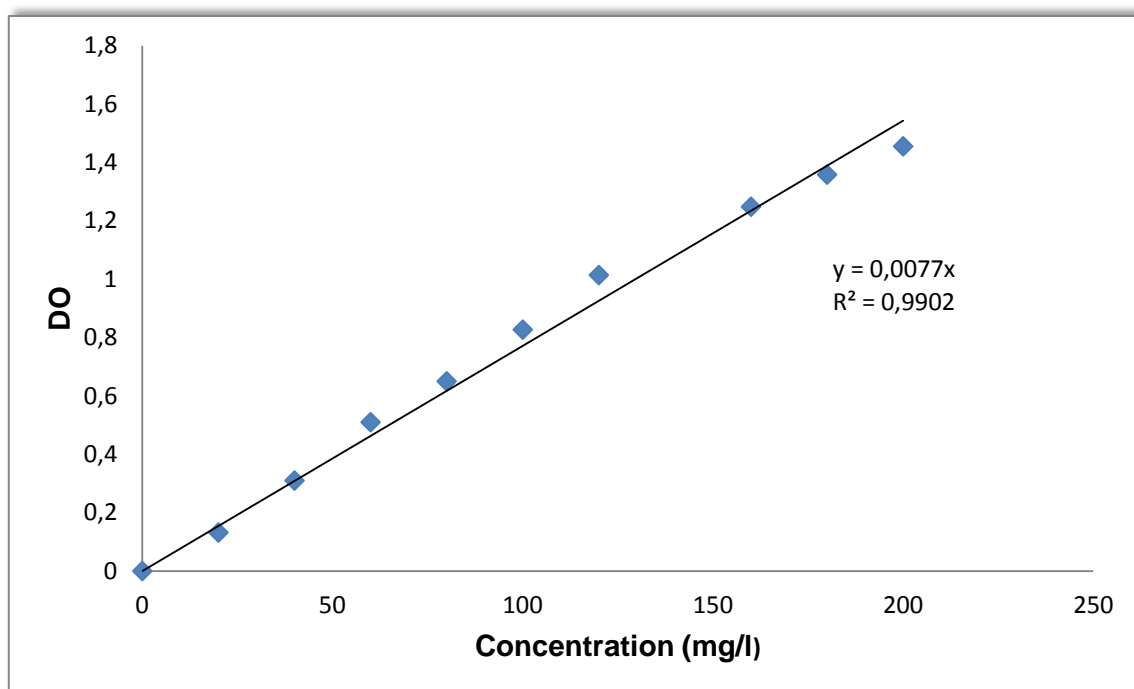
- Solution stabilisante : (chlorure de magnésium, acétate de sodium, nitrate de potassium, acide acétique).
- Chlorure de baryum.

Préparation de la solution stabilisante :

Dissoudre 30g de ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 5g ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 1g KNO_3 et 20ml CH_3COOH (99%) dans 500ml d'eau distillée puis compléter à 1L.

Mode opératoire :

- Prélever 10 ml de l'échantillon à analyser.
- Ajouter 2 ml de solution stabilisante et agiter.
- Rajouter 0,04 g de chlorure de baryum, agiter pendant 1 minute puis verser la suspension dans la cellule du photomètre.
- Attendre 3 à 4 minutes pour effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 420$ nm.
- Essai à blanc : sur une eau déminéralisée nous procédons aux mêmes étapes mais sans ajouter le chlorure de baryum



Courbe d'étalonnage des ions sulfates

Annexe 3 : Dosage des chlorures selon la méthode de MOHR : (Norme AFNOR NF T 90 014)

Principe :

On fait agir un milieu neutre, une solution de nitrate d'argent sur une prise d'essai connue en présence de chromate de potassium comme indicateur.

Réactifs :

- Solution de nitrates d'argent à 4,79 g/l.
- Solution de chromate de potassium à 50 g/l.

Mode opératoire :

- Essai à blanc : le volume de nitrates d'argent nécessaire pour produire des virages sur une eau déminéralisée.
- Prélever 10 ml de l'échantillon à analyser.
- Ajouter 0,1 ml de solution chromate de potassium.
- Doser avec le nitrate d'argent jusqu'à virage de la coloration jaune à une faible teinte brunâtre.

La teneur en chlorures de l'échantillon est donnée en milligramme d'ion Cl^-/l , suivant l'expression :

$$(v - b) \times 1000 / (V \times K)$$

v : volume de solution de nitrate d'argent utilisé (ml)

b : volume de solution de nitrate d'argent consommé par l'essai à blanc (ml)

V : volume de la prise d'essai (10 ml)

K : facteur dépendant de la dilution

Annexe 4: Mesure de la teneur en protéines

Réactif de BRADFORD :

-100mg de bleu de coomassie G250

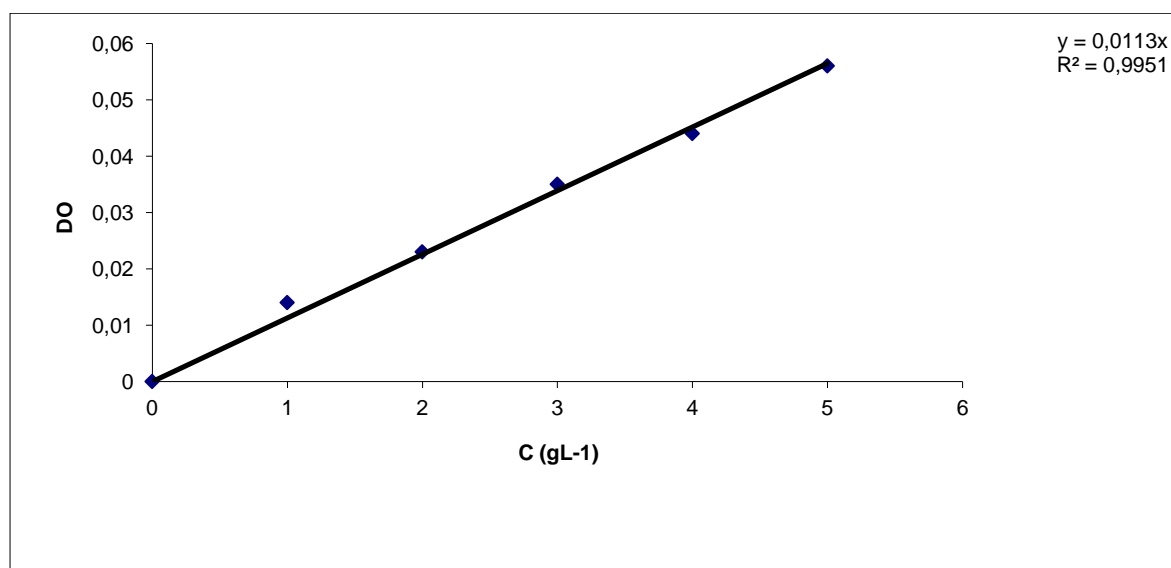
-100ml d'acide phosphorique à 85%

-50ml d'éthanol à 95%

Cette solution est dissoute dans 1l d'eau distillée ensuite filtrée dans un flacon sombre.

Mode opératoire :

Verser à 0,1 ml d'échantillon à doser (convenablement dilué), 5 ml de réactif de BRADFORD, le mélange est ensuite homogénéisé au vortex et laisser au repos à l'obscurité pendant 5mn. l'absorbance de chaque tube est lue à 595nm. Enfin, déduire de la courbe d'étalonnage la teneur en protéines présente de l'échantillon.



Courbe d'étalonnage des protéines