République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement

MEMOIRE DE MASTER

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Génie des Procédés

Option : Bioprocédés Pharmaceutiques

Thème

ETUDE EXPERIMENTALE ET THEORIQUE POUR LA PREDICTION DE L'ENERGIE DE SURFACE SUR LE PROCESSUS DE COLMATAGE EN ULTRAFILTRATION TANGENTIELLE. APPLICATION A LA PRODUCTION DES BIOSURFACTANTS EN BIOREACTEUR A MEMBRANE.

Présenté par :

Mr. MAHAMADOU HAROUNA BASSIROU

Dirigé par :

Dr. O. BENKORTBI

Pr. S. HANINI

Année universitaire 2013/2014

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement

MEMOIRE DE MASTER

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Génie des Procédés

Option : Bioprocédés Pharmaceutiques

Thème

ETUDE EXPERIMENTALE ET THEORIQUE POUR LA PREDICTION DE L'ENERGIE DE SURFACE SUR LE PROCESSUS DE COLMATAGE EN ULTRAFILTRATION TANGENTIELLE. APPLICATION A LA PRODUCTION DES BIOSURFACTANTS EN BIOREACTEUR A MEMBRANE.

Présenté par :

Mr. MAHAMADOU HAROUNA BASSIROU.

Le 21/06/2014, devant le jury composé de :

Dr. O. BENKORTBI	MCA	Rapporteur UYF-Médéa
Dr. S. HANINI	Pr	Co-rapporteur UYF-Médéa
Dr. M. Hamadache	MAA	Président UYF-Médéa
Dr. L.Khaoune	MCB	Examinatrice UYF-Médéa
Dr. M.Ainas	MAA	Examinateur UYF-Médéa

Année universitaire 2013/2014

Dedicaces



Je dédie ce modeste travail à mes parents, Ehadji Harouna Mahamadou et Hadjia Rabi Mahamadou. Pour tout votre amour, la joie d'être toujours près de moi. Dans ma vie tout peut disparaitre, mais savoir que vous êtes là dans mes veines et dans mon être même ; me pousse à aller au bout de mes espoirs et de mes projets. Les mots n'existent pas dans ce monde pour vous qualifié ni même vous remerciez. Je me contente de dire Qu'Allah vous gratifie d'un paradis éternel. Amine Suma Amine.



Je dédie ce modeste travail à mes frères, Abdoul Karim Mahamadou Harouna, Soufiane Mahamadou Harouna, Zakaria Mahamadou Harouna, Tassiou Mahamadou Harouna, Abdoul Kader Mahamadou Harouna et Roudouane le cadet. Vous êtes ce que j'ai de plus cher après nos parents bien sûr et votre soutien me garde toujours la tête hors de l'eau. Dans les moments de joie ou de tristesse vous êtes toujours en moi. Ainsi, qu'a ma petite sœur chérie Salamatou né M^{me} Ibrahim Aboubakar pour ton soutien et tes encouragements.



Je dédie ce modeste travail à mon mentor le docteur Benkotbi Othmane pour ses cinq années de formation, de joie partagée, de respect réciproque et de soutien. Que ce travail vous témoigne de ma satisfaction et de ma reconnaissance.



Je dédie ce modeste travail aussi à mon oncle Mr Abdoulaye Cyprien DGI-Niamey, pour son soutien, son attention particulière et sa patience. Que ce travail vous témoigne de mon respect et de ma satisfaction.



Je dédie ce modeste travail enfin à ma cousine Sara Salifou pour son soutien. Trouve ici, cousine tout mon amour et ma reconnaissance pour ton soutien. Et à mon amie M^{lle} Dilimi Habiba.

Remerciements

Je remercie tout d'abord le Dr. Hamadache Mabarouk (UYF-Médéa), pour son concours, son soutien particulier, sa patience. Ainsi, accepté de présider le jury et l'ensemble du jury de ma soutenance.

Je remercie également Mr. Belhadj Hichem (UYF-Médéa), pour son soutien, ses conseils sans cesses prodigués tout au long de ma formation.

J'adresse également mes sincères remerciements au Pr. Hanini Salah (UYF-Médéa), pour sa participation, son concours, ses conseils, et son encadrement dans la réussite de ma formation et dans la réalisation de ce projet.

Je tiens également à remercier l'ensemble du corps enseignant du département du génie des procédés et environnement (UYF-Médéa), pour leurs concours dans la réussite de ma formation.

Je remercie aussi le personnel de la station d'épuration de l'ONA-médéa pour l'aide dont ils ont fait preuve à notre égard pour la réalisation de ce projet.

Je remercie également Mr. Abde-Latif Belhadj de l'hôpital de Médéa pour son aide précieuse lors de la réalisation de ce projet.

J'adresse aussi mes sincères remerciements au Dr. Arbia Wassila (UYF-Médéa), pour tous ses efforts et son soutien.

Je tiens également à remercier le Pr. Bouaziz directeur du Laboratoire de recherche LBMPT pour m'avoir autorisé afin de réaliser mes expériences dans son Laboratoire.

Je remercie également les ingénieurs de laboratoire à savoir Bakir Terki Othmane du LBMPT, Leila Garomi, Mourad et Billal du Hall de technologie de médéa.

Je remercie aussi tous mes amis tant du Niger que de l'Algérie pour leurs amours tant précieux et réciproques et pour leurs soutiens.

Pour tous ce que je n'ai pas cités, recevez mes meilleures salutations pour votre concours, vos participations et votre soutien.

Merci.

Résumé

L'objectif de ce projet est la prédiction de l'énergie de surface en ultrafiltration tangentielle dans le processus de colmatage lors d'un bioprocédé de production d'un biosurfactant à usage industriel par *Pseudomons aeruginosa* ATCC 27853 / *Glucolipides* / *Rhamnolipides* en recyclant une boue morte d'hydrocarbure. Le colmatage est un phénomène physique, chimique et biologique, qui est à l'origine de l'arrêt de la filtration par formation d'un gâteau sur la surface de la membrane. Le dispositif expérimental est un bioréacteur à membrane externe, boucle de recyclage à l'échelle laboratoire. La culture est aérobie sur un milieu dont la source de carbone et d'énergie est essentiellement de la boue morte, car les biosurfactants sont même spécifiques du substrat de croissance. Le but de la culture est de recyclée la boue afin de prévenir les dommages sur l'environnement dues à la pollution des hydrocarbures. Ainsi, les données recueillies sur l'ensemble du procédé ont permis de modéliser l'équation de filtration par gâteau à pression transmembranaire constante, de prédire les paramètres pertinents à citer l'énergie de surface spécifique de la membrane, l'énergie de surface de la couche du gâteau, la nature du gâteau, la résistance hydraulique du gâteau, la résistance membranaire, la cinétique du processus de filtration et de colmatage et la productivité du système.

Mots Clés : Colmatage, Membrane interne, Modélisation, Biosurfactant, Boue morte.

Summary

The objective of this project is the prediction of the energy of surface in tangential ultrafiltration in the process of sealing during a bioprocess of production of a biosurfactant with industrial use by *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 / Glucolipides / Rhamnolipides* by recycling a mud from hydrocarbon bacteria growth. The sealing is a physical, chemical and biological phenomenon, which is at the origin of the stop of the filtration by training of a cake on the surface of the membrane. The experimental device is a bioreactor with external membrane, buckle of recycling in the scale laboratory. The culture is aerobic on an environment the source of carbon and energy of which is essentially some dead mud, because biosurfactants is even specific of the substratum of growth. The purpose of the culture is of recycled the mud to warn the damage on the environment owed to the pollution of hydrocarbons. So, the data collected on the whole process allowed to model the equation of filtration by cake with pressure constant transmembranaire, to predict the relevant parameters

to quote the energy of specific surface of the membrane, the energy of surface of the coa of the cake, the nature of the cake, the hydraulic resistance of the cake, the resistance membranaire, the kinetics of the process of filtration and sealing, the energy of surface of the fraction of recycling and the productivity of the system.

Keywords: Sealing, Membrane interns, Modelling, Biosurfactant, Dead Mud.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE 1

Chapitre I : Les bioprocédés membranaires

I.1. GENERALITES 3
I.1.2. BIOREACTEURS A MEMBRANE 4
I.1.2.1. Description du bioréacteur à membrane 4
I.1.2.2. Fermenteur du laboratoire 6
I.1.2.3. Transferts de matière 7
I.1.2.4. Transfert de chaleur 8
I.1.3. DIMENSIONNEMENT DU BIOREACTEUR A MEMBRANE 9
I.1.3.1. Bilan sur le bioréacteur 9
I.1.3.2. Bilan sur la biomasse avec X_0 négligeable 11
I.1.3.3. Bilan sur le substrat 11
I.1.3.4. Bilan sur le séparateur 12
I.1.4. SOUCHE DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA 13
I.1.4.1. Description et Identité 13
I.1.4.2. Lipopolysaccharide (LPS) 14
I.1.4.5. EPS (Extra Polymeric Substances) 15
I.1.5. CULTURE EN BIOREACTEUR A MEMBRANE 16
I.1.6. LES BIOSURFACTANTS 16
I.1.6.1. Caractérisation des Biosurfactants et Tensio-actifs 17
I.1.6.2. Nature Chimique des Biosurfactants 18
I.1.6.3. Classification des Biosurfactants 19
I.1.7. CONCLUSION 19

Chapitre II : Les membranes

II.1. GENERALITES SUR LES MEMBRANES 20
II.1.1. DEFINITION 20
II.1.2. Classification des membranes 21
II.1.2.1. Classification d'après le mécanisme de séparation 21
II.1.2.2. Classification d'après la morphologie 22
II.1.2.3. Classification d'après la géométrie de préparation des membranes 22
II.1.2.4. Classification d'après la nature chimique 23
II.1.3. CARACTERISTIQUES DES MEMBRANES 23

II.1.3.1. Sélectivité d'une membrane 23
II.1.3.2. Perméabilité d'une membrane (K) 24
II.1.3.3. Taille des pores ou porosité 25
II.1.3.4. Géométrie Des Modules 25
II.1.3.5. L'influence de la température sur la perméabilité de la membrane (K) 27
II.1.3.6. Resistance d'une membrane (R_m) 27
II.1.4. DIFFERENTS TYPES DES PROCEDES DE SEPARATION MEMBRANAIRE 28
II.1.4.1. La microfiltration (MF) 28
II.1.4.2. L'ultrafiltration (UF) 28
II.1.4.3. La nanofiltration (NF) 29
II.1.4.4. L'osmose inverse (OI) 29
II.1.5. PRINCIPES DE MISE EN ŒUVRE DES MEMBRANES 30
II.1.5.1. L'écoulement frontal 30
II.1.5.2. L'écoulement tangentiel 31
II.1.6. MECANISME DE TRANSPORT DANS LES CANAUX D'ECOULEMENT TANGENTIEL 32
II.1.6.1. Mécanisme de type diffusionnel 33
II.1.6.2. Mécanisme du type capillaire 35
II.1.6.3. Mécanisme de type phénoménologique « boîte noire » 35
II.1.7. POLARISATION DE LA CONCENTRATION 37
II.1.8. CONCLUSION 38

Chapitre III : Le colmatage

III.1. GENERALITES SUR LE COLMATAGE 39
III.1.1. FACTEURS INFLUENÇANT LE COLMATAGE DES MEMBRANES 40
III.1.1.1. Effet du pouvoir ionique 40
III.1.1.2. Effet de la présence des cations divalents (Ca^{2+}) 41
III.1.1.3. Effet du pH de la solution à filtrer 41
III.1.1.4. Effet du flux de perméation initiale (J_P) 42
III.1.2. MODELES DE COLMATAGE 44
III.1.2.1. Modèle de colmatage par blocage complet des pores 44
III.1.2. 2. Modèle standard de colmatage par blocage des pores 45
III.1.2. 3. Modèle de filtration sur gâteau 46
III.1.2. 4. Modèle des résistances en série 48

III.1.3. INDICATEURS DE COLMATAGE 50
III.1.3.1. Standard Density Index 51
III.1.3.2. Modified Fouling Index 52
III.1.3.3. Modified Fouling Index – Ultrafiltration 55
III.1.4. CONCLUSION 57

Chapitre IV : Procédure expérimentale

IV.1. OBJECTIF 59
IV.1.2. DIMENSIONNEMENT DU BIOREACTEUR 59
IV.1.2.1. Transfert de Chaleur 59
IV.1.2.2. Transfert de masse «k_{la}» 60
IV.1.3. MATERIEL ET METHODES 61
IV.1.3.1. Dispositif et accessoires 61
IV.1.3.2. Milieu de culture et d'identification 62
IV.1.3.2.1. Milieu de culture 62
IV.1.8.2.2. Milieu d'identification 63
IV.1.4. ADAPTATION DE LA SOUCHE A LA SOURCE DE CARBONE 65
IV.1.5. CULTURE 65
IV.1.6. CULTURE EN BIOREACTEUR 65
IV.1.7. PRODUITS CHIMIQUES 66
IV.1.8. METHODES D'ANALYSE 67
IV.1.8.1 . Substrat Carboné « DCO Spectrophotométrique » 67
IV.1.8.1 .1. Principe de la mesure de la DCO 67
IV.1.8.1.2. Manipulation 68
IV.1.8.1.3. Préparation des échantillons 68
IV.1.8.1.4. Digestion 68
IV.1.8.1.5. Conditions de validation du dosage 69
IV.1.8.2. Substrat Azoté « Dosage Volumétrique » 69
IV.1.8.2.1. Préparation des solutions 70
IV.1.8.2.2. Principe du titrage volumétrique 70
IV.1.9. STERILISATION 71
IV.1.9.1. Principes de la stérilisation 71
IV.1.9.1.1. Principe de l'autoclavage 71

IV.1.9.1.2. Principe de la chaleur sèche Procédé dit « Poupinel » 73

IV.1.10. SEPARATION MEMBRANAIRE 73

IV.1.10.1. Description de l'unité d'ultrafiltration 73

IV.1.10.2. Plan des Essais d'ultrafiltration tangentielle 74

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1. DIMENSIONNEMENT DU BIOREACTEUR 75

V.1.1. PLAN D'EXPERIENCE 75

V.1.1.1. Transfert de Chaleur 76

V.1.1.2. Analyse Graphique des résultats 77

V.1.1.3. Transfert de masse «k_{la}» 80

V.1.1.4. Interprétation 81

V.1.1.5. Conclusion du dimensionnement 85

V.1.2. CONDITIONNEMENT DE LA BOUE 86

V.1.3. DOSAGE DE LA SOURCE DE CARBONE 87

V.1.4. DOSAGE DE LA SOURCE D'AZOTE 89

V.1.5. IDENTIFICATION DE LA SOUCHE ET TEST DE CONFIRMATION 89

V.1.6. ADAPTATION A LA SOURCE DE CARBONE 91

V.1.7. CULTURE 92

V.1.8. SEPARATION MEMBRANAIRE 97

V.1.8.1. Déroulement des Essais de filtration tangentielle 97

V.1.8.2. Compaction de la membrane 99

V.1.8.3. Régénération de la membrane 101

CONCLUSION GENERALE 102

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 103

Liste des abréviations

Lettre	Signification	Unité
A	Surface de la section droite du fermenteur	Mètre carrée
BàM	Bioréacteur à membrane	-
C_s	Concentration du substrat carboné	Milligramme/litre
C	facteur de concentration	-
cp	Chaleur massique de l'eau	Kilojoule/kilogramme/kelvin
DCO	Demande chimique en oxygène	Milligramme d'oxygène /litre
DBO_5	Demande biochimique en oxygène	Milligramme d'oxygène /litre
D.O	Densité optique	-
D	Taux de dilution	1/heure
d_c	Diamètre du fermenteur	mètre
d_a	Diamètre de l'agitateur	mètre
d_R	Diamètre de la double enveloppe	mètre
E_R	Ecart relatif	%
EI_{24}	Indice d'émulsification 24 heures	%
ES_{5j}	Stabilité des émulsions sur 5 jours	%
F_{out}	Flux de sortie d'eau	Mètre cube/heure
Fr	Nombre de Froude	-
g	Accélération de la pesanteur	Mètre/seconde carrée
G	Débit gazeux	Mètre cube/seconde
G_s	Conductance du milieu fermentatif	Milli-siemens
G	Conductance	Watt/kelvin
h	Coefficient de transfert de chaleur	Watt/mètre carrée/kelvin
H_a	Hauteur utile de l'arbre d'agitation	mètre
H_{utile}	Hauteur utile du fermenteur	mètre
J_{p0}	Flux de perméation initial	Mètre/seconde
J_p	Flux de perméation	Mètre/seconde
K	Facteur de dilution	-
k_{la}	Coefficient de transfert de masse	1/seconde
L	Longueur de la double enveloppe	mètre
L_c	Epaisseur du gâteau	mètre
L_m	Longueur de la membrane	mètre
MES	Matières en suspension	Kilogramme/mètre cube
Np	Nombre de puissance	-
N/C	Rapport azote carbone	-
Na	Nombre d'aération	-
N_{adc}	Nombre d'aération en régime de dispersion	-
np	Nombre de pâle	-
N	Vitesse d'agitation	Tour/minute ou tour/seconde
NO_3	Quantité ou nombre de mole des nitrates	Gramme ou mol
O.P	Pourcentage d'oxydation	%
P	productivité	gramme
P_g	Puissance d'agitation en milieu aéré	watt
P	Puissance d'agitation en milieu non aéré	watt
P_g/V	Puissance volumique	Watt/mètre cube
P_g/P	Rapport de puissance	-
Q_{exch}	Chaleur échangée	watt

Qag	Chaleur due l'agitation	watt
R_m	Résistance membranaire	1/mètre
R_c	Résistance due au colmatage	1/mètre
Re	Nombre de Renault	-
R_{th}	Résistance thermique	Kelvin/watt
R	Coefficient de corrélation	-
r_s	Vitesse consommation de substrat	1/heure
r_{max}	Vitesse maximale de consommation de substrat	Gramme/litre.heure
r_{NO3}	Vitesse de consommation des nitrates	1/heure
r_p	Vitesse de production	Milligramme/litre.heure
S_e	Surface d'échange de la chaleur	Mètre carrée
S_f	Surface de filtration	Mètre carrée
$T°_{i-e}$	Répartition de la température	kelvin
t	temps	seconde
$T°$	température	kelvin
T	Transmittance	%
t_M	Temps de mélange	seconde
U_g	Vitesse superficielle du gaz	Mètre/seconde
UFT	Ultrafiltration tangentielle	-
UFF	Ultrafiltration frontal	-
V_{SD}	Volume de la solution de digestion	millilitre
V_{RA}	Volume du réactif acide	millilitre
V_f	Volume filtré	Mètre cube
V_{utile}	Volume utile du bioréacteur	Mètre cube
V_t	Vitesse tangentielle	Mètre/seconde
V_D	Vitesse Darcienne	Mètre/seconde
w	taux de recyclage	-
X	Biomasse	gramme
X_0	Biomasse inoculée	gramme
$Y_{X/S}$	Rendement biomasse substrat carboné	%
$Y_{P/S}$	Rendement production substrat carboné	%

Liste des lettres grecques

Lettre grecque	**Signification**	**Unité**
α	Résistance spécifique du gâteau	Mètre/kilogramme
ΔT_{f-b}	Différence de température entre fermenteur et bain marie	kelvin
ΔP_m	Pression transmembranaire	Pascal
ϕ	Flux de chaleur évacuée	Watt
Φ	Densité du flux	Watt/mètre carrée
γ	Energie de surface totale	Millinewton/mètre
γ_{Lc}	Energie de surface du gâteau colmatant	Millinewton/mètre
γ_{Lm}	Energie de surface de la membrane	Millinewton/mètre
$\lambda = k$	Conductivité thermique	Watt/mètre/kelvin
μ_l	Viscosité dynamique du milieu	Pascal.seconde
ε	Porosité de la membrane	-
ρ_l	Masse volumique	Kilogramme/mètre cube
θ	Taux de bioconversion	%

Liste des figures

Figure I.1 : Bioréacteur à membrane avec boucle externe (exemple d'un système de traitement des eaux). 5
Figure I.2 : Bioréacteur à membrane immergée (exemple d'un système de traitement des eaux) 5
Figure I.3 : Structure d'un fermenteur de laboratoire sans boucle de recyclage 7
Figure. I.4 : Appareil bioréacteur à membrane 10
Figure I.5 **:** *Pseudomonas aeruginosa*, (Campanac *et al.* 2002) 14
Figure I.6 : Rhamnolipide produit par Pseudomonas aeruginosa 17
Figure I.7 : Comportement des biosurfactants en Milieu aqueux 18
Figure II.1 : Membrane sélective (adaptée après Malleviale et al., 1996) 21
Figure II.2 : Cellule de Filtration Frontale (adapté après Belfort et al. 1994) 31
Figure II.3 : Écoulement tangentiel 32
Figure II.4 : Variation du taux de rejet d'une membrane de type capillaire en fonction de la pression appliquée 36
Figure III.1 : L'effet du pouvoir ionique sur le colmatage par la matière organique 40
Figure III.2 : L'effet de la Concentration en Ca^{2+} sur le colmatage par la matière organique 41
Figure III.3 : L'effet du pH de la solution sur le colmatage par matière organique 42
Figure III.4 : L'effet du flux de perméation initiale sur colmatage par la matière organique 43
Figure III.5 : Les résistances dans le modèle des résistances en série, avec les flux de perméation correspondantes 48
Figure III.6. : Représentation graphique t/V versus V avec la mise en évidence de la pente de la zone linéaire tan α 52
Figure III.7. : Montage expérimental pour déterminer le MFI-UF (Boerlage et al 2002) 54
Figure IV.1 : Dispositif expérimental 58
Figure IV.2 : Schéma de la préparation des échantillons à doser 66
Figure V.1 : Evolution des paramètres de transfert de chaleur en fonction de la vitesse d'agitation 76
Figure V.2 : Evolution de la conductivité du milieu en fonction de la vitesse d'agitation 77
Figure V.3 : Evolution du coefficient de transfert de chaleur en fonction de la vitesse d'agitation 77
Figure V.4 : Répartition de la température en fonction de la vitesse d'agitation 78
Figure V.5 : Evolution du nombre de puissance en fonction du Reynolds 80
Figure V.6 : Prédominance de la puissance volumique sur les paramètres de transfert de masse à G = 150 l/h 81
Figure V.7 : Prédominance de la puissance volumique sur les paramètres de transfert de masse à G = 125 l/h 81
Figure V.8 : Prédominance de la puissance volumique sur les paramètres de transfert de masse à G = 75 l/h 82
Figure V.9 : Rapport de puissance en fonction du nombre d'aération 83

Figure V.10 : Résultats du conditionnement de la boue 85

Figure V.11: Transmittance en fonction de la concentration du substrat carboné. 86

Figure V.12 : dispositif de digestion pour la DCO Spectrométrique 86

Figure V.13 : les solutions étalons après digestions 87

Figure V.14 : culture sur gélose au cétrimide et test d'identification de Pseudomanas aeruginosa ATCC 27853 88

Figure V.15 : test d'adaptation, de mobilité et de fermentation oxydative de Pseudomanas aeruginosa ATCC 27853 89

Figure V.16 : croissance de la biomasse en fonction du temps 91

Figure V.17 : Densité optique de la biomasse en fonction du temps 91

Figure V.18 : Culture type d'un phénomène de diauxie 92

Figure V.19 : Evolution de l'indice d'émulsification en fonction du temps 93

Figure V.20 : Evolution de la stabilité des émulsions en fonction du temps après cinq jours 93

Figure V.21 : Evolution de la conductivité du milieu en fonction du temps 94

Figure V.22 : Schéma du montage de filtration tangentielle 97

Figure V.23 : t/vf en fonction du temps t pour l'essai N°1 103

Figure V.24 : t/vf en fonction du temps t pour l'essai N°2 103

Figure V.25 : t/vf en fonction du temps t pour l'essai N°3 104

Figure V.26 : t/vf en fonction du temps t pour l'essai N°4 104

Figure V.27 : $-\ln \gamma = f(\ln t)$ pour l'essai N°1 107

Figure V.28 : $-\ln \gamma = f(\ln t)$ pour l'essai N°2 107

Figure V.29 : $-\ln \gamma = f(\ln t)$ pour l'essai N°3 108

Figure V.30 : $-\ln \gamma = f(\ln t)$ pour l'essai N°1 108

Liste des tableaux

Tableau IV.1 : Liste des produits chimiques utilisés 64
Tableau IV.2 : Equations de titrage (oxydoréduction). 68
Tableau V.1 : Matrice du plan d'expérience 2** (K-p) Standard designs (Box, Hunter et Hunter) 74
Tableau V.2 : Valeurs de la température en fonction du temps et de la vitesse d'agitation 75
Tableau V.3 : Valeurs des différents paramètres de la chaleur en fonction des valeurs de vitesse d'agitation 75
Tableau V.4 : différents paramètres de transfert de masse à G = 75 L.h-1 à 37°C 78
Tableau V.5 : différents paramètres de transfert de masse à G = 125 L.h-1 à 37°C 79
Tableau V.6 : différents paramètres de transfert de masse à G = 150 L.h-1 à 37°C 79
Tableau V.7 : Les points étalons et ceux retenus pour l'étalonnage 85
Tableau V.8: Résultats de la culture 90
Tableau V.9 : Energie de surface calculée sur les différents Essais 101
Tableau V.10 : valeurs de la cinétique de colmatage 105
Tableau V.11 : Valeurs extraites des graphes de régression linéaires pour les quatre essais 106

INTRODUCTION GENERALE

L'utilisation des bioprocédés membranaires présente deux intérêts majeurs. La possibilité de séparer, d'extraire, de concentrer, de purifier des produits d'intérêts sans l'ajout d'adjuvant, ni changement de phase à basse température. Une grande surface d'échange par unité de volume en utilisant différents types de modules. Ainsi, les procédés de séparation membranaire ont pris une place importante dans divers domaines comme la production d'eau potable à partir de l'eau de mer, la saccharification enzymatique des résidus d'huile d'olive, le traitement des eaux et des effluents industriels et domestiques, la purification et le fractionnement des solutions macromoléculaires dans les domaines des biotechnologies pharmaceutiques et agroalimentaires.

Concernant les applications industrielles, on distingue trois types d'applications en fonction du procédé de filtration à savoir la concentration et récupération du concentrât par ultrafiltration ou osmose inverse ; le fractionnement, séparation et récupération de plusieurs solutés de poids moléculaires différents généralement par ultra ou nanofiltration et la clarification récupération du perméat par microfiltration. Le problème de colmatage reste une préoccupation majeure, quant à l'utilisation des procédés membranaires dans divers domaines de la recherche et de l'industrie. De nos jours d'énormes sommes d'argent sont dépensées en vue de solutionner le problème de colmatage du fait de certains mécanismes non maitrisés. Celui-ci reste indélébile face aux efforts considérables déployés.

La tension superficielle est une énergie de surface des liquides générée par les interactions existantes entre les molécules interne et celles de la surface qui sont différentes. L'élévation de la température dans les puits pétroliers estimées a 1°C tous les trente mètres, la qualité de l'extraction brut, le transport du pétrole, le défis d'utiliser des huiles brutes lourdes, bitumes et de sables bitumineux, qui sont abondants dans de nombreuses parties du monde et qui peuvent représenter l'énergie à base d'hydrocarbures de l'avenir sont là quelques problèmes dont font face les industries pétrolières de nos jours. Ils sont liés aux mauvaises qualités des extraits bruts extrêmement visqueuses, densité supérieure à celle de l'eau, présences des solides à température ambiante et en outre riche en soufre et d'autres métaux, ce qui nécessite de nouvelles technologies pour la mise à niveau.

Les méthodes traditionnelles de production, transport et du raffinage ne sont pas adaptés pour les huiles lourdes et ont besoin d'être améliorées. Ainsi, face à tous ces défis, la biotechnologie se veut un outil sans réserve, innovant, créatif, prometteur, propre face à l'environnement et simple à maîtriser pour une industrie pétrolière rentable, productive, avec une production toujours en croissance. Les recherches microbiologiques et biotechnologiques pour l'industrie pétrolière ont été mise en place ces dernières années en ce qui concerne plusieurs domaines d'intérêt tels que la bio-corrosion et l'encrassement biologique, la dégradation des hydrocarbures dans les réservoirs de pétrole, d'où des enzymes et des biocatalyseurs pour la mise à niveau du pétrole. Les biosurfactants et bio-émulsifiants sont un nouveau groupe de molécules et d'entre les bioproduits les plus puissants et polyvalents que la biotechnologie microbienne moderne peut offrir.

Les biosurfactants sont un groupe de molécules microbiennes identifiés par leurs capacités uniques pour interagir avec des hydrocarbures. Émulsification et démulsification, de dispersion, moussant, mouillant et le revêtement sont quelques unes des nombreuses activités de surface des biosurfactants. Lorsqu'ils sont appliqués dans les systèmes tels que les liquides non miscible / liquide (par exemple, huile / eau), solide / liquide (par exemple, rock / huile et rock / eau) et gaz / liquide, les biosurfactants ont des avantages particuliers par rapport à leurs homologues fabriqués chimiquement en raison de leur non toxicité, de leur nature biodégradable et leur efficacité à des températures extrêmes, le pH et la salinité. Ils peuvent être fabriqués à partir de substrats renouvelables.

Les tensioactifs microbiens ont des applications potentielles dans l'industrie pétrochimique pour améliorer la récupération du pétrole et de la bioremédiation des hydrocarbures. Par conséquent, les possibilités d'exploitation de ces bioproduits dans l'industrie pétrolière sont très vastes et ont fait leur plus grand marché possible. Le rôle de biosurfactants en récupération du pétrole dans les réservoirs est certainement la meilleure application connue. Mais ils peuvent être effectivement appliqués dans de nombreux autres domaines du transport du pétrole brut, d'huile dans la canalisation à l'assainissement des réservoirs de stockage de pétrole et même la fabrication de produits pétrochimiques fines. Lorsqu'il est utilisé correctement, un biosurfactant est comparables à des analogues chimiques traditionnels en termes de performances et offrent des avantages en matière de protection de l'environnement (conservation, biodégradation).

De plus le traitement des boues d'huile des industries pétrolières n'est généralement d'une grande efficacité. Ce qui pose d'énormes problèmes dans l'environnement (pollution lentement par pénétration des sous sols et atteinte a la qualité des eaux des nappes phréatiques) d'où l'application des bioprocédés afin d'y remédier et d'optimiser la production pétrolière par récupération des huiles dans les effluents pétroliers. Ce projet vise à donner un aperçu sur le rôle des biosurfactants, les applications et utilisations futures possibles liés à l'industrie pétrolière.

Le présent travail faisant l'objet de cette étude, est subdivisé en deux grandes parties :
Une première partie théorique regroupant trois chapitres (Les bioprocédés membranaires et les biosurfactants, Généralités sur les membranes et Généralités sur le colmatage).
Une seconde partie expérimentale consacrée à la mise au point d'une méthode de traitement de surface pour la prédiction de l'énergie de surface du processus de colmatage en ultrafiltration tangentielle.

L'étude se termine par une conclusion générale regroupant tous les résultats obtenus et des perspectives qui pourront être envisagées pour le futur.

I.1. GENERALITES

C'est en observant la nature que l'homme a généralement tiré ses meilleures découvertes. Ainsi, les membranes utilisées pour la filtration dans le domaine du traitement des eaux s'inspirent directement des membranes que l'on trouve dans les milieux naturels comme celles des cellules vivantes (Wilderer et Paris, 2007). En effet, ces dernières servent de frontière entre les mondes intérieur et extérieur mais aussi de moyen de transport sélectif des molécules ainsi que de lieux pour des réactions biochimiques.

Les membranes sont d'abord apparues dans le domaine de l'eau potable puis elles ont investi les eaux usées et les biotechnologies où elles ont remplacé le clarificateur pour la séparation de la boue et de l'eau traitée. C'est à la fin des années 60 que des ingénieurs de la société Dorr-Oliver (Rugby, Royaume-Uni) développèrent les premiers bioréacteurs à l'aide de membranes d'ultrafiltration (Smith *et al.*, 1969). Associé à Sanki Engineering Co. Ltd (Nihonbashi-Muromachi, Japon), Dorr-Oliver entra sur le marché japonais au début des années 1970, les bioréacteurs à membranes (BàM), qui connurent un fort essor. Ainsi, ils étaient déjà largement répandus dans les années 80 au Japon pour le traitement des eaux résiduaires urbaines (ERU) et en particulier pour la réutilisation de l'eau dans les immeubles japonais. Les membranes étaient utilisées en boucle externe, situées à l'extérieur du bassin entraînant et non immergées, alors occasionnant des coûts élevés en consommation énergétique. C'est pourquoi, en dehors du Japon, le procédé restait peu utilisé et plutôt restreint au traitement des eaux industrielles. Parmi les autres procédés qui se sont développés ces dernières années, tels les biofiltres, les BàM ne constituent pas seulement une légère amélioration du système conventionnel par boues activées. En effet, les membranes d'ultrafiltration permettent d'obtenir une qualité d'eau qui la rend réutilisable sous certaines conditions (arrosage municipal, procédés industriels, prétraitement pour potabilisation, …). Le développement des procédés membranaires en biotechnologie n'en est encore qu'à ses débuts mais leur capacité à produire une eau qui soit réutilisable représente sans doute une étape importante dans le domaine du traitement des eaux résiduaires urbaines et au-delà dans le domaine des biotechnologies microbiennes.

Les biosurfactants appelés aussi agents tensio-actifs ou agents de surface sont des substances amphiphiles. Leurs molécules sont formées d'une partie hydrophile et d'une partie hydrophobe ou lipophile. Zajic et Supplisson (1972) ont démontré qu'en réalité, l'émulsion des hydrocarbures dans l'eau n'est pas favorisée uniquement par une simple agitation mécanique, mais qu'elle doit être attribuée à des produits excrétés par les microorganismes. En effet, la croissance de ces microorganismes, bactéries levures, champignons et même certaines espèces marines de

phytoplancton (Zutic et al, 1981) sur des hydrocarbures non miscibles et insolubles dans le milieu de culture, met en jeu des biosurfactants synthétisés par les cellules. Leur solubilité dans l'eau ou dans l'huile dépend de la structure de ces deux groupements.

En solution, les surfactants ont tendance à s'agrégé en formant des micelles quand la concentration micellaire critique (CMC) est atteinte. Dans ces micelles, les chaînes hydrophiles se mettent au contact de l'eau. Grâce à leur structure très complexe, les biosurfactants possèdent de nombreuses propriétés actives vis à vis des hydrocarbures. Ils ont aussi l'avantage d'être complètement biodégradables et non toxiques par rapport aux surfactants artificiels dont l'utilisation s'est avérée néfaste pour les êtres vivants.

I.1.2. BIOREACTEURS A MEMBRANE

I.1.2.1. Description du bioréacteur à membrane

L'ultrafiltration qui est intégrée lors de la conception des réacteurs membranaires pour la séparation du produit du milieu de culture est prévue pour assurer une fonction de séparation solide-liquide/liquide. Elle met en œuvre des membranes dont les diamètres de pores sont compris entre 0.1 et 0.4 μm (Stephenson et col, 2000). Ce procédé permet donc la rétention des particules en suspension, des bactéries et composés solubles en fonction de leurs tailles (colloïdes et certains ions insérés dans le floc, Choi et col. (2005)). Deux configurations de bioréacteurs à membrane sont commercialement disponibles ; a membrane externe ou à membrane immergée.

a. Membrane externe

Dans une première génération de bioréacteur à membrane (BM), les modules de membranes sont installés à l´extérieur du bassin d´aération (figure I.1). La liqueur mixte circule par pompage dans les modules (généralement tubulaires), la vitesse de circulation doit être élevée afin d'augmenter les contraintes de cisaillement, qui vont limiter le développement du colmatage par dépôt, pour conduire à des valeurs élevées de flux de perméation. La pression transmembranaire est générée par la pompe. La vitesse de circulation dans le module tubulaire est généralement forte (de l'ordre de 4m/s), ce qui implique une importante consommation énergétique.

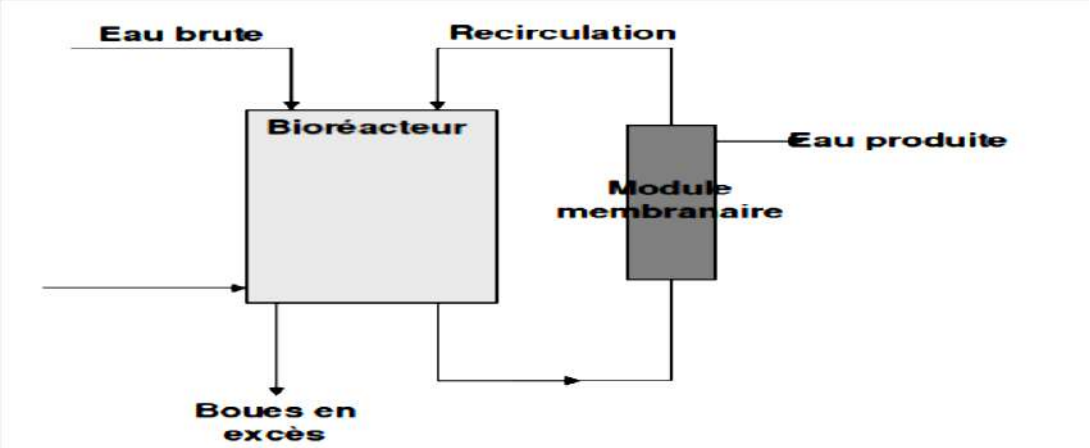


Figure I.1 : Bioréacteur à membrane avec boucle externe (exemple d'un système de traitement des eaux) [www.theses.ulaval.ca].

b. Membrane interne

Dans la seconde génération, le module de membrane est immergé dans le bassin d´aération (figure I.2). Le perméat est soutiré par aspiration, ce qui évite de pressuriser le bioréacteur. Ainsi la pression transmembranaire sera inférieure à 1 bar. Il y a deux façons d'utiliser : à pression transmembranaire constante ou à flux constant.

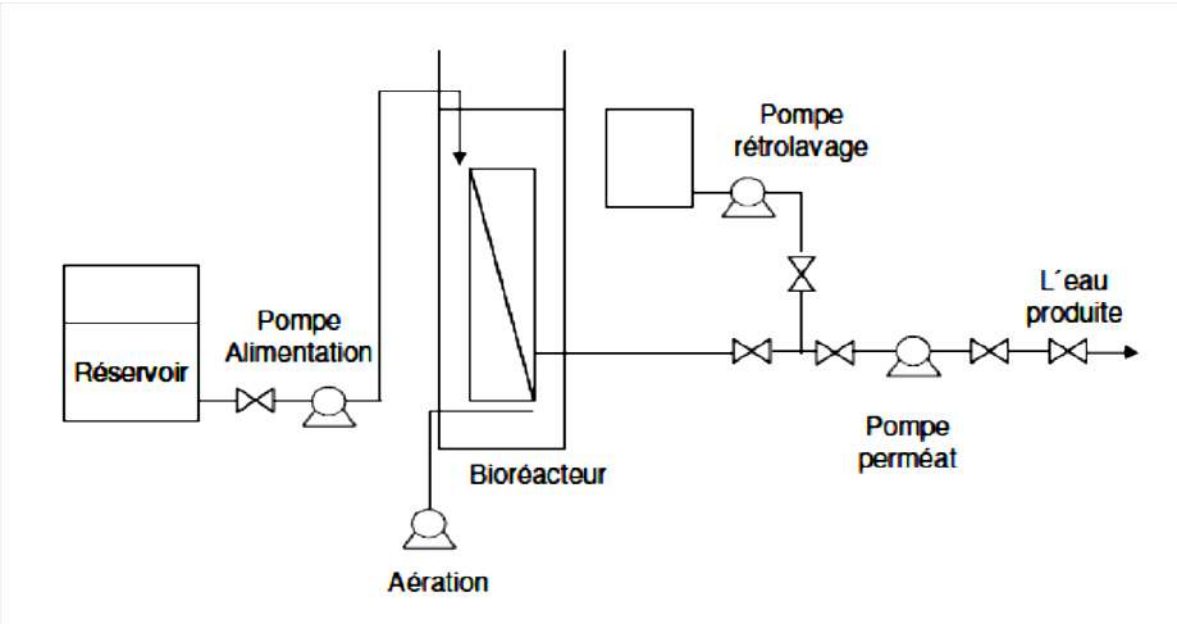


Figure I.2 : Bioréacteur à membrane immergée (exemple d'un système de traitement des eaux) [www.theses.ulaval.ca].

Des grosses bulles sont employées comme moyen mécanique pour prévenir, limiter et contrôler les dépôts et le colmatage. L´air est introduit au-dessous de la membrane et est

distribué de façon homogène pour optimiser l'action d'érosion de l'air à la surface de membrane. Le développement de systèmes immergés permet une réduction de la consommation d´énergie (Hong et col. 2002).

I.1.2.2. Fermenteur du laboratoire

Le fermenteur est l'ensemble du dispositif de bio-production. Il est constitué d'une cuve de fermentation et des accessoires permettant le bon fonctionnement du procédé. Le dispositif nécessaire à la mise en œuvre d'une "fermentation" comporte (voir figure I.3):

- le bioréacteur ou fermenteur :

C'est le récipient dans lequel va se dérouler la réaction (culture des microorganismes et production) ; il est conçu en fonction du type de processus qui doit s'y dérouler.

- les satellites gravitant autour du bioréacteur qui sont :
  - ✓ des cuves ou flacons (solution de compensation acide base, milieu neuf…) et des échangeurs de chaleur (autoclave, générateur de vapeur) pour préparer et stériliser le milieu de culture,
  - ✓ une centrale de production, de traitement et de stérilisation des gaz d'oxygénation pour les processus aérobies (compresseur + filtre à air),
  - ✓ le matériel de régulation (les sondes : pH, $P_{O2,}$ T°C… associées à des effecteurs : pompe, électrovanne, thermo-résistance…),
  - ✓ le matériel d'automatisation (unité de contrôle et ordinateur)

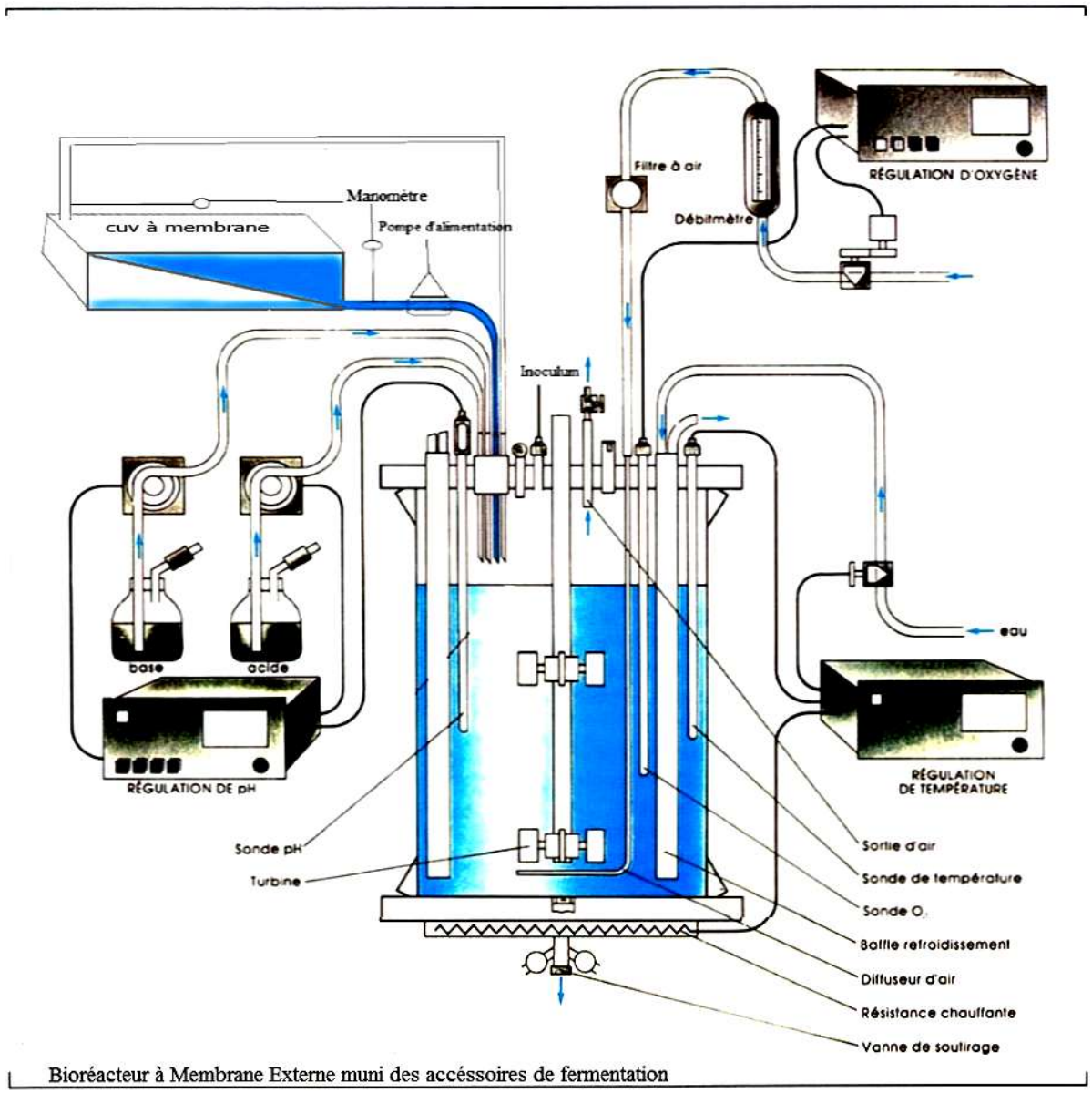


Figure I.3 : Structure d'un fermenteur de laboratoire sans boucle de recyclage.

Ses fonctions sont établies en fonction des caractéristiques et des besoins de la production. De façon générale, le bioréacteur doit assurer 4 grandes fonctions :

- bons transferts de matière
- bon transfert de chaleur
- maintien de la stérilité
- suivi des paramètres et conduite de régulations

I.1.2.3. Transfert de matière

Le transfert de matière gaz-liquide d'un gaz peu soluble, comme l'oxygène, est caractérisé par le produit du coefficient de transfert de matière k_ℓ (m/s) coté liquide par l'aire

spécifique d'échange par unité de volume de liquide a (m^{-1}). Ce produit est par définition le coefficient volumique de transfert de matière gaz-liquide, noté $k_\ell a$ (s^{-1}).

En cuve mécaniquement agitée aérée, le coefficient volumique de transfert est un paramètre essentiel, car sa valeur doit être suffisante pour que les besoins en oxygène du micro-organisme soient satisfaits. De la revue bibliographique de Van't Riet, deux relations de calcul ressortent (Jean-Pierre RIBA (1999)) :

- *pour l'eau (milieu coalescent)* :

$$K_l a = 2{,}6.10^{-2}\left(\frac{P_g}{V_l}\right)^{0,4} U_g^{0,5} \qquad \text{(I.1)}$$

Avec V_ℓ (m^3) volume du liquide,

$U_g = \frac{G}{A}$ (m/s) vitesse superficielle du gaz ;

A (m^2) aire de la section droite de la cuve ;

G (m^3/s) débit gazeux ;

- *pour les solutions salines (milieux non coalescents)* :

$$K_l a = 2{,}0.10^{-3}\left(\frac{P_g}{V_l}\right)^{0,7} U_g^{0,2} \qquad \text{(I.2)}$$

Ces relations ont été testées avec succès pour des volumes de liquide compris entre 2 litres et 4.400 litres et des puissances volumiques comprises entre 500 W/m^3 et 10 kW/m^3. À l'échelle industrielle il est difficile de fournir plus de 1.000 W/m^3 car on est limité, par la vitesse linéaire en bout de pale qui, pour des raisons mécaniques, ne dépasse jamais la valeur maximale de 20 m/s, 5 m/s étant une valeur courante. En réacteur de laboratoire de quelques litres, par contre, des valeurs de 20.000 W/m^3 ne sont pas exceptionnelles. Les coefficients $k_\ell a$ (s^{-1}) élevés des réacteurs de laboratoire ne pourront donc pas toujours être reproduits en réacteurs de grande taille. Qui plus est, le transfert de milieu de la culture contenant les nutriments vers les cellules et le transfert des déchets métaboliques des cellules vers le milieu s'effectuent suivant une bonne homogénéité des cultures grâce à un système d'agitation performant.

I.1.2.4. Transfert de chaleur

Comparativement aux réactions chimiques, les bio-réactions ont des vitesses lentes et des effets thermiques faibles ; par conséquent, une double enveloppe suffit le plus souvent à réguler la température de la phase liquide. La plus grande résistance au transfert de chaleur se situe entre

le liquide contenu dans la cuve et la paroi. La relation suivante permet de calculer le coefficient de transfert thermique dans le film liquide, du côté intérieur de la cuve, Jean-Pierre RIBA 1999 :

$$\frac{hd_c}{k} = 0{,}74\left(\frac{d_a^2 N\rho_l}{\mu_l}\right)^{\frac{2}{3}}\left(\frac{C_p\mu_l}{k}\right)^{\frac{1}{3}} \qquad \text{(I.3)}$$

Avec h ($w.m^{-2}.k^{-1}$) coefficient de transfert thermique,

c_p ($J.kg^{-1}.k^{-1}$) capacité thermique massique du liquide,

k ($w.\ m^{-1}.k^{-1}$) conductivité thermique du liquide.

Ainsi, il permet de maintenir la température de la cuve à la T°C optimale de croissance du microorganisme tout en évitant des surchauffes locale (refroidissement) par une bonne homogénéité des cultures grâce à un système d'agitation performant et l'implantation d'un système de régulation de la T°C (thermo-résistance + plaque de refroidissement alimentée par électrovanne, le tout commandée par un module de contrôle qui réagit à la mesure donnée par la sonde de T°C. La régulation de la température peut aussi être assurée à l'aide d'un seul système, d'une double enveloppe alimentée par un bain-marie contrôlé et couplé à une sonde T°C). Le transfert de chaleur garantit la viabilité de la souche pour éviter la contamination qui entraînerait un accident de fermentation, et la dissémination des germes dans l'environnement. De plus, l'étanchéité du système (joints à l'implantation de l'arbre d'agitation et joints à l'implantation des sondes) ; toutes les parties doivent être accessibles pour la stérilisation, pas d'espaces de stagnation (ex : la virole de verre avec fond arrondi pour les cyto-cultures). Les entrée et sortie d'air sont munies de filtres, système équipé pour les transferts stériles.

I.1.3. DIMENSIONNEMENT DU BIOREACTEUR A MEMBRANE

I.1.3.1. Bilan sur le bioréacteur

Il s'agit d'un réacteur en continu fonctionnant au même titre qu'un batch c-à-dire avec recyclage du perméat par une boucle. Celle-ci recycle la biomasse et le milieu non dégradé est les renvoies dans le bioréacteur. Les débits de sortie et d'entré sont contrôlés par deux manomètre, l'un en Amon de la cube de filtration et l'autre en Aval de celle-ci. La disposition inclinée de la membrane tient compte de la force hydrodynamique du fluide afin de minimiser la pression sollicitée pour la filtration et l'homogénéisation de la polarisation de la concentration et de la membrane. Cette membrane minérale d'aluminium résulte des traitements physico-chimiques sur l'oxyde d'alumine $Al_2O_3(OH)$ (un catalyseur solide) ayant suivie un dopage en

magnésie (augmentation d'impureté) ce qui minimise l'adsorption donc les propriétés catalytiques, tout en favorisant la filtration. Sa porosité selon la théorie de B.E.T n'est pas homogène ce qui se traduit par une filtration de divers solutés en fonction du mouvement hydrodynamique à la surface de la membrane.

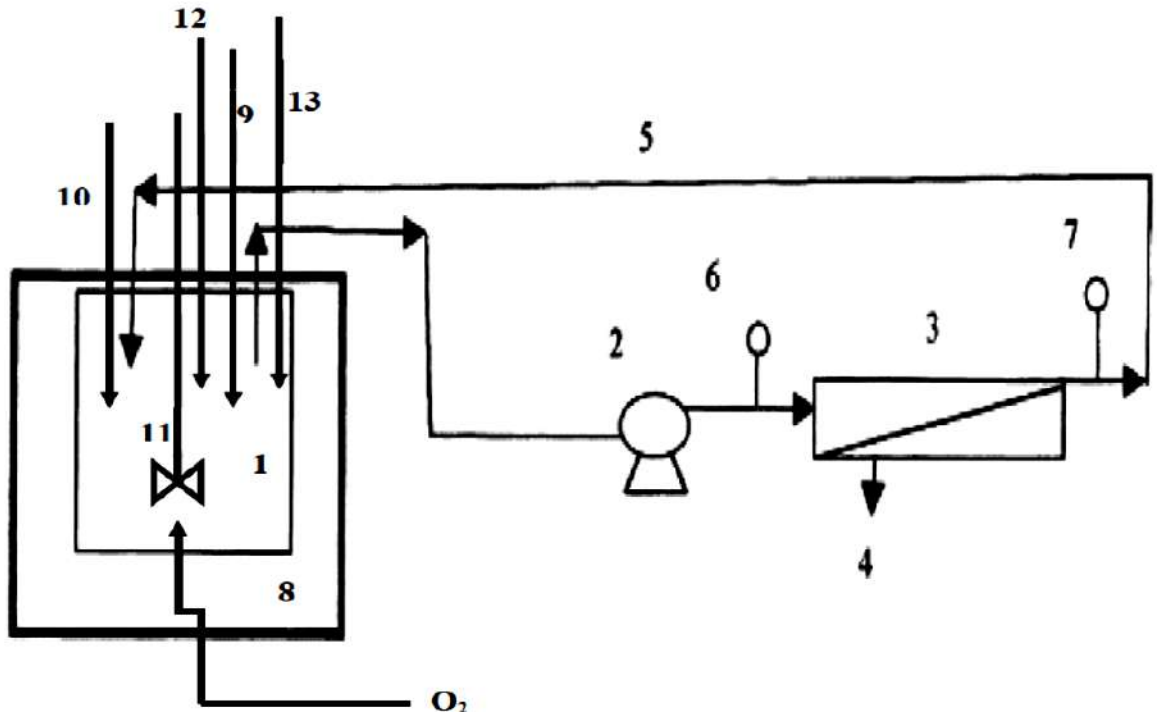


Figure. I.4 : Appareil bioréacteur à membrane:
Cuve du réacteur **(1)**, pompe d'alimentation **(2)**, cellule d'ultrafiltration **(3)**, **(4)** de perméat; **(5)** boucle de recyclage; **(6)** et **(7)** manomètres, **(8)** double enveloppe, **(9)** capteur pH, **(10)** Acide-base, **(11)** capteur thermique, **(12)** capteur de pression et **(13)** capteur Oxymètrique.

Les conditions de cultures à fixées sont :

- $\rho = cste$ et le Régime est considéré permanant ;
- $\frac{dS}{dt}\ et \frac{dX}{dt}$ $sont\ nulles\ hors\ du\ bioréacteur$
- $D = \frac{F}{V} = \frac{1}{\tau} = \mu$ (h^{-1}, min^{-1} ou s^{-1})
- Pas de perte de substrat à la sortie.

I.1.3.2. Bilan sur la biomasse avec X_0 négligeable

Le bilan sur la biomasse rend compte de la cinétique de croissance de la souche dans le bioréacteur. Pour ainsi dire il est nul à l'extérieur de celui-ci suivant les hypothèses du bioprocédé. Le bilan est une description mathématique associée aux paramètres physiologique,

biochimique et biocatalytique de la souche dans les conditions opératoires fixées (Régime Permanant).

(Ce qui entre) – (Ce qui sort) ± (Ce qui se produit) = Accumulation = 0

Ceci nous conduit à la traduction mathématique suivante :

$$w.F.X_w - (1 + w).F.X + r_x.V = 0 \quad \text{(I.4)}$$

$$r_x = (1 + w)\frac{F}{V}X - w\frac{F}{V}X_w \quad \text{(I.5)}$$

$$\frac{r_x}{X} = \mu = (1 + w)\frac{F}{V} - w\frac{F}{V}\frac{X_w}{X} = \frac{1}{X}\frac{dX}{dt} \quad \text{(I.6)}$$

$$\mu = (1 + w)D - wDC = D(1 + w - wC) \quad \text{(I.7)}$$

Avec X concentration dans le CSTR, *w* taux de recyclage (fraction recyclée), C facteur de concentration $C=X_w/X$, D taux de dilution, μ vitesse de croissance, μmax vitesse maximale de croissance ou taux horaire de croissance, K_s constante de Monod, F débit, V volume, r_x vitesse spécifique de croissance, t temps de bioconversion. Ainsi pour une croissance de Monod nous avons les équations du bilan qui se résument comme suit :

- Sans recyclage : $\mu = D; \quad S = \frac{K_S.D}{(\mu max - D)}$ (I.8)
- Avec recyclage $\mu = D(1 + w - wC)$ (I.9)

donc $S = \frac{K_S.D(1+ w-wC)}{\mu max - D(1+ w-wC)}$ (I.10)

I.1.3.3. Bilan sur le substrat

Le bilan sur le substrat traduit la cinétique de dégradation du substrat dans le milieu de culture. Il est comme celui de la biomasse nul en dehors du bioréacteur suivant les hypothèses et les conditions opératoires. Ainsi, il est d'autant plus significatif que le taux de bioconversion est élevé, ce qui revient à rattacher le bilan sur le substrat aux paramètres physiologique, biochimique, rhéologique du milieu, au transfert de masse et de chaleur. En régime permanant, il est assigné nul par :

(Ce qui entre) + (ce qui sort) - (ce qui se produit) = 0

$F.S_o + w.F(1+ w).S - r_s.V = 0$ (I.11)

$r_s = D.\ S_o + w.D.S - (1+ w).D.S = D.\ (So - S)$ (I.12)

$X_e = \frac{r_x}{D}\ ;\ D\ = \frac{r_x}{X_e}\ ;\ r_s = \frac{r_x}{X_e}\ (So - S)\ ;\ X_e = \frac{r_x}{r_s}\ .(So - S)$ (I.13)

$X_e = Y_{\frac{x}{s}}.(So - S) \qquad X = \frac{X_e D}{\mu} = \frac{D}{\mu}\ .Y_{\frac{x}{s}}.(So - S)$ (I.14)

$X = \left(Y_{\frac{x}{s}}\right)\frac{(So-S)}{1+w-wC}$ (I.15)

Le surcroit de la productivité en biomasse serait :

$Pr_X = D.X_e = D.Y_{\frac{x}{s}}[S_0 - \frac{K_s.D(1+ w-wC)}{\mu_{max} - D(1+ w-wC)}]$ (I.1.6)

Pour $Y_{x/s}$ et K_s données

I.3.4. Bilan sur le séparateur

Le bilan sur le séparateur traduit l'efficacité de la séparation du produit du milieu suivant les paramètres intrinsèques du séparateur, le flux du perméat, le taux de dilution D, la sélectivité, la perméabilité... Ainsi, il permet de déterminer la concentration en biomasse à la sortie de l'unité de filtration, et celle rajoutée dans le bioréacteur a chaque opération de séparation. De plus ce bilan est dépendant des hypothèses et des conditions opératoires fixées (Régime Permanant).

(Ce qui entre) – (Ce qui sort) – (Ce qui se produit) = 0

Ce qui conduit à la traduction mathématique suivante :

$(1+w).F.X - w.F.Xw - F.\ X_e = 0$ (I.17)

$\frac{X_e}{X} = 1 + w - wC = \frac{\mu}{D}$ (I.18)

$X_e = \frac{\mu X}{D} = \frac{r_x}{D}$ (I.19)

Avec X_e concentration à la sortie de l'unité de filtration, X*w* concentration rajoutée en biomasse, *w* taux de recyclage (fraction recyclée), C facteur de concentration C=X*w*/X.

I.1.4. SOUCHE DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Le genre *Pseudomonas* est classé dans la famille des *Pseudomonadaceae* (ordre des *Pseudomonadales*, classe des *Gammaproteobacteria*, division ou phylum des "*Proteobacteria*", domaine ou empire des "*Bacteria*"). Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont constituées de bacilles de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1,5 à 3,0 µm de longueur, se présentant de manière isolée ou groupés par deux ou en courtes chaînes, mobiles grâce à une ciliature mono-triche (quelques rares cellules portent cependant plusieurs flagelles polaires), non sporulés, aérobies, à métabolisme strictement respiratoire, nitrate réductase positive et respirant les nitrates, catalase et oxydase positives. *Pseudomonas aeruginosa* est capable d'utiliser des sucres comme source de carbone et d'énergie en produisant de faibles quantités d'acides. Cette acidification résulte toujours d'un métabolisme oxydatif, elle est toujours faible et elle ne s'observe que lorsque les conditions d'oxygénation sont bonnes. Les milieux les plus sensibles et les plus utilisés sont les milieux de King A et B.

I.1.4.1. Description et Identité

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, se présente sous forme de bacilles fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire (ciliature mono-triche), dépourvus de spores et de capsule. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles. La température optimale est de 37°C avec croissance à 41-42°C, mais aucune culture n'est obtenue à 4 C ou à 46°C. La température optimale de croissance est comprise entre 30°C et 37 C. Cette bactérie présente un métabolisme aérobie, mais peut utiliser les nitrates comme accepteurs d'électrons en conditions anaérobies.

Comme d'autres *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* sécrète un certain nombre de pigments, entre autres la pyocyanine (bleu-vert), la fluorescéine (jaune vert fluorescent) et la pyorubine (brun-rouge). C'est une bactérie dépourvue d'enzymes dégradant le lactose et dégageant une odeur de raisin ou seringa *in vitro*. L'identification repose, après observation macroscopique et microscopique (figure I.5), sur la présence des enzymes de type oxydase, élastase et protéase notamment, que cette bactérie sécrète. La production des deux pigments pyocyanine et fluorescéine, et la température de croissance optimale de 42°C confirme l'identification. *Pseudomonas aeruginosa* utilise son flagelle pour la mobilité, des systèmes introduisant des protéines effectrices dans les cellules hôtes, et un lipopolysaccharide qui supprime les réponses immunitaires des hôtes en plus d'intervenir directement dans l'établissement d'infections persistantes (Cryz *et al*. 1984). Parmi les molécules sécrétées par *P. aeruginosa* on trouve des

protéines (élastase et protéase) qui détruisent l'intégrité des tissus de l'hôte en dégradant les protéines constitutives telles que l'élastine, le collagène et les transferrines (Aumercier *et al.* 1990; Kawaharajo *et al.* 1975). On trouve aussi des toxines de faible poids moléculaire comme la pyocyanine, affectant différents sites dans la cellule hôte (Lau *et al. 2004a; Ran et al. 2003).*

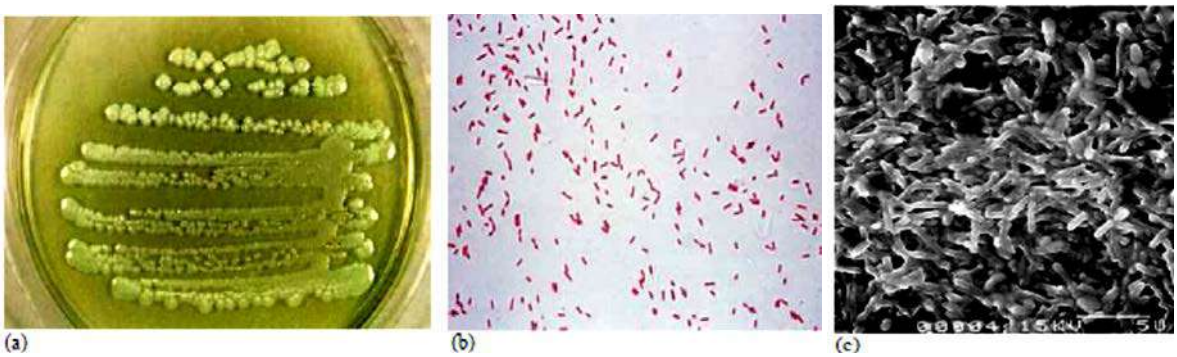


Figure I.5 : *Pseudomonas aeruginosa*, (Campanac *et al.* 2002)
(a) colonies sur gélose ordinaire, **(b)** coloration de Gram (x1000) (Salton & Kim, 1996*),*
(c) Observation au microscope électronique à balayage d'un bio-film à *Pseudomonas aeruginosa* après 72 heures de formation.

I.1.4.2. Lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS est le constituant lipidique majeur situé à la face externe de la membrane. Il est constitué de trois parties : une partie hydrophobe, le lipide A, inséré dans la bicouche phospholipidique membranaire, un noyau oligo-saccharidique et un polysaccharide antigène-O caractéristique de la bactérie. Le lipide A ou endotoxine est impliqué dans la stimulation excessive du système immunitaire et peut ainsi être à l'origine de chocs septiques (Ernst *et al.* 2003). La région polysaccharidique ramifiée (antigène O) présente sur toute la surface de la bactérie, est en contact direct avec les tissus de l'hôte, jouant ainsi un rôle clé dans la réponse inflammatoire. Son expression est variable (phénotypes « lisse » ou « rugueux ») permettant à certaines souches d'échapper à la phagocytose médiée par le complément (Goldberg & Pier, 1996). Le LPS est également impliqué dans l'adhésion aux cellules via les asialo-GM1 (Gupta *et al.* 1994) et la reconnaissance par le complexe TLR4/CD14 ou TLR4/MD-2 (Backhed *et al.* 2003; Hajjar *et al.* 2002). La protéine CFTR pourrait également jouer le rôle de récepteur, induisant l'internalisation de la bactérie par les cellules épithéliales pulmonaires et activant ainsi la réponse inflammatoire. L'absence ou le dysfonctionnement de la CFTR chez les patients atteints de mucoviscidose, ainsi que les modifications de l'antigène O pourraient retarder ainsi la réponse immunitaire et l'élimination des bactéries, conduisant secondairement à leur installation (Goldberg & Pier 1996; Pier, 2002; Schroeder *et al.* 2002).

Dans la mucoviscidose, des mutants de *P. aeruginosa* présentant des modifications du lipide A ont pu être observés, conduisant à une résistance aux peptides antimicrobiens et à une activation TLR4 (Ernst *et al.* 2003).

I.1.4.5. EPS (Extra Polymeric Substances)

De nombreux composés, dont essentiellement des oses, font partie de l'environnement immédiat de la bactérie et interviennent dans la formation et la structure du bio-film que nous développerons dans le chapitre suivant. Ils participent ainsi au processus infectieux. La matrice extracellulaire retrouvée dans le bio-film contient des protéines, des sels et des exo-polysaccharides représentant 50 à 90% de la matière organique totale (Wingender *et al.* 1999). L'importance de *P. aeruginosa* en tant qu'opportuniste et agent responsable d'infections nosocomiales explique que le bio-film et, notamment, la composition des EPS de ce microorganisme, soient parmi les plus étudiées.

Chez *P. aeruginosa*, les EPS sont caractérisés par la présence d'alginate, polysaccharide linéaire également produit par certaines algues brunes. Il est constitué d'acides L-guluronique et D-mannuronique liés par des liaisons β-1,4 (Evans & Linker, 1973). Durant son transfert péri-plasmique, l'alginate subit une acétylation et une épimérisation pour conduire à trois types d'organisation, homopolymères de chaque acide ou des hétéro-polymères (Remminghorst & Rehm, 2006). L'alginate, comme le LPS, joue un rôle d'adhésine. Une surproduction d'alginate est observée chez les souches issues de patients atteints de mucoviscidose, certainement en liaison avec les conditions inflammatoires rencontrées dans les poumons de ces patients. Ceci conduit à une différenciation en souches dites « mucoïdes » (Mathee *et al.* 1999). L'alginate participerait à la structuration du bio-film (Hentzer *et al.* 2001; Boyd & Chakrabarty, 1995), mais son importance réelle est encore controversée (Wozniak *et al.* 2003). Cette surexpression protège *P. aeruginosa* de la phagocytose, des agents antimicrobiens et des réponses de l'hôte. D'autres composés matriciels riches en glucose et mannose ont été récemment mis en évidence (Friedman & Kolter, 2004a, 2004b). Le système Pel a été décrit beaucoup plus récemment (Vasseur *et al.* 2005; Vasseur *et al.* 2007). Il s'agit d'un système de synthèse et d'exportation d'une matrice exo-poly-saccharidique participant à la structuration du bio-film. D'autres systèmes indépendants du système Alg (responsable de la synthèse d'alginate) ont été mis en évidence, dont le système Ps1 (Friedman & Kolter, 2004a, 2004b; Branda *et al.* 2005).

I.1.5. CULTURE EN BIOREACTEUR A MEMBRANE

La culture en bioréacteur s'effectue à 37°C avec un taux d'oxygène dissous constant à 20% de la saturation dans le milieu de fermentation (maintenu par l'intensité de l'agitation). Le pH s'est maintient à 7,0 par addition automatique de l'acide chlorhydrique et des solutions d'hydroxyde de sodium. Le milieu de base pour une production de biosurfactant contient en général les éléments suivant dont la quantité dépend des objectifs fixées, du $NaNO_3$ ou de la peptone ou de l'urée comme source d'azote, du NaCl de $MgSO_4$ .7 H_2O; de $CaCl_2$ .2 H_2O de $FeCl_3$ .7H2O comme cofacteurs par litre d'eau distillée, avec des extraits de levure contenant 14% en azote et joue aussi le rôle de facteur de croissance. Ainsi, une concentration en tampon phosphate de potassium KH_2PO_4 variable en mmol/L pour les expériences spécifiques est ajouté vu l'influence du tampon sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

La boue d'hydrocarbure est ajoutée en tant que source de carbone et d'énergie à une concentration (p/v). La stérilisation du milieu s'effectue pendant 15 minutes à 121ºC à l'autoclave. L'agitation en culture se maintient en tr/min avec des temps d'arrêt pour la filtration tangentielle en fonction de la durée de la fermentation. Les éléments traces sont les suivants, du $ZnSO_4$, $MnSO_4$, $FeSO_4$, $CuSO_4$, $CoSO_4$, H_3BO_3, KI, et enfin de l'EDTA.

I.1.6. LES BIOSURFACTANTS

Les bactéries de *Pseudomonas aeruginosa* synthétisent les biosurfactants en réponse à la présence de n-alcanes dans le milieu (Pirog.. 2004; Kostina et d'autres. 2005). Les biosurfactants de *P.aeruginosa* représentent les glycolipides incluant les Rhamnolipides. Le rôle physiologique de biosurfactants à la croissance de *P.aeruginosa* sur des glucides est dans la solubilisation de substrats hydrophobes dans les cellules. La tension superficielle des super nageurs dans le liquide culturel obtenu en croissance de *R. erythropolis* l'AP 25 sur l'hexadecane, est 30,3 mN/m et environ 50 mN/m sur le glucose.

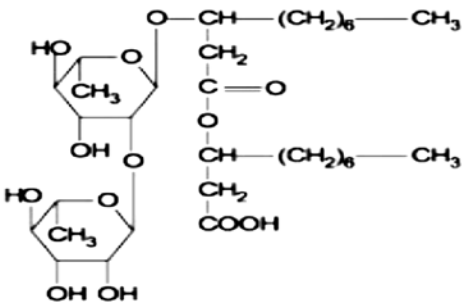


Figure I.6 : *Rhamnolipide* produit par *Pseudomonas aeruginosa*.

I.1.6.1. Caractérisation des Biosurfactants et Tensio-actifs

Les principaux rôles des biosurfactants sont de diminuer la tension superficielle des liquides et de réduire la tension interfaciale dans un mélange. Ils contribuent ainsi à disperser et à solubiliser les particules d'hydrocarbures liquides et solides. La tension superficielle de l'eau est abaissée, et atteint une valeur d'environ 30 dynes/cm au lieu de 72,8 dynes/cm à la température de 25°C, par des biosurfactants extraits d'une culture de ***Corynebacterium leptus sp*** sur kérosène, de ***Pseudomonas asphaltinecus sp***. (Gerson et. Zajic, 1978) ou de ***Nocardia erythropolis*** (Mac Donald et al, 1981) sur hexadécane. La tension interfaciale diminue de la même façon. Dans le milieu de culture, ces propriétés tensio-actives varient avec la phase de la croissance. Elles sont maximales pendant la phase exponentielle. Les meilleures émulsions sont obtenues avec des milieux de culture dans lesquels des hydrocarbures linéaires sont utilisés comme seule source de carbone et d'énergie et sont même spécifiques du substrat de croissance (Roy et al, 1979 ; Rosenberg et al, 1979).

La structure moléculaire des biosurfactants tout comme celle des tensioactifs renferme des groupes hydrophiles et des groupes hydrophobes qui permettent d'obtenir des émulsions stables utilisées notamment dans les détergents en poudre, les shampooings et les crèmes cosmétiques. Dans l'alimentation, ces substances sont utilisées comme émulsifiants. La structure des tensioactifs leur permet d'adhérer aux deux surfaces de l'interface et donc de réduire la tension superficielle en provoquant des micro-émulsions stables. Avec ce processus, les produits solides se solubilisent ou se dispersent rapidement. Les biosurfactants permettant également d'altérer les propriétés moussantes des dissolutions hétérogènes en produisant des mousses stables, ils sont appliqués à l'industrie alimentaire, par exemple aux crèmes. Encore récemment, tous les tensioactifs étaient des substances synthétiques dérivées du pétrole exigeant des réactifs tels que la pyridine, le sulfoxyde de diméthyle, etc.

L'enzymologie actuelle a permis la création d'autres types de tensioactifs naturels, notamment les glycolipides, fabriqués à partir de lipases commerciales. Concrètement, les glycolipides sont des esters d'acides gras présentant un meilleur comportement que les tensioactifs synthétiques comme agents d'émulsion des graisses et des huiles. En outre, leur dégradation entraîne la formation de molécules de sucres naturels et d'acides gras non-toxiques. Il a été démontré que leur obtention et leur utilisation sont totalement respectueuses de l'environnement. En effet, le processus n'implique pas l'utilisation de solvants organiques ou de substances chimiques de synthèse.

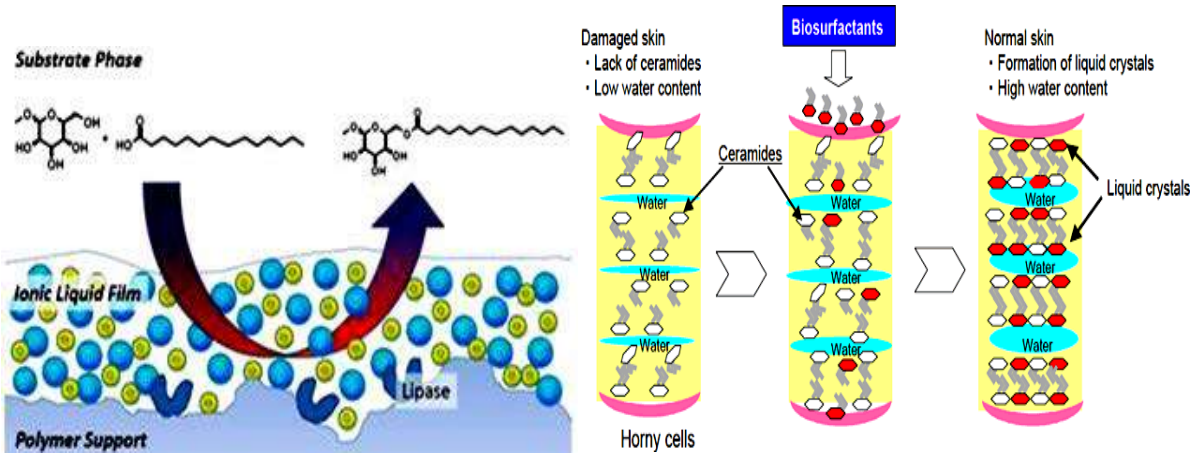


Figure I.7 : Comportement des biosurfactants en Milieu aqueux, [www.google.com/image].

I.1.6.2. Nature Chimique des Biosurfactants

Le pétrole brut est un mélange extrêmement complexe d'hydrocarbures. Il peut être séparé par chromatographie sur gel de silice en 4 fractions hydrocarbures saturés (aliphatiques, alicyclique ou branchés), hydrocarbures aromatiques, asphaltènes et des composés polaires. L'aptitude des microorganismes a utilisé le pétrole brut comme source de carbone dépend non seulement de la composition qualitative et quantitative de chaque fraction, en particulier, les hydrocarbures saturés, mais aussi de la présence de composés inorganiques oxygènes, soufrés ou azotés, (Westlake et al, 1974, Wyman et Brown, 1976 ; Atlas, 1981).

Les molécules de biosurfactants sont extrêmement complexes et sont généralement constituées de sucres, de protéines et de lipides. Les propriétés tensio-actives sont attribuées, selon les auteurs, à des constituants différents du biosurfactant. Chez la plupart des bactéries, les agents tensioactifs sont des glycolipides. Suzuki et al, (1969) ont isolé des molécules de tréhalose à fortes propriétés émulsifiantes, à partir d'une cellule **d'*Artrobacter paraffineus*** sur n-paraffine. Rapp et al, (1979) ont trouvé un composé de structure voisine produit par ***Rhodococcus erytropolis***. Au cours de la croissance ***d'Acinetobacter RAG-1*** sur hexadécane, Zosim et al, (1982) constatent que la stabilité des émulsions est assurée par un constituant complexe excrété dans le milieu de culture. Il est constitué d'un polysaccharide (acide N-acétyl D-galactosamine, N-acetyl amino-uronique), d'acides gras (formés principalement des acides hydroxydodécanoïques) et de protéines. Les acides gras des biosurfactants qui jouent un rôle important dans l'émulsification des hydrocarbures ont été étudiés par Vachon et al, (1982) et King et Perry (1975). Ils concluent que leur composition dépend de la longueur de la chaîne du substrat de croissance donc spécifique du substrat de croissance.

I.1.6.3. Classification des Biosurfactants

Contrairement aux tensio-actifs chimiquement synthétisés, les biosurfactants sont catégorisé selon leur composition chimique et productrice. La structure du biosurfactants inclut le fragment hydrophile comprenant des acides aminés ou des anions de peptide et cations; mono-, di-ou polysaccharides et les composants hydrophobes consistant d'acides gras saturés et non saturés. Ainsi, selon la nature chimique les biosurfactants sont groupé comme suit (Desai, Banat, 1997) :

1. **Glycolipides** (*rhamnolipides-Pseudomonas aeruginaosa; trehalolipids - Rhodococcus erythropolis, Nocardia rhodochrous, N. erythropolis, mycobacterium phlei; sophorozolipids - Torulopsis bombicola, T.ampicola, T. petrophilum*);
2. **Lipoprotéine et lipopeptides** (*lichenisin - Bacille licheniformis; subtilisin - B. subtilis; cyrculosynes - B. circularis; polimyxines - B. subtilis; viscosine - Pseudomonas fluorescents; emulsan - Phormidium sp.; liposan - Candida lypolytical*);
3. **Lipopolysaccharides** (*emulsanes - Arthrobacter sp., A. calcoaceticus; Phormidium sp. : xantane - Xanthomonas campestris);*
4. **Acides gras** - *Candida spp C. lepus.*;
5. **Phospholipides** - *Thiobacillus thiooxidans; Corynebacterium sp; Candida sp*.).

I.1.7. CONCLUSION

Les bioréacteurs à membrane constituent une nouvelle génération des bioréacteurs qui confèrent à la biotechnologie toute sa noble du 21^{ie} siècle. Ainsi, le développement des nouvelles technologies dans divers domaines industriels s'est vu amélioré par cet avènement que ça soit dans le traitement des eaux d'usages, des eaux de rejets, de la concentration des jus et principes actifs en pharmaceutique, de recyclage des résidus et déchet. Cela en vue de purifier les produits et l'eau d'usage, de prévenir les dommages sur l'environnement du fait de la présence des certaines substances nuisibles dans les eaux usées. Enfin, c'est un marché émergeant due fait des recherches et de l'innovation technologique centré autour de cette technologie.

II.1. GENERALITES SUR LES MEMBRANES

II.1.1. DEFINITION

Il existe une grande diversité de membranes. Elles sont classées par familles, selon leur nature chimique, leur structure et leur forme physique liée à leur mode de fabrication. Une membrane est une interface physique, de faible épaisseur, qui contrôle le transfert d'espèces chimiques entre les deux milieux qu'elle sépare. Cette interface peut être homogène au niveau moléculaire, uniforme en composition et structure, ou elle peut être chimiquement et physiquement hétérogène, contenant des pores de dimension finie ou contenant des couches superposées. Les membranes sont fabriquées à partir de différents matériaux, de type organique ou minéral.

Les membranes minérales ou céramiques sont de type composite (zircone ZrO_2 sur support carbone macroporeux ou sur alumine $Al_2O_3(OH)$, ou oxyde de titane TiO_2 sur alumine ou encore totalement en carbone ou en alumine). Elles sont largement répandues car elles sont très sélectives, très perméables et peuvent être soumises plus facilement à des procédés de nettoyage assez agressifs sans trop être altérées. Elles ont une excellente résistance chimique, mécanique et surtout thermique.

Ainsi, Les membranes minérales qui font l'objet de notre étude, aussi asymétriques, sont composées d'une matrice à base d'alumine ou de carbone sur laquelle sont appliquées une ou plusieurs couches d'oxydes minéraux. La dernière couche est appliquée par frittage. Ainsi, la taille des pores est déterminée par granulométrie de la poudre initiale. La peau peut être dense ou poreuse selon l'application envisagée et la tenue mécanique peut encore être améliorée par l'incorporation d'un support textile.

Une membrane peut être définie comme étant une couche mince de matière, permettant l'arrêt ou le passage sélectif de substances dissoutes ou non, sous l'action d'une force motrice de transfert (voir Figure II.1). Les critères de séparation des particules, des molécules et/ou des ions peuvent être (Audinos et Isoard, 1986) :

- ✓ La dimension et la forme;
- ✓ La nature chimique;
- ✓ L'état physique;
- ✓ La charge électrique, etc.

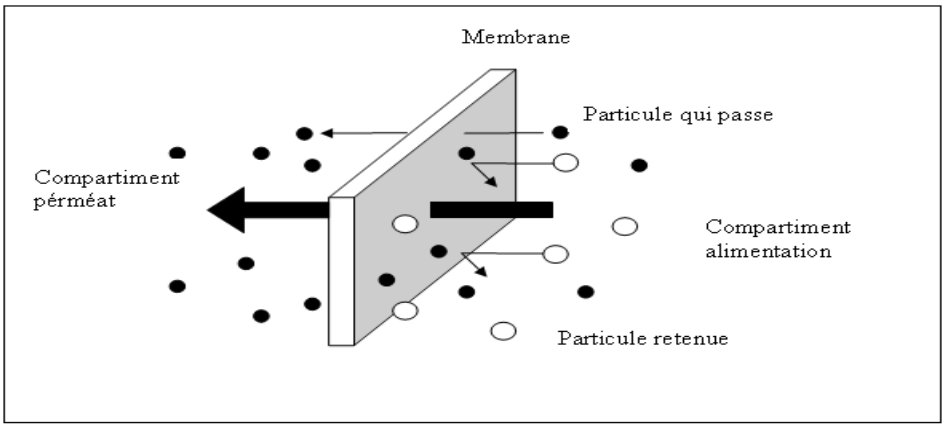


Figure II.1 : Membrane sélective (adaptée après Malleviale et al., 1996)

II.1.2. CLASSIFICATION DES MEMBRANES

II.1.2.1. Classification d'après le mécanisme de séparation

Les mécanismes de séparation membranaires sont complexes et encore partiellement compris. Les processus qui jouent un rôle dans la séparation membranaire sont : le tamisage, la friction sur les parois des pores des membranes, la diffusion dans le matériau membranaire ou dans les pores des membranes, les forces de surface répulsives ou attractives, notamment la répulsion électrostatique. La classification la plus répandue des membranes d'après le mécanisme de séparation est la suivante :

- Membranes poreuses (MF, UF, NF), où les effets de tamisage et de friction jouent des rôles important mais où les forces de surface peuvent aussi jouer un rôle important comme en NF; les pores peuvent être subdivisés en plusieurs catégories :
  - plus grands que 50 nm (MF, UF);
  - 2 à 50 nm (UF);
  - plus petits que 2 nm (NF).

- Membranes non poreuses (perméation de gaz, pervaporation, osmose inverse (OI)); ces membranes peuvent être considérées comme des milieux denses où la diffusion des espèces a lieu dans les volumes libres situés entre les chaînes moléculaires du matériel de la membrane;
- Membranes échangeuses des ions. Ces types de membranes considérées comme un type spécial de membranes non poreuses, consistant dans des gels denses ayant une charge positive (échangeuses des anions) ou négative (échangeuses des cations).

Il faut remarquer que toute la communauté scientifique ne s'entend pas sur cette classification. Par exemple, certains auteurs considèrent que les membranes d'**OI** sont des membranes poreuses. Il faut aussi noter que la plupart des membranes polymériques sont chargées même si leur charge est plus faible que celles des membranes échangeuses d'ions.

II.1.2.2. Classification d'après la morphologie

La plupart des membranes commerciales de MF, UF et de NF sont des membranes à structure asymétrique car ce type de structure permet d'avoir des perméabilités plus élevées. Ainsi, les membranes peuvent être classées en fonction de leur structure morphologique :

- Membranes à structure symétrique : ces membranes denses ou poreuses ont la même structure sur toute leur épaisseur (structure isotrope);
- Membranes à structure asymétrique : la structure de la membrane varie d'une couche à une autre (membranes anisotropes); on peut distinguer deux sous-types de membranes asymétriques :
    - membranes préparées à partir du même matériau (membrane polymérique préparée par inversion de phase par exemple);
    - membranes composites : ce sont des membranes constituées principalement de deux couches :
        - peau : une couche de très faible d'épaisseur en contact direct avec le milieu à traiter. Cette couche donne à la membrane sa sélectivité;
        - couche support : une couche plus épaisse, d'une perméabilité beaucoup plus grande, qui supporte la peau et confère à la membrane sa résistance mécanique.

II.1.2.3. Classification d'après la géométrie de préparation des membranes

La forme des membranes conditionne la manière dont elles sont assemblées pour fabriquer des modules. De ce fait, les membranes peuvent être classées en fonction de la forme sous laquelle elles sont fabriquées :

- Membranes planes;
- Membranes cylindriques :
    - tubulaires (ayant le diamètre interne plus grand que 3 mm);
    - creuses (ayant le diamètre plus petit que 3 mm).

II.1.2.4. Classification d'après la nature chimique

Les membranes sont fabriquées à partir de polymères organiques et de matières inorganiques. Bien qu'il existe des membranes mixtes faites de polymères et de matériaux inorganiques (membranes polymériques avec des zéolites par exemple), (Aptel et Buckley, 1996), la plupart des membranes disponibles commercialement sont faites à partir de polymères ou de matériaux inorganiques. Les principaux polymères utilisés pour la fabrication de membranes sont :

- dérivés de la cellulose : ces polymères considérés généralement comme plus hydrophiles sont peu coûteux et ont une faible tendance à l'adsorption;
- polyamides ayant des propriétés thermiques et chimiques supérieures à celles des dérivées de la cellulose (quoique ces polymères sont très sensibles à certains oxydants comme le chlore);
- polysulfone (PS) et polyethersulfone (PES), qui ont une tendance à l'adsorption plus élevée que les membranes ci-dessus, mais avec une meilleure stabilité chimique, mécanique et thermique.

Les membranes inorganiques sont faites de céramique (oxydes d'aluminium, de zirconium ou de titane). Ces membranes ont une stabilité chimique, mécanique et thermique supérieure aux membranes polymériques, mais, par contre, elles sont friables et beaucoup plus coûteuses que les membranes organiques (Aptel et Buckley, 1996).

II.1.3. CARACTERISTIQUES DES MEMBRANES

Les membranes sont généralement caractérisées par leur taille des pores, leur seuil de coupure relatif à une masse moléculaire critique, leur sélectivité ainsi que leur perméabilité à l'eau pure dans des conditions standard.

II.1.3.1. Sélectivité d'une membrane

La sélectivité est une caractéristique difficile à quantifier et pourtant essentielle. C'est une caractéristique de surface de la membrane, qui détermine quels composés de la solution la traversent. Cette caractéristique est liée à la nature même de la membrane, physique et chimique. La sélectivité d'une membrane pour une substance donnée dépend de sa nature et de sa structure, de l'environnement chimique à proximité de la membrane et des propriétés de la substance à séparer. La sélectivité s'exprime par un taux de rétention T_R ou par un facteur de sélectivité (Pontié et al, 2001). :

$$TR = 1 - \frac{C_p}{C_0} \qquad \text{(II.1)}$$

Il y a deux valeurs particulières du T_R (valeurs exprimées en pourcentages) :

- T_R *=0%* signifie que le soluté n'est pas du tout retenu par la membrane;
- T_R*=100%* signifie que le soluté est entièrement retenu par la membrane.

La transmission est définie comme l'inverse du taux de rétention.

De plus, une autre caractéristique très utilisée est le seuil de coupure (SC). Le SC d'une membrane est la masse molaire du plus petit composé modèle retenu à 90 % par la membrane (Pontié et al, 2001). Donc plus le SC d'une membrane est faible et plus cette membrane peut retenir de petites molécules ou colloïdes. Le SC est mesuré en Da ou kDa (1 Da = 1 g/mole). Le SC est relié principalement à la taille de pores de la membrane, mais aussi il est beaucoup influencé par la forme de la molécule à filtrer, par sa charge, par son degré d'hydratation, le pH et le pouvoir ionique de la solution à filtrer, la pression d'opération et le flux de perméation, l'élasticité et la charge de la membrane. C'est pour ces raisons qu'il existe de grandes différences entre les SC rapportés par les compagnies manufacturières de membranes et ceux observés dans la pratique, étant donné que ces compagnies donnent rarement les conditions de la mesure du SC. De plus, les SC peuvent être qualifiés comme nominal, apparent, moyen ou encore absolu (Anselme et Jacobs, 1996).

Même si le caractère du SC reste très relatif, ce paramètre est beaucoup utilisé dans la pratique car il permet de situer au moins grossièrement les membranes entre elles.

II.1.3.2. Perméabilité d'une membrane (K)

La perméabilité est un paramètre qui caractérise l'aisance avec laquelle une solution traverse la membrane. La perméabilité dépend principalement de la taille des pores ainsi que de l'épaisseur de la membrane pour les membranes poreuses. Elle dépend aussi des propriétés chimiques pour les membranes denses. La perméabilité (*K*) d'une membrane est une caractéristique intrinsèque de la membrane qui dépend de sa structure. De façon pratique, la perméabilité peut être définie comme étant le rapport entre le flux de perméation (J_P) et la pression transmembranaire effective (ΔP_m) :

$$K = \frac{J_p}{\Delta Pm} \quad \text{(II.2)}$$

Le flux de perméation (appelée aussi vitesse de perméation) est un débit de perméation unitaire, c'est-à-dire, le rapport entre le débit volumétrique de perméation (Q_P) et la surface effective de la membrane (S) :

$$J_p = \frac{Q_p}{S} \quad \text{(II.3)}$$

En remplaçant le flux de perméation J_p définit par l'équation II.3, dans l'équation II.2, on obtient :

$$K = \frac{Q_p}{S\Delta P_m} \quad \text{(II.4)}$$

En pratique, la perméabilité d'une membrane est déterminée comme la pente de la droite J_P en fonction de ΔP_m.

Il faut mentionner qu'il existe des différences significatives de perméabilité entre divers coupons d'une même feuille de membrane à cause des irrégularités de fabrication. Pour cette raison, c'est la perméabilité moyenne qui est utilisée pour caractériser une membrane.

II.1.3.3. Taille des pores ou porosité

La taille des pores varie de quelques microns en microfiltration à un nanomètre en nanofiltration. La porosité d'une membrane n'est jamais parfaitement uniforme. En deçà du nanomètre, le mécanisme de transfert de solvant est plutôt de type solution/diffusion que convection ; la solution n'est pas seulement poussée pour s'infiltrer au travers de la membrane, mais aussi elle diffuse au travers du matériau membranaire. La structure polymérique du matériau change en fonction des énergies d'activation, donc de la température. La sélectivité de ces membranes dépend de l'affinité chimique du matériau avec les différents composés qui traversent la membrane. La porosité d'une membrane s'exprime en ε_T sans unité :

$$\varepsilon_T = \frac{V_{pores}}{V_o} \quad \text{(II.5)}$$

II.1.3.4. Géométrie Des Modules

Un module est la plus petite unité qui peut être changée dans un système industriel. Il s'agit d'un assemblage de membranes avec une entrée d'alimentation commune et des sorties

communes de perméat et de concentré. Le module comporte des cadres séparateurs ou des drains intercalaires, et généralement des joints de colle pour assembler les membranes et assurer l'étanchéité entre l'alimentation et le perméat. Un module ne comporte pas d'accessoires et d'équipement tels que des dispositifs de mesure, de mise sous pression, de contrôle, etc. (Audinos et Isoard, 1986). Les membranes se présentent sous forme de films plans (feuilles), de tubes ou de fibres creuses. Elles sont mises en œuvre dans des modules regroupant un ou plusieurs éléments de base. Les différents types de modules développés au cours du temps se distinguent en termes de performance par leur coût, la surface filtrante par module, la consommation énergétique par unité de volume de perméat produit, la susceptibilité au colmatage, la facilité de nettoyage et l'aptitude à travailler dans les conditions de procédé (température, viscosité, pression, débit, pH, abrasion, résistance aux traitements de nettoyage). Les quatre types de module disponibles de nos jours pour des applications industrielles sont les suivants :

- ✓ module à membrane plane;
- ✓ module à membrane tubulaire;
- ✓ module à membrane spiralée;
- ✓ module à fibres creuses.

Les modules à plaques ou assemblage de membranes planes et de cadres séparateurs plans ou de plaques, ainsi que de dispositifs d'amenée et d'évacuation des fluides et, éventuellement, d'électrodes. L'épaisseur des canaux d'écoulement tangentiel est située dans la gamme de 0,5 à 3 mm et la compacité du module est de 100 à 400 m^2/m^3 (m^2 de membrane/m^3 de volume occupé par le module). Ils peuvent être installés en série ou en parallèle. Les modules tubulaires, comportent une ou plusieurs membranes de forme tubulaire, en général rectilignes, ayant des diamètres internes entre 6 et 25 mm. Plusieurs tubes individuels peuvent être placés dans un manchon en PCV ou en acier inoxydable. Les modules spiralés sont des feuilles de membranes planes et les divers séparateurs et drains intercalaires sont enroulés en spirale autour d'un tube collecteur de perméat. Un module industriel peut avoir un diamètre de 100 mm ou 200 mm et sa longueur habituelle est de 1 m. Ceux-ci sont beaucoup plus compactes que les modules à plaques (700 à 1000 m^2/m^3). Les modules à fibres creuses sont constitués de quelques milliers jusqu'à plusieurs millions (Aptel et al., 1996) de membranes tubulaires de très petit diamètre (< 2mm) appelées fibres creuses. La compacité de ces modules varie de 1000 à 10000 m^2/m^3.

II.1.3.5. L'influence de la température sur la perméabilité de la membrane (K)

Pour le cas des membranes d'UF, il est considéré que la structure de la membrane n'est pas affectée significativement par les changements de température (à condition bien sûr de rester dans la gamme recommandée par le manufacturier). Dans ce cas, la perméabilité de la membrane est considérée comme inversement proportionnelle à la viscosité de l'eau (Cheyran, 1998) :

$$K_{T1}.\mu_{T1} = K_{T2}.\mu_{T2} \quad \text{(II.6)}$$

Les variations de la viscosité de l'eau en fonction de la température peuvent être représentées par une fonction polynomiale de troisième degré de la température (Metcalf et Eddy, 1991) :

$$\mu = -7{,}299.10^{-9}T^3 + 9{,}862.10^{-7}T^2 - 5{,}571.10^{-5}T + 1{,}777.10^{-3} \quad \text{(II.7)}$$

Par contre, la structure de certaines membranes de NF est sensible à la variation de la température. Dans ce cas, le rapport entre la perméabilité correspondant à une température *T* et celle correspondant à la température standard (25°C) est généralement donné par la fonction exponentielle suivante (Sharma et al, 2003) :

$$\frac{K_T}{K_{25}} = \exp\left[\Omega\left(\frac{1}{298} - \frac{1}{273+\mathrm{T}}\right)\right] \quad \text{(II.8)}$$

Avec Ω constante empirique, propre à chaque membrane, déterminée par des essais de laboratoire, en faisant varier la température sans unité.

L'équation ci-dessus inclut l'effet de la température sur la structure de la membrane et sur la viscosité de l'eau.

II.1.3.6. Resistance d'une membrane (R_m)

La résistance hydraulique (R_m) d'une membrane peut être définie comme étant sa résistance à l'écoulement du fluide à filtrer à travers cette membrane. La résistance d'une membrane est l'inverse de sa perméabilité. La relation ci-dessous, nous permet de calculer de façon pratique la résistance d'une membrane à partir des mesures de flux de perméation et de la pression transmembranaire.

$$R_m = \frac{1}{K} = \frac{S\Delta P_m}{Q_p} \quad \text{(II.9)}$$

En supposant que les pores d'une membrane soient cylindriques et rectilignes, la loi de Poiseuille permet d'exprimer la résistance d'une membrane comme suit :

$$R_m = \frac{8\delta}{n_p \pi\, r_p^4} \quad \text{(II.10)}$$

Où $\boldsymbol{\delta}$ est l'épaisseur de la couche active de la membrane**,** $\boldsymbol{n_P}$ est le nombre de pores par unité de surface et $\boldsymbol{r_P}$ est le rayon des pores. Cette équation montre que la résistance de la membrane augmente avec l'augmentation de l'épaisseur de la membrane et diminue avec sa porosité (Belfort et al, 1994).

II.1.4. DIFFERENTS TYPES DES PROCEDES DE SEPARATION MEMBRANAIRE

II.1.4.1. Microfiltration (MF)

La microfiltration (MF) est la plus ancienne de tous les procédés membranaires, étant utilisée et commercialisée pour la première fois par Sartorius Werke GmbH en Allemagne en 1929. L'utilisation d'un tel procédé a été nécessaire pour assurer une eau sûre du point de vue bactériologique dans les villes allemandes bombardées durant la Deuxième guerre mondiale (Belfort et al., 1994).

Les membranes de MF utilisées dans le domaine de l'eau potable sont capables de retenir des particules plus grandes que 0,1µm. Ces membranes permettent donc de retenir en bonne partie les particules à l'origine de la turbidité. Ces membranes permettent aussi de retenir les bactéries et les kystes de *Giardia Lamblia* et de *Cryptosporidium Parvum*. L'utilisation principale de la MF reste la clarification c'est-à-dire l'enlèvement des particules en suspension. La pression d'opération en MF est relativement basse (< 350 kPa) et les flux de perméation sont élevés (10^{-2} à 10^{-4} m/s) (Belfort et *al.*, 1994). La MF peut aussi servir de prétraitement pour la NF et l'OI.

II.1.4.2. Ultrafiltration (UF)

La taille des pores des membranes d'UF est moins élevée que celles des membranes de MF et plus élevée que celles des membranes de NF quoiqu'il y ait des chevauchements entre les domaines de l'UF et ceux de la MF et de la NF (les limites ne sont pas clairement établies).

Les SC des membranes d'UF se situent entre 1000 et 100000 Da. La pression d'opération en UF reste assez basse (50-500kPa) et les flux de perméation sont moins élevés qu'en MF (Anselme et Jacobs, 1996). Les membranes d'UF permettent d'enlever les colloïdes, les particules, et les macromolécules. Étant donné la taille des pores des membranes d'UF, qui se situe entre quelques nm et une centaine de nm, certaines membranes d'UF (dans le domaine qui est le plus proche de la NF) sont capables d'enlever aussi les virus et possiblement une partie de précurseurs des trihalométhanes (THM) et une partie de la couleur (Bouchard et al., 2003C) quoique cela ne soit pas très documenté dans la littérature scientifique.

II.1.4.3. Nanofiltration (NF)

Dans les années 80, la NF a gagné beaucoup d'intérêt pour des fins d'adoucissement et pour l'enlèvement de précurseurs de THM. La NF est le deuxième procédé membranaire en importance (Malleviale et al.,1996). Les membranes de NF sont fabriquées habituellement à partir de polymères. Ces membranes ont des seuils de coupure entre 300 et 1000 Da (Hong et Elimelech., 1997). En plus de permettre un enlèvement des particules et des macromolécules comme en UF, les membranes de NF sont conçues pour assurer un enlèvement poussé des ions multivalents (Ca^{+2}, Mg^{+2}, Mn^{+2}, Fe^{+2}) ce qui fait de la NF un excellent choix pour le traitement des eaux souterraines. Une conséquence de la rétention des ions multivalents est une augmentation de la pression osmotique qui peut être significative par rapport à la pression d'opération. La NF permet aussi un enlèvement poussé de la MON(matière organique naturelle) et donc une forte réduction de la concentration en carbone organique total (COT). La couleur, en relation avec le Fe et la MON est très bien enlevée par ce procédé. Les ions monovalents sont retenus partiellement par les membranes de NF, phénomène qui limite l'augmentation de la pression osmotique. La pression d'opération en NF varie de 500 à 1500 kPa (Malleviale et al., 1996).

II.1.4.4. Osmose inverse (OI)

Pontié et al, (Pontié et al., 2001) mentionne que dès 1969, le Dr. Sourirajan présente l'OI comme un procédé industriel ‹‹ en rupture technologique›› avec les traitements de l'eau existants à l'époque, en particulier ceux destinés au dessalement de l'eau de mer. Les mêmes auteurs nous renseignent que Michaels définit le domaine de l'OI comme celui de la séparation des espèces dont la masse moléculaire est du même ordre de grandeur que celle du solvant (l'eau) (Pontié et al, 2001).

Les membranes d'OI sont celles qui ont les structures les plus denses de toutes les membranes utilisées actuellement, avec des SC plus bas que 300 Da. Ces membranes ont la capacité de retenir les ions monovalents, de très faible masse molaire (Na^+,Cl^-). Par conséquent, les pressions osmotiques, qui sont d'autant plus importante que la taille du soluté est faible, peuvent être très fortes si les concentrations en sels ou en molécules de faible masse moléculaire sont élevées. Cela implique que la pression d'opération, qui doit être plus élevée que la pression osmotique, peut être très élevée comme dans le cas du dessalement d'eau de mer (5 à 8 MPa).

II.1.5. PRINCIPES DE MISE EN ŒUVRE DES MEMBRANES

Dans cette section, nous allons décrire les deux grands types de mise en œuvre des membranes :

- ✓ L'écoulement frontal;
- ✓ L'écoulement tangentiel.

II.1.5.1. Ecoulement frontal

En écoulement frontal, l'écoulement se fait dans une seule direction soit perpendiculairement à la surface de la membrane. Ce type de mise en œuvre est souvent utilisé pour des essais à l'échelle de laboratoire, dans des cellules de filtration, ayant un volume de moins de quelques litres (voir Figure I.2.2). Le principal avantage de cette façon de tester les membranes est sa simplicité (Belfort et al., 1994). En effet, il n'est pas utile de recirculer la solution à filtrer, et donc il n'y a pas besoin de pompe de recirculation ce qui simplifie énormément le montage expérimental. Une source de pression statique (bonbonne de gaz inerte) peut assurer la force motrice nécessaire à la filtration.

L'écoulement frontal est utilisé à l'échelle industrielle aussi, mais dans une proportion beaucoup moins élevée que l'écoulement tangentiel. Les principaux systèmes à membranes qui l'utilisent sont les systèmes à fibres creuses.

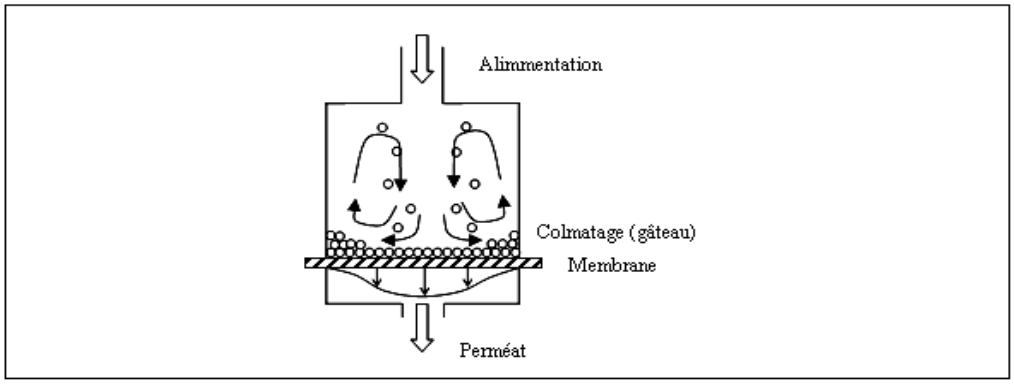


Figure II.2 : Cellule de Filtration Frontale (adapté après Belfort et al. 1994)

En filtration frontale, le courant à travers la membrane entraîne toutes les espèces dissoutes ou en suspension vers la surface de la membrane. Les espèces retenues par la membrane s'y s'accumulent très rapidement.

En absence de courant de balayage tangentiel de la surface de la membrane, l'efficacité des processus de transport qui limitent l'accumulation à la surface de la membrane est restreinte. Ceci favorise un colmatage rapide de la membrane. À la Figure I.2.2 nous pouvons aussi observer, dans une cellule de filtration frontale, les particules retenues qui se déposent à la surface de la membrane. Les flèches indiquent les trajectoires des particules, trouvées à la fois sous l'influence du gradient de pression (d'opération) et sous l'influence des divers mécanismes de remise en suspension.

II.1.5.2. Ecoulement tangentiel

Dans ce mode de mise en œuvre, il y a deux écoulements ; un écoulement à travers la membrane qui est perpendiculaire à la surface de la membrane comme en écoulement frontal et un écoulement tangentiel à la surface de la membrane (voir Figure I.2.3). Dans ce mode de mise en œuvre, il y a donc nécessairement une entrée (l'alimentation) et deux sorties (le perméat et le courant qui correspond au milieu qui n'est pas passée à travers la membrane et qui est appelé concentré ou rétentat). Ce mode de mise en œuvre amène aussi à définir des canaux d'écoulement tangentiel comme étant les espaces entre les membranes (ou entre une membrane et une paroi non poreuse) où le courant d'alimentation s'écoule parallèlement à la surface des membranes et se concentre d'amont en aval en substances retenues par les membranes. Ce type de mise en œuvre est utilisé aussi bien à grande échelle (industrielle) qu'à l'échelle laboratoire. Dans ce dernier cas, il faut noter que cela oblige à utiliser des volumes plus grands que dans le cas de l'écoulement frontal (Belfort et al., 1994).

Le principal avantage de l'écoulement tangentiel, par rapport à l'écoulement frontal, est le fait que le mouvement tangentiel de l'alimentation balaie la surface de la membrane. Ce balayage accélère la remise en suspension des particules déposées ou accumulées à proximité de la membrane. Cela accélère aussi le transport des solutés, qui tendent à s'accumuler à la surface de la membrane, vers le cœur de l'écoulement.

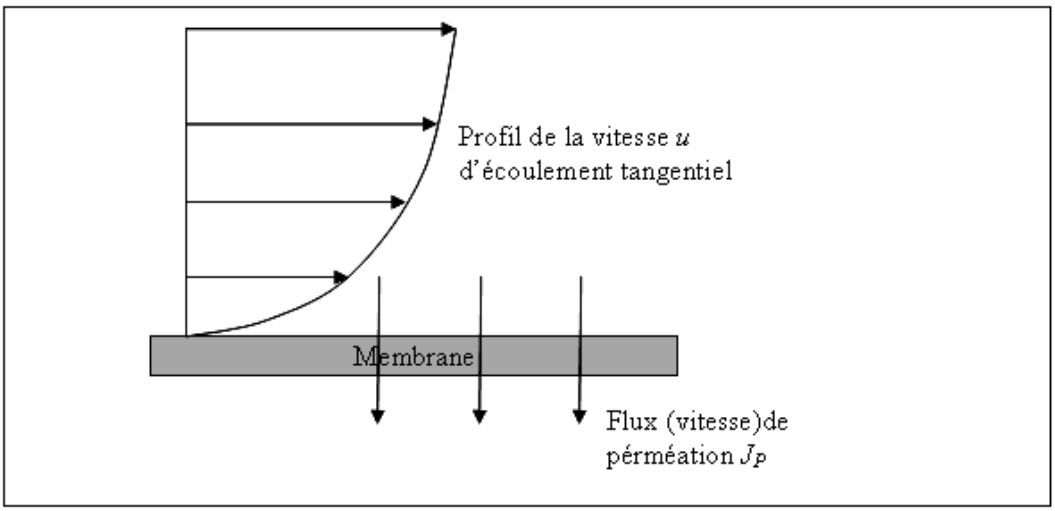


Figure II.3 : Écoulement tangentiel

Il est possible de définir un débit volumétrique et une vitesse d'écoulement tangentiel. Plus la vitesse d'écoulement tangentiel est élevée, plus les effets mentionnés ci avant (rétro-transport vers le cœur de l'écoulement) sont accentués, et par conséquent, plus le colmatage peut être réduit d'une façon significative. C'est à cause de cela que l'écoulement tangentiel est très répandu dans les applications industrielles.

Remarquons aussi que l'écoulement frontal peut être considéré comme un cas limite de l'écoulement tangentiel, où la vitesse d'écoulement tangentiel tend vers zéro.

II.1.6. MECANISME DE TRANSPORT DANS LES CANAUX D'ECOULEMENT TANGENTIEL

Lors de la filtration membranaire, une particule est soumise à plusieurs types de forces à proximité de la membrane (Sethi, 1997). Dans tous les cas, il y a une force d'entraînement vers la membrane due au courant convectif c'est-à-dire à la perméation à travers la membrane. Il existe aussi des forces qui tendent à éloigner les particules ou les solutés de la surface de la membrane et donc qui tendent à réduire leur accumulation à la surface de la membrane :

- Force de diffusion Brownienne : phénomène bien connu qui entraîne les colloïdes et les molécules des zones de fortes concentrations vers les zones de faibles concentrations et qui est dû aux chocs aléatoires avec les molécules du fluide; la diffusion est d'autant plus forte que le gradient de concentration est fort et que la molécule est petite;
- Force d'inertie pour les plus grosses particules (Belfort et al., 1994);
- Force d'entraînement tangentiel à la surface de la membrane qui peut occasionner un "transport en surface" des plus grosses particules qui « glissent » à la surface de la membrane;
- Force de diffusion induite par cisaillement pour les colloïdes; ce type de diffusion est causé par les contacts entre particules. Le résultat est une migration latérale des particules.

L'intensité de ces forces dépend de la taille et de la forme des particules ou des solutés. La diffusion Brownienne est prédominante pour les petites molécules tandis que le transport inertiel est prédominant pour les plus grosses particules (> 30 μm). La diffusion par cisaillement est importante pour les colloïdes. Ces forces déterminent la vitesse de rétro-transport des particules et de soluté de la surface de la membrane vers le cœur de l'écoulement. Elles déterminent donc la concentration d'équilibre à la surface de la membrane.

II.1.6.1. Mécanisme de type diffusionnel

Ce modèle consiste à considérer que les transferts de solvant et de soluté se font par solubilisation-diffusion. Toutes les espèces moléculaires (soluté et solvant) se dissolvent dans la membrane et diffusent à l'intérieur de celle-ci comme dans un solide ou un liquide sous l'action d'un gradient de concentration et de pression. C'est notamment le cas de l'osmose inverse. Ainsi, le flux de solvant et de soluté *Ji* ($kg.m^{-2}.s^{-1}$) de chaque espèce *i* est déterminé par une relation de la forme (Alain MAUREL**,** 2001) :

$$J_i = -\frac{D_i C_i}{RT} grad\mu_i = -\frac{D_i C_i}{RT}\left(\frac{\partial \mu_i}{\partial C_i} grad C_i + V_i grad P\right) \qquad \text{(II.11)}$$

Avec D_i ($m^{-2}.s^{-1}$) coefficient de diffusion du constituant *i* dans la membrane, C_i ($kg.m^{-3}$) sa concentration moyenne dans la membrane, μ_i ($J.mol^{-1}$) son potentiel chimique, V_i ($m^3.mol^{-1}$) son volume molaire partiel, *P*(Pa) pression appliquée.

Les D_i et C_i considérés ici correspond à la valeur du paramètre dans la membrane (par opposition à la valeur du même paramètre dans la solution). Nous nous placerons, pour simplifier, dans le cas d'un seul soluté. Donnons l'indice 1 au solvant (eau, par exemple) et l'indice 2 au soluté**.** L'équation précédente peut être intégrée en supposant que la différence de concentration en eau à travers la membrane est faible (Alain MAUREL**,** 2001) :

$$J_1 = -\frac{D_1 C_1 V_1}{RTz}(\Delta P - \Delta\pi) \qquad \text{(II.12)}$$

Avec *z* (m) épaisseur effective de la membrane, Δ*P* (Pa) différence de pression de part et d'autre de la membrane, ΔΠ (Pa) différence de pression osmotique de part et d'autre de la membrane. Les principales hypothèses faites pour obtenir l'équation précédente sont que le coefficient de diffusion est indépendant de la concentration et que les propriétés de la membrane sont indépendantes de la pression. Nous verrons que ces hypothèses ne sont pas rigoureuses. Dans le cas de membranes très sélectives, le terme *Vi*grad*P* de l'équation (II.11) est négligeable devant le terme (*∂*μ*i*/*∂Ci*) grad*Ci* et l'on obtient pour le flux de soluté :

$$J_2 = -\frac{D_2}{z}\Delta C_2 = -\frac{D_2 H}{z}\Delta C_2' \qquad \text{(II.13)}$$

Avec J_2 (kg.m^{-2}.s^{-1}) flux de soluté à travers la membrane, D_2(m^2.s^{-1}) coefficient de diffusion du soluté dans la membrane, ΔC_2 (kg.m^{-3}) différence de concentration du soluté dans la membrane, $\mathbf{\Delta C'_2}$ (kg.m^{-3}) différence de concentration du soluté dans la solution, de part et d'autre de la membrane, $\mathbf{H = \Delta C_2 / \Delta C'_2}$ coefficient de distribution du soluté entre la solution et la membrane. Si aucune des propriétés de la membrane ne dépend de la pression ou de la concentration des solutions, le terme $\mathbf{- D_1 C_1 V_1 / RTz}$ peut être considéré comme une constante de la membrane, que nous appellerons K; de même le terme $\mathbf{- D_2 H / z}$ peut être considéré comme une constante relative au transfert de soluté, que nous appellerons $\mathcal{K}$. Ces constantes caractérisent les transferts par unité de surface de membrane :

- K : perméabilité de la membrane au solvant (en kg.s^{-1}.Pa^{-1}.m^{-2}) ;
- $\mathcal{K}$: perméabilité de la membrane au soluté (en m.s^{-1}).

Quand on parle de perméabilité sans autre précision, il s'agit toujours de la perméabilité au solvant *K*. Les relations précédentes peuvent alors s'écrire (Alain MAUREL**,** 2001) :

$$J_1 = \mathrm{K}\ (\Delta \mathrm{P} - \Delta\pi)\ ;\ J_2 = K\,\Delta C_2 \qquad \text{(II.14)}$$

II.1.6.2. Mécanisme du type capillaire

Cette théorie, est la plus ancienne et la plus simple, elle consiste à considérer les membranes comme un milieu poreux constitué d'une multitude de capillaires ; dans ce cas, la sélectivité et la perméabilité peuvent être déterminées à partir du diamètre de pore, du nombre de pores et de leur courbe de distribution. C'est le cas de l'ultrafiltration et de la microfiltration. Le flux de solvant à travers une telle membrane peut être déterminé par la loi de Poiseuille :

$$J_1 = \frac{\pi d^4 N}{123\mu} \frac{\Delta P}{z} \quad \text{(II.15)}$$

Avec J_1 ($m^3.s^{-1}.m^{-2}$) débit-volume de solvant par unité de surface de membrane, d (m) diamètre de pore, μ (Pa.s) viscosité dynamique du solvant, ΔP (Pa) différence de pression, z (m) épaisseur effective de la membrane, N (m^{-2}) nombre de pores par unité de surface de membrane. Le nombre de pores par unité de surface peut être relié à la porosité par la relation :

$$N = \frac{4\varepsilon}{\pi d^2 \tau} \quad \text{(II.16)}$$

Avec ε porosité de la membrane (égale au rapport du volume total des pores de la membrane à son volume apparent), τ facteur de tortuosité (égal au rapport de la longueur moyenne d'un pore à l'épaisseur de la membrane) d'où :

$$J_1 = \frac{\varepsilon d^2}{32\mu\tau} \frac{\Delta P}{z} \quad \text{(II.17)}$$

II.1.6.3. Mécanisme de type phénoménologique « boîte noire »

Ce modèle établit des relations phénoménologiques linéaires entre les flux *Ji* et les gradients de transfert associés *Fi*, ou non associés *Fj* par l'intermédiaire de **coefficients phénoménologiques** *Lij* (théorie d'Onsager) :

$$J_i = L_{ij} F_i + \sum_{i \neq j} L_{ij} F_j \quad \text{(II.18)}$$

Le flux *Ji* d'une espèce n'est pas uniquement relié à sa force associée *Fi* mais résulte de toutes les forces impliquées dans le processus global : on est en présence de transferts couplés.

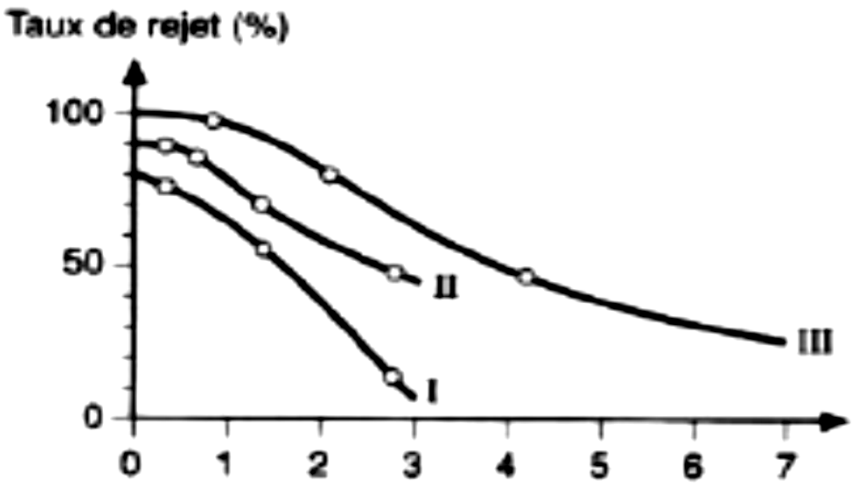


Figure II.4 : Variation du taux de rejet d'une membrane de type capillaire en fonction de la pression appliquée, de 105 Pa ou bar, I Dextran 80, II Dextran 40, III Dextran 20. [Baker (R.W.) et Strathmann (H) – *Ultrafiltration*(1970)].

Dans le cas des techniques à membranes, il y a seulement deux flux (solvant et soluté) et deux gradients de transfert (pression et concentration). La relation précédente peut être simplifiée en supposant que les coefficients *croisés* sont égaux :

- $Lij = Lji$ pour $i \neq j$ (relation de réciprocité d′Onsager)

Kedem et Katchalsky ont appliqué les relations précédentes aux transferts à travers les membranes et ont obtenu les résultats suivants :

- $J_1 = L\text{p}(\Delta P - \sigma\Delta\Pi)$
- $J_2 = \omega\Delta\Pi + (1 - \sigma)\, C_2\, J_1$

J_1 et J_2 (en $m.s^{-1}$) sont les débits de solvant et de soluté à travers la membrane. Lp et σ sont les coefficients phénoménologiques Lij de la relation (30), avec :

- ✓ Lp ($m.s^{-1}.Pa^{-1}$) perméabilité au solvant ;
- ✓ ω ($m.s^{-1}$) perméabilité au soluté ;
- ✓ σ coefficient de réflexion (ou de Staverman).

Le coefficient σ prend en compte l'effet de la pression sur le transfert de soluté :

σ = 1 si $TR = 1$ et σ = 0 si $TR = 0$ Si σ = 1, il n'y a pas d'interaction entre le flux de solvant et le flux de soluté (cas de membrane très sélective) et le modèle de Kedem-Katchalsky ci-avant est identique au modèle de solubilisation-diffusion (§ 3.1) :

- $J_1 = L\text{p}(\Delta P - \Delta\Pi) \equiv A(\Delta P - \Delta\Pi)$
- $J_2 = \omega\Delta\Pi \equiv B\Delta C_2$

II.1.7. POLARISATION DE LA CONCENTRATION

La couche de polarisation de la concentration est formée de solutés (cations mono et divalents) et colloïdes accumulés dans la couche limite de concentration située entre la surface de la membrane et la masse du fluide à filtrer (cœur de l'écoulement). Cette couche est l'effet d'un état d'équilibre qui se forme entre l'écoulement par convection vers la membrane et le rétro-transport dû aux différents processus.

Pour les espèces retenues par la membrane, la concentration à la surface de la membrane est donc plus élevée que dans le cœur de l'écoulement. Plus le flux de perméation est élevé par rapport à la vitesse de rétro-transport vers le cœur de l'écoulement, et plus la concentration à la surface de la membrane est élevée. Le balayage de la surface de la membrane accélère le rétro-transport et réduit donc la concentration à la surface de la membrane.

La polarisation de la concentration, et donc l'augmentation de la concentration à la surface de la membrane, a plusieurs effets négatifs. Cela réduit le taux de séparation observé. Cela facilite le colmatage des membranes en déplaçant les équilibres d'adsorption vers des conditions plus propices à un plus grand dépôt à la surface des membranes. La présence de la couche de polarisation de la concentration a aussi comme effet d'augmenter le gradient de pression osmotique de part et d'autre de la membrane. La pression osmotique peut être estimée par la relation suivante (Belfort et al, 1994) :

$$\Delta\pi = \frac{C_S\, RT}{M} \qquad \text{(II.19)}$$

La pression osmotique est d'autant plus forte que la masse molaire, *M* est faible et que la concentration du soluté, C_S est élevée. À concentration égale, les solutés de faible masse molaire comme les sucres simples, les peptides ou l'urée vont exercer des pressions osmotiques

beaucoup plus fortes que les solutions colloïdales. Mais dans les eaux douces de surfaces, les concentrations en sels dissous et en molécules de faibles masses molaires sont relativement faibles. L'effet osmotique ne devrait donc pas être très prononcé mais cela reste à vérifier.

II.1.8. CONCLUSION

En somme, plusieurs auteurs s'entendent pour dire que la filtration sur membrane a un bel avenir dans les domaines industriels (Mallevialle et al., 1996). Mais comme nous allons voir par la suite, le problème le plus aigu de la filtration membranaire est le colmatage des membranes. Le colmatage réduit la productivité des membranes et donc concourt à augmenter les dépenses d'énergie, à accroître la fréquence des lavages et à réduire éventuellement la durée de vie des membranes. Il s'agit donc d'un enjeu majeur.

III.1. GENERALITES SUR LE COLMATAGE

Le colmatage d'une membrane peut être défini comme l'ensemble des phénomènes qui interviennent dans la modification de ses propriétés filtrantes. Il s'agit de phénomènes physiques, chimiques, ou biologiques se produisant à l'interface de celle-ci, en solution ou dans le volume poreux. La conséquence est une obstruction des pores ou formation d'un dépôt entraînant à la fois des variations de perméabilité et de sélectivité. La prévision du colmatage reste encore difficile. Les mécanismes de colmatage dans un procédé biologique à membrane sont très complexes. La sévérité du colmatage des membranes est régie par l'effet combiné de facteurs physiques, chimiques et biologiques. En l'absence de colmatage, le flux du perméat d'un solvant pur est décrit par la loi de Darcy.

Le colmatage découle de l'accumulation de la matière à la surface des membranes. Quand un système membranaire est opéré à pression transmembranaire constante, la conséquence la plus problématique du colmatage est une diminution, parfois extrêmement accentuée, du flux de perméation dans le temps. D'autres conséquences directes ou indirectes du colmatage sont une diminution de la vie active des membranes, des lavages plus fréquents, et donc des consommations de produits chimiques plus importantes et la gestion, disposition des produits, et des dépenses supplémentaires d'énergie pour compenser la baisse de perméabilité des membranes causée par le colmatage. Le colmatage (gâteau) équivaut à une résistance supplémentaire à l'écoulement à travers la membrane. Le colmatage peut aussi influencer le pouvoir de séparation d'une membrane en agissant, par exemple, comme une deuxième membrane qui se superpose à la membrane originale.

L'accumulation de la matière peut se faire à la surface d'une membrane, les particules peuvent bloquer ses pores, et, dans le cas d'une membrane ayant des pores suffisamment grands par rapport aux substances présentes dans le milieu à traiter, il peut y avoir une adsorption et/ou dépôt de substances colmatant sur la paroi interne de pores. Dans les modèles de colmatage proposés par plusieurs auteurs et présentés par la suite, nous allons voir que, de façon générale, les chercheurs considèrent qu'il y a d'abord un blocage, obstruction de pores, suivi par la croissance d'un gâteau à la surface de la membrane. Ce gâteau se caractérise par une porosité propre, par une résistance spécifique opposée à l'écoulement à travers la membrane, une cohésion, une densité spécifique, et une granulométrie plus ou moins homogène.

En effet, un très large spectre d'espèces peut contribuer au colmatage, comme des macromolécules organiques, des substances organiques et inorganiques dissoutes, des particules colloïdales, des particules en suspension et des microorganismes.

La partie du colmatage qui peut être enlevée par lavage est appelée «colmatage réversible». Le colmatage qui correspond à la perte «définitive» d'une partie de la perméabilité est généralement appelé «colmatage irréversible». A priori, ce type de colmatage est essentiellement dû à une forte adsorption de substances qui ont une grande affinité pour la membrane. À noter que le caractère réversible du colmatage est très relatif aux moyens qui sont mis en œuvre pour laver les membranes.

III.1.1. FACTEURS INFLUENÇANT LE COLMATAGE DES MEMBRANES

En utilisant trois acides humiques d'origines différentes, Hong et Elimelech (1997) ont mis en évidence trois facteurs chimiques et un facteur physique qui influencent d'une façon décisive le colmatage par la matière organique. Les acides humiques utilisés ont été les suivants, acide humique de la rivière Suwanee (SHA), acide humique de tourbe (PHA) et acide humique commercial (AHA) vendu par la compagnie Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wisconsin). Ces auteurs ont réalisé des expériences de NF en écoulement tangentiel à pression constante et à un flux de perméation initial fixé. La membrane de NF utilisée a été une membrane plane composite fabriquée en polyamide aromatique (TFCS) produite par la compagnie Fluid Systems (San Diego, California), mise en œuvre en écoulement tangentiel dans un module à plaques ayant deux cellules en parallèle.

III.1.1.1. Effet du pouvoir ionique

Hong et Elimelech (1997) ont montré que plus la force ionique dans le milieu est élevée (ajustement avec du NaCl), et plus la perte de flux de perméation a été élevée comme cela est montré sur la Figure III.1.

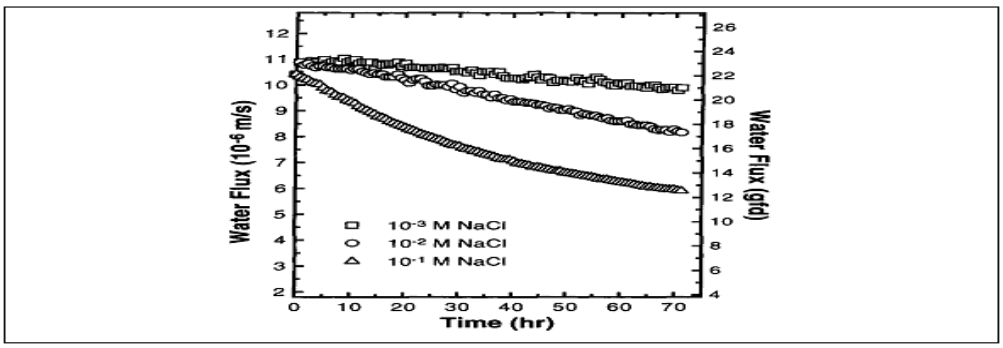


Figure III.1 : L'effet du pouvoir ionique sur le colmatage par la matière organique, ajusté par la variation de la concentration en NaCl. Concentration AHA=10mg/l, JP0 =1,04E-5 m/s, pH=7,95±0,1 (Hong et Elimelech, 1997)

Ces auteurs expliquent cela par le fait que la résistance hydraulique du gâteau augmente avec son épaisseur et sa compacité. À force ionique élevée, la charge électrique de la membrane et celle des macromolécules humiques est réduite d'une manière significative, ce qui réduit la répulsion électrostatique entre ces macromolécules. Par conséquent, le dépôt de la matière organique sur la surface est facilité (moins de forces de répulsion) et le gâteau devient plus épais. De plus, avec l'augmentation de la force ionique, la répulsion électrostatique entre les chaînes organiques diminue, et les molécules humiques tendent à avoir une structure plus compacte, ce qui donne un gâteau plus compact et donc une plus grande résistance à l'écoulement.

III.1.1.2. Effet de la présence des cations divalents (Ca^{2+})

L'étude de Hong et Elimelech (1997) montre que l'ajout de 10^{-3} M de Ca^{2+} dans le milieu accélère grandement la baisse du flux de perméation comme présenter sur la figure III.2.

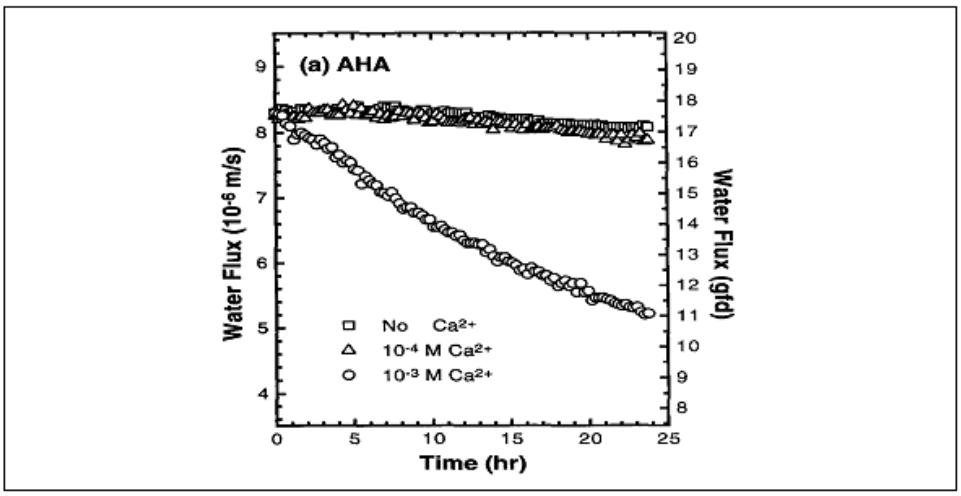


Figure III.2 : L'effet de la Concentration en Ca^{2+} sur le colmatage par la matière organique. Concentration AHA=10mg/l, pouvoir ionique =10.10^{-2} M, ajusté par la variation de la concentration en NaCl, J_{P0} =$8,24.10^{-6}$ m/s, pH=7,95±0,1 (Hong et Elimelech, 1997)

Une explication pour cela, serait le fait que le Ca^{2+} se lie aux groupes fonctionnels (spécialement carboxyliques) des molécules présentes, formant ainsi des complexes. Cela réduirait la charge de la matière organique. Dans une étude préliminaire, les auteurs ont aussi mis en évidence une réduction de la charge de la membrane par ajout de Ca^{2+}. La compléxation de la matière organique par le calcium génère aussi des liaisons entre ses macromolécules, ce qui rend le gâteau organique sur la membrane plus dense.

III.1.1.3. Effet du pH de la solution à filtrer

Hong et Elimelech (1997) rapportent aussi des expériences où le pH de la solution d'acides humiques a été ajusté à deux valeurs différentes, 4 (acide) et 8 (alcaline), et ce pour le cas où le Ca^{2+} est absent, et pour une concentration de 10^{-3}M $CaCl_2$. Les effets du pH sur l'évolution du flux de perméation dans le temps sont représentés sur la Figure III.3.

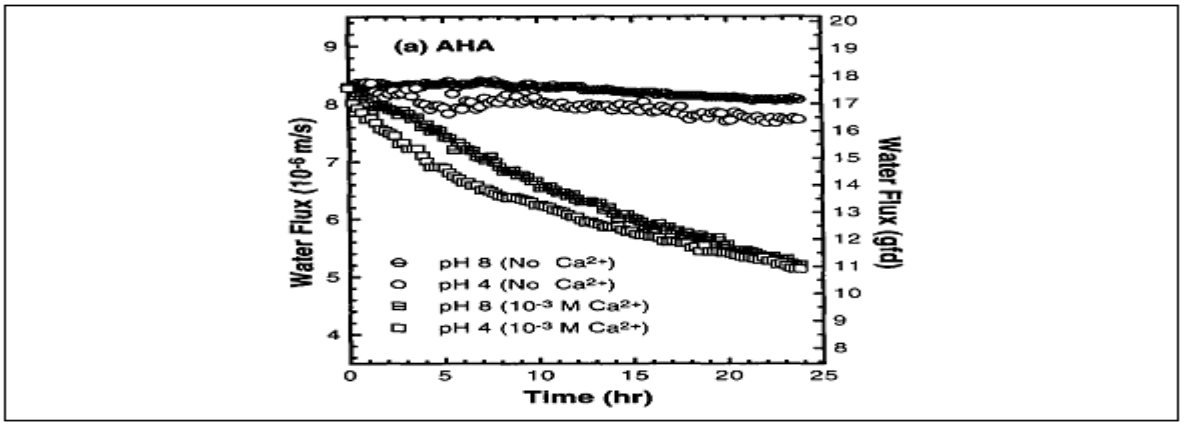


Figure III.3 : L'effet du pH de la solution sur le colmatage par matière organique Concentration AHA=10 mg/l, pouvoir ionique =10^{-1} M, ajusté par la variation de la concentration en NaCl, J_{P0} =8,24.10^{-6} m/s, (Hong et Elimelech, 1997).

A partir de cette figure, il apparaît que la perte de flux de perméation est plus accentuée à pH=4 qu'à pH=8, et cet avec et sans ajout de Ca^{2+}. Ce comportement est attribué par les auteurs à la réduction de la charge électrique de la surface de la membrane de NF, fait prouvé par des études préliminaires qui ont démontré qu'à pH=3, la charge de la surface de la membrane TFCS est nulle. De plus, quand le pH diminue, plus de groupes carboxyliques de la matière organique présente deviennent protonées, ce qui réduit la charge des macromolécules organiques. Ces réductions de charges électriques génèrent, comme dans les cas précédents, un gâteau plus compact. Qui plus est, lors de la NF d'une solution synthétique contenant des substances humiques (SH), il a aussi été montré que l'ajout de Ca^{2+} (10 mg Ca^{2+}/l) sous forme de $CaCl_2$ pouvait générer une baisse de flux de perméation dans le temps. De plus, la baisse de flux de perméation a été plus importante quand la dose rajoutée de Ca^{2+} a été augmenté à 100 mg Ca^{2+}/l.

III.1.1.4. Effet du flux de perméation initiale (J_P)

Le flux de perméation initiale (J_{P0}) est un facteur qui a un effet très fort sur le colmatage. Cet effet a été mis en évidence par Hong et Elimelech (1997) tel que montré à la Figure III.4.

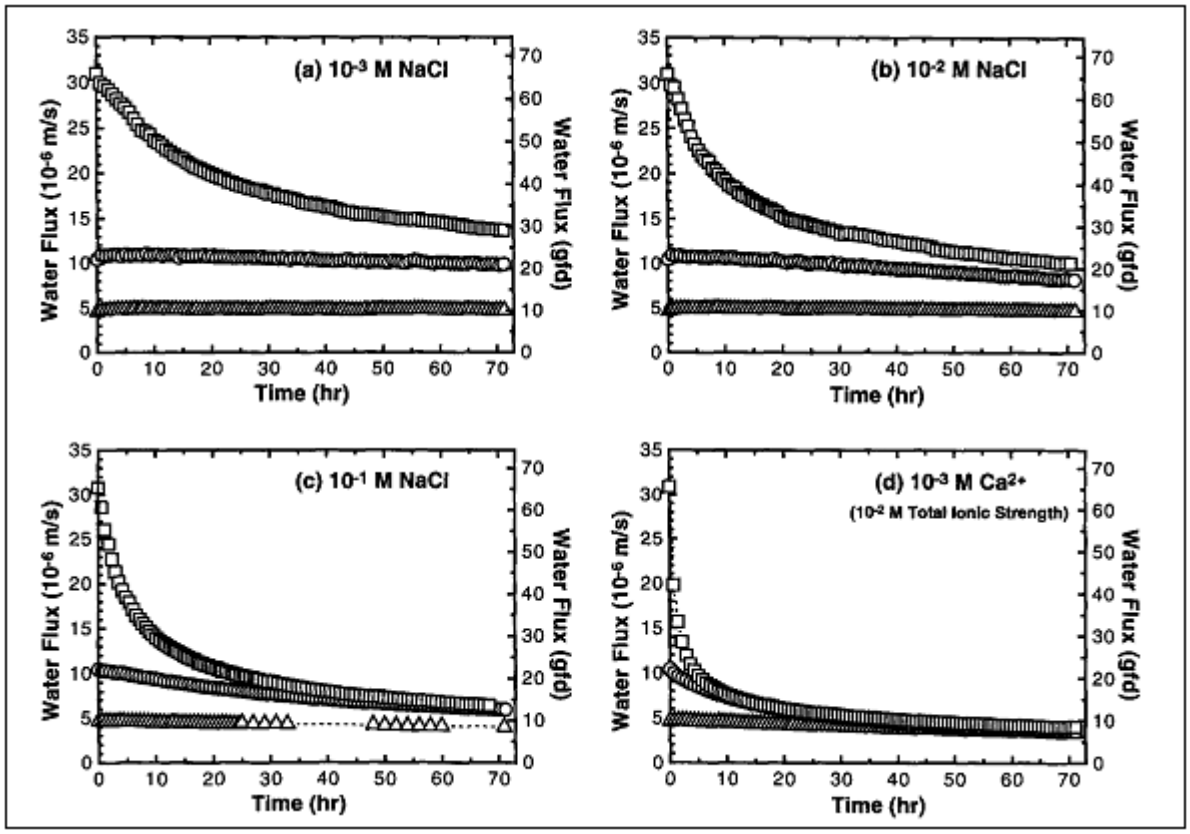


Figure III.4 : L'effet du flux de perméation initiale sur colmatage par la matière organique Concentration du AHA=10 mg/l, pouvoir ionique =10^{-1} M, pH=7,95±0,1 (Hong et Elimelech, 1997)

Pour une valeur relativement élevé de J_{P0} (3,11.10^{-5}m/s), une réduction dramatique du flux de perméation dans le temps est observée, et ce pour les différentes forces ioniques et concentrations en calcium qui ont été testées. Dans le cas d'un faible flux de perméation initial (0,47.10^{-5} m/s), aucune perte de flux n'a été observée pour des pouvoirs ioniques faibles et moyens, alors que dans le cas d'un pouvoir ionique élevé, une faible perte de flux a été remarquée. Quand le flux de perméation initial a été fixé à une valeur moyenne (1,04.10^{-5} m/s), la perte de flux a été plus accentuée pour des pouvoirs ioniques élevés. L'effet du flux de perméation initial peut s'expliquer en partie par l'augmentation de la pression d'opération qui entraînerait une plus grande compression du gâteau. D'autres chercheurs ont mis en évidence une augmentation de la résistance spécifique du gâteau avec l'augmentation de la pression transmembranaire (Chudacek et Fane, 1984; Opong et Zydney, 1991).

L'effet du flux de perméation initial peut aussi s'expliquer par le fait que le volume filtré est plus grand aux J_P élevés, et donc il y a plus de substances colmatant, qui sont envoyées vers

la membrane, augmentant ainsi plus vite la masse de particules déposées sur la surface et dans les pores de la membrane.

À des valeurs élevées de J_P, la force d'entraînement par convection peut dépasser la force de répulsion électrostatique entre la membrane et les acides humiques (toutes deux chargées négativement autour du pH neutre) et donc favoriser l'attachement des acides humiques sur le surface de la membrane. À l'inverse, lorsque la force d'entraînement par convection est plus faible que la force de répulsion électrostatique cela peut empêcher l'attachement à la surface de la membrane et cela pourrait expliquer pourquoi il y a peu ou pas de colmatage à très bas flux de perméation (Hong et Elimelech, 1997).

III.1.2. MODELES DE COLMATAGE

Il n'existe pas actuellement de modèle de colmatage pour la filtration tangentielle de solution colloïdale qui puisse s'appliquer de manière satisfaisante à la filtration de divers milieux. Par contre, plusieurs auteurs ont appliqué des modèles classiques de filtration frontale à la filtration tangentielle. Ces modèles sont présentés ci-dessous.

III.1.2.1. Modèle de colmatage par blocage complet des pores

L'hypothèse de base de ce modèle est que chaque particule présente dans la solution à filtrer va participer au blocage complet des pores (Hermia, 1982). La surface poreuse (surface totale des pores) diminue proportionnellement au volume du perméat filtré. Le débit de perméation est donc relié au volume filtré, *V*, par l'équation suivante (Hermia, 1982)

$$Q_p = Q_{po} - K_b V \qquad \text{(III.1)}$$

Avec Q_p débit de perméation, Q_{p0} débit de perméation initial, K_b Constante reliée au pouvoir colmatant d'un milieu s^{-1} et V volume filtré.

Le débit de perméation est lié au temps de filtration, *t*, par la relation suivante :

$$Q_p = Q_{po} e^{-K_b t} \qquad \text{(III.2)}$$

En combinant les équations précédentes, on obtient :

$$K_b V = Q_{po}(1 - e^{-K_b t}) \qquad \text{(III.3)}$$

Jaffrin et al. (1997) proposent une formulation différente de l'équation de Hermia (1982) :

$$J_p = J_{po} exp(- \frac{\Delta P Ç}{\mu R_m} t) \quad \text{(III.4)}$$

Avec J_p le flux du perméat, J_{po} le flux du perméat initial, ΔP_m pression transmembranaire, μ la viscosité dynamique du milieu, R_m résistance membranaire Ç Paramètre qui dépend de la nature de la suspension à filtrer et qui caractérise son pouvoir colmatant en m^{-1} et t le temps de filtration.

L'équation précédente est équivalente à l'équation suivante :

$$Q_p = Q_{po} exp(- \frac{\Delta P_m Ç}{\mu R_m} t) \quad \text{(III.5)}$$

III.1.2. 2. Modèle standard de colmatage par blocage des pores

Ce modèle est basé sur l'hypothèse que le volume des pores de la membrane diminue en proportion avec le volume filtré à cause du dépôt de particules sur la paroi interne des pores (Hermia, 1982). Le rapport entre le débit de perméation Q_p au temps *t* et le débit initial de perméation Q_{p0} (qui correspond à la membrane propre) peut être exprimé en fonction du volume cumulé de perméat (Hermia, 1982) :

$$\frac{Q_p}{Q_{po}} = \left(1 - \frac{K_s V}{2}\right)^2 \quad \text{(III.6)}$$

Où $K_s = \frac{2C}{\pi \delta N r_{po}^2}$ (III.7)

Avec K_s Constante reliée au pouvoir colmatant d'une eau en m^{-3}, C Volume des particules déposé par unité de volume de perméat sans unité, *N* nombre total de pores de la membrane sans unité, δ épaisseur de la membrane en m et r_{P0} rayon initial d'un pore en m.

En terme de variation du débit de perméation dans le temps, Hermia (1982) a développé l'équation suivante :

$$\frac{Q_p}{Q_{po}} = \frac{1}{\left(1 + \frac{1}{2} K_s Q_{po} t\right)^2} \quad \text{(III.8)}$$

Hermia (1982) a obtenu aussi l'équation suivante qui lie *V* et *t* :

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{Q_{po}t} + \frac{K_s}{2} \quad \text{(III.9)}$$

Jaffrin et al. (1997) proposent une formulation différente de l'équation de Hermia (1982) :

$$J_p = J_{po}\left(1 - \frac{\beta J_{po} t}{\delta \varepsilon}\right) \quad \text{(III.10)}$$

β Paramètre adimensionnel qui caractérise le pouvoir colmatant de la solution à filtrer pour l'intérieur des pores.

III.1.2. 3. Modèle de filtration sur gâteau

Le modèle de filtration sur gâteau est très répandu. Celui-ci décrit le processus de filtration quand un gâteau est formé progressivement et régulièrement à la surface de la membrane. L'hypothèse de base de ce modèle est que la quantité de matière déposée à la surface du filtre est proportionnelle au volume du milieu filtré (Hermia, 1982). L'équation suivante exprime le débit de perméation en fonction du temps de filtration pour une filtration frontale à gradient de pression constant (Hermia, 1982) :

$$\frac{Q_p}{Q_{po}} = \frac{1}{\left(1+2K_c Q_{po}^2 t\right)^{\frac{1}{2}}} \quad \text{(III.11)}$$

où $K_c = \frac{\alpha \nu s \mu}{S^2 \Delta P_m (1-ms)}$ (III.12)

Avec K_C constante reliée au pouvoir colmatant d'une eau en s/m^6 , α résistance spécifique du gâteau en m/kg, ν nombre d'ions résultant de la dissociation d'une molécule de sels (pour des solutés non-dissociables ν = 1), *s* fraction massique solide dans le colmatage, S surface effective de la membrane, *m* rapport massique entre le gâteau en état humide et en état sec et ΔP_m pression transmembranaire effective.

Jaffrin et al. (1997) ont exprimé le flux de perméation en fonction du temps de filtration pour la filtration sur gâteau :

$$J_p = J_{po}\left(1 + \frac{2\alpha \Delta P_m S t}{\mu R_m^2}\right)^{-\frac{1}{2}} \quad \text{(III.13)}$$

Par multiplication par la surface de la membrane de la relation précédente, on obtient l'équation suivante :

$$\frac{Q_p}{Q_{po}} = \left(1 + \frac{2\alpha\Delta P_m St}{\mu R_m^2}\right)^{-\frac{1}{2}} \quad \text{(III.14)}$$

Schippers et Verdouw (1980), ont proposé une formulation alternative du modèle de filtration sur gâteau qui fait ressortir une relation linéaire entre *t/V* et *V*. Cette équation est particulièrement importante pour le développement des indicateurs de colmatage avec I indice de colmatage en $1/m^2$:

$$\frac{t}{V} = \frac{\boldsymbol{\mu I}}{2S^2\Delta P_m} V + \frac{R_m \mu}{S\Delta P_m} \quad \text{(III.15)}$$

De plus, lorsque la membrane se colmate, une résistance supplémentaire R_c s'ajoute à la résistance de la membrane. Cette résistance additionnelle se traduit par une diminution du flux de perméat pour une filtration à pression constante, ou une augmentation du gradient de pression lors d'une filtration à flux de perméat constant et :

$$J_p = \frac{\Delta P}{\mu Rm} \quad \text{(III.16)}$$

devient $J_p = \frac{\Delta P}{\mu(Rm+Rc)}$ (III.17)

Dans un procédé de filtration frontale avec rétention complète, les macro-solutés sont déposés sur la surface de la membrane formant une couche solide ou un gâteau, alors *Rc* augmente proportionnellement avec le volume filtré V et la masse du gâteau par unité de surface:

$$Rc = \alpha m_c = \alpha MES \frac{V}{S} \quad \text{(III.18)}$$

α représente la résistance hydraulique de colmatage par unité de masse et est appelée résistance spécifique donc varie par rapport aux propriétés de la matrice telle que sa compressibilité (Lodge et col, 2004), sa composition chimique, la taille des particules et ΔP_m.

Par intégration et substitution, l´équation de filtration par gâteau à pression constante peut être écrite sous la forme :

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu\alpha MES}{2S\Delta Pm} \cdot \frac{V}{s} + \frac{R_m \mu}{S\Delta Pm} \quad \text{(III.19)}$$

Avec *MES* matière en suspension, t temps de filtration, s constante de lissage.

Ainsi, l´équation (III.19) indique que α et R_m sont obtenus à partir de la pente μαMES / ($2S\Delta P_m$) et de l´ordonnée à l'origine R_m μ/$S\Delta P_m$, de la courbe t/V=f (V) à pression constante. Dans un procédé de filtration tangentielle sous pression constante, le développement de la couche de gâteau est limité par le rapport entre les forces de cisaillement et par les mécanismes d'adhésion des matériaux à la membrane. (Ciu et col, (2003), Choi et col, (2005)).Une relation linéaire entre *t/V*=f(*V*) peut être observée à l'étape initiale de formation du gâteau. Après l'équilibre, t/V est indépendant de V, et la relation n'est plus linéaire (Huang et col. 1998). D'autre part Le mécanisme de polarisation a lieu en phase liquide, et est décrit par la loi du film:

$$\mathrm{J} = \mathrm{kln}\frac{C_m - C_p}{C_0 - C_p} \quad \text{(III.20)}$$

De plus La fraction de débit du liquide qui traverse la membrane est appelée taux de conversion de l'opération de séparation :

$$Y = \frac{Q_p}{Q_{po}} \quad \text{(III.21)}$$

III.1.2. 4. Modèle des résistances en série

Le modèle des résistances électriques en série a inspiré le modèle des résistances hydrauliques en série. L'hypothèse à la base de ce modèle est que la résistance hydraulique totale est équivalente à une somme de résistances qui sont en série par rapport à l'écoulement de la solution. Cela s'exprime très simplement par l'équation suivante :

$$R_{totale} = \sum R_i \quad \text{(III.22)}$$

Les différentes résistances en série sont :

La résistance de la membrane propre R_m, déjà définie à la section *II.1.3.6.* il s'agit de l'inverse de la perméabilité de la membrane propre;

- Une résistance additionnelle due au colmatage; cette résistance peut être décomposée arbitrairement en deux résistances en série :
    - qui correspond au colmatage rapide en tout début de filtration; cette résistance peut être assimilée au blocage des pores;
    - qui correspond au colmatage progressif de la membrane durant la filtration; cette résistante peut être assimilée à la formation d'un gâteau à la surface de la membrane.

Ces trois résistances sont définies graphiquement sur la Figure III.5. La résistance additionnelle en fin d'essai est également représentée sur cette figure de même que les variations du flux de perméation qui correspondent aux variations de la résistance totale à l'écoulement.

Mathématiquement, si la loi de Darcy s'applique, cela correspond à l'équation suivante :

$$J_p = \frac{\Delta P_m}{R_{totale}} = \frac{\Delta P_m}{R_m + R_{A0} + R_A} \qquad \text{(III.23)}$$

Dans le cas où le gradient de pression osmotique, $\Delta\pi$, n'est pas négligeable, cette équation devient :

$$J_p = \frac{\Delta P_m + \Delta\pi}{R_{totale}} = \frac{\Delta P_m + \Delta\pi}{R_m + R_{A0} + R_A} \qquad \text{(III.24)}$$

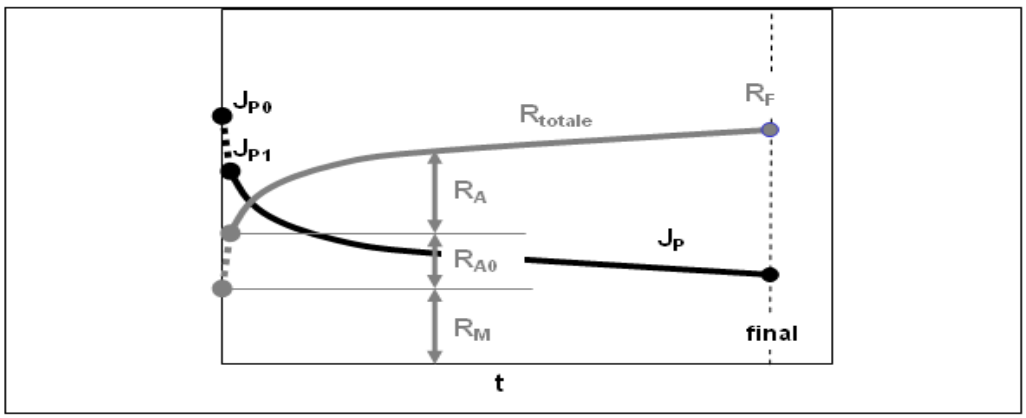


Figure III.5 : Les résistances dans le modèle des résistances en série, avec les flux de perméation correspondantes, (Adrian Paul Tamas, 2004)

Dans un cas où la résistance R_{A0} est négligeable, Hong et Elimelech (1997) ont réarrangé l'équation I.3.24 sous la forme :

$$\frac{J_{po}-J_p}{J_p} = \frac{R_A}{R_m} \quad \text{(III.25)}$$

Ils ont relié la résistance du gâteau à la masse totale de colloïdes M_d déposés sur la surface de la membrane :

$$R_A = \frac{r_A M_d}{S} \quad \text{(III.26)}$$

En écoulement tangentiel, seulement une fraction τ du flux massique de convection des colloïdes vers la membrane va se déposer sur la membrane. Si C_b est la concentration en colloïdes organiques dans le cœur de l'écoulement, M_d devient :

$$M_d = \tau C_b V \quad \text{(III.27)}$$

En combinant les équations précédentes, il est possible de relier la résistance additionnelle et le volume filtré.

$$\frac{J_{po}-J_p}{J_p} = \frac{r_A \tau C_b}{S R_m} V = \frac{R_A}{R_m} \quad \text{(III.28)}$$

Avec R_{A0} résistance qui correspond au colmatage rapide en tout début de filtration assimilée au blocage des pores en Pa/ (s.m), R_A Résistance qui correspond au colmatage progressif de la membrane durant la filtration assimilée à la formation d'un gâteau à la surface de la membrane en Pa/ (s.m), M_d masse totale de colloïdes déposés sur la surface de la membrane en Kg, C_b concentration en colloïdes organiques dans le cœur de l'écoulement en Kg/m^3, r_A résistance spécifique du gâteau et τ rapport entre les molécules organiques déposées sur la membrane et celles transportées vers la surface de la membrane sans unité.

III.1.3. INDICATEURS DE COLMATAGE

Les milieux de culture tout comme les milieux naturels en l'occurrence l'eau contiennent une grande diversité de composants. La taille, la nature et les caractéristiques physico-chimiques de ces composants déterminent le potentiel colmatant d'un milieu. Le rôle d'un indicateur de colmatage est d'intégrer tous ces facteurs en un seul paramètre. Comme on va le voir dans ce qui suit, les indicateurs de colmatage développés jusqu'à maintenant sont basés sur des tests de filtration frontale avec des membranes de MF ou d'UF. Plusieurs questions se posent :

- Est-ce qu'un même indicateur de colmatage peut couvrir une large gamme de qualité de milieu ?
- Est-ce que le pouvoir colmatant d'un milieu est une caractéristique intrinsèque de ce milieu ou bien ce pouvoir colmatant est-il dépendant de la membrane utilisée ?
- Dans le même ordre d'idée, si le test qui sert à déterminer l'indicateur de colmatage fait appel à une filtration sur membrane, jusqu'à quel point est-il possible de prédire les performances d'une autre membrane ?
- Si le test qui sert à déterminer l'indicateur de colmatage fait appel à une filtration frontale, jusqu'à quel point est-il possible de prédire les performances en filtration tangentielle ?

Bien qu'il ne soit pas facile de répondre de manière exhaustive à ces questions, plusieurs indicateurs de colmatage ont été développés. Ces indicateurs sont présentés dans ce qui suit. Les résultats présentés ci-dessous sont obtenus d'une étude de traitement d'eau de surface visent aussi à apporter des éléments de réponse aux questions posées ci-dessus.

III.1.3.1. Standard Density Index

Le Standard Density Index, plus connu sous son abréviation de SDI, est considéré comme l'indicateur le plus classique dans le domaine de la filtration membranaire. Il s'agit d'un test de l'American Society for Testing and Materials (ASTM, 1995) qui a été adopté en 1995 (test D 4189-95).

La détermination du SDI est basée sur la mesure de la vitesse à laquelle une membrane, ayant un diamètre de pores de 0,45µm, se colmate à une pression constante (filtration frontale). La membrane utilisée est une Millipore HAWPO 4700 Type HA 47 mm d'épaisseur. La pression amont est maintenue constante à 210 kPa (30 psi) et le perméat s'écoule à pression atmosphérique. Le SDI se calcule comme suit (Schippers et Verdouw, 1980) :

$$SDI = \frac{1-\frac{t_1}{t_2}}{15} \times 100 \qquad \text{(III.29)}$$

Où t_1 est le temps nécessaire pour filtrer les premiers 500 ml de solution, une fois la pression ajustée à 30 psi, t_2 est le temps nécessaire pour filtrer le deuxième (et dernier) volume de 500 ml.

La deuxième mesure (t_2) commence à 15 minutes du début de la filtration. Si le terme ($1-t_1/t_2$) x*100* est plus grand que 75, la deuxième mesure doit commencer après 10 ou même 5 min du début de la filtration.

L'équation précédente peut être formulée de la façon suivante (Schippers et Verdouw, 1980) :

$$SDI = \frac{1-\frac{\frac{500ml}{t_2}}{\frac{500ml}{t_1}}}{15} \times 100 \qquad \text{(III.30)}$$

Cette équation montre que le SDI est en effet une mesure du pourcentage de diminution du taux de filtration par unité de temps.

L'avantage du SDI est que sa détermination est relativement facile. Il comporte par contre un désavantage majeur ; ce test ne tient pas compte des différentes phases du colmatage de la membrane. En effet, comme cela est expliqué dans ce qui suit, on considère qu'il y a d'abord blocage des pores puis formation d'un gâteau. Tout est dépendant du milieu qui est testé, les mesures de SDI peuvent être faites en partie ou totalement avant la formation d'un gâteau ce qui complique l'interprétation des résultats. Pour pallier à ce problème un autre test a été développé (Modified Fouling Index).

III.1.3.2. Modified Fouling Index

Schippers et Verdouw (1980) ont proposé un indicateur de colmatage appelé «Modified Fouling Index» (MFI). Cet indicateur de colmatage tient compte des mécanismes qui contrôlent le colmatage. Schippers et Verdouw (1980), et par la suite Boerlage et al. (2003A), considèrent que le colmatage d'une membrane en filtration frontale où le gradient de pression est constant a lieu en 3 étapes :

- ✓ Blocage des pores;
- ✓ Formation d'un gâteau incompressible;
- ✓ Formation d'un gâteau compressible.

Quand il y a formation d'un gâteau incompressible, il doit y avoir une relation linéaire entre le rapport *t/V* et *V* (voir l'équation III.15 ou III.19) (Schippers et Verdouw, 1980).

Les trois phases de la filtration frontale, d'après Schippers et Verdouw (1980), sont représentées sur la Figure I.3.6. La phase qui correspond à la formation d'un gâteau incompressible est la partie linéaire du graphe *t/V=f(V)* comme cela apparaît sur cette figure. L'indicateur MFI correspond spécifiquement au colmatage par formation d'un gâteau à la surface de la membrane.

De façon pratique la détermination du MFI est similaire à celle du SDI. Le même dispositif expérimental est utilisé. Le volume de perméat est mesuré avec un cylindre gradué à chaque intervalle de 30 secondes, pour une durée totale maximale de 20 min, l'origine du temps correspondant au moment où la pression d'opération de 210 kPa (30 psi), est stabilisée. Comme une membrane de 0,45 μm est utilisée dans le MFI original, et pour se différencier d'un autre indicateur qui a été développé ultérieurement, l'indice «0,45» est ajouté. L'indicateur est donc appelé $MFI_{0,45}$.

Les résultats du test sont donc une série de mesures de temps et de volumes cumulés de perméat. L'indicateur de colmatage est la pente de la partie linéaire du graphe *t/V=f(V)*, c'est-à-dire la tangente de l'angle α (voir Figure III.6.). D'après l'équation III.15 ou III.19, le MFI s'exprime comme :

$$\frac{\boldsymbol{\mu I}}{2S^2\Delta P_m} = \frac{\mu\alpha MES}{2S\Delta P} = MFI_{0,45} = tan\alpha \qquad \text{(III.31)}$$

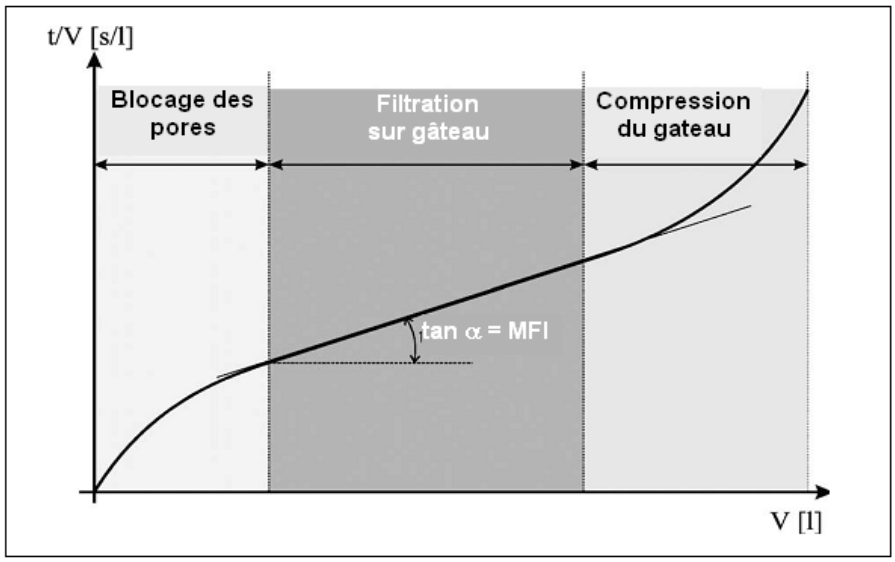


Figure III.6. : Représentation graphique *t/V* versus *V* avec la mise en évidence de la pente de la zone linéaire tan α (Schippers et Verdouw 1980; Boerlage et al., 2003A)

La valeur de l'indicateur de colmatage peut être ramenée à une température de 20°C et à une pression de 210kPa, considérées comme des conditions standard, avec la relation suivante :

$$MFI_{0,45} = \frac{\mu_{20}}{\mu_T} \times \frac{\Delta P}{210} \times tan\alpha \qquad \text{(III.32)}$$

Même si le $MFI_{0,45}$ représente un progrès notable par rapport au SDI, cet indicateur a plusieurs limites par rapport à la prédiction du colmatage en NF et en OI :

- La mesure du $MFI_{0,45}$ se fait en écoulement frontal, tandis que la NF et l'OI se font en écoulement tangentiel; l'écoulement tangentiel limite ou ralentit le dépôt de particules sur les membranes;
- Le flux de perméation en NF et OI est de100 à 1000 fois moins élevée qu'en MF, avec tout ce qu'implique une telle différence; l'équilibre des forces qui s'appliquent sur une particule dépend du flux de perméation;
- Une grande partie des colloïdes retenues en NF et en OI, passe à travers le filtre utilisé pour $MFI_{0,45}$, et, donc le pouvoir colmatant de ces colloïdes n'est pas pris en compte;
- La structure et la granulométrie du gâteau sont affectées par la taille des particules qui sont retenues par la membrane; on peut donc s'attendre à des différences à ce sujet entre la MF et, la NF et l'OI;
- Les pressions d'opération en NF et OI sont beaucoup plus élevées que la pression appliquée dans un test pour déterminer le MFI; donc le gâteau devrait être beaucoup plus compressé en NF et en OI qu'en MF;
- La rétention des sels par les membranes de NF et d'OI, et l'accumulation de ces sels dans la couche limite de polarisation modifient l'environnement ionique à proximité de la membrane ce qui n'est pas le cas en MF où la séparation des sels est négligeable; l'environnement ionique peut affecter la structure du dépôt colmatant (voir section III.1.1 et III.1.2) sur l'effet de la force ionique et du calcium sur le colmatage dû à la matière organique).

Certaines de ces limites ont été levées par le développement d'un nouvel indicateur tel que présenté dans la prochaine section.

III.1.3.3. Modified Fouling Index – Ultrafiltration

Boerlage et al. (2000, 2002 et 2003A et B) ont développé un nouvel indicateur de colmatage appelé «Modified Fouling Index-Ultrafiltration» (MFI-UF). Contrairement aux indicateurs précédents (SDI et $MFI_{0,\ 45}$), cet indicateur est déterminé à partir d'un test réalisé avec une membrane d'UF donc avec des pores plus fins. Cela vise à mieux caractériser le pouvoir colmatant des milieux qui contiennent des colloïdes assez fins pour passer à travers une membrane dont la porosité est de 0,45 µm. Les colloïdes organiques sont en effet considérés comme des agents colmatant importants dans le cas de la NF des eaux douces de surface. Il est vrai que le gâteau formé sur une membrane de 0,45 µm retient une partie des particules de plus petite taille que celle des pores de la membrane. Mais en choisissant une membrane d'UF de faible SC, tous les colloïdes devraient être retenus. Donc le MFI-UF devrait mieux rendre compte que le SDI et le $MFI_{0,\ 45}$ du colmatage observé en NF ou en OI où les membranes ont des pores extrêmement fins.

Boerlage et al. (2002) ont sélectionné une membrane ayant un SC de 13KDa pour déterminer le MFI-UF. Cette membrane semblait la plus appropriée d'après les essais de filtration que ces auteurs ont conduit avec plusieurs types de membranes.

Les mécanismes de filtration pris en considération en MFI-UF sont exactement les mêmes qu'en $MFI_{0,45}$ (voir Figure III.6.). Reprenons l'équation *t/V=f(V)* proposée pour la détermination du $MFI_{0,\ 45}$:

$$\frac{t}{V} = \frac{\boldsymbol{\mu} I}{2S^2 \Delta P_m} V + \frac{R_m \mu}{S \Delta P_m} \qquad \text{(III.33)}$$

L'indice de colmatage *I* peut s'exprimer comme étant le produit entre la résistance spécifique du gâteau r_A et la concentration en particules de la solution à filtrer C_b :

$$I = r_A C_b = R_c \qquad \text{(III.34)}$$

La résistance spécifique du gâteau r_A est reliée à la porosité du gâteau ε, au diamètre d_p et à la densité ρ_p de particules qui forment le gâteau, par l'équation de Carman-Kozeny :

$$r_A = \alpha = \frac{180(1-\varepsilon)}{\rho_p d_p^2 \varepsilon^3} \qquad \text{(III.35)}$$

En combinant les équations, (III.33), (III.34) et (III.35), Boerlage et collaborateurs (Boerlage et al., 2003) ont obtenu une formulation plus détaillée du $MFI_{0,45}$ ou du MFI-UF :

$$MFI = \frac{\mu_{20C} 90(1-\varepsilon) C_b}{\rho_p d_p^2 \varepsilon^3 S^2 \Delta P} \quad \text{(III.36)}$$

Cette équation montre que le MFI est fonction de la dimension et la nature des particules qui forment le gâteau.

Si le gâteau est compressible, l'indice de colmatage *I* devient (Boerlage et al., 2003B) :

$$I = C\Delta P^w C_b \quad \text{(III.37)}$$

Où ω est le coefficient de compressibilité et C est une constante, volume des particules déposé par unité de volume de perméat.

Pour déterminer le MFI-UF, Boerlage et collaborateurs (Boerlage et al., 2002) ont utilisé un montage expérimental en écoulement frontal à pression constante qui est représenté schématiquement à la Figure III.7.

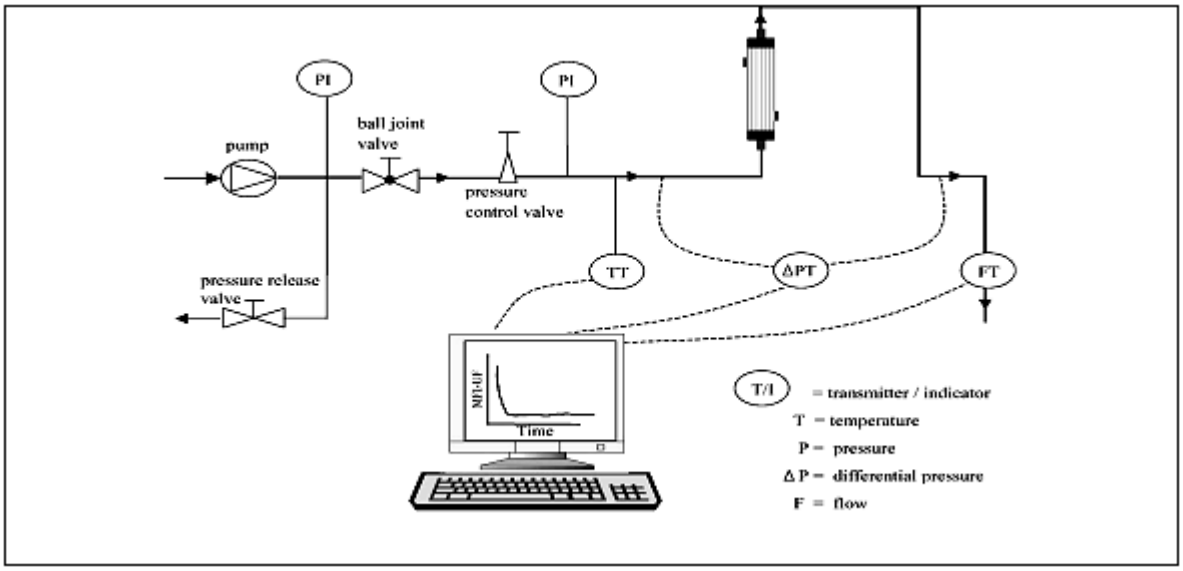


Figure III.7. : Montage expérimental pour déterminer le MFI-UF (Boerlage et al 2002)

Comme pour la détermination du SDI et du $MFI_{0,45}$, un gradient de pression de 2 bar est appliqué sur la membrane d'UF. Comme pour la détermination du $MFI_{0,45}$, le volume filtré et le temps de filtration sont enregistrés à des intervalles de 5 minutes, à l'aide d'un capteur de débit,

d'un système d'acquisition de données et d'un programme de traitement des données. Le *MFI-UF* corrigé en température, en pression et en surface de membrane est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$MFI - UF = \frac{\mu_{20}}{\mu_T} \times \left(\frac{\Delta P}{210}\right)^{1-w} \left(\frac{K}{K_o}\right)^2 \left(\frac{d\left(\frac{t}{V}\right)}{dV}\right) \quad \text{(III.38)}$$

III.1.4. CONCLUSION

En définitive, même si de nombreuses études ont été consacrées au colmatage, le colmatage demeure un phénomène complexe et encore partiellement compris. À défaut d'avoir des outils éprouvés pour prédire le comportement des membranes avec différents types de milieu, il est nécessaire de faire des études pilotes longues et coûteuses pour déterminer le potentiel colmatant des différents types de milieu. Des indicateurs de colmatage ont été développés, notamment le MFI par des chercheurs hollandais (l'équipe du Dr. Schippers). Ces indicateurs sont déterminés à l'aide de tests de filtration frontale. Ces indicateurs sont encore relativement peu utilisés dans la pratique, en particulier pour des milieux chargés en matière organique et ions divers que l'on retrouve assez fréquemment dans les bioprocédés fermentaires. De plus, ces tests sont réalisés dans des conditions qui sont différentes de celles qui prévalent en général dans les systèmes à l'échelle industrielle. En effet, les tests sont réalisés en mode d'écoulement frontal alors que la plupart des systèmes à pleine échelle sont opérés en mode d'écoulement tangentiel. Il n'est donc pas évident d'utiliser les résultats de ces tests en mode frontal pour prédire le comportement en mode tangentiel. Autrement dit, on peut se demander jusqu'à quel point l'approche théorique utilisée pour modéliser le colmatage des membranes en mode frontal peut servir à modéliser le colmatage en mode tangentiel. D'autre part, la détermination de l'indicateur de colmatage se fait, dans l'approche la plus récente, avec des membranes d'ultrafiltration frontale (UF). Comme les mécanismes de colmatage en UFT et UFF sont différent, parce que les membranes ont des structures différentes, il est légitime de se demander jusqu'à quel point il est possible de prédire le colmatage en UFT à partir de tests en UFF.

IV.1. OBJECTIF

L'objectif de ce travail porte sur la production des biosurfactants par *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853 sur une boue morte d'hydrocarbure dans un bioréacteur à membrane externe. Afin de prédire l'énergie de surface en ultrafiltration tangentielle sur le processus de colmatage pour une culture de quarante huit heures. L'étude a portée sur le suivi cinétique des substrats (carbone et azote), de la biomasse et de la productivité à 37°C ; pH = 7,00 ± 0,01.

IV.1.2. DIMENSIONNEMENT DU BIOREACTEUR

IV.1.2.1. Transfert de Chaleur

Le plan d'expérience utilisé dans notre travail comporte deux niveaux 2. (K-p) Standard designs (Box, Hunter et Hunter sur STATISTICA 10.0.228.8, afin de déterminer le nombre d'essai nécessaire pour le transfert de chaleur.

Le nombre d'essai de transfert de chaleur étant de quatre à savoir la variation de la température en fonction du temps, la vitesse d'agitation et la puissance électrique ou le couple. Le but est de déterminer les paramètres les plus pertinents du transfert de chaleur en fonction des caractéristiques du milieu considéré et de la nature du matériau du bioréacteur, composé de la silice borosilicaté. Ce qui permettra d'établir si le milieu présente telle ou telle caractéristique est ce que le bioréacteur peut garantir la stabilité de celui-ci et/ou est ce qu'en cas de nécessité des contrôles et des variations sont possibles. Dans notre cas, le type de transfert de chaleur dans le bioréacteur est la conduction. Cela s'explique par la présence d'une paroi séparant le milieu intérieur et l'extérieur du fermenteur. Les fluides calorifiques n'ont aucun contact direct entre eux (celui de la cuve de fermentation et celui de la double enveloppe). Dans cette optique nous avions établi un gradient de température de 46°C à 34°C, car l'évacuation de l'énergie emmagasinée est un phénomène très lent.

Le transfert de chaleur dans le bioréacteur étant la conduction, cela nous conduit à la détermination d'un certains nombre de paramètres à savoir : la répartition de la chaleur $T°_{i\text{-}e}$ (k), le flux de transfert ← (w), la densité du flux Φ ($w.m^{-2}$), la conductance G ($w.k^{-1}$), la chaleur échangée Q_{exch} (w), la chaleur dû à l'agitation Q_{ag} (w), la résistance thermique R_{th} ($k.w^{-1}$), le coefficient thermique de transfert de chaleur h($w.m^{-2}.k^{-1}$) et la conductivité thermique λ($wm^{-1}k^{-1}$). De ces paramètres, les plus importants en bioprocédés sont le coefficient thermique, la

conductivité, la chaleur échangée et la chaleur produite par l'agitation qui entrent dans le bilan thermique.

- Conditions aux limites : ρ_l = 989,8 Kg/m^3, V_{utile}= 2 L, μ_l = 5,86.10$^-$4Pa.s, c_p = 998 j.kg^{-1}k^{-1}, d_c = 15 cm, d_a = 7 cm, d_R = 19 cm, H_{utile} = 22 cm, L = 17 cm, H_a = 44,9 cm $\Delta T_{f\text{-}b}$ = 2,5 ± 0,1°C ; g = 9,81 m.s^{-2} ;
- Type de régime : permanant ;
- Hydrodynamisme : turbulent avec comme contrainte la vitesse en bout de la pâle;
- Dimensionnement en mode statique non aérée (sans microorganisme) ;
- Surface d'échange S_e = 10,14.10^{-2} m^2 ;
- Mode de transfert de chaleur : conduction ;
- Bain thermostaté :
  - Flux d'entré F_{int} = 0,27 m^3.h^{-1}
  - Flux de sortie F_{out} = 0,14 m^3.h^{-1}

Le dimensionnement concerne non seulement le transfert de chaleur, mais aussi le transfert de masse et c'est afin de fournir à la souche les meilleures conditions pour une bonne croissance. Mais par manque d'une sonde oxymétrique nous nous sommes contentés d'une estimation le coefficient de transfert de masse k_{la} pour déterminer le meilleur coefficient, qui permet d'avoir un transfert plus rapide dans le milieu de culture.

IV.1.2.2. Transfert de masse «k_{la}»

Le principe de l'évaluation du coefficient du transfert de masse par corrélation consiste à injecter de l'oxygène dans le milieu jusqu'à saturation en mode statique et hydrodynamisme de dispersion. Les paramètres, qui conduisent à l'estimation du k_{la} sont la puissance mécanique P_g, le débit G de 75 l.h^{-1}, 125 l.h^{-1} et 150 l.h^{-1}, la vitesse superficielle du gaz U_g, la température 37°C pour les sept valeurs de vitesse d'agitation utilisées ci-haut dans le transfert de chaleur. Par la même occasion nous avions estimé les paramètres à savoir, le nombre de puissance N_p, le nombre d'aération N_a, le rapport P_g/P puissance d'agitation en milieu aéré et non aéré. Les constantes ainsi que les conditions aux limites, le mode et les contraintes sont les mêmes qu'en transfert de chaleur.

Enfin, l'estimation du k_{la} est faite à partir de la relation issue de la revue bibliographique de Vant'Riet 1983 et de la relation empirique de Michel et Miller 1962 en milieu coalescent et des travaux de l'équipe du Pr.Alain Garnier 2005.

IV.1.3. MATERIEL ET METHODES

IV.1.3.1. Dispositif et accessoires

Le bioréacteur utilisé dans notre cas est en silice borosilicatée HWS Laboratoriums Stechnik N° 014277, a une capacité de 2,5 L, muni d'une double membrane de stérilisation, d'une sonde pH HWS Electrolyt L 310, d'une sonde Température Borosilikatglas 3.3 DN 150 et d'un module d'agitation de type Rushton à quatre pales Heidolph RZR 2051 Control. La régulation du pH et de la température est effectuée par une console HWS MAINZ PHR 1400. Le chauffage et refroidissement est assuré par un bain thermostaté Julabo 4. Tous deux de même marque que le bioréacteur. L'arbre d'agitation a une longueur utile de 44,9 cm. Les analyses de suivies de la croissance et de la dégradation des substrats à savoir la source de carbone et d'azote sont effectuées par un spectrophotomètre UV/VIS de type GBC Scientific Equipement, piloté par le logiciel « Cintral ver 2.3» avec une résolution de 0,1. Un spectrophotomètre infrarouge à transformer de Fourier est utilisée pour la caractérisation structurelle des biosurfactants de type FTIR 8400 Shimadzu. Une étuve de type Binder est utilisée pour le conditionnement de la boue morte et la stérilisation à la chaleur sec. L'unité d'ultrafiltration est d'une capacité de 2L muni d'une membrane en alumine alpha d'un seuil de coupure de 10kDa et de type Carbosep avec un support en dioxyde de Zirconium ZrO_2. La stérilisation à la chaleur humide est effectuée avec une autoclave de type OT 012 **nüve** Kabul KKP06F12 Rev N°02, d'un distillateur de type GFL® 2001/4 Labortechnik mbH, d'une balance de précision KERN ALS 220 - 4N et d'une centrifugeuse de type Hettich ZENTRIFUGEN EBA 20.



Figure IV.1 : Dispositif expérimental.

IV.1.3.2. Milieu de culture et d'identification

IV.1.3.2.1. Milieu de culture

La boue morte a été constituée à partir d'une boue épurée de la station d'épuration des eaux usées (ONA) Médéa-Algérie dans laquelle sont injectés de l'essence super 95 contenant comme composé majeur l'iso-octane et du gasoil 95-96 contenant comme composé majeur l'iso-cétane. La souche de *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853 est obtenue à partir de la collection de l'hôpital de Médéa-Algérie. Le milieu de culture pour la production des glycolipides comporte les éléments suivant en proportion strictement dépendante de la capacité du bioréacteur (g/l): NaCl 4 ; $MgSO_4.x\ H_2O$ 0,9; $CaCl_2.2H_2O$ 0,15; $FeCl_3.0,7H_2O$ 0,3 ; extraits de levure 0,06 $g.L^{-1}$, du tampon phosphate KH_2P0_4 monobasique 1,33 comme stimulant à la croissance et stabilisant du pH. Il faut noter que ses produits doivent être pesés avec un maximum de précision sous forme anhydre.

Le milieu ainsi formé, on ajoute la poudre de la boue 9 $g.L^{-1}$ et de KNO_3 8 $g.L^{-1}$, respectivement comme source de carbone et d'énergie et source d'azote. Ainsi, les éléments traces sont ajoutés en raison de 5 $ml.L^{-1}$ de culture : $ZnSO_4$ 90 mg ; $MnSO_4$ 29 mg ; $FeSO_4.5H_2O$ 18 mg; $CuSO_4$ 1 mg; $CoCl_2.6H_2O$ 6 mg, H_3BO_3 15 mg; KI 18 mg; et de l'EDTA 18 mg par litre d'eau distillée avec de l'extrait de levure qui contient 10% en azote et le tout est dissout dans l'eau distillée puis agiter pendant au moins 5 min pour bien homogénéiser.

Une fois le milieu homogénéisé, on mesure le pH au moyen d'un pH mètre et ajuster à 6,0 ± 0,01 à la soude 1N ou à l'acide chlorhydrique 1N. Le milieu est stérilisé pendant 15 minutes à 121ºC à l'autoclave. Après la stérilisation, le milieu est refroidit à l'eau du robinet et le P^H mesuré puis ajuster à 7,0 avant tout ensemencement. La germination s'effectue dans un milieu stérilisé 250 ml de culture et les cellules sont centrifugées à 6000 tr/min avec élimination du culot puis utilisé comme inoculum frais pour les expériences de bioréacteur.

La boue est légèrement humidifiée puis conditionnée à 180°C pendant 1h à l'étuve et dissoute dans de l'eau distillée en raison de 0,01$g.mL^{-1}$. Ainsi, un 1 ml est ensemencé sur un milieu gélosé pendant 48 à 72 h à 37°C. Si un développement microbien se présente, on reprend impérativement le conditionnement autant de fois que nécessaire car la boue ne doit en aucun cas contenir des germes vivants en son sein. Aucun développement microbien ne doit se manifester, en même temps la teneur en DCO et en Nitrate est aussi quantifiée. Alors on injecte la solution

d'hydrocarbure en raison dans une quantité suffisante avant de peser les 5% (P/V) soit 19 $g.L^{-1}$ pour toutes les expériences en bioréacteur et 19 $g.L^{-1}$ pour la pré-culture.

IV.1.8.2.2. Milieu d'identification

Le milieu d'identification est un milieu gélose au cétrimide «Biokar diagnostics France» dérivé du milieu King B. Le genre *Pseudomonas* est classé dans la famille des *Pseudomonadaceae* (ordre des *Pseudomonadales*, classe des *Gammaproteobacteria*, division ou phylum des "*Proteobacteria*", domaine ou empire des "*Bacteria*"). Les milieux les plus sensibles et les plus utilisés sont les milieux de King A et B. Le germe pousse à 42°C, mais aucune culture n'est obtenue à 4°C ou à 46°C (US pharmacopée 2003, Biokar France 2003).

A. Principe

Le cétrimide (bromure de cétyl-triméthyl-ammonium), composé d'ammonium quaternaire, agit comme inhibiteur d'une grande variété de germes, y compris les espèces de *Pseudomonas* autres que *Pseudomonas aeruginosa.* La production de pyocyanine (pigment bleu, non fluorescent, soluble dans l'eau et le chloroforme) est stimulée en présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium. Le milieu favorise également la production de pigments fluorescents (pyoverdines) par certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*. La plupart des *Pseudomonas aeruginosa* sont identifiables par leurs odeurs d'aminoacétophénone.

B. Préparation

La préparation du milieu d'identification consiste à prélever 46,7 g du milieu de base déshydraté (BK049) et les mettre en suspension dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée. On ajoute ensuite 10 ml de glycérol et l'on porte lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Ainsi, le milieu dissout et homogénéiser est placé dans un flacon à l'autoclave pour la stérilisation à 121°C pendant 15 minutes.

C. Mode d'emploi

Après la stérilisation faire refroidir et maintenir le milieu à 47°C. Puis couler en boîtes de Pétri stériles placées sur une surface froide pour être solidifié. Les boîtes de pétris sont placées au sein de l'étude à couvercle entrouvert afin d'éviter toute contamination par certains germes comme *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Proteus, Providencia, Alcaligenes* et *Aeromonas* peuvent pousser en provoquant un léger jaunissement du milieu. Ensuite on fait transférer 0,1 ml

de la suspension bactérienne et de ses dilutions décimales sur les boîtes. La suspension est étalée en surface à l'aide d'un étaler stérile avant d'être incuber à 37°C pendant 48 heures.

D. Lecture

La considération des cultures positives est attribuée aux colonies suivantes : les colonies présentant une pigmentation caractéristique bleue ou bleu vert. Les colonies muqueuses, grisâtres, pigmentées ou non sont aussi une marque de *Pseudomonas aeruginosa*. Enfin les colonies sont isolées et soumises aux quatre tests de confirmations à savoir :

- ✓ Culture sur gélose au cétrimide à 37°C ;
- ✓ Catalase ;
- ✓ Culture à 42°C ;
- ✓ Mobilité par un distancement de la source de carbone confirmé par une coloration rouge brun.

IV.1.4. ADAPTATION DE LA SOUCHE A LA SOURCE DE CARBONE

Le milieu d'adaptation est composé du milieu d'identification enrichi avec la source de carbone sélectionnée. Il s'agit d'une adaptation sur milieu solide comme une activation. La souche activée sur milieu de King et ensuite ensemencée sur le milieu d'adaptation avant la germination. L'adaptation s'est effectuée sur des boîtes de pétris et des flacons inclinés à 37°C avec la source de carbone incorporées dans le milieu gélose au cétrimide pendant 48 à 72 h à l'étuve. Puis les meilleures colonies sont prises pour la germination dans des fioles de 250 ml de milieu fermentatif.

IV.1.5. CULTURE

La culture est réalisée dans des Erlenmeyer de 250 ml. Une concentration de 0,29 $g.L^{-1}$ a servi d'inoculum prise des colonies sur le milieu d'adaptation. Cette phase s'est effectue sur 48 h avec une température de 37°C, un pH de 7 et une vitesse d'agitation de 250 tr/min. Le milieu de culture a la composition plus haut cité par 1 litre d'eau distillée en plus de la poudre de la boue contenant 19 $g.L^{-1}$ d'hydrocarbure et des oligo-éléments sous forme de trace en raison d'un 1 ml/L de culture.

Au cours de celle-ci, nous avions suivi la cinétique de croissance par mesure de la D.O à 600 nm du culot lavé à l'eau distillée après centrifugation à 6000 tr/min avec élimination du culot, la cinétique de dégradation du substrat carboné et du substrat azoté par les techniques

citées ci-dessous. L'évolution de la tension superficielle du milieu qui indique la production des biosurfactants est suivie par la conductimétrie et l'indice d'émulsification EI_{24}, estimé par la méthode de Cooper et Goldenger 1987. Des échantillons de 2 ml sont pris après centrifugation puis ajustés à 4 ml avec de *n-hexadécane* et soumis à une agitation à la main pendant 2 minutes. La solution est ensuite laissée au repos pendant 24 h. L'indice d'émulsification à 24 h (EI_{24}) est donné en pourcentage constitué de la hauteur de la couche émulsionnée (mm) divisé par la hauteur totale de la colonne du liquide (mm). Au bout de 48 h de culture des échantillons de 10 ml sont prélevés, centrifugés à et analysés.

IV.1.6. CULTURE EN BIOREACTEUR

La culture en bioréacteur s'effectue à 37°C avec une vitesse d'agitation de 250 tr/min tirée des résultats du dimensionnement et un pH de 7. Les proportions des éléments du milieu et les éléments traces restent les mêmes pour toutes les expériences. La valeur du tampon phosphaté optimisée est utilisée durant toute la culture. Le seul changement concerne le temps de séjour, la régulation du pH et celle de la température. Ainsi, aucun ajout des substrats n'est effectué jusqu'à la fin de la fermentation d'une durée de cinq jours.

Enfin de culture, le bouillon fermenteur est séparé par ultrafiltration tangentielle avec une membrane en alumine alpha d'une surface de filtration $S_f = 1{,}38.10^{-3}$ m^2. Celle-ci a pour but non seulement de séparer la biomasse du milieu avant précipitation des biosurfactants mais aussi d'étudier partiellement le processus de colmatage. Le principe est d'évaluer la pression transmembranaire pour calculer la tension superficielle du début de formation du gâteau à pression constante et de comparer les valeurs par les valeurs théoriques prédictives. Le choix de la filtration par gâteau s'explique par le fait, que la membrane est en céramique, donc le mécanisme de séparation est de type capillaire, car le diffusionnel et celui de la « boîte noire » ne sont pas envisageable avec une telle membrane. La nature du milieu a séparé impose une filtration par gâteau car le phénomène est physique, chimique et biologique, autant de facteurs qui caractérisent une filtration par gâteau.

IV.1.7. PRODUITS CHIMIQUES

Les produits chimiques utilisés dans ce présent projet sont listés dans le tableau IV.2 ci-dessous.

Tableau IV.1 : Liste des produits chimiques utilisés.

Nom du produit	**Marque**
Ethanol Absolu 99%	Sigma Aldrich
Acide Chlorhydrique	Sigma Aldrich
Acide Borique	Sigma Aldrich
Chlorure de Magnésium	Riedel de Haën
Soude	Panreac Quimica SA
Acide sulfurique	Sigma Aldrich
Nitrate de Potassium	Fluka
Glycérol	Sigma Aldrich
Chlorure de Sodium	Fluka
Peptone Bactériologique	Ultimed
Sel de Mohr	Sigma Aldrich
Cétrimide	Sigma Aldrich
Chlorure de Fer	Sigma Aldrich
Sulfate Ferreux $2H_2O$	Sigma Aldrich
Dichromate de Potassium	Prolabo
Sulfate d'Argent	Sigma Aldrich
Acide Chlorhydrique	Sigma Aldrich
Agar-agar bactériologique	Fluka Analytical
Sulfate Mercurique	Biochem
Sulfate de Magnésium.xH_2O	Sigma Aldrich
Sulfate de Potassium	Riedel de Haën
Phosphate de Potassium.$6H_2O$	Riedel de Haën
Extrait de levure	Ultimed
Permanganate de Potassium	Riedel de Haën
Iso-cétane et Iso-octane	Algérie Petrolum-SONATRAC
Sulfate de Manganèse	Sigma Aldrich
Sulfate de Zinc.$7H_2O$	Sigma Aldrich
Sulfate de Cuivre.$5H_2O$	Riedel de Haën
Iodure de Potassium	Sigma Aldrich
EDTA	Sigma Aldrich
L'eau oxygénée 30 – 31%	Sigma Aldrich
Chlorure de Calcium	Sigma Aldrich
Gélose au cétrimide	Biokar diagnostics France
Bichlorure de Cobalt.$2H_2O$	Fluka
Hexadécane	Fluka

IV.1.8. METHODES D'ANALYSE

IV.1.8.1. Substrat Carboné « DCO Spectrophotométrique »

La DCO décrit les besoins en oxygène des matières oxydables présentes dans l'eau d'un effluent. Il s'agit en grande partie de matières organiques qui seront oxydées lors de réactions ou d'ions oxydables (fer ferreux, chlorures, sulfures, nitrites...). La DBO_5 décrit également une

demande en oxygène d'un effluent, mais il ne s'agit que des besoins des micro-organismes présents dans l'effluent, qui vont consommer l'oxygène pour leurs réactions métaboliques. Par définition, la DBO_5 est incluse dans la DCO (et son taux devrait nécessairement lui être inferieur à environ 80% de la DCO). Elle est représentative de la capacité d'un milieu à s'auto-épurer. Ces deux chiffres sont des indicateurs du taux de pollution d'un milieu.

IV.1.8.1.1. Principe de la mesure de la DCO

Pour estimer la quantité d'oxygène nécessaire à un échantillon donné pour être oxyde, la méthode normalisée prévoit l'adjonction de dichromate de potassium pour permettre l'oxydation de toutes les matières organiques ou minérales susceptibles de l'être. Cette réaction s'effectue en milieu acide et le mélange est porte à ébullition en présence d'un catalyseur (Ag_2SO_4). A l'issue de cette réaction, il suffit de doser les solutions à 650 nm ou 480 nm. Cette technique permet un suivi plus sûr de la DCO lorsque le milieu ne comporte que des composés organiques oxydables. Son avantage est qu'elle s'effectue dans le visible. Son inconvénient est qu'elle comporte beaucoup d'étape ce qui l'a rende lente. En ce qui nous concerne, nous avions effectué un triple couplage durant la culture :

- ✓ Précipiter le produit par addition de l'éthanol absolu 99%, après élimination du mou fermentatif par centrifugation à 6000 tr/min avec élimination du culot;
- ✓ Digestion (un simple hydro-distillateur ou chauffe ballon) du surnageant par oxydation douce au dichromate de potassium ;
- ✓ Dosage par UV/VIS de l'échantillon à 650 nm ;

IV.1.8.1.2. Manipulation

Le dosage du blanc s'effectue suivant le schéma ci-dessous. Il est impératif de prévoir deux blancs et deux échantillons de même concentration à doser afin de s'assurer de la stabilité du volume correspondant, car cette méthode est très sensible à une incertitude de 4%.

IV.1.8.1.3. Préparation des échantillons

Les échantillons sont préparés dans les mêmes conditions. L'analyse se fait à 650 nm sur le blanc et sur les échantillons. Les résultats de validation de la méthode sont présentés dans le chapitre V et vont servir de référence pour les analyses de suivi de dégradation.

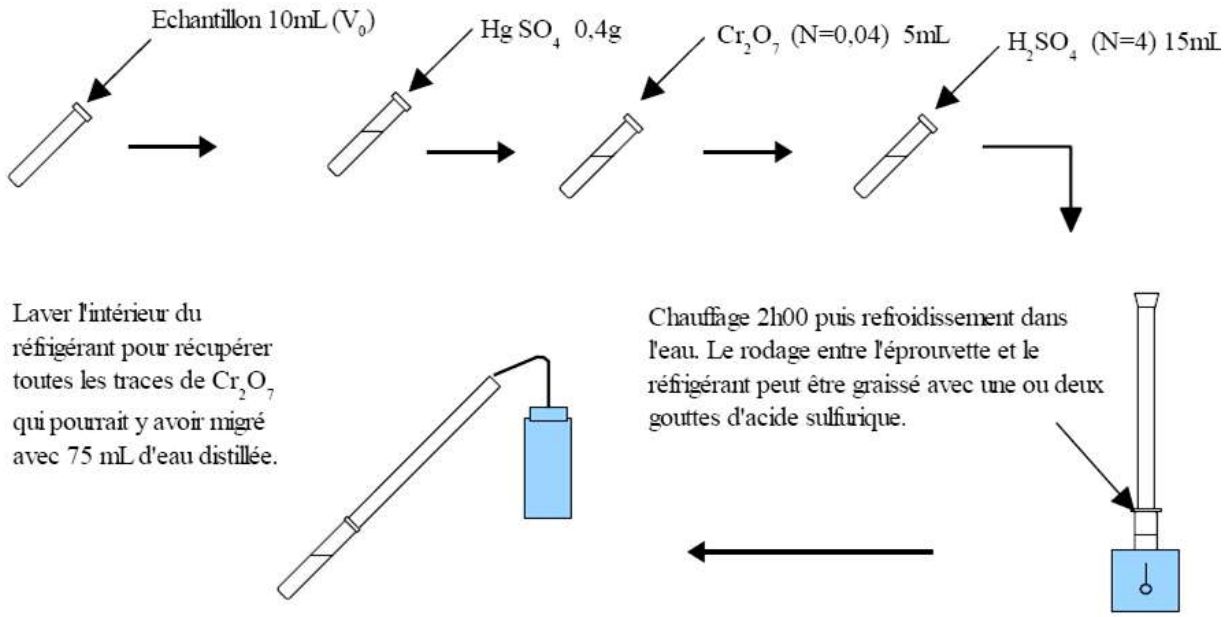


Figure IV.2 : Schéma de la préparation des échantillons à doser.

IV.1.8.1.4. Digestion

Un prélèvement de 5 ml de l'échantillon est effectué et placé dans une fiole. On a ajoute ensuite 3 ml de la solution de digestion puis on ajoute lentement 7 ml du réactif acide et fermer très bien le bouchon. L'on a placé le contenu sur l'agitation magnétique pendant quelques minutes pour homogénéisation. Il s'est produit un dégagement de la chaleur. La fiole est inversé pour vérifier s'il y a aucune fuite et la présence de chlore formant un précipité a été neutralisé par 0,2 g de Sulfate mercurique. L'échantillon est placé dans un ballon chauffant muni d'un réfrigérant pendant 2 h à 150 ± 0,2 °C. A la fin de la digestion, il est refroidi à température ambiante.

IV.1.8.1.5. Conditions de validation du dosage

- ✓ Ajuster la longueur d'onde du spectrophotomètre à 650 nm.
- ✓ Essuyer l'extérieur des éprouvettes avant de faire les lectures de transmittance.
- ✓ Ajuster le 100 % de transmittance avec la solution étalon de 0 mg/l O_2.
- ✓ Tourner le tube de façon à obtenir la transmittance maximale.
- ✓ Noter la lecture de la transmittance des solutions étalons et des échantillons.
- ✓ Tourner le tube de façon à obtenir la transmittance maximale.

- ✓ Une courbe d'étalonnage (linéaire) est tracée à partir des mesures de transmittance et de la concentration des solutions étalons. La concentration liée à la demande chimique en oxygène est exprimée en mg/l O_2 selon l'équation suivante :

$$C = A \times F \qquad \text{(IV.1)}$$

Où

C : concentration liée à la demande chimique en oxygène dans l'échantillon (mg/l O_2);

A : concentration liée à la demande chimique en oxygène dans la solution dosée (mg/l);

F : facteur de dilution, si nécessaire.

Nota : il est impératif d'effectuer des dilutions décimales lors de l'analyse de suivi afin de garder la valeur dans la courbe d'étalonnage préétablie car les fortes concentrations peuvent données des résultats incohérent en terme de transmittance .

IV.1.8.2. Substrat Azoté «Dosage Volumétrique»

La source d'azote dans notre travail est le nitrate de potassium KNO_3. Son choix vise à soumettre la bactérie sur un métabolisme fermentatif avec un minimum d'azote, ce qui favorisera la production du biosurfactant tout comme la croissance de la souche. On effectue une oxydation des ions ferreux par les nitrates dans un milieu fortement acide 4N pendant cinq minute puis l'excès des ions ferreux est neutralisé avec du permanganate de potassium pour en déduire le nombre de mole de nitrates ayant réagi. Ce titrage peut aussi se faire par du dichromate de potassium. La couleur verte claire initiale devient rose à l'équivalence (couleur du permanganate).

IV.1.8.2.1. Préparation des solutions

On prépare la solution notée S_0 en dissolvant 4 g de nitrate de potassium (de formule brute KNO_3) dans 250 ml d'eau distillée. On obtient alors une solution de concentration massique (ou teneur) égale à 9812,64 $mg.L^{-1}$ de nitrate (NO_3).

- ✓ peser très exactement 4 g de solide dans un sabot à l'aide d'une spatule après avoir taré la balance. La quantité de NO_3^- est de 4x0, 61329 g;
- ✓ on transvase quantitativement le solide dans la fiole jaugée de 250 ml à l'aide d'un entonnoir;
- ✓ rincer le sabot et l'entonnoir à l'aide de l'eau distillée et recueillir l'eau de rinçage dans la fiole jaugée;
- ✓ compléter avec de l'eau distillée jusqu'au col de la fiole;
- ✓ agiter jusqu'à dissolution complète du solide;

- ✓ compléter jusqu'au trait de jauge tel que le bas du ménisque affleure le trait de jauge;
- ✓ agiter pour homogénéiser;
- ✓ On prélève ensuite 5 ml de cette solution mère et on lui ajoute 10 ml du sel de Mohr et 10 ml d'acide sulfurique 4N;
- ✓ Peser 1,96 g de sel de Mohr pour 50 ml d'eau distillée soit une concentration de 0,2 mol/l avec quelques gouttes de d'acide sulfurique 4N;
- ✓ Peser 0,32 g de permanganate de potassium pour 100 ml d'eau distillée soit une concentration de $2{,}024.10^{-2}$ $mol.l^{-1}$;

IV.1.8.2.2. Principe du titrage volumétrique

On mesure le volume équivalent de la solution et l'on note le volume. L'expérience est répétée deux fois afin d'affiner le volume équivalent au 0,1 ml près. Les nombres de moles expérimentales sont calculés à partir des équations d'oxydoréductions et leurs équations bilans.

Tableau IV.2 : Equations de titrage (oxydoréduction).

Equation	$MnO_4^-(aq) + 5Fe^{2+}(aq) + 8H^+(aq) = Mn^{2+}(aq) + 5Fe^{3+}(aq) + 4H_2O\ (l)$
Ecart-relatif	$(n_{th\ NO3}^- - n_{exp\ NO3}^-) / n_{th\ NO3}^-$
n_{expNO3}^- (mol)	$n_{réagi}(Fe^{2+}) / 3$

IV.1.9. STERILISATION

La stérilisation est un processus de destruction des contaminants dans un milieu. Ainsi, en biotechnologie plusieurs types de stérilisations sont effectués afin de garantir la qualité et du milieu de travail, de culture, des outils et des produits de fermentation. Dans ce projet nous avons appliqué la stérilisation à la chaleur sèche et humide (autoclavage) et l'asepsie pour le milieu de travail.

Ainsi, pour le fermenteur nous avons effectué une stérilisation à la chaleur sèche par la méthode Four dit "du docteur Poupinel" avec une température de 180°C pendant 30 min. Le milieu de culture, d'indentification, d'adaptation et la verrerie avez été stérilisés à la chaleur humide à 121°C pendant 15 min, ainsi que les accessoires du fermenteur pouvant supporter l'autoclavage. Cependant, la sonde pH, température sont stérilisés à l'eau oxygénée car leurs caractéristiques ne permettent pas un autoclavage voire une stérilisation à la chaleur sèche.

IV.1.9.1. Principes de la stérilisation

IV.1.9.1.1. Principe de l'autoclavage

La stérilisation consiste à soumettre les agents infectieux à un procédé physique en vue de leur élimination et à rendre «stérile» (selon la définition précédente) la charge du stérilisateur (ou synonyme, d'un autoclave). Ces indicateurs sont chimiques ou biologiques. Les indicateurs chimiques peuvent être classés en 3 groupes par ordre croissant du nombre de paramètres contrôlés:

- ✓ température,
- ✓ température et temps,
- ✓ température, temps et présence de vapeur.

La conformité aux normes des équipements doit être vérifiée par un organisme agréé (APAVE). Des registres de maintenance des équipements doivent être tenus et des vérifications doivent être effectuées régulièrement par des techniciens qualifiés, et fréquemment par un utilisateur (de préférence une seule personne: la personne habilitée à la conduite d'autoclave). Cette personne doit être immédiatement prévenue en cas de dysfonctionnement.

a. Préparation de la charge à stériliser

Constituer une charge homogène .Les dispositifs sont placés dans les paniers. Le chargement doit faciliter la pénétration de la vapeur et limiter le risque de condensation.

- ✓ placer les conteneurs en bas de la charge
- ✓ disposer les sachets individuels verticalement dans les paniers sans les tasser
- ✓ la charge doit occuper au maximum 70% du volume total de la cuve.

Disposer des indicateurs physico-chimiques dans la charge à stériliser. Ces indicateurs multiparamétriques (à préférer à « intégrateur », terme impropre) répondent aux trois paramètres température, durée et présence de vapeur d'eau. Il est préférable d'utiliser des indicateurs de classe 6 selon la norme ISO 11 140-1. Ils doivent être placés à l'intérieur d'un conditionnement et répartis dans la charge (minimum 2 par charge). L'indicateur est choisi selon les paramètres du cycle :

- ✓ indicateurs «prion», à utiliser pour les cycles instruments 134°C/18 min
- ✓ indicateurs «standard», utilisables pour les cycles avec un plateau de 20 min à 121°C

b. Chargement

Pour ce faire on doit charger le stérilisateur, fermer la porte et vérifier le verrouillage. Sélectionner le cycle adapté au matériel à stériliser (le prétraitement, le nombre d'injections de vapeur et la durée du plateau sont variables selon le programme) : cycle instrument (134°C/18min), cycle élastomère (125°C / 20 min), cycle textile (134°C / 18 min ou moins selon validation), cycle liquide-conteneur (milieu de culture à 121°C / 15 min). Lancer le cycle de stérilisation. Les paramètres du cycle sont pilotés automatiquement.

c. Déchargement

Sortir la charge, la laisser refroidir dans une zone de quarantaine. Récupérer les indicateurs et réaliser les contrôles après stérilisation. Il est indispensable de respecter la procédure suivante:

- ✓ Vérifier que le manomètre de pression de la chambre indique une pression nulle.
- ✓ ouvrir momentanément le robinet témoin pour s'assurer que la chambre n'est plus sous pression de vapeur.
- ✓ Déverrouiller la porte de déchargement, l'ouvrir et retirer la charge.

IV.1.9.1.2. Principe de la chaleur sèche Procédé dit « Poupinel »

C'est un procédé, à la fois ancien, et très simple, mis au point fin XIX^{e} par le Dr Poupinel, qui était chirurgien. Il s'agit simplement d'un four à chaleur sèche, du type four électrique. Malgré la simplicité du principe, ce procédé a été considéré comme peu efficace et il est aujourd'hui proscrit dans les hôpitaux pour deux raisons :

- ✓ En chaleur sèche, les bactéries sporulent ;
- ✓ les températures élevées qu'il faut atteindre (180°C pendant 30 minutes ou 160°C pendant 2 h) détériorent le matériel.

C'est une cuve métallique à double paroi, chauffée par des résistances électriques, dans laquelle circule de l'air chaud. Elle concerne les instruments chromés, le verre, la porcelaine…La stérilisation à la chaleur sèche est de moins en moins utilisée en raison des fortes températures à atteindre et des temps de traitement à appliquer généralement incompatibles avec les matériaux utilisés.

IV.1.10. SEPARATION MEMBRANAIRE

L'objectif de la séparation membranaire est de fournir un filtrat limpide ne contenant que les biosurfactants et le reste des substrats. La matière en suspension colmatant est la biomasse ainsi que les particules de la boue insolubles donc non dégradables sur la surface de filtration avec un système de recirculation du milieu au sein du bioréacteur. Pour ce faire notre choix s'est porté sur une membrane d'ultrafiltration tangentielle inorganique avec un seuil de coupure de 10 kDa, une surface de filtration de $1{,}38.10^{-3}$ m^2. Les paramètres suivis sont le volume filtré et le temps de filtration afin de prévoir le colmatage par formation du gâteau à flux constant et pression transmembranaire constante.

IV.1.10.1. Description de l'unité d'ultrafiltration

La membrane qui a été choisie, est une membrane plane en alumine α, car cette forme permet la mise en œuvre de la même manière que les membranes ayant des structures poreuses et des natures chimiques différentes, ce qui est plus compliqué avec des membranes tubulaires ou à fibres creuses. L'unité est constituée d'une cuve rectiligne contenant le module membranaire, muni de deux manomètres, l'un en amont et l'autre en aval du module. Le fluide est circulé par une pompe péristaltique mise en amont du premier manomètre. Le seuil de coupure de cette membrane est de 10.000 Da, il est proche de celui de la membrane utilisée dans la détermination du MFI-UF (13000 Da). Les domaines d'application sont l'enlèvement des bactéries et des virus en industrie alimentaire, production d'eaux potable, le traitement des eaux usées… Elle est aussi caractérisée par une grande tolérance aux solvants, aux esters et aux composés aromatiques. Elle n'a aucune cytotoxicité et ne nécessite pas des conditions particulières pour sa conservation.

IV.1.10.2. Plan des Essais d'ultrafiltration tangentielle

Les principales variables expérimentales de l'étude sont :

- ✓ volume filtré ;
- ✓ temps de filtration ;

Tous les essais ont été réalisés dans les mêmes conditions opératoires tout en considérant certains paramètres de la pré-filtration identique pour les essais subséquents. Ses essais ont été effectués à une température de 25°C sans ajustement du pH du bouillon fermentaire ni ajout des coagulant ou floculant d'aucune sorte. Cela afin de mettre en évidence l'effet recherché de l'énergie de surface de la membrane par frottement et par la présence des certains éléments chimiques dont la présence provoquent l'activation de celle-ci. Après chaque essai la membrane

est nettoyée par un flux inverse d'eau bi-distillée uniquement et par raclage pour éviter l'effet acide ou basique.

V.1. DIMENSIONNEMENT DU BIOREACTEUR

La conception et le dimensionnement de tout bioréacteur doit tenir compte de la physiologie des microorganismes qui y sont cultivés. Ainsi, quelque soit le type de micro-organisme, le bioréacteur doit permettre un bon contact entre les deux phases, biotique et abiotique du système. Il doit permettre une distribution homogène des micro-organismes, les substrats et les produits. Dans le cas des processus aérobie, la capacité de transférer d'oxygène doit répondre aux besoins de la biomasse cultivée.

Globalement, la croissance microbienne est exothermique, le bioréacteur doit faciliter les transferts de chaleur du milieu vers les cellules. La géométrie du bioréacteur doit être conçue de telle façon que le transfert d'oxygène soit, le plus efficace que possible en tant qu'un substrat ou un agent de turbulence dans le cas des micro-organismes fragiles susceptible de subir des altérations mécaniques par cisaillement. Un bioréacteur doit protéger le processus qui se déroule à l'intérieur, vis-à-vis de contaminations extérieures.

Les micro-organismes sont capables de s'attacher aux surfaces intérieur du bioréacteur ce problème doit être évité. Pour que les micro-organismes soient répartis de façon homogène et que l'oxygène nécessaire soit apporté ainsi que la température optimale soit maintenue, il faut disposer des moyens adéquat de transport. Ces effets sont obtenus le plus souvent en agitant et en aérant.

Au fur et à mesure que le développement microbien se poursuit les concentrations cellulaires et en produits synthétises augmente tandis que le milieu s'appauvrit en substrat. Les caractéristiques rhéologique et chimique du milieu changent ce qui entraîne des modifications de fonctionnement, les transferts ne s'effectuent plus de la même façon d'où la nécessité d'agir sur les modalités de fonctionnement (puissance d'agitation, débit d'air, ajout de substrat et de réactifs) pour faire en sorte que la population soit à tout moment dans les meilleures conditions et que son comportement cinétique soit optimale.

V.1.1. PLAN D'EXPERIENCE

Le plan d'expérience choisit pour le transfert de chaleur est de type 2** (K-p) Standard designs (Box, Hunter et Hunter) avec STATISTICA 10.0.228.8. Nous avons utilisé les résultats d'évolution de la température en fonction du temps d'évacuation avec comme contrainte la vitesse d'agitation. Deux paramètres et une contrainte, ce qui nous a conduit aux résultats ci-

après (tableau V.1). Ainsi, le modèle sur STATISTICA nous permis d'effectuer quatre essais en gardant les mêmes conditions opératoires c'est-à-dire température, vitesse d'agitation, nature du milieu (rhéologie et hydrodynamisme) comme le montre le résumé dudit plan ci-dessous.

```
DESIGN SUMMARY (standard design): 2**(2-0) design of resolution R = FULL

  Number of factors (independent variables): 2
  Number of runs (cases, experiments): 4
  Number of blocks: 1
  Fractional replications: 1
  Table: Summary of Experience plan
```

Tableau V.1 : Matrice du plan d'expérience 2** (K-p) Standard designs (Box, Hunter et Hunter).

N° Essai	Température (°C)	t (min)
1	1,00000	-1,00000
4	1,00000	1,00000
2	-1,00000	1,00000
3	-1,00000	-1,00000

V.1.1.1. Transfert de Chaleur

Les tableaux (V.2) et (V.3) regroupent les résultats du dimensionnement du transfert de chaleur en fonction du temps. Il s'agit du gradient de température ($dT/dr > 15°C.m^{-1}$) suivant le temps d'évacuation Tableau (V.2) et le tableau (V.3) présente les valeurs des différents paramètres du transfert de chaleur en fonction de la vitesse d'agitation afin d'optimiser la vitesse des expériences tout au long de nos travaux (voir l'annexe N°2).

Tableau V.2 : Valeurs de la température en fonction du temps et de la vitesse d'agitation.

P (w) / **T°C**	3,20 ± 0,1	3,83± 0,1	4,33±0,1	5,90 ±0,1	6,86 ±0,1	7,36 ± 0,1	7,66 ± 0,1
	$t_{100tr/min}$ (min)	$t_{150\ tr/min}$ (min)	$t_{200\ tr/min}$ (min)	$t_{250\ tr/min}$ (min)	$t_{300\ tr/min}$ (min)	$t_{350\ tr/min}$ (min)	$t_{400\ tr/min}$ (min)
46	0	0	0	0	0	0	0
45	14,36	11,48	14,35	8,54	10,14	9,20	8,46
44	26,35	22,32	27,24	18,13	20,06	18,38	17,26
43	38,50	33,57	40,31	27,33	29,42	28,38	26,21
42	51,20	44,56	55,30	38,10	40,09	39,12	35,45
41	64,12	57,15	70,30	49,03	50,57	50,34	45,52
40	77,32	69,56	88,16	61,18	62,46	62,30	56,35
39	92,49	85,42	108,27	74,12	75,59	75,42	68,00
38	111,30	102,09	132,27	88,07	90,33	90,33	80,56
37	131,48	120,22	162,16	104,30	106,37	105,20	94,44
36	152,39	141,22	199,52	122,2	126,23	125,20	109,30
35	176,59	164,33	243,37	143,14	145,10	147,50	126,00
34	207,59	192,31	297,40	169,23	169,55	172,10	145,41

Tableau V.3 : Valeurs des différents paramètres de la chaleur en fonction des valeurs de vitesse d'agitation.

P (w)	**3,20**	**3 ,83**	**4,33**	**5,90**	**6,86**	**7,36**	**7,66**
N (tr/min)	100	150	200	250	300	350	400
$N^{2/3}$	1,4	1,84	2,23	2,58	2,92	3,24	3,54
N^{-1} (s)	0,60	0,40	0,30	0,24	0,20	0,17	0,15
t_M (s)	11,02	7,34	5,51	4,40	3,67	3,14	2,75
R_{th} ($k.w^{-1}$)	0,495	0,413	0,365	0,268	0,231	0,215	0,206
G ($w.k^{-1}$)	0,266	0,319	0,360	0,491	0,571	0,613	0,638
Q_{ag} (w)	2,408	2,882	3,259	4,439	5,161	5,538	5,765
k **($w.m^{-1}.k^{-1}$)**	0,447	0,535	0,605	0,824	0,958	1,028	1,070
T (k)	13,461	13,442	13,434	13,435	13,463	13,446	13,410
Φ (w)	27,195	32,549	36,808	50,132	58,284	62,543	65,098
ϕ ($w.m^{-2}$)	268,195	320,996	362,998	494,398	574,792	616,794	641,992
Q_{exch} (w)	1598,892	2493,107	3276,080	4674,564	5834,425	6774,717	7605,629
h **($w.m^{-2}.k^{-1}$)**	1314,014	2048,905	2692,374	3841,687	4794,893	5567,651	6250,517
Re .10^{-4}	1,378	2,069	2,758	3,447	4,138	4,827	5,517

V.1.1.2. Analyse Graphique des résultats

La figure (V.1) montre une analyse globale des différents paramètres du transfert de chaleur. Celle-ci montre que l'agitation n'influe pas sur les paramètres de transfert de chaleur à exception du coefficient de transfert thermique *h* et la conductivité thermique *k*. Pour un bon transfert de chaleur déterminant une bonne capacité du bioréacteur à assurer une culture optimale, seuls les paramètres près cités sont affectés par l'agitation dans le sens croissant des vitesses. La faible variation de la densité s'explique par le fait, que la quantité du fluide réfrigérant varie dans la paroi et aussi avec les fortes agitations car celle-ci devrait être constante d'une façon globale.

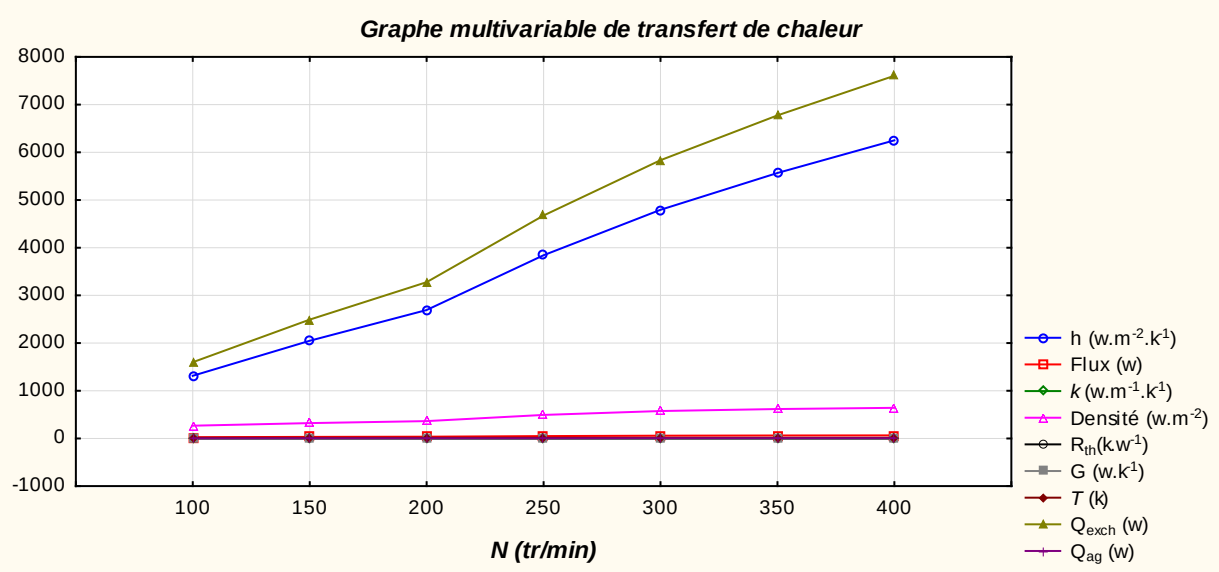


Figure V.1 : Evolution des paramètres de transfert de chaleur en fonction de la vitesse d'agitation.

La figure (V.2) traduit l'évolution de la conductivité du milieu en fonction de la température. Suivant les régimes à savoir le laminaire, la conductivité est linéaire car les valeurs de la vitesse de 100 jusqu'à 200 tr/min ne perturbent pas efficacement le milieu. L'évolution de la conductivité est plus ou moins constante. Par contre dans le régime transitoire on constate qu'avec un pat de 50 tr/min la conductivité est doublée avant de revenir aux pats constant de conductivité, mais tout en augmentant sens ascendant. Enfin la phase finale montre quant elle le régime turbulent. La conductivité croit sous forme curviligne du régime transitoire vers le régime turbulent. De plus il en est de même pour le coefficient de transfert thermique (figure V.3). A l'exception de la répartition de la température, la figure (V.4) démontre l'effet de la vitesse d'agitation sur la répartition de la température au sein du bioréacteur. Cette figure (V.4) montre trois régimes caractéristiques de l'état du milieu. L'allure sinusoïdale rend compte de l'effet de la vitesse d'agitation sur la température du milieu. Il s'en suit qu'en régime laminaire la température baisse considérablement avec l'augmentation de la vitesse. La stabilisation de la température recherchée, ne s'observe qu'en régime transitoire entre 200 et 250 tr/min optimales. Ceci nous confirme qu'avec la vitesse de 250 tr/min l'homogénéité du milieu en termes de chaleur est atteinte et que la vitesse d'agitation est efficace pour une culture optimale.

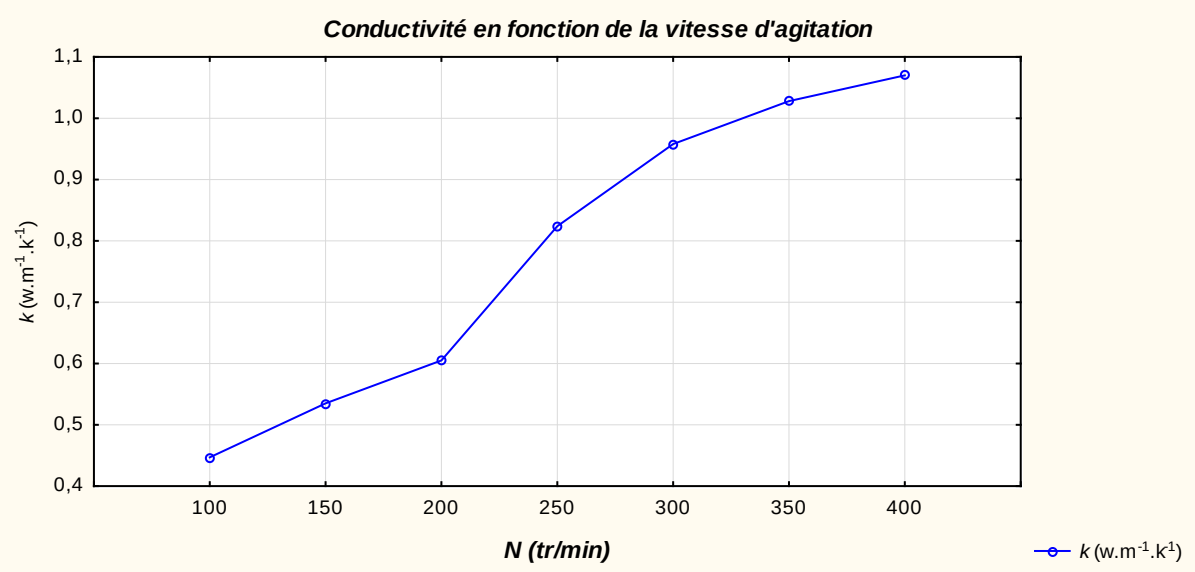


Figure V.2 : Evolution de la conductivité du milieu en fonction de la vitesse d'agitation.

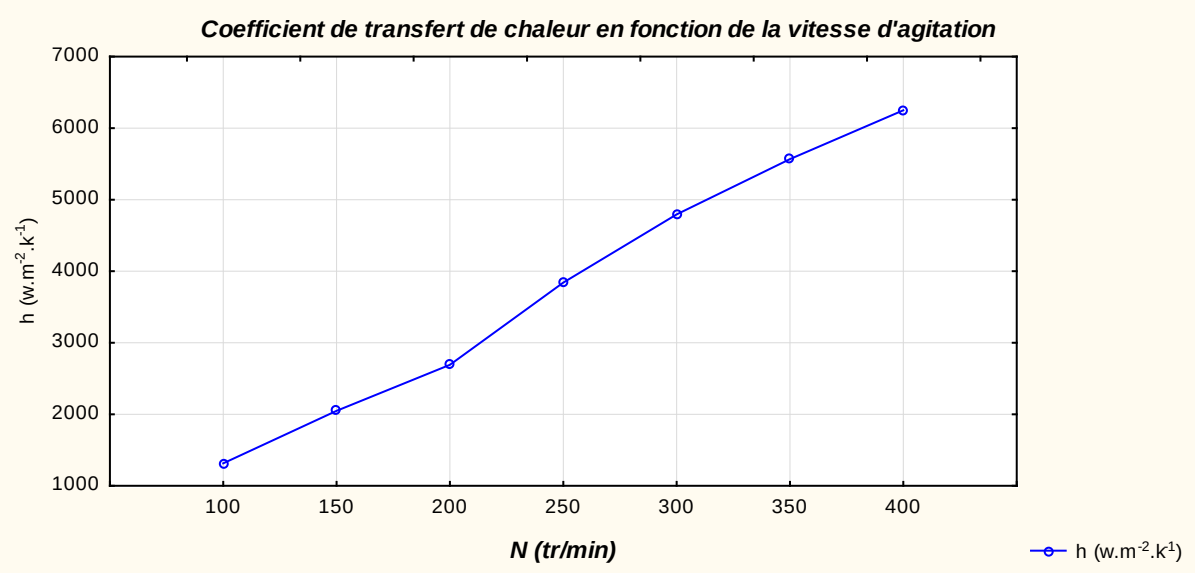


Figure V.3 : Evolution du coefficient de transfert de chaleur en fonction de la vitesse d'agitation.

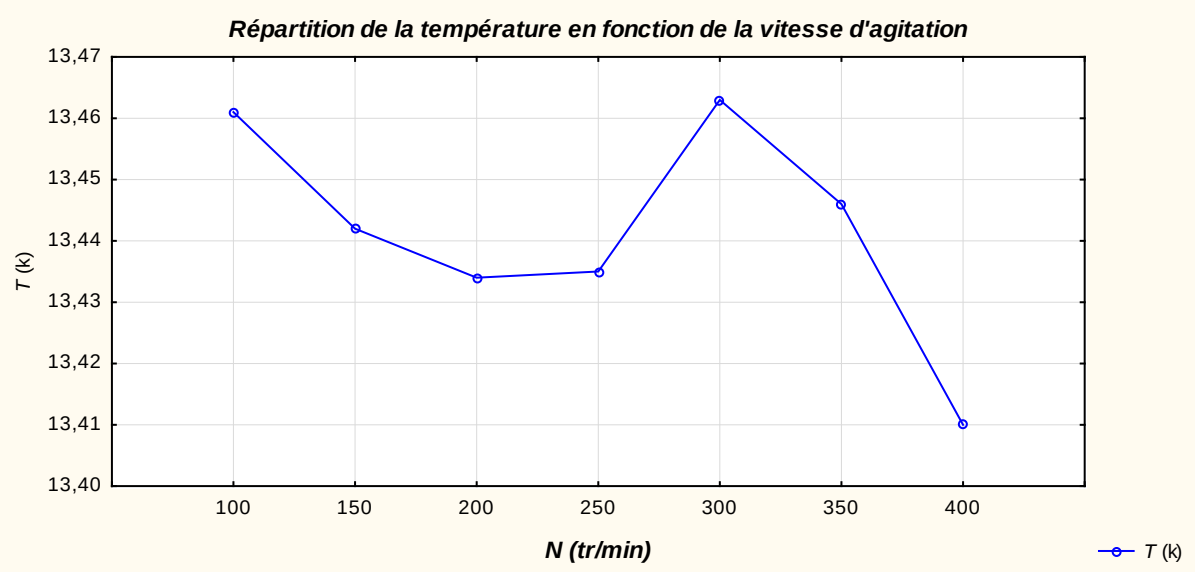


Figure V.4 : Répartition de la température en fonction de la vitesse d'agitation.

V.1.1.3. Transfert de masse «k_{la}»

Les tableaux (V.4, V.5 et V.6) regroupent les résultats de l'évaluation du coefficient de transfert da masse dans le milieu acellulaire ainsi que les différents paramètres qui ont traits au transfert de masse. Cette évaluation présente le coefficient k_{la} paramètre le plus important en transfert de masse dans les bioprocédés pour l'optimisation de la vitesse d'agitation avec trois différents débits du gaz (O_2). Le plan d'expérience est le même qu'en transfert de chaleur avec comme contrainte la vitesse au bout de pâle et son gradient. Les paramètres hydrodynamique et rhéologique du milieu ont été conservés identique et les conditions opératoires inchangées (voir annexe N°2).

Tableau V.4 : différents paramètres de transfert de masse à **G** = 75 L.h^{-1} à 37°C.

Couple (N.m)	3,20	3,8 3	4, 33	5,90	6,86	7,36	7,66
N (tr/s)	1,666	2,500	3,333	4,166	5,000	5,833	6,666
P (w)	5,331	9,575	14,431	24,579	34,300	42,930	51,061
P_g (w)	1,610	3,274	5,391	9,626	14,105	18,502	22,966
Ug (m.s^{-1}).10^3	1,178	1,978	1,178	1,178	1,178	1,178	1,178
Na.10^3	19,225	28,821	38,450	48,072	57,691	67,308	76,924
N_p	693,031	368,367	234,298	204,348	164,947	130,031	103,623
P_g/ P	0,302	0,342	0,373	0,391	0,411	0,431	0,449
P_g/V (w.m^{-3})	805	1637	2695,5	4813	7052,5	9251	11483
k_{la} (s^{-1}).10^3	12,967	17,225	21,028	26,516	30,894	34,436	35,546
k_{laexp} (s^{-1}) .10^3	7,858	10,438	12,743	16,068	18,721	20,868	22,753

Tableau V.5 : différents paramètres de transfert de masse à **G** = 125 L.h^{-1} à 37°C.

Couple (N.m)	3,20	3,8 3	4, 33	5,90	6,86	7,36	7,66
N (tr/s)	1,666	2,500	3,333	4,166	5,000	5,833	6,666
P (w)	5,331	9,575	14,431	24,579	34,300	42,930	51,061
P_g (w)	1,456	2,879	4,740	8,463	12,401	16,266	20,192
Ug (m.s^{-1}) .10^4	19,649	19,649	19,649	19,649	19,649	19,649	19,649
Na.10^3	19,225	28,821	38,450	48,072	57,691	67,308	76,924
N_p	693,031	368,367	234,289	204 ?348	164,947	130,031	103,623
P_g/ P	0,273	0,300	0,328	0,344	0,361	0,378	0,395
P_g/V (w.m^{-3})	728	1439,5	2370	4231,5	6200,5	8133	10096
k_{la} **(s^{-1}) .10^3**	16,087	21,131	25,795	32,526	37,897	42,242	46,057
k_{laexp} **(s^{-1}) .10^3**	9,748	12,805	15,710	19,710	22,965	25,598	27,910

Tableau V.6 : différents paramètres de transfert de masse à **G** = 150 L.h^{-1} à 37°C.

Couple (N.m)	3,20	3,8 3	4, 33	5,90	6,86	7,36	7,66
N (tr/s)	1,666	2,500	3,333	4,166	5,000	5,833	6,666
P (w)	5,331	9,575	14,431	24,579	34,300	42,930	51,061
P_g (w)	1.338	2,750	4,527	8,083	11,844	15,530	19,279
Ug (m.s^{-1}) .10^3	2,357	2,357	2,357	2,357	2,357	2,357	2,357
Na.10^3	19,225	28,821	38,450	48,072	57,691	67,308	76,924
N_p	693,031	368,367	234,298	204,348	164,947	130,031	103,623
P_g/ P	0,251	0,287	0,313	0,328	0,345	0,361	0,377
P_g/V (w.m^{-3})	669	1375	2263,5	4041,5	5922	7765	9639,5
k_{la} **(s^{-1}) .10^3**	17,034	22,723	27,737	34,497	40,075	45,416	49,519
k_{laexp} **(s^{-1}) .10^3**	10,322	13,770	16,808	20,905	24,285	27,522	30,008

V.1.1.4. Interprétation

Le paramètre le plus influant du transfert de masse est le coefficient volumique ou puissance volumique Pg/V. Il rend compte non seulement des différents types de régime suivant la vitesse d'agitation et le Reynolds, mais encore des facteurs physiques, chimiques et biologiques du milieu suivant la conception du bioréacteur. De celui-ci tous les paramètres sont déduits et exploités dans le sens de l'optimum. D'après l'analyse graphique des données expérimentales, il est évident de constater que le nombre de puissance en fonction du Reynolds corrobore la théorie pour une turbine Rushton *Y.Ohyama* and *K.Endoh* 1955. Les rapports Pg/P en fonction de Na pour un débit de 125 et de 75 sont totalement conforme à la théorie dans un milieu sans micro-organisme (mode statique) d'après (*Y.Ohyama* and *K.Endoh 1955*) pour les

trois régimes hydrodynamiques. Le rapport Pg/P est indépendant du débit du gaz. Ce qui confirme que la vitesse optimale de 250 tr/mn pour une turbulence moyenne fournissant un bon contact entre la biomasse et les substrats ainsi qu'une stabilité des paramètres physico-chimiques conditionnant la culture. Le débit optimal est de 125 $L.h^{-1}$, bien que l'oxygène pur soit remplacé par l'oxygène de l'air durant la culture à une hauteur de 21% du débit gazeux total. L'objectif est surtout de minimiser la consommation de l'énergie électrique d'agitation tout en favorisant l'optimum du gaz dans le milieu de culture.

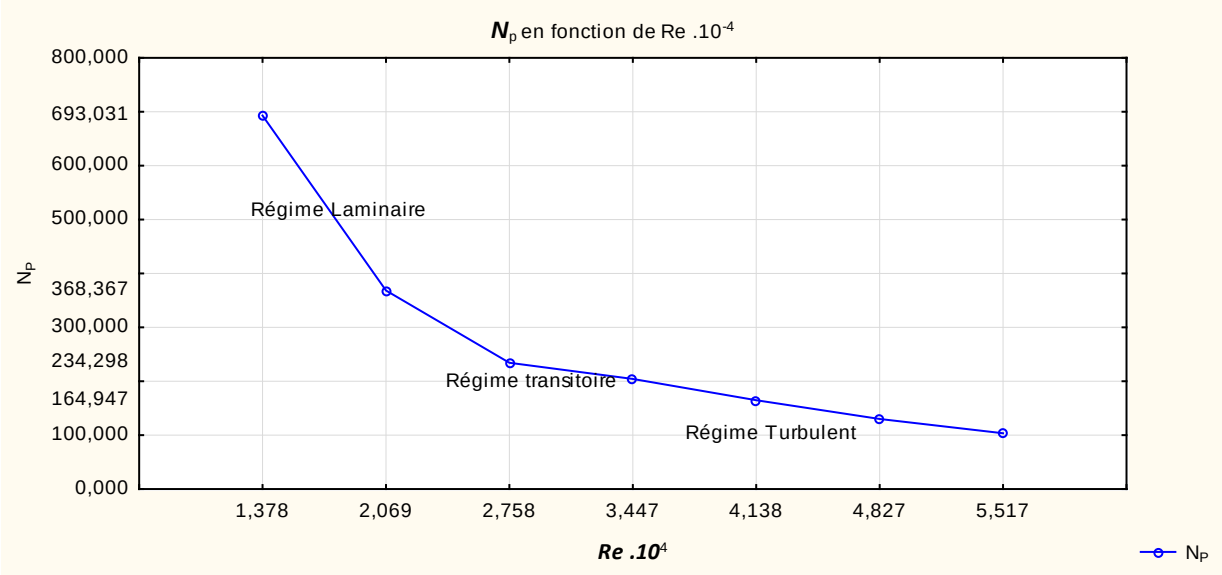


Figure V.5 : Evolution du nombre de puissance en fonction du Reynolds.

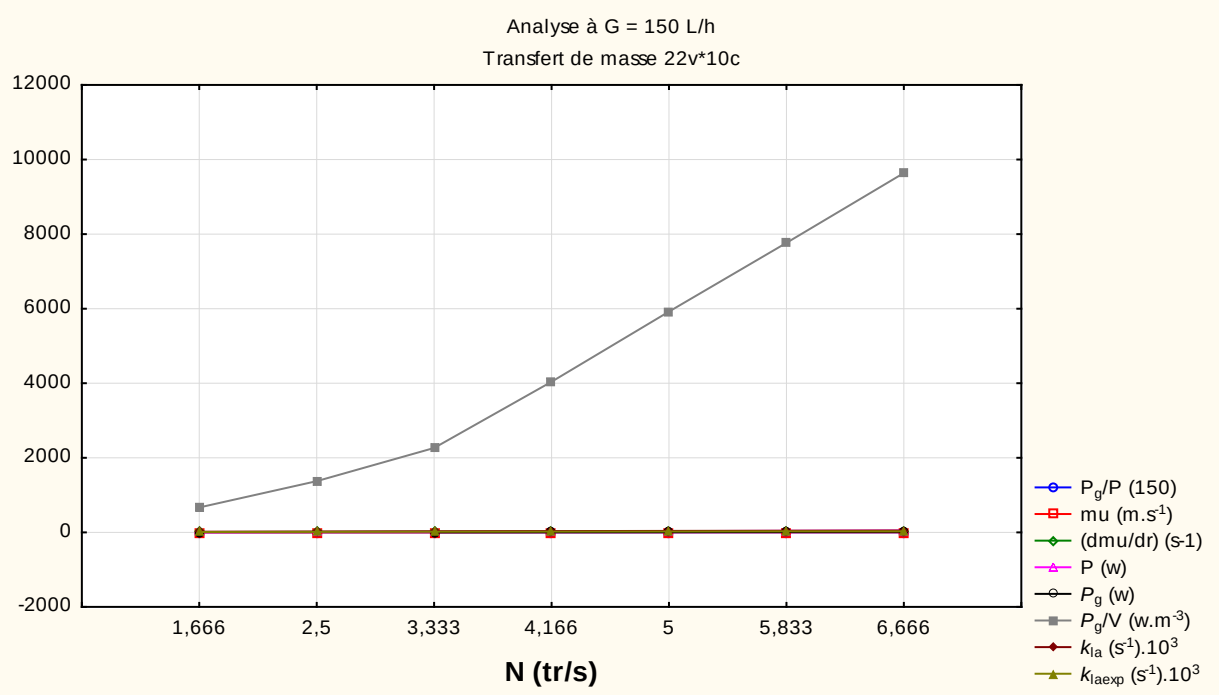


Figure V.6 : Prédominance de la puissance volumique sur les paramètres de transfert de masse à G = 150 l/h.

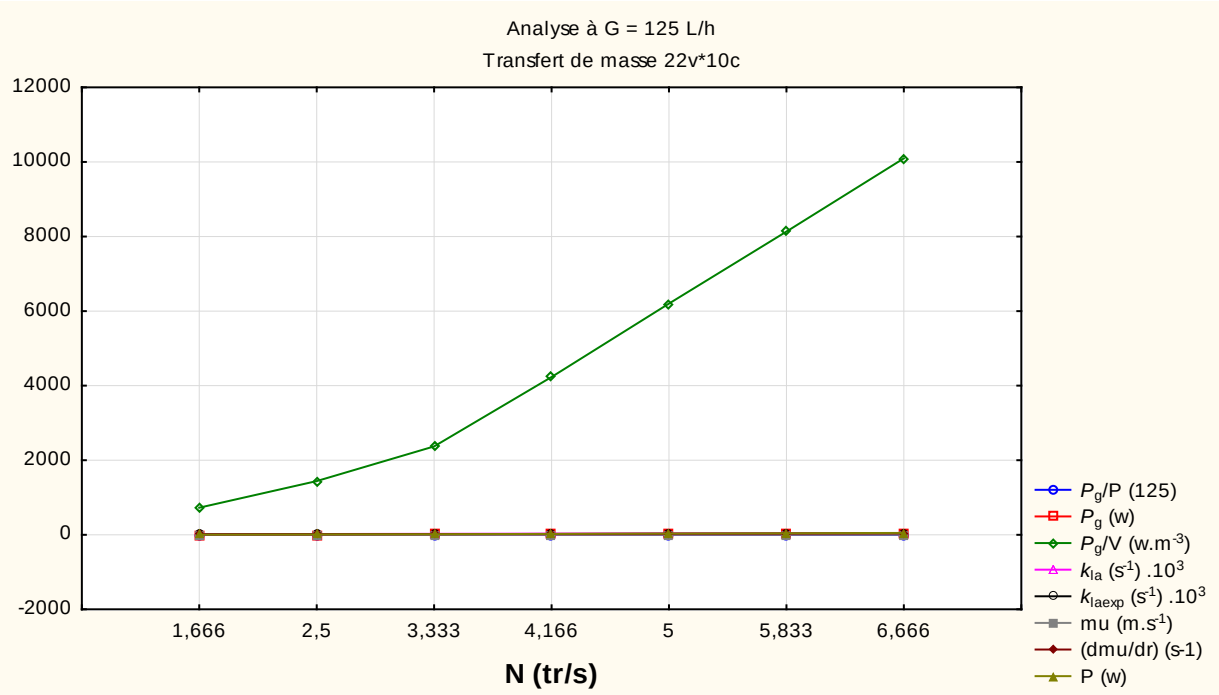


Figure V.7 : Prédominance de la puissance volumique sur les paramètres de transfert de masse à G = 125 l/h.

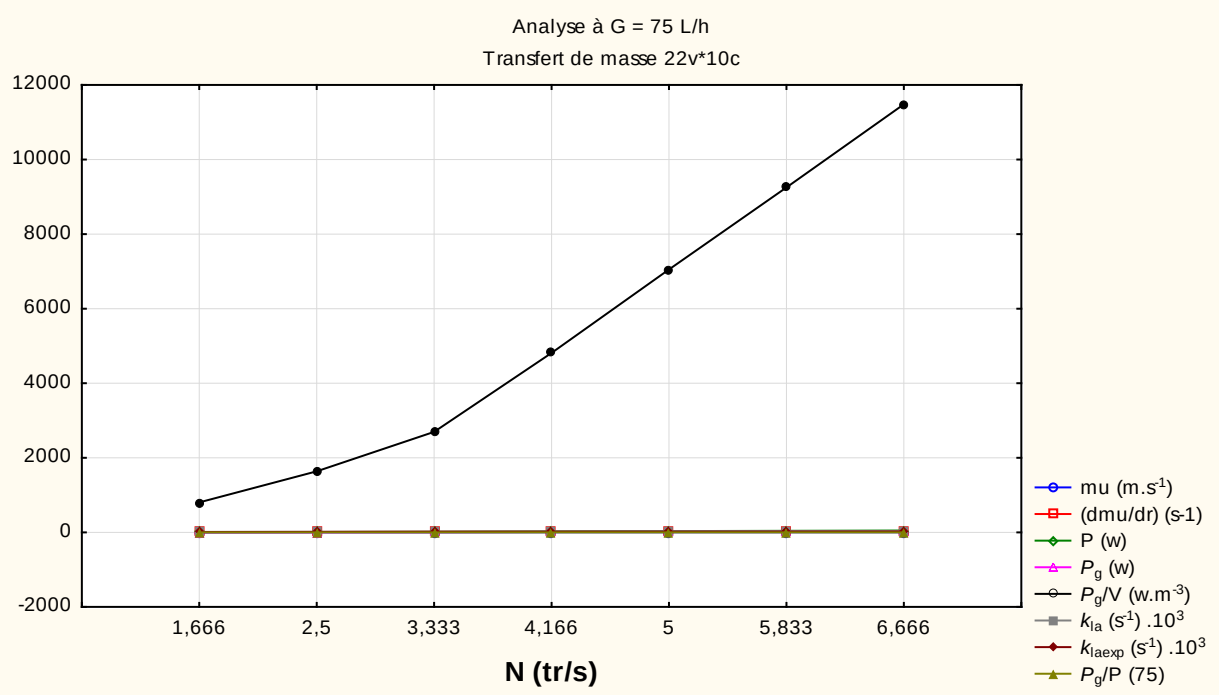


Figure V.8 : Prédominance de la puissance volumique sur les paramètres de transfert de masse à G = 75 l/h.

Les figures (V.6, V.7 et V.8) démontrent la prédominance du coefficient de transfert de masse k_{la}. C'est une diffusivité par unité de surface des bulles formées dans le milieu faiblement non Newtonien. L'évolution du coefficient en fonction de la vitesse d'agitation est identique pour les trois débits gazeux testés. A côté de ses figures, la figure (V.9) démontre l'efficacité de la cavité du gaz qui diminue la trainée des pâles dans le liquide. Ce qui se traduit par une puissance mécanique en mode aérée inférieure à la puissance mécanique en mode non aérée (voir Tableau V.4, V.5, et V.6, ainsi que l'annexe N°1)

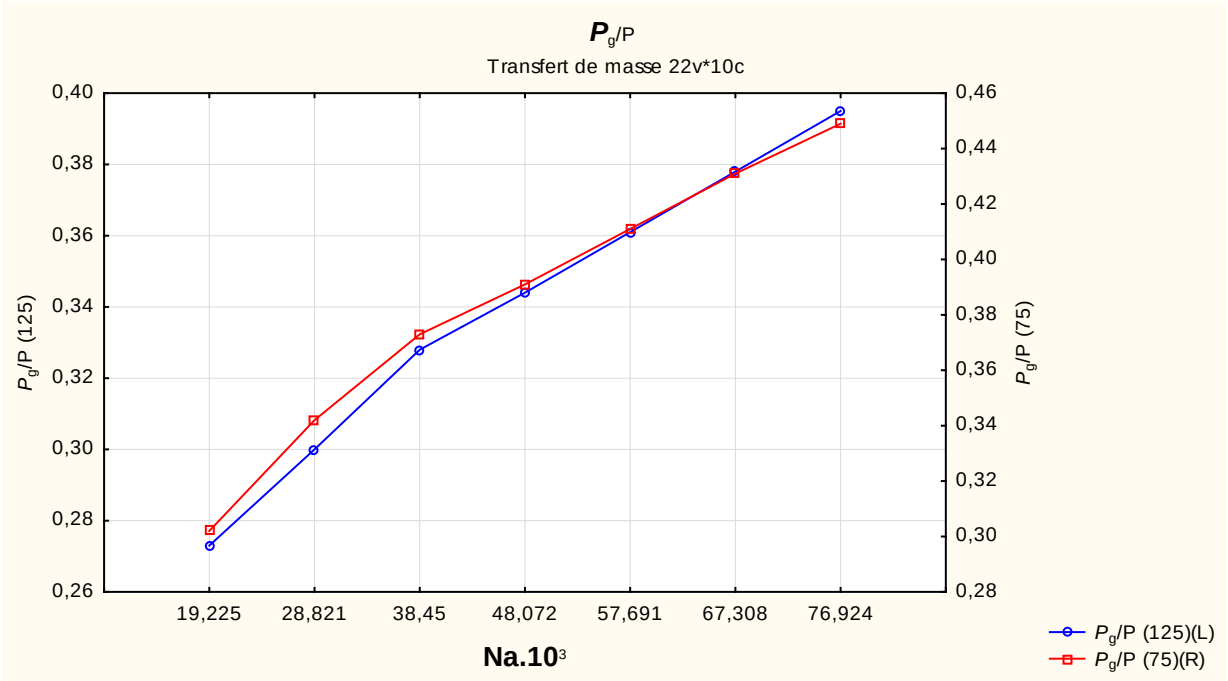


Figure V.9 : Rapport de puissance en fonction du nombre d'aération.

V.1.1.5. Conclusion du dimensionnement

A l'issue de cette évaluation, nous pouvons dire que notre bioréacteur répond aux critères recherchés tant sur le transfert de chaleur que sur le transfert de masse. L'analyse individuelle montre que tous les paramètres évalués tendent vers un plateau par rapport aux variations de vitesse d'agitation. L'aspect sinusoïdal de la répartition de la température est tout à fait l'effet recherché (Figure V.4). Il démontre trois zones de convergence à savoir la zone des faibles turbulences, la zone de turbulence moyenne et la zone des fortes turbulences. Cet effet confirme aussi bien l'évolution des paramètres pertinents, qui sont le coefficient de transfert et la conductivité. Ces deniers traduisent aussi trois zones de convergence. De plus, la résistance thermique et la conductance sont tout à fait inversement proportionnelles. La variation de la densité dans la figure (V.1) peut s'expliquer non seulement par l'accumulation du fluide réfrigérant mais plus encore par l'élévation du milieu intérieur par rapport à la vitesse d'agitation. Cela signifie bien que, le mécanisme de transfert de chaleur est une conduction donc la température n'est pas homogène en tout point et en un instant donné. Mais qu'elle s'homogénéise au bout d'un certains temps appelé temps d'homogénéisation t_M.

Au vu de ces résultats, il nous semble judicieux de choisir la vitesse de 250 tr/mn pour toutes les expériences futures, celle-ci nous permettra un bon transfert de chaleur et de masse. La garantie d'une turbulence moyenne est un avantage pour une bonne culture. De plus la turbine Rushton est connue pour son effet de cisaillement alors l'intervalle délimitant les fortes et les faibles turbulences correspondent bien à la vitesse N = 250 tr/mn. L'étude menée par *Djaber TAZDAIT et al. 2012,* montre que la vitesse d'agitation n'a pas d'influence sur le rendement de productivité de *Pseudomonas aeruginosa* dans le cadre de la production des biosurfactants.

V.1.2. CONDITIONNEMENT DE LA BOUE

Le conditionnement de la boue étant un procédé de stérilisation. L'objectif est d'avoir une boue ne contenant aucun germe viable. Ainsi, le premier processus consiste à humidifier la boue avec une quantité suffisante d'eau distillée sans la diluée. La boue a été placée dans une étuve à 100°C pendant 1h puis refroidit 50°C. 1 g de l'échantillon a été dissout dans 100 ml d'eau distillée. Après dissolution complète 0,1ml de la solution a été ensemencé sur de la gélose pendant 48h à 37°C. D'après la figure (V.10.A) nous avons remarqué qu'il y a eu un développement ce qui nous a ramener à faire une stérilisation de l'échantillon à l'autoclave à 121°C pendant 15 min. Le résultat de cette dernière phase nous a montré que la boue est totalement stérile et qu'aucun germe viable ne s'y apparu comme le montre la figure (V.10.B).



Figure V.10 : Résultats du conditionnement de la boue

A : boue non stérile ; **B** : boue stérile

V.1.3. DOSAGE DE LA SOURCE DE CARBONE

D'après les résultats du dosage de validation du protocole d'analyse du carbone confinés dans le tableau (V.7) ci-dessus, la concentration inconnue est de 39,644 $mg.l^{-1}$, alors que la concentration théorique était de 42,234 mg/l donc le pourcentage d'oxydation est de O.P = 93,867% (voir figure V.11). Les résultats montrent que cette méthode est tout à fait efficace et sure afin de doser le substrat sous forme d'un mélange d'hydrocarbure. Les critères d'acceptations sont R = 0,9925, la marge de recouvrement est de 70% < 78,349% et 125,358% < 130 %. De plus l'écart maximal est 6,289 % < 10%. Donc tous les critères d'acceptation sont validés et nous pouvons de ce fait considérer cette méthode sans réserve dans la limite du possible.

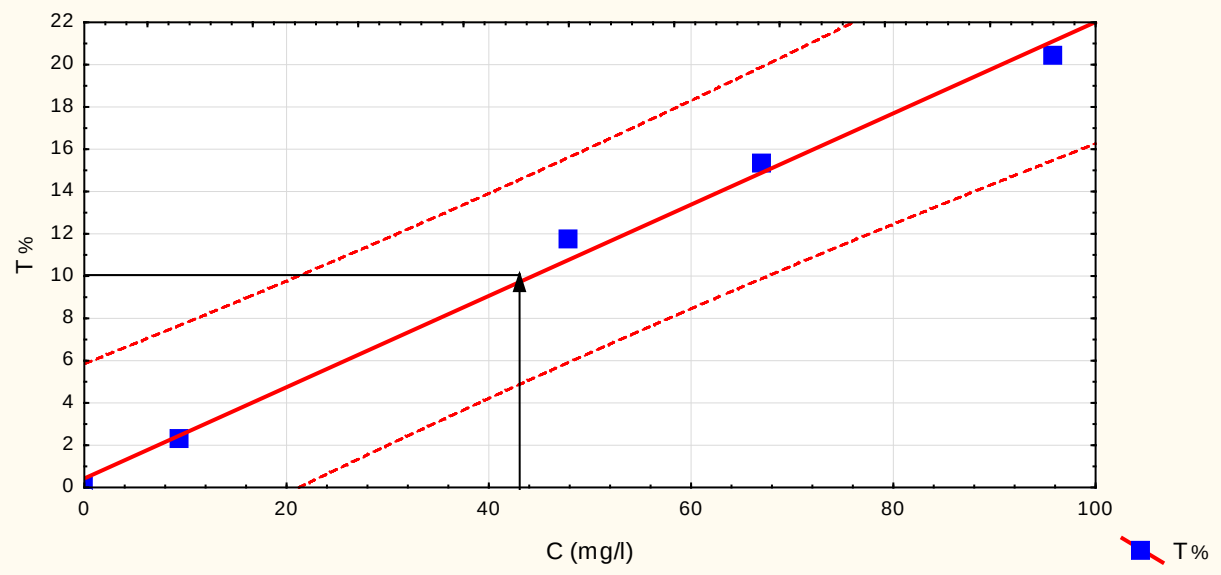


Figure V.11: Transmittance en fonction de la concentration du substrat carboné. Deuxième analyse et extrapolation de la concentration inconnue.



Figure V.12 : dispositif de digestion pour la DCO Spectrométrique.

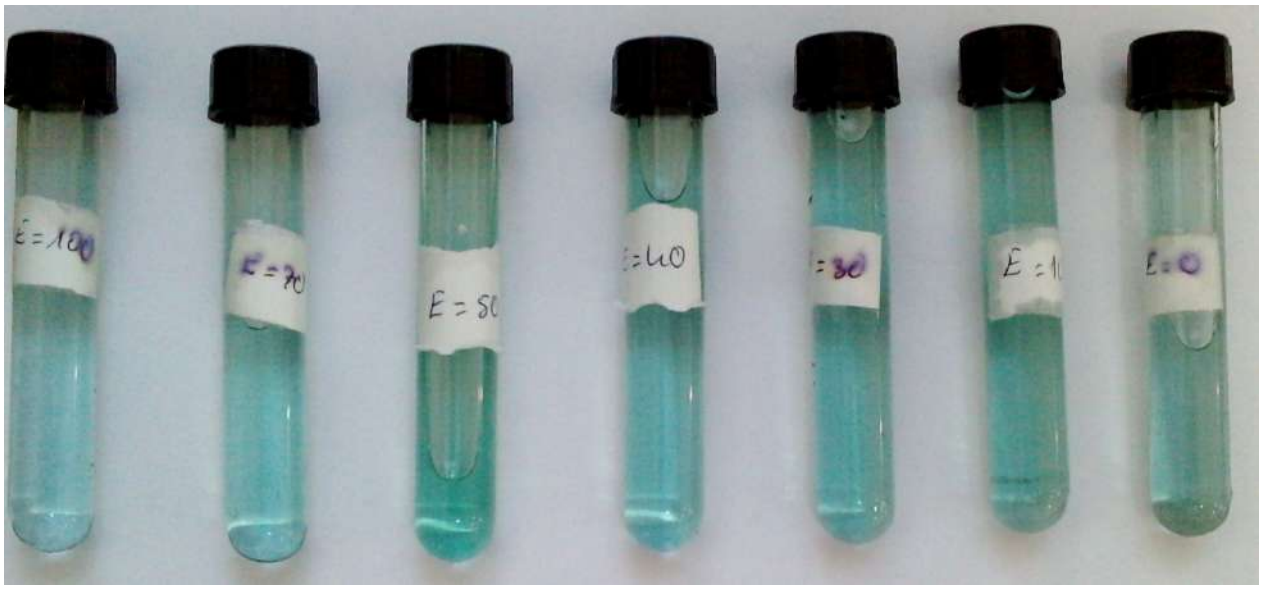


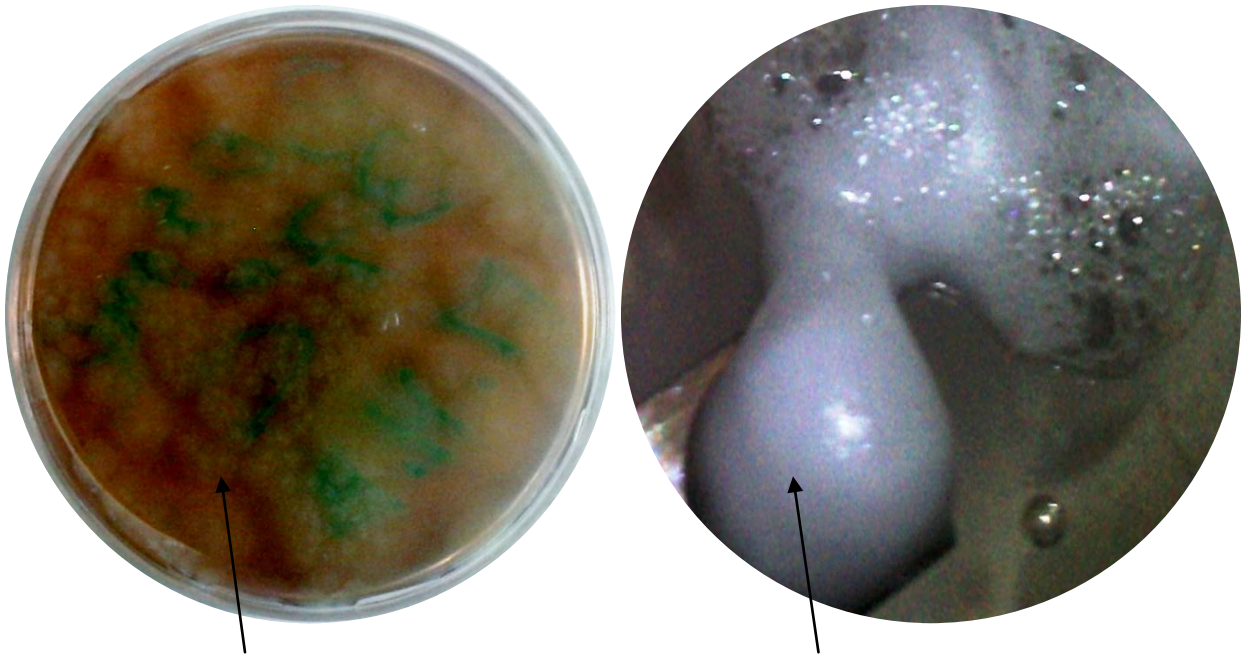
Figure V.13 : les solutions étalons après digestions.

V.1.4. DOSAGE DE LA SOURCE D'AZOTE

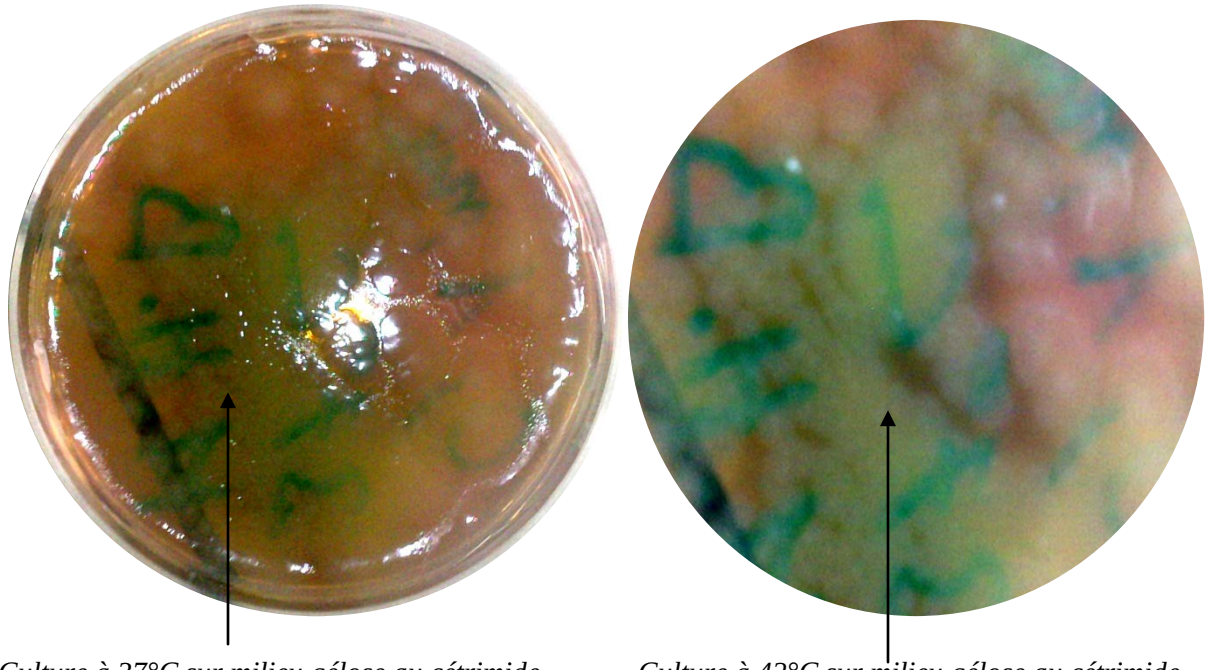
Les résultats du dosage volumétrique ont montré que le pourcentage d'oxydation des ions ferreux par les nitrates est 57,20% avec un écart relatif égal à 42,80%. La dilution des solutions n'a aucun effet sur le processus d'oxydation. Car le nombre de mole reste le même quel qu'en soit le volume. Cela signifie que les échantillons de culture dilués ou non donneront le même nombre de mole. Le nombre de mole initial est de $n_{théo(NO3)} = 3,956.10^{-2}$ mol. Ainsi, le nombre de mole expérimental pour la prise d'essai était de $n_{essai(NO3)} = 2,263.10^{-2}$ mol, soit $n_{total(NO3)} = 3,295.10^{-2}$ mol. L'écart relatif est calculé par la formule suivante :

V.1.5. IDENTIFICATION DE LA SOUCHE ET TEST DE CONFIRMATION

La souche *Pseudomanas aeruginosa* est fluorescente lorsqu'elle est cultivée sur un milieu gélose au cétrimide. Elle produit de la pyocyanine et de la fluorescéine avec une pigmentation bleu-vert caractéristique. Les expériences portent sur la culture sur milieu gélose au cétrimide à 37°C pendant 48 h, les tests de la catalase par le peroxyde d'hydrogène 30 – 31%, la culture à 42°C pendant 48 h, l'observation de la présence des colonies muqueuses, grisâtres, pigmentées ou non et de la mobilité ont montrés que tous ces tests se sont révélés positifs comme le montre la figure V.14.



Muqueuse grisâtre pigmentée et non *Catalase positive*



Culture à 37°C sur milieu gélose au cétrimide *Culture à 42°C sur milieu gélose au cétrimide*

Figure V.14 : culture sur gélose au cétrimide et test d'identification de *Pseudomanas aeruginosa ATCC 27853.*

V.1.6. ADAPTATION A LA SOURCE DE CARBONE

L'étude d'adaptation de la souche a été réalisée sur 48h à 37°C. A l'issu de moins de 24h, la souche s'est très bien adaptée à sa nouvelle source de carbone. Les essais d'adaptation se sont effectués sur un milieu gélosé au cétrimide, lequel était recouvert d'une mince couche contenant une solution d'hydrocarbure d'une concentration égale à 1055,856 $mg.L^{-1}$ et sur un notre milieu ne comportant pas du glycérol mais uniquement des hydrocarbures comme source de carbone et d'énergie. Les résultats de ces essais sont représentés sur la figure (V.15). Ceci, montre au bout de 48h de culture la souche avait dégradée les hydrocarbures de la couche mince et ceux incorporés dans la gélose qui a servi de test de mobilité car la souche s'est déplacée en profondeur pour se développer sur ce milieu dont la source de carbone est difficilement accessible.

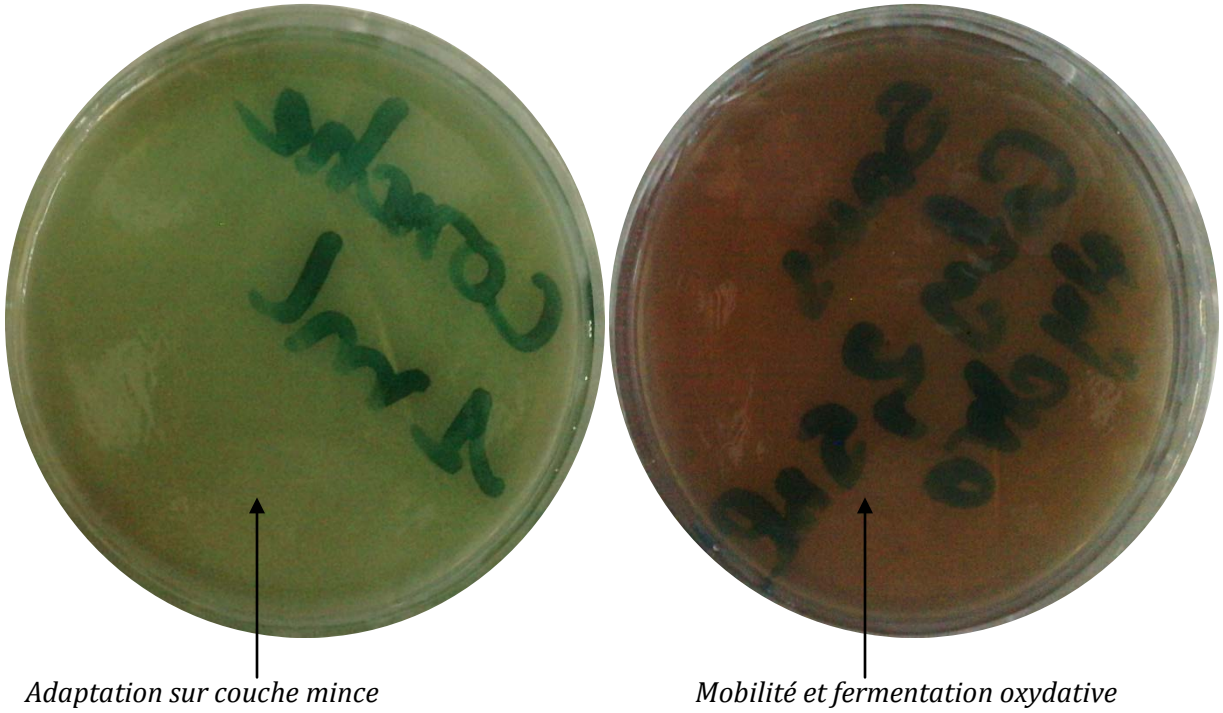


Figure V.15 : test d'adaptation, de mobilité et de fermentation oxydative de *Pseudomanas aeruginosa ATCC 27853.*

V.1.7. CULTURE

Le suivi de la cinétique de la fermentation en fonction du temps de culture au moment de la phase de culture a été effectué dans un Erlenmeyer de 250 ml à 37°C pendant 48h avec une vitesse d'agitation de 250 tr/mn. Les résultats trouvés concernant la croissance de la biomasse par densité optique **D.O (biomasse),** la masse normalisée **X**, la production des biosurfactants par conductimétrie $\mathbf{G_s}$, l'indice d'émulsification $\mathbf{EI_{24}}$, et la stabilité des émulsions sur cinq jours à température ambiante $\mathbf{ES_{5j}}$. La consommation des substrats carboné par DCO optique $\mathbf{C_s}$ et azoté par titrage volumétrique $\mathbf{NO_3}$ à la fin de la culture. L'ensemencement a concerné une masse *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* de 0,0200 ± 0,0001g avec une boue d'hydrocarbure de 5% (P/V) contenant 30% en hydrocarbure. La vitesse maximale de production était de r_p = 10 $mg.l^{-1}.h^{-1}$ avec une quantité de produit précipité de 120 mg pour 250 ml de culture pendant 48h. L'indice d'émulsification le plus élevé était obtenu entre 30h et 48h, $\mathbf{EI_{24}}$ **= 57,23%** avec une masse microbienne normalisée de 0,82 g (avant séchage).

La figure (V.16) décrit un phénomène de diauxie. La figure peut être découpée en deux parties, Dans la première, La souche s'attaque à la source de carbone facilement dégradable. Ce qui se traduit par une absence de la phase de latence car la souche ensemencée est déjà adaptée, puis une phase d'accélération, une phase exponentielle ou elle atteint sa croissance maximale suivie d'une phase de ralentissement et enfin la phase stationnaire. Ce cycle de croissance s'est effectué entre 0h et 20h d'après notre culture. Quant à la seconde phase, l'attaque de la deuxième source de carbone entre 20h et 48h, montre la présence de toutes les phases de croissance. Ceci cadre parfaitement bien avec la réalité de notre système qui comporte deux sources de carbone en sont sein. Car la boue de simulation comporte également de l'essence et du gasoil.

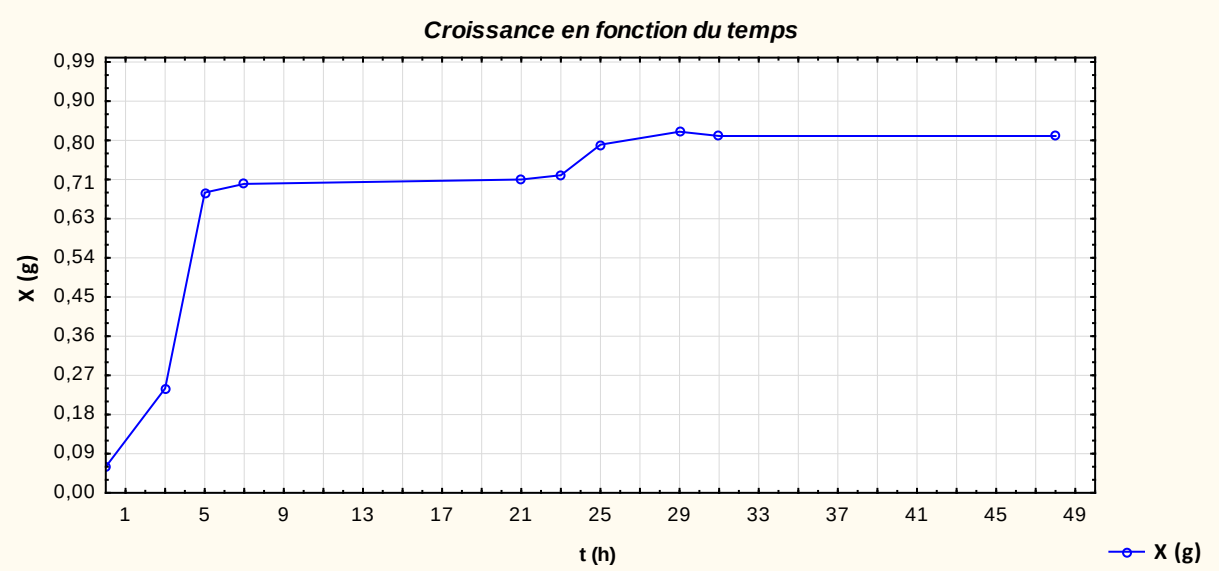


Figure V.16 : croissance de la biomasse en fonction du temps.

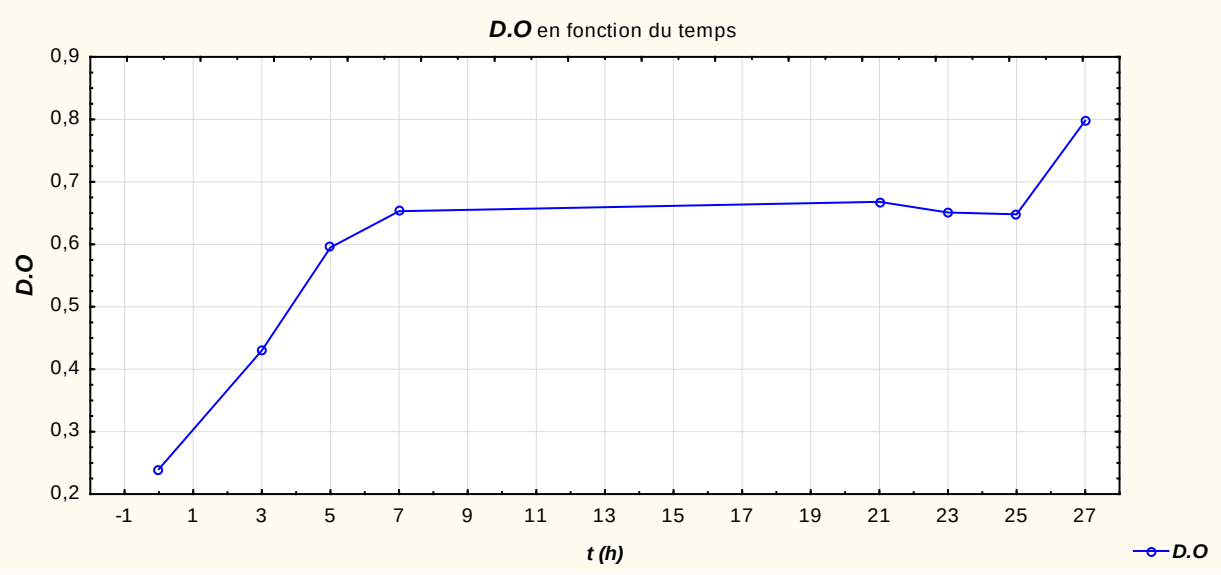


Figure V.17 : Densité optique de la biomasse en fonction du temps.

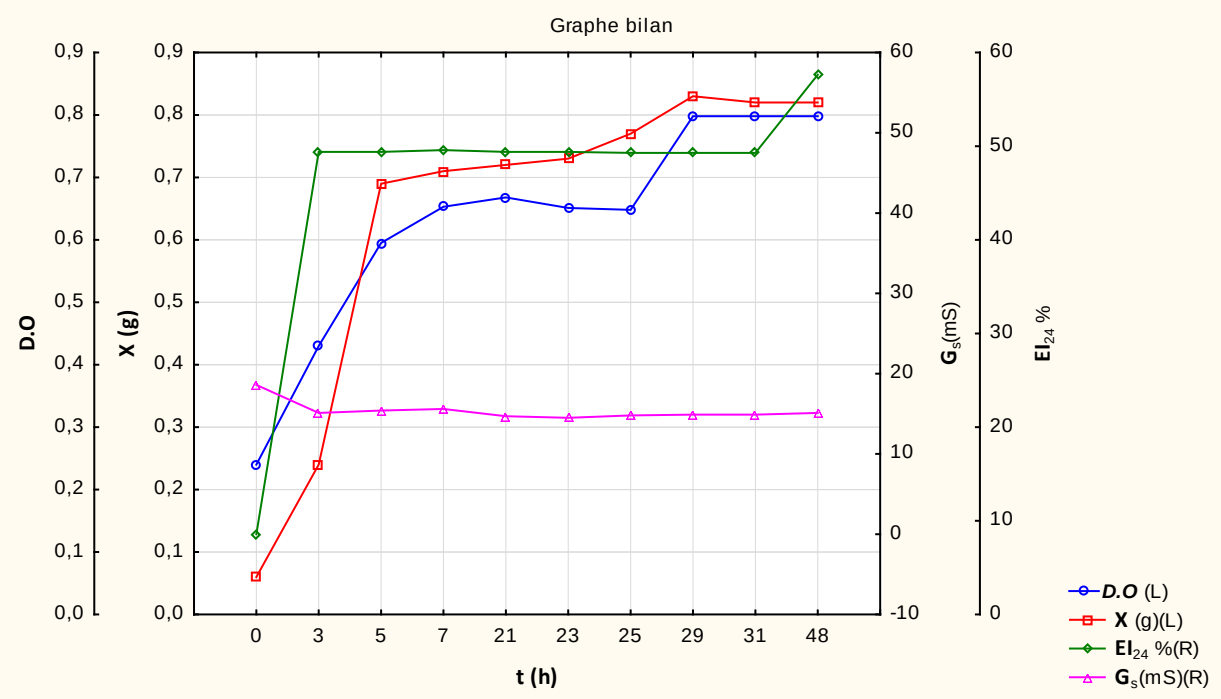


Figure V.18 : Culture type d'un phénomène de diauxie.

Les figures (V.16, V.19) montrent une culture typique d'un phénomène de diauxie. La production présente deux pics maximum en fonction du temps, proportionnellement à la croissance. Ceci montre la présence de deux sources de carbone dans le milieu. Ce qui caractérise

la voie métabolique empruntée par la souche. Les deux pics rendent compte de la présence de deux *Rhamolipides* dû fait de la spécificité des biosurfactants vis-à-vis le substrat de croissance. De plus l'indice d'émulsification EI_{24} corrobore cette allure car deux maximums sont obtenus 47,85% et 57,23%. Ces deux pics de productivité correspondent parfaitement aux deux phases exponentielles de croissance à 7h et à 48h qui coïncident aux points maximaux de la courbe d'évolution de la conductivité du milieu.

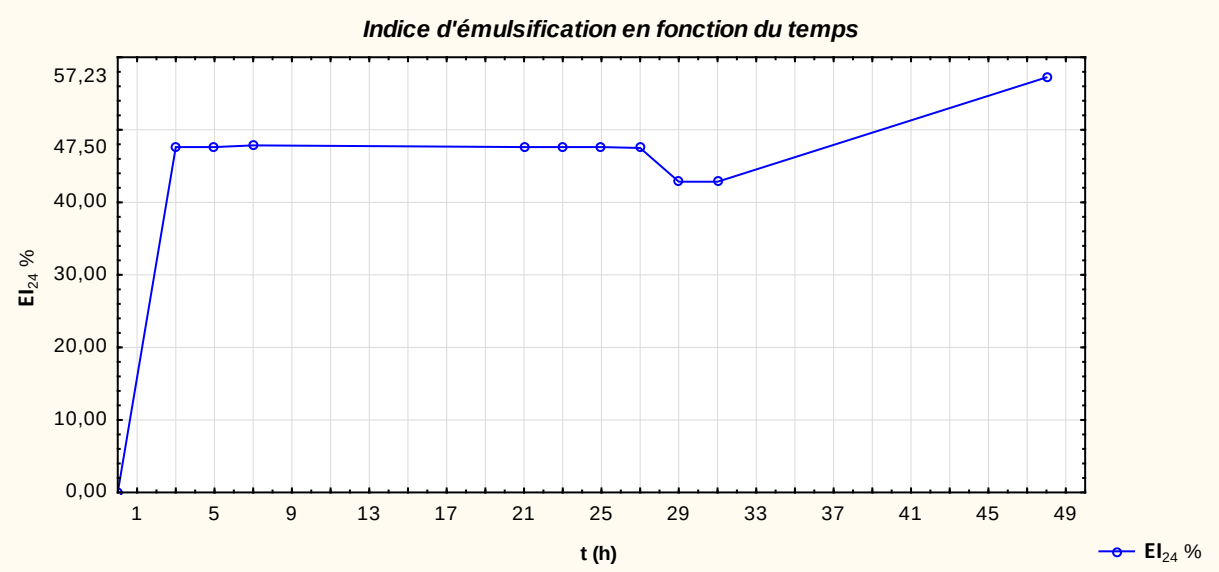


Figure V.19 : Evolution de l'indice d'émulsification en fonction du temps.

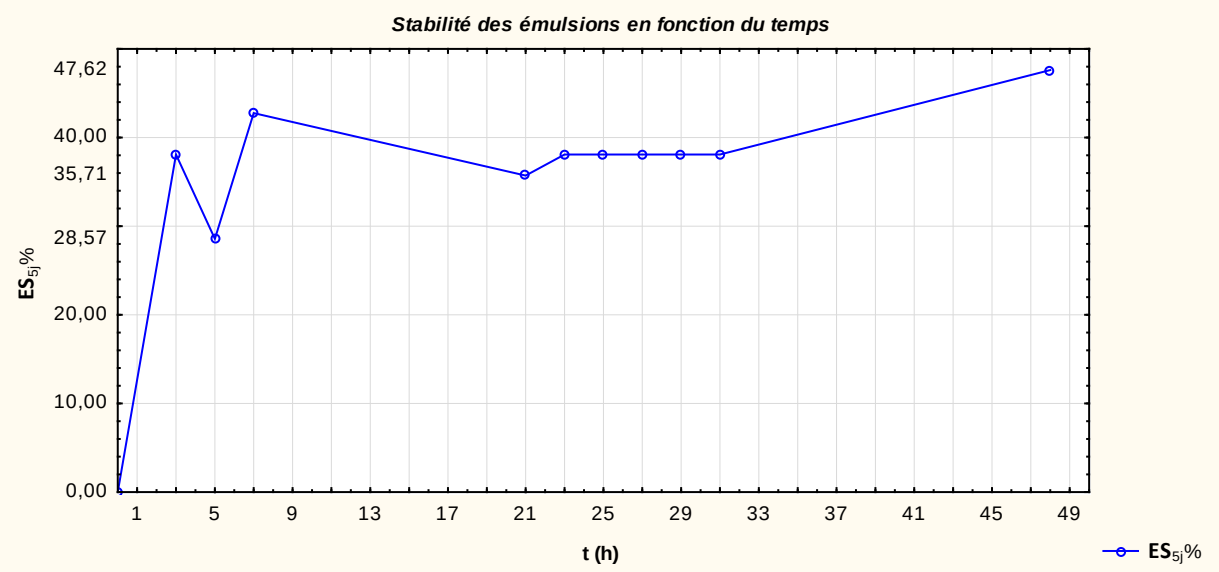


Figure V.20 : Evolution de la stabilité des émulsions en fonction du temps après cinq jours.

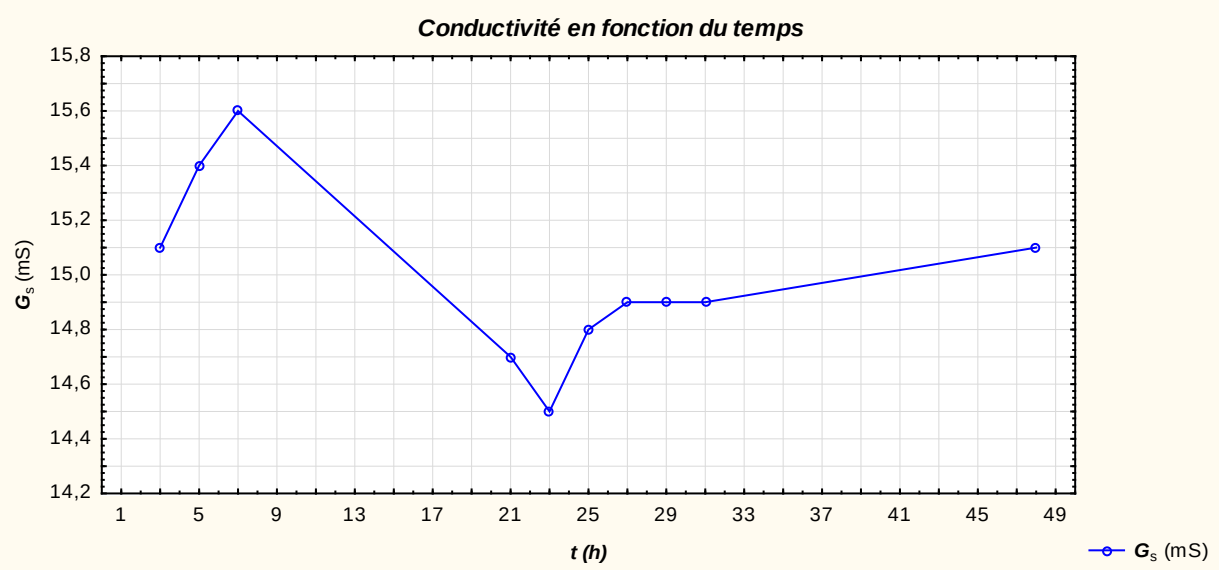


Figure V.21 : Evolution de la conductivité du milieu en fonction du temps.

Les observations au cours de cette culture ont montré qu'aux premières heures de l'expérience, qu'un biofilm s'est formé dans le milieu (0 et 7 h). Lequel biofilm s'est dissipé à 21 h pour donné un milieu sans suspension consistante. La production par l'indice d'émulsification est constante avec une légère augmentation à 7h qui marque la fin du biofilm et une baisse moyenne aux environs de 27 h jusqu'à 31 h. Le meilleur EI_{24} est obtenu à 48 h **EI_{24} = 57,23%**. La consommation du carbone est excessive car la teneur finale en source de carbone après dosage a confirmé cela, **C_s = 20,125 mg/l** avec une quantité de nitrate restante de **0,215 g.** Ceci explique

que la biomasse est plus favorisée que le métabolite d'intérêt. Aucune inhibition ni répression n'a été constaté mais le rapport **N/C = 9,51%** décrit une respiration plus aérobique qu'anaérobique. La diauxie est bien identifiée malgré cette productivité stationnaire comme le montre la figure (V.19).

La boue contenant 30% (P/V) en source de carbone soit une concentration en hydrocarbure de 9 g/l. Suite à la stérilisation, une perte a été constatée du fait de l'évaporation sous l'action de la chaleur de 12 à 15%. De ce fait, la concentration initiale est de 7,92 g/l tenant compte de la perte des 12%. Cela s'explique par le fait, que malgré la stabilisation par le propanol-2 et solubilisation dans l'eau distillée, il est possible qu'une quantité soit perdue et qu'il convient d'en prendre considération. Il faut noter aussi qu'une partie du substrat est utilisée pour la production des biosurfactants. Car seule la fraction *Rhamnose* des biosurfactants provient de la paroi cellulaire alors que les fractions R_1, R_2 ou R_n proviennent toutes du substrat. C'est ce qui fait, la spécificité des biosurfactants aux substrats de croissance. Enfin, le taux de bioconversion est estimé à $\theta = 99,77\%$ avec une concentration finale en source de carbone $C_s = 20,125$ mg/L. Le rendement en biomasse $Y_{X/S} = 34,52\%$ et en productivité $Y_{P/S} = 5,38\%$ sur 48 h de culture.

V.1.8. SEPARATION MEMBRANAIRE

La séparation membranaire s'est effectuée sur quatre bouillons de cultures avec une étape préliminaire consacrée au dimensionnement de l'unité d'ultrafiltration tangentielle ou compaction, comme annoncé en amont de la partie expérimentale. La vitesse tangentielle V_t=0,111 $m.s^{-1}$ a été calculée à partir du débit G_f = 0,5 L/min de filtration fixé. Les paramètres suivis lors de cette étude sont le volume du perméat et le temps de filtration pour déterminer la cinétique de colmatage. La pression transmembranaire est maintenue constante tout au long du processus, c'est à dire avant et après formation du gâteau à $\Delta P_m = 2.10^5$Pa et T = 25°C. Les restes des paramètres hydrodynamique et rhéologique sont considérés constants (MES, viscosité, résistance membranaire, résistance due au colmatage et la perméabilité). La valeur de la perméabilité est K=1,92.10^{-10} m/s.Pa obtenue à partir du dimensionnement de l'unité d'ultrafiltration et sa variabilité est de 24% (1,63.10^{-10} à 2,15.10^{-10}). Le flux de perméation initial $J_{p0} = 3.10^{-5}$ m/s, et la viscosité dynamique est $\mu_l = 3,831.10^{-3}$ Pa.s. Le tableau (V.9) résume les valeurs du volume filtré et du temps de filtration de quatre essais réalisés.

V.1.8.1. Déroulement des Essais d'ultrafiltration tangentielle

Les déroulements des essais de filtration membranaire tangentielle ont été effectués dans les conditions spécifiques ci-dessous. La durée de chaque essai est d'environ 3h avec 15 min de préparation du module complet. La membrane a été d'abord compactée avant les essais subséquents. Dans tous les cas, il y a eu rinçage puis compaction de la membrane pour stabiliser la perméabilité. La compaction consiste à filtrer de l'eau bi-distillée à une pression d'opération de 20 à 40% plus élevée que la pression à laquelle l'essai de filtration avec l'eau de surface va être réalisé. La phase de filtration du bouillon fermentaire a systématiquement durée 3h. Pour les essais réalisés d'écoulement tangentiel il y a eu deux lavages successifs : hydrodynamique et raclage.

Les conditions d'opération qui ont été fixées pendant les essais sont les suivantes :

- température : 25°C;
- flux de perméation initial : $\sim 3x10^{-5}$ m/s;
- débit d'écoulement tangentiel UFT : 0,5 L/min ce qui équivaut à une vitesse moyenne d'écoulement de 0,111 m/s;
- durée des phases de filtration : 3h;
- volume de la solution d'alimentation : 2 L.

Chaque essai de filtration a été réalisé à une pression transmembranaire fixe qui a été ajustée pour obtenir la valeur cible de J_{P0}. Cette pression varie d'un essai à un autre à cause des variations des perméabilités initiales de la membrane. Les variables dépendantes qui ont été suivies pendant la filtration ont été essentiellement le débit de perméation, qui diminue au fur et à mesure que la membrane se colmate, et la qualité du perméat. La quantité de l'alimentation a aussi été suivie pour pouvoir déterminer précisément les taux de séparation tout au long des essais de filtration.

La première filtration dont les données n'apparaissent pas dans le Tableau (V.9) a été constituée de l'essai préliminaire de compaction de la membrane. Cet essai a servi à fixer les conditions de pré-compaction de la membrane pour les essais subséquents. Ce qui a permis de choisir une valeur de J_{P0} pour les essais subséquents. En effet, tous les essais d'UFT ont été

réalisés à un flux de perméation initial proche de $3x10^{-5}$ m/s. Cette valeur de J_{P0} correspond à un colmatage plus rapide ce qui permet, a priori, de mieux faire ressortir l'importance de l'énergie de surface sur le processus de colmatage.

C'est afin d'accentuer les phénomènes de colmatage pour essayer de mieux faire ressortir l'effet de l'énergie de surface et suivant le mode de mise en œuvre, avec des essais relativement courts (3h), que nous avons choisi de réaliser les expériences subséquentes d'UFT à un flux de perméation initiale de $3x10^{-5}$ m/s.

Le schéma de l'installation de l'unité d'ultrafiltration est donné sur la figure (V.22).

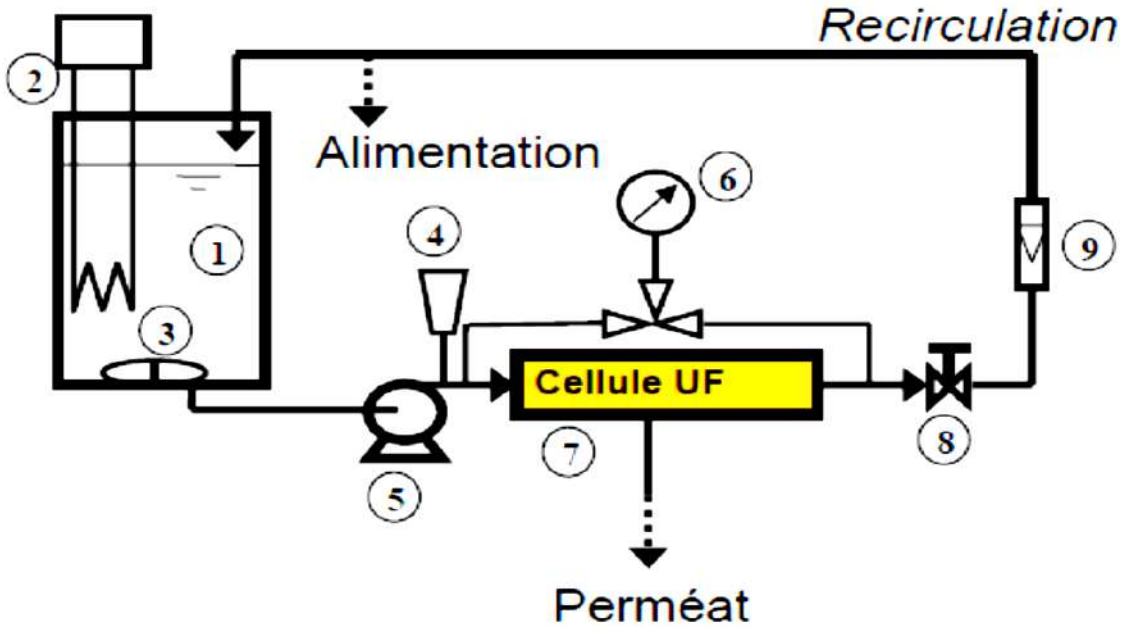


Figure V.22 : Schéma du montage de filtration tangentielle.

Avec :

1. Réservoir ;
2. Système de contrôle de température avec serpentin ;
3. Agitateur à palles rotatives type Stir-pak *;*
4. Attenuator de pulsations;
5. Pompe de recirculation Hydra-CellTM D 10, Q_{max}=0,9 m^3/h, P_{max}=1000 psi ;
6. Manomètre entrée-sortie, 0-300 psi ;
7. Cellule UFT, de type Carbosep avec un support en dioxyde de Zirconium ;
8. Valve de contrôle de la pression d'opération ;
9. Régulateur de débit de recirculation.

V.1.8.2. Compaction de la membrane

La compaction de la membrane est l'étude de l'effet mécanique de la pression transmembranaire sur la perméabilité de la membrane. Cela a été mesurée en faisant un essai de filtration d'eau bi-distillée à pression constante. Nous avons supposé que l'eau bi-distillée est suffisamment pure et que le montage est suffisamment propre pour que le colmatage de la membrane soit négligeable pendant cet essai. Une pression relativement élevée a été appliquée durant cet essai soit 422 kPa (63,3 psi).

La procédure utilisée consiste à compacter (pression maximale prévue en filtration des bouillons fermentaires + 20 à 40%) un coupon de membrane trempé préalablement dans de l'eau bi-distillée pendant 24 heures. Une fois la pression et la température (25ºC) ajustées, une première mesure de perméabilité est prise. Cette valeur est comparée à la valeur moyenne de référence. Si l'écart entre cette mesure de perméabilité et la valeur de référence est inférieur à 20%, le coupon de membrane est conservé. Ensuite la compaction proprement dite commence.

Une fois le délai de compaction spécifique passé, des mesures de débit de perméation sont prises à plusieurs pressions pour vérifier à la fois la valeur de la perméabilité et sa stabilité. Enfin la pression est ajustée de manière à ce que le flux de perméation initial, J_{P0}, atteigne la valeur désirée.

V.1.8.3. Régénération de la membrane

Durant les essais d'ultrafiltration tangentielle, la maintenance du coupon utilisé a consisté après chaque essai en une série de :

- **Lavage hydrodynamique** : il s'agit de filtrer de l'eau bi-distillée à fort débit d'écoulement tangentiel pour enlever le gâteau colmatant la surface membranaire en créant un fort balayage à le long de la surface. Pour cela, la vitesse d'écoulement tangentiel a été augmentée de 6 fois (V_t = 0,66 m/s) par rapport à la vitesse des essais (V_t = 0,11 m/s). Chaque lavage hydrodynamique dure 15 min et est réalisé à une pression moyenne dans la cellule de 140 kPa (20 psi);
- **Lavage par raclage** : celui-ci consiste en un raclage manuel du dépôt colmatant. La surface de la membrane est raclée très doucement avec les doigts munis des gants stériles. Le dépôt est récupéré dans 15 ml d'eau (solution de lavage).

CONCLUSION GENERALE

L'objectif assigné à cette étude consiste à déterminer les mécanismes de colmatage des membranes durant la filtration tangentielle en bioprocédé fermentaire par suite d'un recyclage d'une boue morte d'hydrocarbure en vu d'une application pour la protection de l'environnement Un suivi de la cinétique du processus de colmatage d'une membrane céramique par prédiction de l'énergie de surface à partir des modèles proposés dans la littérature, à savoir ceux développés par Schippers et Darcy a été effectué dans le but de faire une comparaison entre le modèle modifié d'ultrafiltration tangentielle proposé lors de notre étude et les modèles de Darcy et Schippers.

Pour tester l'applicabilité du modèle formulé, plusieurs essais ont été réalisés dans les conditions opératoires identiques avec un même module d'UFT et un même coupon membranaire. Les résultats trouvés ont montré l'applicabilité du modèle du gâteau à l'UFT des bouillons fortement chargés en divers substances colmatant (biomatériaux, substances biologiques, substances chimiques organique et inorganique présent dans un milieu fermentatif) . De plus, le modèle du gâteau suivi par l'énergie de surface semble aussi prédire l'ensemble du procédé de séparation membranaire avec un lavage hydrodynamique et un raclage du coupon membranaire à la fin de chaque essai d'UFT.

Aussi, les résultats indiquent que le colmatage des membranes céramiques en UFT en occurrence celle en alumine α provient de l'énergie de surface de la membrane et celle du gâteau colmatant, qui s'additionnent le long du processus de filtration. A la différence des précédents modèles celui-ci traduit la nature du gâteau à savoir sa compressibilité, la perte de perméabilité de la membrane due au colmatage irréversible, l'effet de l'énergie de surface sur le flux de perméation et sur le colmatage de la membrane. Le nouveau modèle traduit une linéarité entre le logarithme de l'énergie de surface et le logarithme du temps de filtration. Cette linéarité se perd dès le début de l'incompressibilité du gâteau, ce qui a pour conséquence la perte de perméabilité de la membrane, la perte du flux de perméation et engendre des coûts élevés des produits de lavage de la membrane, du temps d'entretien voire la perte de la membrane elle-même.

Quant au recyclage de la boue d'hydrocarbure, nos résultats ont montré que la souche étudiée fermente efficacement la boue morte d'hydrocarbure et que le processus conduit à la production des biosurfactants, ce qui permet à la souche de solubiliser les substances nécessaires à sa croissance et à sa survie donc à la productivité associée à la croissance. La production est

faible malgré la croissance du fait que la respiration était aérobie au détriment de l'anaérobiose d'où le biofilm observé au début de la fermentation. Nos résultats montrent aussi que la souche identifie la source de carbone comme étant de deux types. Ce qui est tout à fait cohérant avec notre simulation de la boue morte d'hydrocarbure. Ainsi, les dommages sur l'environnement due à la présence des boues mortes d'hydrocarbures sont évités et les résidus de la fermentation est un engrais biologique pouvant servir dans les champs, les rizières, les jardins légumineux et bien d'autres. Cependant, il est nécessaire d'apporter une optimisation du procédé de fermentation afin d'obtenir une meilleure productivité pour garantir un équilibre technico-économique et porter le procédé a une plus grande échelle à savoir pilote et enfin industrielle.

En guise de perspective, il serait préférable d'opérer avec une énergie de surface suffisante afin de prévenir les dommages par choc mécanique sur la membrane. Ce qui minimise le coût des produits de lavage tout en garantissant la réutilisation de la membrane et la stabilité de sa perméabilité. Ainsi, le perméat serait suffisamment limpide. En place d'un perméat à 100% limpide par un gâteau incompressible provoquant la perte de la perméabilité et de la membrane même. Ce qui aurai pour conséquence l'augmentation du coût des produits et du temps d'entretien voire l'achat d'une nouvelle membrane.