



HAL
open science

Fractionnement de protéines du lait par filtration dynamique.

V. Espina

► **To cite this version:**

V. Espina. Fractionnement de protéines du lait par filtration dynamique.. Sciences de l'ingénieur [physics]. Université de Technologie de Compiègne, 2009. Français. NNT: . tel-00433359

HAL Id: tel-00433359

<https://theses.hal.science/tel-00433359>

Submitted on 19 Nov 2009

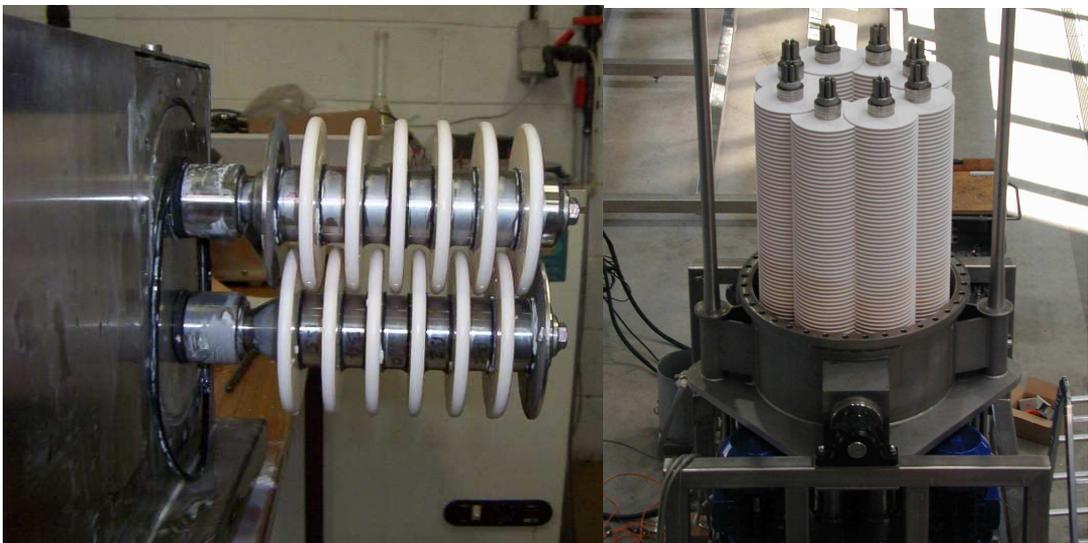
HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Par Valentina Soledad ESPINA PEREZ

***Fractionnement de protéines du lait par
filtration dynamique***

Thèse présentée
pour l'obtention du grade
de Docteur de l'UTC



Soutenue le 30 octobre 2009

Spécialité : Génie des Procédés Industriels et
Développement Durable

FRACTIONNEMENT DE PROTEINES DU LAIT PAR FILTRATION DYNAMIQUE

Soutenue le 30 octobre 2009 devant le jury composé de :

Mme.	M. RABILLER-BAUDRY	(Rapporteur)
M.	P. JAOUEN	(Rapporteur)
M.	E. VOROBIEV	(Président du jury)
M.	J.L. GRASSI	(Membre du jury)
M.	M.Y. JAFFRIN	(Directeur de thèse)
M.	L.H. DING	(Co-Directeur de thèse)

Cette thèse a été effectuée avec le soutien du Programme Alþan, Programme de Bourse de Haut Niveau de l'Union Européenne pour l'Amérique Latine, bourse n° E06D101610CL

Supported by the Programme Alþan, the European Union Programme of High Level Scholarships for Latin America, scholarship n° E06D101610CL

A mes parents,

ma sœur

et mon frère

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au sein des laboratoires UMR CNRS 6600 « Biomécanique et Bioingénierie » et de l'Equipe d'Accueil 4297 « Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable », de l'Université de Technologie de Compiègne (UTC). Je voudrais d'abord remercier toutes les personnes de ces deux laboratoires qui, d'une façon ou d'une autre, ont participé à la réalisation de ce travail.

Ce travail a été réalisé sous la direction de M. Michel Jaffrin (Professeur Emérite de l'UTC) et de M. LuHui Ding (Professeur de l'UTC). Je tiens à leur adresser mes remerciements les plus sincères pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire, pour leur patience au début de cette thèse et pour la confiance témoignée lors de la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier le Programme Alþan, Programme de Bourses de Haut Niveau de l'Union Européenne pour l'Amérique Latine (bourse n° E06D101610CL) qui m'a permis de réaliser ma thèse à l'UTC.

J'adresse mes vifs remerciements à Mme Murielle Rabiller-Baudry, Professeur à l'Université de Rennes 1, et à M. Pascal Jaouen, Professeur à l'Université de Nantes, pour avoir accepté d'être rapporteurs de mon travail. Je remercie aussi M. Eugène Vorobiev, Professeur de l'UTC de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse, ainsi que M. Jean-Luc Grassi, Directeur de l'usine de Société Laitière de Clermont (Lactalis), pour avoir accepté d'être examinateur.

Je remercie très chaleureusement Mlle. Beatriz Cancino, Professeur à la Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso, pour m'avoir montré le chemin de la recherche, pour la confiance portée en moi pour m'aider à faire mon doctorat en France. Merci « Doctora » pour votre aide à distance, pour votre constante préoccupation et pour votre amitié, sans vous cette thèse n'aurait jamais existée.

Je voudrais remercier Matthieu Frappart pour m'avoir aidée pendant la réalisation de cette thèse. Merci Matthieu pour avoir partagé avec moi tes connaissances sur la filtration dynamique, pour toutes les discussions sur le travail et autres, pour avoir lu le manuscrit plusieurs fois et corrigé les fautes de français, merci pour ton aide et pour ton amitié.

J'adresse un grand merci à Patrick Paullier, pour son aide technique lors des essais et pour les conseils donnés au cours de mes trois années au sein du laboratoire.

Je remercie mes collègues de laboratoire : Zhengbuan Tu, Johann Walter, Benoît Carpentier, Marie-Valérie Moreno, Yannick Lefevre, Lina Li, Sana Bousbiat, Jianquan Luo et Munir Mellal, pour tous les bons moments partagés au cours de cette thèse.

Je remercie également Mme. Chantal Guilbert pour toutes les conversations que nous avons eues et l'aide administrative donnée au cours de cette thèse.

Un grand merci à M. Hervé Adenier, Mme. Claudia Orellana et M. Frank Merlier, pour m'avoir appris à utiliser l'HPLC et pour leur aide technique.

Je voudrais remercier de tout mon cœur : Hélène Morel, Patricia Ruiz-Sanchez, Pedro Castillo, Karem et Francis Mairet, Frédéric Paviet, Van Hinh Vu, Anh-Tuan Luong, Dinh Vinh Do, Maria Beatriz Rocha, Sergio Rodriguez, Roberto Diaz et à la communauté mexicaine, pour leur amitié et leur support pendant ces trois années. Vous avez été ma famille en France, je vous serai toujours reconnaissante et je garderai avec moi des excellents souvenirs.

Je remercie Guillaume Sanahuja, pour son soutien et son amour qui m'ont aidée dans les moments de faiblesse. Je remercie également Monique, Francis et Julien Sanahuja, pour m'avoir accueillie dans votre famille.

Je remercie mes amis au Chili : Fiorella Casazza, Carla Arancibia, Carolina Astudillo, Stephany Gonzalez, Patricia Fuentes, Carolina Robles, Paula Muñoz, Rodrigo Gatica, Sofia Pavez, Alexis Gatica, Paula Gatica, Francisco Rossier, Francisco Alonso, Eduardo Rossel, Daniela Olate, Cristian Cuadra, Pablo Valencia, Juan Aguirre, Juan Palacios et Katia Puyol, pour leur encouragement tout au long de cette thèse et pour leur amitié inconditionnelle. Merci mes chers amis pour votre support à distance et pour me maintenir connectée avec mon pays.

Je voudrais remercier la famille Küble-Muñoz, pour l'attention qu'ils m'ont témoignée et pour m'avoir accueillie dans leur famille comme une de leurs filles.

Pour finir je voudrais remercier de tout mon cœur mes parents, ma sœur et mon frère, pour leur amour inconditionnel, pour m'avoir toujours encouragée à continuer mes études et ce que j'avais rêvé. Merci pour avoir accepté mes décisions et pour me soutenir, sans votre soutien et amour je n'aurais jamais pu finir ma thèse.

Fractionnement des protéines du lait par filtration dynamique

Thèse de Doctorat, Génie des Procédés Industriels et Développement Durable.
UTC Compiègne, 2009

RESUME

Ce mémoire de thèse est consacré au fractionnement des protéines du lait par filtration dynamique. Un procédé en cascade a été proposé pour séparer les protéines du lait en trois fractions principales : les caséines, l' α -Lactalbumine et la β -Lactoglobuline. La première étape du procédé consiste en une microfiltration du lait afin de séparer les caséines des protéines du lactosérum. Une comparaison entre les performances des deux modules de filtration dynamique : le module Multi Shaft Disk (MSD) et le module à disque rotatif, a été effectuée. Nous avons obtenu les meilleurs résultats avec le prototype MSD, fournissant des flux de perméat élevés, ainsi que une très bonne transmission de protéines solubles et une rétention élevée des micelles de caséines.

La deuxième étape du procédé est la séparation d' α -Lactalbumine de la β -Lactoglobuline, par ultrafiltration. Le prototype à disque rotatif muni d'un disque à ailettes tournant à 2000 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$ a été utilisé. Nous avons obtenu des transmissions de protéines et des sélectivités constantes lors de la concentration du lactosérum. Ceci constitue un avantage des systèmes dynamiques, car en filtration tangentielle les transmissions de protéines et les sélectivités diminuent avec la concentration. Les sélectivités obtenues en filtration dynamique, sans modification de pH ni de la force ionique, sont de l'ordre de grandeur de celles obtenues en filtration tangentielle après optimisation du pH et de la force ionique.

Mots clés : Filtration dynamique, α -Lactalbumine, β -Lactoglobuline, microfiltration et ultrafiltration.

Milk proteins fractionation by dynamic filtration

PhD Thesis, Industrial Processes Engineering and Sustainable Development.
UTC Compiègne, 2009

ABSTRACT

This thesis focuses on milk proteins fractionation by dynamic filtration. A two-stage process has been proposed in order to separate milk proteins into three main fractions: casein micelles, α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin. The first stage of the process consists in microfiltration of skim milk for separating casein micelles from whey proteins. The performances of two dynamic filtration modules: the Multi Shaft Disk (MSD) module and the rotating disk module have been compared. The results have shown that the MSD module presents high permeate flux, good whey proteins transmission and high casein micelles rejection.

The second stage of the process is the separation of α -Lactalbumin from β -Lactoglobulin by ultrafiltration. The rotating disk module equipped with a disk with vanes and rotating at 2000 rpm, was used. The protein transmission and selectivity were constant during whey concentration. This is an advantage of dynamic filtration because in crossflow filtration protein transmission and selectivity decreased during whey concentration. The selectivities obtained with dynamic filtration, without changes in pH and ionic strength of the solution, were in the same range as those obtained with crossflow filtration after pH and ionic strength optimization.

Key Words: Dynamic filtration, α -Lactalbumin, β -Lactoglobulin, microfiltration and ultrafiltration

SOMMAIRE

NOMENCLATURE	1
INTRODUCTION GENERALE.....	4
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	6
I.1. Modèles de Polarisation de Concentration et Colmatage	7
I.1.1. Modèle de Transfert de Matière (Théorie du Film)	7
I.1.2. Modèle de résistances en série	9
I.1.3. Modèle de la pression osmotique pour le flux limite.....	10
I.2. Méthodes de limitation du colmatage pour augmenter les performances de la membrane.....	10
I.2.1. Prétraitement de la solution d'alimentation.....	11
I.2.2. Choix des matériaux membranaires.....	11
I.2.3. Création d'instabilités	11
I.2.3.1. Promoteurs de turbulence.....	12
I.2.3.2. Backflushing et backpulsing	12
I.2.3.3. Ecoulements pulsés.....	13
I.2.4. Champs électriques.....	13
I.2.5. Ultrasons.....	14
I.2.6. Filtration dynamique.....	14
I.2.6.1. Systèmes à membrane vibrante	15
I.2.6.1.1. VSEP (Vibratory Shear Enhanced Processing).....	15
I.2.6.1.2. Système PallSep.....	16
I.2.6.2. Systèmes à disque rotatif.....	16
I.2.6.2.1. Dynamic Cross Flow Filter DYNO.....	16
I.2.6.2.2. Cross Rotational Membrane Filtration OPTIFILTER CR.	16
I.2.6.2.3. High Shear Rotary Filter SPINTEK.....	17
I.2.6.2.4. Dynamic Membrane Filter DMF.....	17
I.2.6.2.5. RVF TM	17
I.2.6.2.6. Multi Shaft Disk MSD.....	17
I.2.6.2.7. ROTOSTREAM.....	18
I.2.6.2.8. Single Shaft Disk Filter SSDF.....	18
I.2.6.2.9. Systèmes à cylindre rotatif.....	19
I.2.6.2.10. Système CMS (Centrifugal Membrane Separation).....	19
I.3. Le lait et ses protéines.....	20
I.3.1. Propriétés fonctionnelles des protéines du lait.....	23
I.3.1.1. Caséines	23
I.3.1.1.1. Propriétés émulsifiantes.....	23
I.3.1.1.2. Propriétés moussantes	24
I.3.1.1.3. Coagulation de caséines et micelles de caséines.....	24
I.3.1.2. Protéines du lactosérum.....	24
I.3.1.2.1. β -Lactoglobuline (β -Lg).....	25

I.3.1.2.2. α -Lactalbumine (α -La)	26
I.3.1.2.3. Sérum d'Albumine Bovine.	26
I.3.1.2.4. Immunoglobulines.....	27
I.3.1.2.5. Lactoferrine	27
I.4. Applications des procédés membranaires dans l'industrie laitière.....	27
I.4.1. Procédés membranaires pour le fractionnement du lait.	29
I.4.1.1. Séparation et fractionnement de la crème.	29
I.4.1.2. Elimination de bactéries et spores présentes dans le lait.	30
I.4.1.3. Concentration de micelles de caséines à partir du lait écrémé.....	32
I.4.1.4. Récupération des protéines du lactosérum.	34
I.4.1.4.1. Séparation de l' α -Lactalbumine (α -La).	35
I.4.1.4.2. Séparation de β -Lactoglobuline (β -Lg)	43
I.4.1.4.3. Séparation du sérum d'albumine bovine (BSA).....	46
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	48
II.1. Module Multi Shaft Disk (MSD).....	49
II.1.1. Calcul de la vitesse différentielle dans la zone de recouvrement dans le MSD.....	50
II.1.2. Détermination de la PTM à partir de pression du carter pc dans le MSD.....	50
II.1.3. Détermination du taux de cisaillement.....	51
II.1.4. Montage expérimental	52
II.2. Module � Disque Rotatif	53
II.2.1. Calcul du taux de cisaillement.....	54
II.2.2. Montage expérimental	55
II.3. Membranes utilisées	56
II.4. Fluides utilisés.....	56
II.4.1. Lait UHT �cr�m�.....	57
II.4.2. Lait pasteurisé écrémé.....	57
II.5. Analyses physico-chimiques.....	57
II.5.1. Détermination des transmissions de caséines par turbidité.....	57
II.5.2. Détermination de la concentration des protéines solubles par HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	57
II.5.3. Préparation des échantillons.....	60
II.5.4. Mesures de viscosité du lait	61
II.6. Prétraitement de la membrane PVDF	61
II.7. Protocole de nettoyage des membranes et du système.....	61
II.8. Protocole opératoire des essais effectués.	61
CHAPITRE III : SEPARATION DES CASEINES PAR MICROFILTRATION : COMPARAISON DES MODULES MSD ET A DISQUE ROTATIF.	62
III.1. Essais sur le module MSD.....	63
III.1.1. Essais avec lait UHT �cr�m�.....	63

III.1.1.1. Variation du flux, de la rétention de caséines et des transmissions de protéines solubles avec la PTM à FRV = 1.....	64
III.1.1.1.1. Comparaison entre les configurations à 6 disques céramiques sur 1 arbre et à 6 disques céramiques plus 6 disques lisses.....	64
III.1.1.1.2. Comparaison entre les configurations à 6 disques céramiques sur 1 arbre et à 6 disques céramiques plus 6 disques métalliques à ailettes.....	68
III.1.1.2. Variation du flux, de la rétention de caséines et des transmissions de protéines de lactosérum avec le FRV.....	73
III.1.2. Essais avec du lait pasteurisé écrémé.....	78
III.2. Comparaison des MF du lait pasteurisé et du lait UHT utilisant le module MSD.....	84
III.3. Comparaison des résultats avec ceux en filtration tangentielle de la littérature.....	87
III.4. Etude de résistances.....	89
III.4.1. Résistances à FRV constant.....	89
III.4.2. Résistances à FRV variable.....	93
III.5. Essais sur le module à disque rotatif utilisant des membranes organiques de MF.....	94
III.5.1. Variation du flux, de la rétention de caséines et de la transmission de protéines de lactosérum avec la PTM à FRV=1.....	94
III.5.2. Variation du flux, de la rétention de caséines et des transmissions de protéines de lactosérum avec le FRV.....	99
III.6. Comparaison entre le module à disque rotatif et le module MSD.....	102
CHAPITRE IV : SEPARATION D'α-LACTALBUMINE ET DE β-LACTOGLOBULINE PAR ULTRAFILTRATION.....	106
I.1. Ultrafiltration du lactosérum du lait UHT et du lait pasteurisé.....	107
I.1.1. Variation du flux et des transmissions de protéines avec la PTM à FRV = 1.....	108
I.1.2. Variation du flux et des transmissions de protéines avec le FRV.....	111
I.2. Etude des résistances à la filtration.....	121
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	124
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	128
Liste de Travaux.....	141

NOMENCLATURE

A	aire sous le pic chromatographique (mm^2)
C	concentration de soluté retenus sur la membrane (g.L^{-1})
C_B	concentration de la solution (g.L^{-1})
C_G	concentration « gel » sur la surface de la membrane (g.L^{-1})
C_i	concentration de la protéine i dans le perméat ou rétentat, selon le cas (g.L^{-1})
C_T	concentration totale de protéines dans le perméat ou rétentat, selon le cas (g.L^{-1})
C_p	concentration dans le perméat (g.L^{-1})
C_r	concentration dans le rétentat (g.L^{-1})
C_{ps}	concentration de la protéine soluble (α -Lactalbumine ou β -Lactoglobuline) dans le perméat ou dans le rétentat, selon le cas (g.L^{-1})
$C_{\alpha-La}$	concentration d' α -Lactalbumine (g.L^{-1})
$C_{\beta-Lg}$	concentration de β -Lactoglobuline (g.L^{-1})
D	coefficient de diffusion ($\text{m}^2.\text{h}^{-1}$)
F	fréquence d'oscillation du VSEP (Hz)
FRV	facteur de réduction volumique
FS	facteur de séparation
J_s	flux convectif de soluté ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$)
J	flux de perméat ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$)
J_{rs}	flux rétrodiffusif de soluté ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$)
J_{net}	flux net de soluté vers la membrane ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$)
J_{lim}	flux limite ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$)
k_t	coefficient de transfert de matière (m.h^{-1})
k	coefficient d'entraînement du fluide.
Lp_f	perméabilité de la membrane ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{Pa}^{-1}$)
M	masse (g)
N	vitesse de rotation (tr.min^{-1})
Nc	vitesse de rotation des disques céramiques dans le module multishaft disk (tr.min^{-1})
Nm_l	vitesse de rotation des disques métalliques lisses dans le module multishaft disk (tr.min^{-1})

Nm _a	vitesse de rotation des disques métalliques à ailettes dans le module multishaft disk (tr.min ⁻¹)
PTM	pression transmembranaire (Pa)
P	pureté
p _p	pression du perméat dans module multishaft disk (Pa)
p _s	pression à l'entrée de l'arbre creux dans le module multishaft disk (Pa)
P _i	pression d'entrée côté rétentat dans le module à disque rotatif (Pa)
P ₀	pression de sortie côté rétentat dans le module à disque rotatif (Pa)
P _f	pression de sortie côté filtrat dans le module à disque rotatif (Pa)
p _c	pression dans le carter (Pa)
P _c	pression au périphérique (Pa)
Q	débit d'alimentation (L.h ⁻¹)
Re	nombre de Reynolds
R _m	résistance membranaire (m ⁻¹)
R _f	résistance du colmatage (m ⁻¹)
R _{ir}	résistance irréversible (m ⁻¹)
R _{rf}	résistance réversible (m ⁻¹)
R ₁	rayon externe de la membrane (m)
R ₂	rayon interne de la membrane (m)
r	rayon de la membrane (m)
R _T	résistance totale (m ⁻¹)
R _{CP}	résistance de polarisation de concentration (m ⁻¹)
Re _d	nombre de Reynolds basé sur le rayon et la vitesse périphérique du disque $\frac{R_d^2 \omega}{\nu}$
Re _r	nombre de Reynolds local = $\frac{r^2 \omega}{\nu}$
Re _s	nombre de Reynolds basé sur l'entrefer = $\frac{s^2 \omega}{\nu}$
Sc	nombre de Schmidt
s	entrefer (distance entre les deux disques/cylindres) (m)
Tr	transmissions de protéines
V _{av}	vitesse moyennée sur la membrane (m.s ⁻¹)
V	vitesse moyenne (m.s ⁻¹)
Y	récupération, rendement

Symboles grecs

δ	épaisseur de la couche limite (m)
γ_l	taux de cisaillement local (s^{-1})
γ_p	taux de cisaillement sur la membrane (s^{-1})
$\bar{\gamma}_m$	taux de cisaillement moyen sur la membrane (s^{-1})
γ_{\max}	taux de cisaillement maximum sur la membrane (s^{-1})
φ	coefficient géométrique
μ_p	viscosité dynamique du perméat (Pa.s)
$\Delta\pi$	pression osmotique (Pa)
ρ	masse volumique du fluide ($kg.m^{-3}$)
τ_m	contrainte de cisaillement moyen (Pa)
ν	viscosité cinématique du fluide ($m^2.s^{-1}$)
ω	vitesse angulaire ($rad.s^{-1}$)

INTRODUCTION GENERALE

Les protéines du lait sont très utilisées comme des ingrédients dans divers aliments, car leurs propriétés fonctionnelles améliorent la qualité de ces derniers. Les fonctionnalités des protéines du lait pourraient être utilisées d'une façon plus efficace si ces protéines étaient séparées des autres composants du lait et purifiées. A titre d'exemple, les caséines sont l'ingrédient principal dans la fabrication de fromage. Le rendement et la qualité des fromages peuvent être augmentés par une concentration des micelles des caséines en soustrayant des protéines solubles. Les caséines sont aussi utilisées dans la standardisation du lait et dans la fabrication de yaourts. Les protéines solubles ou protéines de lactosérum ont un intérêt dans l'industrie agroalimentaire et dans l'industrie pharmaceutique, par leur haute valeur nutritionnelle et leurs propriétés fonctionnelles telles que les propriétés gélifiantes, moussantes et émulsifiantes. Citons, la β -Lactoglobuline ayant des propriétés gélifiantes et pouvant être utilisée dans la fabrication des produits de charcuterie, l' α -Lactalbumine ayant une haute valeur nutritionnelle mais aussi des propriétés anti carcinogènes. Pour sa part, la lactoferrine a des propriétés antimicrobiennes et les immunoglobulines peuvent être utilisées pour favoriser les défenses immunitaires.

Actuellement, les protéines sont commercialisées sous forme de concentrats et/ou d'isolats. Pour leur valorisation individuelle, il est nécessaire de les détenir à grande échelle et les plus pures possible, notamment dans l'industrie pharmaceutique. Différentes méthodes classiques de séparation existent pour le fractionnement de protéines du lait comme la chromatographie et la précipitation sélective. Cependant, ces méthodes sont chères et longues, ce qui augmente le prix des protéines pures sur le marché. La séparation membranaire est apparue comme une alternative à ces méthodes classiques. En effet, elle permet de séparer les différents composants du lait par leur taille. Par ailleurs, ce procédé n'altère pas la conformation des protéines.

Depuis plus de vingt ans, la filtration membranaire tangentielle a été étudiée pour concentrer les micelles de caséines et les protéines de lactosérum. Le problème le plus important de cette technique est la diminution rapide des flux de perméat à cause de la formation d'un dépôt sur la membrane, entraînant un colmatage. Il y a dix ans environ, des études ont été effectuées pour séparer les protéines de lactosérum et aussi pour produire des concentrats enrichis en une protéine spécifique, généralement l' α -Lactalbumine. Ces études ont montré également que la diminution du flux de perméat et la formation d'un dépôt sur la membrane limitent la séparation de protéines, car la sélectivité de la membrane diminue. Une solution pour le problème du colmatage, et qui est utilisée actuellement dans l'industrie, est l'augmentation du débit d'alimentation des systèmes membranaires et l'utilisation des systèmes à pression

transmembranaire uniforme (PTMU), mais cela demande une consommation d'énergie élevée. Une autre alternative est la filtration dynamique, qui permet d'augmenter les flux de perméat avec un faible débit d'alimentation et aussi de diminuer la formation du dépôt sur la membrane grâce aux taux de cisaillement élevés générés par ces systèmes.

Les systèmes de filtration dynamique ont été utilisés en ultrafiltration, nanofiltration et osmose inverse pour le traitement d'effluents (*Postlethwaite et al., 2004; Akoum et al., 2004; Frappart, 2006; Shi & Benjamin, 2008; Zouboulis & Petala, 2008*) et aussi pour la concentration de micelles de caséines (*Al-Akoum et al., 2002a*), en obtenant de meilleures performances qu'en filtration tangentielle. C'est pour cela que notre objectif est de proposer un procédé de filtration en cascade pour la séparation des protéines du lait à partir du lait écrémé en trois fractions principales : caséines, α -Lactalbumine et β -Lactoglobuline, en faisant intervenir la filtration dynamique afin d'augmenter les flux de perméat et diminuer le colmatage de la membrane. La diminution du colmatage pourrait ainsi augmenter les flux de perméat et la sélectivité au cours de la filtration.

Le premier chapitre de la thèse est dédié à une revue bibliographique des modèles de polarisation de concentration et de colmatage de la membrane et des techniques limitant ces phénomènes. Nous verrons aussi les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et l'application de la filtration membranaire pour la séparation des protéines du lait.

Le deuxième chapitre est consacré à la description des modules de filtration dynamique, les membranes et les fluides utilisés dans cette étude, ainsi que les méthodes d'analyse et les protocoles opératoires.

Le troisième chapitre décrit les résultats de la première étape du procédé en cascade : la séparation des micelles de caséines par microfiltration. Nous avons utilisé le module Multi Shaft Disk (MSD), conçu par Westfalia Separator (Allemagne). Ce module avait été déjà utilisé pour la microfiltration des solutions modèles de suspensions minérales, mais est pour la première fois testé sur des fluides biologiques. Les performances obtenues avec le module MSD ont été comparées avec le prototype à disque rotatif, conçu par l'équipe d'Organes Artificiels et Procédés Membranaires de l'UMR 6600 de l'Université de Technologie de Compiègne. Une comparaison a été aussi faite avec les résultats reportés dans la littérature en filtration tangentielle.

Le quatrième chapitre est consacré aux résultats de la deuxième partie du procédé en cascade : la séparation d' α -Lactalbumine et de β -Lactoglobuline par ultrafiltration. Le prototype à disque rotatif a été utilisé et une comparaison entre les performances de ce système dynamique avec la filtration tangentielle a été effectuée.

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Ce chapitre se compose de quatre parties distinctes. En premier lieu, nous présentons les différents modèles de polarisation de concentration et de colmatage généralement utilisés lors de la filtration membranaire, puis nous introduirons les techniques permettant de limiter le colmatage des membranes, en portant une attention particulière sur les modules de filtration dynamique existants. Nous exposerons ensuite les différentes propriétés du lait et de ses protéines, et pour finir nous montrerons les applications de la filtration membranaire dans le domaine laitier, en particulier pour le fractionnement des protéines.

I.1. Modèles de Polarisation de Concentration et Colmatage

Divers modèles mathématiques sont disponibles dans la bibliographie pour décrire les mécanismes de transport à travers des membranes. Nous aborderons ici les plus utilisés en filtration membranaire tangentielle.

I.1.1. Modèle de Transfert de Matière (Théorie du Film)

Ce modèle est un des plus simples et le plus largement utilisé pour modéliser le flux lors qu'il devient indépendant de la pression. Quand une solution est filtrée, le soluté est amené à la surface de la membrane par transport convectif et le flux massique, J_s , (Figure I.1) est :

$$J_s = JC \quad (I.1)$$

où J est le flux de perméat ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$) et C est la concentration du soluté ($g \cdot L^{-1}$). La différence de concentration entre celle régnant dans la couche limite et celle de la veine fluide engendre, par effets diffusionnels, un flux de soluté rétrodiffusif vers la veine fluide. Si nous ne tenons pas compte de la différence de concentration axiale, le flux rétrodiffusif sera donné par :

$$J_{rs} = D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (I.2)$$

où D est le coefficient de diffusion et $\partial C / \partial x$ est le gradient de concentration dans la couche limite. En régime stationnaire, ces flux s'équilibrent, et les équations (I.1) et (I.2) peuvent être combinées (*Cheryan, 1986*), le flux net de soluté vers la membrane est donc donné par :

$$J_{net} = J_s - J_{rs} = JC - D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (I.3)$$

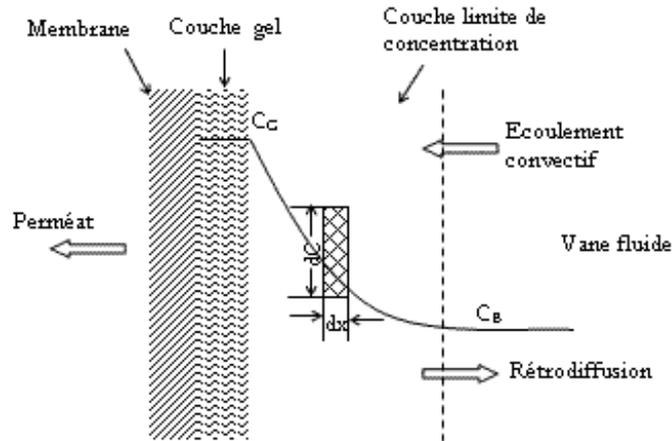


Figure I.1. Schéma de la polarisation de concentration pendant l'ultrafiltration de solutés colloïdaux et macromoléculaires, montrant la formation de la couche de polarisation et la couche limite de concentration associée.

Si $J_{\text{net}} = 0$, l'intégration de l'équation I.3 dans la couche limite donne (Cheryan, 1986) :

$$J = \frac{D}{\delta} \ln \frac{C_G}{C} = k_t \ln \frac{C_G}{C} \quad (\text{I.4})$$

où $k_t = D/\delta$ est le coefficient de transfert de matière, avec les mêmes unités que le flux J , δ est l'épaisseur de la couche limite de concentration et C_G est la concentration « gel » sur la surface de la membrane.

On remarque bien que dans ce modèle, le flux est indépendant de la pression.

Dans l'équation I.4, si k_t est constant, la valeur de flux limite dépend de C_B et la courbe $J_{\text{lim}} = f(\ln C)$ est une droite dont la pente est égale au coefficient de transfert de masse à travers la membrane. L'abscisse du point obtenu par extrapolation au flux nul correspond à C_G . Les valeurs extrapolées de C_G n'ont pas toujours de signification physique (Wijmans et al., 1984) et peuvent dépendre de la géométrie du module et des conditions opératoires, ce qui n'est pas prévu par le modèle.

Les valeurs du coefficient de transfert de masse k , qui dépendent du régime d'écoulement, peuvent être exprimées en fonction des paramètres physicochimiques de la solution (viscosité dynamique, coefficient de diffusion, etc.) et des paramètres hydrodynamiques du système (taux de cisaillement, vitesse de circulation tangentielle, etc.) et donc, par analogie aux transferts de chaleur, on peut obtenir une loi du type (Porter, 1972; Cheryan, 1986) :

$$k_t = \varphi \cdot D \cdot \text{Re}^a \text{Sc}^b \quad (\text{I.5})$$

où φ est un coefficient qui dépend des paramètres géométriques, Re le nombre de Reynolds, Sc le nombre de Schmidt et D , le coefficient de diffusion.

De cette façon, il a été montré que le coefficient k_f est d'autant plus élevé que le nombre de Reynolds est grand. L'augmentation de la vitesse tangentielle de circulation aura donc pour effet, en limitant l'accumulation de soluté dans la couche limite, d'améliorer le flux de perméat. Par ailleurs, lorsque la nature du produit à traiter et la tenue des membranes le permettent, l'augmentation de la température, en réduisant la viscosité du fluide et en augmentant la diffusion, a également un effet favorable.

I.1.2. Modèle de résistances en série.

Aucun des deux modèles discutés précédemment ne décrit le comportement du flux avec la pression observé pendant un processus de filtration typique (régime limité par la pression, puis par le transfert de masse). Cependant, par analogie avec le transfert de chaleur, une méthode faisant intervenir des « résistances en séries » peut être utilisée. Pour une membrane et une solution idéale (eau pure), le flux de perméat, J , est donné par :

$$J = \frac{PTM}{\mu_p R_m} \quad (I.6)$$

où J est le flux de perméat ($L.h^{-1}.m^{-2}$), R_m est la résistance à la filtration de la membrane déterminée à partir de la perméabilité de la membrane à l'eau pure (m^{-1}), PTM la pression transmembranaire (Pa) et μ_p la viscosité dynamique du perméat (Pa.s).

Dans une opération avec une solution réelle, la résistance de la membrane ne sera seulement qu'une petite partie de la résistance totale puisque une résistance due à la couche de polarisation et au colmatage sera également présente (*Cheryan, 1986*).

Au cours de la filtration, la présence de solutés, rejetés par la membrane et demeurant à sa surface, génère un colmatage responsable de la chute du flux. Ce colmatage se traduit par l'ajout d'une résistance R_T (résistance due au colmatage) dans l'équation I.7 :

$$J = \frac{PTM}{\mu(R_m + R_T)} \quad (I.7)$$

Cette composante R_T peut se décomposer en deux termes : un terme dû au colmatage irréversible (R_{CI}) et un second dû au colmatage réversible dû à la polarisation de concentration (R_{CP}). R_{CI} s'obtient aisément après l'essai de filtration par la mesure de la perméabilité hydraulique finale après le rinçage à l'eau de la membrane (équation I.8). Par différence, nous pourrions ainsi retrouver R_{CP} .

$$Lp_f = \frac{1}{\mu_p (R_m + R_{CI})} \quad (I.8)$$

où Lp_f est la perméabilité hydraulique de la membrane ($L.h^{-1}.m^{-2}.Pa^{-1}$) déterminé par un flux à l'eau après l'essai et rinçage de la membrane, et μ_p la viscosité dynamique du perméat (Pa.s).

I.1.3. Modèle de la pression osmotique.

Lors qu'un soluté de petite taille est rejeté par la membrane, il crée une différence de la pression osmotique, $\Delta\pi$, à la surface de la membrane qui diminue la pression motrice et l'équation I.7 est remplacée par (Cheryan, 1986; Clifton et al., 1984) :

$$J = \frac{PTM - \Delta\pi}{\mu(R_m + R_r)} \quad I.9$$

I.2. Méthodes de limitation du colmatage pour augmenter les performances de la membrane.

Le colmatage est le facteur limitant dans toutes les applications de filtration membranaire. De manière générale, il se manifeste par une diminution du flux au cours du temps bien que tous les paramètres, comme la pression, la température, et la concentration dans l'alimentation, soient maintenus constants (Cheryan, 1986).

La diminution du flux en filtration membranaire est le résultat de l'augmentation de la résistance de la membrane à cause de la formation de nouvelles résistances. Le blocage de pores augmente la résistance à la filtration, pendant que la formation de la couche limite de concentration crée une résistance additionnelle au flux de perméat. C'est pour cela que le blocage de pores et la formation de la couche de polarisation de concentration sont considérés comme deux mécanismes de colmatage. D'autres facteurs, comme par exemple l'adsorption en surface, le dépôt de particules dans les pores de la membrane, affectent le colmatage de la membrane (Wakeman & Williams, 2002).

Il existe deux types de colmatages possibles dans les procédés membranaires :

a) Le colmatage réversible : il est essentiellement dû au dépôt de matière et au phénomène de polarisation de concentration. Les solutés présents dans la solution à filtrer sont entraînés sous l'action de la force motrice de pression au voisinage de la membrane où se développe un gradient de concentration. Le colmatage réversible se produit très rapidement (en quelques secondes) et peut être évité ou supprimé avec une bonne sélection des conditions opératoires, comme une vitesse élevée d'alimentation, du backpulsing (méthode pour retirer les particules qui ont été accumulées dans les pores et sur la surface d'une membrane par inversion de la pression transmembranaire pendant une fraction de seconde) ou l'augmentation du taux de cisaillement (Brans et al., 2004). L'accumulation des cellules, de débris de cellules et (ou) d'autres particules rejetés sur la surface de la membrane produisent la polarisation de concentration et elle est normalement réversible (Wakeman & Williams, 2002).

b) Le colmatage irréversible : il résulte de phénomènes de natures diverses modifiant les propriétés filtrantes de la membrane, comme par exemple : le dépôt et l'adsorption des particules dans les pores de la membrane (*Wakeman & Williams, 2002*). Le colmatage irréversible cause une lente diminution de flux au cours du temps à conditions opératoires constantes (sur quelques heures) et ne peut être supprimé qu'à l'arrêt du processus par un nettoyage chimique. Si le colmatage irréversible se présente, la performance de la membrane diminue et déterminera aussi sa vie utile (*Brans et al., 2004*).

La quantité de dépôt sur la membrane doit être minimisée, car le flux et la sélectivité de la séparation en sont affectés. Plusieurs études ont été effectuées afin de limiter le colmatage de la membrane. Par la suite, nous exposons les différentes méthodes de limitation de colmatage.

I.2.1. Prétraitement de la solution d'alimentation.

Les effets du colmatage peuvent être réduits par un prétraitement du fluide d'alimentation. Ces prétraitements peuvent consister en des procédés physico-chimiques.

Les prétraitements physiques normalement incluent la pré-filtration ou la centrifugation afin de retirer les matières en suspension qui pourraient obturer le module ou la membrane (*Wakeman & Williams, 2002*).

Les procédés chimiques comprennent l'ajustement du pH de la solution d'alimentation afin que les molécules colmatantes ou colloïdales soient loin du point isoélectrique, de sorte que la tendance à former une couche colmatante soit réduite. Parmi les procédés chimiques, figurent la précipitation, la coagulation ou bien la floculation (*Mietton & Ben Aim, 1992*).

I.2.2. Choix des matériaux membranaires.

Le matériau membranaire a une influence importante sur le colmatage en ultra et nanofiltration, à cause de la tendance qu'ont certains matériaux à adsorber des molécules plus rapidement que d'autres.

Bien que la membrane affecte l'adsorption et la formation du dépôt au début de la filtration, une fois que la couche limite de concentration est formée, tout effet de la membrane est annulé jusqu'au nettoyage.

Le choix adéquat d'un matériau de membrane peut permettre de diminuer les interactions entre les solutés et la surface membranaire (*Wakeman & Williams, 2002*).

I.2.3. Création d'instabilités.

La polarisation de concentration et la formation de la couche limite de concentration peuvent être contrôlées par l'augmentation du cisaillement à la surface de la membrane ou bien par l'utilisation de promoteurs de turbulence (*Wakeman & Williams, 2002*). Des obstacles, des promoteurs de turbulence, et des inserts sont utilisés pour créer des instabilités, comme les

tourbillons de Dean ou les micro turbulences. Un possible désavantage de ces systèmes est le problème de nettoyage, car des zones mortes sont ainsi générées (*Brans et al., 2004*). L'augmentation du cisaillement est obtenue, dans les modules commercialement disponibles, avec un haut débit d'alimentation ou bien avec l'utilisation des canaux d'écoulement minces sous la surface de la membrane (*Wakeman & Williams, 2002*).

Nous détaillons ci-dessous les principales méthodes pour produire des instabilités.

I.2.3.1. Promoteurs de turbulence.

La Figure I.2 montre le schéma d'une membrane tubulaire où un filetage hélicoïdal concentrique a été inséré. L'insert permet un débit de fluide substantiel dans l'espace annulaire. Le filetage en forme semi-circulaire pour permettre qu'environ la moitié du flux passe au long la trajectoire hélicoïdal. Des tourbillons de Dean sont superposés sur l'écoulement en hélice ; cela cause un mélange radial dans le flux. Ce système a été breveté par Bellhouse en 1994.

Bien que les inserts dans le canal d'alimentation augmentent la vitesse d'alimentation et aussi le cisaillement, ils produisent des écoulements secondaires ou instabilités. Malgré des flux entre 50 à 300% plus élevés que dans la filtration conventionnelle, l'utilisation de ces inserts n'est pas très communément utilisée dans l'industrie (*Wakeman & Williams, 2002*). Cependant, ils ont été utilisés lors de prétraitement d'eau par microfiltration destinée aux procédés de dessalement d'eau de mer (*Abmad & Mariadas, 2004*) ou lors de traitement d'eau par bioréacteur à membrane (*Xu et al., 2003*) et pour la microfiltration de lait écrémé (*Krstic et al., 2002; 2004*)

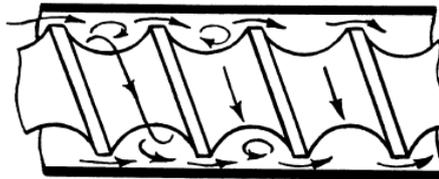


Figure I.2. Vis génératrice de vortex dans une membrane tubulaire (*Bellhouse, 1994*).

I.2.3.2. Backflushing et backpulsing.

Le backpulsing et le backflushing sont efficaces pour supprimer le colmatage de la surface des membranes. Dans ces procédures, le perméat est forcé par une contre-pression à retourner vers le rétentat afin de retirer les solutés accumulés dans les pores de la membrane ou sur la surface de la membrane. Les dépôts sur la membrane sont soulevés et évacués par l'écoulement. On peut aussi injecter de l'air ou de l'eau pour provoquer cette retrofiltration (*Salladini et al., 2007*). La différence fondamentale entre le backpulsing et le backflushing est la force et la durée des retrofiltrations pour retirer les dépôts accumulés sur la membrane. En général dans le backflushing, l'écoulement inverse a lieu pendant quelques secondes à des intervalles de plusieurs

minutes, tandis que le backpulsing a lieu à fréquences élevés et le pulsations sont appliquées sur un temps très court (< 1 s) (*Ning Kob et al., 2008*). L'efficacité des pulses dépend de leurs fréquences, de leur durée et du profil de pression. Elle est bien évidemment, très dépendante de la composition du fluide considéré (*Brans et al., 2004*).

I.2.3.3. Ecoulements pulsés.

Cette technique consiste à superposer, avec un piston, des pulsations de débit et de pressions au débit de la pompe alimentant le module de filtration, à l'intérieur de membranes tubulaires. Les pulsations de débit perturbent la formation de la couche de polarisation à la membrane, tandis que les pulsations de pression créent un effet de backpulse.

Les oscillations et les écoulements instables peuvent être obtenus par l'introduction des pulsations dans l'alimentation ou dans le perméat (*Wakeman & Williams, 2002*).

Cette technique a été étudiée dans diverses applications de microfiltration comme par exemple : dans la clarification de vins rouges (*Jaffrin et al., 1994*) et de bière (*Gan et al., 1997; Gan, 2001*) et dans la microfiltration de levures (*Howell et al., 1993*).

Les écoulements avec pulsations sont difficiles à extrapoler à l'échelle industrielle, car il faut des pistons de grand volume, sinon les ondes de pression sont absorbées et deviennent moins effectives avec la distance (*Brans et al., 2004*).

I.2.4. Champs électriques.

Les champs électriques pulsés ou constants ont été utilisés pour améliorer la filtration membranaire. Cette technique est efficace pour diminuer la formation de la couche de gel et pour augmenter le flux de filtration (*Yukawa et al., 1983*). L'application d'un champ électrique sur la surface de la membrane peut potentiellement soulever les particules de la surface de la membrane et permet que le flux d'alimentation les évacue. En même temps, l'électro-osmose peut permettre d'augmenter le flux à travers de la membrane. L'électrophorèse et l'électro-osmose sont souvent un résultat de l'application de champs électriques. L'électrophorèse est basée sur un mouvement des particules ou d'espèces chargées (comme les protéines), par exemple : la migration des particules à travers un fluide relativement stationnaire. Pour sa part, l'électro-osmose a un rapport avec le mouvement du fluide, comme par exemple la permeation d'un fluide à travers un milieu poreux (membrane) (*Jagannadh & Muralidhara, 1996*).

Les champs électriques ont été appliqués dans la filtration des solutions de protéines (*Yukawa et al., 1983; Mameri et al., 2001*), l'ultrafiltration de jus de fruits (*Sarkar et al., 2008*), la séparation des microorganismes des protéines par microfiltration (*Chuang et al., 2008*) et l'ultrafiltration pour la production d'enzymes (*Enevoldsen et al., 2007*).

Il est important de rappeler que, dans le cas de la filtration du lait, les réactions chimiques des électrodes peuvent conduire à une contamination, par des ions métalliques et/ou composants oxydés. La charge électrique des protéines peut être influencée par le pH, et bien que l'ajustement du pH du lait ne soit pas conseillé, cette méthode pourrait être utilisée dans la purification des protéines de sérum à partir de lactosérum (*Brans et al., 2004*).

I.2.5. Ultrasons.

L'utilisation des ultrasons en micro et ultrafiltration a été introduite par *Pirkonen (2001)*.

Le passage des ultrasons à travers une suspension peut causer divers phénomènes, incluant la dispersion de particules, la réduction de la viscosité, changements dans les propriétés de surface de la particule et des cavitations. Bien que cette dispersion, qui pourrait potentiellement augmenter le colmatage, du fait de la formation de dépôts qui augmentent la résistance du colmatage, il est généralement observé que la combinaison de cavitations et du mouvement relatif entre les phases solides et liquides conjointement avec l'action du flux tangentiel est responsable de l'amélioration de la filtration (*Wakeman & Williams, 2002*).

Les ultrasons ont été utilisés dans le traitement des effluents (*Sawyer et al., 1998; Shu et al., 2007; Dewil et al., 2006*) et dans l'ultrafiltration de lactosérum (*Muthukumaran et al., 2005*).

Cependant, ces ondes ultrasonores ne sont pas favorables au lait, car les cavitations (onde de choc de par la formation de bulle de vapeur) pourraient causer la dénaturation des protéines (*Brans et al., 2004*) et avoir des conséquences sur la membrane.

I.2.6. Filtration dynamique

La filtration dynamique est également une solution efficace pour augmenter les flux de perméat. Elle consiste à créer un mouvement relatif entre la membrane et le carter afin de produire des taux de cisaillement élevés (*Bouzerar et al., 2000b*).

Le cisaillement peut être créé de différentes manières soit par des membranes tournantes, cylindres ou disques, soit par rotors ou disques tournants (*Wakeman & Williams, 2002*).

L'avantage principal de la filtration dynamique par rapport à la filtration tangentielle est qu'elle permet de travailler à faible pression transmembranaire et taux de cisaillements élevés, une combinaison que limite la croissance et la compression de la couche de gel (*Bouzerar et al., 2000b*).

Dans la suite, nous exposons brièvement les différents modules de filtration dynamique existants. Dans le chapitre II « Matériels et Méthodes », nous décrivons plus en détail les fonctionnements du VSEP, du module à disque rotatif et du système MSD, qui ont été utilisés dans le cadre de cette étude.

I.2.6.1. Systèmes à membrane vibrante

I.2.6.1.1. VSEP (Vibratory Shear Enhanced Processing)

Conçu par la société New Logic (Emeryville, Californie, Etats-Unis) en 1992, ce module consiste en un carter oscillant autour d'un arbre de torsion qui lui transmet une amplitude d'oscillation maximum d'environ 3 cm (Figure I.3). Le VSEP génère donc un mouvement relatif du fluide au niveau de la surface membranaire qui crée un cisaillement très élevé limitant la formation d'un gâteau ou de la polarisation de concentration. Le module industriel peut travailler jusqu'à des pressions d'environ 70 bar et des températures de 80°C.

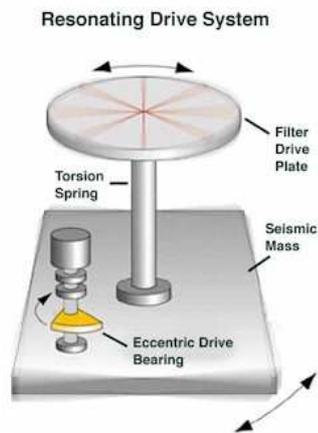


Figure I.3. Principe de fonctionnement du VSEP.

Le carter de filtration peut, selon le modèle, contenir une ou plusieurs membranes (Figure I.4). Ainsi, la série L (module de laboratoire) contient une unique membrane de 500 cm², ce type de module est utilisé en première approche sur des problèmes de séparation pour des études paramétriques. Le pilote industriel (série LP) permet d'atteindre des surfaces de 1,5 m² à 20 m² et donc d'aborder une échelle préindustrielle et d'extrapoler les résultats obtenus sur le module de laboratoire. La série i (module industriel) est disponible en trois versions : i15 (14 à 20 m²), i36 (40 à 55 m²), et i84 (100 à 140 m²). Chaque module n'occupe qu'une faible surface au sol.

Les avantages majeurs présentés par le constructeur à propos de ce système sont des possibilités accrues, du fait de ses caractéristiques anti-colmatantes, de traitement de produits hautement chargés ou visqueux difficilement traitables par les techniques classiques, un faible coût opératoire (la puissance consommée par les vibrations, sur le plus grand module industriel est d'environ 12 kW) et une compacité importante (Frappart, 2006).

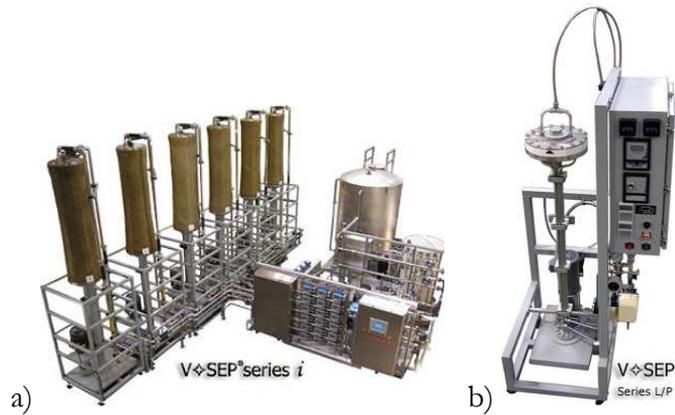


Figure I.4. VSEP a) série i84 et b) série L.

Le système vibrant a été utilisé dans plusieurs domaines comme l'élimination de composés naturels non organiques dans l'eau (*Shi & Benjamin, 2008*), dans le traitement d'effluents de décharges (*Zouboulis & Petala, 2008*).

En 2007, le VSEP a été utilisé pour première fois en Europe pour le traitement anaérobique du lisier de porc. Le système a été installé dans une grande ferme d'élevage des porcs en Belgique (*Anonyme, 2007*).

Des recherches sur le traitement de divers produits laitiers ont été réalisées au laboratoire en utilisant des membranes de MF, UF, NF et OI (*Al-Akoum et al., 2002a; Jaffrin et al., 2004; Akoum et al., 2005; Frappart et al., 2008*).

I.2.6.1.2. Système PallSep.

Pour les applications dans l'agroalimentaire, une licence d'exploitation a été cédée par New Logic à la société Pall, qui a donc développé un système similaire au VSEP. La surface filtrante du PallSep peut atteindre 40 m². Ce système a été utilisé pour la clarification de bière (*Postlethwaite et al., 2004*).

I.2.6.2. Systèmes à disque rotatif.

Plusieurs systèmes de ce type sont commercialisés :

I.2.6.2.1. Dynamic Cross Flow Filter DYNO.

Ce système est commercialisé par la société Bokela (Allemagne). Il est constitué de disques tournant en face de membranes fixes. La surface membranaire du module est variable entre 0.13 à 12 m². Les principales caractéristiques de ce système sont des PTM pouvant atteindre 6 bar, des températures admissibles jusqu'à 200°C et l'utilisation de membranes polymères, céramiques ou métalliques avec des diamètres de pores allant de 1 à 0,01 μm (*Bott et al., 2000*).

I.2.6.2.2. Cross Rotational Membrane Filtration OPTIFILTER CR.

Conçu par la société Metso Paper (Finlande), il est constitué de rotors à lames tournant au-dessus de membranes fixes dont le diamètre peut varier de 50 à 100 cm. La surface totale de ces membranes peut atteindre 104 m² selon le modèle. La vitesse de rotation permet d'obtenir des vitesses tangentielles de l'ordre de 10 à 15 m s⁻¹. Ce système est utilisée essentiellement en UF et il peut travailler jusqu'à températures de 80°C et des pressions de l'ordre de quelques bars.

I.2.6.2.3. High Shear Rotary Filter SPINTEK.

Conçu par la société Spintek (Etats-Unis), c'est un module à plusieurs étages. Les membranes sont solidaires de l'arbre de rotation et donc mobiles. Il peut recevoir soit des membranes céramiques (pores de 0,07 à 3 µm), soit des tamis en acier inoxydable (1 à 10 µm) pour des consommations de 1,5 à 18,75 kW. Plusieurs surfaces sont disponibles : 0,09 à 0,28 m² pour un module de laboratoire et 2,3 m² pour le pilote industriel.

I.2.6.2.4. Dynamic Membrane Filter DMF.

Ce système a été breveté par la Société Pall. C'est un module en inox stérilisable, le rendant adapté à la séparation et au traitement des suspensions pharmaceutiques biologiques. Les membranes étaient fixes et les disques étaient en acier inoxydable sans ailettes. Il n'est plus commercialisé à l'heure actuelle.

I.2.6.2.5. RVF™.

Ce système, conçu par la société Profiltra (France), permet l'agitation du fluide à l'intérieur du module par la rotation d'une hélice. De chaque côté de cette hélice sont disposées deux membranes stationnaires à 3 mm de distance. Des pilotes de laboratoire de 0,03 à 0,05 m² ainsi que des pilotes industriels (1 à 4 m²) ont été proposés. Ce système n'est plus commercialisé.

I.2.6.2.6. Multi Shaft Disk MSD.

Ce système a été proposé par la société Westfalia Separator (Allemagne). Il est composé à l'échelle pilote de deux arbres en rotation contenant chacun 6 membranes de filtration en céramique de 9 cm de diamètre et se chevauchant. Le module industriel contenant 8 arbres au total avec des membranes céramiques de 30 cm de diamètre, atteint 80 m² de surface membranaire. La Figure I.5 montre les deux modules. Dans le chapitre II « Matériels et Méthodes » nous aborderons plus en détail son fonctionnement.

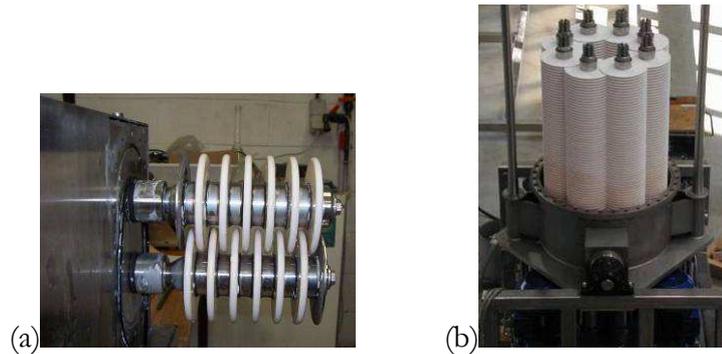


Figure I.5. Système MSD (a) échelle pilote (b) échelle industrielle.

I.2.6.2.7. ROTOSTREAM.

Ce système commercialisé par la société Buss-SMS-Canzler GmbH (Allemagne) suit le même principe que le MSD avec des membranes céramiques tournantes. Le système est composé de plusieurs arbres, situés dans un même plan. Il peut atteindre 154 m^2 et il existe également à échelle pilote pour des surfaces comprises entre $0,1$ et 1 m^2 .

I.2.6.2.8. Single Shaft Disk Filter SSDF.

Ce système est commercialisé par la société Novoflow GmbH (Allemagne). Il ne comporte que des modules à un seul arbre ayant des surfaces pouvant atteindre 10 m^2 . Les membranes utilisées sont généralement des membranes céramiques et le système est conçu pour avoir des consommations énergétiques comprises entre $0,12$ et $0,17 \text{ kW h}^{-1}$. Les modules de 10 m^2 peuvent être couplés pour augmenter la surface.

Novoflow offre 3 types différents des modules à un seul arbre :

a) Disque rotatif compact (CRD), dans ce système l'axe du moteur est creux pour évacuer le filtrat afin de minimiser la taille. Ils sont disponibles à partir d'une surface membranaire de $0,1 \text{ m}^2$ (3 disques de 152 mm de diamètre). (Figure I.6a)

b) Single Shaft Disk Filter (SSDF)-312: Ce système est compatible avec les membranes céramiques plus grandes construites par Novoflow (312 mm de diamètre). Entre 75 et 100 disques ($10-15 \text{ m}^2$ surface membranaire) sont montés dans un seul module. (Figure I.6b).

c) Single Shaft Disk Filter (SSDF)-500: Dans ce système 75 disques ou 25 m^2 de surface membranaire peuvent être montés sur un seul module (Figure I.6c) (Liebermann, 2008).

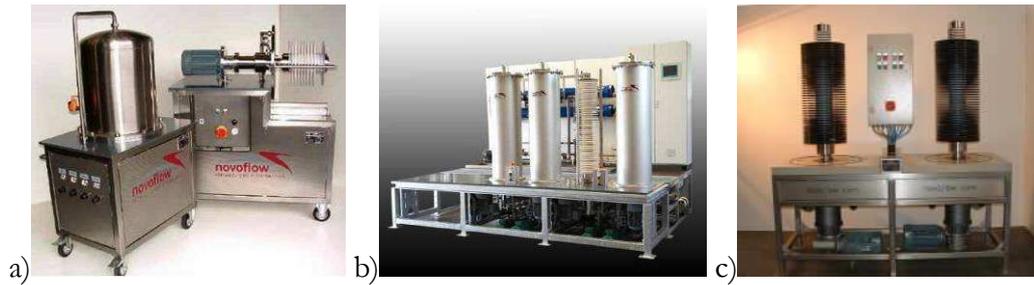


Figure I.6. Système à membranes rotatives de Novoflow a) CRD ; b) SSDF-312 et c) SSDF-500.

I.2.6.2.9. Systèmes à cylindre rotatif.

Ces systèmes se composent d'une membrane cylindrique tournant dans un second cylindre co-axial fixe, pouvant aussi recevoir une membrane. Le principe de ce système est la création de tourbillons de Taylor dans l'écoulement de Couette, qui augmentent le cisaillement.

I.2.6.2.10. Système CMS (Centrifugal Membrane Separation).

Dans ce système, la membrane est localisée à la périphérie d'un rotor centrifuge. Il s'agit d'une filtration frontale, créée par la force centrifuge. La pression transmembranaire est générée par la rotation du rotor. La solution d'alimentation entre dans le rotor centrifuge par l'axe et s'écoule vers l'extérieur jusqu'à la périphérie. Le perméat est recueilli à la périphérie, tandis que le rétentat s'écoule par l'arbre creux. La rotation du rotor modifie la circulation du fluide dans l'élément contenant la membrane du fait de l'accélération centripète et des forces de Coriolis (Bergena *et al.*, 2003). Il en résulte donc des mouvements de fluide secondaires permettant de contrarier la concentration de polarisation et ainsi de réduire le colmatage de la membrane.

La Figure I.7 montre un module de laboratoire du CMS.

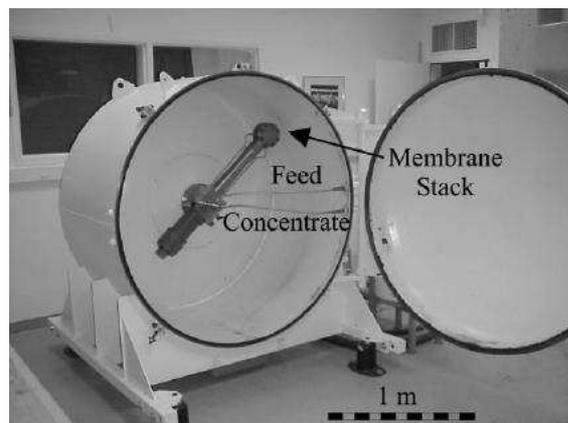


Figure I.7. Module CMS utilisée par *Pharoah et al.*, (2000).

Nous décrivons maintenant le lait auquel cette thèse est consacrée.

I.3. Le lait et ses protéines.

Le lait est constitué d'eau, de lipides, de glucides, de protéines, de sels, et d'une longue liste de constituants divers (*Jennes, 1999*).

D'un point de vue physicochimique, le lait est un fluide très complexe. Quantitativement, la majorité de la masse du lait est une solution aqueuse de lactose, sels organiques et inorganiques, vitamines et autres petites molécules. Dans cette solution aqueuse, on trouve également des protéines dispersées de deux types : des protéines (du lactosérum) solubles et des agrégats colloïdaux (micelles de caséines), de diamètre compris entre 50 à 600 nm. Les lipides (dont les globules ont un diamètre compris entre 0,1 et 20 μm) existent dans un état émulsifié dans cette solution aqueuse (*Fox & McSweeney, 1998*).

La composition typique du lait est décrite dans le Tableau I.1.

Le lait et ses sous-produits sont des composants importants de l'alimentation humaine. Ils pourvoient environ 30% des protéines et lipides alimentaires et environ 80% du calcium nécessaire dans l'alimentation (*Fox, 2003*).

L'industrie laitière a une grande importance dans l'Union Européenne (UE) car le lait est produit dans tous les pays membres de l'UE sans exception. Le lait est le premier secteur productif en terme de valeur, représentant environ 14% de la production agricole. En 2004, la production de lait a rapporté environ 43 milliards d'euros aux producteurs. Le chiffre d'affaire du secteur de l'industrie laitière est de 117 milliards d'euros. L'industrie laitière dans l'UE est célèbre pour la qualité de ses produits laitiers, et pas seulement pour ses fameux fromages mais aussi pour sa grande variété de yaourts, crèmes, glaces, et d'autres produits à forte valeur ajoutée. L'UE est un acteur important dans le marché mondial et l'exportateur numéro un de plusieurs produits laitiers.

Tableau I.1. Composition moyenne du lait bovin : concentration et distribution de taille.

(Source : *Walstra et al., 1999 cité par Brans et al., (2004)*). 1 kDa = 1 kg mol⁻¹

	CONCENTRATION DANS LE LAIT ENTIER (%)	DISTRIBUTION DE TAILLE (OU POIDS MOLECULAIRES)
Eau	87,1	
Matière grasse	4,0	0,1-1,5µm, moyen 3,4 µm
Caséine (en micelles)	2,6	20-300 nm, moyen 110 nm
Protéines du lactosérum	0,7	3-6 nm
α-Lactalbumine	0,12	14 kDa
β-Lactoglobuline	0,32	18 kDa (monomère)
BSA	0,04	66 kDa
Proteose-peptone	0,08	4-40 kDa
Immunoglobulines	0,08	150-900 kDa
Lactoferrine	0,01	86 kDa
Transferrine	0,01	76 kDa
Autres	0,04	
Lactose	4,6	0,35 kDa
Substances minérales	0,7	
Acides organiques	0,17	
Autres	0,15	

Les applications des produits laitiers se développent constamment. La recherche et l'innovation apportent de nouvelles technologies, des formulations pour de nouveaux aliments, l'amélioration de la composition des « aliments fonctionnels » (*EC, 2006*). La Figure I.8 montre le pourcentage de lait utilisé dans les différentes catégories de produits laitiers dans l'UE.

Les diverses utilisations du lait comme matière première découlent des propriétés chimiques et physicochimiques de ses composants. Les composants principaux du lait peuvent être modifiés par des méthodes enzymatiques, chimiques et (ou) physiques, ce qui permet la production des nouveaux produits.

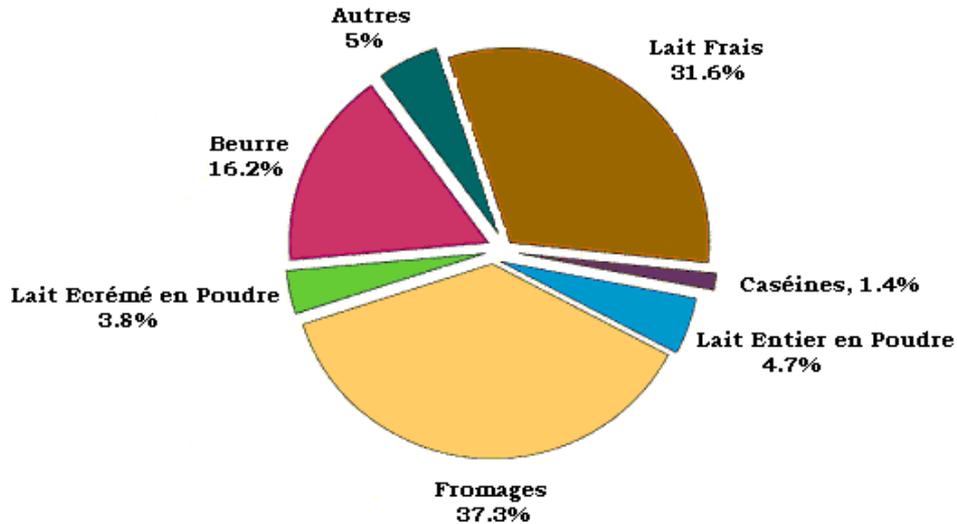


Figure I.8. Répartition en pourcentage des produits laitiers utilisés dans l'UE (prévision 2006). Source : European Commission (2006). Ces pourcentages sont basés sur la masse totale de protéines et de lipides.

L'industrialisation et la fonctionnalisation du lait et de ses sous-produits sont déterminées par les propriétés et les concentrations de ses composants principaux : protéines, lipides, lactose et sels (Fox, 2003).

Les propriétés fonctionnelles des protéines dans les aliments sont liées à leurs caractéristiques structurales et physicochimiques. Une compréhension fondamentale des propriétés physiques, chimiques et fonctionnelles des protéines et des changements que les protéines endurent pendant leur traitement est essentielle si le rôle des protéines dans les aliments veut être amélioré et/ou si l'on souhaite accroître l'utilisation, dans les produits alimentaires traditionnels, de celles qui ne sont que très peu utilisées, à l'heure actuelle, comme les protéines de lactosérum ou celles des plantes (d'origine végétale).

La stabilité des protéines est très importante dans la détermination de leur fonctionnalité dans les aliments. En effet, une propriété fonctionnelle particulière est souvent gouvernée par une conformation spécifique et la moindre altération de cet état affecte sa fonctionnalité. La connaissance de l'état de dénaturation des protéines est une condition nécessaire pour exprimer leur propriété fonctionnelle. Les changements de conformation des protéines, entraînés par la dénaturation affectent la qualité fonctionnelle et nutritionnelle des aliments lors de ce traitement. Il est donc important que l'interrelation entre la dénaturation des protéines et leur fonctionnalité soit établie (Damodaran & Paraf, 1997).

I.3.1. Propriétés fonctionnelles des protéines du lait.

I.3.1.1. Caséines.

Les caséines sont très bien adaptées à la nourriture des nouveaux nés. Leurs structures moléculaires ne leur confèrent pas d'activité enzymatique (*Damodaran & Paraf, 1997*). Elles constituent aussi la matière première des fromages.

Environ 95% des caséines dans le lait existent sous forme colloïdale, appelés micelles. En base sèche, les micelles de caséines contiennent 94% de protéines, et 6% d'espèces de faible poids moléculaire, et qui consistent en calcium, magnésium, phosphate et citrate. Les micelles sont hautement hydratées, elles contiennent environ 2,0 g d'H₂O par g de protéine.

La microscopie électronique montre que les micelles de caséines ont une forme généralement sphérique, avec des diamètres entre 50 à 500 nm (la moyenne étant de 200 nm) et des masses comprises entre 10⁶ à 10⁹ Da (avec une moyenne de 10⁸ Da). Il y a de 10¹⁴ à 10¹⁶ micelles par ml du lait.

Ces micelles sont très stables à haute température, elles ne coagulent qu'après un chauffage à 140°C pendant 15 à 20 min au pH normal du lait. De telles coagulations sont dues aux changements principaux qui se présentent quand le lait est exposé à un tel traitement thermique (diminution du pH à cause de la pyrolyse du lactose en divers acides, déphosphorylation de la caséine, clivage de la κ -caséine, dénaturation des protéines du lactosérum, etc). Les caséines sont stables à la compaction, c'est-à-dire qu'elles peuvent sédimenter par ultracentrifugation mais sont rapidement dispersées par agitation. Elles sont stables à l'homogénéisation industrielle, mais elles changent légèrement aux pressions très hautes (500 MPa). Elles sont stables à hautes concentrations de Ca²⁺, jusqu'à 200 mM à une température de 50°C. Par contre, les caséines s'agrègent et précipitent quand le pH est ajusté à son point isoélectrique (pH 4,6 à 20°C). La précipitation à cette valeur de pH est dépendante de la température. Elle n'intervient pas à des températures inférieures à 5-8°C et se présente sur une large gamme de pH, comprise entre 3,0 et 5,5, à hautes températures (environ 70°C). Les micelles sont déstabilisées par l'action de l'éthanol (40%) à pH 6,7 et à concentration plus faible si le pH est réduit. Elles peuvent l'être également par congélation (cryodéstabilisation) à cause d'une diminution de pH et à une augmentation de la concentration de calcium dans la phase non-congelée du lait (*Fox & McSweeney, 1998*).

I.3.1.1.1. Propriétés émulsifiantes.

Parmi les protéines alimentaires, les caséines solubles sont particulièrement distinguées pour leurs excellentes propriétés émulsifiantes. Toutes les caséines, excepté peut être la κ -caséine, montrant une forte tendance à s'adsorber aux interfaces air/eau et huile/eau, et sont ainsi

utilisées dans la fabrication d'émulsions stables pour les sauces et crèmes pour café, mais également dans des produits tels que les crèmes de liqueur et produits pour enfants, où la stabilisation à long terme est essentielle.

Les propriétés émulsifiantes des caséines proviennent de la structure même de la protéine : celle-ci est amphipathique (avec un coté hydrophobe et un coté hydrophile), jugées dans la base de sa structure primaire. Elles possèdent une large région hydrophobe permettant de lier rapidement des structures hydrophobiques, comme les interfaces huile/eau (*Damodaran & Paraf, 1997*). Sa propriété amphipathique est due à ce que les caséines n'ont pas une structure secondaire ni tertiaire bien définie (*Fox & McSweeney, 1998*).

I.3.1.1.2. Propriétés moussantes.

Par rapport aux autres protéines du lait (comme celles de lactosérum), l'utilisation des caséines assurent aux mousses une stabilité moindre. En effet, les caséines s'adsorbent bien dans les interfaces air-eau, mais quand elles réagissent entre elles, les caséines ne forment pas de fortes couches lamellaires entre les bulles, caractéristique principale d'une mousse stable. De grands volumes de mousses peuvent être formés, mais leur stabilité demeure trop faible, et collapse à court terme. Ce phénomène est dû aux propriétés hydrophobes/hydrophiles des caséines. Comme nous l'avons évoqué pour les émulsions, les caséines s'adsorbent fortement sur une interface air/eau quand grâce à leurs fractions hydrophylques saillantes dans la solution générant des interactions telles que la stabilité interfaciale s'en trouve affaiblie. C'est la raison pour laquelle les caséines ne sont pas utilisées comme agents formateurs de mousses (*Damodaran & Paraf, 1997*).

I.3.1.1.3. Coagulation de caséines et micelles de caséines.

Les micelles de caséines, peuvent être coagulées, précipitées ou former un gel par l'action d'acide (précipitation isoélectrique), d'éthanol, ou d'enzymes protéolytiques. La coagulation et gélification sont la base de la formation d'une grande variété de produits, comme les fromages, yaourts et fromage blanc. Par contre les caséines ne forment pas de gels forts par la simple action de chaleur, comme peuvent le faire les protéines du lactosérum, et c'est pour cela qu'elles sont essentiellement utilisées pour modifier la viscosité du lait de ses structures étendues et de leur capacité de rétention d'eau, plutôt que comme agents gélifiants (*Damodaran & Paraf, 1997*).

I.3.1.2. Protéines du lactosérum.

Le lactosérum qui est un sous-produit de l'industrie fromagère est utilisé dans l'alimentation animale et comme source des protéines pour la nutrition humaine. On peut distinguer deux types de lactosérum :

a) le lactosérum doux, qui provient de la coagulation du lait à pH 6,6 (comme par exemple, lors de la fabrication du fromage cheddar ou emmental)

b) le lactosérum acide qui s'obtient à partir de la production de fromage à pâte molle (par exemple, fromage en crème, Camembert, ou petit Suisse), après la coagulation acide du lait, et, dans le cas du fromage blanc (Cottage cheese), avec le chauffage du caillé.

Le lactosérum contient diverses protéines ayant, par conséquent, plusieurs propriétés fonctionnelles, et donc de multiples utilisations possibles. Les protéines principales de ce lactosérum sont la β -Lactoglobuline et l' α -Lactalbumine. Elles représentent environ 70% du total des protéines du lactosérum et sont responsables de l'hydratation, gélification, et propriétés de surface active (propriétés émulsifiantes et de formation de mousse) des ingrédients à base de protéines du lactosérum. Ces protéines sont utilisées également pour leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques dans les régimes à basses calories et dans la nutrition entérale en soins intensifs (Damodaran & Paraf, 1997).

I.3.1.2.1. β -Lactoglobuline (β -Lg)

La β -Lactoglobuline (β -Lg) représente environ 57% des protéines du lactosérum. Sa structure primaire consiste en 162 aminoacides et son poids moléculaire est d'environ 18,3 kDa. Parmi sept variantes génétiques, les variantes A et B sont les plus abondantes, elles se différencient l'une de l'autre par deux résidus d'aminoacides. Les analyses cristallographiques ont montré que la β -Lg existe sous forme globulaire, avec groupes hydrophobiques et sulfure (SH) stabilisants situés à l'intérieur.

La conformation et la polymérisation de la β -Lg sont sensibles au pH et la température. Dans une gamme de pH entre 5,1 et 7,5, la molécule existe comme un dimère d'environ 36,7 kDa. En condition acide, spécialement au-dessous d'un pH de 3,0, les dimères se dissocient en monomères à cause des forces élevées de répulsion électrostatique, mais l'association n'est pas accompagnée par des changements dans la forme moléculaire ou dans la conformation des monomères. La dissociation se présente aussi en condition alcaline (pH >8,0). La molécule souffre de changements de conformation réversibles, elle expose ses groupes carboxyles et thiol, lesquels deviennent plus réactifs. Dans la gamme de pH entre 3,5-5,2, les dimères tétramérisent et forment de octamères d'environ 147 kDa. La β -Lg présente des réactions de dénaturation dépendantes du temps et de la température, ce qui mène à une expansion moléculaire générale des groupes SH internes, des groupes hydrophobiques et epsilon amine (ϵ -NH₂) (Pérez-Gago & Krochta, 2002).

La β -Lg a d'excellentes propriétés gélifiantes avec la température et des propriétés moussantes et demeure une bonne alternative, qui plus est bon marché, à l'albumine d'œuf dans

certaines applications alimentaires. Elle est hautement soluble dans une grande gamme de pH, et particulièrement à pH faible (97% à pH 3.0) (*Smithers et al., 1996*). Des fractions enrichies en β -Lg ont été utilisées dans la fabrication de produits à base de viande et poisson, aliments formulés, boissons fortifiées avec protéines ou comme remplaçant du blanc d'œuf (*Huffman & Harper, 1999*).

I.3.1.2.2. α -Lactalbumine (α -La)

L' α -Lactalbumine (α -La) est la deuxième plus abondante protéine du lactosérum. Elle représente environ 19% de l'ensemble des protéines du lactosérum. C'est une protéine globulaire avec un poids moléculaire de 14 kDa qui comporte 123 acides aminés et quatre ponts disulfures (S-S).

À pH = 4, l' α -La connaît des changements de conformation. La molécule perd le Ca^{2+} lequel est fortement lié à hauts pH. À des pH compris entre 4 et 5, la protéine se présente sous deux formes avec différentes stabilités thermiques. À pH 6,5, et 62°C, l' α -La commence à se déplier, mais le refroidissement permet un retour à la configuration initiale. Par contre, cette réversibilité se perd si les ponts disulfures initiaux sont détruits (*Pérez-Gago & Krochta, 2002*).

La fonction biologique de l' α -La est de supporter la biosynthèse du lactose, laquelle est une source d'énergie importante pour les nouveaux-nés. À pH $\leq 4,0$, l' α -La se dépie et elle peut être digérée par la pepsine de l'estomac (*de Wit, 1998*).

L'intérêt commercial principal dans la production de protéines de lactosérum enrichies en α -La provient du fait que cette protéine est la protéine principalement présente dans le lait maternel (*Huffman & Harper, 1999*). La valeur nutritionnelle de l' α -La bovine est très haute, 63% d'acides aminés présents sont essentiels, l'ajouter aux formules pour enfants serait un avantage certain dans l'apport nutritionnel. De plus, la composition protéique des formules ainsi modifiées deviendrait proche du lait humain. Une bonne formulation en α -La avec d'autres ingrédients réduirait également la concentration en β -Lg allergénique (*Chatterton et al., 1998*).

I.3.1.2.3. Sérum d'Albumine Bovine.

Le sérum d'albumine bovine (BSA) est une longue protéine globulaire avec 582 résidus d'acides aminés et un poids moléculaire de 66 kDa. Cette protéine est identique à l'albumine du sang. Elle représente environ 7% des protéines du lactosérum. La BSA contient 17 ponts disulfures et un groupe thiol libre, ce qui la rend très structurée. Elle peut lier différents ligands comme les acides gras libres, d'autres lipides, et arômes (molécules volatiles), lesquels la stabilisent contre la dénaturation thermique (*Pérez-Gago & Krochta, 2002*).

Sa liaison avec des acides gras insolubles permet leur transport dans le sang. C'est également une source importante dans la production du glutathion dans le foie, un peptide qui

pourrait avoir une activité de facilitation immunitaire pour les patients atteints par le VIH (*de Wit, 1998*).

I.3.1.2.4. Immunoglobulines

Les immunoglobulines forment une famille hétérogène de glycoprotéines de 100-148 kDa ayant des propriétés d'anticorps. On pense qu'elles se dénaturent à température plus haute que la β -Lg et l' α -La. Elles sont d'autant plus sensibles à la température en présence de BSA, ce qui est probablement dû à l'interaction avec le groupe thiol libre (*Damodaran & Paraf, 1997*).

Les produits enrichis avec des immunoglobulines ont été utilisés pour favoriser les défenses immunitaires, et diverses études ont montré que l'ingestion d'immunoglobulines à partir du colostrum de bovins immunisés peut prévenir des infections par des rotavirus et par *Escherichia Coli* enterotoxinogène chez les enfants et chez les adultes (*Huffman & Harper, 1999*).

I.3.1.2.5. Lactoferrine

La lactoferrine est une métalloprotéine qui a un poids moléculaire de 80-92 kDa, elle se compose de 703 résidus d'acides aminés et 16 ponts disulfures et une mole de cation Fe^{3+} . A cause de son haut point isoélectrique, elle forme un complexe avec la BSA ou la β -Lg. Du fait de la présence du fer, elle a une haute résistance à la dénaturation thermique et possède des propriétés antibactériennes similaires à celles du lysozyme et de la lactoperoxydase (*Damodaran & Paraf, 1997*).

La lactoferrine se trouve en faible concentration dans le lactosérum (50 à 150 mg/ml), elle a des activités bactériostatique et bactéricide en face d'un grand nombre de microorganismes, incluant ceux responsables des infections de gastroentérites, des empoisonnements alimentaires, de la listériose, et des mastites.

Les domaines d'applications pour cette protéine sont spécialement les formulations diététiques, les agents de préservation naturels, la pharmaceutique et même les produits de soin personnel comme le dentifrice antibactérien et le rince-bouche (*Smithers et al., 1996*).

La lactoferrine a aussi été utilisée en diététique infantile et animale et elle a quelques applications anticarcinogènes. Quelques investigations suggèrent qu'elle pourrait avoir des propriétés d'immunomodulation à travers l'amélioration de l'activité de l'immunoglobuline A sécrétoire (*Huffman & Harper, 1999*).

I.4. Applications des procédés membranaires dans l'industrie laitière.

La fonctionnalité des divers composants du lait pourrait être utilisée d'une façon plus efficace, si ceux-ci étaient disponibles individuellement. Les fractions des composants du lait permettent de maintenir une qualité constante des produits et le développement des nouveaux produits, comme par exemple des films de protection comestibles et des peptides bioactifs. Ainsi,

le fractionnement du lait conduira à des utilisations de plus en plus diverses. De plus, travailler avec des produits concentrés peut réduire significativement la consommation d'eau, donnant ainsi des avantages économiques et environnementaux non négligeable lors du transport, notamment.

La technologie membranaire paraît être un choix logique pour le fractionnement de lait puisque, comme nous avons pu le voir, les composants du lait pourraient être séparés suivant leur taille.

Cependant, à cause de cette large distribution de taille des solutés (1 nm-20 μm), des fortes concentrations de composants dispersés (13% poids) et de sa variabilité naturelle, le lait demeure un fluide alimentaire complexe rendant son fractionnement membranaire tout aussi difficile. Les procédés membranaires classiques en industrie laitière, bien que largement présents, rencontrent un problème majeur : le colmatage. Celui-ci cause de fortes réductions de flux et :ou nécessitent des consommations énergétiques importantes à cause des hautes vitesses nécessaires pour le limiter.

La sélectivité est un paramètre important dans le fractionnement de lait, et elle va être influencée de manière non négligeable par ce colmatage.

Plusieurs facteurs sont importants afin d'obtenir une bonne combinaison de transmission et rétention des solutés. Premièrement, à cause de la non uniformité de la taille de pores de la membrane, certains composants qui devraient être retenues par la membrane passent à travers elle par les pores les plus grands, et inversement, les pores plus petits retiennent des composants qui devraient être transmis.

Deuxièmement, il serait important que les conditions du processus soient semblables sur toutes les zones membranaires. Cela a conduit, en microfiltration, au développement du concept de pression transmembranaire uniforme (PTMU), qui maintient une pression transmembranaire constante sur toute la longueur du module membranaire en appliquant un débit identique côté perméat générant une perte de charge identique à celle consécutive à la circulation de la solution d'alimentation. Des membranes à porosité variable obtiennent le même effet sans recirculation du perméat, ce sont : les membranes Isoflux[®] (Société TAMI) et les membranes Membralox Gradient Porosity[®] à gradient de porosité (GP) (Société des Céramiques Techniques-SCT) (*Brams et al., 2004*).

Les membranes Isoflux[®] et GP présentent une décroissance de leur résistance dans le sens de l'écoulement afin d'assurer un flux constant, malgré la chute de la pression transmembranaire. Pour les membranes GP, la contre-pression requise côté perméat est obtenue par une variation continue de la porosité du support céramique de la membrane, et pour les

membranes Isoflux[®] c'est une réduction continue de l'épaisseur de la membrane qui permet d'obtenir une PTMU. Dans les deux cas précédents ces membranes sont utilisées dans des applications bien définies, pour des flux et sélectivités précis (*Saboya & Maubois, 2000*).

L'introduction des membranes céramiques dans le cadre du concept PTMU a permis l'application commerciale des membranes dans l'industrie pour la réduction de bactéries et de spores.

Troisièmement, le colmatage en profondeur conduit à une réduction effective de la taille des pores et par conséquent à des rétentions différentes, de même que la formation de la couche polarisation ou gel sur la membrane va retenir les petites particules qui devraient passer au travers de cette membrane.

Le développement des nouvelles membranes avec une distribution de taille de pores plus homogène, comme les membranes céramiques asymétriques, les microsieves de silicone et les microfiltres de métal combinés avec des conditions optimales de processus, pourraient conduire à un fractionnement complet du lait à l'échelle industrielle (*Brans et al., 2004*).

I.4.1. Procédés membranaires pour le fractionnement du lait.

Comme nous avons pu l'observer dans le Tableau I.1, le lait présente un large éventail de solutés ayant des tailles très diverses rendant son fractionnement par des techniques membranaires très intéressant.

Un exposé des procédés déjà disponibles et de ceux nécessitant un développement est présenté dans la section suivante.

I.4.1.1. Séparation et fractionnement de la crème.

Bien que la séparation de la matière grasse par membranes soit techniquement possible, l'industrie utilise plus généralement la centrifugation. La crème qui s'obtient à partir de la centrifugation, contient environ 40% de lipides. Un avantage que présenterait la séparation par membrane serait la réduction de la consommation d'énergie, du fait de débits relativement faibles utilisés en filtration tangentielle et les moindres dommages causés aux composants sensibles aux forts taux de cisaillements, comme peuvent l'être les membranes cellulaires des globules gras. Celle-ci pourrait donc améliorer la stabilité de la crème et les propriétés sensorielles des produits (*Brans et al., 2004*).

D'après *Gouldédranche et al., (2000)* une forte augmentation du nombre de globules gras par homogénéisation modifie la sensation buccale du lait. Pour la même quantité de matière grasse, le lait homogénéisé semble plus sucré et a plus de corps que le lait normal. De plus, la microstructure et la consistance des produits laitiers, comme le fromage, sont grandement affectées par les interactions entre la matrice de la caséine et la membrane des globules gras. En

conséquence, une manière possible d'augmenter ou de diminuer ces interactions pourrait être de modifier la quantité de matière grasse présente pour une concentration en caséines donnée.

De plus, on peut aussi considérer qu'une augmentation du nombre de globules gras par leur réduction de taille, aurait des effets différents à cause de la capacité des membranes cellulaires des globules gras du lait à se lier aux molécules d'eau et de la différence de composition entre les globules gras grands et petits. Les mêmes auteurs ont évalué la transformation des laits liquides, yaourts, crème acide, camembert, petits Suisses, et beurres fabriqués à partir de lait, auxquels la matière grasse a été ajustée soit par l'addition d'une crème standard, soit par l'addition d'une crème où les globules gras ont été obtenus par MF avec membranes céramiques tubulaires et une taille de pore de 2 μm . Les résultats ont montré qu'une différence significative dans la texture et dans les propriétés organoleptiques des produits fabriqués était présente. Excepté pour le beurre, l'utilisation de lait avec des globules gras petits donne un produit plus onctueux ayant des caractéristiques de texture plus fines en comparaison avec celui fabriqué avec une crème de référence ou ayant des globules gras plus grands (*Goudédranche et al., 2000*).

Michalski et al., (2006) ont réalisé des microfiltrations de lait entier frais avec des seuils de coupure compris entre 2 et 12 μm afin d'obtenir des fractions du lait avec différentes tailles de globules de matière grasse. Pour ce faire, ils ont utilisé des membranes tubulaires multicanaux minérales (Membralox P1940, Pall Exekia, Tarbes, France). Le procédé a été optimisé avec une taille de pore de 5 μm en obtenant deux fractions de lait : une avec globules gras entre 7,5 et 5 μm (qui correspond au réténat de MF) et une autre avec globules compris entre 3,3 et 0,9 μm (qui correspond au perméat de MF). Ce type de MF pourrait être plus efficace que la séparation par gravité du fait qu'elle permet de choisir la taille de globules.

Michlaski et al., (2007) ont aussi étudié la fonctionnalité et les améliorations des propriétés sensorielles dans le fromage Emmental qui a été fabriqué avec des globules de matière grasse avec une taille inférieure à celles fabriqués avec des globules gras plus grands. Afin d'obtenir un lait avec des globules de matière grasse avec une taille d'environ 3,3 μm , une MF à 5 μm a été réalisée. Les résultats ont montré que les fromages élaborés avec le lait avec des globules gras ayant une taille inférieure ont de meilleures propriétés élastiques, mais surtout de meilleures propriétés sensorielles.

I.4.1.2. Elimination de bactéries et spores présentes dans le lait.

La microfiltration (MF) peut réduire la quantité de bactéries et spores sans affecter la saveur du lait et donner une durée de conservation plus longue que la pasteurisation. Le facteur de réduction décimal par la MF est supérieur à celui de la bactofugation, qui est un procédé de réduction des bactéries et des spores par centrifugation. En plus de la production du lait à longue

durée de conservation (traitement UHT), cette méthode peut être utilisée comme un prétraitement du lait écrémé pour la production des fromages crus et pour la réduction des spores dans le fromage du lait acide. Cependant, les bactéries du lait ayant une distribution de taille entre 0,4-2,0 μm , elles se superposent avec les globules de gras, nécessitant un écrémage préalable avant traitement.

Un procédé commercial très utilisé pour la réduction des bactéries et spores par membranes est disponible sous le nom de Bactocatch[®] (Société Alfa Laval). Il est opéré à haute vitesse (6-8 m.s^{-1}), et une pression transmembranaire uniforme obtenue par recirculation du perméat à co-courant, et des membranes céramiques.

Elwell & Barbano (2006) ont comparé la durée de conservation du lait qui a été traité par deux techniques différentes : pasteurisation simple (79°C, 16 s) et MF+pasteurisation du perméat (MF à 1,4 μm et 100 kPa et pasteurisation de perméat à 72°C pendant 15 s). Ils ont déterminé les caractéristiques de croissance des bactéries dans le lait pasteurisé en fonction de la température de stockage, l'efficacité du procédé de MF+pasteurisation dans la réduction du nombre total de bactéries, spores et coliformes dans le lait. Ils ont également estimé la durée de conservation du lait microfiltré et pasteurisé en fonction de cette température de stockage. La MF a été réalisée avec un pilote Tetra Alcross MFS-7 (TetraPak, Pully, Switzerland) muni d'une membrane céramique Membralox de seuil de coupure 1,4 μm . Leurs résultats ont montré que la diminution de la température de stockage donne une durée de conservation plus longue dans le lait pasteurisé. Avec la MF une réduction logarithmique de bactéries totales de 3,79 a été obtenue et de 1,84 après la pasteurisation du perméat de MF, en donnant une réduction totale logarithmique de 5,63 avec la combinaison des deux procédés (MF+pasteurisation du perméat). Avec la réduction des bactéries totales dans le lait à des valeurs faibles, la MF et la pasteurisation produisent un lait ayant une durée de conservation plus longue (92 jours à 0,1°C). Cependant, cette durée de conservation dépend aussi de la température de stockage. Le même lait microfiltré et pasteurisé a été conservé à 2,0°C, 4,2°C et 6,1°C, donnant des durées de conservation respectivement de 78, 46 et 32 jour du fait de la protéolyse causée par les protéases natives du lait. Cette protéolyse donne de saveurs désagréables au lait

Dans la réduction des bactéries et des spores, le contrôle du colmatage et la sélectivité sont importants. La sélectivité doit être maintenue en retenant tant que possible spores et bactéries pendant que les autres solutés traversent la membrane (*Brans et al., 2004*). L'augmentation du taux de cisaillement sur la membrane en utilisant des grandes vitesses (jusqu'à 7 m.s^{-1}) n'a plus d'effet, car il entraîne une très grande PTM à l'entrée de la membrane. Le problème de combiner une faible PTM et taux de cisaillement élevés dans les membranes

tubulaires a été résolu par le processus PTMU déjà défini. Ce procédé a été appliqué pour l'industrie laitière pour la débactérisation de lait en utilisant des membranes céramiques de 1,4 μm (Eckner & Zottola, 1991).

I.4.1.3. Concentration de micelles de caséines à partir du lait écrémé.

Les micelles de caséines concentrées peuvent être mélangées avec la crème pour la production de fromage. D'autres applications alimentaires incluent la standardisation du lait et la production de caséine native déshydratée. Ces micelles peuvent être concentrées à partir du lait écrémé en utilisant des membranes céramiques ayant une taille de pores comprise entre 0,05 et 0,2 μm .

Dans la concentration de micelles de caséines, le contrôle de colmatage est plus important que la sélectivité par comparaison avec le procédé de réduction des bactéries et spores. Cette sélectivité est moins importante car quelques protéines du lactosérum seront toujours présentes dans le rétentat de filtration et le taux de caséines passant au travers de la membrane finira dans le concentré de protéines de lactosérum. Cela peut affecter l'économie du procédé car la récupération des protéines de lactosérum à partir du lactosérum de fromage devient plus compliquée lorsque le rendement en fromage augmente. C'est en général l'ultrafiltration (UF) traditionnelle qui est utilisée pour ce type d'application. L'avantage de l'UF est d'être l'équipement le moins cher : une membrane organique est utilisée à la place des membranes céramiques, et ne requiert pas l'utilisation du PTMU. Cependant, le fait que plus de protéines de lactosérum finissent dans le procédé de fabrication du fromage est un désavantage (Brans et al., 2004).

Daufin et al., (1993) ont réalisé une microfiltration pour séparer les caséines des protéines de lactosérum avec des membranes céramiques SCT 0,1 μm . En faisant des tests à flux de perméat constant et en contrôlant la PTM, ils ont montré que les conditions nécessaires pour une opération stable permettant une bonne rétention et bonne transmission de protéines de lactosérum, était une PTM uniforme. Ils ont aussi étudié les conditions nécessaires pour maintenir la filtration stable (flux de perméat et PTM constants). Ils ont obtenu que la limite entre les filtrations stables et instables (i.e. rapide augmentation de la PTM à flux constant) peut être représentée par une ligne droite dans le plan flux de perméat -contrainte de cisaillement moyen (τ_m) décrit par $J = k(\tau_m - \tau_m^*) = k\tau_{meff}$

Le Berre et Daufin (1996) ont réalisé une microfiltration tangentielle de lait écrémé avec des membranes céramiques de 0,1 μm pour séparer les micelles de caséines des protéines de lactosérum. Ils ont étudié l'influence des conditions opératoires (flux, J et contrainte de cisaillement, τ_w) et les changements du colmatage. Le flux a été varié entre 30 et 109 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ et la

contrainte de cisaillement entre 23 et 97 Pa afin de calculer le rapport (J/τ_m) lequel est une représentation de l'influence de la convection et de l'érosion dans l'interface membrane/solution. Ils ont obtenu une valeur critique pour ce rapport d'environ $1 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{Pa}^{-1}$. Au dessus de cette valeur, la MF a été efficace. Cette valeur critique pourrait être utilisée comme paramètre de prédiction pour la sélectivité et perméabilité dans les procédés de MF à différentes conditions d'opération. Au cours des essais, une rétention de micelles de caséines $>99,5\%$ et une transmission de protéines de lactosérum entre 70 et 80% ont été obtenues avec une contrainte de cisaillement de 110 Pa et un flux de $90 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$.

Al-Akoum et al., (2002b) ont étudié l'application de modules vibrants (VSEP) pour la filtration de lait. Ils ont étudié les performances de la microfiltration à $0,1 \mu\text{m}$ de lait pour la séparation de micelles de caséines des protéines de lactosérum et l'ultrafiltration à 50 kDa pour concentrer les protéines solubles. Ils ont étudié l'effet du taux de cisaillement moyen $\bar{\gamma}_w$ via la diminution de la fréquence de vibration. Les auteurs ont montré que le flux de perméat en UF variait comme $(\bar{\gamma}_m)^{0,533}$ à concentration initiale et comme $(\bar{\gamma}_m)^{0,567}$ à un facteur de réduction volumique (FRV) de 1,8. Dans leurs tests, le flux critique pour la filtration stable a été de $76 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ à une fréquence maximale de 60,75 Hz, laquelle correspond à un taux de cisaillement moyenne de $6,87 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$. Pour la microfiltration, ils ont observé que le flux de perméat augmente avec $\bar{\gamma}_m$, mais avec un exposant inférieur à celui en UF, spécialement aux hautes fréquences. Le flux critique à 60,75 Hz et à concentration initiale a été de $64 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, flux inférieur à celui en UF, du fait d'un colmatage interne accru à cause des caséines.

Al-Akoum et al., (2002a) ont aussi utilisé le VSEP pour la séparation de micelles de caséines de protéines de lactosérum à partir de lait écrémé en poudre reconstitué. Ils ont comparé les performances de la microfiltration avec des membranes en PTFE $0,1 \mu\text{m}$ et l'UF avec une membrane en PES de 50 kDa. Ils ont étudié le flux critique pour obtenir une opération stable de microfiltration en augmentant le flux de perméat en contrôlant la pression transmembranaire. Celui-ci a été de $50 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ à un FRV de 2 et une fréquence maximale de 60,75 Hz ($\tau_w = 34 \text{ Pa}$). L'UF a permis de minimiser la perte en caséines dans le perméat avec une faible diminution du flux. La transmission de protéines de lactosérum a été de 65-70% pour l' α -Lactalbumine et de 25-30% pour la β -Lactoglobuline.

Ding et al., (2003) ont étudié la concentration de protéines par UF de lait UHT écrémé avec deux prototypes à disque rotatif de 15 et 26 cm de diamètre en utilisant la même membrane PES de 50 kDa. Des disques comportant des ailettes de différentes hauteurs ont été utilisés dans les tests. Les résultats ont montré que le taux de cisaillement moyen à la membrane est

proportionnel à $\bar{\gamma}_m = (k\omega)^{1,8}$, où est ω la vitesse angulaire (rad.s^{-1}) du disque et k est le coefficient d'entraînement du fluide et qui représente la capacité du disque à entraîner le fluide dans son mouvement. La corrélation entre le flux de perméat observé et le taux de cisaillement était :

$$J = 0,301\bar{\gamma}_m^{-0,552}.$$

Lawrence et al., (2008) ont utilisé des membranes spirales pour la concentration des caséines par microfiltration à partir de lait écrémé. Ils ont obtenu de bonnes rétentions de caséines à faible PTM (96% à 50 kPa), mais à ces mêmes conditions opératoires la rétention de β -Lactoglobuline a été de 78%. Ils ont remarqué que, dans leur système, le flux et la composition du perméat ont peu varié avec le seuil de coupure, ce qui semblerait indiquer que la performance de la membrane est déterminée pour la couche de protéines se formant sur celle-ci. Les effets de cette couche de protéines peuvent être minimisés en travaillant avec des faibles PTM et un débit d'alimentation élevé.

I.4.1.4. Récupération des protéines du lactosérum.

Quel que soit le mode d'obtention (soit par procédé traditionnel de fabrication fromagère, soit par séparation membranaire des caséines), la composition et la répartition en protéines présentes dans le lactosérum est globalement identique, même si certains composés ne se retrouvent pas selon les cas (par exemple : le glycomacropéptide est présent dans le lactosérum doux, car il est libéré à partir de la κ -caséine pendant la production de fromage, mais est très difficile à trouver dans le lactosérum acide) (*Brans et al.*, 2004).

Le lactosérum peut être récupéré après production du fromage (précipitation de caséines par voie enzymatique) et à partir de la production de caséines. Il en existe deux types :

- a) lactosérum doux, avec un pH supérieur à 5,6 et une faible concentration de calcium
- b) lactosérum acide, avec un pH d'environ 4,6 et une haute concentration de calcium.

La différence de concentration de calcium est due à la de solubilisation de phosphate de calcium colloïdal avec la diminution du pH (*Hui*, 2006).

Le lactosérum est une source nutritive en protéines, mais son utilisation dans les aliments ou pour l'alimentation des animaux sans déminéralisation préalable est limitée. Communément, le lactosérum est concentré par évaporation ou par osmose inverse (OI) et déminéralisé par électrodialyse ou par résines échangeuses d'ions. Une alternative pour réduire la quantité de sels et concentrer les protéines en une seule étape est la nanofiltration (NF). La NF réduit la consommation énergétique, mais ne donne qu'une déminéralisation partielle. Les protéines de lactosérum concentrées peuvent être séchées par atomisation et utilisées dans l'alimentation humaine et animale. En fonction de la concentration des protéines, les produits sont appelés

concentrés de protéines de lactosérum (WPC, 35-80% protéines) ou isolats des protéines de lactosérum (WPI, 80-95% protéines).

Nelson et Barbano (2005) ont développé un procédé de MF pour retirer un fort pourcentage des protéines de lactosérum à partir de lait écrémé en produisant au même temps un rétentat avec un faible facteur de concentration. Le procédé est décrit sur la Figure I.9. Ils ont réalisé une MF de lait écrémé avec une membrane tubulaire de 0,1 μm , le perméat de MF a été par la suite diafiltré. A la fin du procédé, environ 95% des protéines de lactosérum ont été retirées

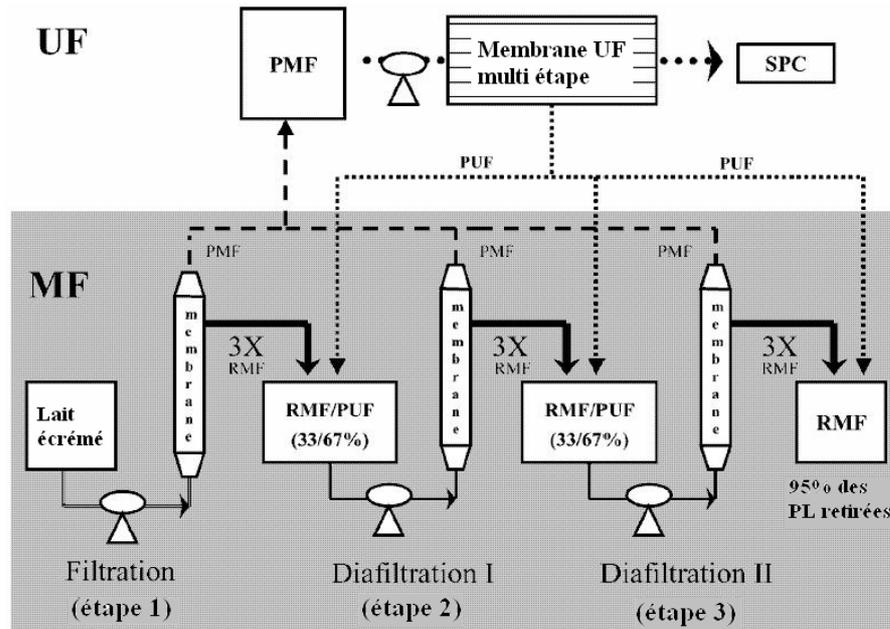


Figure I.9. Schéma d'un procédé de trois étapes, avec une MF et deux étapes de diafiltration pour réduire la quantité des protéines de lactosérum dans le lait écrémé. Symboles : PMF : perméat de MF, SPC : concentrât de protéines de lactosérum, RMF : rétentat de MF, PL : protéines de lactosérum.

D'ailleurs, dans les protéines de lactosérum, il est intéressant d'isoler les différentes protéines, du fait de leurs différentes propriétés fonctionnelles mentionnées dans la Section I.3.1.2. Les méthodes de fractionnement actuelles sont basées sur l'agrégation thermique d' α -Lactalbumine, la chromatographie échangeuse d'ions, la précipitation, l'UF ou une combinaison de ces méthodes (*Brans et al., 2004*).

Par la suite, nous verrons les différentes méthodes qui ont été développées afin de séparer les différentes protéines présentes dans le lactosérum.

I.4.1.4.1. Séparation de l' α -Lactalbumine (α -La).

Maynard et al., (1989) ont développé un procédé pour le fractionnement de lactoferrine et α -La humaines en utilisant des membranes de MF et d'UF. La Figure I.10 montre un schéma du

procédé. Le lait humain écrémé a été premièrement microfiltré avec une membrane minérale (Carbosep M14) avec un seuil de coupure de 0,2 μm . Le rétentat obtenu a été diafiltré, afin d'éliminer la majeure partie d' α -La et des peptides, puis concentré deux fois. Le perméat de microfiltration (Perméat 1) a été ensuite ultrafiltré avec une membrane à fibres creuses de 100 kDa. Le rétentat de cette ultrafiltration (Rétentat 2) a été diafiltré jusqu'à la récupération totale d' α -La dans le perméat. Une partie du perméat de 100 kDa a été concentrée sur une membrane à fibres creuses de 10 kDa. Le rétentat obtenu a été diafiltré en continu jusqu'à élimination complète des peptides. Les résultats ont montré que l'ultrafiltration à 100 kDa sépare l' α -La des autres protéines de poids moléculaires supérieurs (lactoferrine et BSA). L'UF à 10 kDa a concentré l' α -La et éliminé les fractions de poids moléculaire supérieur.

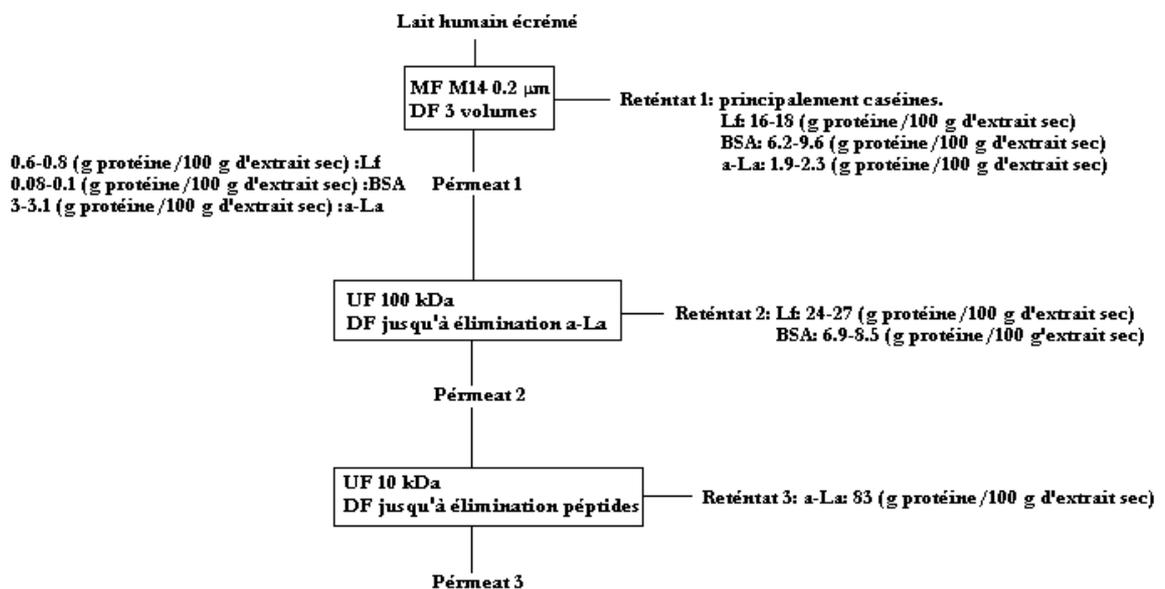


Figure I.10. Etapes technologiques de fractionnement des protéines du lait humain, proposé par *Maynard et al.*, (1989). DF : diafiltration.

Bramaud et al., (1997b) ont proposé un procédé de fractionnement des protéines de lactosérum de lait de vache, à travers la précipitation isoélectrique de l' α -La sous traitement thermique. Le phénomène de co-précipitation de la BSA et de l'Ig a aussi été étudié. L'addition de citrate, un séquestrant de calcium, a été proposé pour réduire la concentration de calcium libre, et de ce fait déplacer le phénomène de précipitation à une température plus faible. Une pureté plus élevée est obtenue dans la fraction précipitée car le phénomène de co-précipitation de la BSA est réduit à une température plus faible.

Ils ont acidifié le lactosérum avec l'addition de HCl ou bien de acide citrique, afin d'obtenir un pH de 3,9. La concentration en calcium libre a été ajustée avec citrate. Leurs résultats montrent que quand le citrate n'était pas ajouté, la précipitation a lieu à une température

supérieure à 50°C. Quand le citrate a été ajouté, le phénomène de précipitation d' α -La est déplacé à des températures plus faibles. Par exemple, la fraction précipitée d' α -La est de 0,7 à 35°C, avec l'ajout de $96 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de citrate. A titre de comparaison, sans l'addition de citrate, une température d'environ 55°C est requise.

Après cette étude, *Bramaud et al.*, (1997a) ont optimisé le procédé de fractionnement des protéines de lactosérum par précipitation isoélectrique de l' α -La, selon une approche globale. Ils ont montré que le contrôle de la concentration en calcium permet d'optimiser l'étape de précipitation, car lorsque cette teneur est réduite, le phénomène de précipitation d' α -La est amplifié. Ils ont proposé l'utilisation d'acide citrique, lequel permet d'ajuster simultanément le pH et de réduire la concentration de calcium ionique. Ils ont trouvé que la centrifugation était plus efficace pour séparer les phases solubles et le précipité que la MF. Deux solutions avec la même force ionique ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$), ont été additionnées pour solubiliser le précipitât : NaCl et CaCl₂. Ils ont obtenu une pureté plus élevée avec la solution de CaCl₂ qu'avec le NaCl (0,56 versus 0,79), par contre le rendement a été plus faible avec la solution de CaCl₂ (0,81 versus 1).

Lucas et al., (1998) ont étudié l'extraction d' α -La à partir des concentrâts de protéines de lactosérum avec des membranes inorganiques modifiées. Un concentrât de protéines de lactosérum acide (WPC, PS 90) a été utilisé comme solution d'alimentation. Dans ces expériences, quatre types de membranes inorganiques d'ultrafiltration (M5, M2, M4, M1 respectivement de 10, 15, 50 et 150 kDa, respectivement, Carbosep TechSep) ont été utilisées et l'une d'elles a été modifiée chimiquement (M1 avec une couche de polyéthylèneimine PEI, 40000 Da). Afin de changer la charge nette, la couche du polymère de M1-PEI a été partiellement greffée chimiquement avec des fragments de carboxylate et cette membrane a été appelée M1-PEIC. Leurs résultats ont montré que les membranes chargées positivement (M1-PEI) étaient efficaces pour améliorer la sélectivité du fait de fortes interactions entre les charges positives et la β -Lg. La sélectivité est le rapport entre la transmission d' α -La et la transmission de β -Lg, et calculée suivant l'équation I.10

$$S = \frac{Tr_{\alpha-La}}{Tr_{\beta-Lg}} \quad (\text{I.10})$$

A faible force ionique ($I \leq 0,02 \text{ mol L}^{-1}$), la diminution de la transmission de β -Lg et une transmission d' α -La proche de 10% induit une meilleure sélectivité (environ 10) de la membrane faite sur mesure en comparaison avec les membranes inorganiques sans couche (environ 3). La modification de la charge nette par adsorption spécifique d'ions divalents (M1-PEIC) change la transmission de protéines à pH 7 : la transmission des protéines de lactosérum liées au Ca est augmentée et, inversement, l'adsorption des ions phosphate diminue la transmission des

protéines. Dans les deux cas, les ions divalents ne sont pas suffisamment spécifiques envers une protéine cible pour permettre que la sélectivité de la membrane soit améliorée.

Gélan-Guizjion et al., (1999b) ont étudié différentes étapes qui comprenaient la précipitation et l'UF de lactosérum afin d'obtenir des fractions enrichies d' α -La et β -Lactoglobuline (β -Lg). Les étapes successives sont :

a) clarification et élimination de la matière grasse des concentrats des protéines de lactosérum

b) précipitation d' α -La et séparation de la fraction soluble de β -Lg par MF en utilisant des membranes de 0,14 μ m (Carbosep M14, Orelis) et de 0,1 μ m (Membralox, SCT, France)

c) nettoyage du précipité

d) solubilisation du précipité

e) concentration et purification d' α -La par diafiltration en utilisant des membranes d'UF 50kDa (Carbosep M4, Orelis) et 5 kDa (Koch, Abcor Koch International).

Ces auteurs ont réalisé des essais à échelle laboratoire en utilisant un lactosérum acide et d'autres essais à échelle industrielle avec un lactosérum obtenu à partir de la fabrication de fromage Gouda. Les puretés obtenues ont été entre 52 et 83% d' α -La et entre 85 et 94% de β -Lg, respectivement. Ils ont obtenu des récupérations de protéines à échelle industrielle moindres (6% d' α -La et 51% de β -Lg).

Un procédé qui combine le traitement thermique sélectif et la filtration membranaire pour produire du lactosérum enrichi en α -La, a été développé par *Kiesner et al., (2000)*. Ce lactosérum enrichi a été obtenu avec un procédé en deux étapes. La première étape consiste à dénaturer une majeure partie des β -Lg avec un traitement thermique (90°C) en laissant une portion substantielle d' α -La dans son état natif. Dans la deuxième étape, les protéines de lactosérum qui sont restées en solution ont été séparées par MF (membrane tubulaire céramique, 0,1 μ m). Du lait écrémé et du lactosérum doux ont été utilisés comme matière première. Les résultats obtenus pour les essais réalisés avec du lait écrémé ont montré que, dû au traitement thermique sélectionné, environ 16% d' α -La et 1,4% de β -Lg restent à l'état natif. Le rapport de masse α -La/(α -La + β -Lg) augmente de 0,26 dans le lait initial à 3 dans le lait traité thermiquement. Par MF, 5,3% de la quantité initiale d' α -La a été récupérée dans le perméat contre 0,4% de β -Lg. Ce qui correspond, pour l' α -La, à un taux de séparation (pourcentage d' α -La native après traitement thermique/pourcentage d' α -La obtenu après MF) de MF de 32% et à un rendement pour le procédé de 5,3%. Pour le cas du lactosérum doux, le rapport de masse α -La/(α -La+ β -Lg) augmente 3 fois après le traitement thermique. Le taux de séparation d' α -La, a été environ 29% et un rendement de 7,5% a été obtenu.

Muller et al., (2003b) ont étudié les conditions d'opération pour la prépurification d' α -La par ultrafiltration en utilisant des membranes céramiques à partir du lactosérum de caséine. En utilisant la séparation membranaire, ils souhaitent augmenter la pureté d' α -La dans le perméat. Au cours de leurs tests, trois types de lactosérum acide de caséine à partir d'un WPC ont été utilisés : PS 75 (liquide), PS 90 (liquide) et PS 90 (poudre). Cinq membranes tubulaires inorganiques ont été testées : une Carbosep M14 monotube (0,14 μ m) et M1 (150 kDa; 20,6 nm) et une membrane tubulaire Céram 3-canaux avec trois seuils de coupure différents 300, 220 et 150 kDa. Cette gamme de seuil de coupure a été choisie afin d'obtenir une rétention totale d'immunoglobulines et de BSA sous des conditions opératoires appropriées. Les membranes Carbosep ont été utilisées sur le PS90 en poudre uniquement et les membranes Céram sur les trois lactosérums acides. Les résultats obtenus ont montré que, pour les deux protéines (α -La et BSA), la transmission en utilisant la membrane Carbosep M14 a été supérieure à 80%. Pour la Carbosep M1, la transmission d' α -La a été comprise entre 25 et 58%, suivant la PTM, alors que dans le même temps, la transmission de BSA variait entre 5 et 18%. La pureté n'a pas augmenté avec la membrane Carbosep M14 alors que pour la Carbosep M1, la pureté d' α -La s'est accrue d'environ 12% pendant que la pureté de la BSA diminuait de 50%. La pureté a été calculée avec l'équation I.11.

$$P = \frac{C_i}{\sum C_r} \quad (\text{I.11})$$

où C_i est la concentration de la protéine i dans le perméat et/ou rétentat et $\sum C_r$ est la concentration totale de protéines dans le perméat et/ou rétentat.

Ils ont observé qu'une augmentation du colmatage provoquait une diminution de la transmission de protéines, et généralement une augmentation de la pureté d' α -La dans le perméat. Ils ont atteint une pureté d' α -La de 44% et un rendement de 53%, avec une concentration en continu par UF (FRV 9) grâce à une bonne sélection des seuils de coupures (pas de transmission de BSA et IgG) et de bonnes conditions opératoires.

Dans une seconde publication, *Muller et al.*, (2003a) ont comparé l'ultrafiltration et la précipitation pour la purification d' α -La à partir d'acide prépurifié. L'ultrafiltration du microfiltrat de PS 90 a été réalisée avec une membrane Céram 50 kDa. Les conditions opératoires étaient : pH 7,0, vitesse tangentielle de 3,4 m.s^{-1} (contrainte de cisaillement 43 Pa), PTM 1,0 bar, 50°C et concentration en continu jusqu'à un FRV d'environ 7,0 (3,5 h). Leurs résultats pour l'UF montrent que la transmission d' α -La était supérieure à la transmission de β -Lg. La transmission de protéines avec le microfiltrat de PS 90 était trois fois plus faible qu'avec l'ultrafiltrat de PS 90. A partir de la solution d'alimentation ayant une pureté initiale d' α -La de 43%, l'étape d'UF 50

kDa a produit un perméat riche en α -La avec une pureté d'environ 66%, mais avec un faible rendement (23%). Malgré des conditions opératoires favorables de force ionique (0,04 mol.L⁻¹) et une faible concentration de protéines (1,6 g.L⁻¹). Le rendement étant calculé par l'équation I.12

$$Y_{\alpha-La} = 1 - \left(\frac{C_{\alpha-La,f} \cdot V_f}{C_{\alpha-La,i} \cdot V_i} \right) \quad (I.12)$$

où $C_{\alpha-La,f}$ est la concentration d' α -La dans le surnageant final de la centrifugation réalisée après l'étape de solubilisation ; $C_{\alpha-La,i}$ est la concentration initiale d' α -La ; V_f est le volume final de surnageant de la centrifugation réalisée après l'étape de solubilisation et V_i est le volume initial de la solution de protéines utilisée.

Ils justifient cela par une transmission de protéines de lactosérum dans l'UF gouvernée par des effets combinés de colmatage de pores et d'interactions électrostatiques de la membrane colmatée, dont la charge, donnée par la β -Lg adsorbée et les protéines du fluide, dépend de la concentration de protéines à la paroi de la membrane et des concentrations des protéines dans le rétentat. Ils ont aussi affirmé que la seule manière d'améliorer la pureté d' α -La et le rendement est d'opérer avec des étapes d'UF successives (au moins trois pour la pureté, accompagnées d'étapes de diafiltration pour le rendement).

Cheang et Zydney (2003) ont développé un procédé membranaire pour obtenir des rendements et un facteur de séparation élevés pour la séparation d' α -La et de β -Lg. Ils ont testé différents pH et forces ioniques, en utilisant deux types de membranes : cellulose et PES. Une fois déterminées les conditions optimales pour la séparation des protéines (pH, force ionique et débit d'alimentation), une diafiltration en continue a été réalisée pour la séparation. Ils ont utilisé comme fluide une solution d' α -La et de β -Lg pures, lesquelles ont été dilués dans une solution de NaCl et 1 mM de Na₂PO₄, le pH a été ajusté en ajoutant d'HCl ou NaOH. Les filtrations ont été réalisées avec un module d'ultrafiltration contenant des membranes planes de 25 mm de diamètre. Ils ont testé une membrane de Biomax™ PES de 50 kDa et une membrane de cellulose régénérée de 30 kDa. Six taux de tampons ont été étudiés en utilisant ces deux membranes. Les données ont été obtenues à pH 5,5 et 7,2 en utilisant une force ionique de 5, 50 et 150 mM. Le débit d'alimentation a été de 3,4 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Une concentration en α -la et en β -Lg de 1,8 g L⁻¹ et de 3,2 g L⁻¹, respectivement a été utilisée. Ils ont observé, dans les essais avec la membrane de 30 kDa, que la transmission des deux protéines augmente avec la force ionique du à l'augmentation des forces électrostatiques à concentrations de sel élevées. La transmission d' α -La a été plus faible à pH 7,2 qu'à pH 5,5 à cause de la charge négative de cette protéine à pH 7,2. La transmission de β -Lg a été plus élevée à pH 7,2 du au fait que cette protéine passe à la forme monomère aux pH supérieurs à 6,5. Ils ont calculé la sélectivité pour les deux membranes, utilisant l'équation I.13

$$S = \frac{(C_p/C_r)_{\alpha-La}}{(C_p/C_r)_{\beta-Lg}} \quad (I.13)$$

La meilleure sélectivité a été obtenue avec la membrane de 30 kDa à pH 5,5 et une force ionique de 50 mM, obtenant une sélectivité de 58 ± 18 . Cette sélectivité diminue jusqu'à 35 ± 5 à une force ionique de 150 mM. Pour le cas de la membrane de 50 kDa, la sélectivité a été inférieure à 11 pour tous les pH et forces ioniques. La sélectivité maximale ($10,5 \pm 0,5$) a été obtenue à la force ionique plus élevée. En se basant sur des résultats antérieurs, une diafiltration a été réalisée à pH 5,5 et une force ionique de 50 mM avec la membrane de 30 kDa et un débit d'alimentation de $2,8 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Ils ont observé que la concentration d' α -La diminue rapidement pendant la diafiltration. Par contre, la concentration de β -Lg était constante pendant la diafiltration. A la fin de la diafiltration, ils ont obtenu un rétentat quasi pur en β -Lg, avec une concentration d' α -La de moins de $0,02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ et une concentration de β -Lg de $2,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Dans une deuxième publication, *Cheang et Zydney (2004)*, ont étudié l'utilisation d'un procédé à deux étapes d'ultrafiltration tangentielle pour la purification d' α -La et de β -Lg à partir d'isolats de protéines de lactosérum. Ils ont utilisé comme solution un isolat de protéines de lactosérum commercial, mélangé avec de la BSA. La filtration a été réalisée avec un module de filtration tangentielle Pellicon XL et des membranes de 100 et 30 kDa de cellulose régénérée avec une surface membranaire de 50 m^2 . Afin de connaître les conditions optimales de séparation (pH, conductivité et flux) des essais avec recirculation du perméat ont été effectués. La séparation de protéines a été réalisée par diafiltration. Les résultats qu'ils ont obtenus lors des essais avec recirculation du perméat ont montré que les meilleures transmissions et sélectivités (α -La/BSA) pour la membrane de 100 kDa ont été obtenues à une conductivité de $0,2 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. Pour le cas de la membrane de 30 kDa les meilleures transmissions et sélectivités ont été obtenues à $1,7 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. Ils ont observé que la transmission de β -Lg a été 10 fois plus faible avec la membrane de 30 kDa qu'avec la membrane de 100 kDa. Ils ont observé que la membrane de 100 kDa présentait une haute sélectivité (74) entre l' α -La et la BSA et une sélectivité moyenne (18) entre la β -Lg et la BSA, mais une mauvaise séparation entre α -La et β -Lg. Avec la membrane de 30 kDa, ils ont obtenu une bonne séparation (sélectivité de 21) entre α -La et β -Lg et une séparation totale entre α -La et BSA. Cette membrane a donné aussi une sélectivité élevée entre β -Lg et BSA, malgré une faible transmission de β -Lg (0,011). En se basant sur ces résultats, les auteurs ont proposé deux stratégies de séparation en utilisant des membranes de 30 et 100 kDa en série. La stratégie I consiste en une diafiltration à 100 kDa pour retirer la BSA et obtenir l' α -La et la β -Lg dans le perméat. Le perméat récupéré est ensuite diafiltré avec la membrane de 30 kDa afin de séparer l' α -La de la β -Lg. La stratégie II consiste en une diafiltration à 30 kDa en obtenant dans le

perméat l' α -La et dans le rétentat la BSA et la β -Lg. Le rétentat est ensuite diafiltré à 100 kDa pour séparer la BSA de la β -Lg. La Figure I.11 montre les schémas pour les deux stratégies proposées.

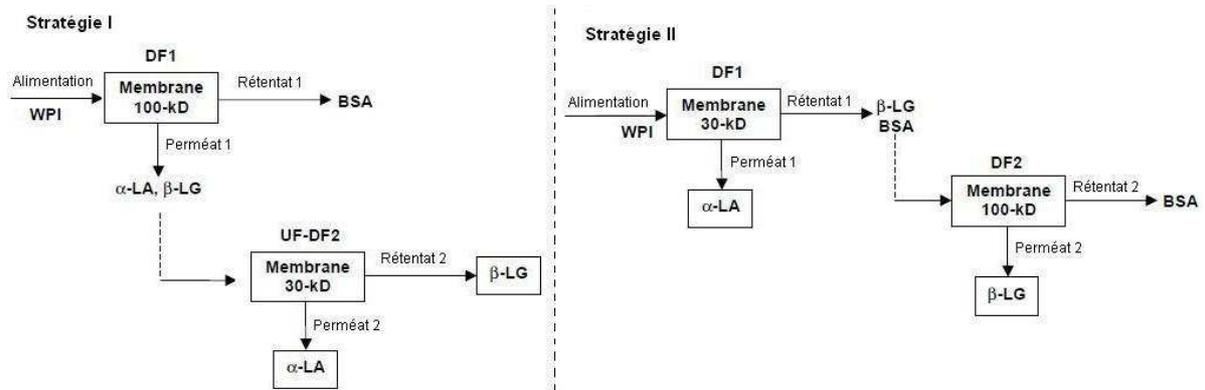


Figure I.11. Schéma des stratégies pour la séparation des protéines de lactosérum, proposés par *Cheang et Zydney (2004)*.

Leurs résultats avec la première partie de la stratégie I (DF1) ont montré que la concentration d' α -La diminue rapidement pendant la diafiltration, et que la concentration de β -Lg diminue plus lentement que celle de l' α -La. La concentration de BSA se maintient constante pendant tout l'essai. Ils ont récupéré presque 100% d' α -La et 78% de β -Lg dans cette première étape. Avant la diafiltration à 30 kDa, le perméat 1 a été concentré 5 fois et la conductivité a été ajustée à $1,7 \text{ mS.cm}^{-1}$, en obtenant des concentrations en α -La, β -Lg et BSA, respectivement de 0,8, 3,0 et $0,05 \text{ g.L}^{-1}$. Pendant la deuxième diafiltration (DF2) la concentration d' α -La diminue par un facteur de 10 et la concentration de β -Lg se maintient relativement constante. A la fin de la DF 2 ils ont obtenu un rendement de 65% et une pureté de 8 pour la β -Lg et pour l' α -La ils ont obtenu un rendement de 95% et une pureté de 10.

Pour le cas de la stratégie II, leurs résultats ont montré qu'après la première étape (DF1, 30 kDa) le rendement d' α -La a été de 90%. Dans la deuxième étape, ils ont observé que la purification de la β -Lg était faible, sans doute pour deux raisons : premièrement, dans la première étape ils n'ont pas retiré suffisamment d' α -La, en obtenant plus de 10% d' α -La récupéré avec la β -Lg dans la deuxième étape (DF2, 100 kDa). Deuxièmement, la conductivité élevée au début de la DF 2 a permis la transmission de BSA dans le perméat.

Konrad et Kleinschmidt (2008) ont développé une méthode pour l'isolement d' α -La native à partir de lactosérum doux, en combinant la filtration membranaire et un traitement enzymatique par trypsine. Le lactosérum doux a été ultrafiltré avec une membrane plane en PES de 100 kDa, jusqu'à un facteur de réduction volumique (FRV) de 20 et une PTM de 2,0 bar. Le perméat a subi un traitement enzymatique par trypsine. L'hydrolysate a été ultrafiltré en utilisant une membrane

de 10 kDa à 53°C et FRV de 5. Le rétentat de l'UF a été ensuite pasteurisé et séché par atomisation. Ces auteurs ont obtenu une transmission de peptides d' α -La optimale à 45°C, 2,0 bar et pH 6,7 ; en obtenant une transmission globale de 25% et une pureté de 36% et 44% à l'échelle laboratoire et à l'échelle pilote, respectivement. La β -Lg a été complètement digérée par l'enzyme et l' α -La n'a pas été dégradée. Dans le même temps, la BSA est restée comme impureté dans l'hydrolysate. Après une deuxième UF de l'hydrolysate à 10 kDa, la récupération d' α -La a été de 15% avec une pureté entre 90 et 95%.

I.4.1.4.2. Séparation de β -Lactoglobuline (β -Lg)

La β -Lg a été purifiée à partir de concentrat de protéines de lactosérum en utilisant un traitement enzymatique avec de la pepsine et par filtration membranaire. De la pepsine de porc a été ajoutée au concentrat de lactosérum (1:200, m/m), et le mélange a été incubé à pH 2,0 à 37°C pendant 60 min. La fraction de protéine a été collectée par précipitation avec du sulfate d'ammonium, et le précipitat a été, soit dialysé avec de l'eau en utilisant une membrane de dialyse (20 kDa), soit filtré en utilisant une membrane d'UF de 30 kDa. Les résultats ont montré que les peptides de β -Lg obtenus n'étaient pas différents de la β -Lg étalon (*Kinekawa & Kitabatake, 1996*).

Une méthode pour préparer de grandes quantités de β -Lg bovine native, adéquate pour une utilisation dans le domaine de la recherche, a été proposée par *Caessens et al., (1997)*. La protéine a été isolée en combinant un procédé de précipitation (précipitation de protéines de lactosérum, sauf la β -Lg et le caseinomacropéptide (CMP)), avec un procédé de diafiltration (pour séparer la β -Lg du CMP). Leurs résultats ont montré qu'après la précipitation avec acide trichloracétique (TCA) et la centrifugation, le surnageant contenait seulement des β -Lg et CMP. Pendant la diafiltration (10 kDa), le CMP a été retiré dans le perméat seulement une faible portion de CMP restait dans le rétentat. Le rendement du produit purifié a été d'environ 1130 g (à partir de 2880 g), soit environ 60% (sur la base du contenu de β -Lg dans le lactosérum).

Konrad et al., (2000) ont développé une nouvelle méthode pour isoler la β -Lg. Cette méthode comprend un traitement peptidique du lactosérum et une filtration par membrane sous conditions de pression et de flux modérés afin d'isoler la β -Lg native (sans dénaturation). La méthode a été appliquée à 10 m³ de lactosérum traité et la qualité du produit a été comparée avec les résultats à échelle pilote de trois autres procédés : la précipitation par ajout d'une solution à 3% acide trichloroacétique (TCA), un procédé de salting-out (méthode pour séparer protéines basée sur leur solubilité à hautes concentrations de sel) et une précipitation sélective. Les rendements de β -Lg native calculés étaient respectivement de 67,3%, 44,9%, 46,7% et 49,6% de β -Lg présent dans le lactosérum en utilisant les quatre méthodes. Ils ont caractérisé chimiquement les différentes β -Lg par électrophorèse et IE-FPLC (Fast Protein Liquid

Chromatography) et leurs résultats ont montré une pureté et une condition native maximale pour la β -Lg avec la nouvelle méthode.

Bhattacharjee et al., (2006b) ont étudié les effets du pH et de la vitesse de rotation de la membrane en ultrafiltration de lactosérum avec un module à disque rotatif. Ils ont utilisé un module équipé de deux moteurs, avec dispositifs de régulation de vitesse, pour mettre en rotation à la fois l'agitateur et la membrane. Le module a la possibilité de faire tourner la membrane et l'agitateur dans des directions opposées pour donner un taux de cisaillement très élevé sur la membrane. Les membranes utilisées étaient des membranes planes de PES de 76 mm de diamètre et de seuils de coupure de 10 kDa et 30 kDa. Dans ces tests, la vitesse de l'agitateur a été variée entre 0 (sans agitation) et 1000 tr.min⁻¹, alors que la vitesse rotation de la membrane a été fixée à 0 (membrane fixe), 300 et 600 tr.min⁻¹. Ils ont aussi varié le pH de la solution, en utilisant les valeurs de 2,8 et 5,7, valeurs respectivement inférieure et supérieure au point isoélectrique de la caséine. Leurs résultats ont montré que le flux de perméat peut être amélioré avec l'augmentation de la vitesse de rotation de la membrane. A cause d'une présence plus élevée des dimères de β -Lg dans la solution à pH 5,7, la rétention avec la membrane de 30 kDa a été supérieure, d'où cette concentration dans le perméat de 30 kDa plus faible qu'à pH 2,8, avec une pureté de β -Lg plus faible dans le rétentat de 10 kDa. Ils ont obtenu une pureté de 72,3% de β -Lg à pH 2,8 et seulement 59,7% à pH 5,7 (PTM = 4 bar, vitesse d'agitation = 500 tr.min⁻¹ et membrane fixe). La pureté de β -Lg s'élevait à 74,5% pour une vitesse de rotation de la membrane de 300 tr.min⁻¹ et 75,1 à 600 tr.min⁻¹, en maintenant invariables les autres conditions opératoires.

Après cette étude, *Bhattacharjee et al.*, (2006a), ont poursuivi l'étude sur le fractionnement de β -Lg à partir de lactosérum de caséine en utilisant l'UF et une membrane de chromatographie échangeuse d'ions (Figure I.12).

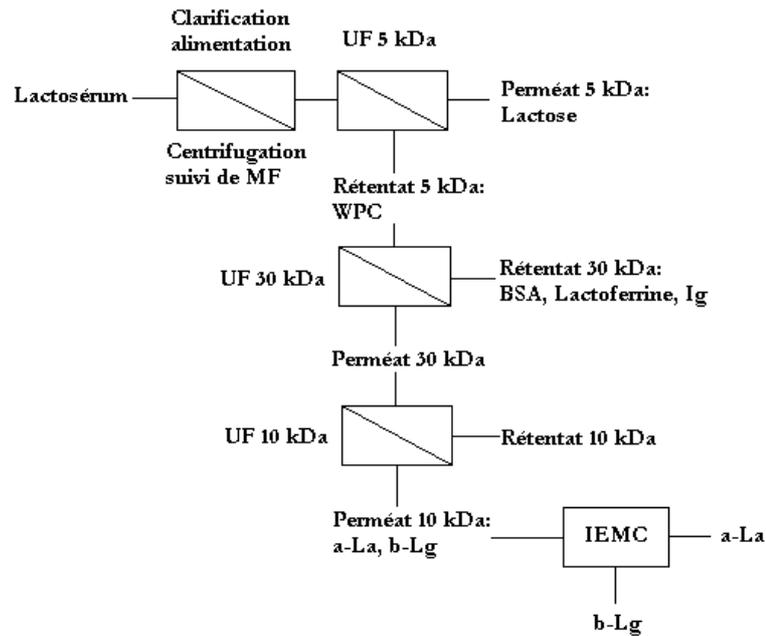


Figure I.12. Schéma du procédé proposé par *Bhattacharjee et al.*, (2006a).

Leur objectif a été d'examiner la séparation relative de β -Lg à partir d'un concentré de protéines de lactosérum en utilisant une UF en deux étapes avec des membranes de 10 et 30 kDa dans le même module que celui utilisé précédemment. Une MF préalable a été réalisée après la centrifugation du lactosérum de caséine. Les tests d'UF ont été réalisés dans des conditions similaires à l'étude précédente. Le perméat de 10 kDa a été utilisé comme solution d'alimentation pour la membrane de chromatographie échangeuse d'ions. Leurs résultats ont montré que le rapport des concentrations β -Lg/ α -La est supérieur à faible pH, car, avec la membrane de 30 kDa à un pH initial de 2,8, il était de 3,37, alors que la valeur de ce rapport n'était que de 2,85 dans la solution à pH 5,6. Le rapport β -Lg/ α -La dans le rétentat de la membrane de 10 kDa (provenant du perméat à 30 kDa) était de 3,64 à pH = 2,8 contre 3,07 à pH 5,6. La chromatographie échangeuse d'ions a été réalisée à pH 5,0 car, à cette valeur de pH, une meilleure séparation a été obtenue. Le facteur de séparation pour la solution initiale à pH 2,8 a été trouvé de 17,15 lequel est substantiellement supérieur à celui correspondant à la solution à pH 5 (9,64). Le facteur de séparation a été calculé avec l'équation I.14.

$$FS = \frac{(C_{\beta-Lg} / C_{\alpha-La})_{perméat}}{(C_{\beta-Lg} / C_{\alpha-La})_{alimentation}} \quad (I.14)$$

Almécija et al., (2007) ont étudié l'effet du pH sur le fractionnement des protéines de lactosérum avec des membranes céramiques d'ultrafiltration. Ils ont utilisé une membrane tubulaire de 300 kDa et le pH a été varié entre 3 et 10. Ils ont trouvé qu'en travaillant à pH proche du point isoélectrique des protéines, on obtient des flux plus faibles qu'à pH acide (3) et

basique (9 et 10). Concernant le rendement, ils ont obtenu des valeurs faibles avec les solutions à pH 4 et 5 due à la présence des agrégats, tandis que les meilleurs flux ont été obtenus entre pH 7 et 9.

Lozano et al., (2008) ont développé une méthode pour l'isolement de β -Lg en utilisant une précipitation différentielle avec 50% sulfate d'ammonium. Le précipitât a été dissous et séparé encore une fois avec 70% de sulfate d'ammonium, en obtenant un surnageant liquide riche en β -Lg. Après avoir fait une étape de dialyse et de lyophilisé le surnageant, l'isolation de la protéine a été effectuée par chromatographie d'échange d'ions. Ils ont obtenu un rendement de 14.32% et une pureté de 95%. Ils ont effectué différentes analyses afin de comparer les propriétés physicochimiques et immunochimiques de la protéine avec ceux d'une protéine étalon. Leurs résultats montrent que les propriétés sont similaires à celles de la protéine étalon.

I.4.1.4.3. Séparation du sérum d'albumine bovine (BSA)

Akoun et al., (2002) ont étudié la performance du VSEP en ultrafiltration de BSA. Ils ont calculé le taux de cisaillement à la membrane en fonction de la fréquence, le déplacement et la viscosité du fluide dans la limite de grands nombres de Reynolds. Ils ont observé que le flux de perméat est proportionnel à $\gamma_p^{0.426}$.

Persson et al., (2003) ont étudié l'influence du pH et de la concentration de sel dans la transmission de BSA en microfiltration tangentielle. Ils ont utilisé deux types des membranes de MF : une membrane Nylon_{0,66} de 0,2 μ m (Pall Filtron) et une membrane de polyéthersulfone (PES) 0,16 μ m (Omega, Pall Filtron). Trois valeurs de pH (3, 5 et 7) ont été testées et la concentration de sel a été de 0 et 0,15M. Une transmission maximale a été obtenue avec la membrane Omega, celle-ci étant affectée par le pH de la solution (100% à pH 5, 95% à pH 7 et 80% à pH 3). Cependant avec la présence de sel dans la solution, la transmission a été de 100% dans tous les cas. Avec la membrane de Nylon, à pH 5, lequel est proche du point isoélectrique (pI) de la protéine, la transmission a été de 100%, mais pour les valeurs de pH 3 et 7 la transmission était plus faible (jusqu'à 40%). Cependant, quand la concentration en sel dans la solution a été augmentée, la transmission l'a été aussi. Leurs résultats ont montré que les interactions électrostatiques entre les protéines et la couche de polarisation et entre les protéines et la membrane affectent la transmission. L'augmentation du flux quand la protéine est proche de son point isoélectrique est due au fait qu'il n'y a pas de répulsions électrostatique entre les protéines de la solution et la couche de polarisation.

Dans ce chapitre nous avons montré l'importance des protéines du lait dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique, et l'intérêt croissant pour développer des procédés pour leur

séparation. La filtration membranaire a été largement étudiée pour cette application, montrant que le problème majeur pour obtenir un flux et une sélectivité élevés sont les phénomènes de polarisation de concentration et de colmatage de la membrane. Nous avons aussi évoqué dans ce chapitre les différentes méthodes pour contrôler le colmatage de la membrane et peu d'entre elles ont été utilisées pour améliorer la séparation des protéines du lait. C'est pour cela cette thèse propose un procédé en cascade pour séparer les protéines du lait en trois fractions principales : les caséines, l' α -Lactalbumine et la β -Lactoglobuline, en faisant intervenir la filtration dynamique afin d'augmenter les performances en vue d'une industrialisation. La Figure I.13 présente le procédé proposé.

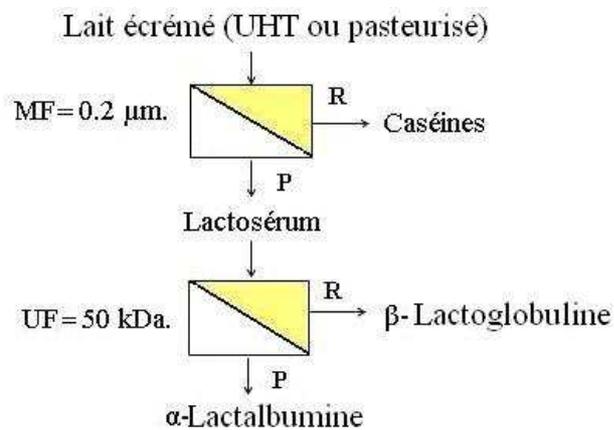


Figure I.13. Schéma du procédé en cascade proposé pour la séparation des protéines du lait par filtration dynamique.

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

L'objet de ce chapitre est la présentation des différents moyens et méthodes qui ont été mis en œuvre pour la réalisation de ce travail. Il se compose d'une description des trois systèmes de filtration dynamique qui sont le prototype à disque rotatif, le système vibrant VSEP et le module MSD, ainsi que des diverses méthodes analytiques utilisées.

II.1. Module Multi Shaft Disk (MSD).

Le multi shaft disk (MSD) a été développé par Westfalia Separator (Aalen-Essingen, Germany). Notre pilote de laboratoire, construit par Westfalia Separator, consiste en deux arbres parallèles qui tournent à la même vitesse, chaque arbre avec 6 disques de membrane céramique de 90 mm de diamètre extérieur et de 41 mm de rayon interne (Figure II.2b). La surface membranaire est de $0,121 \text{ m}^2$ (chaque membrane = $100,8 \text{ cm}^2$). Les disques de chaque arbre se recouvrent sur 15.5% de leur surface. L'entrefer entre les deux disques qui se recouvrent est de 3,75 mm et l'épaisseur du disque est de 6 mm (Figure II.1). La distance entre les deux arbres est de 68 mm. L'arbre et les disques sont dans un carter d'acier inoxydable. Le filtrat est recueilli à l'intérieur de chaque membrane céramique par 14 canaux, puis il est évacué par les deux axes creux. Il est possible d'arrêter le recueil du perméat des membranes dans un axe, par la fermeture de la sortie de l'axe. Grâce à une modification réalisée dans notre laboratoire, les axes du module peuvent tourner à des vitesses différentes.

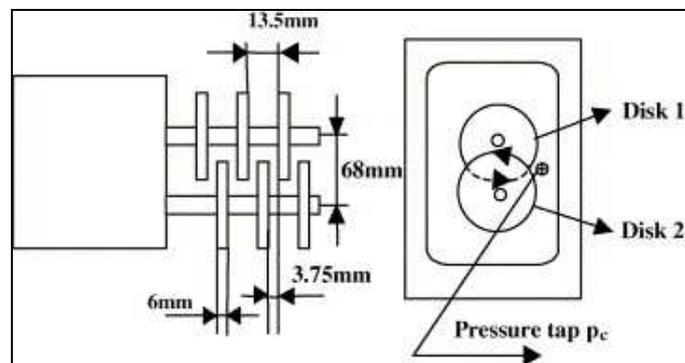


Figure II.1. Schéma de MSD. Il montre seulement trois membranes dans chaque axe.

Un des axes peut être muni des 6 disques métalliques lisses ou à ailettes en aluminium. Les disques ont 90 mm de diamètre extérieur avec un creux central de 1,02 mm, et 6 mm d'épaisseur. Les disques ailettes a huit ailettes radiales de 2 mm de hauteur sur chaque côté, donnant 6 mm d'épaisseur totale, y compris les ailettes (Figure II.2c).

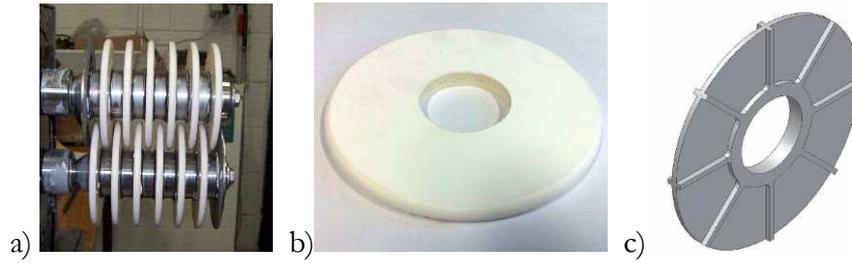


Figure II.2. a) Photographie du module MSD muni de 12 membranes céramiques. b) Disque membranaire céramique. c) Disque métallique à ailettes.

II.1.1. Calcul de la vitesse différentielle dans la zone de recouvrement dans le MSD.

Ding et al., (2006) ont calculé la vitesse différentielle dans la zone de recouvrement des disques. Ils ont trouvé que lorsque les disques membranaires tournent à la même vitesse sur les deux axes, les vitesses différentielles sont constantes dans la région de recouvrement. Ces vitesses différentielles sont égales à $d_i\omega$, où d_i est la distance entre les deux arbres et ω est la vitesse angulaire. C'est pour cela que le taux de cisaillement peut être uniforme dans cette région. Cependant dans le pilote modifié, où les deux axes tournent à des vitesses différentes, les vitesses différentielles dans la région de recouvrement sont plus complexes, et le taux de cisaillement est plus élevé lors de l'utilisation des disques métalliques.

II.1.2. Détermination de la PTM à partir de pression du carter p_c dans le MSD

Du fait que le perméat recueilli dans les canaux des disques céramiques tourne comme un corps solide, sa pression p_p varie avec le carré de la vitesse angulaire dû au forces centrifuges, selon :

$$p_p(r) = p_s + \frac{\rho\omega^2 r^2}{2} \quad (\text{II.1})$$

où p_s est la pression à l'entrée de l'arbre creux, ρ est la masse volumique du fluide et ω est la vitesse angulaire. La valeur moyenne p_0 sur la surface de la membrane est donnée par l'intégration de l'équation II.1 sur la surface de la membrane suivant :

$$p_0 = p_s + \frac{\rho\omega^2(R_1^2 + R_2^2)}{4} \quad (\text{II.2})$$

où R_1 et R_2 sont les rayons externe et interne de la membrane.

Si nous supposons que les variations de la pression radiale du rétentat sont petites en comparaison avec celles du perméat, la pression moyenne du rétentat peut être approximée par la pression mesurée dans le carter p_c , et donc la PTM peut être exprimée par:

$$PTM = p_c - p_0 \quad (\text{II.3})$$

II.1.3. Détermination du taux de cisaillement.

Nous pouvons calculer le cisaillement au niveau de la membrane tournante dans le cas de 6 disques membranaires sur un seul arbre.

Afin de simplifier le calcul nous avons supposé que le taux de cisaillement sur la membrane est induit principalement par sa propre rotation, car il n'y a pas de vitesse relative entre les disques membranaires voisins.

La contrainte de cisaillement sur un disque rotatif a été étudiée par *Murkes & Carlsson (1988)*, proposant différentes expressions pour quatre régimes d'écoulement. Dans notre système, deux régimes sont importants :

✓ Régime laminaire et écartement large

$$\text{Re}_s = \frac{s^2 \omega}{\nu} > 4 ; \text{Re}_r = \frac{r^2 \omega}{\nu} < 2 \cdot 10^5$$

Le taux de cisaillement local s'écrit :

$$\gamma_l = 1,81\nu^{-0,5} (k\omega)^{1,5} r \quad (\text{II.4})$$

✓ Régime turbulent et écartement large

$$\text{Re}_r > 2 \cdot 10^5 ; \frac{s}{r} > 0,5$$

Le taux de cisaillement local s'écrit

$$\gamma_t = 0,057\nu^{-0,5} (k\omega)^{1,8} r^{1,6} \quad (\text{II.5})$$

où s est la distance axiale entre le disque et la surface du carter (c'est-à-dire l'entrefer), r est le rayon local du disque, et ν est la viscosité cinématique. Re_s est le nombre de Reynolds dans l'entrefer et Re_r est le nombre de Reynolds local de rotation. k est le coefficient d'entraînement du fluide.

Le module MSD donne un rapport $s/(R_2 - R_1)$ de l'ordre de 0,55. Donc le taux de cisaillement local sur la membrane, pour le cas de 6 disques céramiques sur un arbre, peut être calculé utilisant les équations II.4 et II.5. Nous pouvons calculer donc, le taux de cisaillement maximal et moyen suivant :

✓ Régime laminaire ($\text{Re}_d = \frac{\text{Re}_d^2 \omega}{\nu} < \sim 3 \cdot 10^5$)

Le taux de cisaillement maximum sur la membrane se trouve à la périphérie du disque membranaire tournant, et il s'exprime par :

$$\gamma_{\max} = 1,81\nu^{-0,5} (k\omega)^{1,5} R_2 \quad (\text{II.6})$$

Le taux de cisaillement moyen sur la membrane est obtenu par intégration de l'équation II.4, obtenant

$$\bar{\gamma}_m = \frac{1,207\nu^{-0,5}(k\omega)^{1,5}(R_1^3 - R_2^3)}{(R_1^2 - R_2^2)} \quad (\text{II.7})$$

✓ Régime turbulent ($\text{Re}_d > \sim 3 \cdot 10^5$)

Le taux de cisaillement sur la membrane peut être calculé par :

$$\gamma_{\max} = 0,057\nu^{-0,5}(k\omega)^{1,8} R_2^{1,6} \quad (\text{II.8})$$

Le taux de cisaillement moyen sur la membrane est obtenu par intégration de l'équation

II.5

$$\bar{\gamma}_m = \frac{0,0317\nu^{-0,8}(k\omega)^{1,8}(R_1^{3,6} - R_2^{3,6})}{(R_1^2 - R_2^2)} \quad (\text{II.9})$$

II.1.4. Montage expérimental

La Figure II.3 montre le montage expérimental pour le module MSD. Le fluide est alimenté depuis un réservoir thermostaté de 12 L vers le module de filtration par une pompe volumétrique. Un capteur de pression est utilisé pour mesurer la pression de fonctionnement.

Le circuit comprend :

- ✓ Un module de filtration Multishaft disk
- ✓ Deux moteurs, un pour chaque arbre, permettant la rotation des arbres avec une vitesse de rotation allant jusqu'à 1930 tr.min⁻¹
- ✓ Une pompe à membrane HYDRA-CELL (8 L.min⁻¹ maximum) haute pression (70 bar)
- ✓ Un capteur de pression VALYDINE DP15 (précision 3%), pour mesurer la pression périphérique qui permettra le calcul de la pression transmembranaire
- ✓ Une balance électronique SARTORIUS B3100P (mac. 3100 g ; min 5 g) pour mesurer le débit de perméat. Elle est connectée à un ordinateur afin d'enregistrer le débit de filtration, déduit par la dérivation de signal de la balance par rapport au temps. La précision sur les flux est d'environ 5%
- ✓ Une vanne de contre-pression placée en sortie du circuit pour régler la pression dans le module de filtration
- ✓ Un ordinateur muni d'une carte d'acquisition analogique/numérique pour saisir les données avant traitement.

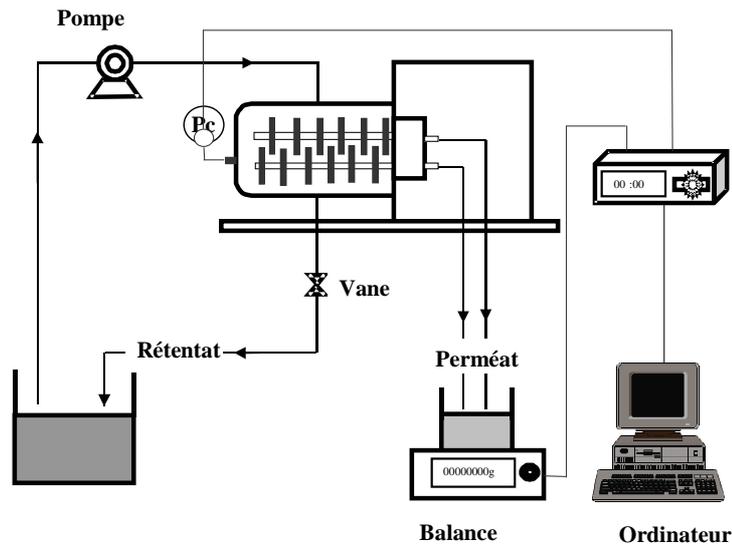


Figure II.3. Montage expérimental lors des essais sur le module MSD.

II.2. Module à Disque Rotatif

Le module à disque rotatif consiste en un disque métallique qui tourne à haute vitesse près d'une membrane circulaire. Ces types de systèmes, disponibles à l'échelle de laboratoire et industrielle, se sont montrés très efficaces, spécialement pour la récupération de macromolécules à partir de suspensions cellulaires, ainsi qu'en UF, NF et OI.

Le module de filtration utilisé est schématisé sur la Figure II.4. Nous pouvons y noter que l'alimentation du module de filtration se fait par une entrée qui se situe derrière le disque. Le rétentat était auparavant évacué par l'arbre de rotation qui était creux. Dans le système actuel, la sortie du rétentat s'effectue par la face avant du module. Ces modifications ont été réalisées afin de permettre d'atteindre des pressions de fonctionnement plus importantes. Ainsi, cette nouvelle configuration permet de monter à des pressions de l'ordre de 4000 kPa au lieu des 2000 obtenus avec la configuration précédente. La membrane est fixée face au disque. Le filtrat est recueilli par un orifice situé sur la partie avant du module.

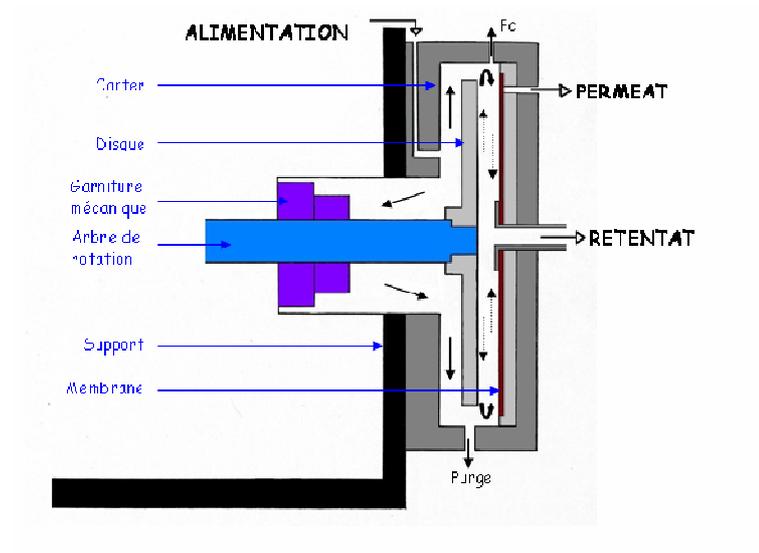


Figure II.4 Schéma du module à disque rotatif.

II.2.1. Calcul du taux de cisaillement

Bouzerar *et al.*, (2000a) ont calculé le cisaillement sur la membrane pour les régimes laminaire et turbulent.

✓ Régime laminaire ($Re < 3 \cdot 10^5$).

Le taux de cisaillement sur la membrane est donné par l'équation suivante :

$$\gamma_p = 0,77v^{-0,5} (k\omega)^{1,5} r \quad (\text{II.10})$$

Le taux de cisaillement maximum à la périphérie du disque, où $r=R$, est :

$$\gamma_{\max} = 0,77v^{-0,5} (k\omega)^{1,5} R \quad (\text{II.11})$$

Le taux de cisaillement moyen sur la membrane est obtenu par intégration de l'équation II.10 sur la surface de la membrane, soit :

$$\bar{\gamma}_m = \frac{2}{3} 0,77v^{-0,5} (k\omega)^{1,5} R \quad (\text{II.12})$$

et pour la contrainte de cisaillement moyen, nous trouvons :

$$\bar{\tau}_{\text{moy}} = \mu \bar{\gamma} = \frac{2}{3} 0,77 \rho v^{-0,5} (k\omega)^{1,5} R \quad (\text{II.13})$$

✓ Régime turbulent ($Re > 3 \cdot 10^5$), c'est le plus fréquent :

Le taux de cisaillement sur la membrane est donné par la relation suivante :

$$\gamma_p = 0,0296v^{-0,8} (k\omega)^{1,8} r^{1,6} \quad (\text{II.14})$$

Le taux de cisaillement maximal (sur la périphérie de la membrane) est obtenu en remplaçant r par R dans l'équation II.14, soit :

$$\gamma_{\max} = 0,0296v^{-0,8} (k\omega)^{1,8} R^{1,6} \quad (\text{II.15})$$

Le taux de cisaillement moyen sur la membrane est obtenu par intégration de l'équation précédente sur la surface de la membrane, soit :

$$\bar{\gamma}_m = 0,0164\nu^{-0,8} (k\omega)^{1,8} R^{1,6} \quad (\text{II.16})$$

et pour la contrainte de cisaillement moyen, nous trouvons :

$$\tau_{\text{moy}} = \mu\bar{\gamma}_{\text{moy}} = 0,0164(\rho\nu)^{-0,8} (k\omega)^{1,8} R^{1,6} \quad (\text{II.17})$$

La pression transmembranaire peut être calculée à partir de la pression périphérique (P_c) par l'expression suivante, (Bouzerar et al., 2000a) :

$$PTM = P_c - \frac{\rho k^2 \omega^2 R^2}{4} \quad (\text{II.18})$$

où:

μ : viscosité cinématique du fluide

r : rayon de la membrane ($0 < r < R$)

ω : vitesse angulaire du disque

R : rayon extérieur de la membrane ($R = 0,0725$ m)

ρ : masse volumique du fluide

k : coefficient d'entraînement du fluide

Les coefficients d'entraînement du fluide ont été calculés à partir de la mesure de la pression périphérique à diverses vitesses de rotation et on a trouvé que, k est égal à 0,42 pour le disque lisse et 0,89 pour le disque à ailettes de 6 mm de hauteur (Frappart, 2006).

II.2.2. Montage expérimental

Le circuit comprend (Figure II.5), hors le module de filtration, le même montage expérimental que le module MSD (cf II.1.4).

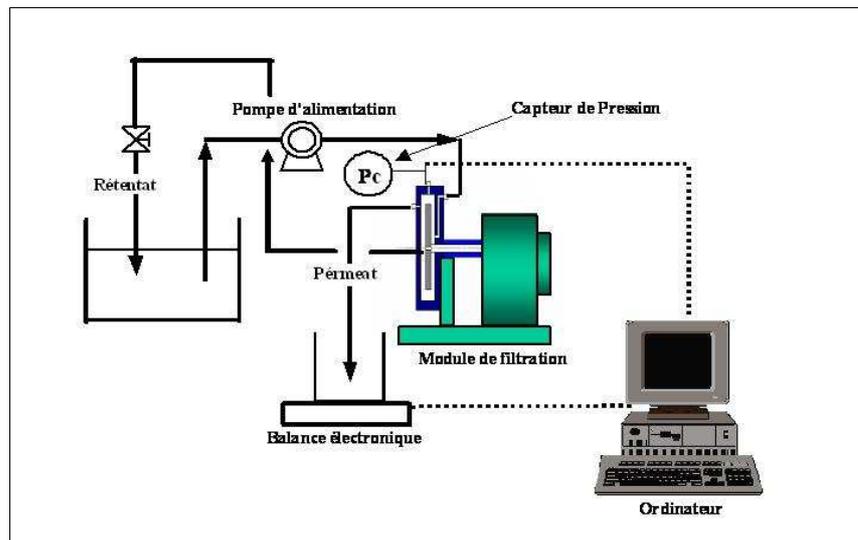


Figure II.5 Montage expérimental lors des essais sur disque rotatif

Le module peut être équipé d'un disque lisse ou avec ailettes. Nous avons utilisé lors des essais le disque muni d'ailettes de hauteur $s = 6$ mm et d'épaisseur $l = 2$ mm. Ces disques ont un diamètre de 14,5 cm. (Figure II.6).

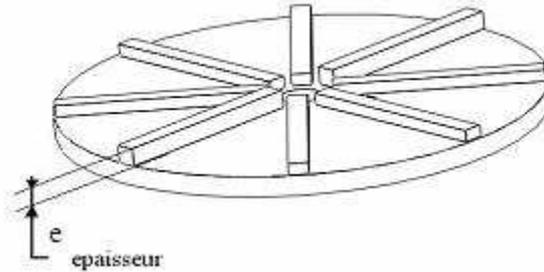


Figure II.6. Schéma de disque à ailettes utilisé dans le module à disque rotatif.

II.3. Membranes utilisées

Lors de cette étude, nous avons utilisé différents types de membrane. Ses caractéristiques sont détaillées sur le Tableau II.1

La résistance de la membrane a été mesurée avec l'équation II.19 :

$$R_m = \frac{1}{Lp\mu} \quad (\text{II.19})$$

où Lp est la perméabilité de la membrane et μ est la viscosité de l'eau (Pa s). La perméabilité de la membrane a été calculée traçant la courbe de flux d'eau à différentes pressions transmembranaires.

Tableau II.1. Caractéristiques des membranes utilisées dans cette étude.

Procédé	Matériaux	Seuil de coupure/ Cut-off	Température (°C)	Résistance membranaire (m^{-1})	Fabricant/Modèle
MF	Nylon	0,2 μm	20	$6,75 \cdot 10^{11}$	Pall Co
	PVDF	0,2 μm	20	$7,90 \cdot 10^{11}$	Nadir/M020
	PVDF	0,15 μm	20	$3,07 \cdot 10^{12}$	Alfa Laval
	Céramique	0,2 μm	20	$6,04 \cdot 10^{11}$	Aaflow
UF	PES	50 kDa	20	$9,93 \pm 4,79 \cdot 10^{11}$ (*)	Nadir/UP050
	PES	20 kDa	20	$7,56 \cdot 10^6$	Nadir/UP020

(*) Moyenne des résistances calculée avec toutes les membranes utilisées.

II.4. Fluides utilisés

Dans cette étude deux types de lait écrémé ont été utilisés : du lait UHT et du lait pasteurisé.

II.4.1. Lait UHT écrémé

Nous avons utilisé un lait écrémé commercial (lait de montagne, Carrefour) stérilisé à Ultra Haut Température (UHT, 140°C pendant 2 secondes). La composition moyenne (en g.L⁻¹) du lait UHT selon le fournisseur est la suivante :

- ✓ Protéines totales : 32
- ✓ Glucides (lactose) : 48
- ✓ Lipides : traces
- ✓ Calcium : 1,2
- ✓ Sodium : 0,5

II.4.2. Lait pasteurisé écrémé

Le lait pasteurisé écrémé a été obtenu dans une laiterie à Clermont (Lactel, 60, France). La concentration moyenne de protéine totale, selon le fournisseur est de 30 g.L⁻¹, contenant 1,27±0,14 g.L⁻¹ d'α-La et 2,07±0,13 g.L⁻¹ de β-Lg.

Les autres composants n'ont pas été mesurés

II.5. Analyses physico-chimiques

II.5.1. Détermination des transmissions de caséines par turbidité.

La turbidité du perméat caractérise la transmission des micelles de caséines à travers la membrane. La valeur admissible de turbidité lors de la séparation des micelles de caséines des protéines de lactosérum est de 50 NTU, correspondant à une rétention de caséines supérieure à 98% (*Gésan-Guizjou et al., 1999b*).

La turbidité du perméat a été mesurée par un turbidimètre HACH (Etas Unis d'Amérique). L'étendue de la mesure de l'appareil est comprise entre 2 et 200±1 NTU.

II.5.2. Détermination de la concentration des protéines solubles par HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Afin de calculer la concentration d'α-Lactalbumine et de β-Lactoglobuline pendant la réalisation de cette étude, nous avons fait un étalonnage de ces deux principales protéines. Pour ce faire nous avons fabriqué des solutions d'α-Lactalbumine type III de lait bovin (L6010) et β-Lactoglobuline de lait bovin (L3908) (Sigma-Aldrich Chimie Sarl, France) à différentes concentrations, lesquelles ont été analysées par HPLC. La mesure HPLC a été faite sur une colonne Vydac (250x4.6 mm, 5 μm, 300 Å) selon la méthode de *Jaubert & Martin, (1992)* décrite par *Akoum (2003)*.

Conditions opératoires :

- ✓ Colonne thermostatée à 40 °C
- ✓ Débit : 1 ml min⁻¹

- ✓ Volume injecté : 50 μ L
- ✓ Tampon A : eau milli-Q + 0.1% acide trifluoro acétique (TFA)
- ✓ Tampon B : un mélange eau milli-Q (20%) + acétonitrile (80%) + TFA (0.096%)

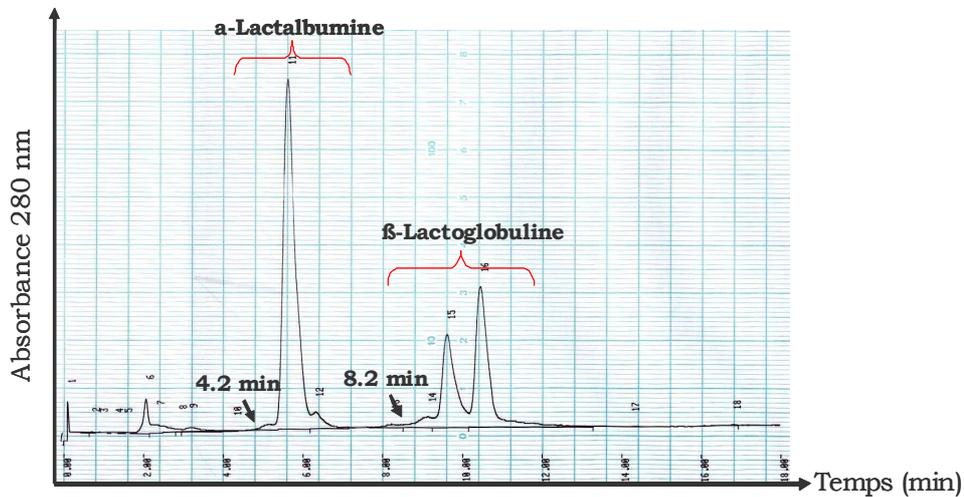
Gradient de séparation :

La séparation de l' α -La et de la β -Lg est obtenue par le gradient suivant : 0-14 min : 52%A-48%B ; 15-16 min : 39%A-61% ; 17-23 min : 0%A-100%B ; 24-34 min : 52%A-48%B.

Détection :

La détection est effectuée par un détecteur UV à 280 nm. L'étalonnage de la colonne est réalisé sur des solutions étalons d' α -La+ β -Lg et est vérifié au début de chaque campagne de dosages.

La Figure II.7 montre un chromatogramme et la Figure II.8 les courbes d'étalonnage.



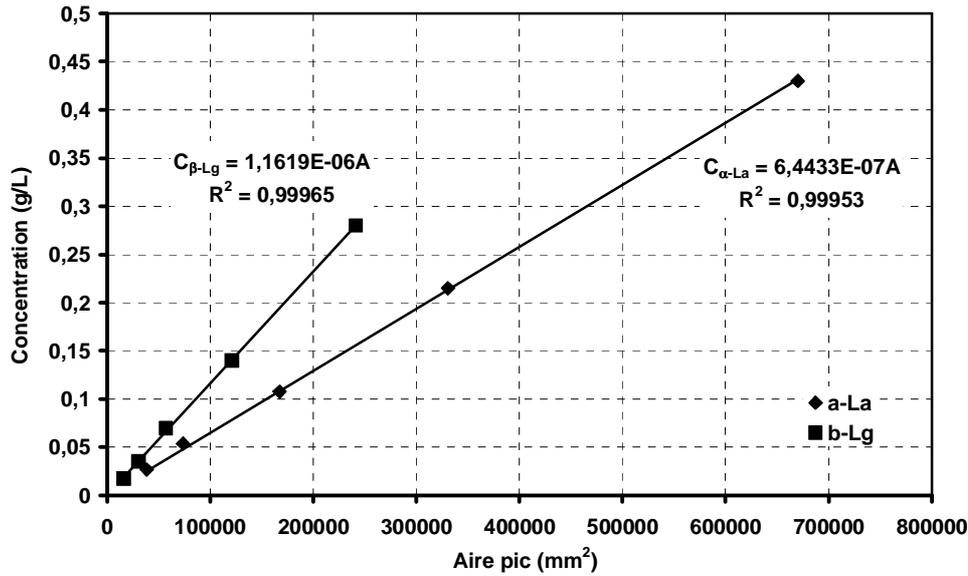


Figure II.8. Courbes d'étalonnage d' α -Lactalbumine et de β -Lactoglobuline.

Pour le calcul des concentrations des protéines solubles, nous avons utilisé les équations qui apparaissent sur la Figure II.8.

$$C_{\alpha-La} = 6,4433 \cdot 10^{-7} \cdot A \quad R^2 = 0,9953 \quad (\text{II.20})$$

$$C_{\beta-Lg} = 1,1619 \cdot 10^{-6} \cdot A \quad R^2 = 0,9965 \quad (\text{II.21})$$

où A est l'aire sous le pic en mm^2 .

L'erreur relative sur le calcul des concentrations est estimée à 5 %.

A cause de la pénurie d'acétonitrile à la fin du 2008, nous avons remplacé ce solvant par du méthanol. Les tampons ont été préparés avec la même proportion, mais nous avons changé le gradient de séparation afin d'avoir une meilleure résolution. Ce gradient est à : 0 min: 30% A-70% B; 5 min: 20% A-80% B; 10 min: 10% A-90% B; 15 min: 0% A-100% B; 25 min: 20% A-80% B; 30 min: 30% A-70% B; 35 min: 30% A- 70% B.

Les concentrations d' α -La et de β -Lg dans ce cas, sont donc calculées par :

$$C_{\alpha-La} = 6,8906 \cdot 10^{-7} \cdot A \quad R^2 = 0,9846 \quad (\text{II.22})$$

$$C_{\beta-Lg} = 7,8615 \cdot 10^{-7} \cdot A \quad R^2 = 0,9803 \quad (\text{II.23})$$

La Figure II.9 montre un chromatogramme des protéines pures quand le méthanol a été utilisé comme réactif au lieu de l'acétonitrile.

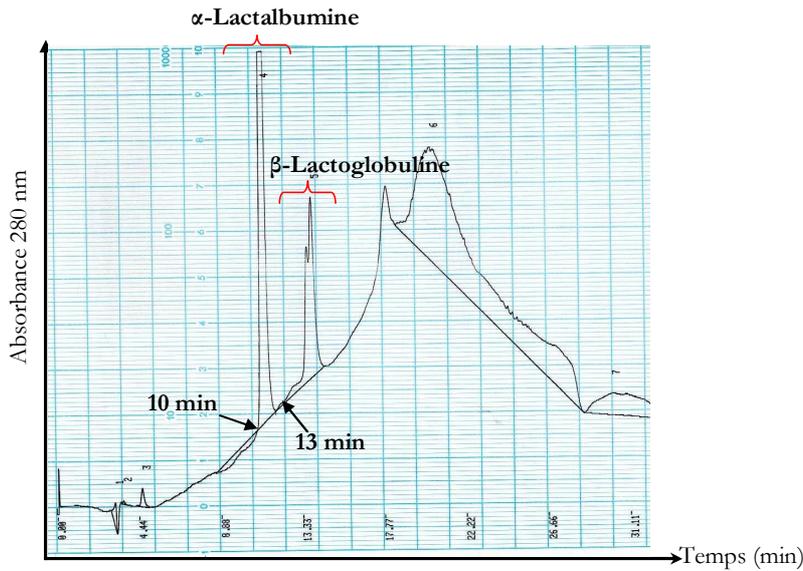


Figure II.9. Chromatogramme d'un mélange d' α -Lactalbumine et de β -Lactoglobuline pures, en utilisant méthanol comme réactif.

La transmission des protéines solubles a été calculée par :

$$Tr = \frac{C_p}{C_r} \quad (\text{II.24})$$

où C_p et C_r sont les concentrations de protéines, respectivement dans le perméat et le rétentat en g.L^{-1} . Dans ce travail nous avons seulement calculé la transmission des deux protéines ciblées : l' α -La et la β -Lg.

La sélectivité a été calculé par :

$$S = \frac{Tr_{\alpha-La}}{Tr_{\beta-Lg}} \quad (\text{II.25})$$

La récupération a été calculée par :

$$Y = \frac{V_{p,r} \cdot C_{p,r}}{V_i C_i} \quad (\text{II.26})$$

où $V_{p,r}$ est le volume finale (L) dans le perméat (p) ou dans le rétentat (r), $C_{p,r}$ est la concentration de protéines (g.L^{-1}) dans le perméat (p) ou dans le rétentat (r), V_i le volume initial (L) et C_i la concentration initiale de protéines (g.L^{-1}).

II.5.3. Préparation des échantillons.

Avant d'injecter les échantillons dans l'HPLC ceux-ci ont suivi un prétraitement afin d'éviter la présence de caséine dans les échantillons.

A chaque échantillon, nous avons additionné de l'acide acétique (solution à 10% m/v) pour provoquer la chute du pH jusqu'à une valeur proche de 4,3. Après 5 minutes de

stabilisation, nous avons rajouté une solution d'acétate de sodium (M) afin de remonter le pH au pI des caséines (4,6), achevant ainsi leur précipitation. Après 20 minutes de stabilisation à 40 °C, les échantillons ont été filtrés avec des filtres seringue (Minisart RC 25.Sartorius) pour séparer la phase soluble du coagulum.

II.5.4. Mesures de viscosité du lait

La viscosité dynamique des laits UHT et pasteurisé a été mesurée par un viscosimètre à cylindres coaxiaux (Rheostress Rheometer) dans une gamme de taux de cisaillement comprise entre 500 et 1500 s⁻¹ sur des échantillons du lait UHT, du lait pasteurisé, des rétentat et de perméat à différents FRV. Les valeurs de viscosité ont été utilisées pour réaliser l'étude de résistances lors de la concentration du lait et de lactosérum.

II.6. Prétraitement de la membrane PVDF

Selon les spécifications données par le fournisseur des membranes PVDF, elles doivent suivre un prétraitement avant utilisation. Ce prétraitement consiste à tremper la membrane dans une solution d'éthanol pendant 1 h avant utilisation. Après le prétraitement la membrane a été nettoyée avec de l'eau déminéralisée.

II.7. Protocole de nettoyage des membranes et du système.

Les membranes céramiques, tout comme les membranes organiques de PVDF, ont été nettoyées après utilisation. Nous avons utilisé le protocole de nettoyage suivant lors des essais :

- ✓ Rinçage du circuit avec de l'eau déminéralisée pour évacuer le lait
- ✓ Nettoyage avec une solution P3-Ultrasil 10 (ECOLAB) à une concentration de 0,5% (pH 11). Pendant 1h en circuit fermé et 5 min en circuit ouvert (vidange du système)
- ✓ Rinçage du circuit avec de l'eau déminéralisée jusqu'à obtention du pH initial (7,0).
- ✓ Après rinçage la perméabilité des membranes a été mesurée. Nous avons observé dans tous les cas que la perméabilité initiale augmente après le nettoyage.

Pour le nettoyage du système sans membranes, nous avons suivi le même protocole décrit précédemment, mais en enlevant au préalable la membrane et les disques pour le module à disque rotatif et le MSD, quand ils ont été munis de disques métalliques.

II.8. Protocole opératoire des essais effectués.

Les essais effectués au cours de cette étude ont tous été réalisés suivant le protocole ci-dessous

- ✓ Calibration des capteurs de pression.

-
- ✓ Mise en place de la membrane ou des membranes (Module MSD) et mesure de sa perméabilité avec de l'eau déminéralisée. Nous avons vidé ensuite complètement le circuit en faisant fonctionner la pompe d'alimentation à vide.
 - ✓ L'alimentation se fait à partir du récipient contenant la solution à filtrer (lait écrémé et perméats). Cette solution est préalablement chauffée jusqu'à ce que la température de travail soit atteinte, en utilisant une plaque chauffante. Le bac d'alimentation étant muni d'une double enveloppe et d'un serpentín, c'est lui qui assurera le maintien de la température.
 - ✓ Pour le cas du système MSD nous avons vidé le carter afin d'enlever l'eau restante avant d'alimenter le système.
 - ✓ Lors du démarrage de la pompe nous avons, selon le type de module, mis en rotation les disques ou les membranes, ou mis en route les vibrations. Les premiers 200 ml de solution, dilués par l'eau qui stagnait dans le circuit du VSEP sont récupérés puis jetés. Le module à disque rotatif étant équipé d'une purge, il n'est pas nécessaire d'effectuer cette opération. Pour le module MSD nous avons récupéré, puis jeté, les premiers 500 ml de solution.
 - ✓ La première étape consiste à étudier l'influence de la PTM sur le flux ($J=f(PTM)$). Pour cela, la PTM est fixée et nous avons attendu la stabilisation du flux pour chaque valeur de la PTM. Le temps de stabilisation est variable pour chaque membrane organique. Nous avons pris des échantillons de perméat pour chaque PTM, afin de mesurer leur turbidité puis de les analyser par HPLC.
 - ✓ Une fois obtenus les résultats de transmission de protéines et de rétention de caséines, nous avons choisi la vitesse de rotation, ou la fréquence de vibration et la PTM pour effectuer les essais de concentration. Cette fois, nous suivons l'évolution du flux en fonction du FRV ($J=f(FRV)$)

**CHAPITRE III : SEPARATION DES CASEINES
PAR MICROFILTRATION : COMPARAISON DES
MODULES MSD ET A DISQUE ROTATIF.**

Cette partie est consacrée à la première étape du procédé proposé et qui correspond à l'étude de la microfiltration de lait (cadre pointillé sur la Figure III.1). Cette étape de microfiltration a comme objectif, dans cette étude, la séparation des caséines des protéines de lactosérum. Nous avons testé deux systèmes de filtration dynamique : le module MSD et le module à disque rotatif. Nous allons comparer les résultats obtenus avec ces deux modules. Le pilote MSD n'avait pas encore été utilisé avec du lait et nous verrons par la suite les avantages de ce module en comparaison avec les modules à filtration tangentielle et les autres systèmes dynamiques. Nous avons évalué de nombreux paramètres (cisaillement, pression) pour trouver des conditions optimales de fonctionnement de ces modules pour obtenir à la fois une rétention de caséines et une transmission de protéines de lactosérum maximales.

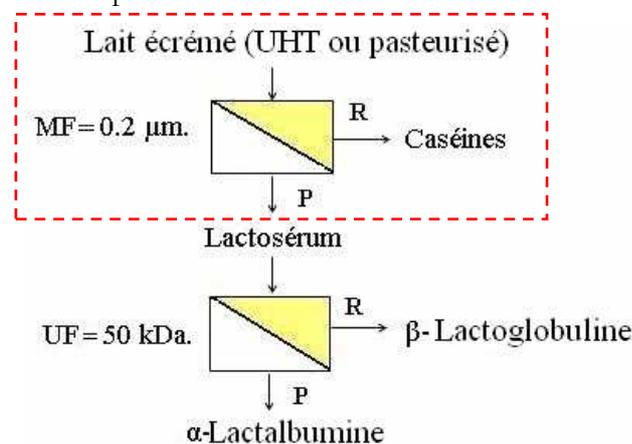


Figure III.1. Schéma du procédé proposé pour le fractionnement des protéines du lait.

III.1. Essais sur le module MSD.

La séparation a été testée sur le module MSD avec du lait UHT écrémé et du lait pasteurisé écrémé. Dans un premier temps, nous avons utilisé du lait UHT écrémé dans les essais car ce lait est plus facilement disponible sur le marché et sa durée de conservation est supérieure à celle du lait pasteurisé. Par la suite nous montrerons les résultats de performances du module MSD avec du lait UHT, que nous comparerons à ceux obtenus avec du lait pasteurisé. Cette comparaison a été réalisée dans le but de savoir si le lait UHT pourrait être utilisé comme fluide modèle, lors de la séparation de micelles de caséines.

III.1.1. Essais avec lait UHT écrémé

Le module MSD a quatre configurations possibles :

- 6 disques céramiques sur chacun des arbres
- 6 disques céramiques sur 1 arbre.
- 6 disques céramiques sur le premier arbre et 6 disques métalliques lisses sur le deuxième arbre.

d) 6 disques céramiques sur le premier arbre et 6 disques métalliques à ailettes sur le deuxième arbre.

Nous avons étudié ces cas afin de connaître les effets des disques métalliques sur les performances. Nous présentons ici les résultats obtenus.

III.1.1.1. Variation du flux, de la rétention de caséines et des transmissions de protéines solubles avec la PTM à FRV = 1.

Dans une première étape nous avons étudié les trois configurations décrites précédemment à FRV = 1 et nous avons varié la PTM, afin de déterminer la configuration et conditions opératoires optimales pour la séparation de caséines. Pour cela, nous avons fixée la PTM et nous avons attendu la stabilisation du flux avant de monter au prochain palier de PTM. Nous avons observé que la stabilisation du flux avec les membranes céramiques est d'environ 10 min.

III.1.1.1.1. Comparaison entre les configurations à 6 disques céramiques sur 1 arbre et à 6 disques céramiques plus 6 disques lisses.

Nous comparons ici les performances de module MSD dans les configurations de 6 disques céramiques sur 1 arbre, et 6 disques céramiques sur le premier arbre et 6 disques métalliques lisses sur le deuxième arbre.

Ces essais sont réalisés en changeant les vitesses de rotation des disques céramiques (N_c) et des disques métalliques lisses (N_{m_l}). Le taux cisaillement généré par ces disques est plus faible que celui généré par les disques à ailettes.

La Figure III.2 montre le flux de perméat en fonction de la PTM pour deux essais avec des disques céramiques seuls (symboles pleins), et deux essais avec des disques métalliques sur le deuxième arbre (symboles creux).

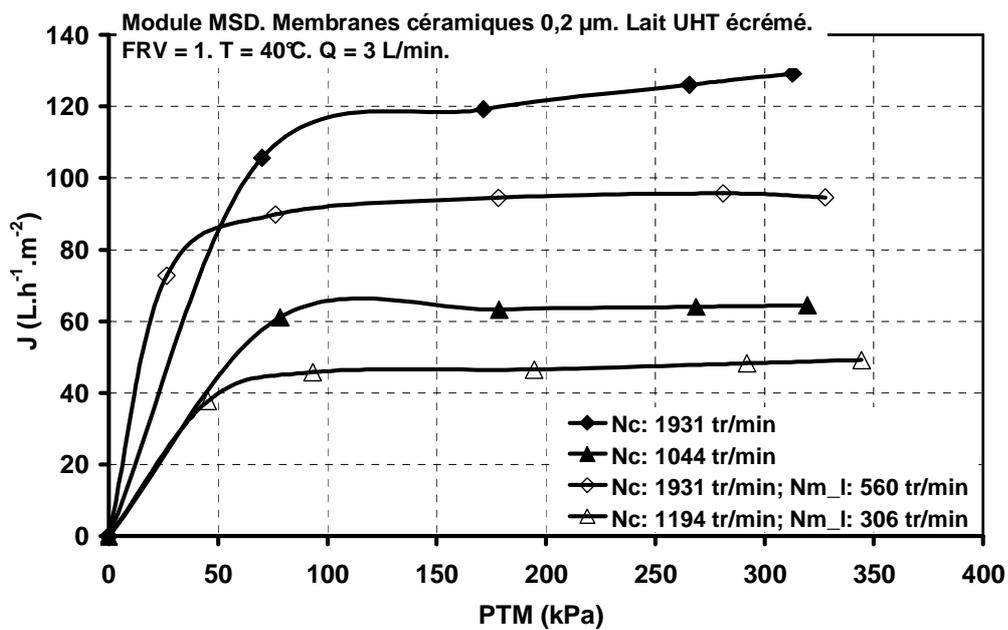


Figure III.2. Evolution du flux en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques lisses. Nm₁ : vitesse de rotation de disques métalliques lisses, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

Le flux de perméat est plus faible avec les disques métalliques que sans eux. Par exemple, à $Nc = 1931 \text{ tr.min}^{-1}$ et $Nm_1 = 560 \text{ tr.min}^{-1}$, le flux de perméat maximum a été de $95 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, au lieu des $132 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ obtenus sans disques métalliques, les disques céramiques tournant à 1931 tr.min^{-1} . Ce phénomène est aussi observé à faibles vitesses de rotation, avec un flux maximal de $49 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ à $Nc = 1194 \text{ tr.min}^{-1}$ et $Nm_1 = 306 \text{ tr.min}^{-1}$, au lieu de $62 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ obtenus avec seulement 6 disques céramiques à 1044 tr.min^{-1} .

Dans tous les cas nous avons obtenu une PTM limite de 70 kPa, ce qui suggère que cette pression ne varie pas avec la configuration du système, et semble donc plus en relation avec le fluide à filtrer. Nous observons que le flux de perméat diminue en présence des disques. Deux hypothèses peuvent être faites pour expliquer ce comportement. La première est une déstabilisation des micelles de caséine causée par les taux de cisaillement générés par les disques métalliques. Les micelles des caséines sont formées de sous-micelles d'environ $5 \cdot 10^6 \text{ Da}$ liés entre elles avec du phosphate de calcium colloïdal (Farrel, 1999; Fox, 2003), ces liaisons pourraient être cassés par les taux de cisaillement formant ainsi ces sous-micelles. Les sous micelles, étant par nature plus petits que les micelles, elles pourraient colmater plus facilement les pores de la membrane, diminuant ainsi le flux de perméat. Une deuxième hypothèse serait une diminution de

la PTM locale, provoquée pour l'augmentation de vitesse du fluide entre les disques membranaires et les disques métalliques. Engler & Wiesner (2000), ont observé un phénomène similaire en utilisant un disque membranaire rotatif. Ce comportement a été attribué à une contre-pression liée aux forces centrifuges, en réduisant la pression à la sortie de l'axe et en augmentant la pression à l'entrée de la membrane. Comme l'augmentation à l'entrée est moins importante qu'à la sortie, due en partie à la perte de charge à travers de la membrane, le résultat net est une diminution de la PTM locale et donc une diminution du flux de perméat.

Pour évaluer la rétention de micelles de caséines, nous avons suivi la turbidité des perméats en fonction de la PTM à diverses vitesses de rotation. Les résultats sont tracés sur la Figure III.3.

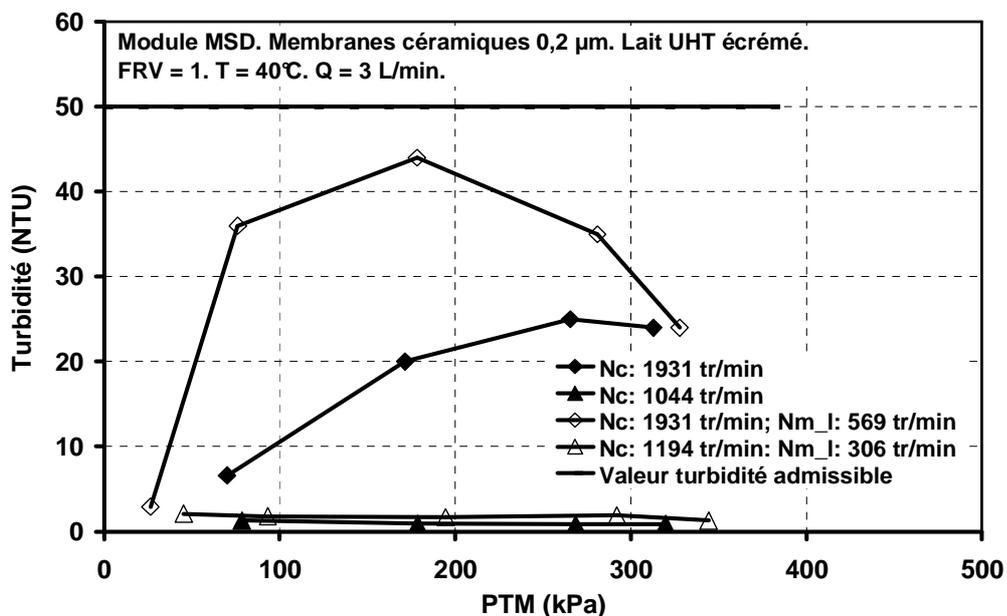


Figure III.3. Turbidité du perméat en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques lisses. Nm_l : vitesse de rotation de disques métalliques lisses, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

La turbidité du perméat a augmenté de 70% pour une vitesse de rotation de 1931 tr.min⁻¹ en présence de disques métalliques, sans doute à cause du taux de cisaillement qui augmente la transmission des micelles de caséines. Cependant la turbidité a atteint des valeurs inférieures à la valeur maximale admissible (50 NTU) pour toutes les vitesses de rotation. Cette augmentation de la turbidité due aux taux de cisaillement élevés a aussi été observée par Akoum (2003) pendant la

MF du lait utilisant un module VSEP à une fréquence de 60,75 Hz et des membranes en PTFE et en Nylon de 0,1 μm . Selon l'auteur, le taux de cisaillement élevé généré à 60,75 Hz ne permettait pas de créer un dépôt des micelles sur la membrane, lequel se comporterait comme une couche filtrante additionnelle, en augmentant ainsi la rétention des micelles de caséines.

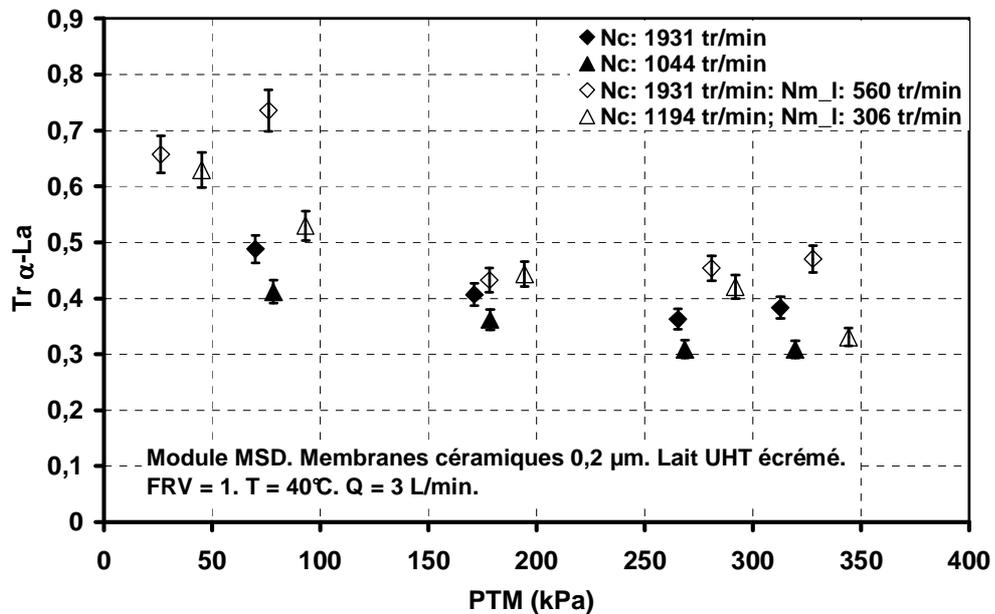


Figure III.4. Transmissions d' α -La en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques lisses. Nm_l : vitesse de rotation de disques métalliques lisses, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

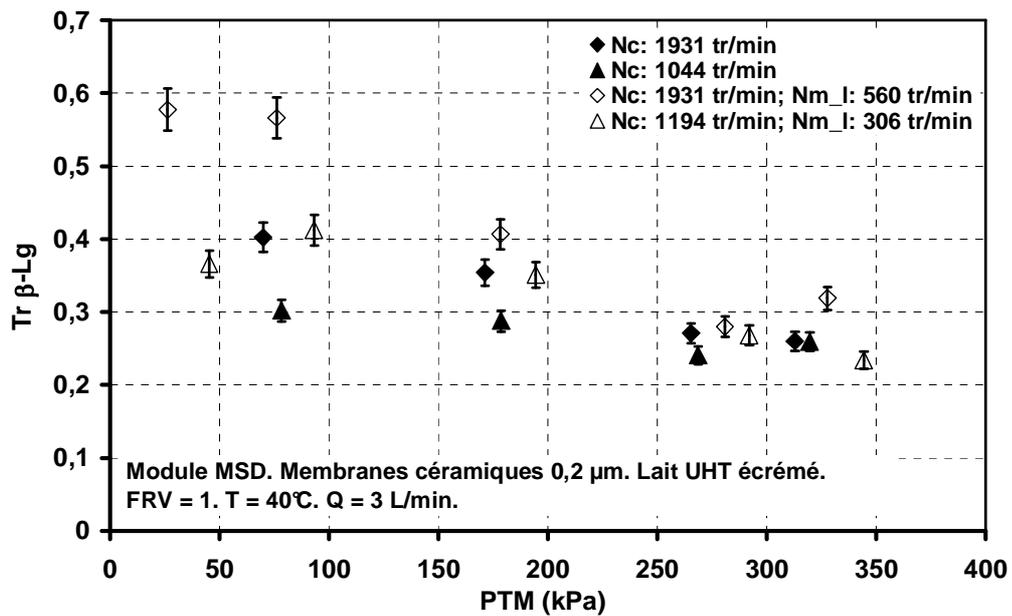


Figure III.5. Transmission de β -Lg en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques lisses. Nm_1 : vitesse de rotation de disques métalliques lisses, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

La Figure III.4 montre la transmission d' α -La en fonction de la PTM. Nous observons qu'à faible PTM la transmission augmente de 0,48 à 0,73 en présence des disques métalliques, puis elle diminue avec la PTM en obtenant des valeurs moyennes de 0,4. La transmission de β -Lg (Figure III.5) a suivi aussi la même tendance, augmentant à faible PTM de 0,45 à 0,56. A partir d'une PTM 250 kPa, la transmission se maintient constante à environ 0,25.

Le comportement suivi par les deux protéines indique que l'effet des taux de cisaillement n'est pas très important quand nous travaillons à des PTM supérieures à la PTM critique.

III.1.1.1.2. Comparaison entre les configurations à 6 disques céramiques sur 1 arbre et à 6 disques céramiques plus 6 disques métalliques à ailettes.

Cette comparaison a été effectuée afin de savoir si la configuration comprenant 6 disques métalliques à ailettes donne une meilleure performance que la configuration avec 6 disques sur 1 arbre.

Les essais sont effectués en changeant les vitesses de rotation des disques métalliques à ailettes (Nm_a) et en maintenant les disques céramiques à la même vitesse de rotation (Nc), 1931 tr.min⁻¹.

La Figure III.6 montre le flux de perméat en fonction de la PTM.

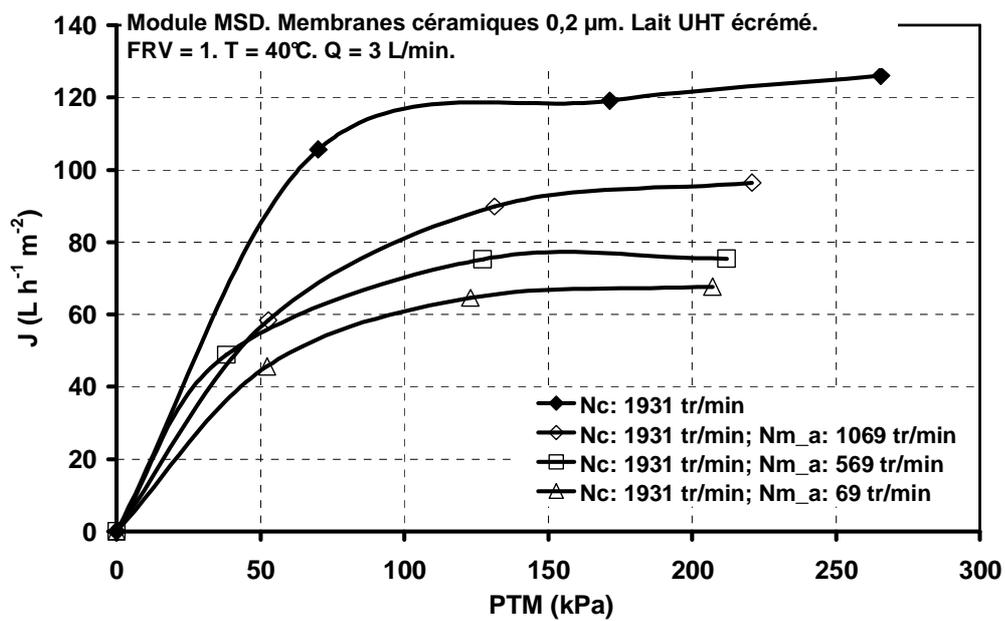


Figure III.6. Evolution du flux de perméat en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques à ailettes. Nm_a : vitesse de rotation de disques métalliques à ailettes, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

Nous observons le même comportement qu'avec les disques métalliques lisses, les flux de perméat sont entre 26 et 79% plus faibles qu'avec les 6 disques céramiques sur un arbre. Cependant, le flux de perméat augmente avec la vitesse de rotation de disques métalliques à ailettes (Nm_a), dû à l'augmentation du taux de cisaillement. Nous observons que la PTM limite est atteinte vers 120 kPa pour toutes les vitesses de rotation. A la PTM critique, le flux a augmenté de $64 \text{ L.h}^{-1}\text{m}^{-2}$ à une Nm_a de 69 tr.min^{-1} à $90 \text{ L.h}^{-1}\text{m}^{-2}$ à une Nm_a de 1069 tr.min^{-1} . Nos résultats sont en désaccord avec les résultats d'He *et al.* (2007). En effet, ils avaient montré que le fait d'ajouter des disques métalliques avec ailettes augmentait de 67% le flux de perméat sur une suspension de CaCO_3 à 200 g.L^{-1} . Les différences avec nos résultats sont dues probablement au fait que le lait est un fluide plus complexe que le CaCO_3 , dont plusieurs de ses composants peuvent colmater les pores des membranes et donc diminuer le flux de perméat. Comme nous l'avons déjà évoqué, une déstabilisation des micelles de caséines a pu avoir lieu, colmatant ainsi la membrane.

La turbidité en fonction de la PTM est montrée sur la Figure III.7.

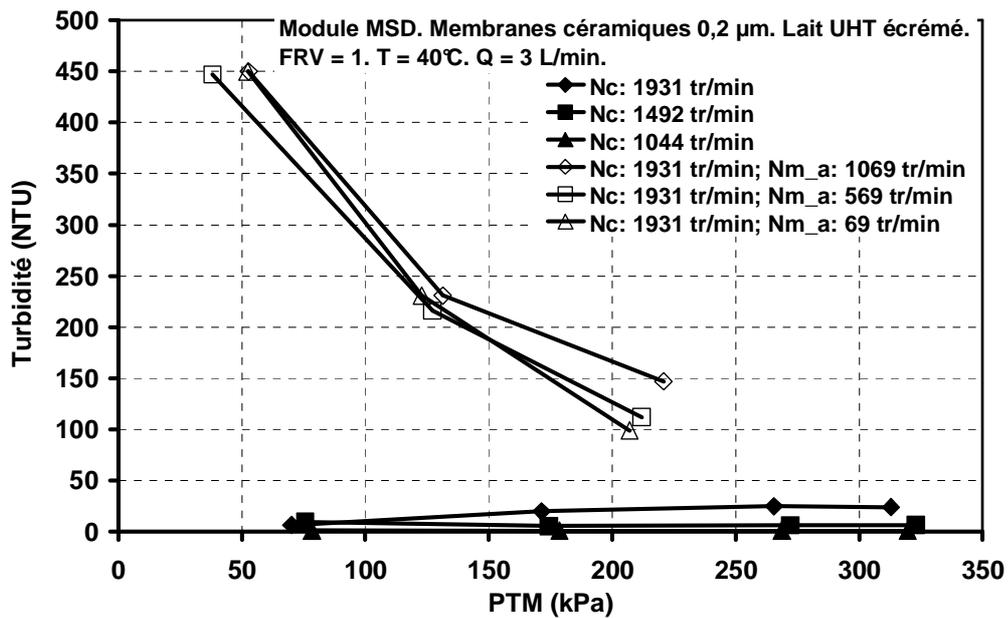


Figure III.7. Turbidité du perméat en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques à ailettes. Nm_a : vitesse de rotation de disques métalliques à ailettes, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

Les turbidités ont été très élevées en comparaison de celles obtenues avec les 6 disques céramiques sur un arbre. Ceci semble confirmer notre hypothèse de déstabilisation des micelles de caséines, car l'augmentation de turbidité a pu être causée par la présence de sous micelles dans le perméat. Une autre explication est que l'augmentation du taux de cisaillement empêche la formation d'un dépôt sur la membrane, lequel agirait comme une membrane secondaire. Si nous analysons seulement l'effet de la vitesse de rotation des disques métalliques (Nm_a), nous constatons que, pour toutes les vitesses de rotation des disques métalliques, la turbidité diminue avec la PTM. Nous avons obtenu des valeurs de turbidité très proches pour chaque vitesse du disque métallique à une même PTM, ce qui suggère que ce n'est pas la vitesse de rotation des disques métalliques qui influence la transmission de micelles de caséines, mais la PTM. Une PTM plus élevée augmente l'accumulation des protéines sur la surface de la membrane et/ou entre les pores, formant ainsi une couche filtrante additionnelle.

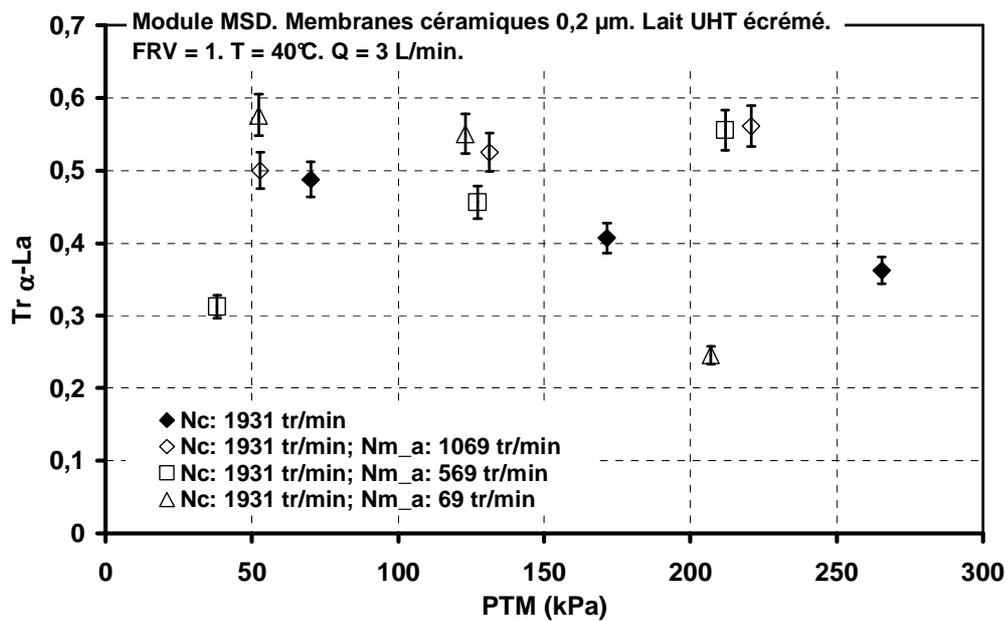


Figure III.8. Transmission d' α -La en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques à ailettes. Nm_a : vitesse de rotation de disques métalliques à ailettes, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

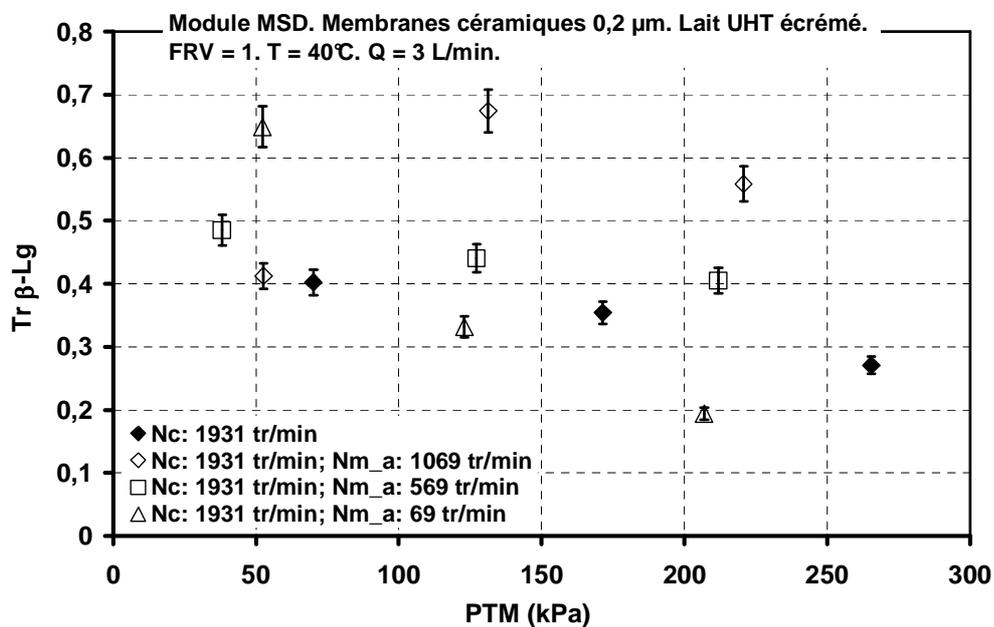


Figure III.9. Transmissions de β -Lg en fonction de la PTM pour deux configurations du module MSD : 6 disques céramiques sur un arbre et 6 disques céramiques+6 disques métalliques à ailettes. Nm_a : vitesse de rotation de disques métalliques à ailettes, Nc : vitesse de rotation de disques céramiques.

La Figure III.8 montre la transmission d' α -La en fonction de la PTM. La transmission de β -Lg en fonction de la PTM est représentée sur la Figure III.9. Nous observons que les transmissions pour les deux protéines augmentent avec la vitesse de rotation des disques métalliques. Cela est dû à l'augmentation du taux de cisaillement. Nous avons obtenu une transmission maximale d' α -La de 0,56 à 220 kPa et $Nm_a = 1069 \text{ tr.min}^{-1}$. Pour le cas de la β -Lg, la transmission maximale a été de 0,67 à 131 kPa et $Nm_a = 1069 \text{ tr.min}^{-1}$. Les transmissions sont plus élevées que celle obtenues avec 6 disques céramiques, lesquelles ont été entre 0,35 et 0,50 pour l' α -La et entre 0,3 et 0,40 pour la β -Lg. Le fait d'avoir plus de transmission pour le cas de la β -Lg avec les disques à ailettes, suggère que le taux de cisaillement produit par les disques métalliques aurait un effet sur les interactions entre la k -caséine et la β -Lg. Quand la β -Lg est dénaturée, elle réagit via l'interaction sulphydryl disulphide avec d'autres protéines, spécialement avec la k -caséine (Hui, 2006). Dans le traitement UHT, la β -Lg est la protéine la plus affectée, conduisant à la fin du traitement à environ 65% de protéine dénaturée (Miralles et al., 2000). Elle serait donc davantage liée à la k -caséine. Nous avons aussi vu précédemment que la turbidité était plus élevée en présence des disques métalliques à cause d'une probable déstabilisation des micelles de caséines. Si les micelles de caséines sont déstabilisées, les interactions entre la k -caséine et la β -Lg le seront aussi, provoquant ainsi une transmission plus élevée de cette protéine.

Conclusions

En comparant les résultats obtenus avec et sans disques métalliques, nous pouvons conclure que les disques métalliques n'ont pas eu l'effet escompté. En effet, ils ont augmenté les transmissions de protéines, mais ils ont aussi augmenté la transmission de micelles de caséine, paramètre que nous devons limiter le plus possible.

Les flux de perméat ont été plus faibles en utilisant des disques métalliques. Deux hypothèses ont été proposées pour ce phénomène. La première est une déstabilisation des micelles de caséines provoquée par le taux de cisaillement. Cette déstabilisation consiste en la formation de sous micelles de caséines d'une taille plus petite, lesquelles ont colmaté la membrane, réduisant ainsi les flux de perméat. La deuxième hypothèse est la diminution de la PTM locale où les disques membranaires et les disques métalliques se recouvrent, à cause de l'augmentation de la vitesse à la périphérie de la membrane.

Comme nous n'avons pas obtenu des bons résultats avec l'utilisation de disques métalliques, nous avons décidé de ne pas réaliser des essais avec la première configuration (6 disques céramiques sur chaque arbre, soit 12 membranes). Le fait d'utiliser 12 membranes peut

occasionner une surconcentration entre l'entrefer des membranes, qui diminuerait le flux et la transmission des protéines.

Nous avons décidé de continuer nos essais en utilisant seulement 6 disques céramiques sur un arbre, car c'est cette configuration qui a donné les meilleures performances en terme de rétention de micelles de caséines et de transmission de protéines solubles.

III.1.1.2. Variation du flux, de la rétention de caséines et des transmissions de protéines de lactosérum avec le FRV.

Pour ces essais nous avons testé 2 vitesses de rotation des membranes : 1931 et 1044 tr.min⁻¹. Les conditions opératoires des essais sont données sur le Tableau III.1. Les trois essais ont été réalisés à une PTM inférieure à 60 kPa afin de limiter le colmatage de la membrane.

Tableau III.1. Conditions opératoires des essais de concentration de lait UHT écrémé.

Essai	N (tr.min ⁻¹)	PTM (kPa)	Volume initial (L)	Volume perméat (L)	Volume rétentat (L)	FRV _{max}	C α-La initial (g.L ⁻¹)	C β-Lg initial (g.L ⁻¹)
1	1044	55,2±5,8	11	8	2,9	3,8	0,398	0,139
2	1931	59,3±1,9	11	8,5	2,3	4,2	0,547	0,196
3	1931	58,6±4,7	9	6,1	2,7	3,2	0,314	0,134

La Figure III.10 montre le flux de perméat en fonction du ln(FRV).

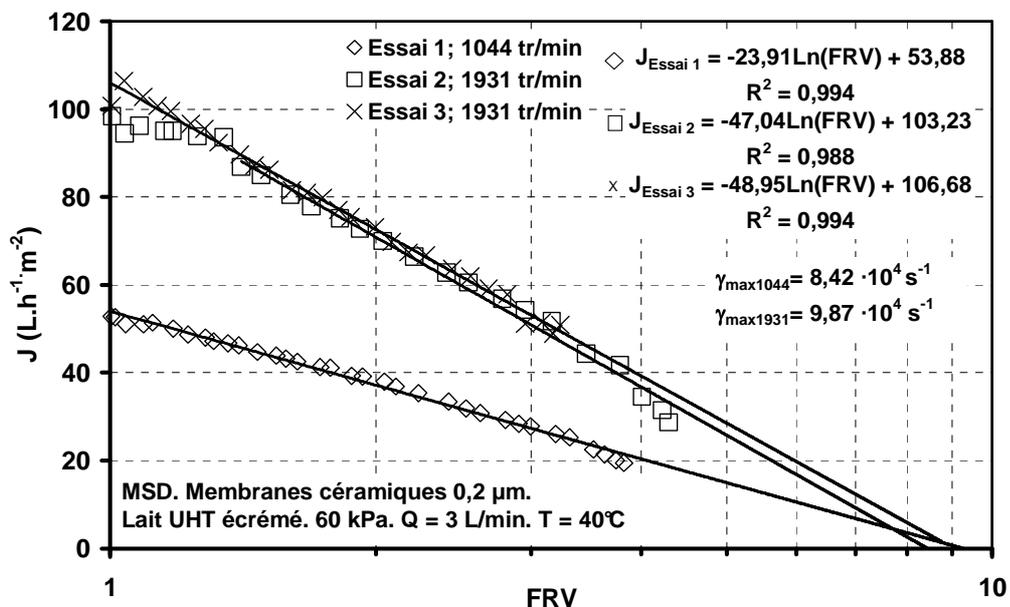


Figure III.10. Evolution du flux de perméat lors de la concentration de lait UHT écrémé à deux vitesses de rotation des membranes.

Nous observons qu'à partir d'un FRV supérieur à 1,2 les flux diminuent linéairement avec le logarithme népérien du FRV selon la théorie de polarisation de concentration de *Blatt et al.*, (1970), montrant que les flux sont limités par le transfert de matière. Les flux des deux essais réalisés à 1931 tr.min⁻¹ se superposent, indiquant la reproductibilité des essais. La pente, qui représente le coefficient de transfert de matière, est plus faible pour l'essai à 1044 tr.min⁻¹ (23,91 L.h⁻¹.m⁻²) que celles des essais à 1931 tr.min⁻¹ (47,04 et 48,95 L.h⁻¹.m⁻²), dû à l'augmentation du taux de cisaillement.

La diminution du flux de perméat dans l'essai 1 et 2 à FRV supérieure à 3,5 est due à l'augmentation de la viscosité du lait à ce FRV, comme cela a été déjà observé par *Akoum et al.*, (2003).

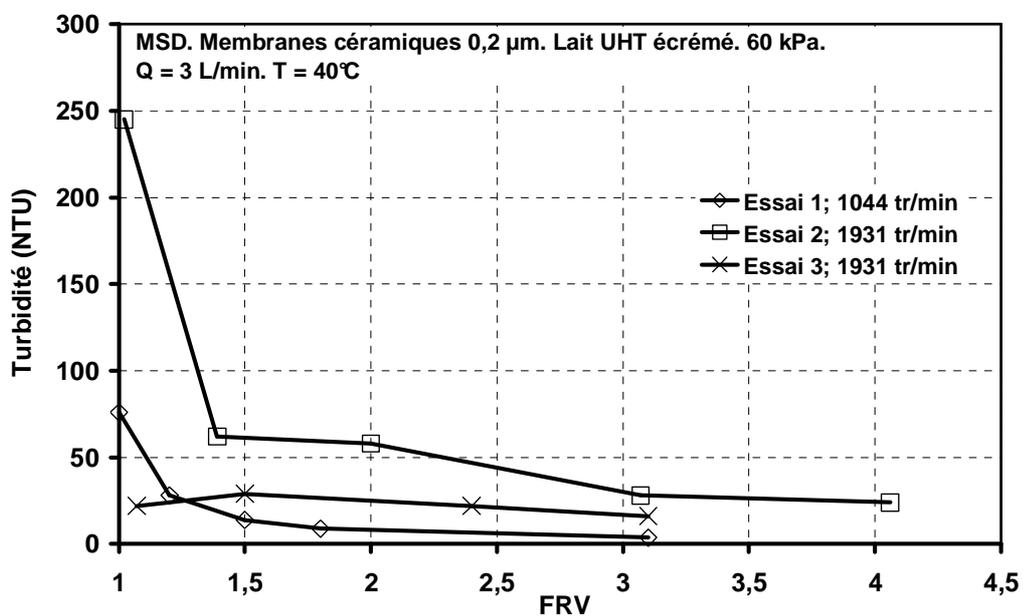


Figure III.11. Evolution de la turbidité lors de la concentration de lait UHT écrémé à deux vitesses de rotation des membranes.

La variation de la turbidité avec le FRV est montrée sur la Figure III.11. Nous observons que la turbidité diminue rapidement avec le FRV jusqu'à une valeur de 1,5 NTU, à cause de la formation d'une couche secondaire de protéines sur la membrane qui diminue leur transmission. Des turbidités plus faibles sont observées à 1044 tr.min⁻¹, parce qu'à faible rotation, la formation de la couche de protéines sur la membrane est favorisée ; d'où la diminution de la transmission de micelles de caséines et le coefficient de transfert de matière plus faible observé (*Balakrishnan & Agarwal, 1996*). Ceci est mis en évidence sur la Figure III.10 où la pente de l'essai à 1044 tr min⁻¹ est 2 fois plus faible qu'à 1931 tr.min⁻¹.

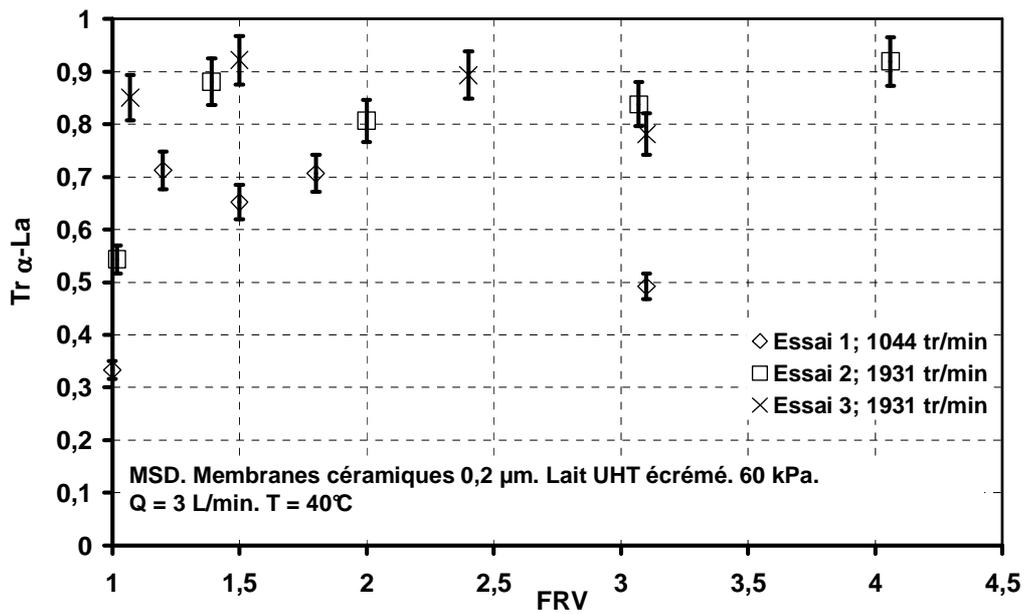


Figure III.12. Transmission d'α-La lors de la concentration de lait UHT écrémé.

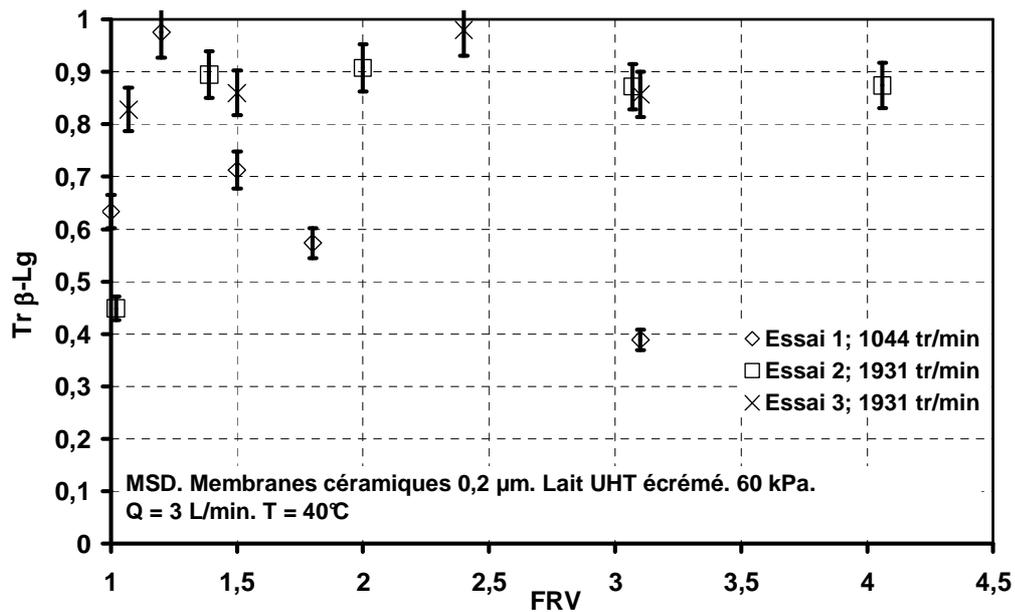


Figure III.13. Transmission de β-Lg lors de la concentration de lait UHT écrémé.

La Figure III.12 et la Figure III.13 présentent respectivement la variation des transmissions d'α-La et de β-Lg avec le FRV. Les transmissions d'α-La obtenues à 1931 tr.min⁻¹ sont plus élevées qu'à 1044 tr.min⁻¹. Elles demeurent relativement constantes entre 0,8 et 0,9 à 1931 tr.min⁻¹, alors qu'elles diminuent de 0,70 à 0,50 entre FRV 1 et FRV 3 à 1044 tr.min⁻¹. Pour la β-Lg les transmissions sont également quasi constantes (0,8 et 0,9) à 1931 tr.min⁻¹, alors qu'à 1044 tr.min⁻¹, leur chute est plus marquée (de 0,95 à 0,4).

Les variations de concentration d' α -La et de β -Lg dans le perméat avec le FRV sont montrées respectivement sur la Figure III.14 et la Figure III.15.

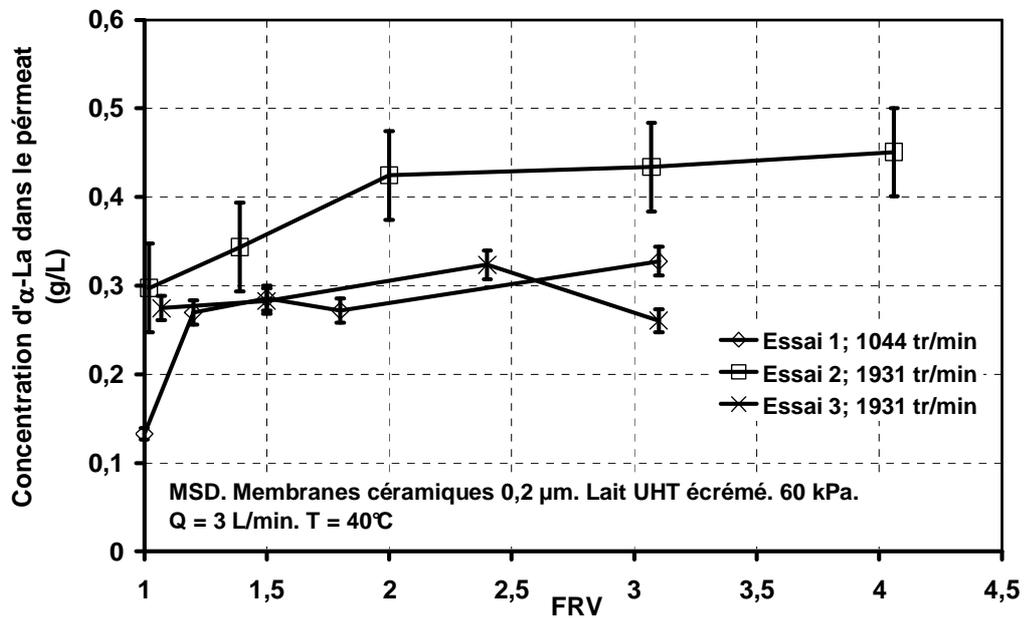


Figure III.14. Concentration d' α -La dans le perméat lors de la concentration de lait UHT écrémé.

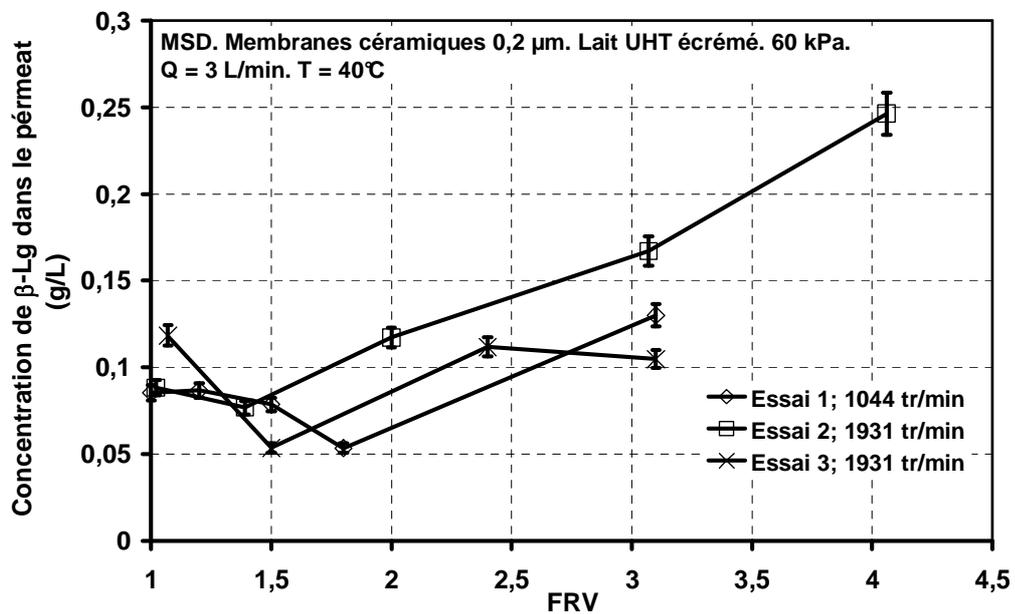


Figure III.15. Concentration de β -Lg dans le perméat lors de la concentration de lait UHT écrémé.

Les concentrations dans l'essai 2 pour les deux protéines sont plus élevées que pour les autres essais, car leurs concentrations initiales l'étaient également.

Les concentrations initiales et finales d' α -La et de β -Lg dans le perméat et dans le rétentat sont détaillées sur le Tableau III.2. Les valeurs varient entre les essais, même si le lait était de la même marque. Ceci est dû à la variabilité de la composition du lait avec la saison, il faut tenir compte du fait que les trois essais ont été réalisés à 1 mois d'intervalle entre l'essai 1 et l'essai 2, et avec 3 mois entre l'essai 2 et 3. Une autre explication peut être apportée par l'erreur de mesures. Les concentrations finales dans le rétentat ont été plus élevées que la concentration initiale, excepté dans l'essai à 1044 tr.min⁻¹ où nous avons obtenu une transmission plus faible. La cohérence de ces concentrations peut être vérifiée dans le Tableau III.3 qui montre les masses totales dans le perméat et dans le rétentat et leur bilan de matière.

Tableau III.2. Concentrations initiale et finale d' α -La et de β -Lg, lors de la concentration de lait UHT écrémé.

Essai	C α -La (g.L ⁻¹)			C β -Lg (g.L ⁻¹)		
	Rétentat initial	Rétentat final	Perméat final	Rétentat initial	Rétentat final	Perméat final
1	0,398	0,608	0,309	0,134	0,183	0,090
2	0,547	0,992	0,420	0,196	0,463	0,115
3	0,314	0,371	0,288	0,134	0,233	0,091

Tableau III.3. Masse initiale et finale d' α -La et de β -Lg dans le perméat et le rétentat, lors de la concentration de lait UHT écrémé.

Essai	Masse initiale (g)		Masse finale dans le rétentat (g)		Masse finale dans le perméat (g)		Masse totale finale (g)	
	α -La	β -Lg	α -La	β -Lg	α -La	β -Lg	α -La	β -Lg
1	4,378	1,474	1,763	0,531	2,472	0,720	4,235	1,251
2	6,017	2,156	2,282	1,003	3,570	0,977	5,852	1,980
3	2,826	1,206	1,002	0,629	1,757	0,555	2,759	1,184

Nous avons calculé la récupération, Y (équation II.28), d' α -La et de β -Lg à la fin de la concentration, les résultats figurent sur le Tableau III.4. La récupération de β -Lg est plus faible que celle d' α -La dans les essais 1 et 2 à cause des transmissions plus faibles, tandis que le rendement dans l'essai 3 pour la β -Lg a été plus élevé du à des transmissions plus élevées obtenues.

Tableau III.4. Récupération d' α -La et de β -Lg dans le perméat lors de la concentration de lait UHT écrémé.

Essai	FRV _{max}	Y dans le perméat	
		α -La	β -Lg
1	3,8	0.57	0.49
2	4,2	0.59	0.45
3	3,2	0.62	0.46

III.1.2. Essais avec du lait pasteurisé écrémé.

Nous avons effectué des essais avec du lait pasteurisé dans le but de nous approcher des conditions industrielles et aussi de savoir si le lait UHT écrémé pourrait être utilisé comme fluide modèle, lors de la séparation de micelles de caséines. Comme nous l'avons constaté pendant la MF de lait UHT écrémé, la meilleure performance a été obtenue avec le module MSD et les membranes céramiques de 0,2 μ m, c'est pour cela que nous avons décidé de réaliser tous les essais de validation avec le module MSD muni de 6 membranes céramiques de 0,2 μ m sur un arbre. Nous avons réalisé l'étude de l'évolution du flux en fonction du FRV à une PTM et vitesse de rotation fixe.

Trois essais ont été effectués à une PTM de 60 kPa et une vitesse de rotation de 1931 tr.min⁻¹, afin d'avoir des conditions identiques à celles utilisées avec le lait UHT pour valider le procédé. Nous avons déjà observé, qu'avec le lait UHT écrémé, les meilleurs flux de perméat et transmissions de protéines solubles ont été obtenus à 60 kPa et 1931 tr.min⁻¹.

Les caractéristiques de chaque essai sont détaillées sur le Tableau III.5. Afin d'avoir un FRV plus élevé et d'accroître les quantités de matière récupérées, nous avons travaillé avec un volume initial de lait plus élevé. Comme la capacité du réservoir d'alimentation est de 10 L, nous avons ajouté du lait pour atteindre le volume initial du lait désiré. Dans le cas de l'essai 1, 3,5 L de lait ont été ajoutés après 14 min de filtration, pour l'essai 2 nous avons ajouté 5 L après 17 min de filtration puis après 70 min pour obtenir un total de 20 L. Finalement pour l'essai 3, nous avons ajouté 5 L à 42 min et 4,5 L à 84 min pour obtenir un volume total de 19,5 L.

Tableau III.5. Caractéristiques des essais de MF de lait pasteurisé.

Essai		Volume rétentat (L)	Volume perméat (L)	FRV	T (°C)
1	Initial	13,5	0	1	45
	Final	3,86	9,63	3,5	
2	Initial	20,0	0	1	45
	Final	4,58	15,41	4,37	
3	Initial	19,5	0	1	40
	Final	3,60	15,80	5,41	

Les concentrations et masses d' α -La et de β -Lg, ainsi que la concentration de protéines totales sont données sur le Tableau III.6. Nous constatons que les concentrations d' α -La et de β -Lg sont plus élevées que celles du lait UHT (Tableau III.2), ce qui confirme que les protéines solubles sont dénaturées pendant le traitement UHT. Comme les laits ont été prélevés à des jours différents, nous avons observé une légère variation dans les concentrations initiales pour les deux protéines solubles.

Tableau III.6. Concentration et masse d' α -La et de β -Lg et concentration de protéines totales, lors de la MF de lait pasteurisé.

Essai		C α -La (g.L ⁻¹)		M α -La (g)		C β -Lg (g.L ⁻¹)		M β -Lg (g)		Protéine totale (g.L ⁻¹)
		R	P	R	P	R	P	R	P	
1	I	1,228	-	16,583	-	2,471	-	33,359	-	30
	F	1,902	0,959	3,709	9,248	3,184	2,187	12,306	21,079	
2	I	1,279	-	25,587	-	1,719	-	34,381	-	30
	F	1,750	1,140	8,032	17,567	2,978	1,346	13,671	20,740	
3	I	1,385	-	27,016	-	1,898	-	37,011	-	30
	F	1,416	1,387	5,099	21,965	2,522	1,767	9,080	27,992	

C : concentration, R : rétentat, P : perméat, M : masse, I : initial, F : final.

La Figure III.16 présente l'évolution des flux de perméat pour les trois essais avec le logarithme népérien du FRV.

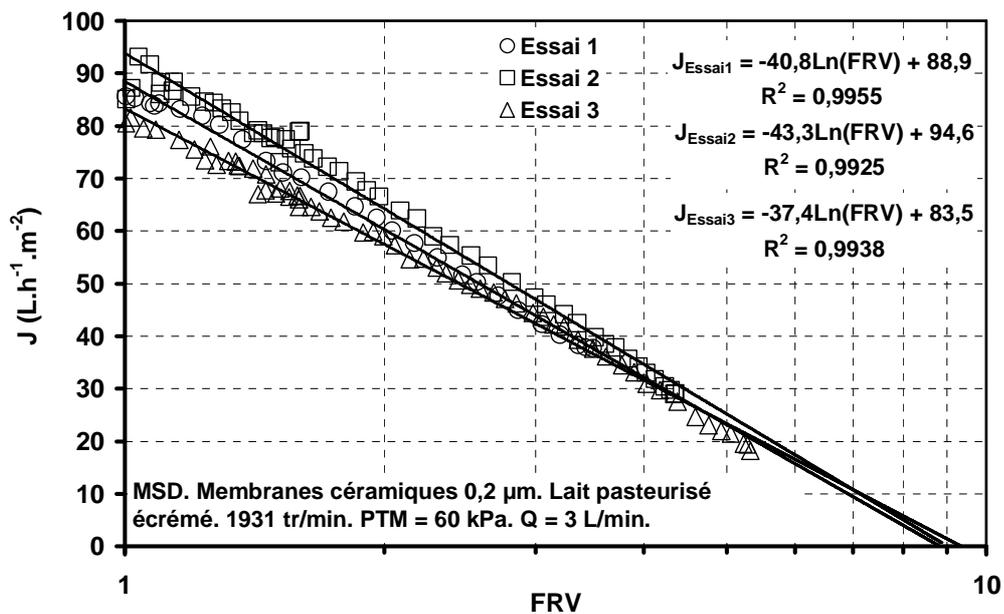


Figure III.16. Evolution du flux de perméat avec le FRV (échelle semi-log).

Les flux les plus élevés ont été obtenus dans les essais 1 et 2, qui ont été effectués à 45°C. Nous pouvons observer que les flux de perméat pour les trois essais diminuent linéairement avec le $\ln(FRV)$, selon la théorie de polarisation de concentration de *Blatt et al.*, (1970). Nous avons obtenu des valeurs de pente très semblables entre l'essai 1 et 2, par contre une différence a été observée pour l'essai 3, sans doute parce que cet essai a été réalisé à une température plus faible (40°C). Une bonne reproductibilité a été obtenue entre les essais 1 et 2.

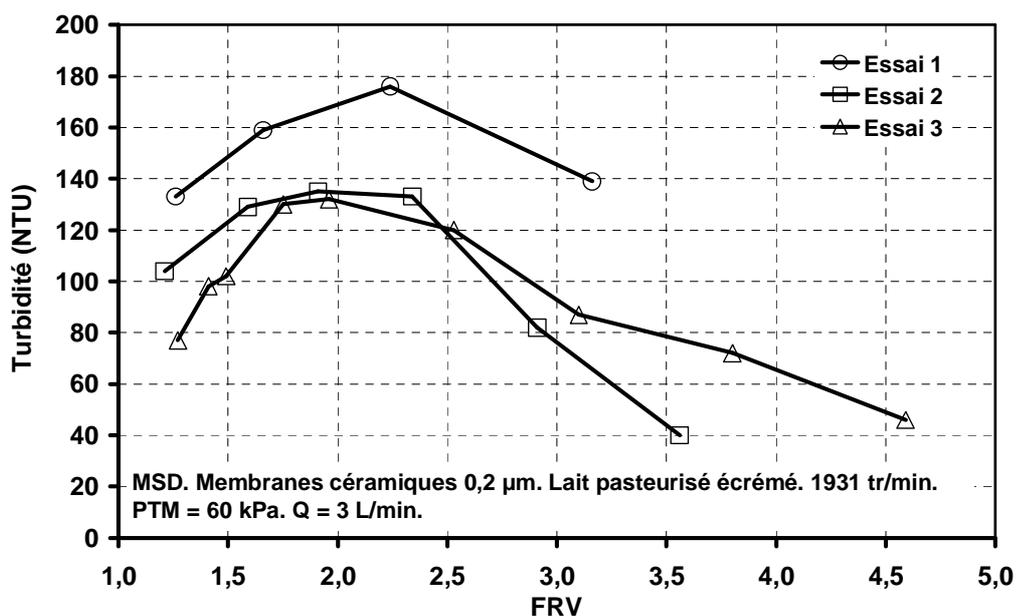


Figure III.17. Turbidité du perméat en fonction du FRV. MF du lait pasteurisé.

La turbidité du perméat (Figure III.17) a atteint des valeurs supérieures à 50 NTU pour les trois essais. Nous observons une diminution de la turbidité à partir de $FRV = 2.5$, ce qui est dû à la formation d'une couche de protéines sur la membrane. Même si les turbidités sont élevées, nous avons constaté que, lors de l'essai, le perméat était d'une couleur jaune transparent, indiquant que nous n'avons pas eu de grandes transmissions de caséines.

Les transmissions d' α -La et de β -Lg sont représentées respectivement sur la Figure III.18 et la Figure III.19.

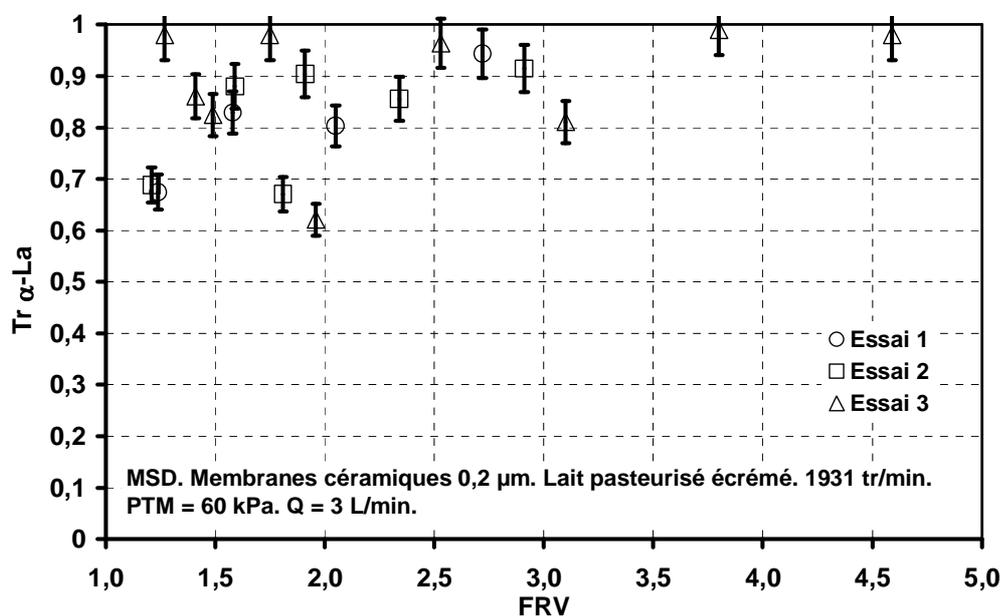


Figure III.18. Transmission d' α -La en fonction du FRV. MF du lait pasteurisé.

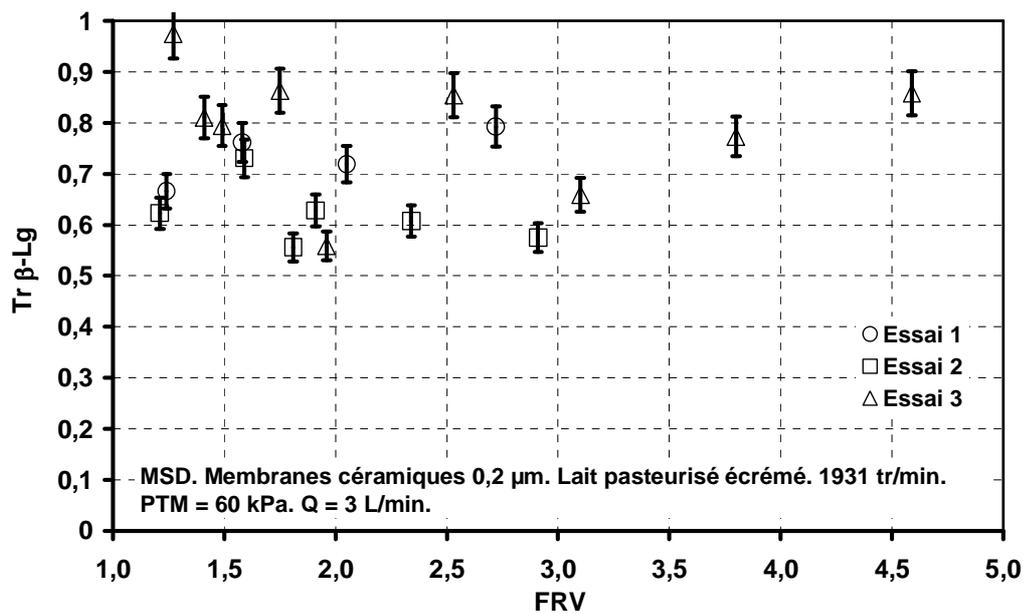


Figure III.19. Transmission de β -Lg en fonction du FRV. MF du lait pasteurisé.

Nous observons que les valeurs de transmissions pour les deux protéines sont élevées et elles ne varient pas ou très peu avec le FRV. Pour le cas de l' α -La, nous avons obtenu les valeurs les plus élevées au cours de l'essai 3 (0,8-0,98). Les transmissions de β -Lg ont été plus faibles que celles d' α -La car cette protéine a un poids moléculaire supérieur à l' α -La, et se trouve également liée à la κ -caséine (Hui, 2006), ce qui la rend moins transmissible.

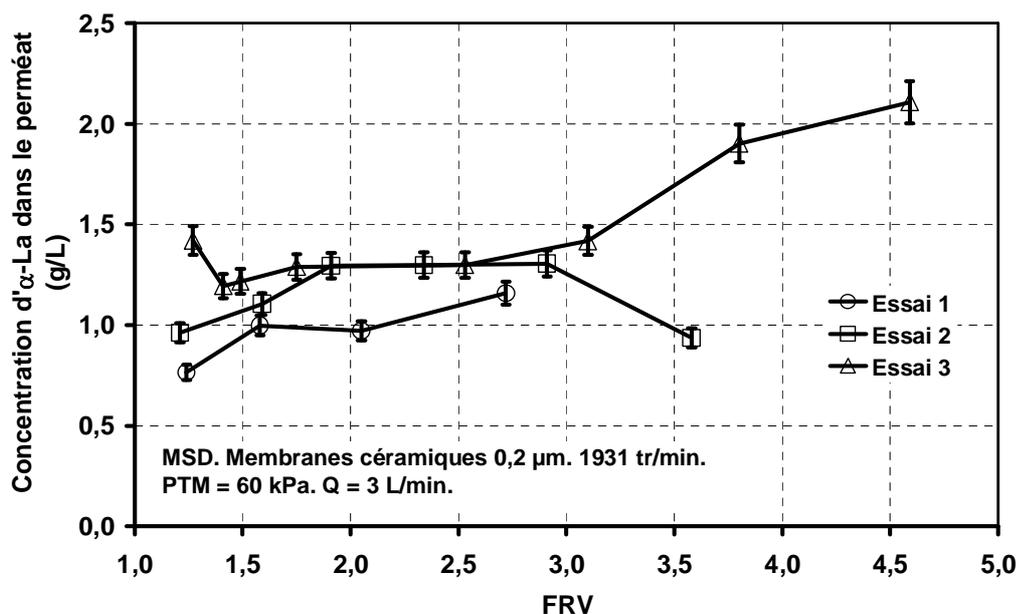


Figure III.20. Concentration d' α -La dans le perméat lors de la MF de lait pasteurisé.

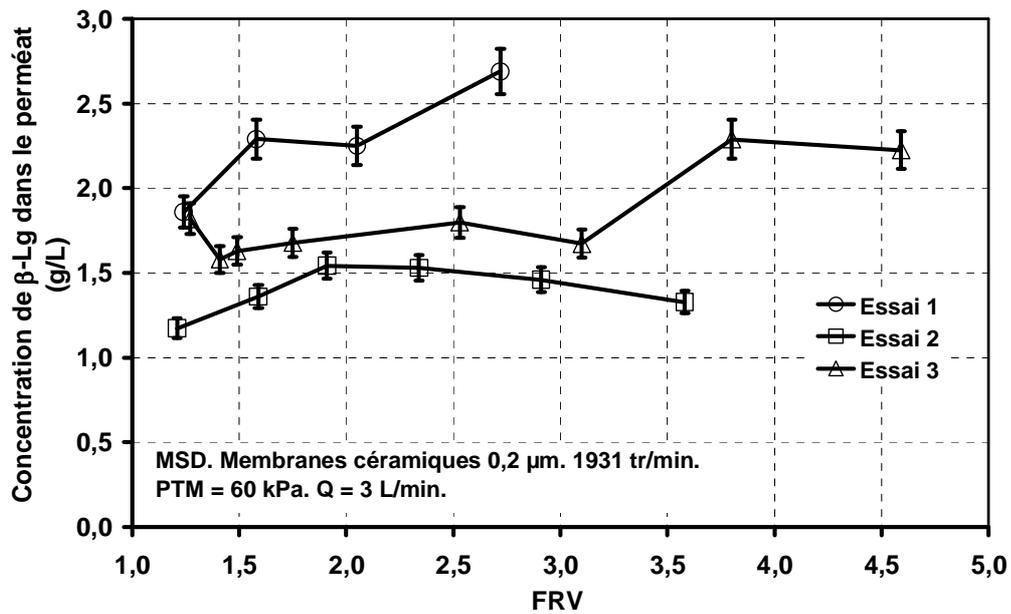


Figure III.21. Concentration de β -Lg dans le perméat lors de la MF de lait pasteurisé.

La Figure III.20 montre la concentration dans le perméat d' α -La. Nous constatons que les concentrations d' α -La restent comprises entre 0,9 et 1,5 g.L⁻¹ avec le FRV, à exception de l'essai 3 où la concentration augmente jusqu'à 2 g.L⁻¹ à FRV = 4,5. Cette augmentation est due aux transmissions élevées observées (Figure III.18). Pour le cas de la β -Lg (Figure III.21), nous observons le même comportement que pour l' α -La. Les concentrations restent constantes avec le FRV, entre 1,5 et 2 g.L⁻¹, à exception de l'essai 3 à FRV > 3. Cela peut être aussi expliqué par l'augmentation de transmission de β -Lg à partir de FRV égal à 3.

Nous avons calculé le facteur de concentration (FC) pour chaque protéine avec l'équation suivante :

$$FC = \frac{C_{Rf}}{C_{Ri}} \quad (\text{III.1})$$

où C_{Rf} est la concentration dans le rétentat final et C_{Ri} est la concentration initiale.

Le Tableau III.7 présente les résultats de FC et le taux de récupération, Y (équation II.28), dans le perméat pour chaque essai. Les facteurs de concentrations varient peu avec le FRV à cause des transmissions élevées. Les récupérations ont augmenté avec le FRV, elles ont été plus élevées pour l' α -La que pour la β -Lg dans les essais 2 et 3 avec un FRV plus élevé. Cependant la récupération de β -Lg dans l'essai 1 avec un FRV plus faible a été supérieure à celle de l' α -La.

Tableau III.7. Facteur de concentration et récupération des essais de MF de lait pasteurisé.

Essai	FRV	α -La		β -Lg	
		FC	Y	FC	Y
1	3,5	1,548	0,56	1,288	0,63
2	4,37	1,367	0,68	1,732	0,60
3	5,41	1,022	0,81	1,329	0,75

III.2. Comparaison des MF du lait pasteurisé et du lait UHT utilisant le module MSD.

Une comparaison des essais de concentration entre le lait pasteurisé et le lait UHT a été faite, afin de vérifier si ce lait, plus disponible en magasin, peut être utilisé comme fluide modèle et ainsi prévoir les performances du procédé.

Le Tableau III.8 présente les caractéristiques pour chaque essai.

Tableau III.8. Caractéristiques des essais de concentration de lait pasteurisé et lait UHT.

Essai	Lait		Volume rétentat (L)	Volume perméat (L)	FRV	γ_{\max} (s ⁻¹)	T (°C)	C α -La initiale (g.L ⁻¹)	C β -Lg initiale (g.L ⁻¹)
1	Pasteurisé	Initial	19,50	0	5,32	9,61·10 ⁴	40	1,85	1,898
		Final	3,66	15,83					
2	UHT	Initial	11,00	0	4,30	9,87·10 ⁴	40	0,547	0,297
		Final	2,56	8,44					

Sur la Figure III.22 nous observons la comparaison des flux entre les deux types de lait.

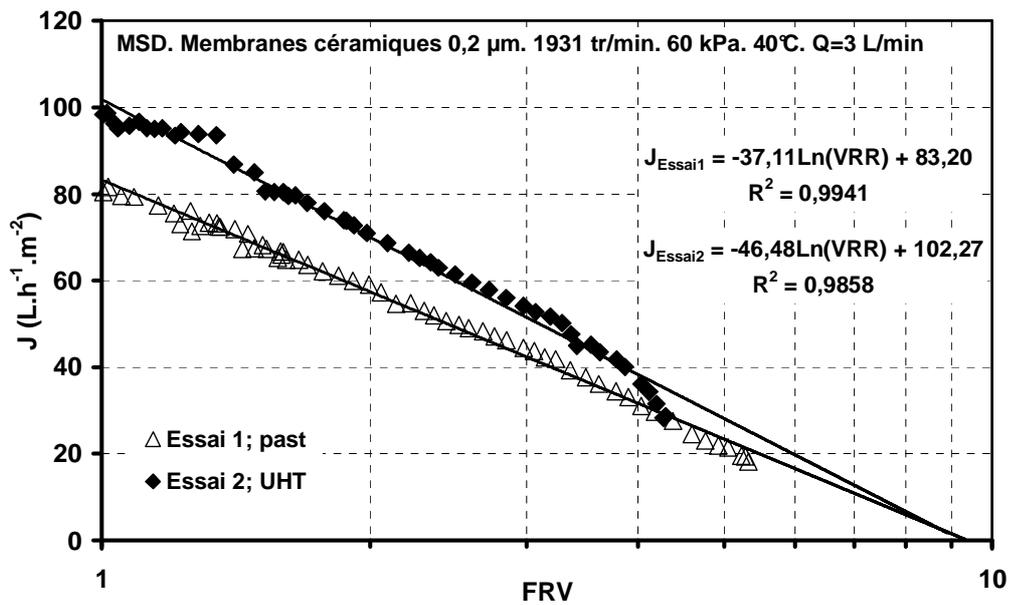


Figure III.22. Evolution du flux de perméat avec le FRV (échelle semi-log). Comparaison entre lait pasteurisé et lait UHT.

Pour les deux types de lait, le flux varie linéairement avec le logarithme népérien du FRV, indiquant que nous avons travaillé dans le régime limité par le transfert de matière. Les flux de perméat obtenus avec le lait UHT sont un peu plus élevés qu'avec le lait pasteurisé, à cause des concentrations inférieures en protéines solubles, ce qui a pu provoquer une polarisation de concentration plus faible qu'avec le lait pasteurisé. Nous réaliserons une étude des résistances afin de vérifier cette hypothèse, dans les paragraphes suivants.

Nous constatons que les pentes des droites des essais sont voisines, ce qui suggère que, pour des mesures de flux, le lait UHT peut être utilisé comme fluide modèle lors de la concentration du lait écrémé par MF.

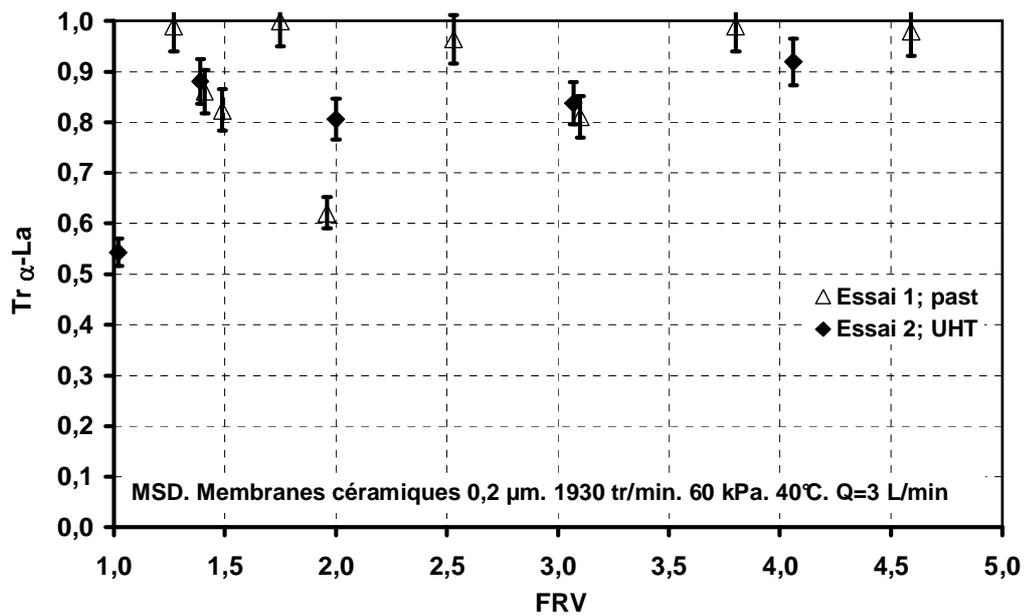


Figure III.23. Variation de la transmission d' α -La avec le FRV. Comparaison entre lait pasteurisé et lait UHT.

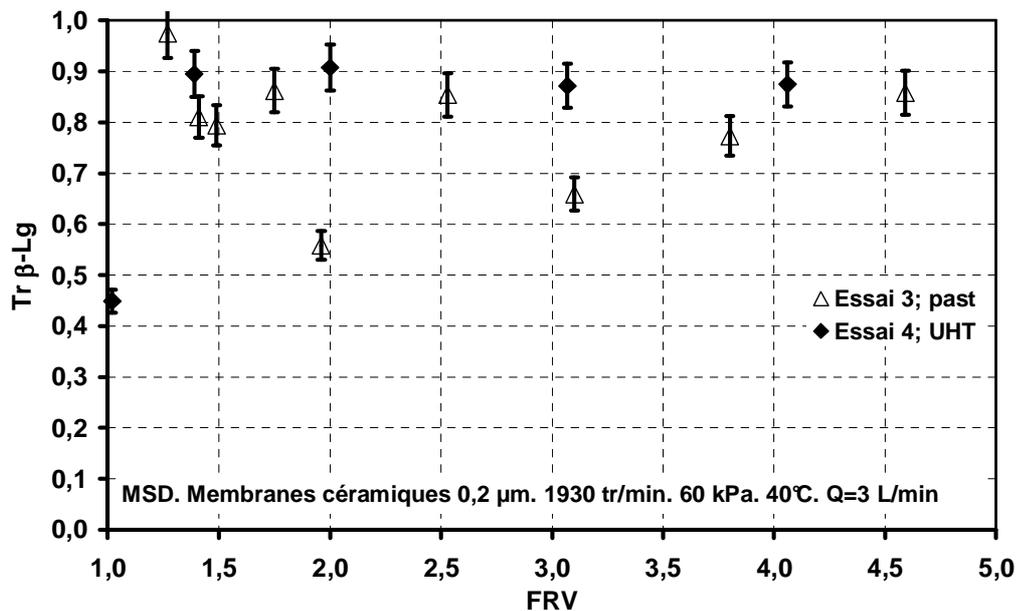


Figure III.24. Variation de la transmission de β -Lg avec le FRV. Comparaison entre lait pasteurisé et lait UHT.

La transmission d' α -La (Figure III.23) se maintient constante entre 0,8 et 0,95 pour les deux essais. Il ne semble pas y avoir d'effet du FRV sur la transmission. Pour le cas de la β -Lg (Figure III.24), nous observons que les transmissions sont légèrement plus faibles dans les essais avec lait pasteurisé qu'avec le lait UHT (0,7 contre 0,9). Cela est dû au fait que, dans le lait

pasteurisé, une concentration plus élevée de β -Lg par rapport au lait UHT est observée (Tableau III.9).

Tableau III.9. Concentrations et masses d' α -La et de β -Lg, pour les essais de MF de lait pasteurisé et lait UHT.

Essai		C α -La (g.L ⁻¹)		M α -La (g)		C β -Lg (g.L ⁻¹)		M β -Lg (g)	
		R	P	R	P	R	P	R	P
3	I	1,385	-	27,016	-	1,898	-	37,011	-
	F	1,416	1,387	5,099	21,965	2,522	1,767	9,080	27,992
4	I	0,547	-	6,017	-	0,196	-	2,156	-
	F	0,992	0,420	2,549	3,468	0,463	0,115	1,191	0,973

C : concentration, R : rétentat, P : perméat, M : masse, I : initial, F : final.

La comparaison entre les essais réalisés avec le lait UHT et le lait pasteurisé a donné une bonne reproductibilité en terme de flux et de transmission de protéines, ce qui indique que le lait UHT peut être utilisé comme fluide modèle lors de la microfiltration dynamique avec le module MSD.

III.3. Comparaison des résultats avec ceux en filtration tangentielle de la littérature

Dans cette section nous réaliserons une comparaison des performances obtenues sur le MSD avec les résultats trouvés dans la bibliographie. Cependant, il faut tenir compte du fait que les fluides sont différents entre les essais effectués avec le module MSD et les données obtenues dans la bibliographie en filtration tangentielle. Nous faisons cette comparaison afin de voir les différences de performances entre les deux techniques. *Le Berre & Daufin (1996)* ont obtenu une transmission d' α -La entre 0,6 et 0,95 et un flux maximum de 75 L.h⁻¹.m⁻² à 50°C, en utilisant une membrane céramique de 0,1 μ m Membralox, en PTMU (pression transmembranaire uniforme) et recirculation du perméat à 7,2 m.s⁻¹, lors de la MF du lait écrémé thermisé (63°C, 15 s). A la fin des essais, la transmission d' α -La a diminué à 0,30. En utilisant un système similaire avec une membrane céramique Kerasep et du lait écrémé thermisé (63°C, 15 s), *Gésan-Guizjoun et al., (1999a)* ont obtenu des transmissions entre 0,6 et 0,9 pour α -La et entre 0,55 et 0,85 pour β -Lg avec un flux de perméat de 80 L.h⁻¹.m⁻² à 50°C. Ils ont obtenu une turbidité entre 100 et 200 NTU à FRV = 1. *Punidadas & Rizvi (1998)* ont utilisé des membranes céramiques de 0,2 μ m et 0,05 μ m avec une vitesse d'alimentation de 5,4 m.s⁻¹ et ils ont obtenu une transmission de protéines de 0,7 et un flux de perméat de 92 L.h⁻¹.m⁻² à 50°C et FRV = 2,5, lors de la MF du lait écrémé pasteurisé.

Gésan-Guizjion et al., (2000) ont observé une diminution de la transmission de β -Lg de 0,95 à 0,5 après 3 h de filtration de lait écrémé à 50°C, FRV = 2 et à un flux constant de 76 L.h⁻¹.m⁻², en utilisant une membrane céramique Kerasep de 0,1 μ m. *Akoum et al., (2002b)* ont testé le module VSEP pour la microfiltration du lait UHT écrémé avec une membrane en Téflon de 0,1 μ m de taille de pores. Ils ont obtenu un flux de perméat maximum de 95 L.h⁻¹.m⁻² à 100 kPa et 60,75 Hz. Ils ont observé une diminution du flux de perméat de 90 L.h⁻¹.m⁻² à 52 L.h⁻¹.m⁻² après 60 min de filtration à FRV = 1, 60,75 Hz et 100 kPa de PTM. *Zulenska et al., (2009)* ont microfiltré du lait écrémé pasteurisé en utilisant trois systèmes de microfiltration : deux systèmes PTMU avec membranes Membralox (0,1 μ m) et GP (Pall, 0,1 μ m) et un module spirale (Parker-Hannifin, 0,3 μ m). La MF a été réalisée à 50°C. Ils ont obtenu des flux de perméat de 54,08, 71,79 et 16,21 L.h⁻¹.m⁻² respectivement avec les membranes PTMU, GP et spirale, à FRV = 3. Leur récupération de protéines de lactosérum a été de 0,64 avec la membrane PTMU, 0,61 avec la membrane GP et 0,38 avec la membrane spirale. *Nelson & Barbano (1970)* ont microfiltré du lait écrémé pasteurisé avec une membrane tubulaire céramique de 0,1 μ m en mode PTMU. La PTM a varié entre 23 et 28 kPa, et une température de 50°C a été utilisée. Un flux de perméat de 30 L.h⁻¹.m⁻² et un pourcentage de protéines totales de 0,55% en masse ont été obtenus. Aucune donnée sur les transmissions d' α -La et de β -Lg n'a été reportée. Pour leur part, *Akoum et al., (2002a)* ont observé une diminution du flux de perméat de 50 à 35 L.h⁻¹.m⁻² avec une membrane de 0,1 μ m en Téflon pendant la MF de lait reconstitué en poudre en utilisant le module VSEP à 60,75 Hz, 45°C, une PTM de 55 kPa et FRV = 2. *Pierre et al., (1992)* ont concentré du lait écrémé pasteurisé en utilisant une membrane de 0,2 μ m, une température de 50°C. La PTM a varié entre 60 et 90 kPa. Ils ont observé une diminution du flux de perméat de 70 L.h⁻¹.m⁻² à FRV = 1 jusqu'à 20 L.h⁻¹.m⁻² à FRV = 3. *Lawrence et al., (2008)* ont utilisé une membrane spirale de 0,3 μ m pour microfiltrer du lait écrémé. Ils ont utilisé une température de 10°C, une PTM de 150 kPa. Le flux de perméat a diminué de 17 à 6 L.h⁻¹.m⁻² à FRV = 3. Ils ont obtenu une transmission de β -Lg de 0,31.

Nous pouvons constater que nos résultats avec le module MSD en termes de flux sont plus satisfaisants, en utilisant du lait UHT écrémé et du lait pasteurisé. Les flux obtenus avec le module MSD sont jusqu'à 400% plus élevés qu'avec les modules tubulaires en PTMU ou non, les modules spiraux et le module VSEP. De plus, de forts FRV peuvent être obtenus sans avoir une diminution de flux très importante. Cependant, les valeurs de flux et de FRV pourraient varier si les mêmes fluides utilisés en filtration tangentielle sont testés sur le module MSD. Par rapport aux transmissions de protéines, nous ne pouvons pas faire une comparaison très exhaustive car la bibliographie n'apporte que peu d'informations sur les transmissions des protéines ciblées dans

notre étude, pendant la concentration de lait. Nous pouvons seulement faire la comparaison avec les transmissions obtenues par *Lawrence et al., (2008)*, *Le Berre & Daufin (1996)* et *Gésan-Guiziou et al.,(2000)*. Nous avons obtenu une transmission moyenne de 0,9 d' α -La et de 0,8 de β -Lg ; celles-ci restent constantes avec le FRV. *Lawrence et al., (2008)* ont obtenu une transmission de β -Lg de 0,31 à $FRV = 3$. *Le Berre & Daufin (1996)* et *Gésan-Guiziou et al.,(2000)* ont observé une diminution de la transmission des protéines solubles avec le FRV.

III.4. Etude de résistances.

Nous avons effectué une étude de résistance afin de connaître la stabilité des performances du module MSD au cours de la filtration, mais aussi afin de savoir l'effet de la concentration de protéines sur les phénomènes de colmatage de la membrane. Pour ce faire nous avons réalisé deux types d'essais différents, le premier à FRV constant pour évaluer la stabilité du flux et transmissions de protéines au cours de la filtration et le deuxième à FRV variable afin de voir l'effet de la concentration de protéines sur le colmatage de la membrane. Par la suite nous détaillerons les résultats obtenus.

III.4.1. Résistances à FRV constant

Comme nous l'avons vu dans les sections précédentes, le lait UHT a des performances très semblables au lait pasteurisé et donc il peut être utilisé comme fluide modèle. Cette étude a été réalisée avec du lait UHT écrémé avec recirculation totale du perméat ($FRV = 1$), à une vitesse de rotation des disques céramiques de 1044 tr.min^{-1} , une configuration de 6 disques céramiques sur un arbre et une PTM de $60 \pm 2 \text{ kPa}$ qui correspond à la PTM critique. Nous avons travaillé à une vitesse de 1044 tr.min^{-1} , car à faible vitesse, la polarisation de concentration et le colmatage de la membrane sont favorisés.

La Figure III.25 montre le flux au cours de la filtration.

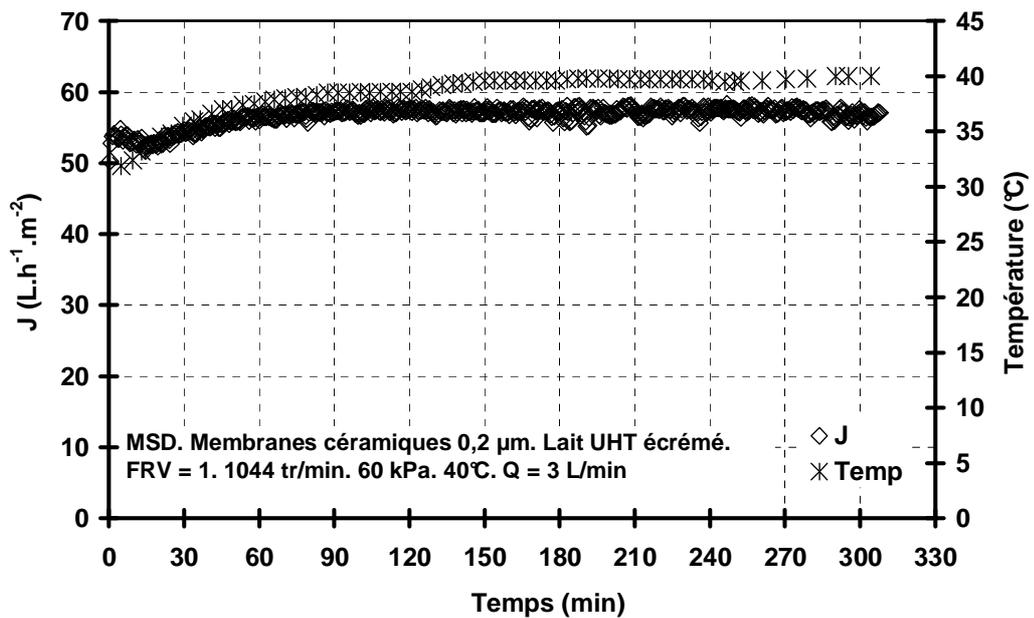


Figure III.25. Variation du flux de perméat et de la température au cours de la filtration.

Nous observons que, pendant la première heure de filtration, le flux augmente de $53 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ à $57 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, dû à l'augmentation de la température de 33°C à 40°C . Après avoir atteint la température de 40°C , le flux est resté constant pendant les 5 h de filtration suivantes. Cela confirme le faible colmatage de la membrane à faible PTM.

La Figure III.26 montre la turbidité au cours de la filtration.

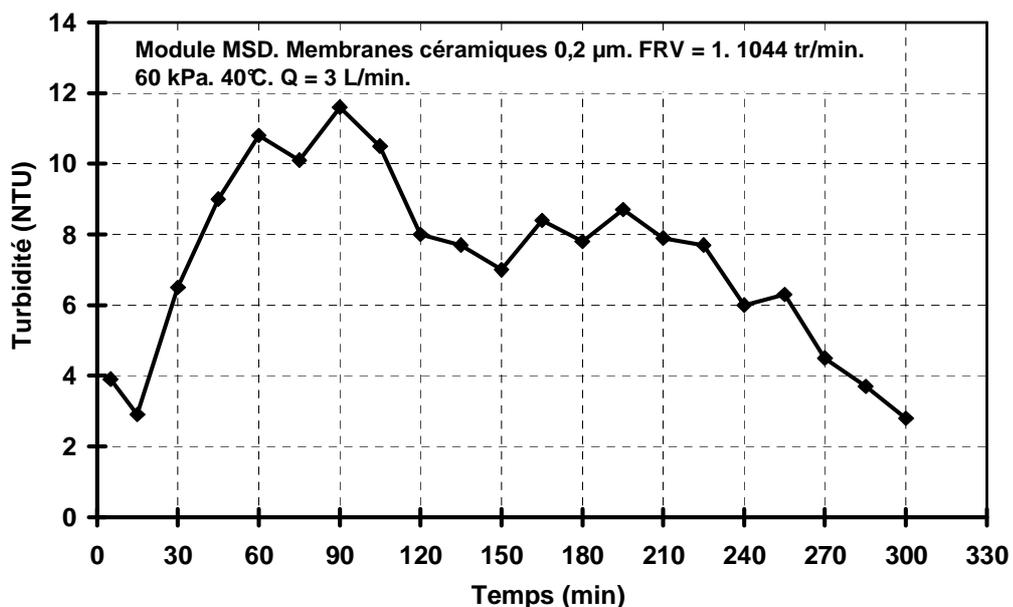


Figure III.26. Turbidité du perméat au cours de la filtration.

Nous observons une augmentation de turbidité au début de la filtration, due à l'augmentation de la température. Cependant, les turbidités sont faibles et inférieures à 50 NTU.

La diminution de la turbidité après 90 min de filtration peut être expliquée par la formation de la couche de caséines sur la membrane, ce qui diminue sa transmission.

Sur la Figure III.27, nous montrons les transmissions d' α -La et de β -Lg au cours de la filtration.

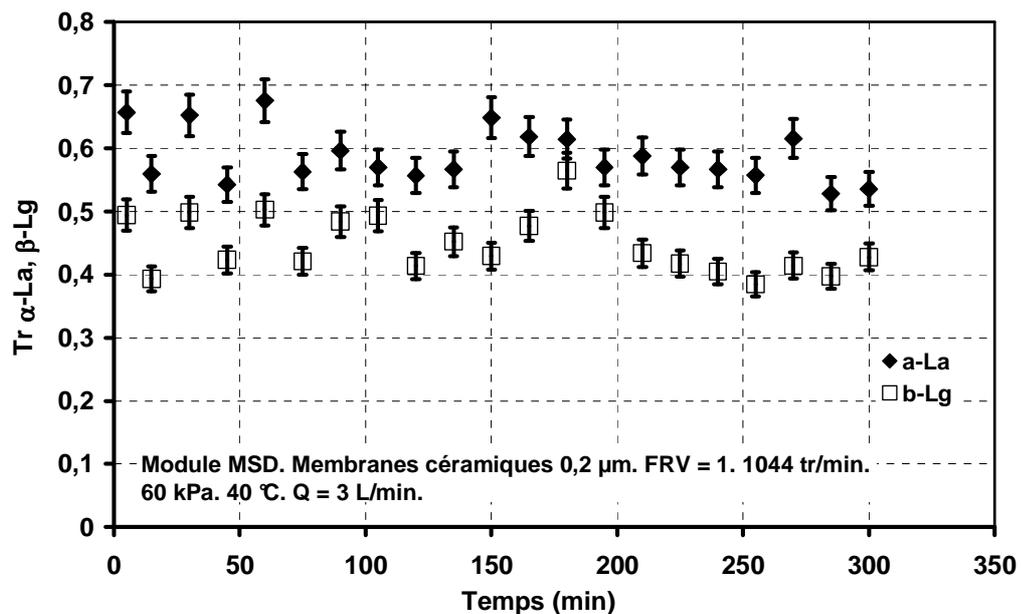


Figure III.27. Transmissions d' α -La et de β -Lg au cours de la filtration.

Les transmissions pour les deux protéines se maintiennent constantes pendant toute la filtration. Cela est probablement dû au faible colmatage interne de la membrane.

Les transmissions au cours de 5 h de filtration peuvent être comparées à celles obtenues par *Gésan-Guiziou et al., (2000)*. Ils ont observé que la transmission de β -Lg a diminuait de 0,95 à 0,50 après 3 h de filtration, en MF de lait écrémé avec une membrane tubulaire Kerasep 7 canaux ayant une taille de pores de 0,1 μ m, une PTM de 20 kPa et un flux de perméat constant de 76 L.h⁻¹.m⁻².

Nos résultats pour les flux semblent intéressants, car ils se maintiennent constants au cours des 5 h de filtration. D'après la bibliographie (*Herrero et al., 1997; Martínez et al., 2000; Ho & Zydney, 2000*), le flux de perméat, en microfiltration de solutions de protéines, diminue au cours du temps, avec une forte diminution lors des premiers minutes de filtration suivie d'une stabilisation. Selon *Herrero et al., (1997)* ces évolutions de flux peuvent être analysées en termes

des modèles de cinétique de diminution de flux communément utilisés : modèle de blocage standard, modèle de blocage intermédiaire et modèle du gâteau. Ces modèles peuvent être résumés avec l'équation suivante :

$$\frac{J_v}{J_{v,0}} = (1 + Kt)^{-n} \quad (\text{III.2})$$

où J_v est le volume de flux de perméat ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), $J_{v,0}$ est le volume de flux initial de perméat ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), K est la constante cinétique de diminution de flux (s^{-1}), t est le temps (s).

Pour le modèle de blocage standard, n est égal à 2, dans le modèle de blocage intermédiaire n est égal à 1, et $n = 0,5$ correspond au modèle de gâteau.

Si nous normalisons nos résultats de flux par $J_v/J_{v,0}$ nous obtenons une ligne horizontale, et donc le modèle décrit antérieurement n'est pas applicable. Cela indique que grâce aux taux de cisaillement générés par la rotation des membranes, il est possible de limiter le colmatage et le blocage de la membrane dès le début de la filtration et ce pendant 5 h de filtration.

Afin de vérifier la présence du phénomène de polarisation de concentration, une analyse de résistance a été réalisée. Le modèle de résistances en séries a été appliqué (Chapitre I, section 1.2). Nous rappelons que :

$$J = \frac{PTM}{\mu \cdot R_T} \quad (\text{III.3})$$

où J est le flux ($\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$), PTM est la pression transmembranaire (kPa), μ est la viscosité (Pa.s) et R_T est la résistance totale (m^{-1}). Cette résistance totale peut être calculée de la façon suivante :

$$R_T = R_M + R_{CI} + R_{CP} \quad (\text{III.4})$$

où, R_M est la résistance de la membrane, R_{CI} est la résistance du colmatage irréversible et R_{CP} est la résistance de polarisation de concentration.

La résistance de la membrane (R_M), calculée avec le flux d'eau déminéralisée, était de $6,04 \cdot 10^{11}$ (m^{-1}). La résistance du colmatage irréversible (R_{CI}) peut être calculée une fois terminée la filtration (5 h dans le cas de notre étude) suivi d'un rinçage à l'eau de la membrane. Pour ce faire, nous avons mesuré le flux d'eau déminéralisée à différentes PTM et l'inverse de la pente de la droite $J=f(PTM)$ donne la résistance du colmatage irréversible. Nous avons alors trouvé une valeur de $1,54 \cdot 10^{11}$ (m^{-1}). La résistance totale (R_T), est calculée avec le flux de perméat moyen au cours de la filtration et en remplaçant cette valeur dans l'équation (III.3). Dans notre étude nous avons obtenu une valeur de R_T de $3,87 \cdot 10^{12}$ (m^{-1}). Finalement la résistance de polarisation de concentration est calculée par différence, utilisant l'équation (III.4). Nous avons obtenu une

valeur de $3,11 \cdot 10^{12}$ (m^{-1}) pour la résistance de polarisation de concentration. Ces résultats indiquent que la résistance totale est principalement due au phénomène de polarisation de concentration. Cependant, nous n'avons pas observé de diminution de flux pendant les premières secondes de filtration (caractéristique du phénomène), ce qui indiquerait que les taux de cisaillement générés par la rotation des membranes peuvent contrôler aussi la polarisation de concentration et limiter ainsi la formation de dépôt sur la membrane et le colmatage. Cela n'est valable que pour les essais à $\text{FRV} = 1$, car pendant la concentration d'autres phénomènes interviennent. Par la suite, nous réaliserons une étude de résistances pendant la concentration du lait.

III.4.2. Résistances à FRV variable

Cette étude de résistances a été effectuée lors de la concentration du lait UHT et du lait pasteurisé, afin d'évaluer l'effet de la concentration de protéines sur la résistance totale. Pour ce faire, le modèle de résistances en séries a été appliqué.

Les essais choisis pour cette étude sont les essais 1 et 2 décrits dans la section III.2 (Tableau III.8). Des mesures de viscosité ont été réalisées sur les rétentats finaux pour calculer la résistance totale.

Sur le Tableau III.10 sont données les valeurs de la résistance de la membrane (R_m) et de la résistance totale (R_T) calculées à la fin de chaque essai de concentration.

Tableau III.10. Résistances obtenues lors de la concentration du lait UHT et du lait pasteurisé.

Essai	Lait	FRV	R_m (m^{-1})	R_T (m^{-1})
1	Pasteurisé	5,32	$6,04 \cdot 10^{11}$	$9,79 \cdot 10^{11}$
2	UHT	4,30	$6,04 \cdot 10^{11}$	$1,35 \cdot 10^{12}$

Nous observons que, pour les essais avec du lait UHT, la résistance totale est plus élevée que celle de l'essai avec du lait pasteurisé. Il est intéressant d'avoir obtenu ce résultat, car nous nous attendions à une résistance totale plus élevée avec le lait pasteurisé à cause de sa concentration de protéines plus importante. *Gézan et al., (1995)* ont montré que la taille et la conformation des particules d'un fluide peuvent induire la formation d'un dépôt moins épais ou que ce dépôt n'aie pas de structure fixe. En effet, les particules de grande taille ne bloquent pas les pores de la membrane et leur érosion par le débit d'alimentation peut être favorisée lors de la filtration. Leur probabilité d'être retrouvée dans le dépôt est plus faible (*Lu & Ju, 1989*) et donc celui-ci est moins dense et avec une résistance plus faible (*Tarleton & Wakeman, 1993*). La taille de

particules peut varier à cause du taux de cisaillement, ce qui change la structure du dépôt car l'organisation des particules sur le dépôt dépend de la distribution de taille de particules (*Gesan et al., 1995*). Ceci suggère que la présence des protéines dénaturées peut colmater davantage la membrane, peut être par leur conformation plus linéaire qu'une protéine native (*Fennema, 2007*) et/ou que les protéines dénaturées soient plus endommagées que les protéines natives par le taux de cisaillement généré par la rotation des membranes, devenant ainsi plus petites et formant un dépôt sur la membrane plus dense et donc avec une résistance plus élevée.

III.5. Essais sur le module à disque rotatif utilisant des membranes organiques de MF.

Le module à disque rotatif a été déjà utilisé pour le traitement des effluents de l'industrie laitière par NF et OI (*Frappart et al., 2006*), dans l'UF du lait (*Ding et al., 2003; Jaffrin et al., 2004*), et aussi dans la séparation de oligoglucuronanes (*Mellal et al., 2008*), en obtenant des bonnes performances en comparaison à la filtration tangentielle. C'est pour cela que nous avons décidé de tester ce module pour la séparation de micelles de caséines et de comparer ses performances avec le module MSD, lequel a des flux de perméat, transmissions de protéines solubles et rétentions de micelles de caséines élevés, et supérieures qu'en filtration tangentielle.

Nous avons utilisé trois membranes de microfiltration différentes par la taille de pores et matériau, afin de trouver le seuil de coupure adéquat pour avoir une haute rétention de micelles de caséines et aussi une haute transmission de protéines solubles. Nous avons testé différents matériaux de membranes car il y a été démontré que la nature de la membrane (hydrophobique ou hydrophilique) peut affecter la transmission de protéines (*Ricq et al., 1996; Nyström et al., 1994*). Nous avons utilisé une membrane Pall de 0,2 μm en Nylon, une membrane Alfa Laval de 0,15 μm en PVDF et une membrane Microdyn-Nadir de 0,2 μm en PVDF. Nous allons, par la suite, comparer les résultats obtenus pour chaque membrane. Dans tous les essais, un disque équipé d'ailettes a été utilisé et effectués avec du lait UHT écrémé.

III.5.1. Variation du flux, de la rétention de caséines et de la transmission de protéines de lactosérum avec la PTM à FRV=1.

Comme nous l'avons signalé dans le protocole opératoire (Chapitre II : « Matériels et Méthodes », section II.9), chaque essai a été réalisé en montant la pression par palier pour atteindre les conditions opératoires qui permettent d'avoir une rétention de caséines et une transmission de protéines de lactosérum maximales. Pour cela, nous avons fixé la vitesse de rotation du disque, puis nous avons fixé la PTM et nous avons attendu la stabilisation du flux avant de monter au prochain palier de PTM. Une fois tous les paliers de pression effectués, nous

avons diminué la PTM (ouverture complète de la vanne) et nous avons changé la vitesse de rotation du disque puis nous avons augmenté la PTM par palier. Pour éviter le colmatage de la membrane nous avons toujours commencé avec la vitesse de rotation du disque métallique la plus élevée.

Les variations du flux de perméat avec la PTM à 45°C pour des vitesses de rotations du disque de 2500 et 2000 tr.min⁻¹ et pour chaque membrane, sont représentées sur la Figure III.28. Les taux de cisaillement à la périphérie correspondants à chaque vitesse de rotation, sont aussi indiqués sur la Figure III.28.

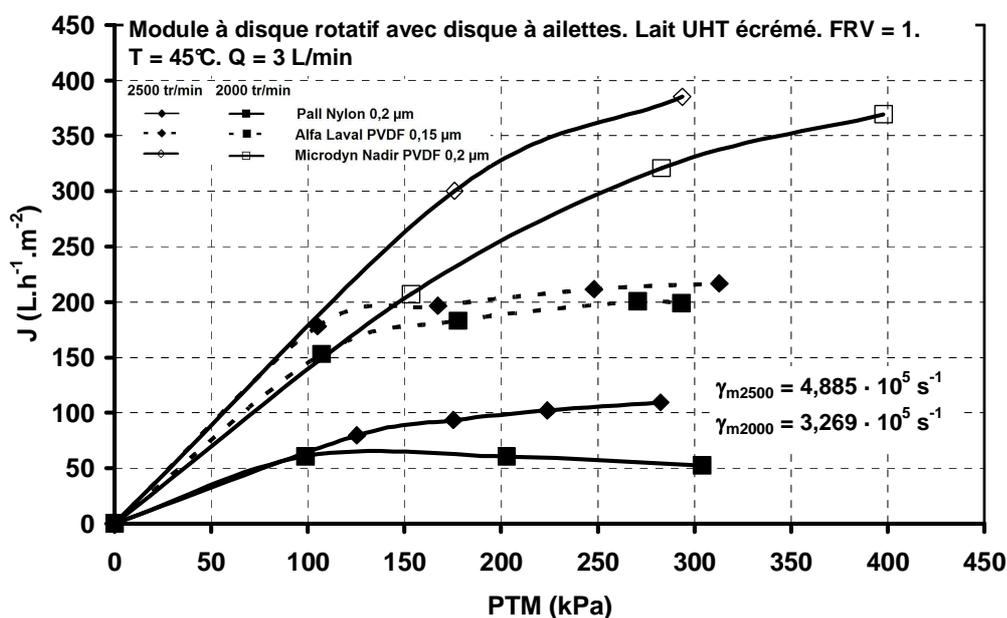


Figure III.28. Variation du flux de perméat en fonction de la PTM. Comparaison entre les membranes organiques : Pall en Nylon, Alfa Laval en PVDF et Microdyn Nadir en PVDF.

Comme nous pouvons l'observer, le flux de perméat augmente avec la vitesse de rotation du disque. Nous constatons que le plateau est atteint à une PTM de 100 kPa pour les membranes Pall en Nylon et Alfa Laval en PVDF. Pour la membrane Microdyn Nadir en PVDF, le plateau n'a pas été atteint et le flux continue à augmenter avec la PTM même aux pressions élevées (400 kPa). Le même comportement a été observé à 1500 tr.min⁻¹ (non représenté sur la Figure III.28). Les flux critiques augmentent avec l'augmentation de la vitesse de rotation, grâce à l'augmentation du taux de cisaillement.

Les flux de perméat obtenus avec la membrane Microdyn Nadir en PVDF ont été les plus élevés, ce qui est curieux d'autant plus que sa perméabilité a été plus faible que celle de la membrane Pall en Nylon (465 contre 691 L.h⁻¹.m⁻².bar⁻¹). Nous croyons que ce comportement est

dû à la différence de matériau. Il y a été montré que la nature de la surface des membranes a un rôle important sur leur tendance à colmater. Les surfaces avec une rugosité plus élevée se colmatent plus facilement, parce que la rugosité augmente l'aire superficielle. Une augmentation de cette aire superficielle augmente le nombre de contacts entre les particules et la surface membranaire (*Wong et al., 2009*). Selon la littérature, les membranes en Nylon ont une surface moins irrégulière que les membranes en PVDF, ayant une rugosité, respectivement de 73 nm contre 117 nm (*Riedl et al., 1998*) et donc, logiquement les membranes en Nylon devraient avoir un flux plus élevé que les membranes en PVDF. Cependant nous n'avons pas observé ce comportement. *Riedl et al., (1998)* ont observé le même phénomène lors de la clarification de jus de pomme. Ils ont étudié la morphologie du dépôt formé sur la surface des membranes en Nylon et en PVDF et ont observé que le dépôt sur les membranes en Nylon était plus dense que sur les membranes en PVDF, celui-ci étant plus poreux. Par conséquent, le flux est moins affecté pour la surface membranaire que les membranes en Nylon. Ceci peut expliquer nos flux plus faibles avec la membrane en Nylon.

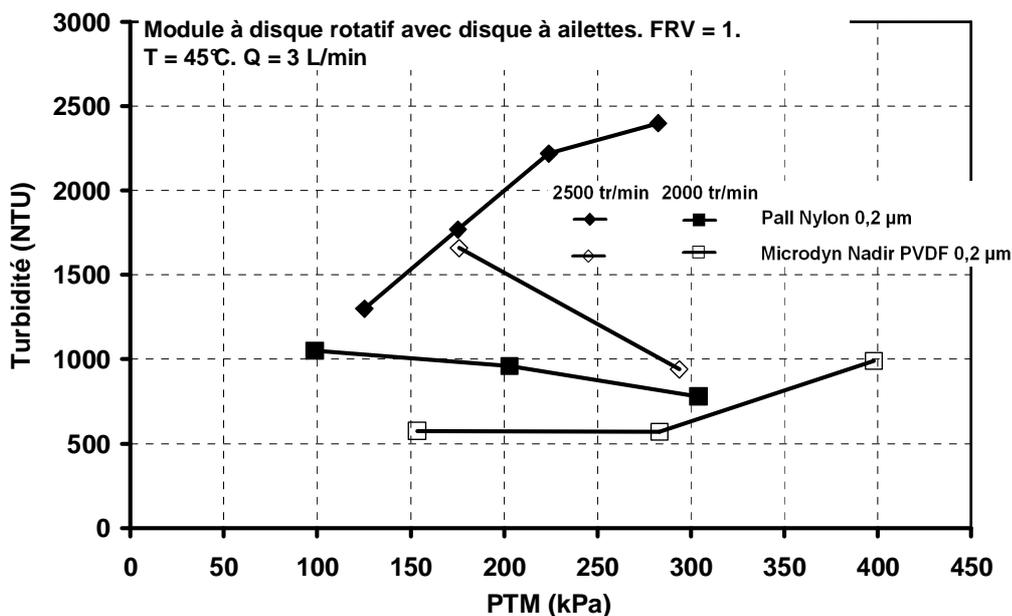


Figure III.29. Evolution de la turbidité en fonction de la PTM. Comparaison entre les membranes organiques : Pall en Nylon et Microdyn Nadir en PVDF

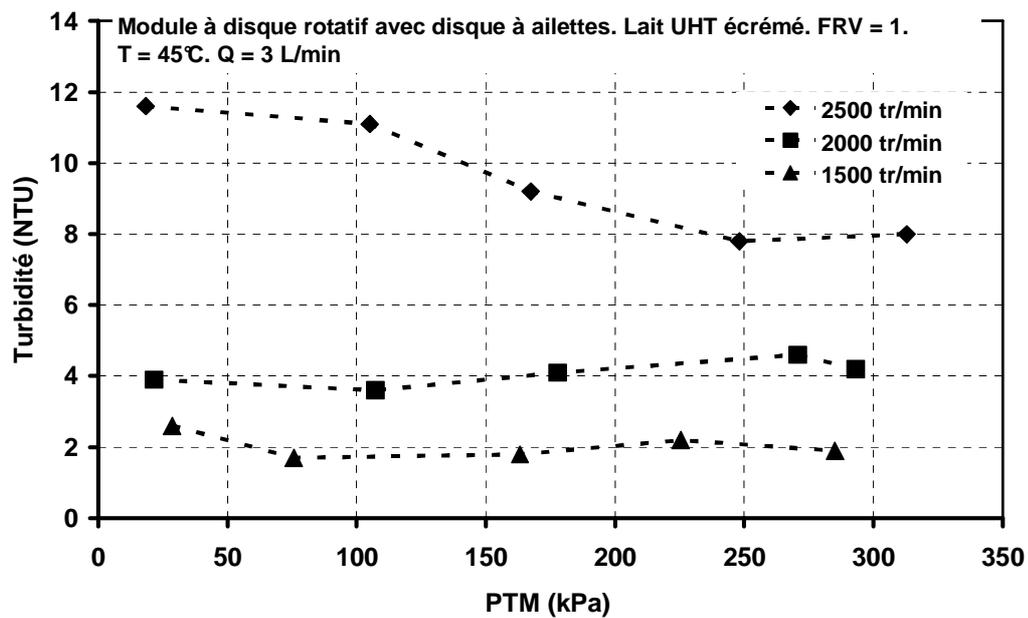


Figure III.30. Evolution de la turbidité en fonction de la PTM. Membrane Alfa Laval 0,15 μm en PVDF.

Nous avons obtenu des turbidités très élevées en utilisant les membranes de 0,2 μm (Figure III.29), supérieures à 500 NTU pour les deux membranes (résultats non représentés sur la Figure III.30). Nous avons atteint une valeur de turbidité admissible (32 NTU) à la fin de l'essai avec la membrane Pall à 1500 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$ et 273 kPa, où la couche limite de concentration était déjà formée et le flux de perméat était faible (31 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$). Nous n'avons pas obtenu une turbidité inférieure à 50 NTU (valeur admissible (Gézan-Guizjou, 2008)) avec la membrane Microdyn-Nadir, même à 1500 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pour le cas de la membrane Alfa Laval en PVDF, les valeurs de turbidité (Figure III.30) ont été faibles (inférieures à 12 NTU) pour toutes les vitesses essayées. Cela est dû à la nature hydrophobe du PVDF et à la taille de pore plus faible. Cependant, en utilisant la membrane Microdyn Nadir fabriqué avec le même polymère, les valeurs de turbidité ont été 92% plus élevées à 2500 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$ et 38% plus élevés à 2000 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$. Cela suggère que la membrane Microdyn Nadir avait un défaut.

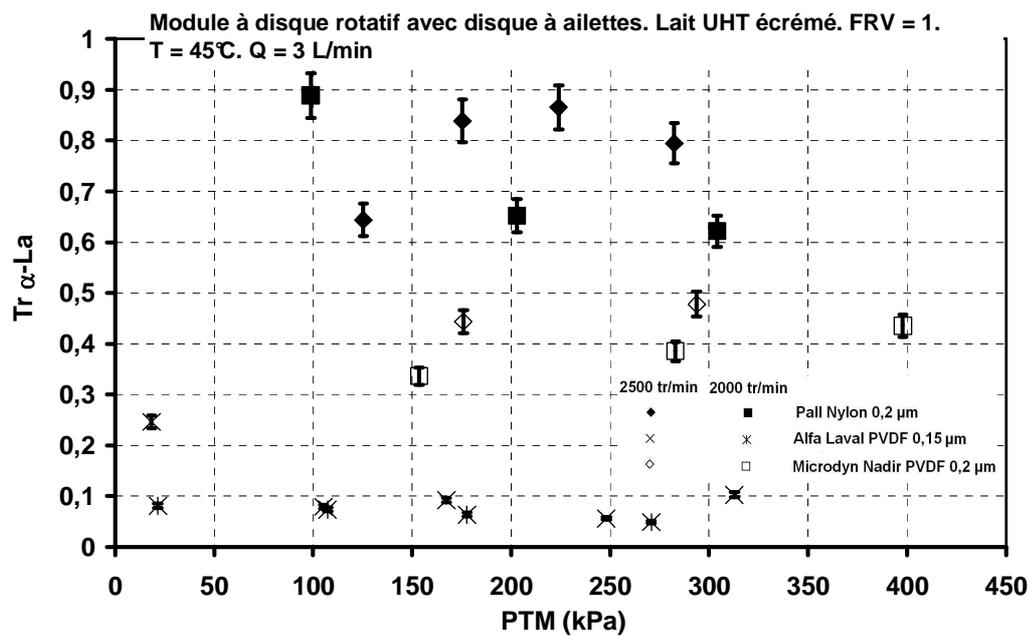


Figure III.31. Variation de la transmission d'α-La en fonction de la PTM. Comparaison entre les membranes organiques : Pall en Nylon, Alfa Laval en PVDF et Microdyn Nadir en PVDF.

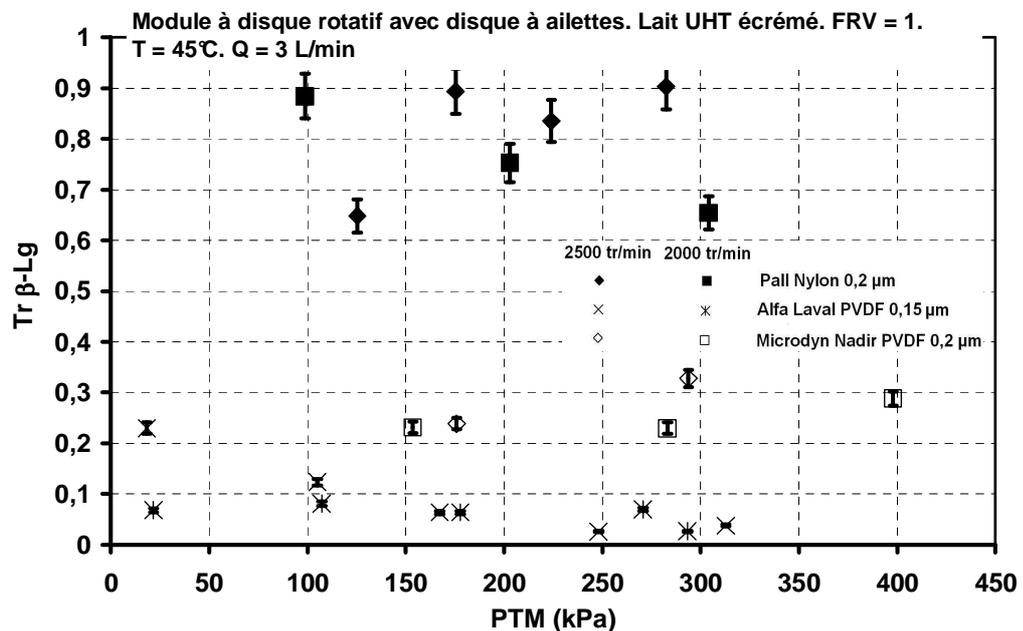


Figure III.32. Variation de la transmission de β-Lg en fonction de la PTM. Comparaison entre les membranes organiques : Pall en Nylon, Alfa Laval en PVDF et Microdyn Nadir en PVDF.

Les transmissions d'α-La sont représentées sur la Figure III.31. Nous observons que les transmissions les plus élevées ont été obtenues avec la membrane Pall en Nylon en obtenant des

transmissions qui fluctuent entre 0,7 et 0,9. Les transmissions ont augmenté d'environ de 33% avec la vitesse de rotation du disque pour les membranes avec une taille de pores de 0,2 μm . L'augmentation a été moins marquée (environ 2%) pour la membrane de 0,15 μm , cela est dû à sa taille de pore plus faible.

Les transmissions de β -Lg (Figure III.32) suivent le même comportement que pour l' α -La, en obtenant les valeurs les plus élevées à 2500 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$ et avec la membrane en Nylon. Les transmissions avec cette membrane ont aussi évolué entre 0,7 et 0,9.

Nous constatons que les transmissions des deux protéines varient peu avec la PTM, les valeurs les plus élevées étant obtenues à faible PTM et proche de la PTM critique. Cela indique qu'au-delà de la PTM et du flux critique nous n'observerons pas d'amélioration de la transmission à cause de la formation de la couche des protéines sur la membrane, laquelle limite les transmissions des protéines solubles.

Pour les deux protéines des transmissions plus faibles ont été obtenues avec les membranes en PVDF, probablement à cause de leur nature hydrophobique. Les membranes hydrophobiques ont une forte tendance à adsorber les protéines et donc leur transmission est plus faible qu'avec des membranes hydrophiliques, comme les membranes en Nylon (*Scott, 1995*). Une autre explication est que, comme les membranes en Nylon ont une surface plus irrégulière qui augmenterait le colmatage (*Persson et al., 2003*), cela augmenterait la différence de concentration des protéines entre la surface de la membrane et le perméat. Cette différence de concentration favoriserait la transmission de protéines (*van Reis et al., 1999*).

III.5.2. Variation du flux, de la rétention de caséines et des transmissions de protéines de lactosérum avec le FRV.

Comme nous l'avons vu précédemment, les meilleures transmissions ont été obtenues avec la membrane Pall en Nylon, avec par contre une rétention de micelles de caséines et des flux faibles. Nous n'avons pas obtenu une bonne rétention de caséines ni une transmission de protéines solubles élevée, avec aucune autre membrane. Pour réaliser l'essai de concentration, nous avons privilégié la transmission de protéines solubles élevée de la membrane en Nylon, sachant qu'au cours de la filtration la rétention de caséines pourrait augmenter grâce à la formation de la couche de protéines sur la membrane.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, il est préférable de travailler à faible PTM pour obtenir des bonnes transmissions, c'est pour cela que nous avons effectué l'essai à 200 kPa. Nous avons choisi une vitesse de rotation du disque de 2000 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$, car à cette vitesse la rétention de caséines est plus élevée qu'à 2500 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$ et la différence de flux peu importante.

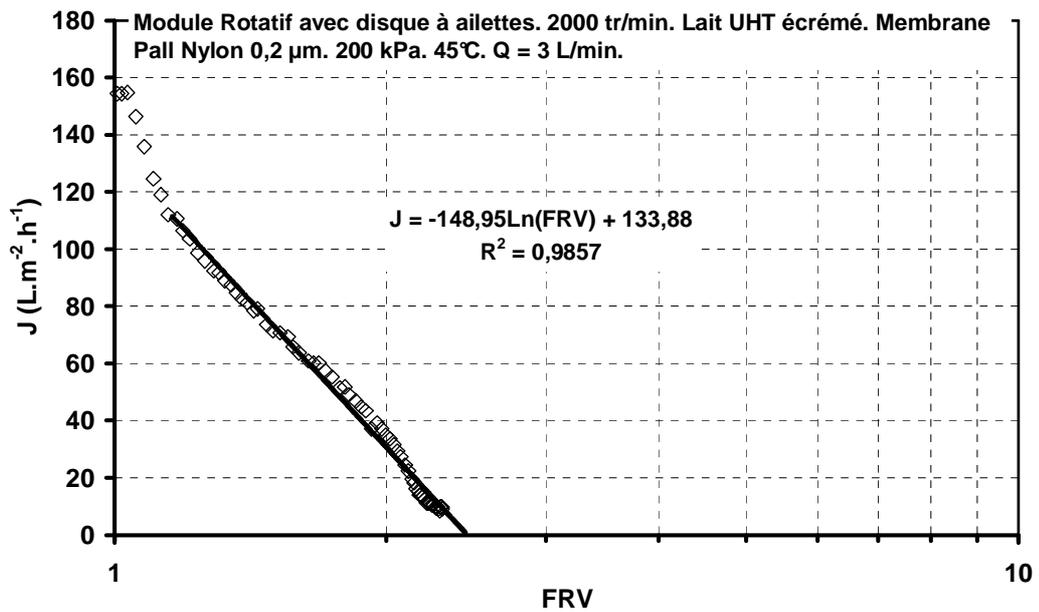


Figure III.33. Evolution du flux de perméat en fonction du FRV (échelle log).

La Figure III.33 montre la variation du flux de perméat en fonction du logarithme népérien du FRV. Nous pouvons observer que le flux diminue linéairement avec le FRV, en accord avec la théorie de polarisation de concentration, indiquant que nous avons travaillé dans le régime limité par le transfert de matière. Nous avons atteint un FRV égal à 2,3 après 4 h de filtration.

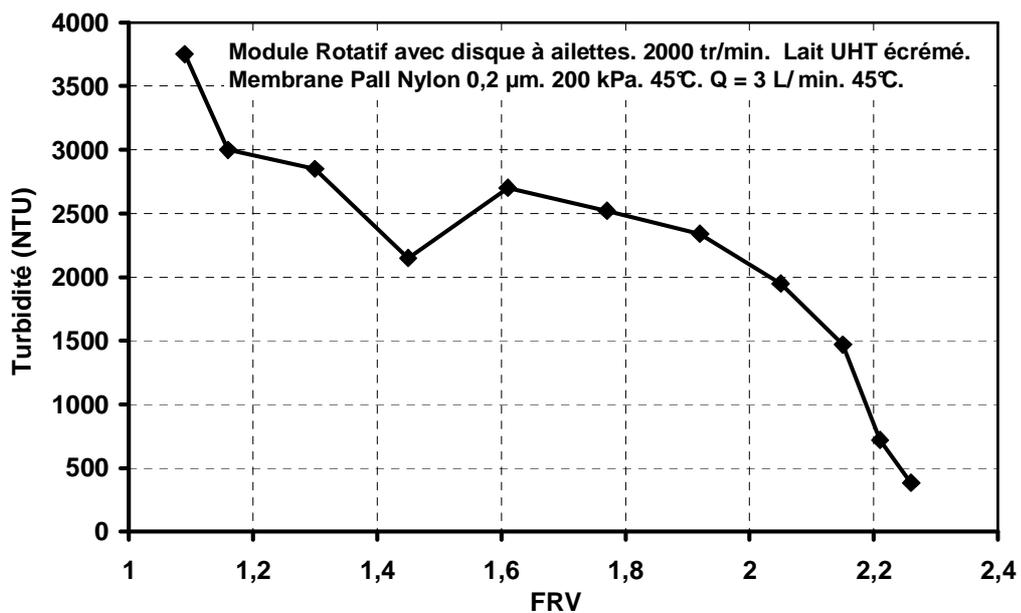


Figure III.34. Evolution de la turbidité en fonction du FRV.

Pendant l'essai nous avons suivi la turbidité du perméat (Figure III.34). Nous observons que la turbidité diminue quand le FRV augmente, comme nous aurions pu le prévoir. Cette diminution commence au début de la filtration, suggérant que la formation de la couche de dépôt a lieu aux premières minutes de la concentration. Dans le perméat final nous avons obtenu une turbidité de 2700 NTU, valeur trop élevée par rapport à la turbidité admissible (50 NTU).

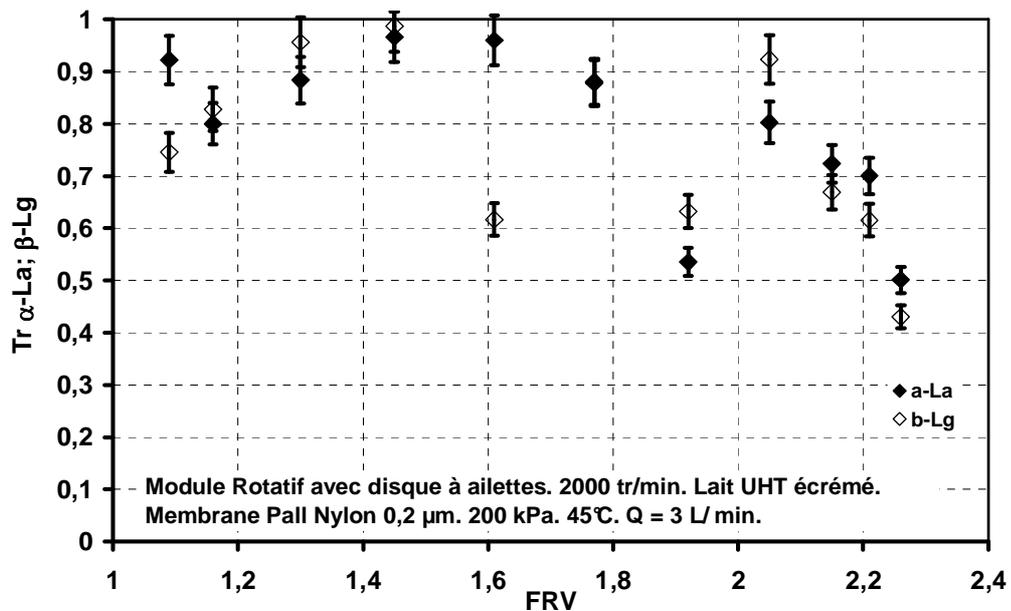


Figure III.35. Transmission d' α -La et de β -Lg en fonction du FRV.

Les transmissions d' α -La et de β -Lg sont représentées sur la Figure III.35. Elles suivent la même tendance pendant tout l'essai de concentration. Les transmissions diminuent à partir d'un FRV égal à 1,8, ce qui suggère qu'à cette valeur de FRV, le phénomène de polarisation de concentration sur la membrane a lieu. Nous avons obtenu une transmission moyenne de 0,73 et 0,60 respectivement pour l' α -La et la β -Lg. Nous avons récupéré dans le perméat 41% d' α -La et 34% de β -Lg du lait initial.

Conclusions

Dans cette partie, nous avons testé des membranes différentes en taille de pores et en matériau (PVDF et Nylon), en utilisant le module à disque rotatif muni d'un disque à ailettes. Nous avons pu observer que les flux de perméat augmentent avec la vitesse de rotation du disque et la PTM. Les flux obtenus ont été supérieurs à ceux reportés dans la bibliographie en filtration tangentielle, grâce aux forts taux de cisaillements générés par la rotation du disque. Nous avons

constaté que, pour avoir une bonne transmission de protéines, il est préférable de travailler à une PTM inférieur à 100 kPa, qui est la PTM limite.

Malgré les flux élevés, nous n'avons pas eu un bon compromis entre une rétention de caséines élevée et une transmission de protéines solubles également élevée, comme nous l'avons obtenu avec le module MSD. Ce comportement est dû à la nature des polymères, les membranes en PVDF étant hydrophobiques présentent une faible transmission de protéines de lactosérum car ces membranes ont une tendance à adsorber les protéines. Pour leur part les membranes en Nylon, étant hydrophiliques, présentent une transmission de protéines solubles élevée, mais aussi pour les micelles de caséines.

Par la suite nous réalisons une comparaison entre les modules à disque rotatif et MSD.

III.6. Comparaison entre le module à disque rotatif et le module MSD.

Si nous comparons les résultats obtenus avec le module à disque rotatif et le module MSD, nous observons que le module MSD présente le meilleur compromis entre flux, faible transmission de caséines et bonne transmission d' α -La et de β -Lg.

Les flux avec le module à disque rotatif ont été plus élevés qu'avec le module MSD, car la vitesse périphérique est plus élevée. Comme dans le régime limité par le transfert de matière, le flux de perméat est gouverné par le taux de cisaillement à la membrane, lequel est aussi fonction de la vitesse moyenne du fluide relative à la membrane, nous avons tracé sur la Figure III.36 les valeurs du flux maximal stabilisé (J_{lim}), correspondant à l'essai avec la membrane en PDVF 0,15 μm utilisé dans le module à disque rotatif avec ceux obtenus avec le module MSD, en fonction de la vitesse azimutale du disque moyennée sur l'aire de la membrane (V_{av}). Tous ces essais ont été réalisés avec du lait UHT écrémé. Nous avons aussi inclus sur la Figure III.36 les valeurs de flux de perméat obtenus par *Samuelsson et al.*, (1997) pendant la MF de lait écrémé avec une membrane céramique tubulaire de 0,14 μm utilisant un système PTMU à différentes vitesses de fluide.

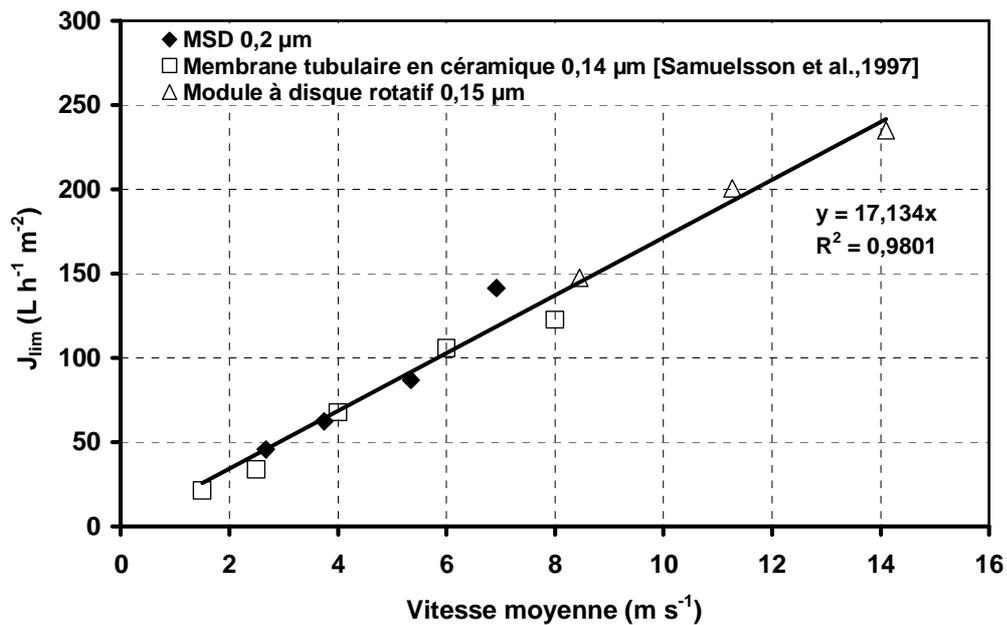


Figure III.36. Flux limite de perméat corrigé à 45°C, en fonction de la vitesse moyennée sur la membrane V_{av} pour le module MSD et le module à disque rotatif et en fonction de la vitesse du fluide V pour les essais sur la membrane tubulaire de *Samuelsson et al., (1997)*

Comme les deux types des membranes, céramique et organique, sont circulaires avec un diamètre interne (R_1) et un diamètre externe (R_2), les valeurs de V_{av} sont obtenus par :

$$V_{av} = \frac{2\pi}{\pi(R_1^2 - R_2^2)} \int_{R_2}^{R_1} r^2 \omega dr = \frac{2\omega(R_1^3 - R_2^3)}{3(R_1^2 - R_2^2)} \quad (\text{III.5})$$

En utilisant les valeurs de R_1 et R_2 données dans la section de Matériels et Méthodes, nous trouvons que pour le module MSD :

$$V_{av} = 0,7615R_1\omega \quad (\text{III.6})$$

et que pour le module à disque rotatif :

$$V_{av} = 0,6943R_1\omega \quad (\text{III.7})$$

Les valeurs de ces vitesses sont données sur le Tableau III.11. V est uniforme sur l'aire de la membrane et équivalente à V_{av} . Comme les essais de *Samuelsson et al., (1997)* ont été réalisés à 55°C, nous avons multiplié leurs flux par le rapport de viscosités du lait à 55°C et à 45°C : $\mu_{55^\circ\text{C}}/\mu_{45^\circ\text{C}} = 0,845$ (Tableau III.12), et pour le flux du module MSD : $\mu_{40^\circ\text{C}}/\mu_{45^\circ\text{C}} = 1,093$. *Frappart et al., (2006)* ont observé que les flux de perméat dans le régime limité par le transfert de matière

sont inversement proportionnels à la viscosité du fluide, en utilisant le module à disque rotatif lors de l'osmose inverse de lait dilué trois fois à 45°C.

Tableau III.11. Vitesse moyenne sur la membrane et flux limites à différentes vitesses de rotation pour le module MSD (corrigé à 45°C) et pour le module à disque rotatif

Module MSD				
Vitesse de rotation (tr.min⁻¹)	ω (rad.s⁻¹)	Vitesse périphérique (m.s⁻¹)	V_{av} (m.s⁻¹)	J_{lim} (L.h⁻¹.m⁻²) à 45°C
1930	202	9,1	6,93	141,2
1492	156	7,0	5,33	86,7
1044	109,3	4,9	3,75	62,2
745	78	3,5	2,67	45,6
Module à disque rotatif				
Vitesse de rotation (tr.min⁻¹)	ω (rad.s⁻¹)	Vitesse périphérique (m.s⁻¹)	V_{av} (m.s⁻¹)	J_{lim} (L.h⁻¹.m⁻²)
2500	262	20,3	14,10	234,8
2000	209,4	16,23	11,26	200,5
1500	157	12,17	8,45	147,2

Tableau III.12. Flux limites obtenus en MF de lait écrémé UHT à 55°C à différentes vitesses (V) en PTMU avec une membrane tubulaire céramique de 0,14 μm , essais réalisés par *Samuelsson et al., (1997)*.

V (m.s⁻¹)	1,5	2,5	4,0	6,0	8,0
J_{lim} (55°C) (L.h ⁻¹ .m ⁻²)	25	40	80	125	145
J_{lim} (45°C) (L.h ⁻¹ .m ⁻²)	21,1	33,8	67,7	105,7	122,6

La Figure III.36 montre que tout les flux pour les trois systèmes sont proportionnels à V_{av} et ils suivent l'équation :

$$J_{lim} = 17,13V_{av} \quad R^2 = 0,980 \quad (\text{III.8})$$

Il est intéressant de trouver que le flux de perméat pour les trois systèmes suit la même équation linéaire pour une grande gamme de vitesses, de 1,5 à 14 m.s⁻¹, car cette relation pourrait être utilisée pour prédire le flux limite dans nos systèmes dynamiques et les systèmes PTMU, en calculant seulement la vitesse moyenne.

Conclusions

Dans ce chapitre nous avons étudié la séparation des micelles de caséines de protéines de lactosérum, utilisant deux modules de filtration dynamique : le module MSD et le module à

disque rotatif. Nous avons montré que le module MSD muni de 6 disques membranaires en céramique, donne le meilleur compromis entre rétention de micelles de caséines et transmission de protéines soluble, en comparaison avec le module à disque rotatif et avec la filtration tangentielle.

Nous avons vu que le module MSD permet limiter la formation de dépôt sur les membranes, limitant ainsi le colmatage de la membrane et maintenant un flux de perméat et des transmissions des protéines solubles constante au cours du temps (5 h) à $FRV = 1$. Nous avons déterminé aussi que les conditions opératoires optimales de ce module, afin d'obtenir une rétention de micelles de caséines et une transmission de protéines solubles maximales, sont une vitesse de rotation de 1931 tr.min^{-1} , une PTM d'environ 60 kPa et une température de 40°C .

Un avantage de ce système dynamique, est qu'il permet l'utilisation des membranes céramiques, qui sont préférables aux membranes organiques pour leur résistance au nettoyage et leur durée de vie élevée.

Lors de la concentration du lait nous avons démontré que, grâce aux taux de cisaillements générés par la rotation des membranes, il est possible de maintenir la transmission des protéines solubles constante à environ 0,95 quelque soit le FRV . Ceci n'a pas été observé en filtration tangentielle.

Nous avons vu que lors de la concentration du lait UHT et du lait pasteurisé, la résistance totale à la filtration est plus importante avec le lait UHT qu'avec le lait pasteurisé. Ceci est dû à la présence des protéines dénaturées, qui peuvent colmater plus facilement la membrane qu'une protéine native à cause de leur différence de conformation.

Nous avons trouvé que pour les deux systèmes dynamiques et un système tubulaire en PTMU, le flux suit une relation linéaire avec la vitesse moyenne du fluide à la membrane, permettant ainsi de déduire le flux limite quelque soit la géométrie du module de filtration utilisé.

Enfin, nous avons démontré que le lait UHT peut être utilisé comme fluide modèle, lors de la MF, car nous avons obtenu des flux, des transmissions et de rétentions de caséines similaires avec ceux obtenus sur le lait pasteurisé. Ceci est très avantageux, car le lait UHT écrémé, étant facilement disponible en grande quantité et avec une durée de conservation élevée par comparaison avec le lait pasteurisé, permet d'effectuer des essais pendant plusieurs semaines avec le même lait. Ceci est utile pour comparer différents systèmes membranaires, lors de la séparation de micelles de caséines et optimiser leurs performances.

**CHAPITRE IV : SEPARATION D' α -
LACTALBUMINE ET DE β -LACTOGLOBULINE
PAR ULTRAFILTRATION**

Ce chapitre est consacré à l'étude de la séparation par ultrafiltration de deux protéines solubles présentes dans les perméats de microfiltration du lait : l' α -Lactalbumine (α -La) et la β -Lactoglobuline (β -Lg). Comme nous l'avons vu dans le chapitre I « Etude Bibliographique », ces deux protéines sont importantes dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique, d'où l'intérêt d'obtenir des fractions les plus pures possibles.

Comme nous l'avons montré dans le Chapitre III, le module MSD muni de 6 membranes céramiques sur 1 arbre a donné les meilleures performances. C'est pour cela que nous avons utilisé les perméats fournis par le MSD pour l'étape suivante d'ultrafiltration (cadre pointillé sur la Figure IV.1). L'ultrafiltration a été réalisée en utilisant le module à disque rotatif muni d'un disque à ailettes. Le module MSD n'a pas été testé dans cette deuxième étape car sa pression maximale d'opération n'est que de 5 bar et qu'à ce jour, des membranes de 50 kDa en céramique pour ce pilote ne sont pas disponibles.

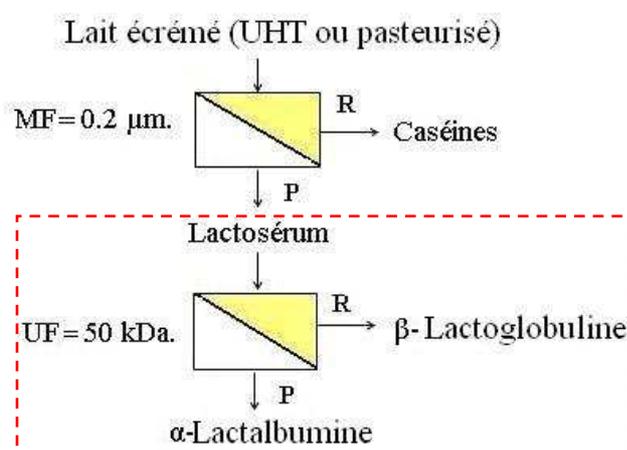


Figure IV.1. Schéma du procédé proposé pour le fractionnement de protéines du lait

Comme en microfiltration, nous avons effectué des essais avec les lactosérums provenant de lait UHT et une comparaison a été faite avec les lactosérums de lait pasteurisé.

I.1. Ultrafiltration du lactosérum du lait UHT et du lait pasteurisé.

Dans cette étape d'UF nous allons recueillir l' α -La dans le perméat tandis que la β -Lg restera en majorité dans le rétentat.

Compte tenu que les poids moléculaires d' α -La et de β -Lg sont proches (14 kDa et 36 kDa, respectivement), nous avons utilisé dans un premier temps une membrane de 20 kDa pour tester le fractionnement. Ces tests préliminaires n'ont montré aucune transmission de protéines dans le perméat avec ce seuil de coupure. C'est pour cela que nous avons décidé d'augmenter le seuil de coupure de la membrane à 50 kDa pour la suite de l'étude.

Nous détaillons ici, les résultats obtenus avec une membrane en PES de 50 kDa sur le module à disque rotatif muni d'un disque à ailettes tournant à 2000 tr.min⁻¹.

I.1.1. Variation du flux et des transmissions de protéines avec la PTM à FRV = 1.

Deux essais ont été réalisés avec recirculation totale du perméat. L'essai 1 correspond au perméat obtenu de la MF du lait pasteurisé, plus précisément à l'essai 1 de la microfiltration du lait pasteurisé (Chapitre III, section III.3). L'essai 2 correspond au perméat obtenu de la MF du lait UHT, essais 2 dans le Chapitre III, section III.2. Le Tableau IV.1 présente un résumé des conditions d'obtention de ces lactosérums.

Tableau IV.1. Conditions d'obtention des lactosérums du lait pasteurisé et UHT.

Essai	Volume final rétentat (L)	Volume perméat (L)	FRV	T (°C)	C α -La dans le perméat final (g.L ⁻¹)	C β -Lg dans le perméat final (g.L ⁻¹)
1 (MF lait pasteurisé)	3,86	9,63	3,5	45	0,959	1,966
2 (MF lait UHT)	2,3	8,5	4,2	40	0,420	0,130

La Figure IV.2 représente le flux de perméat en fonction de la PTM, pour ces deux essais.

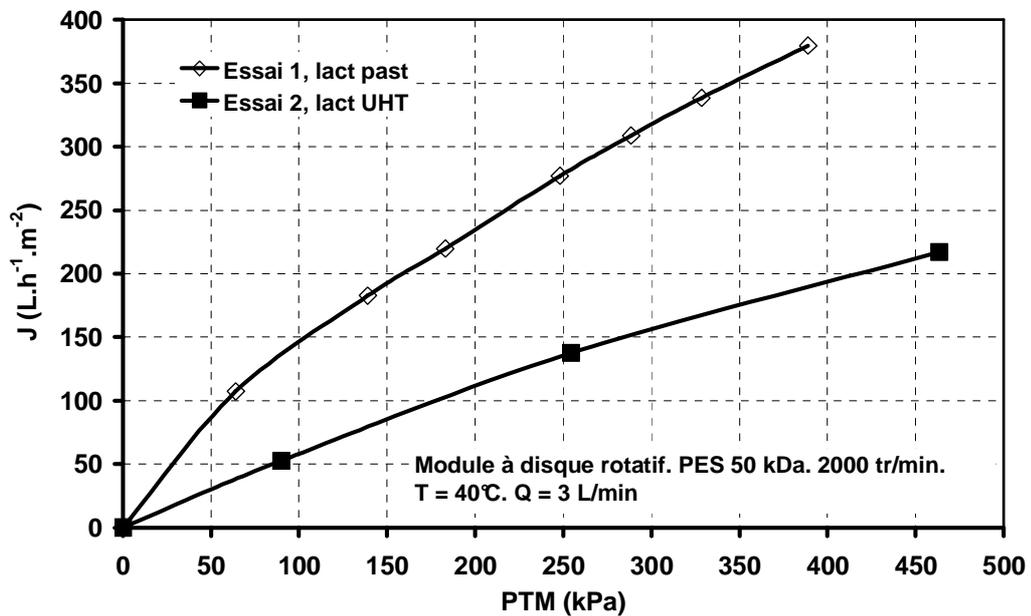


Figure IV.2. Evolution du flux de perméat en fonction de la PTM. Lactosérum du lait UHT écrémé et pasteurisé.

Nous observons que le flux de perméat augmente avec la PTM, pour atteindre une valeur maximale de 380 L.h⁻¹.m⁻² à 380 kPa. Les flux les plus élevés ont été obtenus avec le lactosérum

du lait pasteurisé. Cependant, nous avons observé de grandes différences de perméabilité à l'eau pour chaque membrane, en effet la membrane utilisée dans l'essai 1 avait une perméabilité de $933 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^2.\text{bar}^{-1}$ contre $355 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^2.\text{bar}^{-1}$ pour celle utilisée dans l'essai 2. Pour éliminer ce facteur et ainsi pouvoir mieux analyser les résultats de flux, nous avons divisé le flux de perméats obtenus par la perméabilité de la membrane (L_p). Les flux normalisés sont représentés sur la Figure IV.3

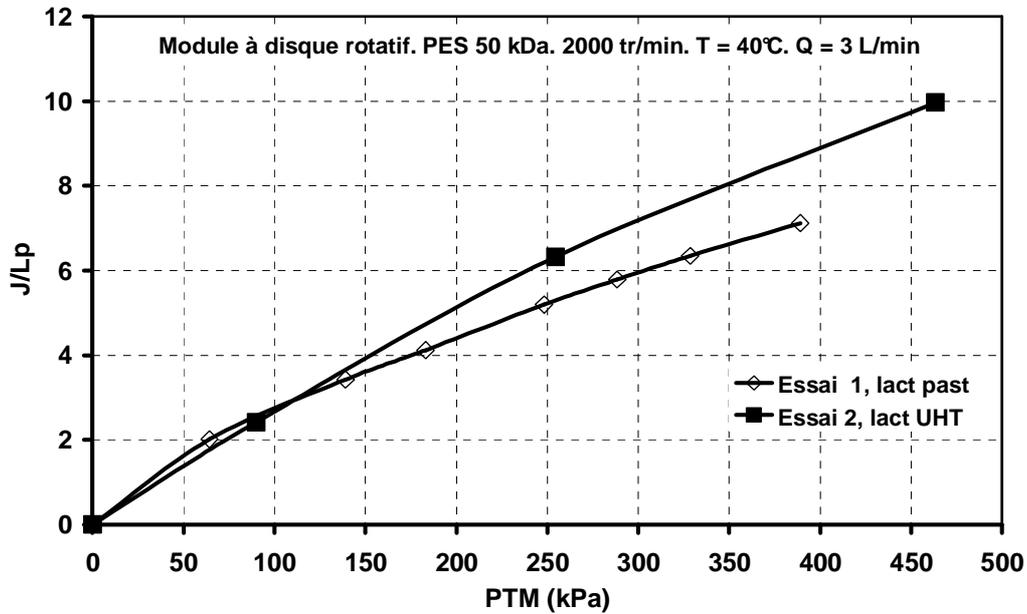


Figure IV.3. Flux de perméat normalisé en fonction de la PTM. UF de lactosérum du lait UHT écrémé et pasteurisé.

Ainsi, nous observons que les flux de perméat normalisés de lactosérum du lait UHT sont légèrement plus élevés que ceux du lait pasteurisé. Cela est dû à la teneur en protéines plus élevée dans le lactosérum du lait pasteurisé.

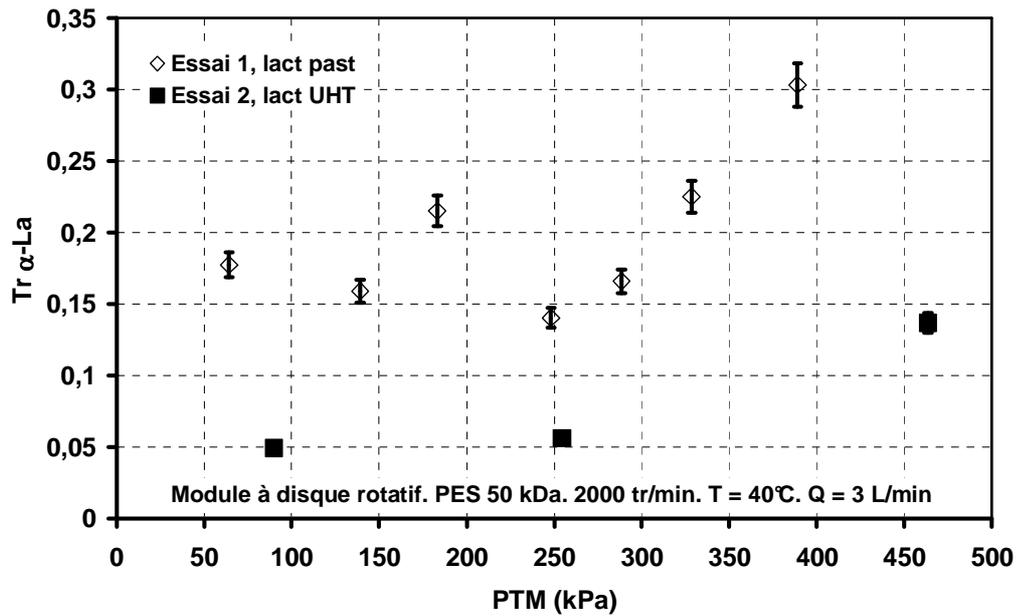


Figure IV.4. Transmission d' α -La en fonction de la PTM. UF de lactosérum du lait UHT écrémé et pasteurisé.

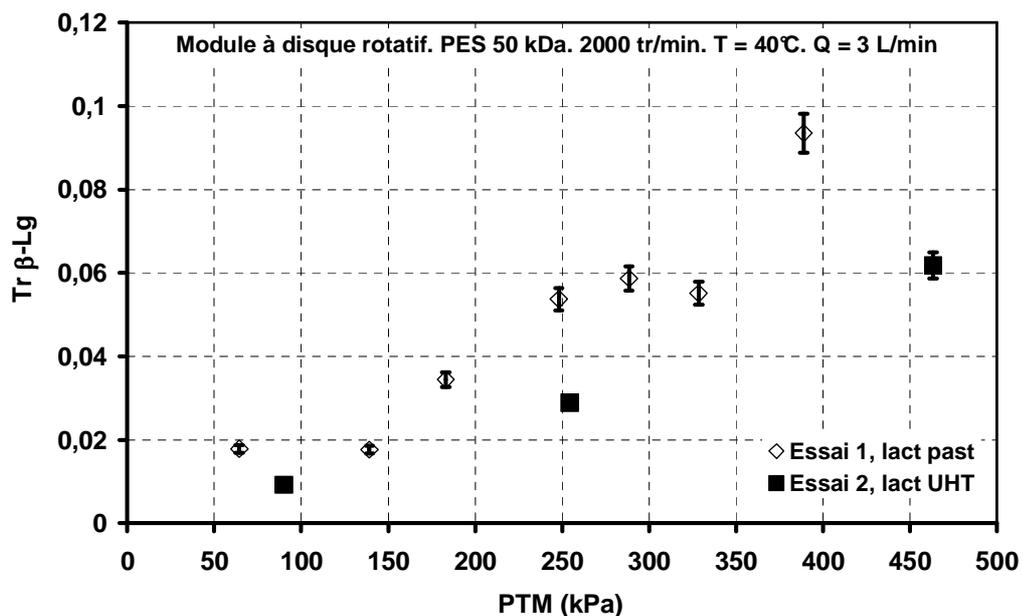


Figure IV.5. Transmission de β -Lg en fonction de la PTM. UF de lactosérum du lait UHT écrémé et pasteurisé.

La transmission d' α -La (Figure IV.4) et la transmission de β -Lg (Figure IV.5) augmentent avec la PTM, et sont plus élevées avec le lactosérum du lait pasteurisé. La transmission d' α -La est nettement plus élevée que celle de la β -Lg, ce qui confirme que l' α -La sera plus présente dans le perméat que la β -Lg, qui elle, restera dans le rétentat. Nous observons que, pour les deux types de lactosérum, la transmission d' α -La se maintient relativement constante jusqu'à une PTM de 250

kPa, au delà de cette pression la transmission augmente avec la PTM. Dans le cas de la β -Lg, nous pouvons voir que, pour les deux types de lactosérum, la transmission augmente avec la PTM. Nous avons obtenu des transmissions plus élevées avec le lactosérum du lait pasteurisé qu'avec le lactosérum du lait UHT, dû à ce que la perméabilité de la membrane utilisée dans l'essai avec le lactosérum du lait pasteurisé était supérieure à celle de l'essai avec le lactosérum du lait UHT.

D'après *Muller (1996)*, la transmission de protéines diminue avec la PTM à cause de la polarisation de concentration et du colmatage irréversible de la membrane. Dans notre cas, les résultats montrent une augmentation de la transmission avec la PTM, grâce aux taux de cisaillement élevés qui permettent de limiter le phénomène de colmatage de la membrane.

Bien que des différences aient été trouvées dans les transmissions, la sélectivité (équation II.25) (Figure IV.6) diminue avec l'augmentation de la PTM à cause de l'augmentation de la transmission de β -Lg avec la PTM.

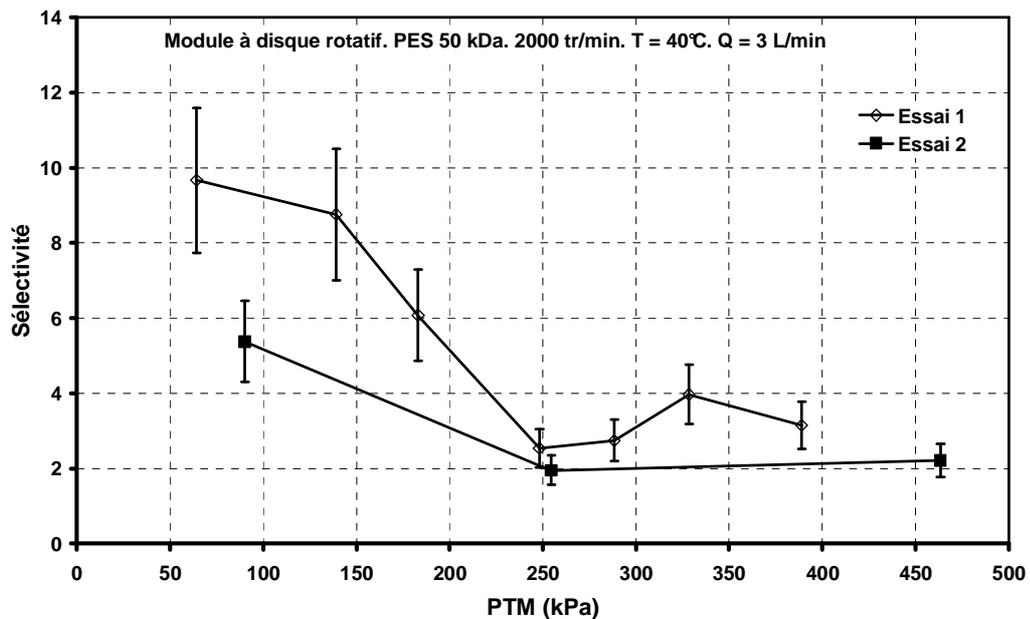


Figure IV.6. Evolution de la sélectivité en fonction de la PTM. Lactosérum du lait UHT écrémé et du lait pasteurisé.

I.1.2. Variation du flux et des transmissions de protéines avec le FRV.

Nous avons effectué quatre essais d'UF à FRV variable, une PTM de 400 kPa, une température de 40°C et une vitesse de rotation du disque de 2000 tr.min⁻¹. Nous avons choisi une PTM de 400 kPa afin de favoriser la transmission d' α -La. De ces quatre essais, deux ont été réalisés avec des lactosérums du lait pasteurisé et deux avec des lactosérums du lait UHT.

Le Tableau IV.2 détaille les caractéristiques de chaque essai et la Figure IV.7 montre les flux de perméats pour chaque essai.

Tableau IV.2. Caractéristiques des essais de concentration de lactosérum du lait pasteurisé et du lait UHT.

Essai		Volume rétentat (L)	Volume perméat (L)	FRV	C α -La initiale (g.L ⁻¹)	C β -Lg initiale (g.L ⁻¹)	T (°C)
3 (lactosérum pasteurisé)	Initial	15,29	-	8,81	1,140	1,346	40
	Final	1,74	13,55				
4 (lactosérum pasteurisé)	Initial	15,50	-	5,37	1,387	1,767	40
	Final	2,89	12,61				
5 (lactosérum UHT)	Initial	6,00	-	3,31	0,243	0,065	40
	Final	1,81	4,19				
6 (lactosérum UHT)	Initial	8,58	-	6,71	0,369	0,169	40
	Final	1,28	7,30				

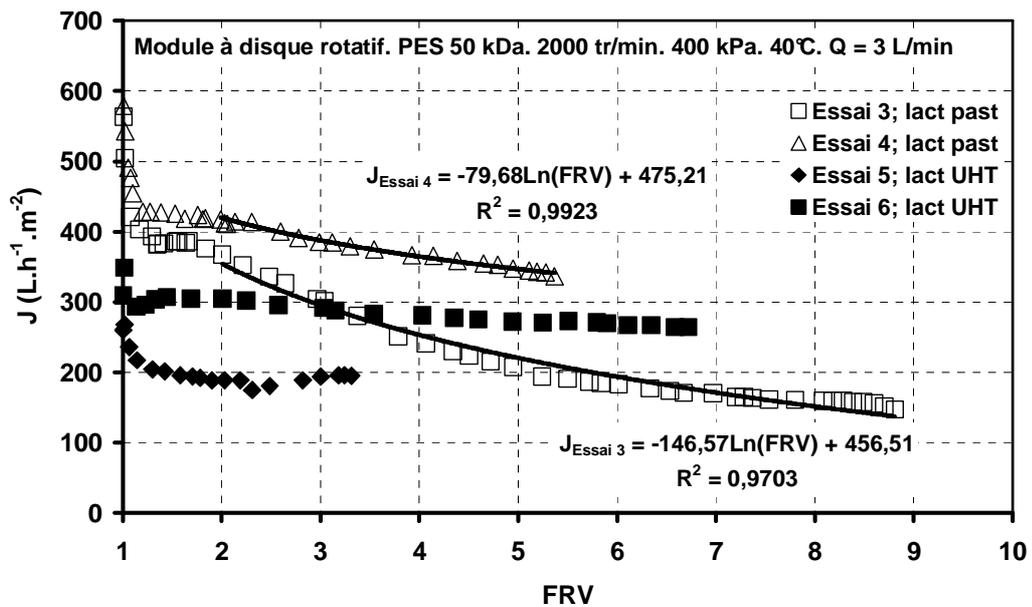


Figure IV.7. Evolution du flux de perméat en fonction du FRV. Comparaison entre les lactosérums du lait pasteurisé et du lait UHT.

Pour tous les essais, nous observons une diminution du flux de perméat en début de la filtration. Cette diminution de flux est due au phénomène de polarisation de concentration de la membrane et l'adsorption de protéines (Aimar *et al.*, 1988; Labbe *et al.*, 1990; Yee *et al.*, 2009). Les flux de perméat pour les essais 3 et 4, après la diminution initiale du flux, se maintiennent constants avec le FRV jusqu'à FRV 2. Au-delà nous observons que le flux diminue linéairement

avec le logarithme népérien du FRV. Cette diminution est plus marquée sur l'essai 3 du au fait d'un FRV final plus élevé que pour l'essai 4.

Les lactosérums du lait UHT ont donné des flux plus faibles que ceux du lait pasteurisé. Ils diminuent au début de la filtration et ils se maintiennent constants à partir d'un FRV de 1,4.

Il est intéressant de voir que les flux avec de lactosérum du lait UHT sont plus faibles qu'avec les lactosérums du lait pasteurisé, car comme leur teneur en protéine est plus faible, un flux plus élevé était attendu. Ceci est dû à la présence des protéines dénaturées qui ont pu colmater davantage la membrane. Pour confirmer cette hypothèse, une étude de résistance sera réalisée dans les paragraphes suivants.

Nos flux de perméat sont entre 2 et 5 fois plus élevés que ceux obtenus par *Muller (1996)*, *Gélan-Guizéon et al., (1999b)*, *Bhattacharjee et al., (2006a; 2006b)*, *Metsämuuronen & Nyström (2009)*, notamment, grâce aux forts taux de cisaillements causés par le disque à ailettes.

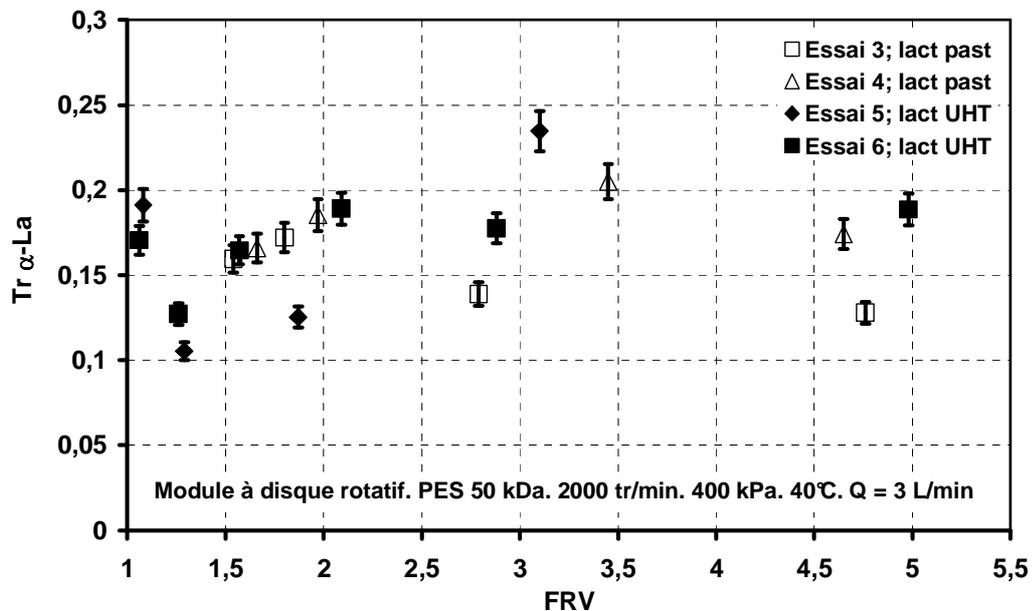


Figure IV.8. Transmission d' α -La en fonction du FRV, lors de la concentration des protéines de lactosérum.

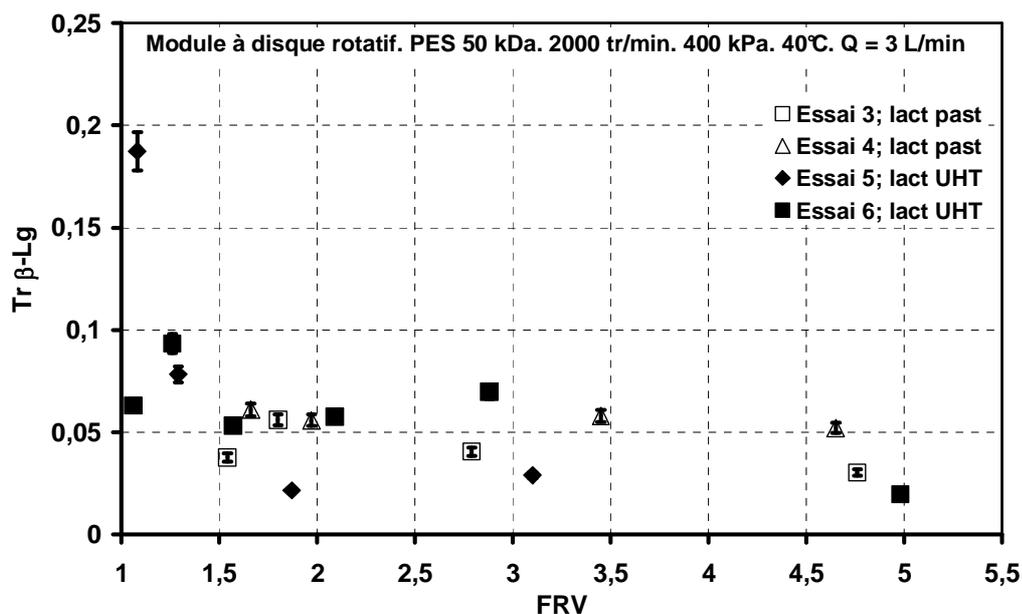


Figure IV.9. Transmission de la β -Lg en fonction du FRV, lors de la concentration des protéines de lactosérum.

Les transmissions d' α -La sont représentées sur la Figure IV.8. Nous pouvons constater que les transmissions se maintiennent constantes à environ 0,17 dans tous les essais. Pour le cas de la β -Lg (Figure IV.9), les transmissions diminuent légèrement avec le FRV au début de la filtration, et après un FRV de 1,5 les transmissions se maintiennent constantes à environ 0,05. La diminution de la transmission de la β -Lg avec le FRV est semblable à la diminution du flux, ce qui suggère que cette protéine, du fait de son poids moléculaire, est une des responsables de la polarisation de concentration observée au début de la concentration.

Nos transmissions sont plus élevées que celles obtenues par *Gésan-Guizion et al., (1999b)* lors de la purification d' α -La et de β -Lg à partir de lactosérum de fromage Gouda. Ils ont utilisé une membrane tubulaire de 50 kDa, les transmissions d' α -La et de β -Lg ont été respectivement de 0,09 et 0,06. *Muller et al. (1996)* lors de la purification d' α -La à partir de lactosérum prépurifié ont observé que la transmission d' α -La diminuait de 0,3 à 0,15 et celle de β -Lg de 0,12 à 0,05, jusqu'à un FRV de 7. Nos résultats sont semblables pour la β -Lg, mais dans le cas de l' α -La nous avons obtenu une transmission constante jusqu'à FRV = 5.

Cependant, *Cheang & Sydney (2003; 2004)* ont rapporté des transmissions plus élevées lors de la séparation d' α -La et de β -Lg, les différences sont dues au fait que ces auteurs ont travaillé avec des protéines pures, et donc ils n'avaient pas d'autres composants qui interfèrent dans la filtration.

Les concentrations initiales et finales d' α -La et de β -Lg dans le perméat et dans le rétentat, ainsi que le bilan de matière, sont données sur le Tableau IV.3.

Tableau IV.3. Concentrations et masses initiales et finales d' α -La et de β -Lg, dans le perméat (P) et le rétentat (R), lors de la concentration de lactosérums du lait UHT écrémé et du lait pasteurisé.

Essai		C α -La (g.L ⁻¹)		M α -La (g)		C β -Lg (g.L ⁻¹)		M β -Lg (g)	
		R	P	R	P	R	P	R	P
3 (lact past)	I	1,140	-	18,027	-	1,346	-	21,559	-
	F	7,103	0,381	12,753	5,340	10,745	0,147	17,188	4,445
4 (lact past)	I	1,387	-	21,891	-	1,768	-	28,210	-
	F	5,322	0,489	15,653	6,331	8,505	0,231	25,504	2,875
5 (lact UHT)	I	0,243	-	1,458	-	0,064	-	0,384	-
	F	0,475	0,075	0,859	0,314	0,189	0,011	0,342	0,046
6 (lact UHT)	I	0,402	-	3,449	-	0,145	-	1,244	-
	F	1,834	0,130	2,347	0,949	0,616	0,012	0,788	0,088

Les variations de la concentration d' α -La et de β -Lg avec le FRV figurent respectivement sur la Figure IV.10 et la Figure IV.11. Nous observons que, pour les deux protéines, la concentration augmente avec le FRV, du à leur faible transmission. Dans tous les essais, les concentrations augmentent quasi linéairement avec le FRV.

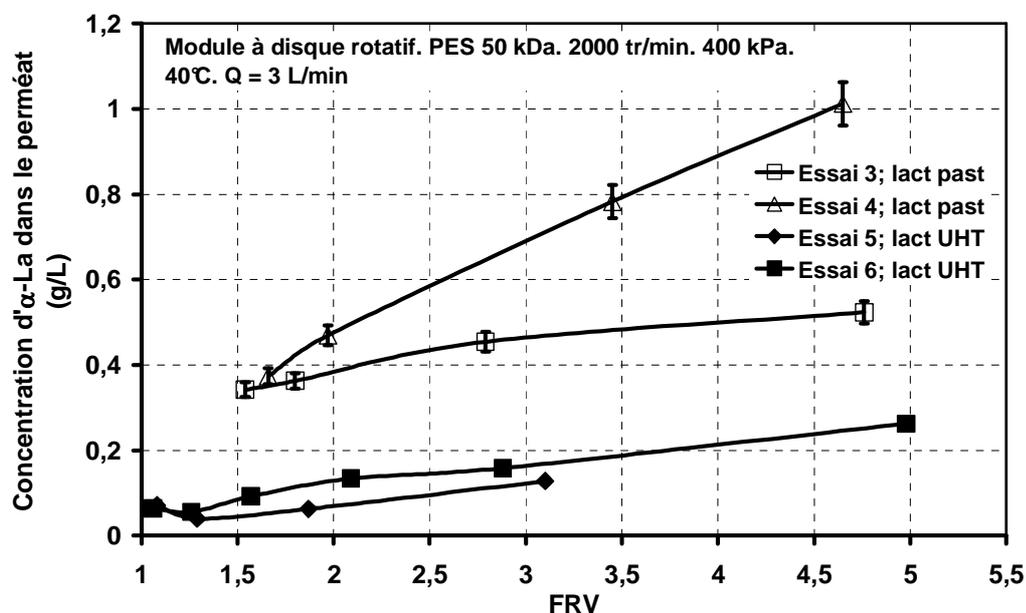


Figure IV.10. Variation de la concentration d' α -La en fonction du FRV, en UF de lactosérums du lait UHT et du lait pasteurisé.

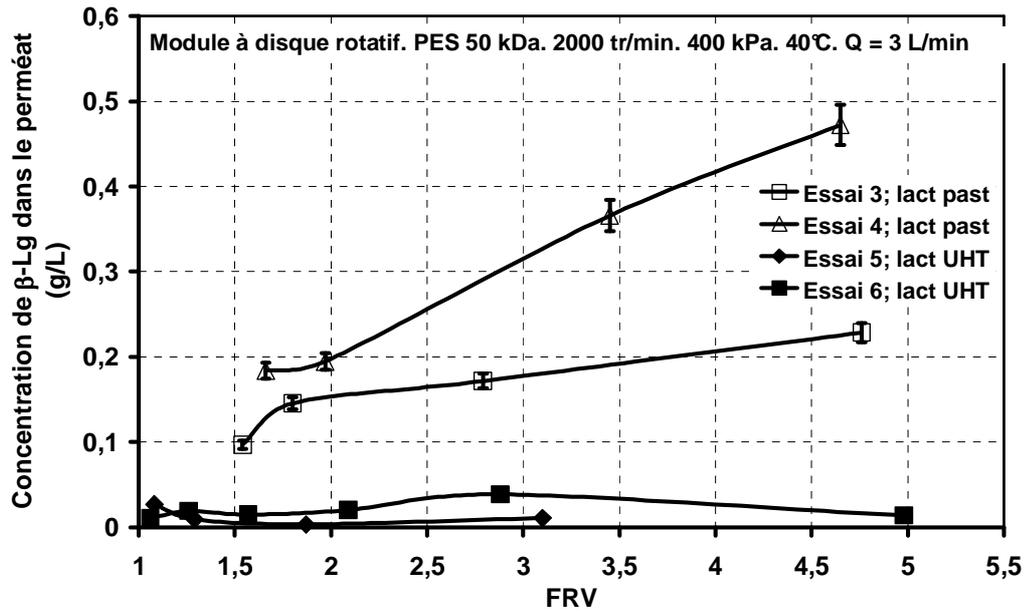


Figure IV.11. Variation de la concentration de β -Lg en fonction du FRV, en UF de lactosérums du lait UHT et du lait pasteurisé.

Nous avons calculé la récupération d' α -La et de β -Lg pour chaque essai avec l'équation suivante :

$$Y = \frac{M_f}{M_i} \quad (\text{IV.1})$$

où M_f est la masse finale et M_i est la masse initiale.

Comme l'objectif dans cette étude est d'obtenir l' α -La dans le perméat et la β -Lg dans le rétentat, la récupération d' α -La a été calculée en prenant en compte la masse finale obtenue dans le perméat. Pour le cas de la récupération de β -Lg, la masse finale dans le rétentat a été prise en compte pour le calcul. Les valeurs obtenues figurent sur le Tableau IV.4.

Tableau IV.4. Récupérations d' α -La dans le perméat et de β -Lg dans le rétentat, lors de la concentration des lactosérums du lait pasteurisé et du lait UHT.

Essai	FRV	Y	
		α -La (perméat)	β -Lg (rétentat)
3 (lact past)	8,81	0,296	0,797
4 (lact past)	5,37	0,289	0,904
5 (lact UHT)	3,31	0,216	0,881
6 (lact UHT)	6,71	0,276	0,632

Les récupérations sont très semblables pour tous les essais, même si nous avons travaillé à FRV plus élevés dans les essais 3 à 5. Les récupérations ont varié entre 0,21 et 0,29 pour l' α -La et entre 0,89 et 0,9 pour la β -Lg. L'essai 7 a une récupération en β -Lg plus faible du à ce que la transmission de cette protéine a été légèrement plus élevée que dans les autres essais.

Sur la Figure IV.12, nous avons représenté la sélectivité en fonction du FRV.

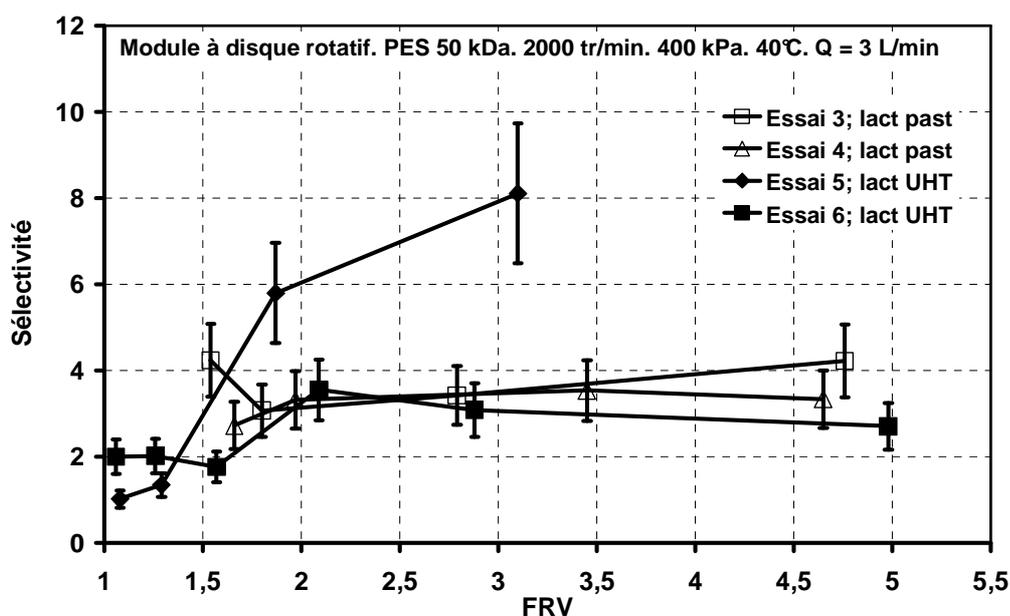


Figure IV.12. Variation de la sélectivité en fonction du FRV, en UF de lactosérums du lait UHT et du lait pasteurisé.

Comme les transmissions de chacune des protéines sont semblables pour les lactosérums du lait pasteurisé et du lait UHT, les sélectivités sont aussi semblables et sont comprises entre 3 et 4 à un FRV supérieur à 2. Cependant, nous constatons que pour l'essai 6, la sélectivité augmente avec le FRV en obtenant une sélectivité maximale de 8. Les grandes différences observées sont dues au fait de la difficulté d'observer les pics chromatographiques de la β -Lg, pour les échantillons provenant des perméats de MF du lait UHT. Comme cette protéine est très dénaturée par le traitement thermique UHT, elle a une très faible concentration et par conséquent les pics ont une surface très faible. Si nous observons le Tableau IV.3 la concentration initiale en β -Lg est plus faible dans l'essai 6 et donc cela a pu entraîner des erreurs au moment de la détermination de la concentration dans les perméats.

Nos sélectivités ont été plus élevées que celles obtenues par *Bhattacharjee et al.*, (2006b) lors du fractionnement des protéines à partir de lactosérum. Ils ont utilisé lors de cette étude, une cellule avec agitation magnétique. Cette cellule a été également modifiée afin de pouvoir mettre

en rotation tant l'agitateur que la membrane. Les auteurs ont obtenu une sélectivité de 1 en utilisant une membrane de 30 kDa, une PTM de 390 kPa, une vitesse d'agitation de 500 tr.min⁻¹ avec une membrane fixe. Nos résultats de sélectivité sont plus proches de ceux obtenus par *Lucas et al., (1998)* qui ont obtenu une sélectivité de 3 lors de l'extraction d' α -La à partir d'un concentrât de protéine de lactosérum, soit avec une membrane de 150 kDa ou une membrane de 50 kDa.

Un autre paramètre d'importance lors de la séparation des protéines est leur pureté dans le perméat. Elle est calculée avec l'équation suivante :

$$P = \frac{C_{ps}}{C_T} \quad (\text{IV.2})$$

où C_{ps} est la concentration (g.L⁻¹) de la protéine soluble (α -La ou β -Lg) dans le perméat ou dans le rétentat selon le cas, et C_T est la concentration totale (g.L⁻¹) de protéines dans le perméat.

Nous avons pris en compte comme concentration totale de protéines dans le perméat, la somme des concentrations d' α -La et de β -Lg. La concentration des autres protéines n'a pas été prise en compte car elles ont un poids moléculaire plus élevé que la β -Lg et ont donc été retenues par la membrane. En effet, il existe des kits permettant déterminer la concentration totale de protéines, mais l'erreur pendant la détermination est très élevée à cause des interférences entraînées par d'autres composants présents dans le lait. C'est pour cela que dans cette étude, nous avons seulement calculé la pureté dans le perméat, car dans le rétentat d'autres protéines, dont les concentrations n'ont pas été mesurées, sont présentes.

Le Tableau IV.5 montre les puretés d' α -La obtenues pour chaque essai.

Tableau IV.5. Pureté d' α -La dans le perméat, lors de la concentration de lactosérums du lait pasteurisé et du lait UHT.

Essai	Pureté α -La dans le perméat
3 (lact past)	0,721
4 (lact past)	0,679
5 (lact UHT)	0,875
6 (lact UHT)	0,895

Nos observons que les puretés obtenues avec le lactosérum du lait UHT sont plus élevées que celles du lactosérum du lait pasteurisé. Cela est dû aux problèmes de détermination de pics chromatographiques de la β -Lg dans le perméat des lactosérums du lait UHT, comme expliqué précédemment.

Nos puretés sont légèrement plus élevées que celle obtenues par *Muller (1996)*, pendant la séparation d' α -La et de β -Lg en utilisant une membrane tubulaire céramique de 50 kDa. Cet auteur a obtenu une pureté maximale de 0,66 en travaillant avec des concentrats de protéines de lactosérum à une concentration de $1,6 \text{ g L}^{-1}$ et une force ionique de 0,04 M. La récupération d' α -La été d'environ 0,25.

Discussion

Nos résultats montrent que les flux de perméat et les transmissions sont améliorés par rapport à la filtration tangentielle, grâce aux taux de cisaillement élevés générés par le disque à ailettes. Cependant, les comparaisons entre les performances du prototype à disque rotatif et la filtration tangentielle ont été faites afin de voir les différences entre ces deux systèmes. Les fluides utilisés en filtration tangentielle dans la bibliographie ont été principalement des concentrats de protéines de lactosérum et/ ou des protéines pures, donc les performances du module à disque rotatif pourraient être différents si on utilisait les mêmes fluides qu'en filtration tangentielle.

Bien que nous ayons obtenu des résultats prometteurs, ils ne correspondent pas tout à fait à nos attentes. Il a été déjà prouvé que les systèmes dynamiques diminuent les phénomènes de polarisation de concentration et de colmatage de la membrane, problème principal lors de la séparation de protéines par filtration membranaire tangentielle, à cause de la diminution du flux et de la sélectivité. Il était donc logique de s'attendre à ce que la sélectivité soit augmentée par les taux de cisaillement. Différentes causes peuvent être attribuées à ce comportement. Premièrement, il faut prendre en compte que tous nos essais ont été réalisés avec du lactosérum réel et donc les interférences des divers composants sont plus élevées que si nous avons travaillé avec des solutions modèles de protéines (concentrâts, isolats et/ou protéines pures). Un point important, qui a été étudié ces dernières années, est comment les interactions entre les protéines et la membrane, ainsi qu'avec leur environnement peuvent influencer la sélectivité lors de la séparation des protéines. Pour pouvoir comprendre ces effets dans notre cas, nous devons connaître les charges des protéines présentes dans la solution et la charge de la membrane. Les protéines sont chargées négativement si le pH de la solution est supérieur au point isoélectrique (pI) de la protéine, et elles sont chargées positivement si le pH de la solution est inférieur au point isoélectrique (*Fennema, 2007*). Nos protéines ciblées, α -La et β -Lg, ont un pI respectivement de 4,5-4,8 et 5,2. Le pH dans tous nos essais a été d'environ 6, variant entre 6 et 6,5. Par conséquent, les deux protéines ont une charge négative dans tous nos essais. Pour sa part, la membrane en PES a aussi une charge. Nous n'avons pas mesuré la charge de nos membranes, mais la littérature indique que les membranes en PES ont une charge négative à partir d'un pH de

3 (Burns & Zydney, 1999), avec un pI de 3,1 (Pontié et al., 1998) ; donc la membrane avait aussi une charge négative dans nos essais. Cela peut expliquer les faibles transmissions observées malgré l'augmentation des taux de cisaillements, car il y a une répulsion entre les protéines et la membrane. Une solution à ce problème serait de travailler à un pH égal au pI, car au pI, les protéines auraient une charge neutre, et il n'y aurait dès lors plus d'interactions électrostatiques entre la protéine et la membrane (Balakrishnan & Agarwal, 1996). Cependant les points isoélectriques de l' α -La et de la β -Lg sont très proches et l'effet de charge ne serait pas très significatif. Aussi, il faut tenir compte qu'au pI, la solubilité des protéines est minimale et qu'elles tendent à précipiter, ce qui pourrait diminuer la transmission. Par ailleurs, quand le pH est proche du pI, les protéines ont une charge nette proche de zéro permettant leur adsorption par interactions hydrophobiques. Ceci contribue au colmatage et donc abaisse le flux de perméat (Ricc et al., 1996).

Le changement de force ionique a une influence sur le mécanisme d'exclusion. A faible concentration de NaCl, le mécanisme d'exclusion est altéré par la charge électrique de la protéine. Le signe de la charge (lequel dépend du pI et du pH de la solution) peut améliorer ou diminuer la transmission (Munch et al., 1979; Balakrishnan & Agarwal, 1996). Pendant la séparation entre la lysozyme, l'ovalbumine et la myoglobine, Balakrishnan & Agarwal (1996) ont observé que la transmissions d'ovalbumine augmente avec la concentration de NaCl. Cette protéine avait une charge négative pour les pH des essais et elle est repoussée par la membrane en PES. Cela suggère qu'augmenter la concentration en sel aiderait à surmonter les interactions défavorables entre les protéines et la membrane, augmentant ainsi la transmission des protéines. Si cela était vrai pour nos solutions, nous pourrions augmenter la transmission d' α -La en changeant la force ionique. Cependant, comme nos deux protéines ont des charges négatives, l'augmentation de la concentration en sel pourrait aussi augmenter la transmission de β -Lg. Muller (1996) a observé une augmentation de la transmissions des protéines avec la force ionique. La transmission d' α -La a augmenté de 0,18 à 0,25 en augmentant la force ionique de 0,04 M à 0,2 M. Pour sa part, la transmission de β -Lg a aussi augmenté de 0,04 à 0,13 sous les mêmes conditions d'augmentation de force ionique. Cela démontre qu'augmenter la force ionique diminue la sélectivité. Lucas et al., (1998) ont aussi observé une augmentation des transmissions d' α -La et de β -Lg avec la force ionique. Ils ont observé aussi que la sélectivité se maintient constante avec la force ionique. Ils ont obtenu une sélectivité de 10 à une force ionique nulle et utilisant une membrane céramique chimiquement modifiée de 150 kDa, laquelle avait une charge positive à pH 7. Cela montre que travailler avec des membranes positivement chargées permet d'obtenir des sélectivités élevées. Cependant, notre module à disque rotatif ne peut fonctionner qu'avec des membranes organiques

et que le marché actuel propose principalement des membranes en PES, lesquelles, comme nous l'avons déjà évoqué, ont une charge négative à partir d'un pH de 3,1. Une solution à ce problème serait de travailler avec le module MSD, mais des modifications devraient être faites pour que ce module puisse fonctionner à pressions élevées. La pression maximale d'opération actuelle du module MSD est de 5 bar.

I.2. Etude des résistances à la filtration

Une étude de ces résistances a été effectuée lors de la concentration du lait UHT et lait pasteurisé.

Cette étude a été réalisée sur les quatre essais décrits dans la section antérieure (Tableau IV.2). Des mesures de viscosité ont été réalisées sur les rétentats finaux pour calculer les résistances totales.

Le calcul des résistances a été réalisé comme dans la section III.4.1 du Chapitre III.

Sur le Tableau IV.6 sont données les valeurs de la résistance de la membrane (R_m), la résistance totale (R_T), la résistance du colmatage (R_{Cl}) et la résistance de polarisation de concentration (R_{CP}) à la fin de chaque essai de concentration.

Tableau IV.6. Résistances obtenues lors de la concentration du lactosérum du lait UHT et du lactosérum du lait pasteurisé par UF

Essai	FRV	R_m (m^{-1})	R_T (m^{-1})	R_{Cl} (m^{-1})	R_{CP} (m^{-1})	R_{Cl}/R_T (%)	R_{CP}/R_T (%)
3 (lact past)	8,81	$5,89 \cdot 10^{11}$	$1,49 \cdot 10^{13}$	$7,73 \cdot 10^{12}$	$6,58 \cdot 10^{12}$	51,89	44,16
4 (lact past)	5,37	$9,36 \cdot 10^{11}$	$6,51 \cdot 10^{12}$	$3,55 \cdot 10^{12}$	$2,03 \cdot 10^{12}$	54,49	31,13
5 (lact UHT)	3,31	$1,08 \cdot 10^{12}$	$1,13 \cdot 10^{13}$	$7,58 \cdot 10^{12}$	$2,59 \cdot 10^{12}$	67,37	23,03
6 (lact UHT)	6,71	$1,76 \cdot 10^{12}$	$2,90 \cdot 10^{13}$	$4,58 \cdot 10^{12}$	$2,27 \cdot 10^{13}$	15,77	78,16

Nous pouvons constater que les résistances membranaires sont différentes pour chaque essai. Cela est dû à ce que, pour chaque essai, une membrane neuve a été utilisée. Ceci confirme que les membranes organiques d'un même type peuvent avoir différentes perméabilités, ce qui peut expliquer des résultats différents de flux et transmissions.

Les résistances de polarisation de concentration (R_{CP}) et les résistances du colmatage (R_{Cl}) augmentent avec le FRV car la concentration augmente. Nous constatons que la résistance de la membrane (R_m) est faible devant les autres deux résistances. Un résultat intéressant est d'avoir obtenu les résistances totales (R_T) les plus élevées aux environs du même FRV (essais 4 et 6),

pour les lactosérums du lait UHT. Cela suggère que les protéines dénaturées (principalement la β -Lg) contribuent au colmatage de la membrane, car la concentration de protéines est plus faible dans les essais effectués avec le lactosérum du lait UHT que celle avec le lactosérum du lait pasteurisé et donc, ce n'est pas une concentration de protéines plus élevée qui causé une augmentation de la résistance totale. Une autre raison du colmatage observé est la précipitation des sels du calcium, spécialement du phosphate de calcium, dans les pores de la membrane (*Lee & Merson, 1976; Patočka & Jelen, 1987; Taddei et al., 1988; Labbe et al., 1990; Musale & Kulkarni, 1998*). Cependant, nous préférons garder l'hypothèse que les protéines sont les causes principales du colmatage. *Hanemaaijer et al., (1989)* ont étudié le rôle de l'adsorption des protéines et de la concentration de sels sur le colmatage lors de l'UF de lactosérum. Ils ont démontré que la formation d'un dépôt de calcium et de phosphate est moins sévère pendant l'UF de lactosérum. Cet effet est dû à une action inhibitrice de la cristallisation que peuvent avoir certains composants du lactosérum. Quelques polypeptides avec un nombre élevé des résidus de phosphoserine peuvent diminuer, par 50 fois ou plus, la cristallisation du phosphate de calcium des solutions sursaturées. Ils ont observé aussi que l'adsorption des protéines joue un rôle très important dans la limitation du flux de perméat, elle peut augmenter par plus de 10 fois la résistance additionnelle (de polarisation de concentration et/ou de colmatage). Par ailleurs, sur les membranes en PES, le colmatage dû aux minéraux (lactose, phosphates, calcium, etc) est principalement réversible au contraire des protéines (*Rabiller-Baudry et al., 2002*). Cette adsorption a lieu au début de l'UF (*Yee et al., 2009; James et al., 2003*).

Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons étudié le potentiel de la filtration dynamique pour la séparation d' α -La et de β -Lg. Nous avons obtenu des flux entre 2 à 5 fois plus élevés qu'en filtration tangentielle. Les transmissions d' α -La se maintiennent constantes avec le FRV tandis que les transmissions de β -Lg diminuent légèrement, ce qui permet d'augmenter la sélectivité au cours de la concentration. Le fait d'avoir des transmissions d' α -La constantes avec le FRV, représente un avantage des systèmes dynamiques sur la filtration tangentielle. En filtration tangentielle, la transmission diminue avec le FRV à cause de la polarisation de concentration et du colmatage de la membrane. Comme les systèmes dynamiques permettent de diminuer ces deux phénomènes, nous avons pu maintenir la transmission constante au cours de nos essais.

La comparaison entre les performances de filtration utilisant des lactosérums du lait UHT et du lait pasteurisé a montré des variations de performances entre les deux fluides. Les allures de flux de perméat ne sont pas semblables, puisque nous obtenons des flux constants à partir d'un

FRV supérieur à 2 pour les lactosérums du lait UHT, alors qu'avec les lactosérums du lait pasteurisé, les flux de perméat diminuent linéairement avec le logarithme népérien du FRV. Bien que nous ayons obtenu des allures des courbes des transmissions d' α -La et de β -Lg très semblables entre les deux types de lactosérum, l'erreur sur la concentration de la β -Lg, qui est faible dans le lait UHT, est élevée. C'est pour cela que nous pouvons conclure que les lactosérums du lait UHT ne peuvent pas être utilisés comme fluides modèles, lors de la séparation des protéines.

Nos résultats de sélectivité obtenus avec les lactosérums du lait pasteurisé, sont prometteurs en comparaison avec la filtration tangentielle. Ils sont légèrement plus élevés que ceux rapportés dans la littérature sans changements de pH, de force ionique de la solution ni de charge de la membrane. En filtration tangentielle, plusieurs auteurs ont dû changer la force ionique pour obtenir des sélectivités de l'ordre de 3 et 4, valeurs que nous avons obtenu en augmentant seulement le taux de cisaillement. Ceci indique qu'en utilisant les systèmes dynamiques et en changeant la force ionique et/ou le type de polymère de membrane, de meilleures sélectivités pourraient être obtenues, cependant des contraintes de répulsion électrostatiques existent et doivent être prises en compte.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette étude était de proposer un procédé en cascade pour séparer les protéines du lait en trois fractions principales : les caséines, l' α -Lactalbumine et la β -Lactoglobuline. Le procédé mis au point consiste en la séparation des micelles de caséines des protéines de lactosérum par microfiltration et une deuxième étape d'ultrafiltration pour séparer l' α -Lactalbumine de la β -Lactoglobuline. L'intérêt du procédé est que ces deux étapes de filtration sont réalisées avec des systèmes de filtration dynamique.

Une comparaison entre les performances en microfiltration, des deux pilotes de laboratoire de filtration dynamique : le module Multi Shaft Disk (MSD) et le prototype à disque rotatif, a été réalisée. Il a été montré que le module qui présente le meilleur compromis entre rétention de caséines et transmission des protéines de lactosérum était le module MSD. La meilleure configuration pour le MSD fut celle avec 1 arbre de 6 membranes. Pour le pilote à disque rotatif, malgré des flux plus élevés, les vitesses engendrées ne permettent pas une rétention acceptable des micelles de caséines. Il a été aussi montré que le module MSD permet de maintenir la transmission de protéines solubles constante (environ 0,95) pendant la concentration, ce qui n'est pas le cas en filtration tangentielle. Les résultats obtenus avec le module MSD ont été comparés avec les données trouvées dans la littérature en filtration tangentielle pendant la concentration de caséines, obtenant ainsi des meilleurs flux de perméat, rétention de caséines et transmission de protéines de lactosérum avec le module MSD en travaillant à une température plus faible. Le fait de travailler à température plus faible permet de diminuer, qui plus est, les effets de celle-ci sur les protéines (dénaturation)

Une bonne similitude des résultats a été trouvée entre les essais réalisés avec le lait UHT et le lait pasteurisé indiquant que le lait UHT peut être utilisé comme fluide modèle dans des études de fractionnement des protéines. Toutefois, la présence des protéines dénaturées dans le lait UHT augmente la résistance totale lors de la concentration, en comparaison avec le lait pasteurisé.

Comme les modules MSD industriels permettent de diminuer l'énergie consommée par m^3 de perméat de 60%, d'après le constructeur, ils pourraient remplacer les systèmes UTP à recirculation de perméat qui sont gourmands en énergie. Ces modules sont disponibles avec une surface membranaire de $80 m^2$.

La deuxième étape de séparation par UF a été réalisée avec le prototype à disque rotatif muni d'un disque à ailettes. Les résultats obtenus ont montré qu'en comparaison avec la filtration

tangentielle, les flux de perméat et la transmission d' α -Lactalbumine ont été améliorés. Les flux de perméat ont été entre 2 à 5 fois plus élevés qu'en filtration tangentielle. Le module à disque rotatif permet, comme le module MSD, de maintenir la transmission de protéines constante au cours de la concentration. L'objectif de cette étape était d'obtenir l' α -Lactalbumine dans le perméat avec une sélectivité élevée (transmission de β -Lactoglobuline proche à zéro) en augmentant seulement le taux de cisaillement. Les résultats ont montré que la sélectivité d' α -Lactalbumine augmente ou se maintient constante au cours de la concentration car les transmissions d' α -Lactalbumine et de β -Lactoglobuline dépendent peu du FRV. Ceci est un avantage des systèmes dynamiques, car en filtration tangentielle, la sélectivité diminue lors de la concentration à cause de la polarisation de concentration et le colmatage de la membrane.

Une comparaison des sélectivités obtenues en filtration dynamique avec celles trouvées dans la littérature en filtration tangentielle a été également effectuée. Cette comparaison a montrée que la sélectivité en filtration dynamique est du même ordre de grandeur qu'en filtration tangentielle. Cependant, il faut prendre en compte, qu'en filtration tangentielle, pour avoir une sélectivité de 4, il est nécessaire de changer l'environnement de la solution (changement de force ionique et/ou de pH). Des sélectivités plus élevées n'ont pas été obtenues dans cette étude, due à d'exclusions électrostatiques entre les protéines et la membrane.

Dans cette partie, il a été aussi montré que le lactosérum provenant du lait UHT ne peut pas être aussi utilisé comme fluide modèle lors de la séparation de protéines, car le degré de dénaturation de la β -Lg dans le lait UHT, entraîne des erreurs élevées pendant la détermination de la concentration de cette protéine.

Perspectives :

Ce travail aura des perspectives intéressantes, car toutes les conditions opératoires, notamment au niveau du choix de la membrane et des paramètres physicochimiques n'ont pas été optimisées.

Dans l'étape de microfiltration, il serait intéressant de tester le pilote MSD dans sa configuration normale avec 12 membranes sur deux axes, mais en espaçant d'avantage les membranes, de manière d'éviter des zones de surconcentration. En effet, ce mode de fonctionnement qui accroît le cisaillement pour une même vitesse de rotation est normalement plus efficace que celui de membranes sur un seul arbre, mais il faudrait pour cela disposer de nouveaux arbres modifiés. Un pilote de plus grande taille permettrait également d'effectuer des mesures de consommation énergétique plus réalistes car les frottements internes du moteur ne représentent qu'une partie plus faible de l'énergie totale consommée par m³ de perméat.

Afin d'effectuer une comparaison plus juste entre le système à disque rotatif et le module pilot MSD, des essais sur le module à disque rotatif semi-industriel, disponible dans notre laboratoire, pourraient être faits. Ce module semi-industriel permet l'utilisation des membranes céramiques et des traiter des volumes plus élevés. De cette façon nous pourrions comparer les performances des systèmes prenant en compte seulement l'hydrodynamique des systèmes, car les membranes seront du même matériau. Cela n'est pas possible dans notre pilote à disque rotatif.

Nous avons vu dans le chapitre de séparation des micelles de caséines de protéines de lactosérum, que les taux de cisaillement pourraient déstabiliser la structure des micelles. Il serait donc très intéressant d'étudier si cette hypothèse peut être validée. Pour ce faire, des mesures de taille des micelles de caséines devraient être réalisées dans le rétentat et dans le perméat, à différents taux de cisaillement. En faisant cette étude, nous pourrions déterminer le taux de cisaillement critique pour les micelles de caséines. Un bilan de matière devrait être aussi effectué pour vérifier si les sous-micelles sont adsorbées par les pores de la membrane, diminuant ainsi le flux de perméat quand les taux de cisaillement sont élevés.

Dans l'étape d'UF plusieurs démarches peuvent être réalisés afin d'optimiser le procédé.

Il serait intéressant d'étudier l'effet de la force ionique sur la transmission de protéines et flux de perméat, ainsi que l'effet du pH. Comme nous avons déjà évoqué dans le chapitre IV, la charge de la membrane joue un rôle important sur les transmissions des protéines, donc il serait aussi intéressant de vérifier l'effet du potentiel zêta des membranes sur les transmissions en fonction du pH et de la force ionique du fluide. Pour ce faire, des membranes fabriquées avec des différents types de polymère pourraient être comparées, de même que des membranes modifiées chimiquement.

Nous avons vu sur l'étude des résistances lors de PUF, que les protéines et surtout les protéines dénaturées, sont les causes principales du colmatage de la membrane. Plusieurs études ont été réalisées pour étudier le colmatage et le blocage des pores en filtration tangentielle, il serait donc intéressant de réaliser ce type d'étude sur les membranes utilisées dans les systèmes dynamiques. Pour cela des analyses de microscopie électronique à balayage (SEM) et/ou de spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier en mode réflexion totale atténuée (ATR-FTIR) peuvent être réalisés sur les membranes, à différents étapes de la filtration, taux de cisaillement, pH et force ionique.

Il serait sans doute intéressant de voir si la récupération finale d' α -La peut être augmentée en effectuant une diafiltration à la suite de la concentration lors de l'ultrafiltration

D'autres étapes d'ultrafiltration doit être mises en place afin de séparer la BSA et le lactose, pour purifier la fraction de β -Lactoglobuline dans le rétentat et éliminer les interférences éventuelles causés pour le lactose.

Il serait aussi intéressant de réaliser une étude sur l'effet du taux de cisaillement élevé généré par les systèmes dynamiques sur les propriétés fonctionnelles des protéines solubles et leur dénaturation éventuelle.

Pour s'approcher davantage des conditions industrielles, il serait intéressant de réaliser des essais en utilisant de lactosérum provenant d'une fromagerie. Pour étudier les performances du procédé avec ce type de fluide, une précipitation du lait pasteurisé écrémé à pH 4,6 peut être réalisée suivi d'une centrifugation et une filtration à 0,45-1 μm pour éliminer les particules de grande taille.

Finalement, il serait intéressant de disposer d'un pilote MSD adapté à l'ultrafiltration c'est-à-dire pouvant supporter des pressions plus élevées jusqu'à 1000 kPa et avoir un choix plus grand de seuil de coupure, entre 20 et 100 kDa car le seuil de coupure idéal sur de membranes céramiques peut être différent de celui de membranes organiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ahmad, A.L. & Mariadas, A. (2004) Baffled microfiltration membrane and its fouling control for feed water of desalination. *Desalination* 168, 223-230.
2. Aimar, P., Taddei, C., Lafaille, J.-P. & Sanchez, V. (1988) Mass transfer limitations during ultrafiltration of cheese whey with inorganic membranes. *Journal of Membrane Science* 38(3), 203-221.
3. Akoum, O., Jaffrin, M.Y., Ding, L.H. & Frappart, M. (2004) Treatment of dairy process waters using a vibrating filtration system and NF and RO membranes. *Journal of Membrane Science* 235(1-2), 111-122.
4. Akoum, O., Jaffrin, M.Y. & Ding, L.-H. (2005) Concentration of total milk proteins by high shear ultrafiltration in a vibrating membrane module. *Journal of Membrane Science* 247(1-2), 211-220.
5. Akoum, O.A., Jaffrin, M.Y., Ding, L., Paullier, P. & Vanhoutte, C. (2002) An hydrodynamic investigation of microfiltration and ultrafiltration in a vibrating membrane module. *Journal of Membrane Science* 197(1-2), 37-52.
6. Al-Akoum, O., Ding, L., Chotard-Ghodsni, R., Jaffrin, M.Y. & Gésan-Guiziou, G. (2002a) Casein micelles separation from skimmed milk using a VSEP dynamic filtration module. *Desalination* 144(1-3), 325-330.
7. Al-Akoum, O., Ding, L.H. & Jaffrin, M.Y. (2002b) Microfiltration and ultrafiltration of UHT skim milk with a vibrating membrane module. *Separation and Purification Technology* 28(3), 219-234.
8. Almécija, M.C., Ibáñez, R., Guadix, A. & Guadix, E.M. (2007) Effect of pH on the fractionation of whey proteins with a ceramic ultrafiltration membrane. *Journal of Membrane Science* 288(1-2), 28-35.
9. Anonyme (2007) VSEP installation treats pig manure in Europe. *Membrane Technology* 2007(9), 3-3.

10. Balakrishnan, M. & Agarwal, G.P. (1996) Protein fractionation in a vortex flow filter. I: Effect of system hydrodynamics and solution environment on single protein transmission. *Journal of Membrane Science* 112(1), 47-74.
11. Bellhouse, B. (1994) Membrane filters with corkscrew vortex generating means. Vol. WO9421362, p. 14. United Kingdom: ISIS Innovation.
12. Bergena, A., Djilali, N., Fyles, T.M., Vickers, G.W. & Wild, P.M. (2003) An experimental assessment of centrifugal membrane separation using spiral wound RO membrane elements. *Desalination* 154(3), 225-232.
13. Bhattacharjee, S., Bhattacharjee, C. & Datta, S. (2006a) Studies on the fractionation of [beta]-lactoglobulin from casein whey using ultrafiltration and ion-exchange membrane chromatography. *Journal of Membrane Science* 275(1-2), 141-150.
14. Bhattacharjee, S., Ghosh, S., Datta, S. & Bhattacharjee, C. (2006b) Studies on ultrafiltration of casein whey using a rotating disk module: effects of pH and membrane disk rotation. *Desalination* 195(1-3), 95-108.
15. Blatt, W.F., Dravid, A., Michaels, A.S. & Nelson, L. (1970) Solute polarization and cake formation in membrane ultrafiltration: causes, consequences and control techniques. In *Membrane Science and Technology*, pp. 47-97. Edited by J.E. Flinn. New York: Plenum press.
16. Bott, R., Langeloh, T. & Ehrfeld, E. (2000) Dynamic cross flow filtration. *Chemical Engineering Journal* 80(1-3), 245-249.
17. Bouzerar, R., Jaffrin, M.Y., Ding, L. & Paullier, P. (2000a) Influence of geometry and angular velocity on performance of a rotating disk filter. *AIChE Journal* 46(2), 257-265.
18. Bouzerar, R., Jaffrin, M.Y., Lefevre, A. & Paullier, P. (2000b) Concentration of ferric hydroxide suspensions in saline medium by dynamic cross-flow filtration. *Journal of Membrane Science* 165(1), 111-123.
19. Bramaud, C., Aimar, P. & Daufin, G. (1997a) Optimisation of a whey protein fractionation process based on the selective precipitation of α -lactalbumin. *Lait* 77(3), 411-423.

20. Bramaud, C., Aimar, P. & Daufin, G. (1997b) Whey protein fractionation: Isoelectric precipitation of α -lactalbumin under gentle heat treatment. *Biotechnology and Bioengineering* 56(4), 391-397.
21. Brans, G., Schroën, C.G.P.H., van der Sman, R.G.M. & Boom, R.M. (2004) Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *Journal of Membrane Science* 243(1-2), 263-272.
22. Burns, D.B. & Zydney, A.L. (1999) Effect of solution pH on protein transport through ultrafiltration membranes. *Biotechnology and Bioengineering* 64(1), 27-37.
23. Caessens, P.W.J.R., Visser, S. & Gruppen, H. (1997) Method for the isolation of bovine [β]-lactoglobulin from a cheese whey protein fraction and physicochemical characterization of the purified product. *International Dairy Journal* 7(4), 229-235.
24. Chatterton, D.E.W., Nielsen, K.E., Holst, H., Bertelsen, H. & Albertsen, K. (1998) α -Lactalbumin-A protein ingredient for use in infant nutrition. In 25th International Dairy Congress. new Developments in Dairy Science and Technologie Denmark.
25. Cheang, B. & Zydney, A.L. (2003) Separation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin using membrane ultrafiltration. *Biotechnology and Bioengineering* 83(2), 201-209.
26. Cheang, B. & Zydney, A.L. (2004) A two-stage ultrafiltration process for fractionation of whey protein isolate. *Journal of Membrane Science* 231(1-2), 159-167.
27. Cheryan, M. (1986) *Ultrafiltration Handbook*. Unites States of America: Technomic Pub. Co.
28. Chuang, C.-J., Wu, C.-Y. & Wu, C.-C. (2008) Combination of crossflow and electric field for microfiltration of protein/microbial cell suspensions. *Desalination* 233(1-3), 295-302.
29. Clifton, M.J., Abidine, N., Aptel, P. & Sanchez, V. (1984) Growth of the polarization layer in ultrafiltration with hollow-fibre membranes. *Journal of Membrane Science* 21(3), 233-245.
30. Damodaran, S. & Paraf, A. (1997) *Food proteins and their applications*. New York, USA: Marcel Dekker, Inc.

-
31. Daufin, G., Radenac, J.F., Gesan, G., Kerherve, F.L., Leberre, O., Michel, F. & Merin, U. (1993) A Novel Rig Design for Ultrafiltration and Microfiltration Experiments. *Separation Science and Technology* 28(17-18), 2635-2642.
32. de Wit, J.N. (1998) Nutritional and Functional Characteristics of Whey Proteins in Food Products. *J. Dairy Sci.* 81(3), 597-608.
33. Dewil, R., Baeyens, J. & Goutvrind, R. (2006) The Use of Ultrasonics in the Treatment of Waste Activated Sludge. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 14(1), 105-113.
34. Ding, L.H., Akoum, O., Abraham, A. & Jaffrin, M.Y. (2003) High shear skim milk ultrafiltration using rotating disk filtration systems. *AIChE Journal* 49(9), 2433-2441.
35. Ding, L.H., Jaffrin, M.Y., Mellal, M. & He, G. (2006) Investigation of performances of a multishaft disk (MSD) system with overlapping ceramic membranes in microfiltration of mineral suspensions. *Journal of Membrane Science* 276(1-2), 232-240.
36. EC, E.C. (2006) Milk and milk products in the European Union. p. 29. Luxembourg: Office for Official Publication of the European Communities.
37. Eckner, K.F. & Zottola, E.A. (1991) Potential for the low temperature pasteurization of dairy fluids using membrane processing. *Journal of Food Protection* 54, 793-797.
38. Elwell, M.W. & Barbano, D.M. (2006) Use of Microfiltration to Improve Fluid Milk Quality. *J. Dairy Sci.* 89(e_suppl_1), E20-30.
39. Enevoldsen, A.D., Hansen, E.B. & Jonsson, G. (2007) Electro-ultrafiltration of industrial enzyme solutions. *Journal of Membrane Science* 299(1-2), 28-37.
40. Engler, J. & Wiesner, M.R. (2000) Particle fouling of a rotating membrane disk. *Water Research* 34(2), 557-565.
41. Farrel, H.M. (1999) Physical Equilibria: Proteins. In *Fundamentals of Dairy Chemistry* Edited by N. Wong. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publisher, Inc.
42. Fennema, O.R. (2007) *Fennema's Food Chemistry*. USA: CRC Press Inc.
43. Fox, P.F. & McSweeney, P.H.L. (1998) *Dairy Chemistry and Biochemistry*. London, U.K: Blackie Academic & Professional.

-
44. Fox, P.F. (2003) The major constituents of milk. In Dairy processing: Improving Quality Edited by G. Smit. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
45. Frappart, M. (2006) Traitement d'effluents modèles de l'industrie laitière par filtration dynamique. In UMR 6600 Biomécanique et Génie Biomédical, Vol. Docteur en Génie de Procédés Industriels, p. 203. Compiègne: Université de Technologie de Compiègne.
46. Frappart, M., Akoum, O., Ding, L.H. & Jaffrin, M.Y. (2006) Treatment of dairy process waters modelled by diluted milk using dynamic nanofiltration with a rotating disk module. *Journal of Membrane Science* 282(1-2), 465-472.
47. Frappart, M., Jaffrin, M. & Ding, L.H. (2008) Reverse osmosis of diluted skim milk: Comparison of results obtained from vibratory and rotating disk modules. *Separation and Purification Technology* 60(3), 321-329.
48. Gan, Q., Field, R.W., Bird, M.R., England, R., Howell, J.A., McKechnie, M.T. & O'Shaughnessy, C.L. (1997) Beer Clarification by Cross-Flow Microfiltration: Fouling Mechanisms and Flux Enhancement. *Chemical Engineering Research and Design* 75(1), 3-8.
49. Gan, Q. (2001) Beer clarification by cross-flow microfiltration -- effect of surface hydrodynamics and reversed membrane morphology. *Chemical Engineering and Processing* 40(5), 413-419.
50. Gésan-Guiziou, G., Boyaval, E. & Daufin, G. (1999a) Critical stability conditions in crossflow microfiltration of skimmed milk: transition to irreversible deposition. *Journal of Membrane Science* 158(1-2), 211-222.
51. Gésan-Guiziou, G., Daufin, G., Timmer, M., Allersma, D. & Van Der Horst, C. (1999b) Process steps for the preparation of purified fractions of a-lactalbumin and b-lactoglobulin from whey protein concentrates. *Journal of Dairy Research* 66(2), 225-236.
52. Gésan-Guiziou, G., Daufin, G. & Boyaval, E. (2000) Critical stability conditions in skimmed milk crossflow microfiltration: Impact on operating modes. *Lait* 80(1), 129-138.
53. Gésan-Guiziou, G. (2008) Communication Personnelle.

-
54. Gesan, G., Daufin, G., Merin, U., Labbe, J.P. & Quemerais, A. (1995) Microfiltration Performance - Physicochemical Aspects of Whey Pretreatment. *Journal of Dairy Research* 62(2), 269-279.
55. Goudédranche, H., Fauquant, J. & Maubois, J.L. (2000) Fractionation of globular milk fat by membrane microfiltration. *Lait* 80(1), 93-98.
56. Hanemaaijer, J.H., Robbertsen, T., van den Boomgaard, T. & Gunnink, J.W. (1989) Fouling of ultrafiltration membranes. The role of protein adsorption and salt precipitation. *Journal of Membrane Science* 40(2), 199-217.
57. He, G., Ding, L.H., Paullier, P. & Jaffrin, M.Y. (2007) Experimental study of a dynamic filtration system with overlapping ceramic membranes and non-permeating disks rotating at independent speeds. *Journal of Membrane Science* 300(1-2), 63-70.
58. Herrero, C., Prádanos, P., Calvo, J.I., Tejerina, F. & Hernández, A. (1997) Flux Decline in Protein Microfiltration: Influence of Operative Parameters. *Journal of Colloid and Interface Science* 187(2), 344-351.
59. Ho, C.-C. & Zydney, A.L. (2000) A Combined Pore Blockage and Cake Filtration Model for Protein Fouling during Microfiltration. *Journal of Colloid and Interface Science* 232(2), 389-399.
60. Howell, J.A., Field, R.W. & Wu, D. (1993) Yeast cell microfiltration: Flux enhancement in baffled and pulsatile flow systems. *Journal of Membrane Science* 80(1), 59-71.
61. Huffman, L.M. & Harper, W.J. (1999) Maximizing the Value of Milk Through Separation Technologies. *J. Dairy Sci.* 82(10), 2238-2244.
62. Hui, Y.H. (2006) *Food Biochemistry & Food Processing*. Iowa, USA: Blackwell Publishing.
63. Jaffrin, M.Y., Gupta, B.B. & Paullier, P. (1994) Energy saving pulsatile mode cross flow filtration. *Journal of Membrane Science* 86(3), 281-290.
64. Jaffrin, M.Y., Ding, L.-H., Akoum, O. & Brou, A. (2004) A hydrodynamic comparison between rotating disk and vibratory dynamic filtration systems. *Journal of Membrane Science* 242(1-2), 155-167.

-
65. Jagannadh, S.N. & Muralidhara, H.S. (1996) Electrokinetics Methods To Control Membrane Fouling. *Ind. Eng. Chem. Res.* 35(4), 1133-1140.
66. James, B.J., Jing, Y. & Dong Chen, X. (2003) Membrane fouling during filtration of milk--a microstructural study. *Journal of Food Engineering* 60(4), 431-437.
67. Jaubert, A. & Martin, P. (1992) Reverse-Phase Hplc Analysis of Goat Caseins - Identification of Alpha-S1 and Alpha-S2 Genetic-Variants. *Lait* 72(3), 235-247.
68. Jenness, R. (1999) Composition of Milk. In *Fundamentals of Dairy Chemistry* Edited by N. Wong. Gaithersburg, Maryland: Aspec Publishers, Inc.
69. Kiesner, C., Clawin-Rädecker, I., Meisel, H. & Buchheim, W. (2000) Manufacturing of α -lactalbumin-enriched whey systems by selective thermal treatment in combination with membrane processes. *Lait* 80(1), 99-111.
70. Kinekawa, Y.-I. & Kitabatake, N. (1996) Purification of β -Lactoglobulin from Whey Protein Concentrate by Pepsin Treatment. *J. Dairy Sci.* 79(3), 350-356.
71. Konrad, G., Lieske, B. & Faber, W. (2000) A large-scale isolation of native β -lactoglobulin: Characterization of physicochemical properties and comparison with other methods. *International Dairy Journal* 10(10), 713-721.
72. Konrad, G. & Kleinschmidt, T. (2008) A new method for isolation of native α -lactalbumin from sweet whey. *International Dairy Journal* 18(1), 47-54.
73. Krstic, D.M., Tekic, M.N., Caric, M.D. & Milanovic, S.D. (2002) The effect of turbulence promoter on cross-flow microfiltration of skim milk. *Journal of Membrane Science* 208(1-2), 303-314.
74. Krstic, D.M., Tekic, M.N., Caric, M.D. & Milanovic, S.D. (2004) Static turbulence promoter in cross-flow microfiltration of skim milk. *Desalination* 163(1-3), 297-309.
75. Labbe, J.P., Quemerais, A., Michel, F. & Daufin, G. (1990) Fouling of inorganic membranes during whey ultrafiltration: Analytical methodology. *Journal of Membrane Science* 51(3), 293-307.

-
76. Lawrence, N.D., Kentish, S.E., O'Connor, A.J., Barber, A.R. & Stevens, G.W. (2008) Microfiltration of skim milk using polymeric membranes for casein concentrate manufacture. *Separation and Purification Technology* 60(3), 237-244.
77. Le Berre, O. & Daufin, G. (1996) Skimmilk crossflow microfiltration performance versus permeation flux to wall shear stress ratio. *Journal of Membrane Science* 117(1-2), 261-270.
78. Lee, D.N. & Merson, R.L. (1976) Chemical Treatments of cottage cheese whey to reduce fouling of ultrafiltration membranes. *Journal of Food Science* 41(4), 778-786.
79. Liebermann, F. (2008) Dynamic cross flow filtration with Novoflow's single shaft disk filters. In 12th Aachener Membran Kolloquium, pp. 495-500. Aachen, Germany: Verein zur Förderung des Instituts für Verfahrenstechnik der RWTH Aachen.
80. Lozano, J.M., Giraldo, G.I. & Romero, C.M. (2008) An improved method for isolation of [beta]-lactoglobulin. *International Dairy Journal* 18(1), 55-63.
81. Lu, W.-M. & Ju, S.-C. (1989) Selective Particle Deposition in Crossflow Filtration. *Separation Science and Technology* 24(7), 517 - 540.
82. Lucas, D., Rabiller-Baudry, M., Millesime, L., Chaufer, B. & Daufin, G. (1998) Extraction of [alpha]-lactalbumin from whey protein concentrate with modified inorganic membranes. *Journal of Membrane Science* 148(1), 1-12.
83. Mameri, N., Oussedik, S.M., Khelifa, A., Belhocine, D., Ghrib, H. & Lounici, H. (2001) Electric fields applied in the ultrafiltration process. *Desalination* 138(1-3), 291.
84. Martínez, F., Martín, A., Prádanos, P., Calvo, J.I., Palacio, L. & Hernández, A. (2000) Protein Adsorption and Deposition onto Microfiltration Membranes: The Role of Solute-Solid Interactions. *Journal of Colloid and Interface Science* 221(2), 254-261.
85. Maynard, F., Pierre, A. & Maubois, J.L. (1989) Préparation de lactoferrin et d'-lactalbumin humaines par utilisation de techniques à membranes. *Le Lait* 69, 59-69.
86. Mellal, M., Jaffrin, M.Y., Ding, L.H., Delattre, C., Michaud, P. & Courtois, J. (2008) Separation of oligoglucuronans of low degrees of polymerization by using a high shear rotating disk filtration module. *Separation and Purification Technology* 60(1), 22-29.

-
87. Metsämuuronen, S. & Nyström, M. (2009) Enrichment of α -lactalbumin from diluted whey with polymeric ultrafiltration membranes. *Journal of Membrane Science* 337(1-2), 248-256.
88. Michalski, M.-C., Camier, B., Gassi, J.-Y., Briard-Bion, V., Leconte, N., Famelart, M.-H. & Lopez, C. (2007) Functionality of smaller vs control native milk fat globules in Emmental cheeses manufactured with adapted technologies. *Food Research International* 40(1), 191-202.
89. Michalski, M.C., Leconte, N., Briard-Bion, V., Fauquant, J., Maubois, J.L. & Goudédranche, H. (2006) Microfiltration of raw whole milk to select fractions with different fat globule size distributions: Process optimization and analysis. *Journal of Dairy Science* 89(10), 3778-3790.
90. Mietton, M. & Ben Aim, R. (1992) Improvement of crossflow microfiltration performances with flocculation. *Journal of Membrane Science* 68(3), 241-248.
91. Miralles, B., Bartolomé, B., Ramos, M. & Amigo, L. (2000) Determination of whey protein to total protein ratio in UHT milk using fourth derivative spectroscopy. *International Dairy Journal* 10(3), 191-197.
92. Muller, A. (1996) Procédé d'obtention d' α -lactalbumine de haute pureté: étapes élémentaires du fractionnement des protéines du lactosérum et mise en cascade. In *Laboratoire de Recherche de Technologie Laitière. Centre INRA de Rennes, Vol. Docteur de l'E.N.S.A.R*, p. 261. Rennes: Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes.
93. Muller, A., Chaufer, B., Merin, U. & Daufin, G. (2003a) Purification of α -lactalbumin from a prepurified acid whey: Ultrafiltration or precipitation. *Lait* 83(6), 439-451.
94. Muller, A., Chaufer, B., Merinc, U. & Daufin, G. (2003b) Prepurification of α -lactalbumin with ultrafiltration ceramic membranes from acid casein whey: Study of operating conditions. *Lait* 83(2), 111-129.
95. Munch, W.D., Zestar, L.P. & Anderson, J.L. (1979) Rejection of polyelectrolytes from microporous membranes. *Journal of Membrane Science* 5, 77-102.
96. Murkes, J. & Carlsson, C.G. (1988) *Crossflow filtration: Theory and practice*. John Wiley & Sons Ltd.

-
97. Musale, D.A. & Kulkarni, S.S. (1998) Effect of whey composition on ultrafiltration performance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(11), 4717-4722.
98. Muthukumar, S., Kentish, S.E., Ashokkumar, M. & Stevens, G.W. (2005) Mechanisms for the ultrasonic enhancement of dairy whey ultrafiltration. *Journal of Membrane Science* 258(1-2), 106-114.
99. Nelson, B.K. & Barbano, D.M. (2005) A Microfiltration Process to Maximize Removal of Serum Proteins from Skim Milk Before Cheese Making. *J. Dairy Sci.* 88(5), 1891-1900.
100. Ning Koh, C., Wintgens, T., Melin, T. & Pronk, F. (2008) Microfiltration with silicon nitride microsieves and high frequency backpulsing. *Desalination* 224(1-3), 88-97.
101. Nyström, M., Pihlajamäki, A. & Ehsani, N. (1994) Characterization of ultrafiltration membranes by simultaneous streaming potential and flux measurements. *Journal of Membrane Science* 87(3), 245-256.
102. Patocka, J. & Jelen, P. (1987) Calcium Chelation and Other Pretreatments for Flux Improvement in Ultrafiltration of Cottage Cheese Whey. *Journal of Food Science* 52(5), 1241-1244.
103. Pérez-Gago, M. & Krochta, J.M. (2002) Formation and properties of whey proteins films and coatings. In *Protein-based Films and Coatings*, p. 650. Edited by A. Gennadios. USA: CRC Press.
104. Persson, A., Jönsson, A.-S. & Zacchi, G. (2003) Transmission of BSA during cross-flow microfiltration: influence of pH and salt concentration. *Journal of Membrane Science* 223(1-2), 11-21.
105. Pharoah, J.G., Djilali, N. & Vickers, G.W. (2000) Fluid mechanics and mass transport in centrifugal membrane separation. *Journal of Membrane Science* 176(2), 277-289.
106. Pierre, A., Fauquant, J., Graet, Y.L., Piot, M. & Maubois, J.L. (1992) Native micellar casein separation through cross flow membrane microfiltration. *Lait* 72(5), 461-474.
107. Pirkonen, P. (2001) Ultrasound in filtration and sludge dewatering. *Advances in Sonochemistry* 6, 221-246.

-
108. Pontié, M., Durand-Bourlier, L., Lemordant, D. & Lainé, J.M. (1998) Control fouling and cleaning procedures of UF membranes by a streaming potential method. *Separation and Purification Technology* 14(1-3), 1-11.
109. Porter, M.C. (1972) Concentration polarization with membrane ultrafiltration. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 11(3), 234-248.
110. Postlethwaite, J., Lamping, S.R., Leach, G.C., Hurwitz, M.F. & Lye, G.J. (2004) Flux and transmission characteristics of a vibrating microfiltration system operated at high biomass loading. *Journal of Membrane Science* 228(1), 89-101.
111. Punidadas, P. & Rizvi, S.S.H. (1998) Separation of milk proteins into fractions rich in casein or whey proteins by cross flow filtration. *Food Research International* 31(4), 265-272.
112. Rabiller-Baudry, M., Le Maux, M., Chaufer, B. & Begoin, L. (2002) Characterisation of cleaned and fouled membrane by ATR-FTIR and EDX analysis coupled with SEM: application to UF of skimmed milk with a PES membrane. *Desalination* 146(1-3), 123-128.
113. Ricq, L., Pierre, A., Reggiani, J.-C., Zaragoza-Piqueras, S., Pagetti, J. & Daufin, G. (1996) Effects of proteins on electrokinetic properties of inorganic membranes during ultra- and micro-filtration. *Journal of Membrane Science* 114(1), 27-38.
114. Riedl, K., Girard, B. & Lencki, R.W. (1998) Influence of membrane structure on fouling layer morphology during apple juice clarification. *Journal of Membrane Science* 139(2), 155-166.
115. Saboya, L.V. & Maubois, J.L. (2000) Current developments of microfiltration technology, in the dairy industry. *Lait* 80(6), 541-553.
116. Salladini, A., Prisciandaro, M. & Barba, D. (2007) Ultrafiltration of biologically treated wastewater by using backflushing. *Desalination* 207(1-3), 24-34.
117. Samuelsson, G., Dejmeck, P., Trägårdh, G. & Paulsson, M. (1997) Minimizing whey protein retention in cross-flow microfiltration of skim milk. *International Dairy Journal* 7(4), 237-242.
118. Sarkar, B., De, S. & DasGupta, S. (2008) Pulsed electric field enhanced ultrafiltration of synthetic and fruit juice. *Separation and Purification Technology* 63(3), 582-591.

-
119. Sawyer, L., Brownlow, S., Polikarpov, I. & Wu, S.-Y. (1998) [beta]-Lactoglobulin: Structural Studies, Biological Clues. *International Dairy Journal* 8(2), 65-72.
120. Scott, K. (1995) *Handbook of Industrial Membranes*. Oxford.
121. Shi, W. & Benjamin, M.M. (2008) Membrane interactions with NOM and an adsorbent in a vibratory shear enhanced filtration process (VSEP) system. *Journal of Membrane Science* 312(1-2), 23-33.
122. Shu, L., Xing, W. & Xu, N. (2007) Effect of Ultrasound on the Treatment of Emulsification Wastewater by Ceramic Membranes. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 15(6), 855-860.
123. Smithers, G.W., Ballard, F.J., Copeland, A.D., De Silva, K.J., Dionysius, D.A., Francis, G.L., Goddard, C., Grieve, P.A., McIntosh, G.H., Mitchell, I.R., Pearce, R.J. & Regester, G.O. (1996) New Opportunities from the Isolation and Utilization of Whey Proteins. *J. Dairy Sci.* 79(8), 1454-1459.
124. Taddei, C., Aimar, P., Daufin, G. & Sanchez, V. (1988) Factors affecting fouling of an inorganic membrane during sweet whey ultrafiltration. *Lait* 68(2), 157-176.
125. Tarleton, E.S. & Wakeman, R.J. (1993) Understanding Flux Decline in Cross-Flow Microfiltration .1. Effects of Particle and Pore-Size. *Chemical Engineering Research & Design* 71(A4), 399-410.
126. van Reis, R., Brake, J.M., Charkoudian, J., Burns, D.B. & Zydney, A.L. (1999) High-performance tangential flow filtration using charged membranes. *Journal of Membrane Science* 159(1-2), 133-142.
127. Wakeman, R.J. & Williams, C.J. (2002) Additional techniques to improve microfiltration. *Separation and Purification Technology* 26(1), 3-18.
128. Wijmans, J.G., Nakao, S. & Smolders, C.A. (1984) Flux limitation in ultrafiltration: Osmotic pressure model and gel layer model. *Journal of Membrane Science* 20(2), 115-124.
129. Wong, P.C.Y., Kwon, Y.N. & Criddle, C.S. (2009) Use of atomic force microscopy and fractal geometry to characterize the roughness of nano-, micro-, and ultrafiltration membranes. *Journal of Membrane Science* 340(1-2), 117-132.

130. Xu, N., Xing, W., Xu, N. & Shi, J. (2003) Study on ceramic membrane bioreactor with turbulence promoter. *Separation and Purification Technology* 32(1-3), 403-410.
131. Yee, K.W.K., Wiley, D.E. & Bao, J. (2009) A unified model of the time dependence of flux decline for the long-term ultrafiltration of whey. *Journal of Membrane Science* 332(1-2), 69-80.
132. Yukawa, H., Shimura, K., Suda, A. & Maniwa, A. (1983) Cross Flow Electro-Ultrafiltration for colloidal solution of protein. *Journal of Chemical Engineering of Japan* 16(4), 305-311.
133. Zouboulis, A.I. & Petala, M.D. (2008) Performance of VSEP vibratory membrane filtration system during the treatment of landfill leachates. *Desalination* 222(1-3), 165-175.
134. Zulewska, J., Newbold, M. & Barbano, D.M. (2009) Efficiency of serum protein removal from skim milk with ceramic and polymeric membranes at 50 degrees C. *Journal of Dairy Science* 92(4), 1361-1377.

LISTE DE TRAVAUX

Publications

- ✓ M. Frappart, M. Jaffrin, L. Ding & **V. Espina**. Effect of vibration frequency and membrane shear rate on Nanofiltration of diluted milk, using a vibratory dynamic filtration system. *Separation and Purification Technology* 62 (2008) 212–221
- ✓ **Valentina S. Espina**, Michel Y. Jaffrin, Matthieu Frappart, Lu-Hui Ding. Separation of casein micelles from whey proteins by high shear microfiltration of skim milk using rotating ceramic membranes and organic membranes in a rotating disk module. *Journal of Membrane Science* 325 (2008), 872-879
- ✓ **V. S. Espina**, M.Y. Jaffrin and L.H. Ding. Comparison of rotating ceramic membranes and polymeric membranes in fractionation of milk proteins by microfiltration. *Desalination* 245 (2009) 714-722.
- ✓ **Valentina Espina**, Michel. Y Jaffrin and LuHui Ding. Extraction and separation of α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin from skim milk by microfiltration and ultrafiltration at high shear rates: a feasibility study. *Separation and Science Technology*. Accepté.

Chapitre de livre

- ✓ MY Jaffrin, **VS Espina**, M. Frappart, Milk and dairy effluents processing: comparison of cross-flow and dynamic filtrations. In *Membrane Technology. Volume 3: Membranes for Food Applications*, editors: Peinemann, Pereira Nunes, Giorno, Wiley VCH, Weinheim, Germany, 2010.

Communications avec actes

- ✓ M. Frappart, **V. Espina**, L. Ding & M. Jaffrin. Traitement par osmose inverse et nanofiltration d'eaux de procédés modèles et réelles par filtration dynamique. *Récents Progrès en Génie de Procédés*. Numéro 96. 2007. ISBN 2-910239-70-5. Ed. SFGP, Paris, France. 11ème Congrès de la Société de Génie des Procédés. 9-11 Octobre, Saint-Etienne, France.
- ✓ **V. S. Espina**, M. Y. Jaffrin & L. H. Ding. Fractionation of milk proteins by microfiltration using rotating ceramic membranes. *Proceedings of Engineering with Membranes 2008. Membrane Processes : Development Monitoring and*

Modelling-From the micro to the macro scale. 25-28 Mai 2008 Algarve, Portugal.
Pages: 423-424. Communication Poster.

- ✓ **V. Espina**. Casein concentration and whey proteins separation by microfiltration using a multishaft ceramic disks (MSD) system. Proceedings of Network Young Membrains 10th meeting. Berlin, Germany. 18-19 Septembre 2008. Pages 154-155. Communication orale.
- ✓ **Valentina Espina**, Michel Jaffrin, Matthieu Frappart, Lu Hui Ding. Separation of caseins from whey proteins by high shear microfiltration using rotating ceramic membranes. Proceedings of the IDF/INRA 1st International Symposium on MINERALS & DAIRY PRODUCTS. 1-3 Octobre 2008, Saint-Malo, France. Page 72. Communication poster.
- ✓ **V. Espina**, M. Y Jaffrin, M. Frappart, L.H Ding. Separation of caseins from whey proteins by dynamic filtration. Proceedings of the 12th Aachener Membran Kolloquium. ISBN 978-3-00-026060-5. 29-30 Octobre 2008, Aachen, Allemagne. Pages 623-629. Communication poster.
- ✓ **V. Espina**, M. Y. Jaffrin and L.H. Ding. Separation of α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin from skim milk by dynamic filtration. Euromembrane 2009 Conference, 6-10 Septembre 2009, Montpellier France. Communication oral. Student Travel Award.
- ✓ **V. Espina**, M. Jaffrin, L. Ding & M. Frappart. Study of α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin Separation from Pasteurized Milk Using Dynamic Ultrafiltration. 6th NIZO Dairy Conference: Dairy ingredients: innovations in functionality. 30 Septembre-2 Octobre 2009, Papendal, Pays-Bas. Communication oral. Nominée au Young Scientist Award.
- ✓ **V. Espina**, M. Jaffrin, M. Frappart, L. Ding. Etude de la faisabilité de l'extraction d' α -Lactalbumine et de β -Lactoglobuline à partir de lait écrémé par un procédé de filtration dynamique à deux étages. Récents Progrès en Génie de Procédés. Numéro 98. 2009. ISBN 2-910239-72-1. Ed. SFGP, Paris, France. XII^{ème} Congrès de la Société de Génie des Procédés. 14-16 Octobre 2009, Marseille, France. Communication poster.