

## 2.4. Généralités sur les procédés baromembranaires

Les procédés de filtration baromembranaires sont très largement utilisés à l'échelle industrielle pour le fractionnement ou la concentration de diverses matrices alimentaires, en particulier les fluides laitiers et les jus de fruits. Il existe 4 types procédés baromembranaires qui diffèrent en fonction des seuils de coupure membranaires, des tailles de pores et des pressions transmembranaires appliquées soient la microfiltration (MF), l'ultrafiltration (UF), la nanofiltration (NF) et l'osmose inverse (OI). Ces technologies permettant de séparer un mélange complexe selon la taille des constituants sous l'effet d'un gradient de pression transmembranaire par l'utilisation de membranes de filtration de porosités ou seuils de coupure spécifiques (**Figure 9**). Le seuil de coupure membranaire, exprimé en Dalton (Da) correspond à la masse moléculaire critique pour laquelle 90 % des solutés sont retenus par la membrane filtrante [19]. Bien que la différence de taille des différents composants d'un mélange soit le critère essentiel lors de la séparation par filtration membranaire, les différentes caractéristiques du matériau (charge, affinité pour les composés hydrophiles ou hydrophobes) représentent également un critère à tenir compte [72].

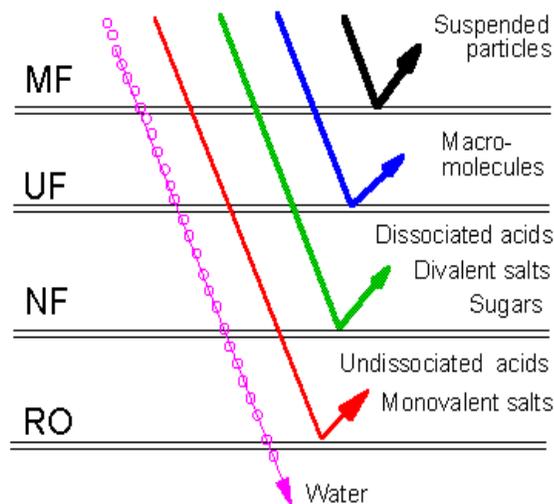


Figure 9. Les différents procédés baromembranaires [73]

En termes d'applications, la MF, à une taille des pores de l'ordre de 1,4  $\mu\text{m}$ , est principalement utilisée pour clarifier les jus de fruit et pour débactériser le lait cru. Une taille des pores de 0,1  $\mu\text{m}$  permet de séparer les caséines des protéines sériques. L'UF est majoritairement utilisée pour la production de concentrés protéiques [74]. La NF et l'OI permettent respectivement de déminéraliser partiellement ou totalement les matrices alimentaires liquides de faible force ionique initiale [72]. En lien avec le traitement

des hydrolysats, il est courant d'utiliser l'UF et la NF pour respectivement fractionner et concentrer les espèces peptidiques. Dans le cadre de ce projet, seul le procédé d'UF sera détaillé puisque cette technologie a été appliquée au fractionnement des peptides générés par l'hydrolyse enzymatique de la  $\beta$ -LG suite à son prétraitement par HPH.

#### 2.4.1. Principe du procédé d'UF

L'UF est un procédé de séparation membranaire basé sur l'application d'une pression comprise entre 1 et 10 bars. Couramment utilisée en industrie laitière pour la concentration des protéines laitières (lait et lactosérum) par élimination du lactose et des sels minéraux [75]; [74]; [19], cette technique permet également de fractionner des hydrolysats protéiques selon leur poids moléculaire (exprimé en kDa) afin de concentrer sélectivement les peptides d'intérêt biologique [75]; [8]. Typiquement, un système d'UF est composé d'une cuve d'alimentation, d'une pompe permettant la circulation du fluide dans le système, d'une membrane de filtration de seuil de coupure spécifique, de différents manomètres placés de part et d'autre de la membrane ainsi qu'au niveau de la sortie du perméat. De ce fait, au fur et à mesure que le fluide à traiter passe à travers la membrane, les constituants retenus par la membrane seront concentrés dans le rétentat alors que ceux de tailles inférieures au diamètre des pores membranaires seront récupérés dans le perméat. La séparation membranaire par UF implique cependant l'utilisation de configurations membranaires spécifiques ainsi que l'application de paramètres précis [19] qui seront développés dans les prochaines sections.

#### 2.4.2. Modes de filtration et conditions opératoires

##### 2.4.2.1. Mode de filtration

Tel que présenté à la **Figure 10**, il existe deux modes de filtration distincts soient : la filtration tangentielle également appelée « *cross-flow filtration* » et la filtration frontale ou « *dead-end filtration* ». La filtration frontale consiste à filtrer le flux de liquide à traiter de manière perpendiculaire à la surface membranaire. Ceci favorise un colmatage membranaire rapide et nécessite des cycles de nettoyage fréquents. Dans le cas de la filtration tangentielle, le flux est filtré de manière parallèle à la membrane permettant ainsi de limiter le dépôt des particules et de minimiser le phénomène de colmatage. Ce type de filtration, étant le plus couramment utilisé en industrie afin d'améliorer la productivité de l'étape de filtration, a été appliqué dans le cadre de ce projet de recherche.

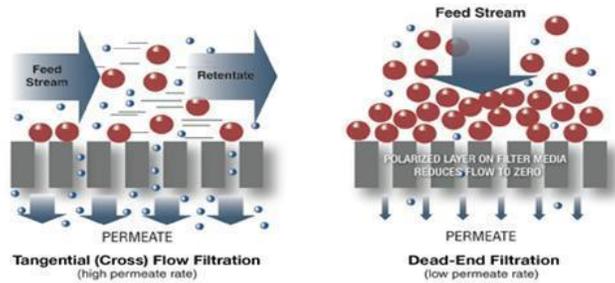


Figure 10: Présentation schématique d'une filtration en mode tangentielle (gauche) et frontale (droite) [76]

#### 2.4.2.2. Matériaux et configurations membranaires

Diverses configurations et matériaux membranaires peuvent être utilisés tout dépendamment du type de produit à traiter et les habitudes de transformation industrielles. En termes de configuration membranaire, des membranes planes, spiralées, tubulaires et à fibres creuses peuvent être directement installées sur le système de filtration (**Figure 11**). Concernant le matériau membranaire, ceux principalement employés pour le fractionnement d'hydrolysats peptidiques sont le polysulfone, le polyéthersulfone ou les dérivés cellulosiques. Hormis leurs caractéristiques structurales, ces matériaux diffèrent principalement en termes de caractères d'hydrophobicité et d'hydrophilicité [77].

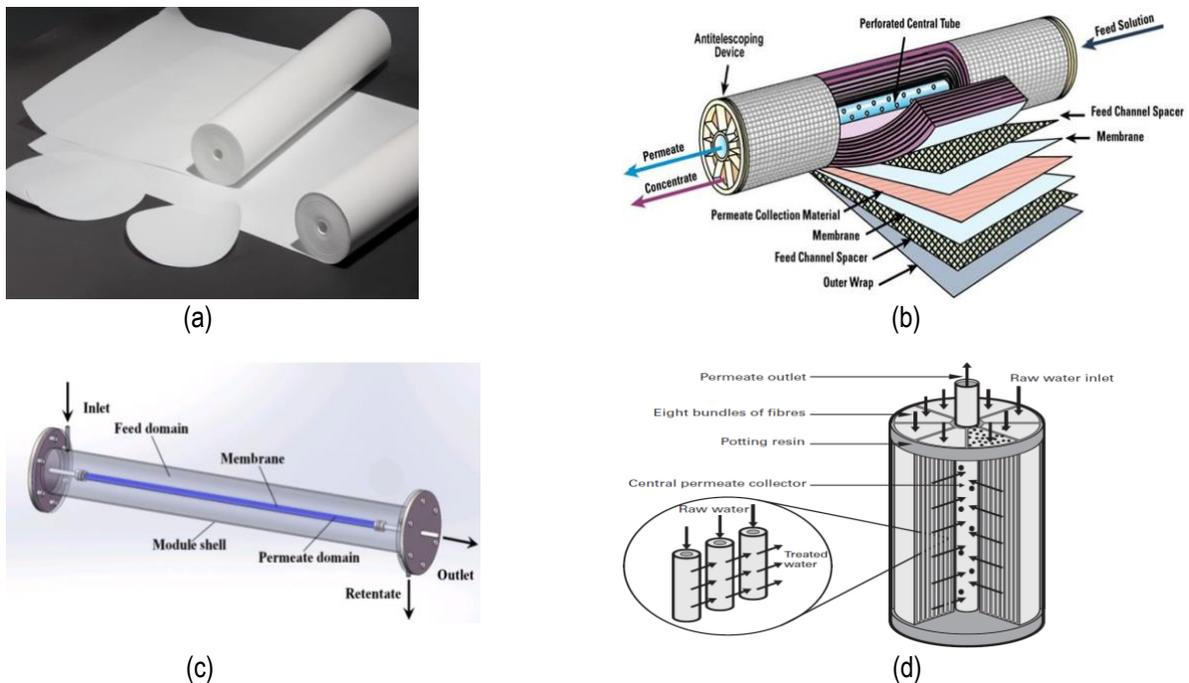


Figure 11. Les différentes configurations membranaires : (a) Membrane plane [78], (b) Membrane spiralée [79], (c) Membrane tubulaire [80], (d) Membrane à fibres creuses [81]

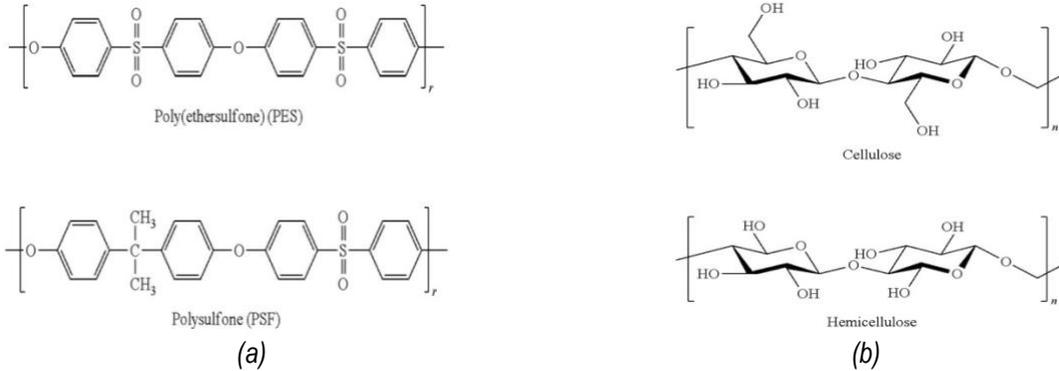


Figure 12 : Formules chimiques du polyéthersulfone et du polysulfone (a) [82], de la cellulose et d'un dérivé cellulosique (b) [83]

### 2.4.2.3. Conditions opératoires

Plusieurs paramètres opératoires tels que la pression transmembranaire (PTM) et la vitesse de recirculation tangentielle sont déterminants pour maximiser les performances (flux de perméation, colmatage, etc.) des systèmes de filtration.

#### 2.4.2.3.1. La PTM

La PTM représente la force motrice de la filtration. Présentée à l'Équation 4, la PTM représente une moyenne de la pression appliquée à l'entrée ( $P_e$ ) et à la sortie ( $P_s$ ) du module, auxquelles est soustraite la pression appliquée à la sortie du perméat ( $P_p$ ).

$$PTM = [(P_e + P_s)/2] - P_p \quad \text{Equation 4}$$

où : PTM est la pression transmembranaire (Pa);  $P_e$ = pression à l'entrée du module de filtration (Pa);  $P_s$ = pression à la sortie du rétentat de filtration (Pa);  $P_p$ = pression à la sortie côté perméat (Pa) : habituellement à pression atmosphérique, donc considérée comme négligeable.

#### 2.4.2.3.2. La vitesse tangentielle

La vitesse tangentielle, exprimée en ( $m \cdot s^{-1}$ ), correspond au débit du liquide à filtrer divisé par l'aire de la surface filtrante [19]. Généralement, plus la vitesse tangentielle est élevée, plus le colmatage est réduit du fait d'une diminution de la couche de polarisation de concentration. De plus, une forte vitesse tangentielle

génère des forces de cisaillement importantes à l'interface de la membrane ce qui permet d'augmenter considérablement le flux de perméation.

#### 2.4.2.3.3. Le flux de perméation

Le flux de perméation ( $J$ ) est directement relié à PTM appliquée au sein du système. Ce flux représente le débit du fluide à la surface de la membrane, exprimé en mètre carré par unité de surface. Le flux de perméation, exprimé généralement en  $\text{kg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ , est considéré comme indicateur majeur des performances de filtration. Selon la loi de Darcy, le flux de perméation est défini comme suit :

$$J = \frac{PTM}{\mu R}$$

Équation 5

où :  $\mu = 0,55.10^{-3}$  Pa.s, PTM : Pression transmembranaire (Pa) et R représente la résistance hydraulique totale (sans unité).

#### 2.4.3. Le colmatage membranaire

##### 2.4.3.1. Définition du colmatage membranaire

L'apparition d'un colmatage membranaire est sans aucun doute le phénomène limitant majeur lié à l'utilisation des systèmes de filtration et a pour conséquence une baisse drastique des performances du système de filtration (baisse des flux de perméation, augmentation de la consommation énergétique, surutilisation des solutions de lavage, remplacement précoce des membranes de filtration). Globalement, le colmatage membranaire peut être défini comme la formation d'une couche recouvrant la surface de la membrane filtrante suite au dépôt progressif des particules du mélange dont la masse moléculaire est supérieure à celle des pores membranaires [19]. Ce terme est également utilisé pour décrire les changements de propriétés de surface membranaire induits par des interactions entre la membrane de filtration et les particules du mélange à filtrer [74]. Plusieurs mécanismes complexes sont liés à l'apparition du colmatage. Tout d'abord, il est expliqué par le phénomène de polarisation de la concentration qui est dû à la formation d'une couche fortement concentrée en protéines/peptides au voisinage de la membrane. Ce phénomène se traduit alors par une modification du gradient de concentration de part et d'autre de la membrane, la couche ainsi formée en surface va réduire le passage de la diffusion des solutés à travers la membrane. Le phénomène de polarisation de la concentration est généralement considéré comme un colmatage réversible, une simple dilution de la couche concentrée en solutés permet de diminuer le gradient de concentration initialement généré. Contrairement au phénomène de polarisation de

concentration, le colmatage irréversible, dont plusieurs modèles ont été développés, est dû à la formation d'un dépôt à la surface ou à l'intérieur de la membrane. Ce type de colmatage engendre une diminution drastique de la perméabilité membranaire. L'intégrité de la membrane est alors restaurée par l'application d'une séquence adéquate de nettoyage chimique. Les différents mécanismes de colmatage sont présentés à la figure 13.

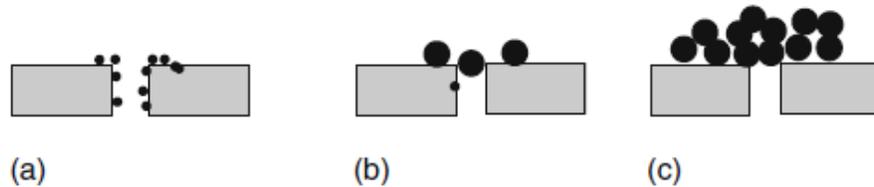


Figure 13. Les différents mécanismes du colmatage irréversible : (a) adsorption (b) blocage des pores (c) formation d'un gâteau [84]

Plus spécifiquement, le colmatage se caractérise par l'apparition d'un flux critique ( $J_{crit}$ ) et d'un flux limite ( $J_{lim}$ ) pouvant être déterminés expérimentalement à partir du tracé de la courbe du flux de perméation en fonction de la PTM (**Figure 14**). Cette courbe peut être séparée en trois zones distinctes :

- Une 1<sup>ère</sup> zone linéaire au cours de laquelle le flux de perméation augmente proportionnellement à la PTM. À ce stade les performances membranaires sont optimales jusqu'à l'atteinte du flux de perméation critique ( $J_{crit}$ ). L'atteinte de  $J_{crit}$  est synonyme de l'apparition d'un colmatage irréversible.
- Zone 2 : Dès l'atteinte de  $J_{crit}$ , la relation de proportionnalité entre le flux de perméation et la PTM est perdue et le flux de perméation tend à atteindre une valeur maximale de  $J_{lim}$  qui reste constant même si la PTM est augmentée. À l'atteinte de  $J_{lim}$ , le colmatage est considéré comme maximal. Ainsi le  $J_{lim}$  est atteint lorsque le  $J_{crit}$  a été dépassé sur l'ensemble de la surface membranaire (formation d'un gel protéique/peptidique à la surface de la membrane).
- La 3<sup>ème</sup> zone de la courbe est représentée par une chute constante du flux de perméation quelle que soit la PTM appliquée. Le colmatage est maximal, les performances de la membrane sont très affectées et la transmission des espèces au travers de la membrane tend vers zéro.

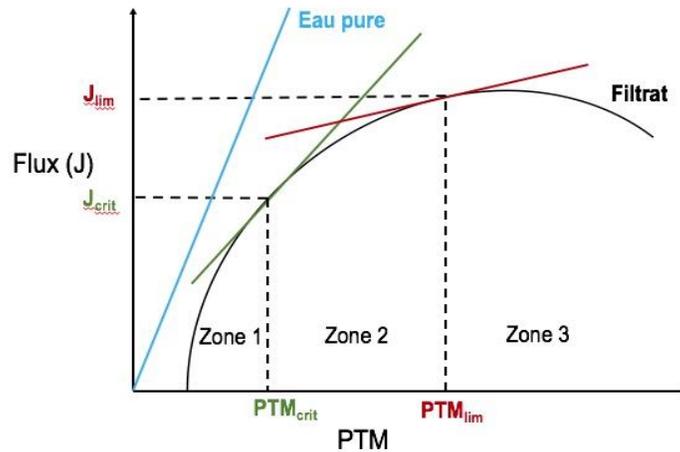


Figure 14. Courbe représentative de l'évolution du flux de perméation en fonction de la pression transmembranaire (adaptée de [74])

#### 2.4.3. Utilisation de l'UF pour le fractionnement d'hydrolysats protéiques et étude du colmatage membranaire

Bien que l'étape de digestion enzymatique des protéines alimentaires génère des hydrolysats dont la composition et la concentration en peptides bioactifs varient grandement, il est généralement nécessaire d'utiliser une ou des étapes de fractionnement séquentielles par UF afin de générer spécifiquement des fractions concentrées en peptides bioactifs. En effet, ces peptides, généralement en faible concentration au sein d'un hydrolysat de composition complexe, nécessitent une étape de purification afin d'optimiser leurs propriétés bioactives [8] [85]. Ainsi, de nombreuses études ont porté spécifiquement sur l'utilisation et aux performances du procédé d'UF afin d'améliorer les propriétés antioxydantes [86], antidiabétiques [87] et antihypertensives [42] des hydrolysats de protéines de lactosérum. Plus spécifiquement, Power et al. (2014), ont ainsi utilisé l'UF pour l'obtention d'hydrolysats trypsiniques de  $\beta$ -LG enrichis en peptides bioactifs. De ce fait, une solution de  $\beta$ -LG a tout d'abord été hydrolysée par la trypsine (pH 8 et ratio E/S de 1:25) pendant 24 h. Des étapes de fractionnements séquentiels par UF à l'aide de membranes (surface de filtration de 0,1 m<sup>2</sup>) en PES de seuils de coupure de 1 et 5 kDa et d'une membrane en cellulose à 2 kDa ont été réalisées à pH 8,0, à 37°C et à une PTM de  $7,5 \times 10^4$  Pa. Les résultats ont montré que les perméats obtenus à partir de la membrane en PES de 1 kDa étaient particulièrement enrichis en peptides bioactifs, tel que VAGTWY ayant démontré des propriétés antioxydante, antidiabétique et antihypertensive. Deux autres espèces peptidiques, IPAVFK ET IIAEK, également connues pour leurs activités antihypertensives ont également été identifiés dans le perméat [5].

Plusieurs études ont porté sur le colmatage membranaire d'hydrolysats protéiques, surtout ceux générés suite à l'hydrolyse enzymatique de protéines laitières. L'apparition du phénomène de colmatage membranaire par des hydrolysats protéiques est intimement liée à la taille moléculaire des peptides ainsi qu'à leur charge et leur hydrophobicité [88]. Le choix du matériau membranaire est également un facteur majeur lié au phénomène de colmatage de par la formation d'interactions de type peptide-membrane. Ainsi, suite à l'hydrolyse trypsique et chymotrypsique des caséines bovines, Pouliot et al. (1993) ont suggéré l'importance de la charge des peptides ou des acides aminés pour leur transmission au travers des membranes d'UF. Les auteurs ont démontré que ces membranes étaient peu sélectives aux peptides contenant des acides aminés non polaires mais retenaient davantage les peptides contenant des acides aminés chargés et hydroxylés démontrant ainsi une possible répulsion entre la surface membranaire et les peptides chargés. De la même manière, Bouhallab et Henry (1995) ont montré que lors du fractionnement par UF d'un hydrolysat chymotrypsique de  $\beta$ -caséine, le peptide ( $\beta$ -CN 193–209), a fortement colmaté la membrane de filtration par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes [89]. Gourley et al. (1998), utilisant une membrane en polyethersulfone (PES) de 50 kDa, pour l'étude des interactions de type membrane-peptides caséiques, à différentes conditions de pH (6,0 ; 8,0 et 10,0), ont trouvé qu'après désorption acido-basique des peptides adsorbés, les variations de pH n'ont pas été d'une grande influence. Cependant, la taille moléculaire, la charge et l'hydrophobicité de ces peptides ont joué un rôle clé dans leur adsorption. D'autres études menées par Groleau et al. (2004) ont montré que la NF des hydrolysats trypsiques de la  $\beta$ -LG était améliorée suite à l'élimination des agrégats peptidiques de nature hydrophobe par précipitation [90]. Dans le même ordre d'idées, la NF d'hydrolysats trypsiques de la  $\beta$ -LG à 0,1%, pratiquée par Lapointe et al. (2005), a permis une séparation complète des peptides acides et basiques aux pH 5,0 et 9,0. Aussi, la séparation entre les peptides neutres et ceux basiques a été optimale à une PTM élevée. Ainsi, les auteurs ont constaté une augmentation du phénomène de polarisation à pH 5,0 suite à des interactions électrostatiques entre les peptides, majoritairement à charge positive à ce pH, et le matériau membranaire chargé négativement [39]. Une autre étude portant sur l'effet de la concentration des hydrolysats en solutés, a montré que, indépendamment de la charge et/ou de la taille des pores des membranes utilisées, la transmission des peptides chargés négativement est augmentée simultanément avec l'augmentation de la concentration en solutés tandis que la transmission des peptides à charge positive décroît parallèlement à cette augmentation. Ceci suggère une perte totale ou partielle de la sélectivité membranaire [91]. L'étude de l'effet des caractéristiques membranaire lors du fractionnement des hydrolysats trypsiques de la  $\beta$ -LG a révélé que l'utilisation d'une membrane à forte hydrophobicité engendre une élévation constante du flux de perméation lors d'un processus de filtration à des pH allant de 4,0 à 10,0. Cependant, une diminution du

seuil de coupure membranaire de 5 kDa à 1 kDa a été à l'origine d'une baisse drastique dans le flux de perméation [92]

D'autre part, l'étude de l'effet du pH sur le fractionnement d'un hydrolysats tryptique de la  $\beta$ -LG par une membrane en PES de 5 kDa, a révélé que la transmission peptidique a été principalement gouvernée par leur charge. Aussi, cette transmission atteint son maximum à un pH avoisinant le point isoélectrique des peptides constituant le mélange [88].

En résumé, il est possible d'affirmer que la technologie utilisant les HPH est efficace pour améliorer le processus d'hydrolyse tryptique de la  $\beta$ -LG et enrichir les hydrolysats subséquentement produits en séquences peptidiques ayant diverses propriétés bioactives. Toutefois, la modification de la composition des hydrolysats tryptiques de la  $\beta$ -LG est un phénomène qui est susceptible de modifier défavorablement les performances du système d'UF par la formation d'un colmatage membranaire limitant ainsi l'efficacité du fractionnement des hydrolysats pour l'obtention de concentrés protéiques riches en peptides bioactifs.