

Comparaison entre la filtration tangentielle et la filtration dynamique pour la séparation des biomolécules issues des microalgues

Estelle COUALLIER, S. LIU, E. CLAVIJO RIVERA, L. VILLAFANA
LOPEZ, P. BOURSEAU, M. FRAPPART
estelle.couallier@univ-nantes.fr



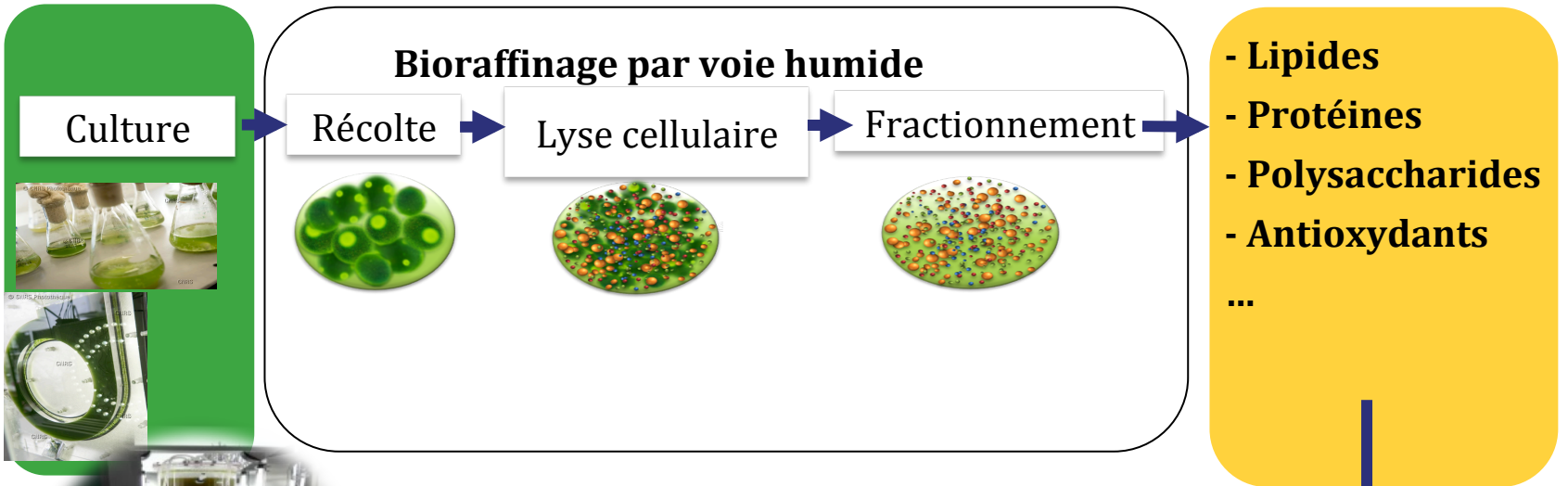
SFGP
2019

Nantes

Plan

1. Contexte & objectifs: culture et bioraffinage de microalgues
2. Matériel & méthodes
3. Résultats
 - Filtration d'un mélange modèle → sélection de la membrane
 - Filtration de mélanges réels → performances
4. Conclusions et perspectives

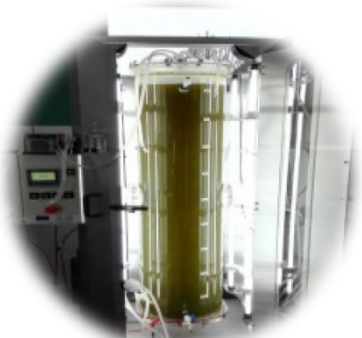
Contexte



- Applications**
- Energie
 - Alimentation
 - Santé
 - Cosmétique
 - Chimie verte

Les défis de la culture et du bioraffinage de microalgues

Culture/récolte



1^{er} défi: la culture à grande échelle

Biomasse en quantité suffisante + état physiologique maîtrisé

Nécessaire pour développer le bioraffinage

→ Algosolis (inaugurée en 2015)

***p-chlorella kessleri* (souche d'eau douce, $d \approx 4 \mu\text{m}$)**

carencée en azote, stress lumineux:

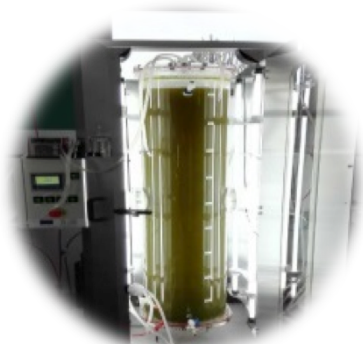
Capable de stocker jusqu'à 50% de lipides

dont des triglycérides → biocarburant de 3^{ème} génération

(Taleb et al, Bioresource Technology, 2016)

Les défis de la culture et du bioraffinage de microalgues

Culture/récolte



2^{ème} défi: le bioraffinage

La récupération des différents produits intracellulaires

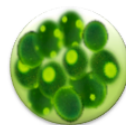
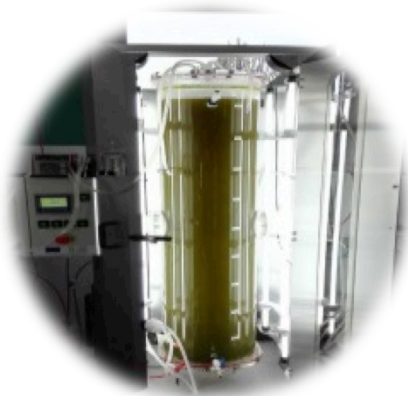
-2 étapes clés qui doivent être couplées:

Lyse cellulaire libérer de façon maîtrisée les composés
= déconstruction cellulaire

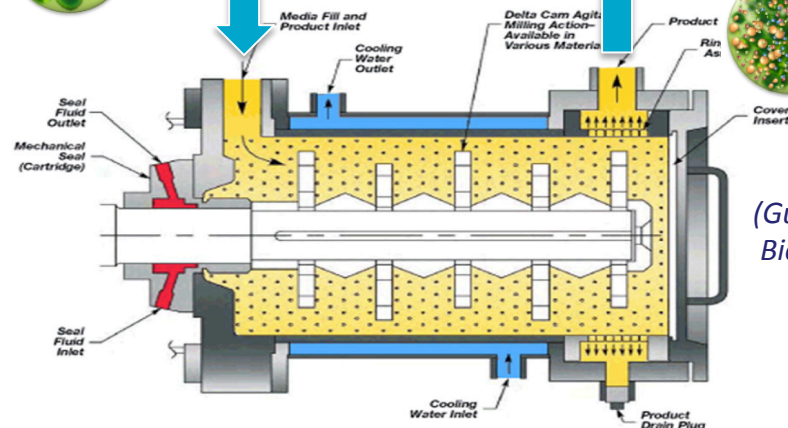
Fractionnement séparer les différentes fractions à valoriser,
en limitant la consommation
d'énergie, d'eau, d'intrants chimiques, etc

Bioraffinage des microalgues

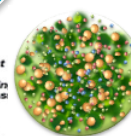
Culture/récolte



Lyse cellulaire



broyat



(Gunerken et al,
Biotechnology advances, 2015)

Broyeur à billes

(Montalescot et al, *Bioresource Technology*, 2017

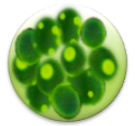
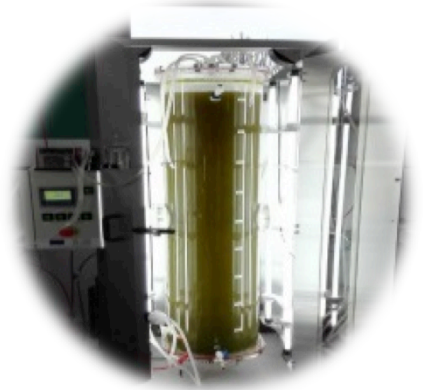
Clavijo Rivera et al, *Bioresource Technology*, 2017

Zinkone et al, *Bioresource Technology*, 2018)

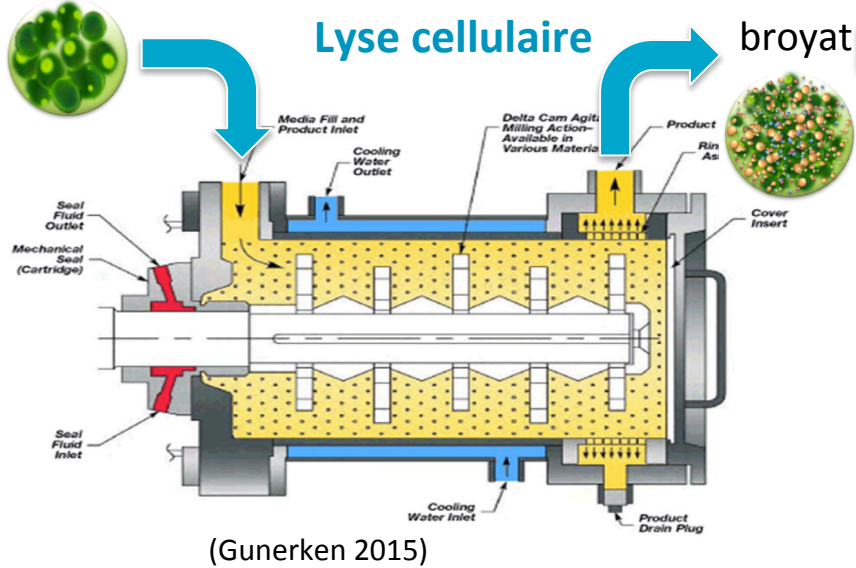
(congélation/décongélation, champs électrique pulsés, hydrolyse enzymatique)

Bioraffinage des microalgues

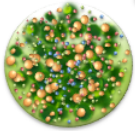
Culture/récolte



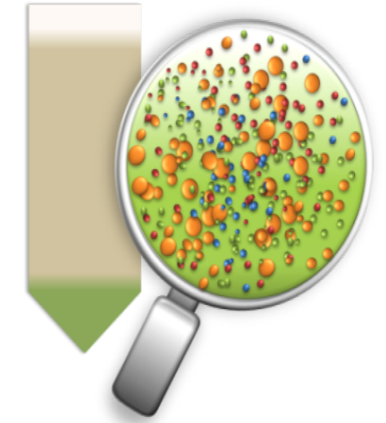
Lyse cellulaire



broyat



Clarification



Broyeur à billes

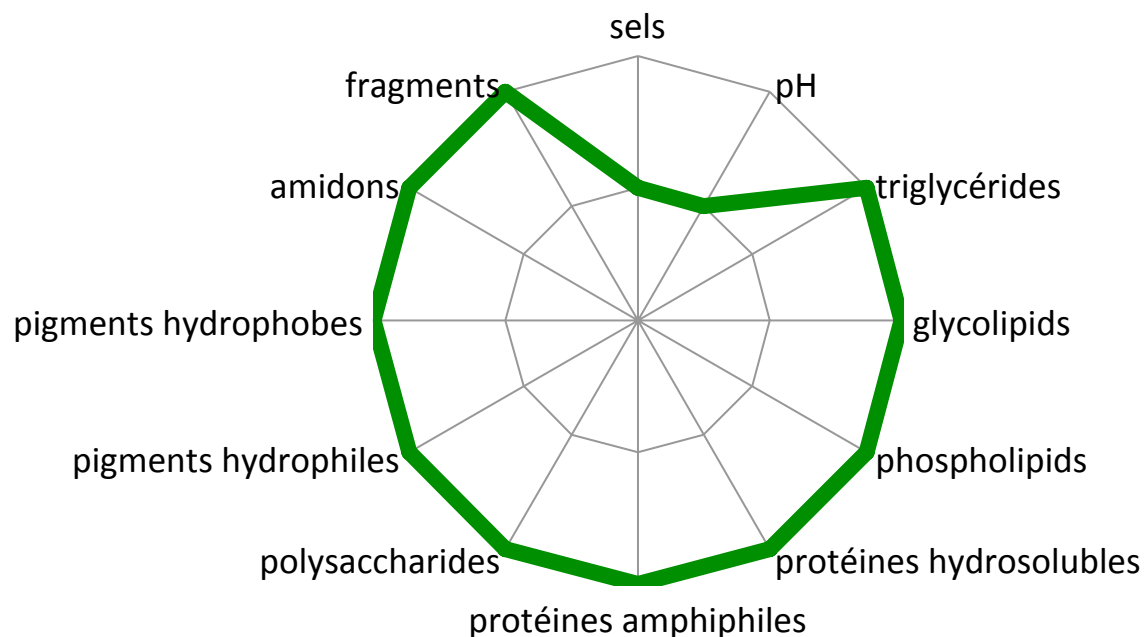
Centrifugation

(filtration en profondeur, filtration tangentielle, floculation) 7



Le surnageant d'un broyat de microalgues: un mélange complexe

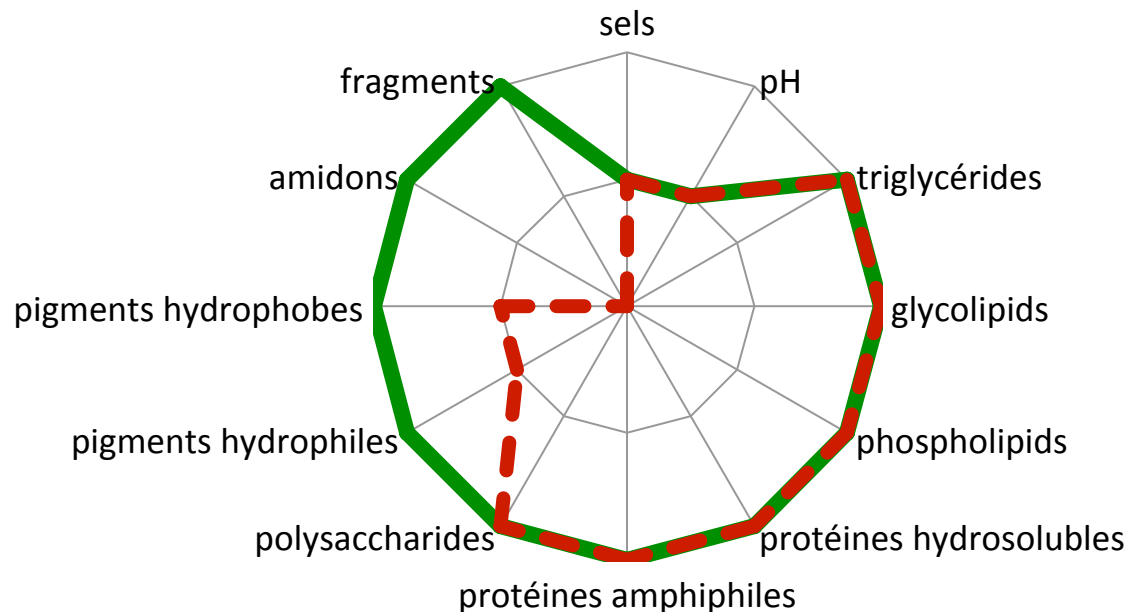
*Broyat de *p-chlorella kessleri* carencée*



Axe	Conductivité	pH	Autres
0	Eau pure	Acide	Non
1	Eau douce	Neutre	-
2	Eau de mer	Basique	Oui

Le surnageant d'un broyat de microalgues: un mélange complexe

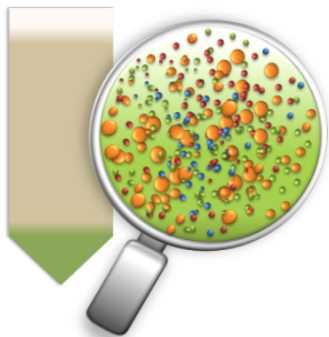
*Broyat de *p-chlorella kessleri* carencée / surnageant*



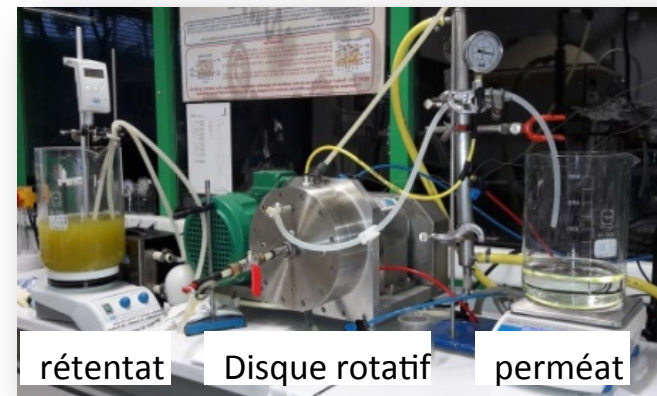
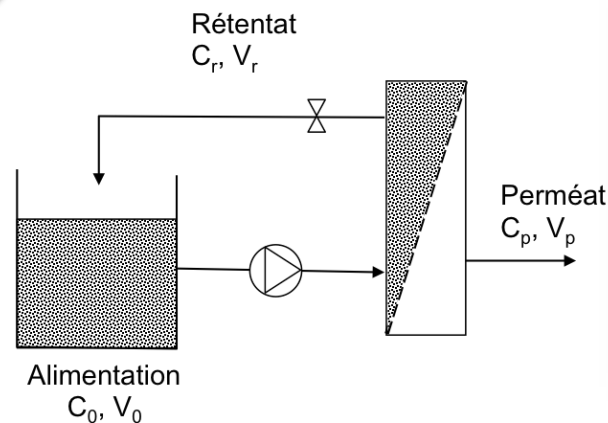
Axe	Conductivité	pH	Autres
0	Eau pure	Acide	Non
1	Eau douce	Neutre	-
2	Eau de mer	Basique	Oui

Bioraffinage des microalgues

Clarification



Fractionnement



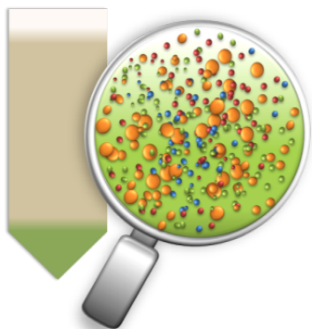
Filtration membranaire

Objectif: séparation des lipides et des composés hydrosolubles dont les protéines

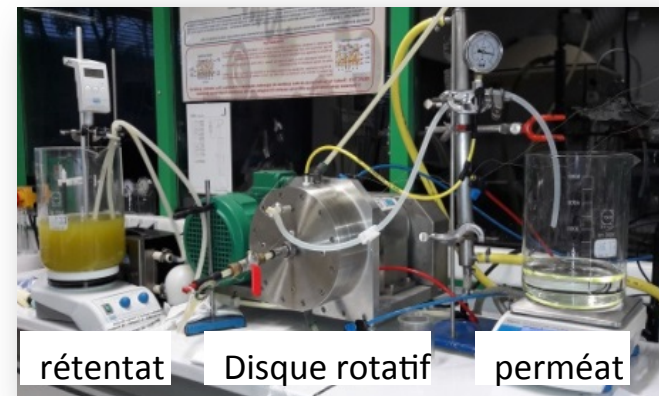
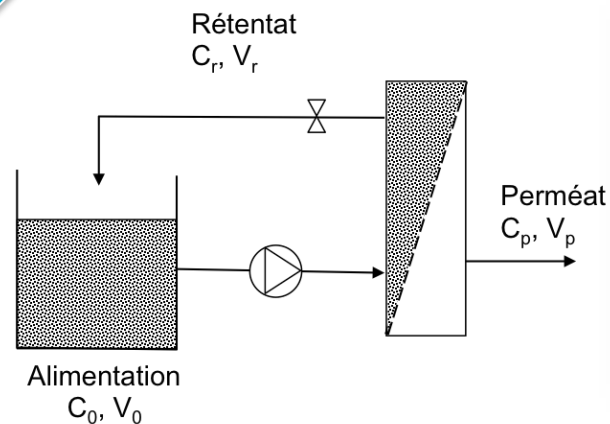
(extraction solvants classiques, ATPS, liquides ioniques etc, chromatographie)

Bioraffinage des microalgues

Clarification



Fractionnement



Filtration membranaire

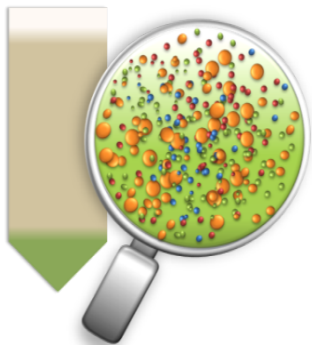
Objectif: séparation des lipides et des composés hydrosolubles dont les protéines

1. sélection de la membrane et des conditions opératoires

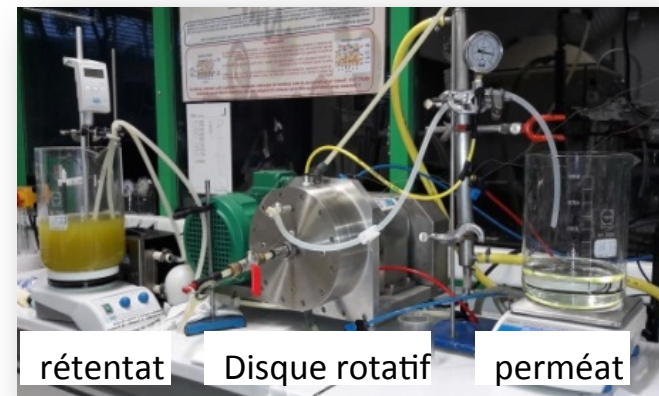
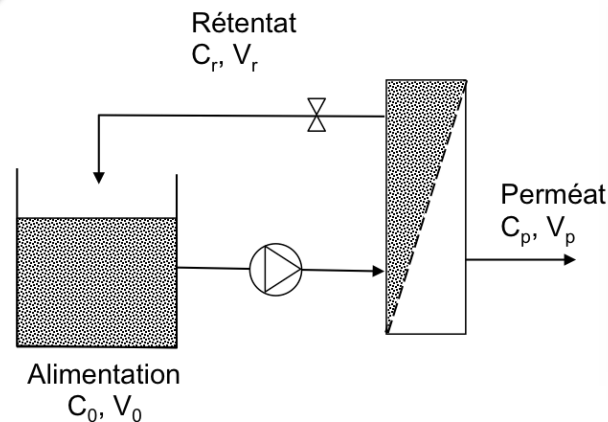
- ➔ Nécessité d'une quantité importante de produit stable dans le temps
- ➔ Conception d'un mélange modèle
- ➔ Filtration du mélange modèle et sélection de la membrane

Bioraffinage des microalgues

Clarification



Fractionnement



Filtration membranaire

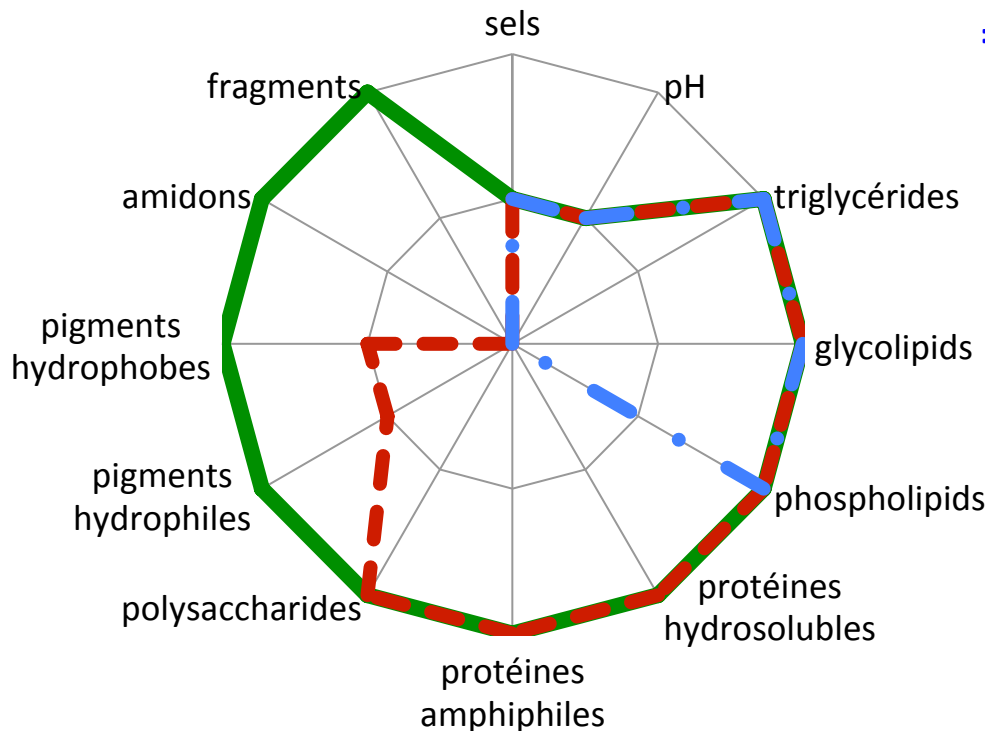
Objectif: séparation des lipides et des composés hydrosolubles dont les protéines

1. sélection de la membrane et des conditions opératoires
2. Evaluation des performances avec des produits réels (J, R, nettoyabilité)

Mélange modèle

Broyat de p-chlorella kessleri carencée / **surnageant** / **mélange modèle**

= **Émulsion huile dans eau**



Axe	Conductivité	pH	Autres
0	Eau pure	Acide	Non
1	Eau douce	Neutre	-
2	Eau de mer	Basique	Oui

Mélange modèle

microalgues (50% lipides) **concentrées 40x**, broyées

- clarifiées → **surnageant**

- phase lipidique dans l'eau → **modèle**

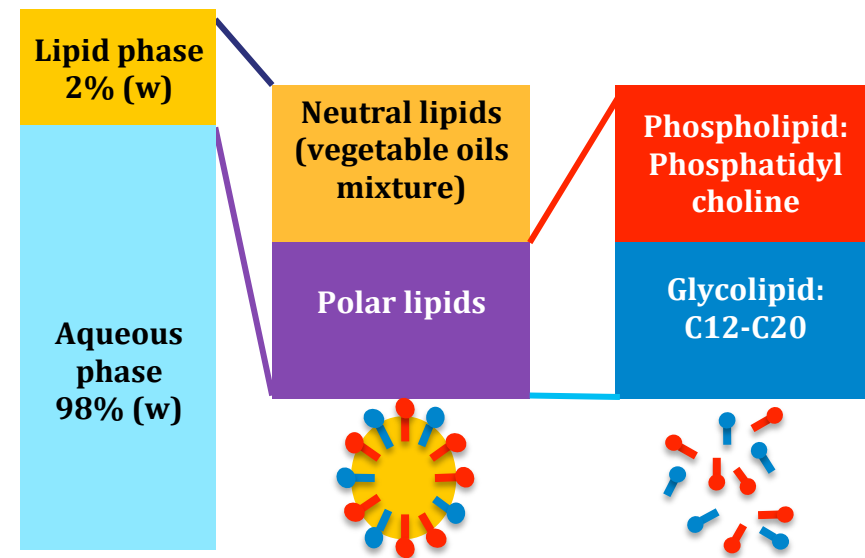
Procédé étudié:

Micro/Ultrafiltration pour

Concentrer et faire coalescer les lipides

Paramètres clés:

- Taille des gouttelettes (retention): 1-3µm
- État liquide (coalescence) → TAG
- Charge de surface (rétention) → lipides polaires
- Tension interfaciale (coalescence)



Clavijo Rivera et al, Bioreresource Technology, 2017

Surnageants réels

Culture/récolte



Congélation (stockage)

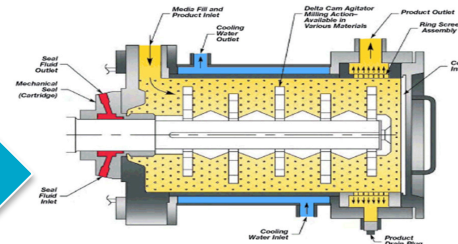
Décongélation

Dilution: 2x 20L à 5g/L



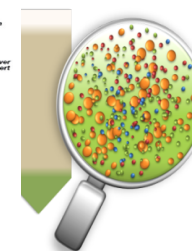
2 Cultures de 100L
à 1g/L MS

Lyse cellulaire



(Gunerken 2015)

Clarification



2 surnageants
SN1 et SN2

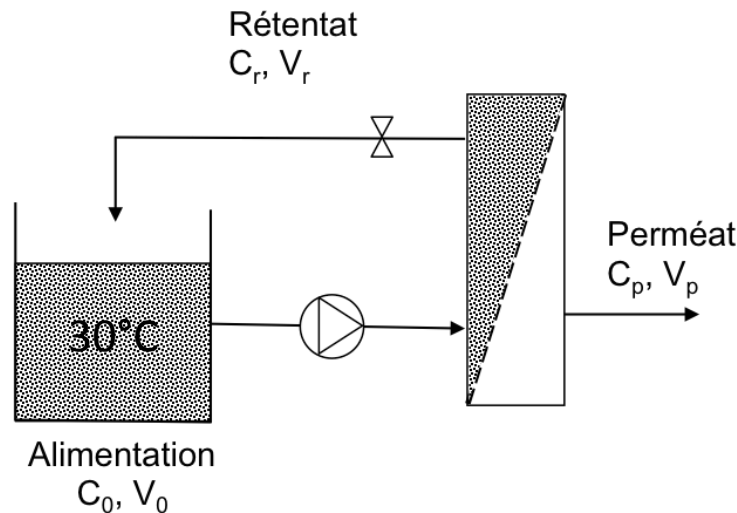
Villafañá López et al, Bioresource Technology, 2019

Clavijo Rivera et al, Process Biochemistry, (rev)

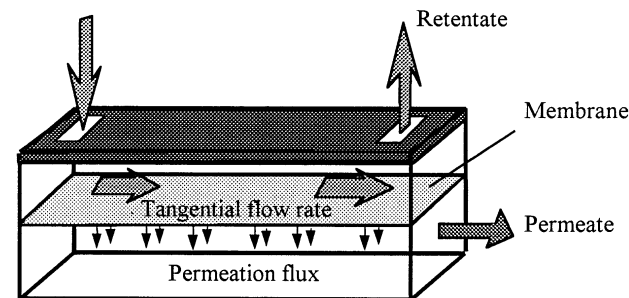
Thèse de Shuli LIU (2017-2020)

Projet RFI FOOD For Tomorrow (2018-2020)

Filtration membranaire

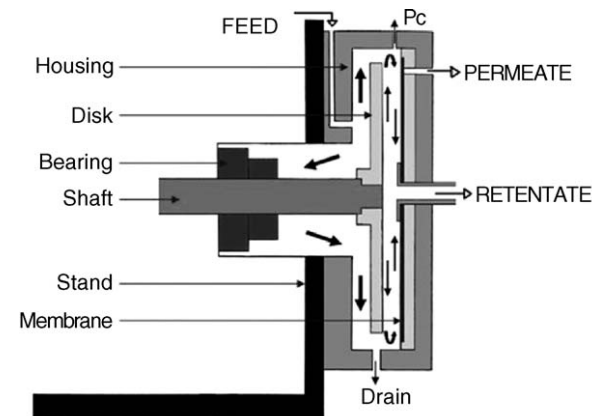


Filtration tangentielle en module plan



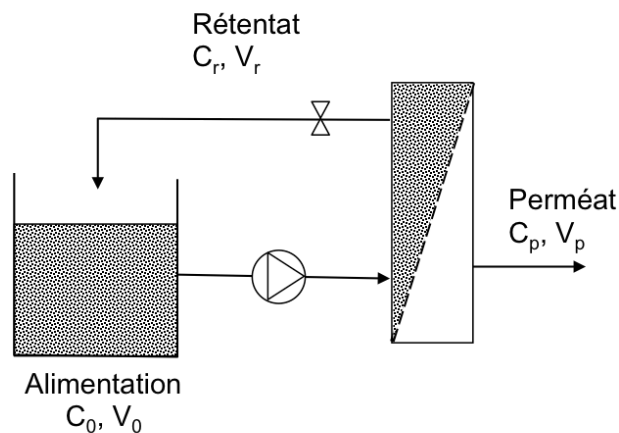
130 cm^2
 2 ms^{-1}
 16000 s^{-1}

Filtration dynamique: disque rotatif



185 cm^2
 16000 s^{-1}
 66000 s^{-1}

Filtration membranaire



Membranes:

PES 200 kDa

PAN 500 kDa (30 nm)

PVDF 0,45 μm

PVDF 1,5 μm (coalescence?)

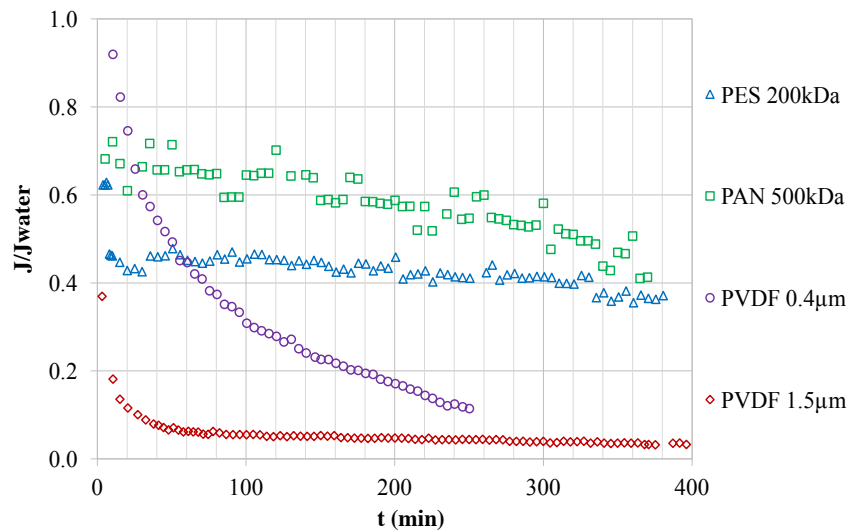
Mesure de la pression critique

Concentration

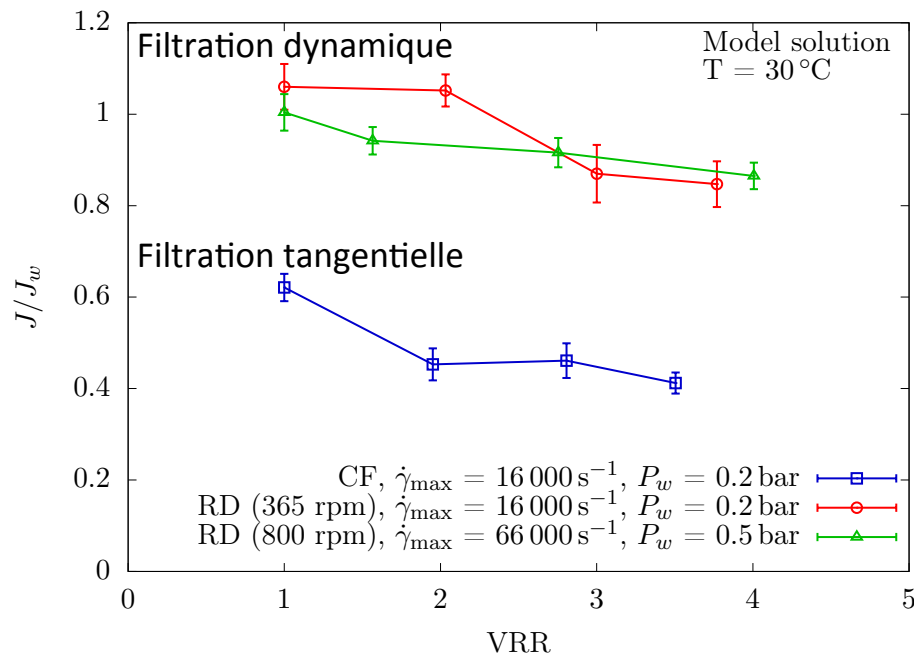
Surnageant	Mélange modèle	SN1	SN2
Filtration tangentielle (pression critique, concentration)			
Filtration dynamique (pression critique, concentration)			

Filtration du mélange modèle

Filtration tangentielle, PTM = 0,2 bar, 30°C



- Stabilité après conditionnement et compactage
- Flux de perméat (stabilité)
- Colmatage **→: PAN 500 kDa**
- rétention ($R=1$) $25 < Jw < 75 \text{ Lh}^{-1}\text{m}^{-2}$
- Nettoyabilité $15 < J_{PAN} < 45 \text{ Lh}^{-1}\text{m}^{-2}$



Intérêt de la filtration dynamique
(turbulent)

Surnageants réels

(g/L)	SN1	SN2
	Culture 1	Culture 2
Broyeur à billes	3 passes	1 passe
Matière sèche	2	1,4
Lipides	0,16	0,17
Protéines	0,38	0,19
Sucres	0,45	0,32
Cendres	1,05	0,95
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1049	993
pH	7,6	7,2

Surnageants réels

(g/L)	SN1	SN2
	Culture 1	Culture 2
Broyeur à billes	3 passes	1 passe
Matière sèche	2	1,4
Lipides	0,16	0,17
Protéines	0,38	0,19
Sucres	0,45	0,32
Cendres	1,05	0,95
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1049	993
pH	7,6	7,2

- lipides = $10\%_{\text{MS}}$

Moins de lipides que prévu

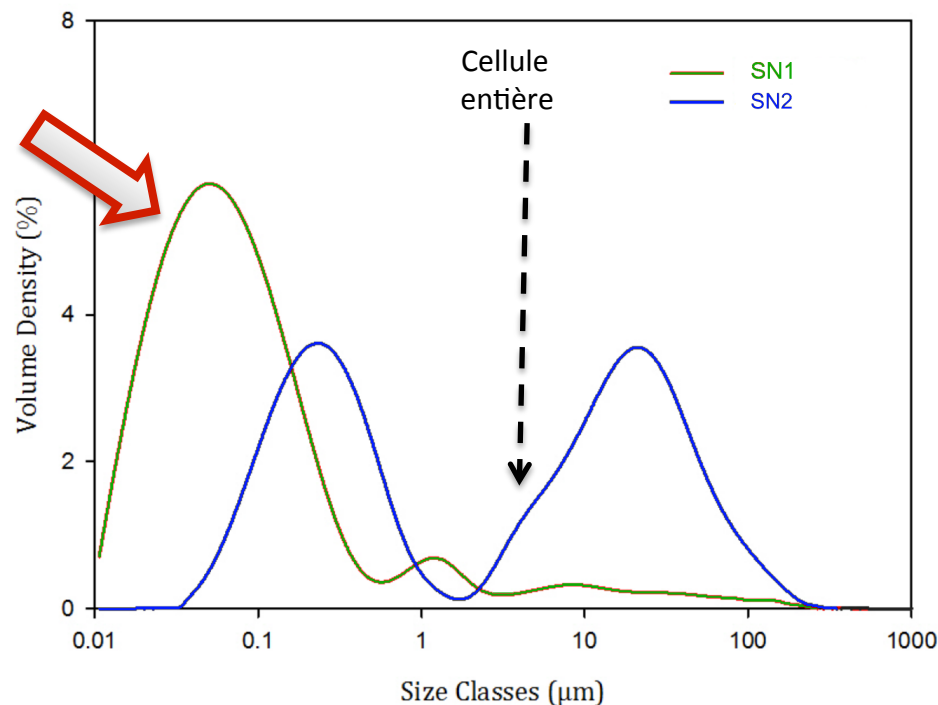
Cf: **1^{er} défi: la culture à grande échelle**

- beaucoup moins concentré / mélange modèle

5000L de chaque culture nécessaire pour produire un mélange équivalent au mélange modèle

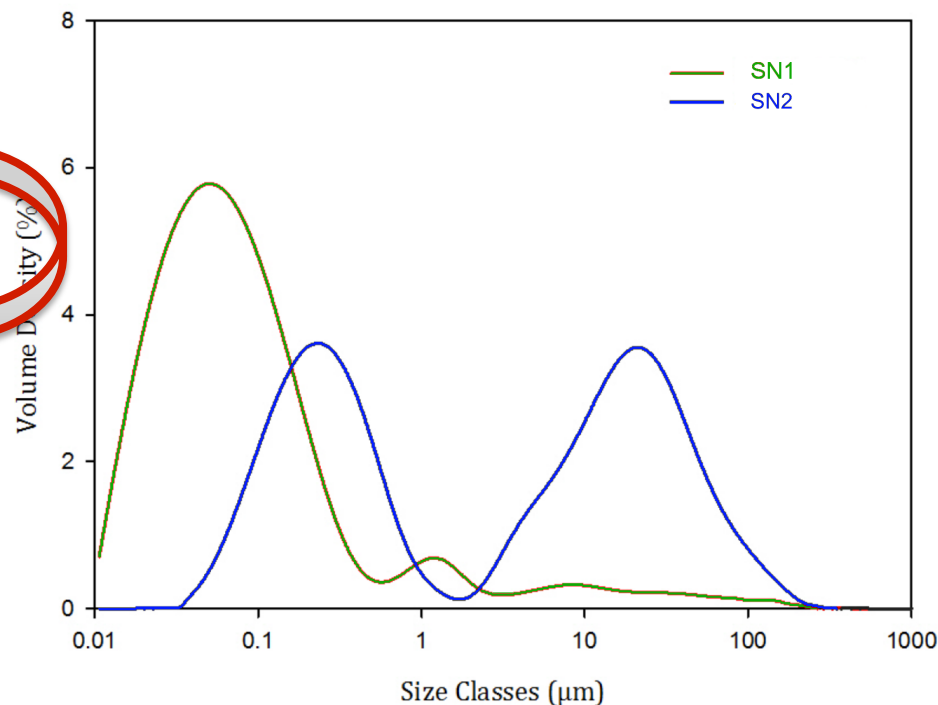
Surnageants réels

(g/L)	SN1	SN2
	Culture 1	Culture 2
Broyeur à billes	3 passes	1 passe
Matière sèche	2	1,4
Lipides	0,16	0,17
Protéines	0,38	0,19
Sucres	0,45	0,32
Cendres	1,05	0,95
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1049	993
pH	7,6	7,2



Surnageants réels

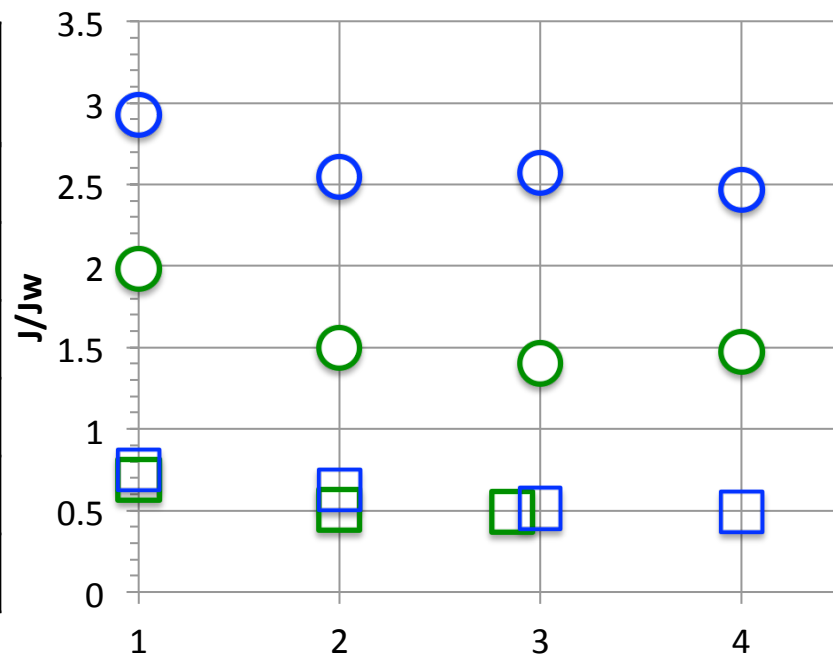
(g/L)	SN1	SN2
	Culture 1	Culture 2
Broyeur à billes	3 passes	1 passe
Matière sèche	2	1,4
Lipides	0,16	0,17
Protéines	0,38	0,19
Sucres	0,45	0,32
Cendres	1,05	0,95
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1049	993
pH	7,6	7,2



Filtration des surnageants réels

Flux de perméat

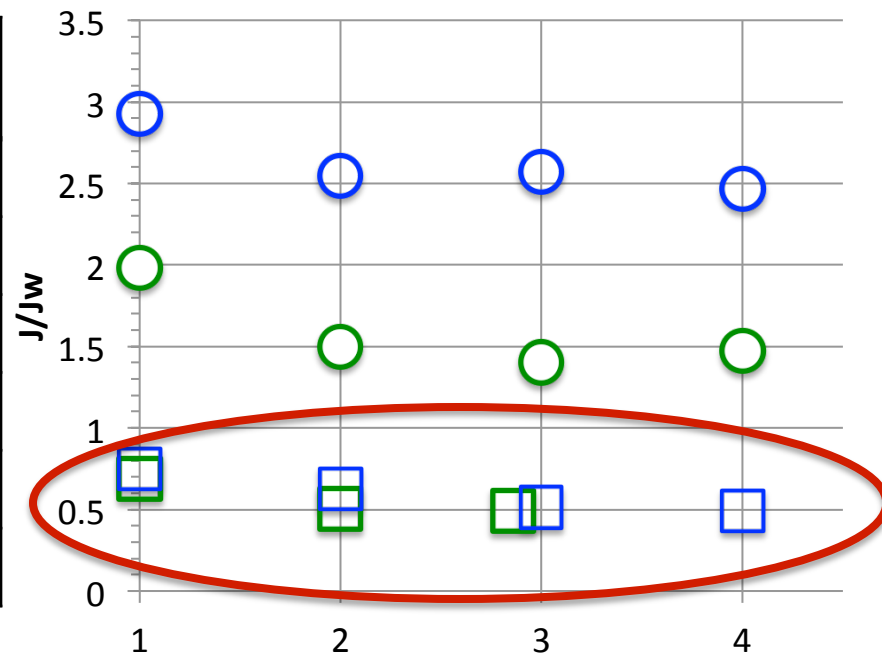
$Lh^{-1}m^{-2}$	Filtration tangentielle		Filtration dynamique	
Produit	SN1	SN2	SN1	SN2
PTM _{critique}	0,45 bar	0,45 bar	1	1
PTM	0,4 bar	0,4 bar	0,4 bar	0,7 bar
Jw	34	72	32	42
J (FRV=1)	52	70	69	123
J (FRV=2)	34	41	48	106



Filtration des surnageants réels

Flux de perméat

Lh ⁻¹ m ⁻²	Filtration tangentielle		Filtration dynamique	
	SN1	SN2	SN1	SN2
Produit	SN1	SN2	SN1	SN2
PTM _{critique}	0,45 bar	0,45 bar	1	1
PTM	0,4 bar	0,4 bar	0,4 bar	0,7 bar
Jw	34	72	32	42
J (FRV=1)	52	70	69	123
J (FRV=2)	34	41	48	106



FT: performances similaires

À la filtration du mélange modèle

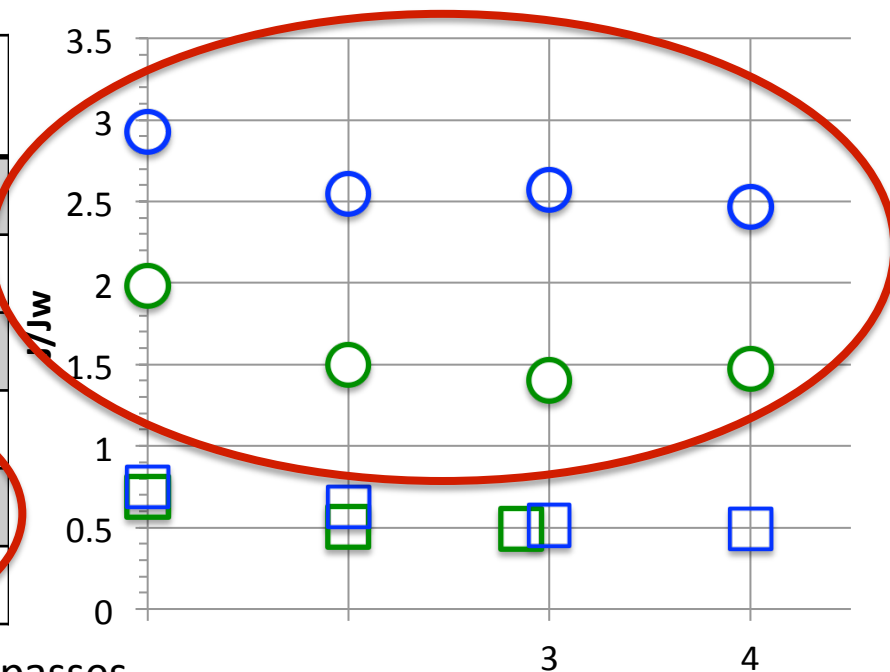
Malgré la différence de composition

FRV
 ○ DR surnageant 1 ○ DR surnageant 2
 □ FT surnageant 1 □ FT surnageant 2

Filtration des surnageants réels

Flux de perméat

Lh ⁻¹ m ⁻²	Filtration tangentielle		Filtration dynamique	
	SN1	SN2	SN1	SN2
Produit	SN1	SN2	SN1	SN2
PTM _{critique}	0,45 bar	0,45 bar	1	1
PTM	0,4 bar	0,4 bar	0,4 bar	0,7 bar
Jw	34	72	32	42
J (FRV=1)	52	70	69	123
J (FRV=2)	34	41	48	106



FD:

$J = 2 \text{ à } 3 \times Jw$

Membrane + hydrophile

Colmatage limité / FT

SN1: broyage avec 3 passes

⇒ Plus de petits débris dans le surnageant

⇒ Plus de colmatage

⇒ Flux plus faible

FRV

○ DR surnageant 2

□ FT surnageant 2

Filtration des surnageants réels

Taux de rétention

	Filtration tangentielle		Filtration dynamique	
	SN1	SN2	SN1	SN2
Produit réel	SN1	SN2	SN1	SN2
Lipides	1	1	1	1
conductivité	0,12	0,04	0,11	0,15
Protéines	1	0,55	1	0,78
Sucres	0,74	0,38	0,48	0,52

Lipides: totalement retenus

Sels: peu retenus

Protéines: totalement retenues pour SN1
=> réorganisation? Intérêt d'un fort broyage?
Partiellement retenues pour SN2, $R_{FD} > R_{FT}$
=> + forte interaction avec la membrane?

Sucres: rétention aussi fonction du broyage en FT

- ➔ Performances de la filtration très dépendante des conditions de broyage
- ➔ Co-optimisation indispensable

Filtration des surnageants réels

Filtration tangentielle

Nettoyabilité

Nettoyage basique (ultrasil 110)
et eau de javel (100ppm, pH 11)

$$J = \frac{TMP}{\mu(R_m + R_f)} = \frac{TMP}{\mu(R_m + R_{irr} + R_{rev})}$$

Filtration dynamique

Résistances, 10^{12} m^{-1}

Solution filtrée	Mélange modèle	SN1	SN2
R_m	1,4	2,0	1,5
R_{rev}	2,2	1,9	1,8
R_{irr}	0,15	0,37	0,13
R_{tot}	3,7	4,3	3,5

Nécessité de développer
de nouveaux outils de caractérisation

➔ Projets en cours

Conclusions et perspectives

Culture/récolte

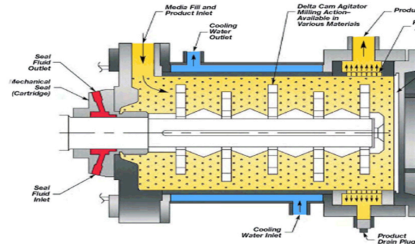


Broyage

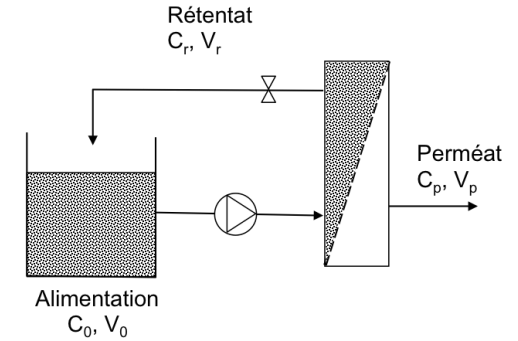
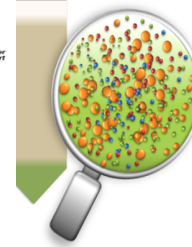
Clarification



Fractionnement



(Gunerken 2015)



Couplage broyage – filtration: Compromis à trouver pour:

- Augmenter le taux de récupération des composés,
- Limiter leur réorganisation et leur dégradation,
- Maintenir les performances des étapes de séparation (colmatage).

Nature du colmatage en fonction des différentes conditions? Impact sur le fractionnement?

Poster de Shuli LIU
265776 S2-P5

Conclusions et perspectives

Culture/récolte

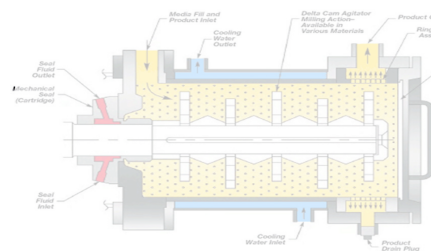
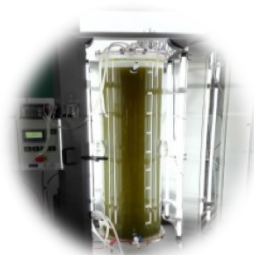


Lyse cellulaire

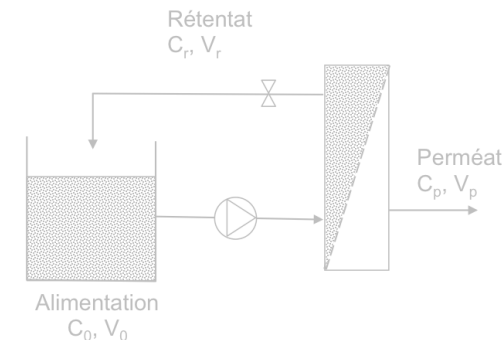
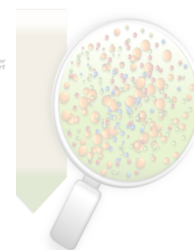
Clarification



fractionnement



(Gunerken 2015)



Culture: besoin de maîtriser la production de lipides à grande échelle

Conditions de récolte et de stockage de la biomasse

➔ Impact sur la dégradation des composés cibles

Balduick, Algal research 2017 : dégradation rapide des lipides quand les cellules sont dégradées
souche dépendant

Travaux de Shuli LIU (en cours): possible dégradation intracellulaire avant broyage

Merci

Shuli LIU, Erika Clavijo Rivera, Liliana Villafaña López





Filtration des surnageants réels

Comparaison avec la littérature

Lorente et al, Bioreresource Technology, 2017

	Nos essais		Lorente 2017	
essai	FT	FD	FT	FD
Produit filtré: MS	0,14-0,2%		5% (non clarifié)	
membrane	PAN 500kDa		PES 5kDa PVDF 100 kDa	
PTM (bar)	0,4	0,4-0,7	5	
J(Lh ⁻¹ m ⁻²)	34-51	48-123	7-25	5-65
R _{irr} 10 ¹² m ⁻¹	0,13-0,34		54	