



HAL
open science

Caractérisation par cryo microscopie électronique de membranes de filtration PAN et PES et de leur colmatage par des biomolécules, appliqué à la valorisation des microalgues

Hélène Roberge, Philippe Moreau, Estelle Couallier, Patricia Abellan

► To cite this version:

Hélène Roberge, Philippe Moreau, Estelle Couallier, Patricia Abellan. Caractérisation par cryo microscopie électronique de membranes de filtration PAN et PES et de leur colmatage par des biomolécules, appliqué à la valorisation des microalgues. MEMPRO, Jun 2022, Montpellier, France. hal-04212018

HAL Id: hal-04212018

<https://hal.science/hal-04212018v1>

Submitted on 20 Sep 2023

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.

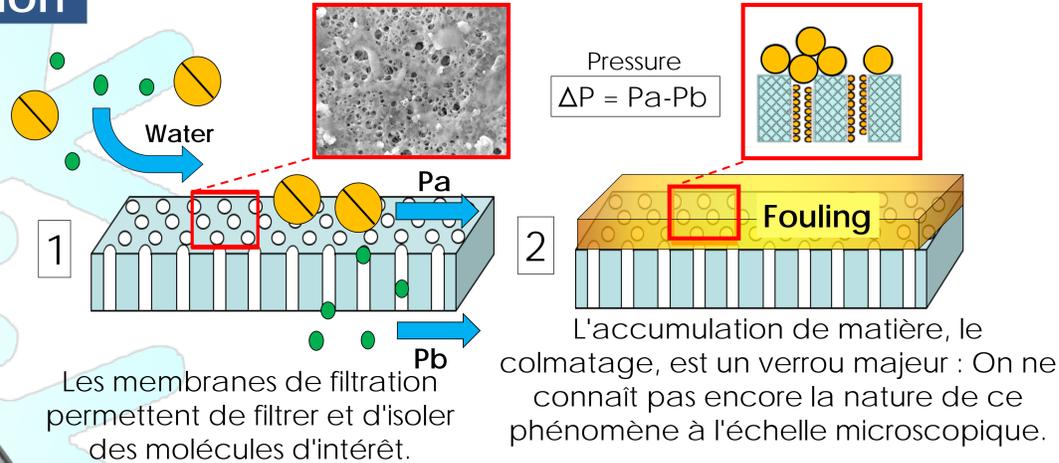
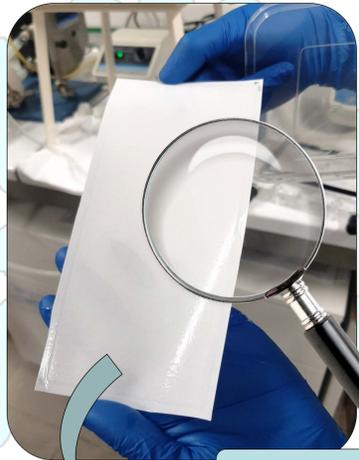
Caractérisation par cryo microscopie électronique de membranes de filtration PAN et PES et de leur colmatage par des biomolécules, appliqué à la valorisation des microalgues.

Hélène ROBERGE^{1,2} Philippe MOREAU¹, Estelle COUALLIER², Patricia ABELLAN¹

¹ Nantes Université, CNRS, Institut des Matériaux Jean Rouxel, IMN, F-44000 Nantes, France

² Nantes Université, CNRS, Laboratoire de Génie des Procédés, Environnement et Agroalimentaire, GEPEA, F-44600 Saint Nazaire France

Introduction



Application

Microalgae valorisation

Proteins Lipids Polysaccharides

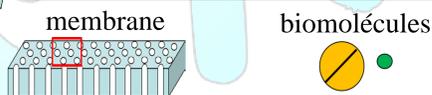
La valorisation des microalgues a un large spectre d'applications telles que l'industrie pharmaceutique, cosmétique, alimentaire ou les biocarburants.

Objectif principal : comprendre la structure et la formation du colmatage dans les membranes polymères de filtration.



Les deux sont **sensible** aux faisceaux d'ions et d'électrons, **amorphe, isolant et à faible contraste, il est difficile de les différencier**. Les biomolécules sont de petite taille (10 nm - 10 μm), agrégats, charges

Des protocoles spécifiques doivent être développés.



Intérêt du marquage des biomolécule :

- Permet l'**identification du colmatage** en réhaussant le contraste de l'ensemble des biomolécules.
- Permet la **différenciation** du colmatage avec la membrane et des biomolécules entre elles (lipides et protéines).



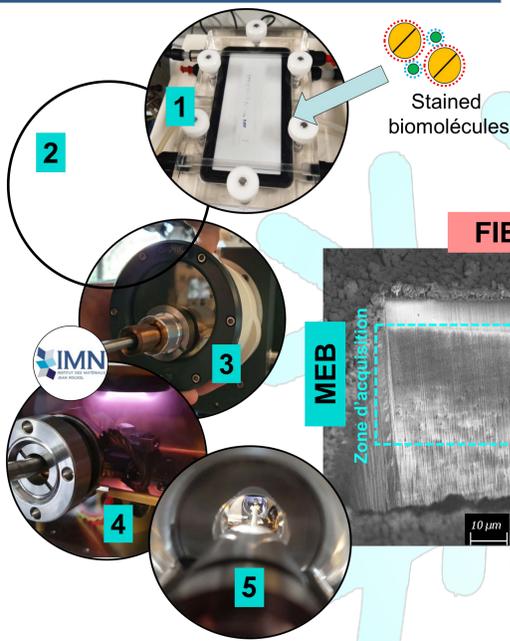
Intérêt des conditions cryogéniques sur les membrane colmatées :

- **Evite** l'effet de la déshydratation.
- **Conserve** et permet l'observation de l'**état natif** de l'échantillon.
- **Stabilise** les protéines et les molécules du vivants.

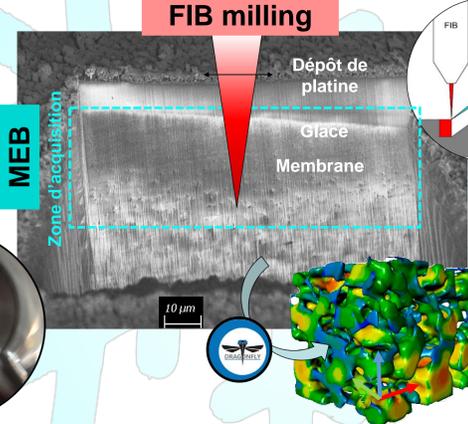
Matériel & méthode

Préparation de l'échantillon à froid :

Les biomolécules **sont marquées** à l'uranyless pour les lipides (La) et au PTA (phosphotungstic acid, W) pour les protéines avant d'être filtrées par la membrane et un colmatage apparaît (1). La membrane colmatée est coupée et plongée dans l'**azote pâteux** (mis sous vide, -210°C)(2). L'échantillon **congelé** est **transféré sous vide** via une canne munie s'un sas (3). Puis, il est inséré dans le sas de transfert (-150°C) et **métallisé** avec du platine (4). Enfin, il est transféré dans la chambre du MEB maintenue à froid.



FIB milling



Acquisition d'un volume 3D :

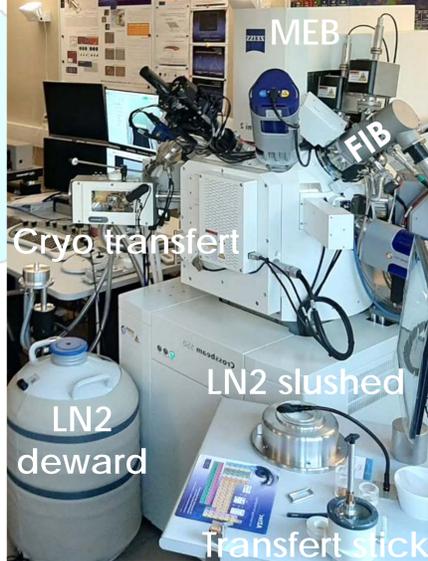
le **FIB** (focused ion beam) permet de couper la matière, révélant l'intérieur de l'échantillon, tandis que le **MEB** (microscope électronique à balayage) permet son observation. En alternant coupe fine et imagerie, un **stack d'image 2D** (ou volume 3D), avec **une résolution cubique de 10 nm** est obtenue. Durée de l'acquisition : **~6-12h**

Traitement 3D

Le volume 3D permet une segmentation et une quantification de la membrane et de son colmatage (exemple de paramètre pouvant être extrait pour les pores de la membrane : taille, porosité, tortuosité, connectivité... etc.

Protocole de reconstruction et de quantification 3D publié dans Roberge et al, Journal of membrane science, 2022.

Cryo FIB/MEB ZEISS 550L

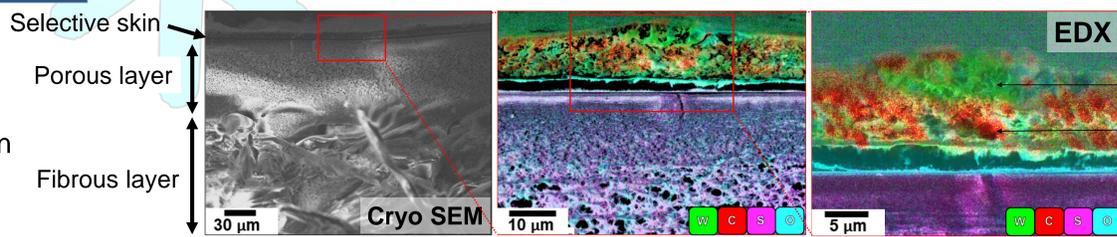


Résultat préliminaire

Marquage par métaux lourds des biomolécules (lipides et protéines) formant le colmatage :

Un colmatage externe est observé où les biomolécules sont facilement identifiables :

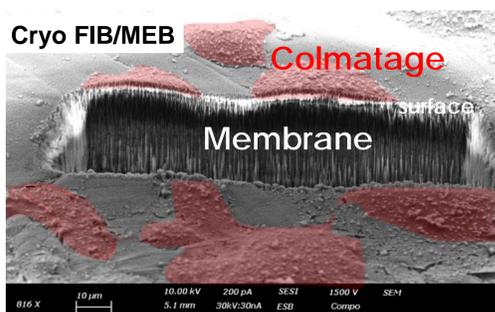
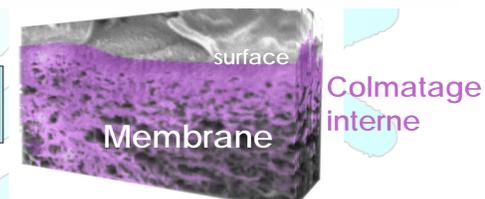
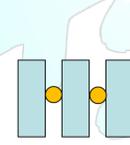
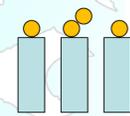
- Le **PTA** permet l'identification des **protéines** parmi les biomolécules.



- L'**uranyless** est trop dilués pour conclure sur le marquage des lipides mais **rehausse le contraste** général du colmatage. Les lipides sont identifiables avec le signal carbone.

Caractérisation du colmatage des membrane par cryo FIB/MEB :

- Des **spots de colmatage** de biomolécules (lipid et protéines, en cohérence avec les précédent travaux (1)) à la surface de la membrane.
- Du **colmatage externe** sous la forme d'une couche de biomolécules à la surface de la membrane.
- Du **colmatage interne** jusqu'à quelques micromètres de profondeur de la surface de la membrane
- **Les deux** ont un **fort impact** sur la performance de la membrane et sont **parfois observé ensemble**.



(1) C. Rouquié, ... H. Roberge, Separation and Purification Technology (2022).

Acknowledgments: The authors would like to thank the financial support by the NExT initiative through national funding by the French National Research Agency (ANR) under the Programme d'investissements d'Avenir (with reference ANR-16-IDEX-0007). The e-BRIDGE project also receives financial support from the Pays de la Loire Région and Nantes Métropole.



INSTITUT DES MATÉRIAUX DE NANTES JEAN ROUXEL



MemPro

