

# THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 596

*Matière, Molécules, Matériaux*

Spécialité : *Sciences des matériaux*

Par

**Hélène ROBERGE**

**Développement de méthodes de microscopie électronique pour la caractérisation des membranes organiques et des mécanismes clés de la filtration des biomolécules.**

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 18 novembre 2022

Unité de recherche : Institut des Matériaux Jean Rouxel de Nantes (IMN), UMR 6502

Laboratoire GÉnie des Procédés Environnement – Agroalimentaire (GEPEA), UMR-CNRS 6144

## Rapporteurs avant soutenance :

Christel Causserand    Professeur, Laboratoire de Génie Chimique, Université de Toulouse

Eric Maire              Directeur de recherche, MATEIS Lyon

## Composition du Jury :

Président :	Prénom Nom	Fonction et établissement d'exercice (8) (à préciser après la soutenance)
Examineurs :	Denis Bouyer	Professeur, Institut Européen des Membranes, Université de Montpellier
	Etienne Gontier	Ingénieur de Recherche, Bordeaux Imaging Center, Université de Bordeaux
	Christel Genoud	Maître d'enseignement et de recherche (MER), UNIL - Université de Lausanne

Dir. de thèse : Estelle Couallier  
Co-dir. de thèse : Philippe Moreau  
Co-encadrant de thèse : Patricia Abellan

Chargé de Recherche, GEPEA – Saint-Nazaire  
Professeur, IMN, Nantes Université  
Chargé de Recherche, IMN, Nantes

**Titre :** Développement de méthodes de microscopie électronique pour la caractérisation des membranes organiques et des mécanismes clés de la filtration des biomolécules.

**Mots clés :** Membrane polymère, microscopie électronique, FIB/MEB, reconstruction 3D, conditions cryogéniques

**Résumé :** Les procédés de filtration membranaire permettent de concentrer, séparer et purifier les composants d'un mélange complexe en phase liquide. Récemment, les procédés de filtration membranaire ont été adaptés à la valorisation des microalgues, où la filtration utilisant des membranes polymères nanoporeuses est utilisée pour séparer et récupérer les lipides et les protéines des extraits aqueux de microalgues broyées. Les biomolécules récupérées peuvent être utilisées dans l'industrie pharmaceutique, les cosmétiques, les compléments alimentaires ou l'industrie des biocarburants comme le biodiesel. Cependant, au cours de la filtration, l'accumulation indésirable de biomolécules à la surface et dans les pores de la membrane, appelée colmatage, entrave les performances des membranes et constitue la principale limitation du procédé de filtration. Une caractérisation détaillée de la structure des pores et de l'organisation des biomolécules sur et dans la membrane est essentielle pour comprendre puis aider à minimiser son colmatage. Pour répondre à ce besoin, plusieurs techniques de microscopie électronique ont été explorées et développées pour la première fois

Le 3D FIB/MEB nous a permis d'obtenir les paramètres structuraux 3D de deux membrane-type (PES et PAN) et ainsi mettre en évidence une couche sélective. Grâce à l'utilisation de conditions cryogéniques (cryo-FIB/MEB), nous avons examiné les membranes hydratées et celles colmatées après filtration, tout en minimisant les dommages sur les polymères et les biomolécules. De la sorte, les lipides et les protéines ont été localisées au sein de la structure native du matériau, aussi préservée à basse température. Ce faisant, une méthode de rehaussement de contraste pour ces deux classes de biomolécules, un moyen de les distinguer dans des mélanges complexes, ainsi que des protocoles de reconstruction 3D adaptés à ces matériaux et interfaces à faible contraste ont été développés. Les différents défis techniques rencontrés à température ambiante ou cryogénique sont discutés. Ce travail ouvre une nouvelle voie d'obtention de données microstructurales quantitatives, utiles à la fois pour comprendre les mécanismes de colmatage, pour aider à la conception de nouvelles membranes de filtration, mais aussi pour alimenter des modèles prédictifs construits à partir de l'échelle nanométrique.

**Titre :** Development of electron microscopy approaches for the characterisation of organic membranes and key mechanisms of biomolecule filtration.

**Keywords :** Polymer membrane, electron microscopy, FIB/SEM, 3D reconstruction, cryogenic conditions

**Abstract:** Membrane filtration processes are used to concentrate, separate and purify the components of a complex mixture in the liquid phase. Recently, membrane filtration processes have been adapted to the valorisation of microalgae, where filtration using nanoporous polymer membranes is used to separate and recover lipids and proteins from the aqueous extracts of ground microalgae. The recovered biomolecules can be used in the pharmaceutical industry, cosmetics, food complements or the biofuel industry such as biodiesel. However, during filtration, unwanted accumulation of biomolecules on the surface and in the pores of the membrane, called fouling, hampers the membrane performance and is the main limitation of the filtration process. Detailed characterisation of the pore structure and organisation of biomolecules on and in the membrane is essential to understand and then help minimise fouling.

Membrane filtration processes are used to concentrate, separate and purify the components of a complex mixture in the liquid phase. Recently, membrane filtration processes have been adapted to the valorisation of microalgae, where filtration using nanoporous polymer membranes is used to separate and recover lipids and proteins from the aqueous extracts of ground microalgae. The recovered biomolecules can be used in the pharmaceutical industry, cosmetics, food complements or the biofuel industry such as biodiesel. However, during filtration, unwanted accumulation of biomolecules on the surface and in the pores of the membrane, called fouling, hampers the membrane performance and is the main limitation of the filtration process. Detailed characterisation of the pore structure and organisation of biomolecules on and in the membrane is essential to understand and then help minimise fouling.