

Matière : TAB

Niveau : L3

Cours: La filtration et l'ultrafiltration

I. Introduction

Définition

La filtration est une méthode de séparation des particules en suspension dans un fluide par différence de pression et de taille à travers une membrane (filtres dotés de seuil de séparation bien déterminé). Elle peut s'effectuer sous, pression atmosphérique, sous **pression réduite**, à chaud ou à froid.

- On peut utiliser la filtration dans deux cas :
 - si l'on veut récupérer un solide et se débarrasser du liquide.
 - si au contraire, c'est le liquide que l'on veut débarrasser du solide.
- La filtration est fréquemment employée en biochimie pour un grand nombre d'applications : stérilisation, récupération des précipités, élimination de sels de solutions, concentration de macromolécules...etc.

II. Méthodologie et appareillage

1. Les filtres

Il existe deux sortes de filtres : les filtres écrans (de surface) et les filtres en profondeur

- **Les filtres écrans ("screen filter")**

Sont des feuilles très minces faites de divers matériaux : dérivés de cellulose, fluorure de polyvinyle, polysulfone, acrylique, etc. Des pores traversent presque de part en part cette feuille mince. Il est facile d'obtenir des pores de diamètre contrôlé, qui peuvent être très petits, et plutôt homogènes. Ces pores se bouchent cependant assez rapidement (colmatage) et ont un débit très lent. Ils ont aussi une capacité de rétention réduite.

Ces filtres retiennent à la surface toutes les particules dont la taille est supérieure à celles des pores du filtre. Cette propriété permet donc de calibrer les pores et l'augmentation de l'épaisseur du filtre ne présente pas d'intérêt.

Exemple : Filtre en amiante de cellulose, amiante en fibre de verre

Les filtrations s'effectuent pratiquement toujours sous pression de l'ordre de 1,5 bar.

Les filtres écrans sont utilisés pour réaliser des filtrations stérilisantes

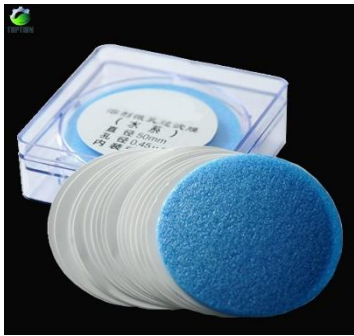
La filtration stérilisante est l'une des applications de choix des filtres écrans mais ils sont également utilisés en cytologie.

La filtration d'un milieu biologique permet de recueillir très simplement les cellules qu'il renferme.

Les membranes millipores

Les plus utilisées sont en nitrate de cellulose, d'où la possibilité d'adsorption des protéines. Il en est de même pour les membranes Membrafil et Sartorius.

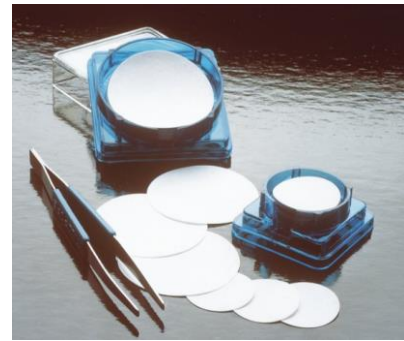
Les filtres en nitrocellulose sont très utilisés pour fixer les acides nucléiques.



Membranes en Nylon 0,22µm/0,45µm



Membranes filtrantes, Millipore®



Membrane Fluoropore 0,22µm, 90mm.

- Les filtres en profondeur ("depth filter")

Ils sont constitués d'agrégats de divers matériaux, très souvent des fibres de verre, pouvant avoir quelques mm d'épaisseur. Ces agrégats contiennent des réseaux complexes de pores de diamètres variables interconnectés entre eux. Les particules peuvent donc pénétrer dans les pores pour finir par être arrêtées. Le diamètre des pores est relativement variable. Cependant ils peuvent retenir de grandes quantités de matériel. Ils se bouchent très lentement (colmatage) et les débits se maintiennent à un haut niveau assez longtemps.

Les filtres en profondeur sont constitués de matériaux qui doivent être insolubles, inertes physiquement et chimiquement et sur cette base on distingue

- ❖ Papier filtre classique

Utilisé au laboratoire, soit sous forme de filtre sans plis pour recueillir un précipité, soit sous forme de filtres plissés qui à taille égale, possède une surface de filtration de gros volume liquidien.

Il existe plusieurs qualités de papier

Filtration rapide : Filtre Whatman N°4, N°90

Filtration moyenne : Whatman N°1 ou N°7

Filtration faible : Whatman N°5 ou N°6

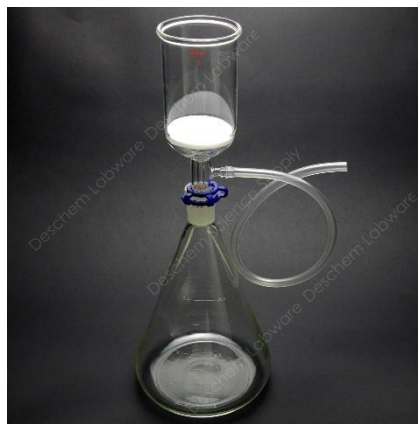
❖ Filtres de verre

Sont toujours utilisés à plat sur Buchner, ils ont une forme circulaire de petits diamètres. Ils doivent être utilisés non pliés car le pliage les fragilise et les fissures. Ils sont généralement utilisés pour éliminer des particules dont la taille est inférieure à $1\mu\text{m}$.



Filtre de verre

Le dispositif le plus simple est le système **Buchner** qui est simplement un entonnoir à fond plat, généralement en porcelaine. Le fond supporte le filtre et est perforé pour permettre l'écoulement installé sur une fiole à succion, un Erlenmeyer muni d'un bras latéral sur lequel on peut brancher une pompe à vide.



Dispositif Buchner

❖ Les tubes filtrants

Ils se présentent sous forme de cylindre creux qui peuvent être monté sur des embouts de connexion et permettent la filtration rapide du liquide ou même d'air. La rétention est de l'ordre de $2\mu\text{m}$ c'est-à-dire, les molécules passantes auront des dimensions inférieures à $2\mu\text{m}$. Ces tubes sont utilisés pour fournir des réactifs débarrassés de toutes particules contaminantes mais également pour filtrer des gaz ou clarifier rapidement de grands volumes de solutions troubles.

❖ Les plaques frittées

Ce sont des plaques poreuses constituées de poudre de verre agglomérées c'est-à-dire en verre fritté obtenu par compression à température contrôlée des microbilles de verre. Selon le diamètre de ces grains et la température de frittage, on obtient des porosités différentes. Les porosités codées de 00 (larges pores) à 4 (pores étroits). Ces plaques sont utilisées pour des filtrations sous vide. Après usage, les plaques frittées doivent être nettoyées par un mélange sulfochromique puis lavées abondamment et rincer à l'eau distillée.

Remarque

Il est possible de combiner les avantages des deux types de filtres (écrans et en profondeur) en superposant un filtre épais sur un filtre de surface. De cette façon, on peut filtrer de gros volumes de solutions contenant des particules qui seront trappées par le filtre épais avant qu'elles ne bloquent le filtre de surface, ce dernier permettant une filtration fine et régulière.

2. Applications de la filtration

Une filtration en biologie est utilisée à différents buts :

-Stérilisation à froid

-Purification

III. Ultrafiltration

1. Définition

L'ultrafiltration est un procédé de séparation de molécules dissoutes et /ou de leur matière en suspension dans le solvant en fonction de leur taille.

Cette technique fait appel à des membranes à perméabilité sélective qui permettent à toute substance de taille inférieure à celle des pores de la membrane de passer.

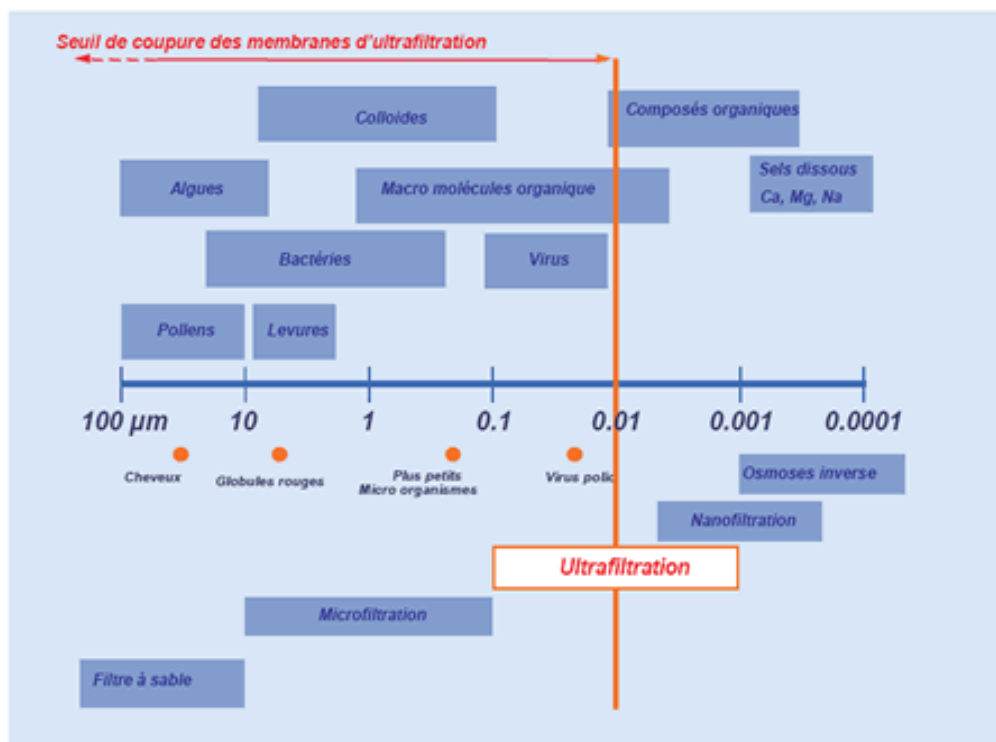
Les molécules de plus grandes tailles sont retenues mais aussi concentrées puisque la membrane est perméable au solvant.

Une pression est exercée sur la solution à ultrafiltrer. Les conditions très douces ne détruisent pas l'activité biologique des molécules les plus fragiles.

- L'ultrafiltration combine donc une lyophilisation et une dialyse et s'exécute en une fraction de temps nécessaire pour réaliser ces deux techniques.
- L'ultrafiltration couvre un très large domaine de masse moléculaire (500 à 100.000 Da) soit une taille de 1 à 20 nm. Ce domaine d'application permet de la situer entre celui de l'osmose inverse où les sels sont retenus et celui de la microfiltration où la taille des pores varie de 0,01 à 10µm.

Les macromolécules pourront alors être récupérées et débarrasser du gros du solvant et des petites molécules de la solution originale.

- Cette membrane d'ultrafiltration possède des pores très petits, capables de retenir des protéines et des acides nucléiques.
- Cette technologie utilise des membranes avec des pores ayant une taille de 1-100µm.



Que signifie le préfixe "ultra" ?

Le préfixe "ultra" correspond à la finesse des pores de membrane. Il existe en effet trois autres procédés de filtration par membranes. Chaque procédé donne un résultat différent dépendant, entre autres, de la taille des pores de la membrane.

- La micro filtration : les pores sont plus grands et laissent passer plus d'impuretés et de microorganismes.
- La nanofiltration : plus étroits, les pores retiennent même certains sels minéraux contenus dans l'eau.
- L'osmose inverse : autre procédé de séparation par membranes, l'osmose inverse sert principalement à déminéraliser l'eau, et notamment au dessalement de l'eau de mer.

2. Avantages de l'ultrafiltration

L'avantage par rapport à une filtration frontale sur filtre est un colmatage moindre de la membrane, car les particules s'y accumulent moins, ce qui induit une meilleure qualité du filtrat.

Deux paramètres caractérisent une membrane d'ultra-filtration:

- **la perméabilité** : c'est le débit d'ultrafiltrat qui est fourni par 1 m² de membrane.
- **le seuil de coupure (cut-off)** qui indique la taille à partir de laquelle les molécules seront entièrement retenues.

Le seuil de coupure est une masse moléculaire (ex: seuil = 15 000, signifie que toutes les molécules dont la masse moléculaire est supérieur à 15 000 seront retenues à 100%).

- Un des grands avantages de l'ultrafiltration sur la dialyse est qu'elle permet d'éliminer une plus grande proportion de petites molécules contaminantes.

Dans la dialyse, les petites molécules viennent en équilibre de part et d'autre de la membrane. Donc leur concentration finale dans l'échantillon dépend de leur concentration initiale, ce n'est pas le cas de l'ultrafiltration. La concentration finale des petites molécules contaminantes est très faible et pratiquement indépendante de leur concentration initiale

De plus l'ultrafiltration ne cause pas de dilution de la solution à filtrer et est beaucoup plus rapide.

3. Microconcentration

C'est une variante de l'ultrafiltration adaptée à de petits volumes (2mL par exemple) où la force nécessaire pour faire passer le liquide à travers la membrane est obtenue par centrifugation.

La microconcentration peut servir à concentrer des macromolécules après une étape de purification.

4. Applications de l'ultrafiltration

- D'une manière générale, l'ultra-filtration est d'avantage utilisée pour séparer les fluides que pour les concentrer (osmose inverse ou nanofiltration).
- Son champ d'application principal est la récupération de produits :
 - Purification des eaux résiduaires contenant des corps gras (huile, graisse...) avant rejet à l'égout,
 - Épuration des liquides alimentaires contenant des micro-organismes (pasteurisation de la bière et des jus de fruits),
 - Séparation eau/sucres, alcools, matières organiques dissoutes,
 - Production de concentrés protéïques à partir du lait et du petit lait,
 - Récupération de particules métalliques,
 - Traitement des émulsions d'huile dans l'eau,
 - Récupération de peinture, teinture, apprêt.

5. Sélectivité d'une membrane d'ultrafiltration

La sélectivité d'une membrane d'ultrafiltration est définie par le taux de rétention (R) de l'espèce que la membrane est censée retenir. Elle est déterminée par la relation suivante :

$$R_{\text{observé}} = 1 - \frac{C_p}{C_r}$$

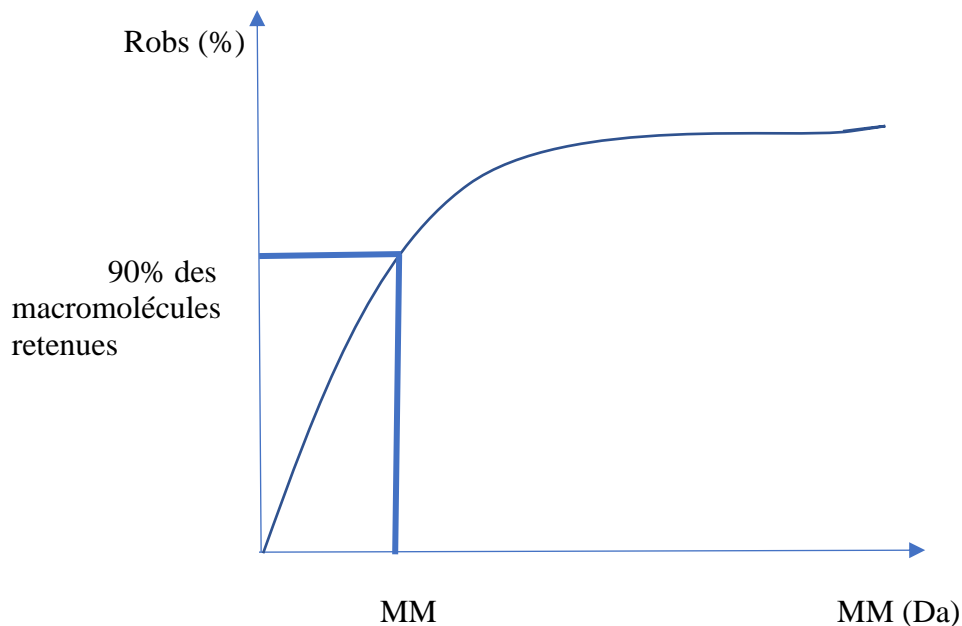
Où

C_p : Concentration de l'espèce dans le perméat

C_r : Concentration de l'espèce dans le retentat

Afin de déterminer le seuil de coupure d'une membrane, on utilise plusieurs molécules standards, on calcule le taux de rétention et on trace une courbe d'étalonnage : taux de rétention en fonction de la masse moléculaire prise à 90% de macromolécules retenues.

Ainsi, il suffit de tracer Robs (%) en fonction de la masse moléculaire des molécules standards et le seuil est obtenu par extrapolation.



IV. Microfiltration

On utilise des membranes avec des pores de tailles comprises entre 0,1 et 10 μ m. Les membranes de microfiltration éliminent toutes les bactéries. Une partie de la contamination virale est retenue par ce procédé.

Comme exemples d'applications de la microfiltration

- Stérilisation à froid des boissons et des produits pharmaceutiques
- Clarification des jus de fruit, vins et bières
- Traitement des eaux usées et effluents
- Séparation des émulsions huile/eau
- Prétraitement de l'eau pour une nanofiltration ou d'une étape d'osmose inverse.

V. Nanofiltration

C'est une technique qui est utilisée dans les procédés de purification d'eau, tels que l'adoucissement, la décoloration et l'élimination de micropolluants.

Cette technique retient les sels bivalents et les molécules de l'ordre de 0,01 μ m et nécessite une pression de 10 à 25 bars.

Comme applications :

- Elimination des pesticides des eaux souterraines
- Elimination des métaux lourds des eaux usées.

VI. Osmose inverse

L'osmose inverse est un procédé de séparation en phase liquide par perméation à travers des membranes semi sélectives sous l'effet d'un gradient de pression. C'est le transfert de solvant à travers une membrane sous l'effet d'un gradient de concentration

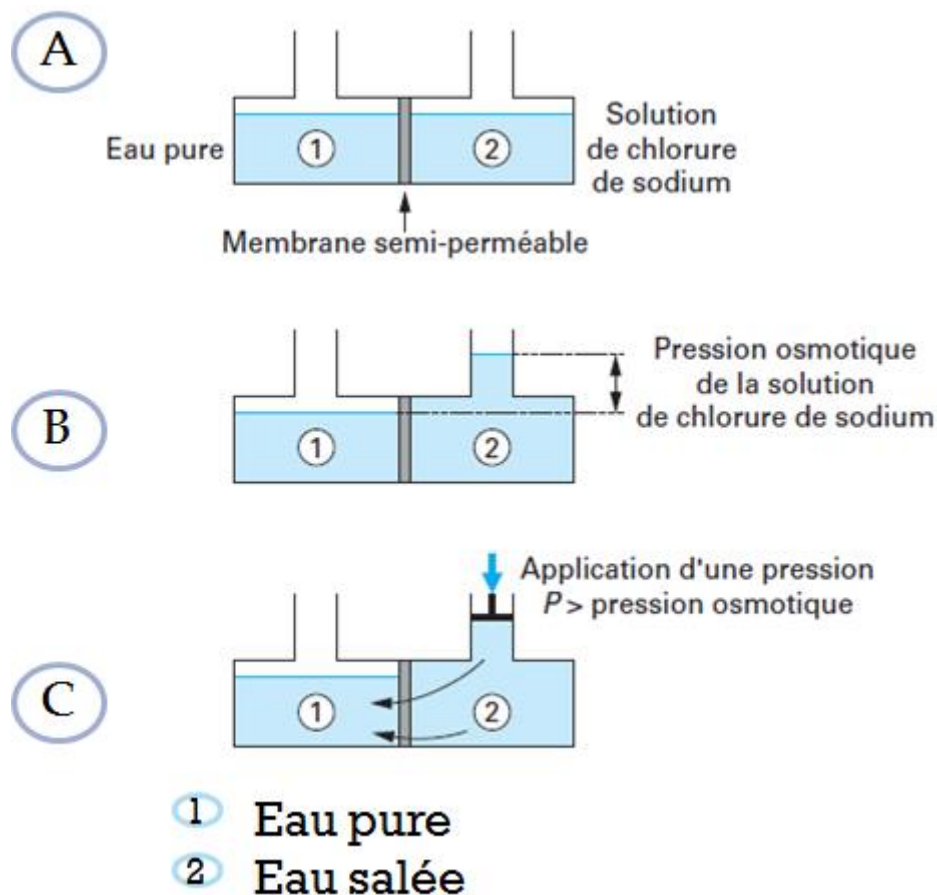
L'osmose se traduit par un flux d'eau dirigé de la solution diluée vers la solution concentrée.

L'écoulement s'effectue tangentiuellement à la membrane

La solution à traiter se divise au niveau de la membrane en deux parties de concentrations différentes.

Une partie passe à travers la membrane : c'est **le perméat**

Une partie retenue qui contient les molécules retenues par la membrane : c'est **le retentat**



A: Le niveau est identique dans les deux compartiments: L'eau circule de 1 vers 2

B: A l'équilibre, une différence de niveau s'établit, c'est la pression osmotique π .

C: Lorsqu'on applique une pression $P > \pi$, l'eau circule en sens inverse, c'est-à-dire de 2 vers 1 et les sels restent bloqués dans le compartiment 2.

Π = différence de pression de part et d'autre de la membrane

Une membrane semi-sélective ou semi-perméable est une membrane imperméable aux corps dissous (ionique ou non) et perméable au solvant.

