

## CENTRIFUGATION ET ULTRACENTRIFUGATION

### SÉDIMENTATION

#### 1. Définition :

C'est le mouvement des particules, suspendues dans un milieu liquide, sous l'effet du champ de gravitation selon leurs densités.

#### 2. Principe :

Physiquement, les particules subissent l'action de deux forces de sens opposés :

- Une force dirigée vers le fond du tube due à la pesanteur. Elle répond à la formule suivante :

$$F_g = m\gamma = m\omega^2 R$$

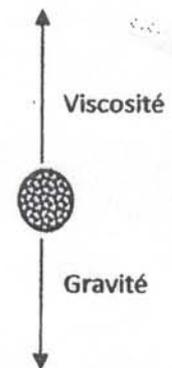
Où :

$m$  : masse de la particule

$\gamma$  : accélération due à la pesanteur =  $1g$

$\omega$  : accélération angulaire

$R$  : rayon de gravitation



- La seconde force qui s'y oppose est due à la viscosité du milieu. Elle est donnée par la formule de Stokes :

$$F_f = f v = 6\pi\eta r v$$

Où :

$f$  : coefficient de friction

$r$  : rayon de la particule

$\eta$  : viscosité du milieu

$v$  : vitesse de sédimentation (de migration)

Il est souvent plus utile d'accélérer le phénomène de sédimentation en modifiant la valeur de ( $\gamma$ ). Ceci est obtenu en utilisant la force centrifuge dans des appareils dits centrifugeuses.

## CENTRIFUGATION

La centrifugation est un procédé de séparation des composés d'un mélange en fonction de leur différence de densité en les soumettant à une force centrifuge. Le mélange à séparer peut être constitué soit de deux phases liquides, soit de particules solides en suspension dans un fluide. L'appareil utilisé est une machine tournante à grande vitesse appelée centrifugeuse.

### Principe :

Si on laisse reposer une suspension solide dans une phase liquide, on observe que les particules, sous l'action de la pesanteur et de la poussée d'Archimède, tendent à tomber vers le fond ou à remonter vers la surface selon leur densité et leur taille. Ce procédé, la décantation, est cependant relativement lent pour les très fines particules (sensibles à l'agitation thermique) et les liquides particulièrement visqueux.

Pour rendre possible la séparation, il faut travailler avec de très grandes accélérations. Ceci est possible avec des centrifugeuses ou ultracentrifugeuses.

### Vitesse de sédimentation :

Les particules différant par la densité et la taille peuvent être séparées selon leur propre vitesse de sédimentation. Cette dernière est donnée par la formule suivante :

$$v = \frac{2 r^2 (\rho_p - \rho_s) \omega^2 d}{9 \eta}$$

v : vitesse de sédimentation

r : rayon de la particule

$\rho_p$  : masse volumique de la particule

$\rho_s$  : masse volumique du solvant

$\omega$  : accélération

d : distance radiale entre l'axe de rotation et la particule

$\eta$  : viscosité du milieu

## Appareillage :

Il existe deux types de centrifugeuses :

### 5.1. Centrifugeuses horizontales :

Dans ce cas lorsque l'appareil est mis en marche, les pots de centrifugation se placent à l'horizontale formant un angle de  $90^\circ$  avec l'axe de rotation ; d'où le nom de centrifugation horizontale ou à pots basculants.

### 5.2. Centrifugeuses obliques :

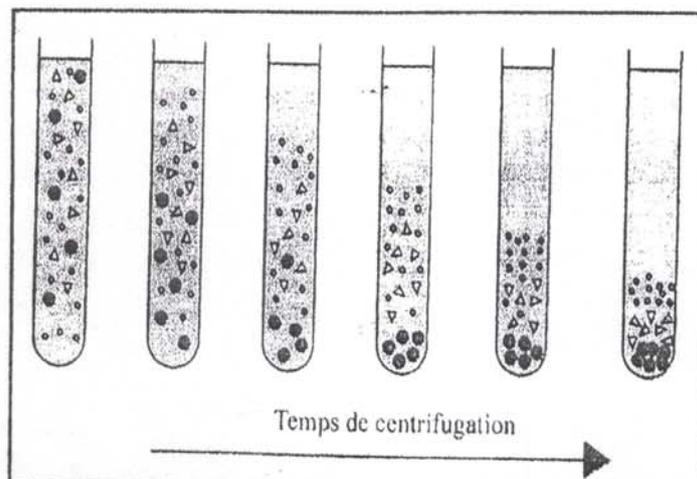
Dans ce cas, les tubes à centrifuger logent dans un rotor circulaire dit « couronne » à une position formant un angle de  $45^\circ$  par rapport à l'axe de rotation ; d'où le nom de centrifugation angulaire.

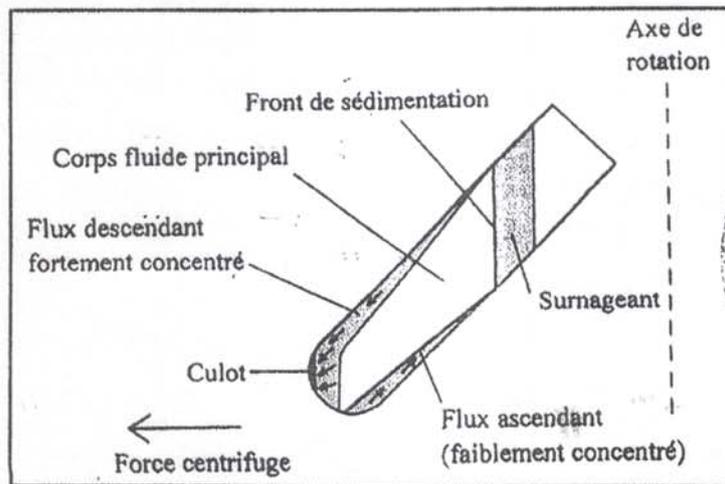
## 6. Les différents types de centrifugation :

### 6.1. Centrifugation différentielle :

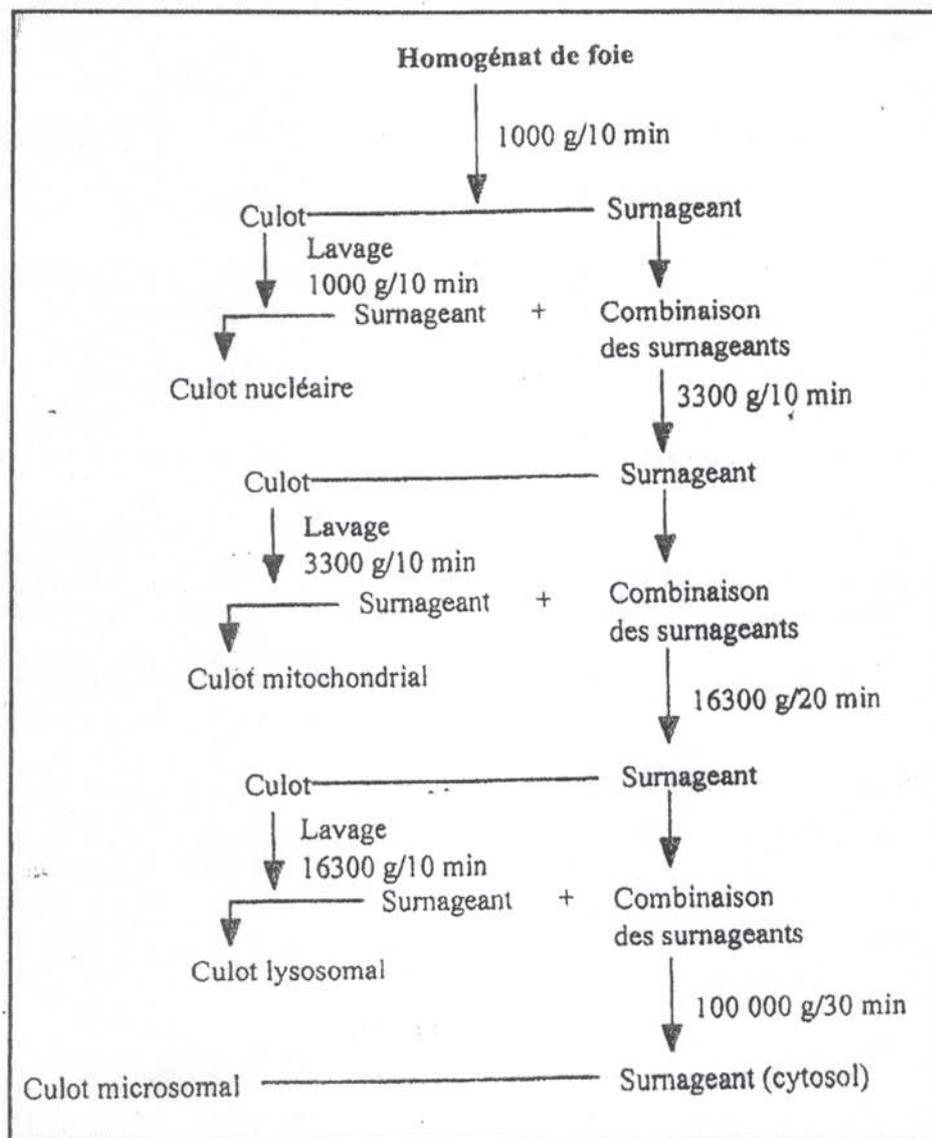
- Cette méthode est basée sur les différences de vitesses de sédimentation des particules de tailles et de densités variables.
- On utilise très fréquemment des rotors à angle fixe caractérisés par une inclinaison des tubes ( $14^\circ$  à  $40^\circ$ ).
- Le tube de centrifugation est initialement rempli d'un mélange homogène de la solution à centrifuger (homogénat).
- On obtient habituellement deux fractions :
  1. Un culot contenant les particules sédimentées,
  2. Un surnageant où se trouvent les particules les plus légères.

Les deux fractions sont récupérées par simple décantation du surnageant.



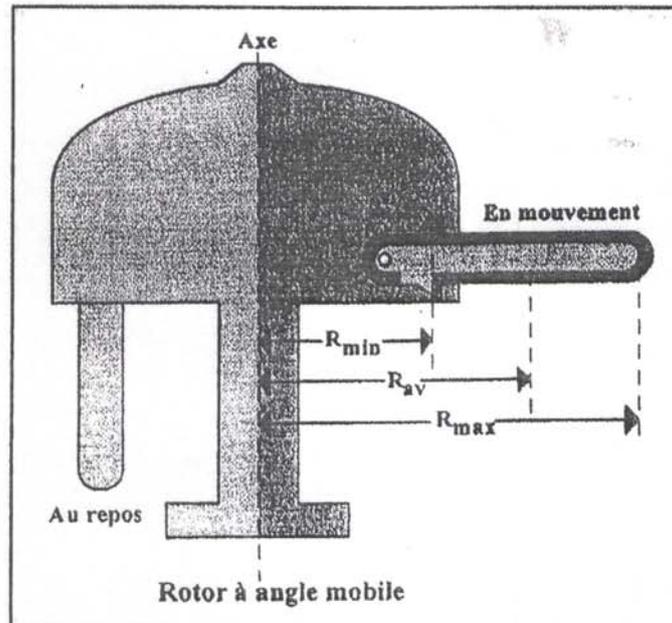


*Exemple de centrifugation différentielle :*



## 6.2. Centrifugation en gradient de densité :

- C'est une technique basée aussi sur les différences de vitesse de sédimentation dues à la taille et à la densité des particules. Ces dernières sédimentent dans un milieu de densité variable appelé gradient.
- Il est préférable d'utiliser des rotors à angle mobile qui améliorent la séparation.
- Les particules sédimentent sous forme de bandes ou zones.



Il existe deux types de gradient :

1. *Gradient discontinu*: formé de plusieurs couches successives de milieux de densité différentes.
2. *Gradient continu*: nécessite un appareillage spécifique (gradient auto-formé).

Il existe deux techniques de centrifugation en gradient de densité :

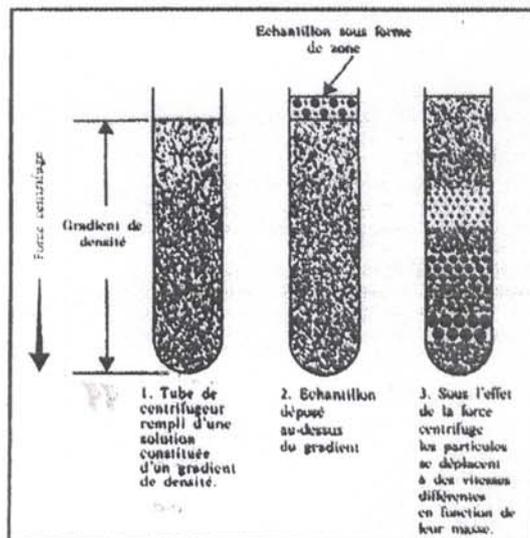
1. Centrifugation de zone (zonale ou isocinétique).
2. Centrifugation isopycnique.

### 6.2.1. Centrifugation isocinétique :

Les particules sont séparées suivant leurs coefficients de sédimentation (S).

Cette technique consiste à déposer l'échantillon dans un tube contenant un gradient de densité (polymère de saccharose :  $\rho = 1$  à  $1,3\text{g/cm}^3$ ).

Sous l'effet de la force centrifuge, les particules d'une même vitesse de sédimentation se regroupent en zones séparées.



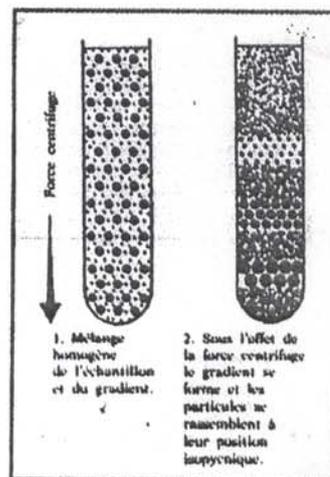
### 6.2.2. Centrifugation isopycnique :

Elle consiste à utiliser un gradient de densité recouvrant les densités des différentes particules.

Au bout d'un certain temps de centrifugation, celles-ci se rassemblent à un point où leur densité est égale à celle du milieu de sédimentation ( $\rho_p = \rho_s$  donc :  $v = 0$ ) c'est la *position isopycnique*.

Les particules sédimentées se répartissent en bandes fines.

Le soluté le plus utilisé dans cette technique est le chlorure de caesium ou de rubidium.



## ULTRACENTRIFUGATION

C'est une technique de séparation réalisée à des vitesses très élevées (70000tour/min et plus) obtenues par des accélérations de l'ordre de 100000g et plus dans des appareils dits ultracentrifugeuses.

### Appareillage :

Les ultracentrifugeuses diffèrent des centrifugeuses réfrigérées classiques par :

- La puissance du moteur d'entraînement.
- L'établissement d'un vide très poussé dans la chambre de rotation afin d'éviter l'échauffement du rotor par frottement dans l'air.

---

### Applications :

Dans cette technique, la migration des particules est suivie par un système optique permettant de déterminer la concentration, le poids moléculaire et le rayon de la particule.

## APPLICATIONS

Selon leur utilisation, les techniques de centrifugation forment deux groupes distincts :

### 1. Centrifugation préparative :

Elle concerne :

- ✓ La séparation.
- ✓ L'isolement.
- ✓ La purification de cellules, d'organites cellulaires, d'acides nucléiques, de protéines, de lipides et de polysaccharides.

### 2. Centrifugation analytique :

Elle est destinée à l'étude des macromolécules pures ou virtuellement pures. Elle fournit des informations sur la pureté, le poids moléculaire, la forme de la macromolécule voir même sa concentration.