

## Chapitre I : Méthodes de séparation

### 4) Centrifugation

#### 1.) Définition

La centrifugation est une technique qui permet la séparation des composés d'un mélange en fonction de leur densité sous l'action d'une force centrifuge. Elle permet de récupérer un précipité (culot) et un surnageant. Le mélange à séparer peut-être constituer de deux phases Liquides ou de particules solides en suspension dans un liquide. La centrifugation utilise des vitesses de rotation grandes (allant de 6 à 10000 tours par minute). Figure.1

#### 2.) Principe

Le principe de fonctionnement des centrifugeuses est basé sur la force centrifuge qui facilite la séparation de différents composants du mélange en fonction de leurs caractéristiques de sédimentation. La force appliquée sur les particules dépend de la vitesse de rotation et du rayon du rotor de la centrifugeuse (figure2).

Ainsi, la force centrifuge fait migrer des composants plus denses et plus gros vers l'extérieur depuis l'axe de rotation. En centrifugation, il est important de différencier la vitesse de centrifugation (Révolutions Par Minute, RPM) et la force centrifuge relative (g ou RCF, Relative Centrifugal Field) car celles-ci sont souvent confondues. (figure 3).

#### 3) Paramètres de centrifugation (aspect théorique)

On considère une particule de masse  $m$  assimilée à une sphère de rayon  $r$ , dispersée dans un liquide de coefficient de viscosité  $\eta$ . En négligeant un certain nombre de force secondaire, trois forces s'appliquent à la particule (Figure 3):

- Le poids  $P = mg$  ( $m$  : masse de la particule)
- La poussée d'Archimède  $A = m'g$  ( $m'$  : masse de liquide déplacé)
- La force de frottement  $f$  dont l'expression est donnée par la loi de Stocks :

$$f = 6\pi\eta r v \quad (v \text{ est la vitesse de sédimentation})$$



Figure 3 : Bilan des forces

#### 3.1) Vitesse de rotation ( $\omega$ )

Quand la centrifugeuse atteint la vitesse de centrifugation désirée, l'échantillon est soumis à un mouvement circulaire uniforme. La vitesse de rotation ou vitesse angulaire ( $\dot{A}$ , exprimé en rad.sec-1)

$$\omega = 2\pi \text{ rpm}/60$$

## Chapitre I : Méthodes de séparation

### 4) Centrifugation

#### 3.2) Accélération centrifuge

Ou champ centrifuge, généré par le mouvement circulaire uniforme, est dirigé radialement vers l'extérieure et dépend de la vitesse angulaire  $\omega$  et de distance (r en cm) de l'axe de rotation, selon l'équation :

$$F = \omega^2 r \text{ ou } F = (2\pi \text{ rpm}/60)^2 \cdot r$$

#### Expression de l'accélération centrifuge en nombre de g (Ng)

Dans le langage courant utilisé au laboratoire, on dit que l'on centrifuge « à 600 g ou à 5000 g » il faut donc savoir calculer Ng à partir des paramètres qui- en dépendent :

n, la vitesse de rotation exprimée en tours par minute ; X, le rayon de centrifugation moyen exprimé par la distance séparant l'axe du rotor et le fond du tube de centrifugation :

$$F(m \cdot s^{-1}) = \omega^2 (rad \cdot s^{-1}) \cdot X (r) (m).$$

Il faut exprimer  $\omega^2 (rad \cdot s^{-1})$  en fonction de n (tours.min<sup>-1</sup>) :  $\omega^2 (rad \cdot s^{-1}) = 2\pi (tours \cdot min^{-1})/60$

$$F = (2\pi n/60)^2 \cdot X$$

Pour l'exprimer en nombre de g , il suffit de diviser par la valeur de  $g = 9,81 \cdot m \cdot s^{-2}$ ,

$$Ng = (2\pi n)^2 \cdot X / (60)^2 \cdot 9.81$$

#### 3.3) Force centrifuge

Considérons une particule de masse **m** tourne autour d'un axe passant par **O** (Figure. 4) à la distance **x** de celui-ci. Cette particule est soumise à une force d'inertie centrifuge qui tend à l'éloigner de l'axe de rotation. On montre que cette force est proportionnelle au carré de la vitesse angulaire de rotation  $\omega$  et sa distance de l'axe de rotation, x. Son expression est

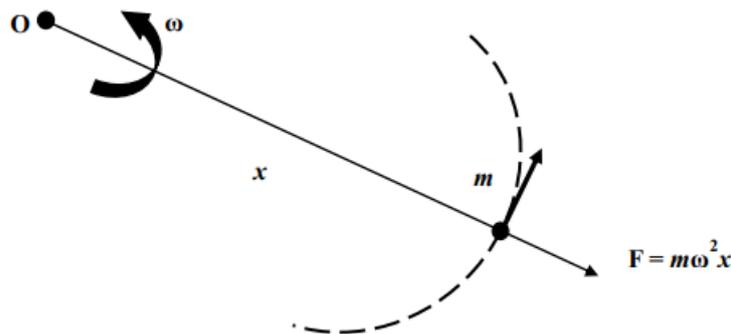


Figure4. Force centrifuge

- Tous se passe comme si on avait remplacé l'accélération de la pesanteur g par une accélération  $\gamma = \omega^2 \cdot x$  qui représente l'accélération centrifuge. Donc

$$F_c = m \cdot \gamma \text{ ou } F_c = m \cdot \omega^2 \cdot x \text{ donc } F_c = m \cdot \omega^2 \cdot x$$

Tel que f : accélération centrifuge  $\omega$  : vitesse angulaire de rotation (radian/seconde) x : la distance séparant l'axe du rotor de la particule (cm)

#### 3.4) Force centrifuge relative (RCF)

## Chapitre I : Méthodes de séparation

### 4) Centrifugation

La force appliquée aux particules (par comparaison à la gravité) s'appelle la force centrifuge relative (RCF). (Par exemple, une FCR de 500 x g signifie que la force centrifuge appliquée est 500 fois plus importante que la force gravitationnelle terrestre).

$RCF = FC / Fg = \text{Force centrifuge} / \text{Force de gravité} = m \cdot \omega^2 \cdot x / m \cdot g = 1,119 \cdot 10^{-5} \cdot (\text{rpm})^2 \cdot x$   
 Ainsi lorsque  $g = 9,80 \text{ m/s}^2 = 980 \text{ (cm/s}^2)$

$$= \frac{\left(\frac{2\pi}{60}\right)^2}{9,80665} \times N^2 \times r$$

$$\approx 11,18 \times 10^{-6} \times N^2 (\text{tr/min}) \times r (\text{cm})$$

r : Rayon de rotation du rotor (en cm)

N : Rotations par minute (rpm) exprime la vitesse de rotation

**Lors de la centrifugation :**

- le poids dans la nature est remplacé par la force centrifuge  $F_c = m \cdot \omega^2 \cdot x$
- la force d'Archimède est remplacée par la force de flottation  $F_b = m \cdot \omega^2 \cdot x$
- La force de frottement f dont l'expression est donnée par la loi de Stocks :  $f = 6\pi\eta r v$  (v est la vitesse de sédimentation).
- la force de frottement est remplacée par la force de friction  $F_f = F \cdot v = 6\pi \cdot r \cdot \eta \cdot v$  tel que F est le coefficient de friction et v la vitesse de centrifugation.

#### 3.5) Vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation d'une particule en solution dépend de : la masse de la particule (volume et densité), de la densité et viscosité de la solution et de la forme de la particule.

La vitesse à laquelle sédimente une particule dépend de la loi de Stokes:

The diagram shows the equation for sedimentation velocity:  $\frac{dr}{dt} = v = \frac{2}{9} \frac{a^2 \cdot (\rho_p - \rho_{sol}) \cdot \omega^2 r}{\eta}$ . Labels with arrows point to each part: 'Vitesse de sédimentation de la particule' points to  $\frac{dr}{dt}$ ; 'Rayon de la particule' points to  $a$ ; 'Densité de la particule' points to  $\rho_p$ ; 'Densité de la solution' points to  $\rho_{sol}$ ; 'Viscosité de la solution' points to  $\eta$ ; 'Champ centrifuge' points to  $\omega^2 r$ ; and 'Constante pour une sphère' points to the fraction  $\frac{2}{9}$ .

Pour qu'une particule sédimente sa densité doit être majeure de la densité de la solution :

$$\rho_p > \rho_{sol}$$

Si la densité de la particule est égale à celle de la solution, alors la vitesse de sédimentation est nulle et la particule ne sédimente pas:

$$\rho_p = \rho_{sol} \rightarrow \rho_p - \rho_{sol} = 0 \rightarrow v = 0$$

**Coefficient de sédimentation**

## Chapitre I : Méthodes de séparation

### 4) Centrifugation

Lors d'une centrifugation, la vitesse de sédimentation d'une particule va être fonction de sa masse, de son volume et de la densité du solvant (ce qui détermine la poussée d'Archimède), de l'accélération à laquelle elle est soumise, mais également aux forces de frottement liées à son déplacement dans la solution, forces qui vont dépendre de la taille et de la forme de la particule.

La vitesse de sédimentation fait donc intervenir de nombreuses variables, c'est pourquoi elle n'est pas calculée mais mesurée expérimentalement.

On mesure donc un coefficient de sédimentation exprimé en Svedberg (S) qui correspond à  $10^{-13}$  s. Plus la valeur est élevée, plus la vitesse de sédimentation est importante. Pratiquement, on mesure la vitesse de déplacement d'un front de migration de la particule étudiée

$$s = v/\omega^2 X$$

v étant exprimé en m. s<sup>-1</sup> ;  $\omega^2 X (= \gamma)$ , m. s<sup>-2</sup>

#### 4.) Types de centrifugation

Il existe deux principaux types de centrifugation.

##### 4.1) Centrifugation différentielle

Dans ce type de centrifugation, le principe est de séparer les différents constituants le plus souvent à l'aide de plusieurs cycles de centrifugation à accélération croissante. En centrifugation différentielle, la séparation s'effectue principalement selon la taille des particules FIGURE 4.

##### 4.2) Centrifugation en gradient de densité

On peut accentuer les méthodes de séparation en faisant la centrifugation dans un gradient de densité. En effet, un des facteurs qui influence la vitesse de sédimentation est la différence entre la densité de la particule et celle du solvant. Il existe deux types de gradients

- **Gradients discontinus**

Constitués d'un empilement de solutions de moins en moins dense. On peut faire des gradients discontinus en juxtaposant une par-dessus l'autre des solutions ayant des différences suffisantes de densités. On obtient ainsi des gradients discontinus. Après ajout des substances les plus denses se déplacent vers la couche supérieure alors que les moins denses inférieure (figure 5)

- **Gradients continus**

Des gradients pour lesquels la variation de densité est continue. le gradient continu est préparé automatiquement (autoformation) au cours de la centrifugation (figure 6)

Il existe deux techniques de centrifugation en gradients de densité

- **Centrifugation de zone (zonale ou isocinétique)**

Cette technique permet la séparation des particules selon leurs coefficients de sédimentation. - Dans ce type de centrifugation, la solution de macromolécules est déposée sous forme de couche en haut d'un gradient de densité préparé auparavant. Pendant la centrifugation, chaque espèce se déplace à travers le gradient à une vitesse largement déterminée par leur coefficient de sédimentation et donc migre comme une zone. Un gradient de densité est créé dans un tube (ex. gradient de sucrose) → L'échantillon est déposé sur un milieu (en haut du tube) → La séparation des constituants se fait selon leurs coefficients de sédimentation (les particules les plus denses se déplacent plus rapidement que les moins denses)

- **Centrifugation isopycnique**

Cette méthode de centrifugation, aussi connue sous le nom de centrifugation, sépare les macromolécules selon leur densité. L'échantillon est dissout dans une solution concentrée d'une

## Chapitre I : Méthodes de séparation

### 4) Centrifugation

substance dense qui diffuse relativement vite comme les sels CsCl et Cs<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, et qui est subie à des hautes vitesses de rotation. Le fort champ centrifuge génère un gradient important de sel dans lequel les composantes de l'échantillon se retrouvent en zone de densités égales à celle de la solution de sel;

#### 5) Centrifugation industrielle

Les centrifugeuses sont utilisées dans beaucoup de domaines : agro-alimentaire, biotechnologie, industrie pharmaceutiques, industries chimiques, pétrolière, traitements des eaux...

On peut avoir 3 objectifs différents :

- Clarifier un liquide trouble (suspension) comme l'épuration des eaux usées ou la clarification des boissons.
- Séparer les phases légères (huile) et lourdes (eau) d'une émulsion. C'est le cas de l'écémage du lait.
- Concentrer ou épaissir la phase solide d'une suspension (même principe que la clarification sauf qu'on récupère la phase solide). C'est le cas de la fabrication de pâte fraîche en fromagerie (carré frais) ou de la levurerie.

##### 5.1) Centrifugeuse clarificatrice

L'objectif est de clarifier un liquide trouble (exemple d'une boisson trouble comme le jus de pommes). Les particules (appelées sédiments ou bourbes ou boues) sont souvent éliminées en continues par ouverture périodique du bol (système hydraulique qui abaisse le fond du bol amovible pendant 1 à 3 sec.) ; on parle d'appareil auto-débourbeur (self-cleaning) figure. 7 a

##### 5.2) Centrifugation séparatrice ou séparateur centrifuge

Le bol est dit clarificateur s'il permet de séparer un solide en suspension dans une phase liquide ; il est dit séparateur s'il permet de séparer deux phases liquides d'une émulsion comme le lait entier qu'on envoi dans une écrémeuse figure7 b .

Dans ce cas présent, la centrifugeuse doit séparer les deux phases liquides (lourdes et légère) d'une émulsion. C'est le cas des écrémeuses en laiterie. L'objectif est d'écémer le lait c'est-à-dire de récupérer la MG (crème) du lait

##### 5.3) Centrifugeuse épaississante (ou concentrateur)

Le produit concerné est toujours une suspension comme dans le premier cas de la centrifugeuse clarificatrice, mais ici la phase noble est le sédiment appelé encore concentrât. Figure7 c

L'objectif est de concentrer la phase solide c.à.d. de l'essorer (éliminer de la phase liquide de la phase solide) ; c'est le cas de l'égouttage du caillé de fromagerie ou de la production de levure.

##### 5.4) Décanteur centrifuge horizontal

Les décanteurs sont des machines centrifuges munies d'une vis dont le bol tourne sur un axe horizontal. Ils sont utilisés principalement pour clarifier (décanteur deux phases) des mélanges à forte teneur en sédiments (jusqu'à 60 %). Des décanteurs trois phases permettent la séparation liquide – liquide solides. Leur nombre de g, plus faible, limite leur emploi à des suspensions qui décantent plus facilement.