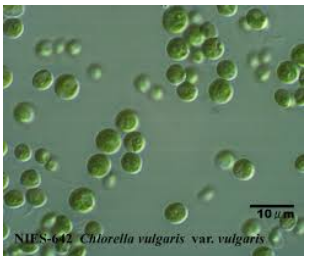
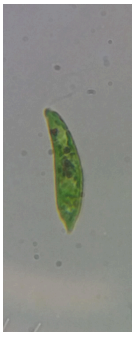
Microalgues et Dépollution



Equipe AST 2018-2019



1. Pistes de travail

2. Problématique

3. Idées de sorties découvertes

4. Recherche documentaire

5. Piste activités pratiques à mener

6. Expériences réalisées
   - 6.1. Observation eau croupie
   - 6.2. Observation des microalgues et vérification aspect microscopique
   - 6.3. Préparation milieu pour la culture des algues
   - 6.4. Centrifugation des algues, séparation surnageant/culot
   - 6.5. Extraction des lipides par hydrodistillation
   - 6.6. Mise en évidence des lipides au rouge soudan III

7. Conclusion et perspectives

1. Pistes de travail

continuer travail dépollution : **dépollution de l'eau polluée ou usée et de l'air**
avec des **microalgues**
valorisation : **production de carburant (huile), méthanisation**

2. Problématique

- des algues lesquelles? noms? où se les procurer?
- comment se nourrissent elles?
- comment suivre la dégradation ? de quels composants de l'eau? du CO2?
- comment suivre l'apparition des produits : huile (acides gras).....

3. Idées de sorties découvertes

visite de :

- la station d'épuration, contacter la comcom? date durée visite….
- la station de méthanisation de St Julien de Piganiol, contacter le paysan voir avec chef cuisto M.Joffre
- production spiruline proche d'albi

4. Recherche documentaire

perle : http://www.pearltrees.com/zague/projet-microalgues/id12812892

audrey :
https://www.google.fr/amp/s/www.techniques-ingenieur.fr/actualite/articles/la-depollution-des-eaux-radioactives-par-les-algues-6294/amp/

pénélope :
https://sti-biotechnologies-pedagogie.web.ac-grenoble.fr/sites/sti-biotechnologies-pedagogie.web.ac-grenoble.fr/files/traam_algues_et_bioremediation_avril_2018.pdf

https://padlet.com/therese_ferlin/nhsquuw3k28

https://www.youtube.com/watch?v=CQ8sOW0hhy4

méthanisation-biogaz
http://www.bretagne.ademe.fr/domaines-dintervention/energies-et-matieres-renouvelables/methanisation-biogaz

cimenterie et algue qui captent CO2 pour faire biocarburant
http://www.faiteslepleindavenir.com/2010/05/03/une-cimenterie-capte-son-co2-pour-faire-du-biocarburant/

https://slideplayer.fr/slide/3683678/

euglène et chlorelles :

https://www.aquaportail.com/definition-1882-euglenes.html

puits de carbone :

http://www.leparisien.fr/environnement/initiatives-environnement/pollution-des-micro-algues-a-la-rescousse-en-plein-paris-06-12-2017-7438671.php

Fermentalg :

https://www.fermentalg.com/fr/

Etude de la croissance de Chlorella vulgaris en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO2, Barbara Clement-Larosière :

https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00697006/document

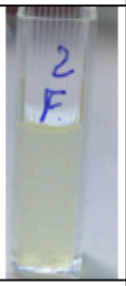
https://bu.univ-ouargla.dz/master/pdf/BAZZINE-KHAOULA-GHETTAS-MANAL.pdf?idmemoire=54507

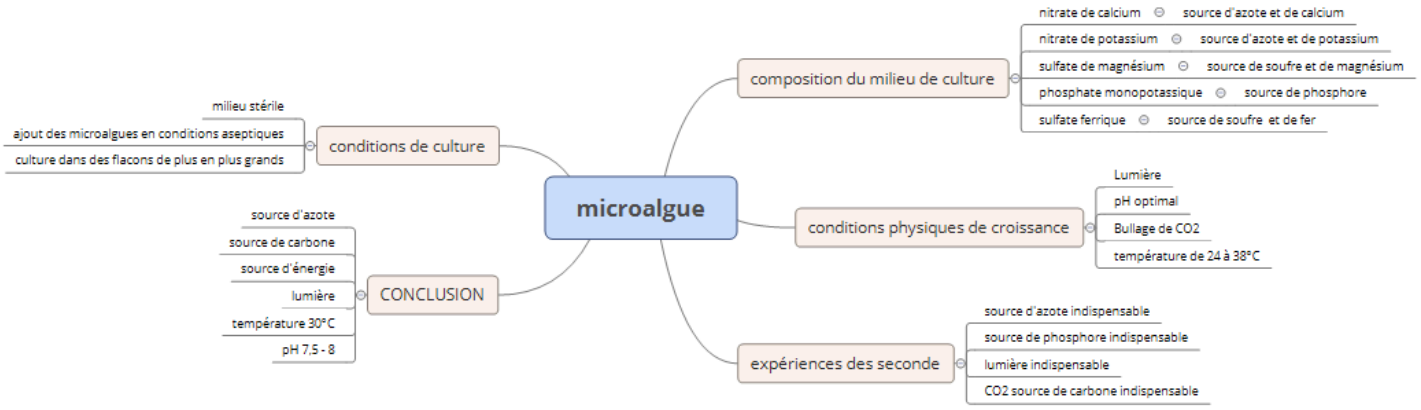
https://youtu.be/BX7DGFqscag

http://urbanalgae.fr/2016/12/production-microalgues/

https://sites.google.com/site/lesalguesunesourcedenergie/les-micro-algues

Culture de *Chlorella* dans différentes conditions de culture

	Milieu KNOP Avec lumière	Milieu KNOPE Sans nitrate	Milieu KNOP Sans phosphate	Milieu KNOP Avec bullage de CO_2	Milieu KNOPE Sans lumière
DO_{860nm} au temps = 0 jour	0,290	0,193	0,2502	0,200	0,120
Aspect au temps 0 jour					
DO_{860nm} au temps = 14 jours	0,930	0,200	1,065	0,980	0,084
Aspect après 14 jours de croissance					



La Chlorella et l'élimination des métaux

https://www.natesis.com/chlorella-metaux-lourds_copie.fr,8,114.cfm

http://www.vitamag.ch/fr/article/la-chlorella-une-arme-efficace-contre-la-pollution

contribution a l'etude de traitement des eaux par l'algue chlorella pyrenoidosa

https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/bitstream/123456789/14285/1/ZIGHMI%20S.pdf

euglène :

https://www.bioutils.ch/ckeditor_assets/attachments/437/euglena_gracilis.pdf

adèle :

biocarburant à partir de microalgues
http://www.ifpenergiesnouvelles.fr/Espace-Decouverte/Tous-les-Zooms/Des-biocarburants-a-partir-de-microalgues

file:///C:/Users/stephanie%20mas/Downloads/Panorama2011_06-VF_Nouvelles-technos-Biocarburants.pdf

aurélie :

https://www.coriolis.polytechnique.fr/Confs/Bernard_conf.pdf

Contenu en lipides de diverses espèces (Chisti, 2007)

Oil content of some microalgae

Microalga	Oil content (% dry wt)
Botryococcus braunii	25–75
Chlorella sp.	28–32
Crypthecodinium cohnii	20
Cylindrotheca sp.	16–37
Dunaliella primolecta	23
Isochrysis sp.	25–33
Monallanthus salina	>20
Nannochloris sp.	20–35
Nannochloropsis sp.	31–68
Neochloris oleoabundans	35–54
Nitzschia sp.	45–47
Phaeodactylum tricornutum	20–30
Schizochytrium sp.	50–77
Tetraselmis sueica	15–23

microalgues et carburant :

https://www.consoglobe.com/micro-algues-nouveau-carburant-2763-cg

esprit critique :

https://fr.wikipedia.org/wiki/Algocarburant

https://www.techniques-ingenieur.fr/actualite/articles/algocarburants-bilan-agrocarburants-53532/

https://positivr.fr/micro-algues-bio-carburant-avions-petrole/

dosage huile dans les microalgues

Eco-Extraction et Analyse de lipides de micro-algues pour ... - Theses.fr

https://www.theses.fr/2013AVIG0251.pdf

1. de C Dejoye - 2013 - Cité 1 fois - Autres articles

file:///P:/T%C3%A9l%C3%A9chargements/these_dejoye.pdf

La production de micro-algues

http://tpemicroalgue.e-monsite.com/pages/i-la-production-de-micro-algues.html

La transformation en biocarburant

http://tpemicroalgue.e-monsite.com/pages/la-transformation-en-biocarburant.html

https://www.mio.univ-amu.fr/IMG/pdf/20131022_02_presa_CEA.pdf

http://algocarburant-projet-tpe.e-monsite.com/pages/extraction-des-lipides.html

II) Nos expériences :

Protocole : L'hydrodistillation d'une pâte d'algue.

On mélange 100g de pâte de spiruline à 250mL d'eau. On met ce mélange dans un ballon que l'on place au dessus d'un chauffe ballon et on commence l'hydrodistillation (voir notre montage sur la photo ci-contre). On attend que la solution soit presque totalement distillée puis on récupère le distillat et on regarde s'il contient ou non des lipides. Pour révéler les lipides on utilise du Rouge de Soudan III de formule $C_{22}H_{16}N_4O$ et on observe la réaction. Si la couleur rouge apparaît, il y a présence de lipides sinon il n'y a pas de lipides.

http://algocarburant-projet-tpe.e-monsite.com/album-photos/la-transestherification/

5. Piste activités pratiques à mener

- observation algues au microscope
- culture d'algues : paramètres? milieu et conditions de culture
- maquette

27-30°C

22/12/2018 :

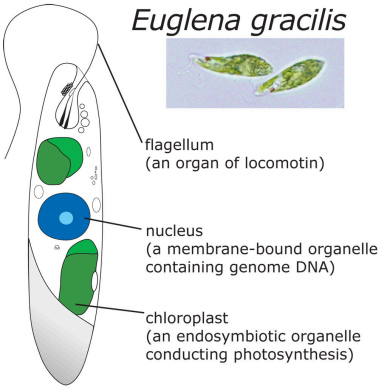
le lycée de Foch va nous fournir les Euglènes et Chlorelles pour mener nos expériences

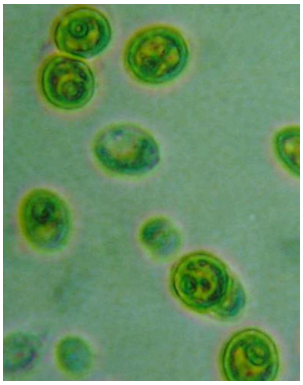
? composition milieu de culture
? observations microscopiques

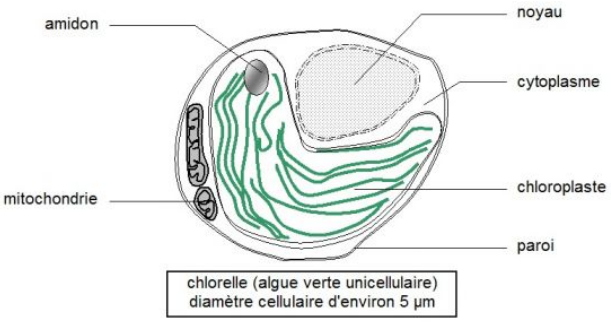
informations données par Eric poupin technicien au laboratoire de SVT lycée Foch :
eric.poupin@ac-toulouse.fr

- euglènes : algue flagellée, photosynthèse +. milieu synthétique pour les concentrer
  conso grosses molécules organiques en 8 jours production encre pour étudier la photosynthèse

- chlorelles : non flagellée, lumière plus forte pour les concentrer
  culture en milieu synthétique (autre : engrais pour tomates en poudre)







operon 19 et 25.pdf

lien vers : au coeur de la station : écosystème microbien

http://decouverte.entmip.fr/projets-et-cultures/projet-impact-activite-humaine-sur-la-nature/modes-de-depollution-station-epuration-des-eaux-usees-18427.htm

Composition des milieux de culture à votre disposition
pour la culture des microalgues

Liquide de Knop complet

- 1,00 g de nitrate de calcium
- 0,25 g de nitrate de potassium
- 0,25 g de sulfate de magnésium
- 0,25 g de phosphate monopotassique (dihydrogénophosphate de potassium)
- 1,00 mg (traces) de sulfate ferrique (sulfate de fer(III))
- q.s.p. 1000 mL d'eau distillée

Liquide de Knop sans phosphore

- 1,00 g de nitrate de calcium
- 0,50 g de nitrate de potassium
- 0,25 g de sulfate de magnésium
- 1,00 mg (traces) de sulfate ferrique
- q.s.p. 1000 mL d'eau distillée

Liquide de Knop sans azote

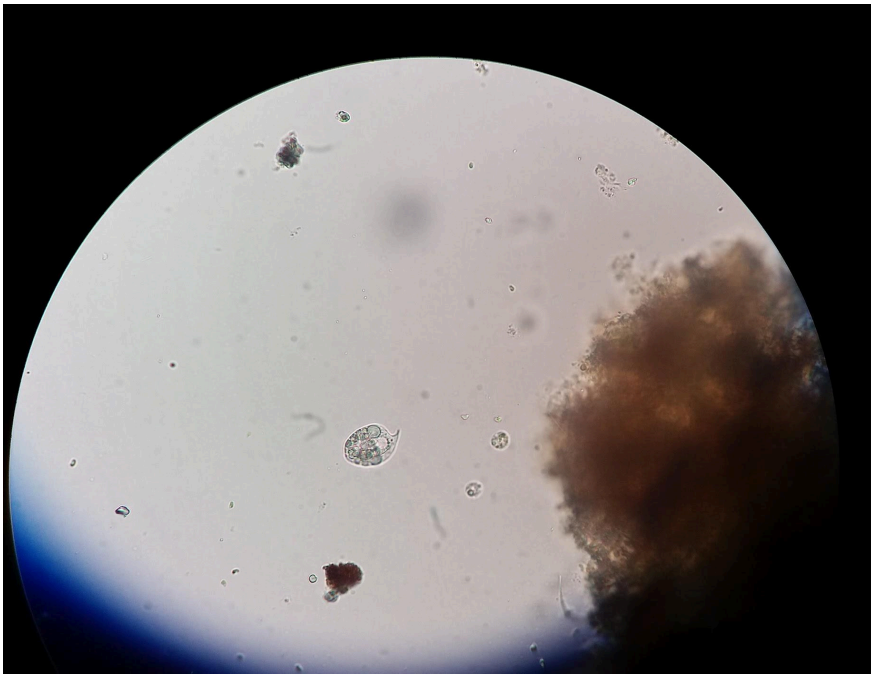
- 1,00 g de chlorure de calcium
- 0,25 g de phosphate mono potassique
- 0,50 g de chlorure de potassium
- 0,25 g de sulfate de magnésium
- 1,00 mg (traces) de sulfate ferrique
- q.s.p. 1000 mL d'eau distillée

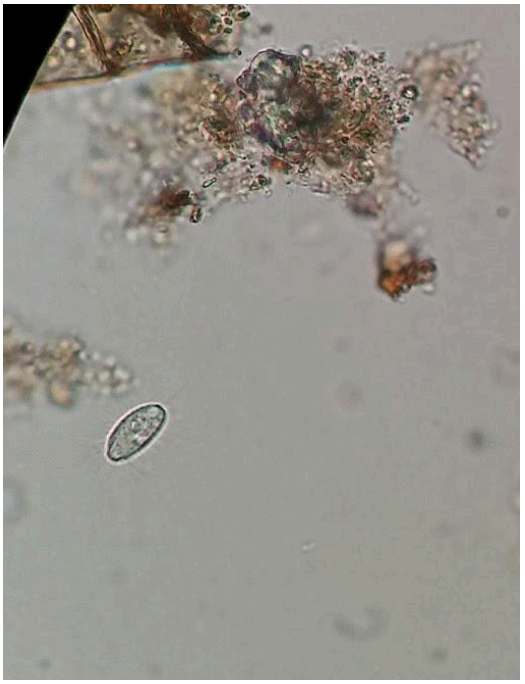
https://padlet.com/therese_ferlin/zigv1gleiwko

entretien des microalgues :
http://www4.ac-nancy-metz.fr/svt/enseign/svt/labo/Microorg.htm
http://pedagogie.ac-limoges.fr/svt/IMG/pdf/doc-328.pdf

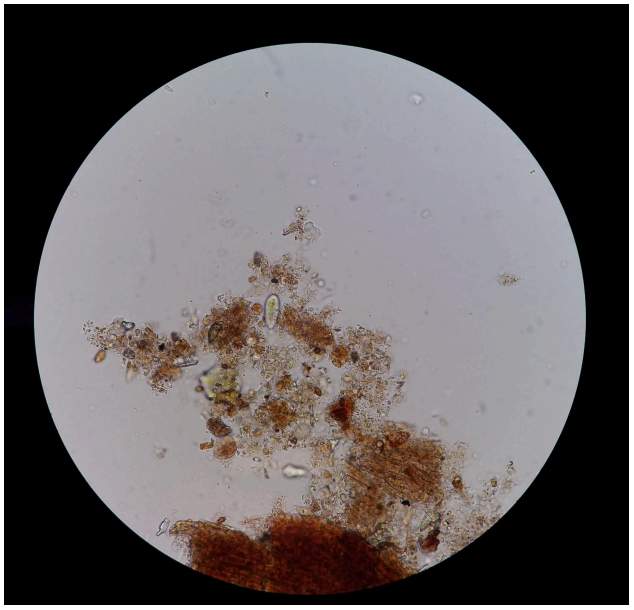
6. Expériences réalisées

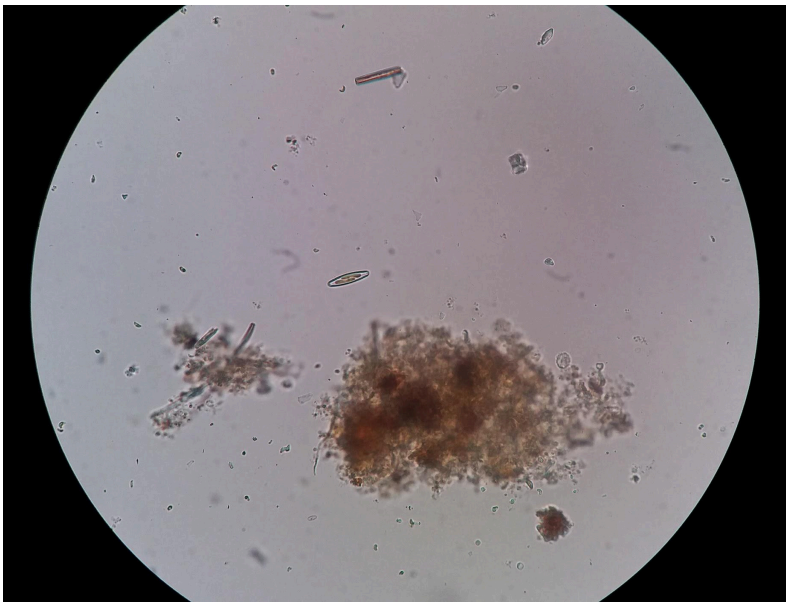
6.1. Observation eau croupie





En attendant de recevoir les algues et lancer nos expériences, nous avons observé de l'eau croupie au microscope afin de déterminer si il y avait oui ou non, présence d'algues dans cette dernière. Nous avons pu prendre en photo des cellules flagellées mais nous n'avons pas pu les identifiées.

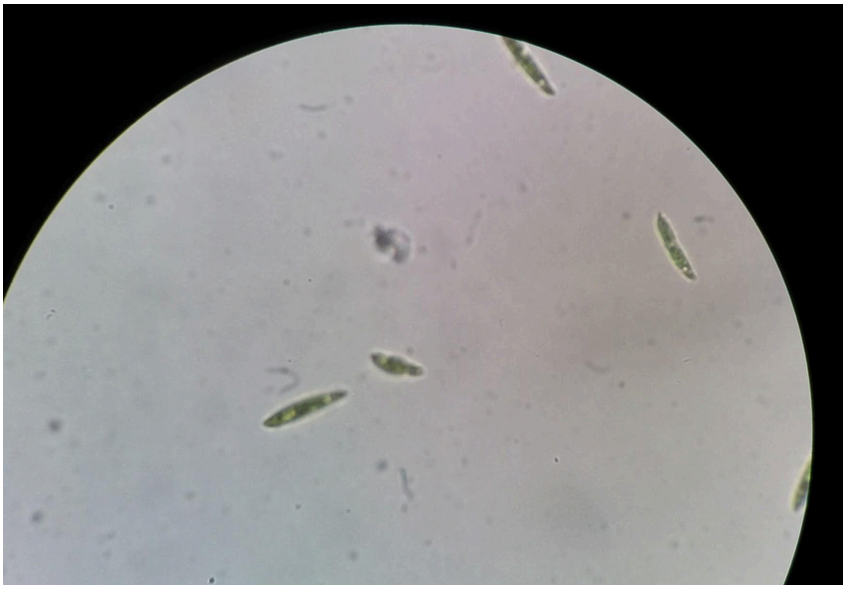


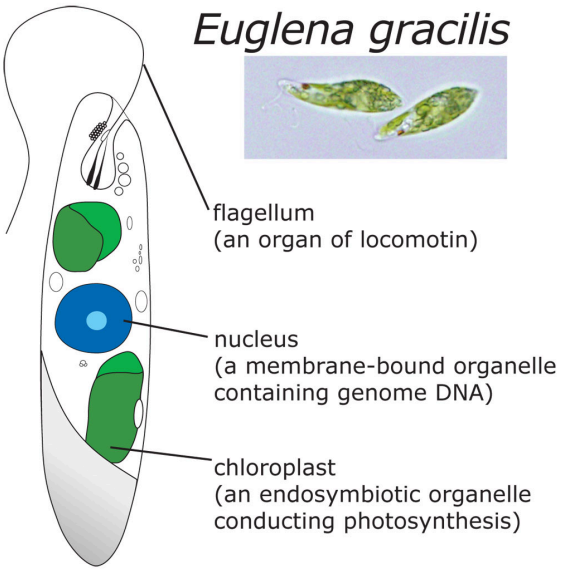


Tout à fait au centre de la photo à votre droite la cellule ressemble à une microalgue de type Euglène à confirmer lors des observations des cultures d'algues.

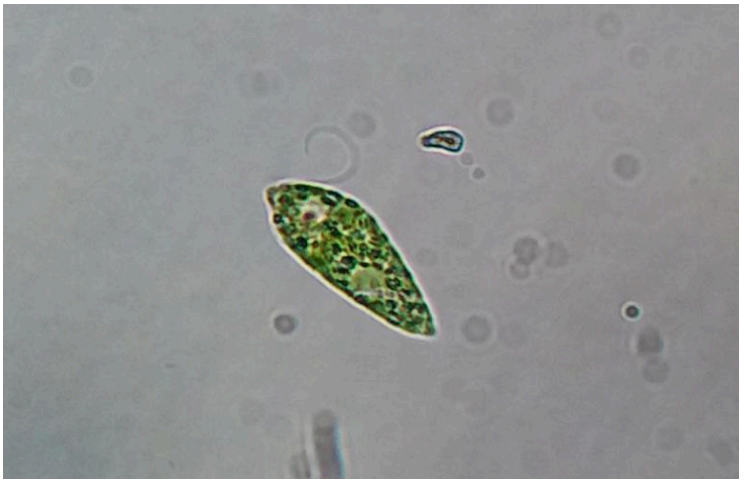
6.2. Observation des microalgues et vérification aspect microscopique

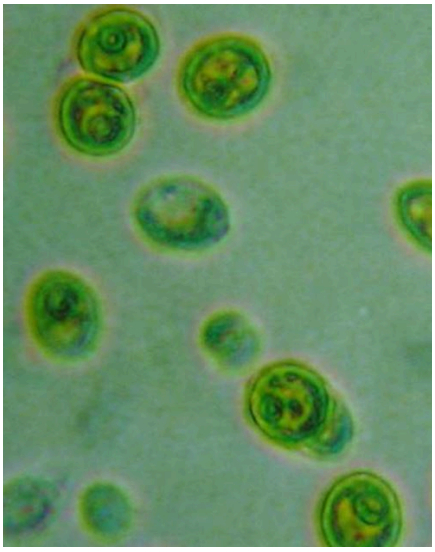
Nous avons ensuite observé des chlorelles et des euglènes au microscope afin de pouvoir comparer leur forme à celle des cellules trouvées dans l'eau croupie. Il semblerait que ce ne soit pas les mêmes car les cellules dernièrement observées sont vertes et plus allongées. Après vérification sur internet, il s'agissait bien de euglènes et chlorelles, différentes de celles de l'eau croupie.



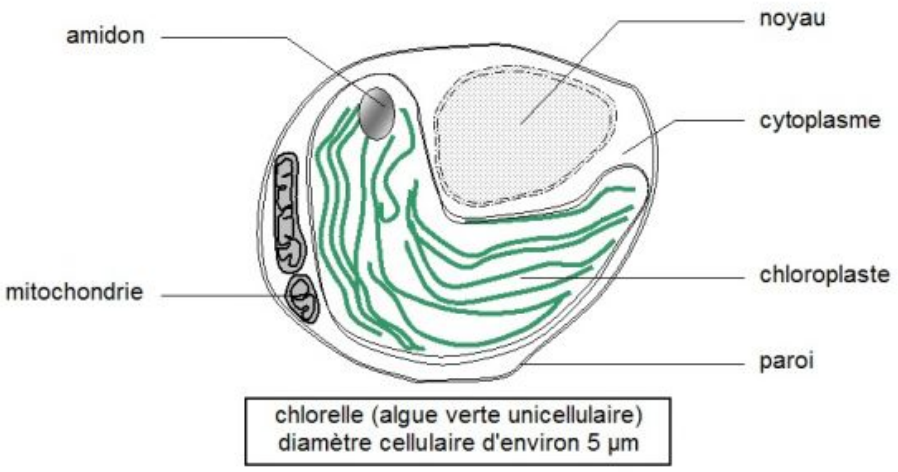


euglènes : algue flagellée, photosynthèse +.





chlorelles : non flagellée



Contenu en lipides de diverses espèces (Chisti, 2007)

Oil content of some microalgae

Microalga	Oil content (% dry wt)
Botryococcus braunii	25–75
Chlorella sp.	28–32
Crypthecodinium cohnii	20
Cylindrotheca sp.	16–37
Dunaliella primolecta	23
Isochrysis sp.	25–33
Monallanthus salina	>20
Nannochloris sp.	20–35
Nannochloropsis sp.	31–68
Neochloris oleoabundans	35–54
Nitzschia sp.	45–47
Phaeodactylum tricornutum	20–30
Schizochytrium sp.	50–77
Tetraselmis sueica	15–23

Avec 28 à 32% de contenu en huile les Chlorelles sont des candidates intéressantes pour la production d'algocarburant huile. Nous n'avons pas de données pour les Euglènes, elles nous serviront pour comparer les résultats.

6.3. Préparation milieu pour la culture des algues

- **Composition milieu pour la culture des Chorelles**

Annexe I : Milieu Bristol 3N modifié (Bischoff and Bold, 1963)

Ce milieu comprend trois solutions A, B et microéléments.

Chacune de ces solutions seront préparées séparément et conservées au frais à l'abri de la lumière.

Composition du milieu de Culture :

Solution A :

	Poids/L de milieu	Poids/ 1L de solution A	Poids / 250 mL de solution A	Concentration (mol/L)
$NaNO_3$	0.75 g/l	75 g	18.75 g	0.0088
$CaCl_2$, $2H_2O$	25 mg/l	2.5 g	625 mg	1.93^{E}-4
$MgSO_4$, $7H_2O$	75 mg/l	7.5 g	1.875 g	3.045^{E}-4
FeEDTA	20 mg/l	2.0 g	500 mg	5.75^{E}-5

Solution B :

	Poids/L de milieu	Poids/ 1L de solution B	Poids / 250 mL de solution B	Concentration (mol/l)
K_2HPO_4	75 mg/l	7.5 g	1.875 g	0.00043
KH_2PO_4	175 mg/l	17.5 g	4.375 g	0.00128
NaCl	20 mg/l	2.0 g	0.5 g	3.41E-4

Solution trace ou microéléments :

	Poids/L de milieu	Poids/ 1L de solution µE	Poids / 250 mL de solution µE	Concentration (mol/l)
H_3BO_3	2.86 mg/l	2.86 g	715 mg	4.61^{E}-5
$MnCl_2$, $4H_2O$	1.81 mg/l	1.81 g	452.5 mg	1.20^{E}-5
$ZnSO_4$, $7H_2O$	220 µg/l	220 mg	55 mg	1.149^{E}-6
$CuSO_4$, $7H_2O$	80 µg/l	80 mg	20 mg	4.221^{E}-7
MoO_3 85%	36 µg/l	36 mg	9 mg	2.5^{E}-7
$CoSO_4$, $7H_2O$	90 µg/l	90 mg	22.5 mg	4.86^{E}-7

Pour faire 1 litre de milieu :

- 10 ml de solution A
- 10 ml de solution B
- 1 ml de solution microéléments

source : https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00697006/document

selon le technicien du lycée Foch Rodez on peut aussi utiliser de l'engrais à tomate en poudre type Algoflash

- **Composition milieu pour la culture des Euglènes**

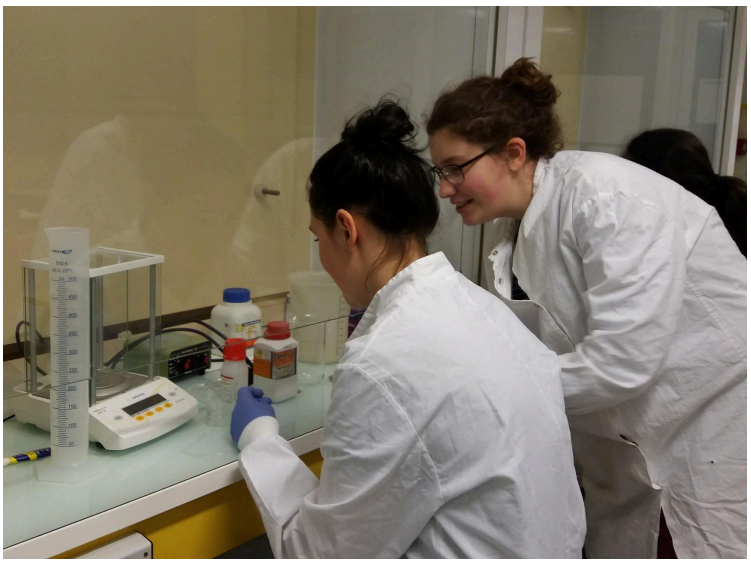
Produits	Formules	Par litre	pour 1.5L
Hydrogénophosphate di-potassique	K2HPO4	0,5 g	
Hydrogénophosphate de diammonium	(NH4)2HPO4	0,5 g	
Sulfate de magnésium	MgSO4, 7H2O	0,5 g	
Chlorure de calcium	CaCl2, 2H2O	0,265 g	

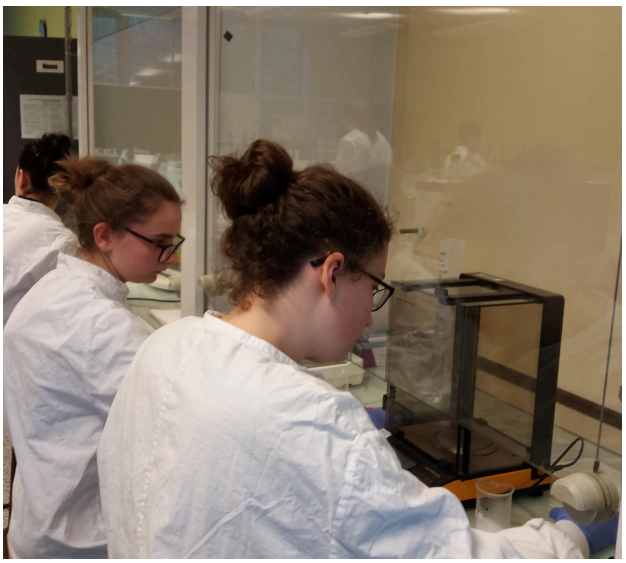
Perchlorure de Fer en solution à 27 %	FeCl3	1 goutte	
Acide lactique	C3H6O3	3 mL	
Vitamine B1 (solution à 0,1 g/100 mL)		1 mL	
Vitamine B12 (solution à 2 mg/l) *(en unidose collyre)*		0,5 mL	
Solution X (ZnSO4, 7H2O : 5 g/l + MnSO4 : 4 g/l) ou solution de sulfate de zinc à 5g/L solution de sulfate de manganèse à 4g/L	 ZnSO4 MnSO4	20 mL 10 mL 10mL	

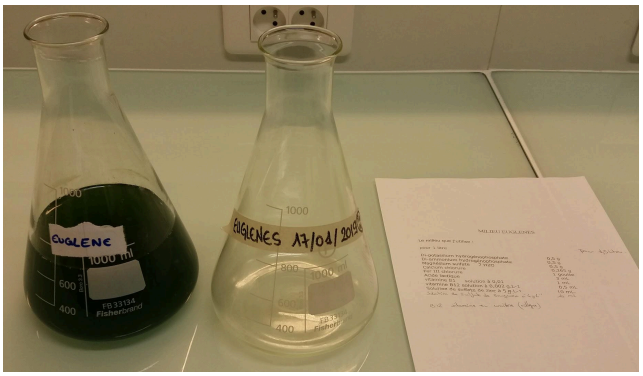
Ajuster le pH du milieu à 3,5 avec de la lessive de potasse, puis autoclaver le milieu pendant 30 minutes à 0,5 atmosphère.

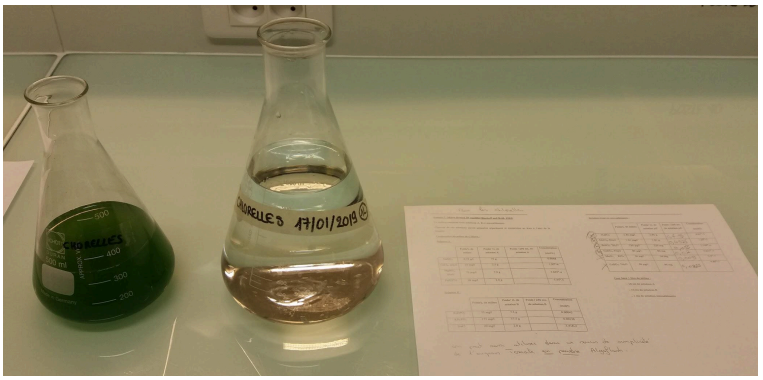
Le lactate peut-être remplacé par 3 mL d'éthanol à 95 °C. Dans ce cas faire le milieu sans lactate, ajuster le pH à 3,5 puis autoclaver. On rajoute l'éthanol, à la température de la pièce, avant de repiquer les cellules. Je nomme ce milieu le milieu 0. Il peut servir à cultiver des euglènes photo-autotrophes (à la lumière).

source : https://planet-vie.ens.fr/article/1849/culture-euglenes

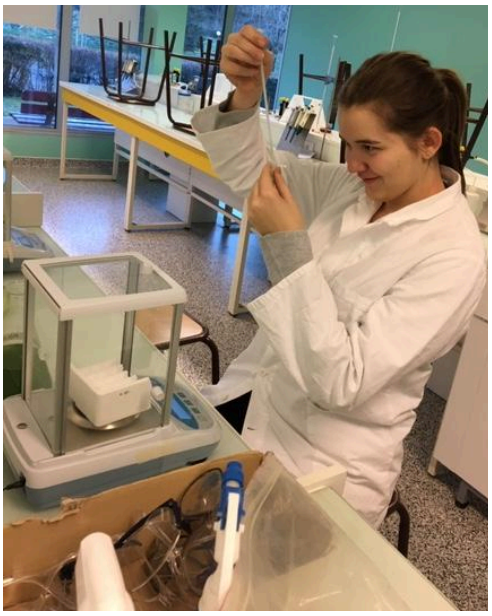




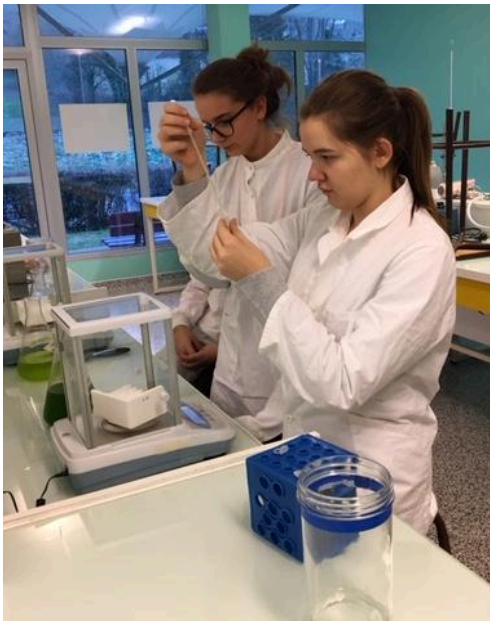
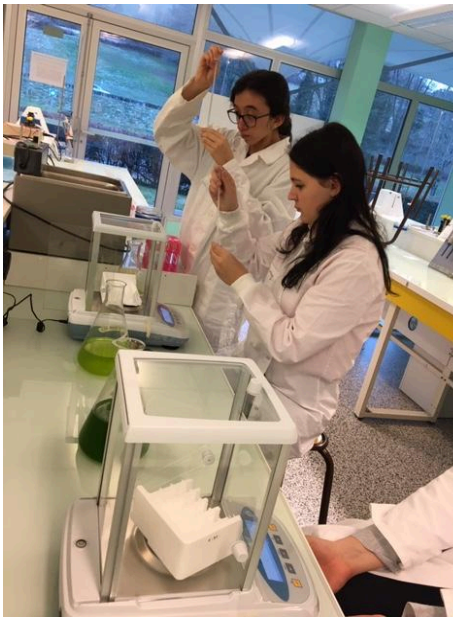


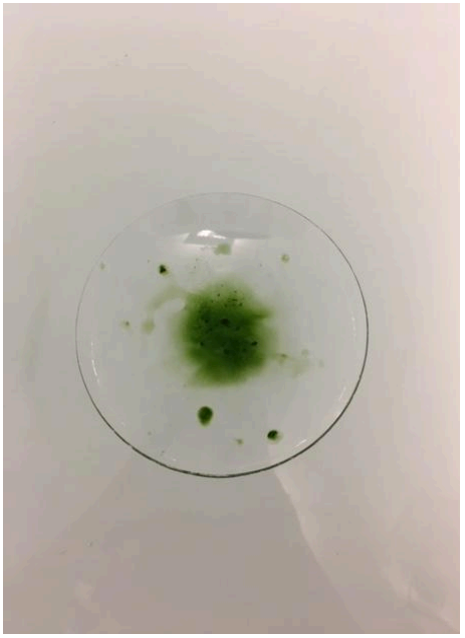


6.4. Centrifugation des algues, séparation surnageant/culot

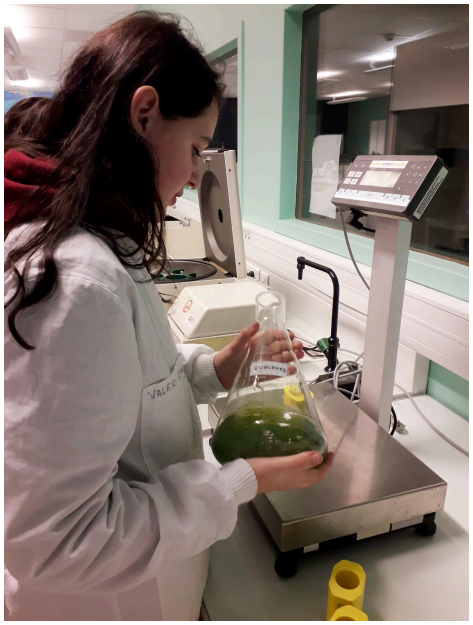


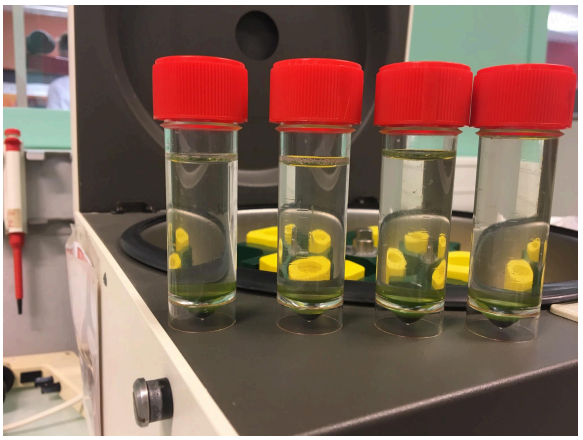
Nous avons réalisé la centrifugation des algues à l'aide d'une centrifugeuse.
Cette étape nous a demandé d'équilibrer les plots en tarrant le premier avec la balance pour qu'ils aient tous le même poids. La centrifugation nous a permis de séparer le culot (pâte d'algues) du milieu dans lequel il se trouvait pour pouvoir ensuite extraire les lipides.

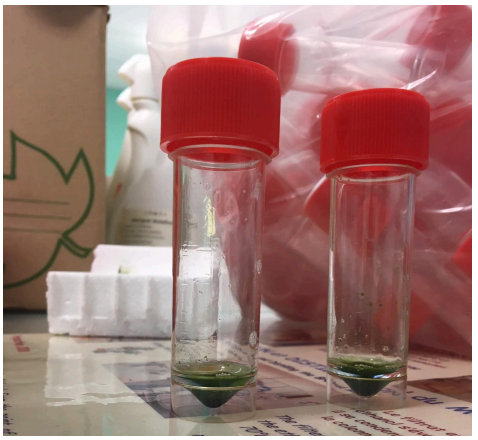





Nous avons commencé par prélever des Chlorelles et les Euglènes dans des petit tubes puis nous les avons pesé et placé dans une centrifugeuse. Après avoir réalisé plusieurs centrifugations, nous avons récupéré les culots et nous avons ensuite broyé la pâte d'algue.

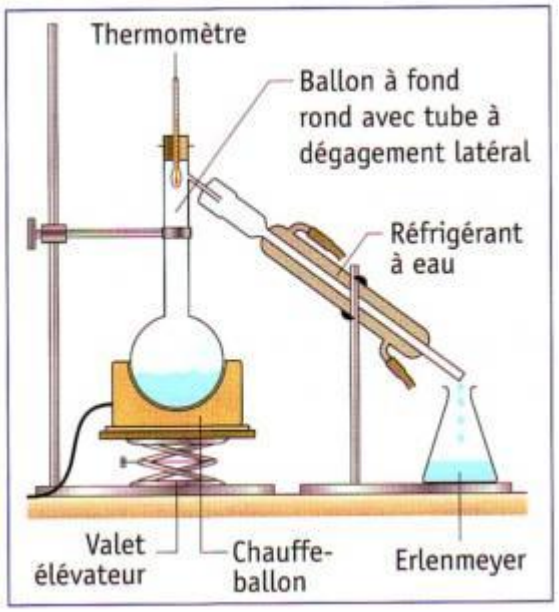


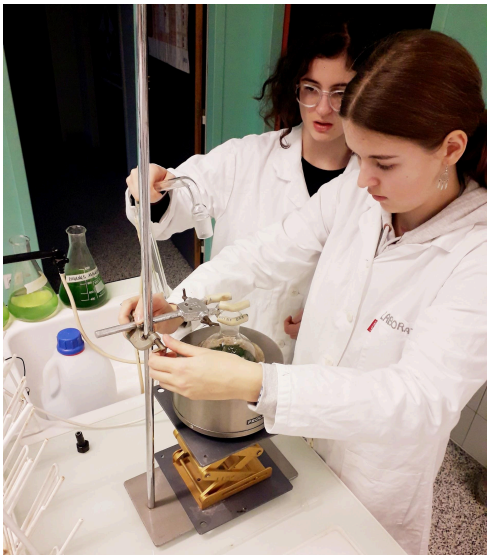


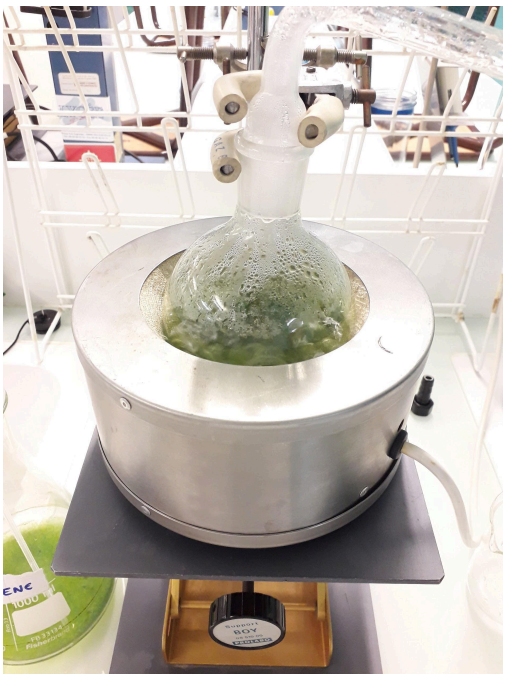


6.5. Extraction des lipides par hydrodistillation

Nous avons utilisé la technique de l'hydrodistillation (voir montage photo ci-dessous) pour extraire la partie lipidique de nos algues. Premièrement, nous avons mis en place l'installation de l'hydrodistillation, puis nous avons versé une grande partie de la culture d'algues dans un ballon à fond rond. Par la suite, nous avons mis en route le chauffe ballon puis la circulation de l'eau dans le tube réfrigérant. La partie lipidique et l'eau s'est, dans un premier temps évaporé puis condensée lors de son passage dans le tube réfrigérant à eau. Pour finir, nous avons récupéré le distillat pouvant contenir les lipides des algues dans un bécher.

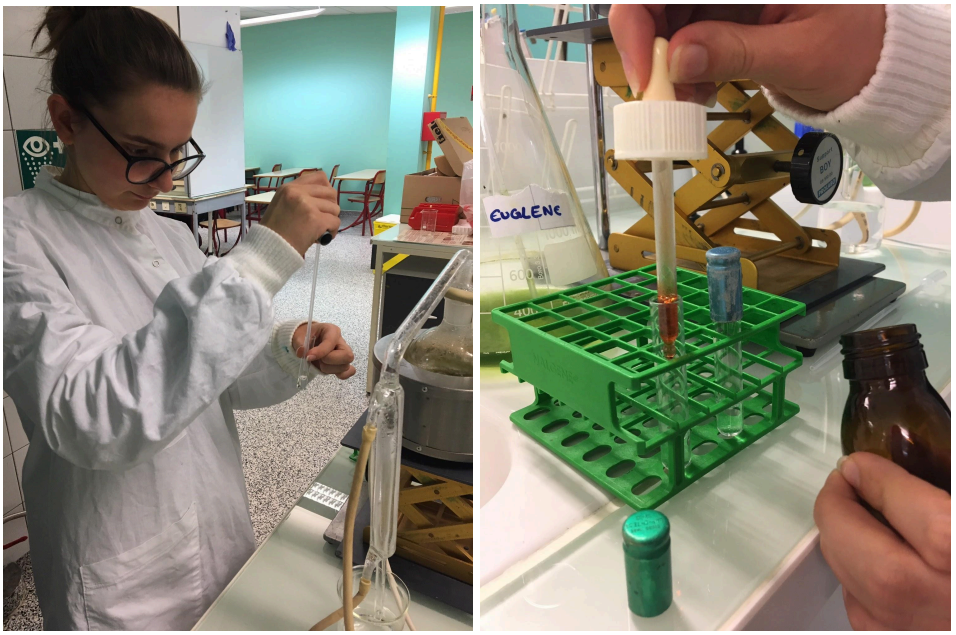






source : http://algocarburant-projet-tpe.e-monsite.com/pages/extraction-des-lipides.html

6.6. Mise en évidence des lipides au rouge soudan III



On attend que la solution soit presque totalement distillée puis on récupère le distillat et on regarde s'il contient ou non des lipides. Pour révéler les lipides on utilise du Rouge de Soudan III de formule C22H16N4O et on observe la réaction. Si la couleur rouge apparaît, il y a présence de lipides sinon il n'y a pas de lipides.

7. Conclusion et perspectives