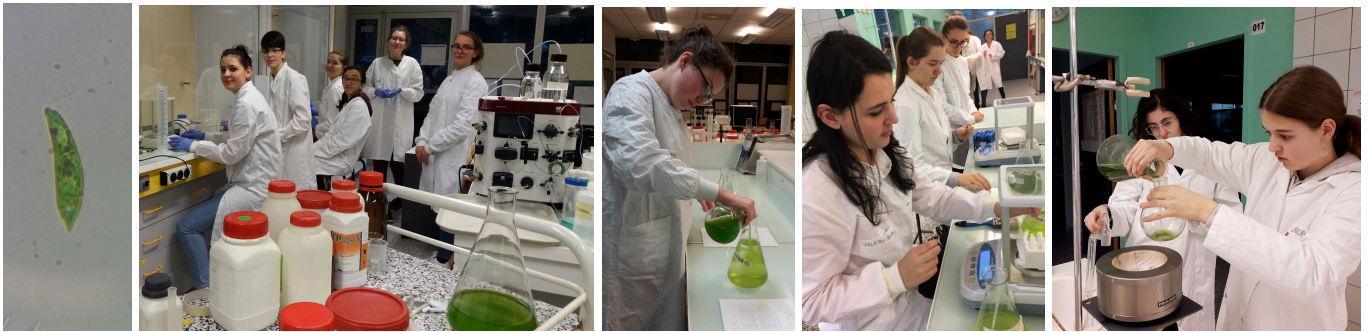


Microalgues et Dépollution



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-d'intervention/energies-et-matieres-renouvelables/methanisation-biogaz>

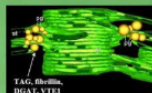
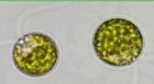
cimenterie et algue qui captent CO2 pour faire biocarburant

<http://www.faiteslepleindavenir.com/2010/05/03/une-cimenterie-capte-son-co2-pour-faire-du-biocarburant/>

Les micro-algues pour fabriquer

biocarburants?

Photographie 1 : *Dunaliella salina*, espèce de micro-algue



Photographie 2 : Gouttelettes lipidiques (plastoglobules) dans un chloroplaste

CAUTION

de vitesse de croissance et de production des micro-algues le matériel biologique avec l'ajout de biocarburants.

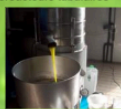
Contenu maximum en lipides (% poids sec)	Production de lipides (mg/l/jour)
29,2	29,2
39,8	17,6
18,8	34,75
21,1	53,9

Contenu maximum et de la production journalière de lipides des espèces de micro-algues à 80% du poids sec pour les plus productrices

Photographie 3 : Raceway



Photographie 4 : Photobioréacteurs tubulaires



Photographie 5 : Extraction des lipides

- très coûteux
- rendement biomasse: 100 t/ha/an

EXTRACTION (Photographie 5)

L'extraction de lipides se fait par :

- pression : 70%
- utilisation d'hexane : 99%, mais coûteux et contraintes environnementales
- trans-estérification avec méthanol (Figure 1)



Figure 1 : Voie de trans-estérification

Notre visite à l'IFREMER



Photographie 6 : Algaïthèque (souches en conservation)

Le laboratoire de Physiologie et Biotechnologie des Algues de l'Ifremer de Nantes apporte son expertise sur la production de biomasse chez différentes souches (Photographie 6) de microalgues notamment en photobioréacteurs (Photographie 7) avec des rendements jusqu'à 30g/m²/j.

Selon son directeur J.P Cadoret : « Les micro-algues sont une technologie pleine d'espoir où il reste tout à découvrir dans divers domaines comme la santé (traitement du cancer), l'énergie (alga-carburants), l'environnement (dépollution) et la cosmétique ».



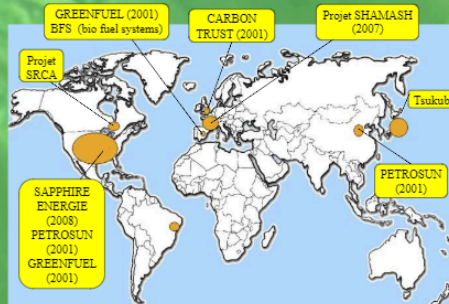
Photographie 7 : Production de biomasse en photobioréacteur tubulaire de 120L



- extraction coûteuse des lipides,
- destruction de la biomasse pour l'extraction,
- risques de contamination des écosystèmes.

Localisation des principaux projets mondiaux sur les alga-carburants

Ces dernières années, une émergence de nombreux projets est mise en évidence à l'échelle mondiale sur la production d'alga-carburants dans le but d'optimiser la croissance des micro-algues (sélection de souches et conditions de cultures) et l'extraction des lipides.



Les coûts de production, les alga-carburants représentent une perspective intéressante pour l'avenir. Associé au monde industriel, cette production pourrait être recyclage du CO₂.

Projet Pro Micro-algues 1A 2009-2010 : Att Bellah Lamiaa, Baldini Laura, Béchu Thomas, Braconnier Camille, Damar Julien, Ferré Anne-Sophie, Gillard Shirley, Inubetagoyna Gillen, Journault Charlene, Poyat Yannick, Vidal Marjorie, Tutrice: S. Piatti

er 1 / 1



<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/>

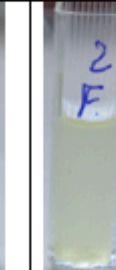
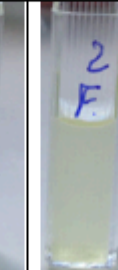
Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂, Barbara Clement-Larosièrre :

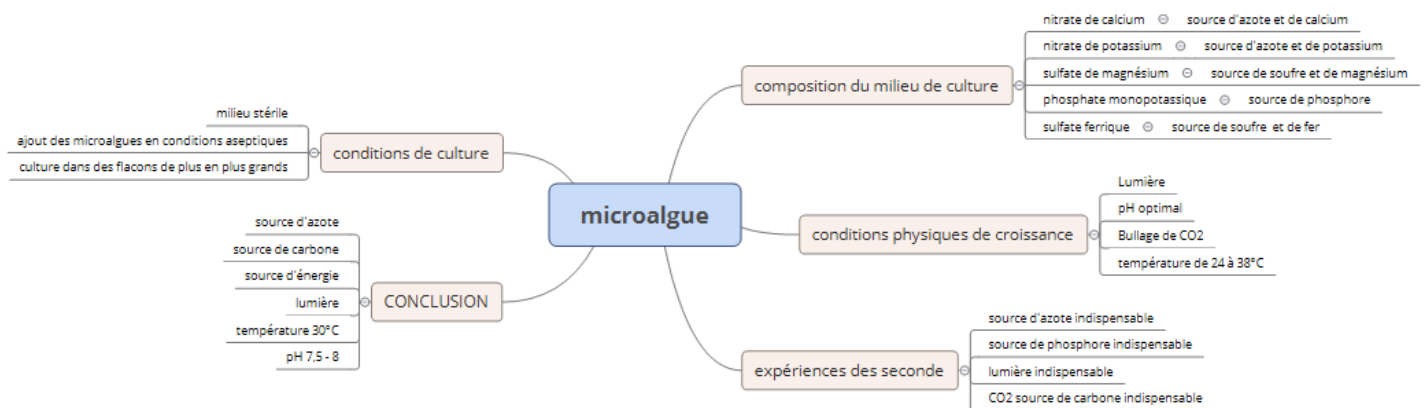
<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00697006/document>

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

<https://youtu.be/BX7DGFqscag>

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)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella</i> sp.	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20–35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54
<i>Nitzschia</i> sp.	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50–77
<i>Tetraselmis sueica</i>	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%A9%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

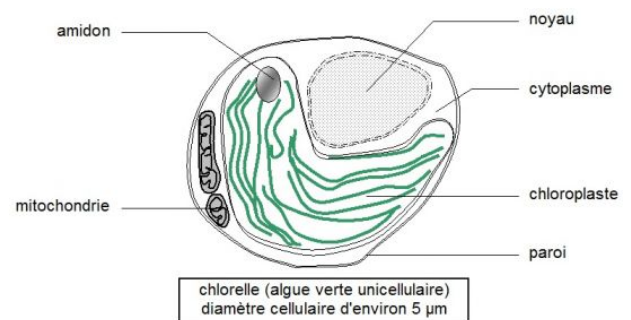
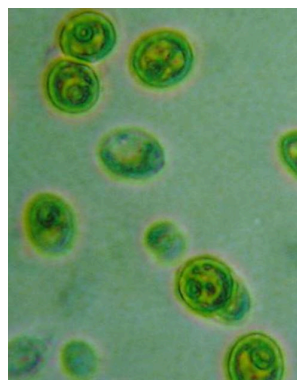
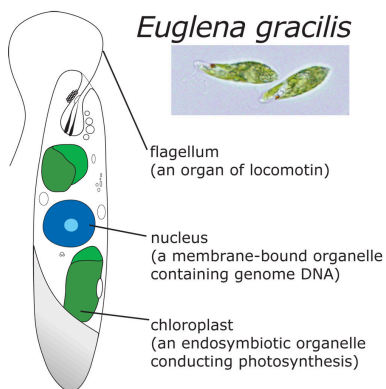
? composition milieu de culture

? 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

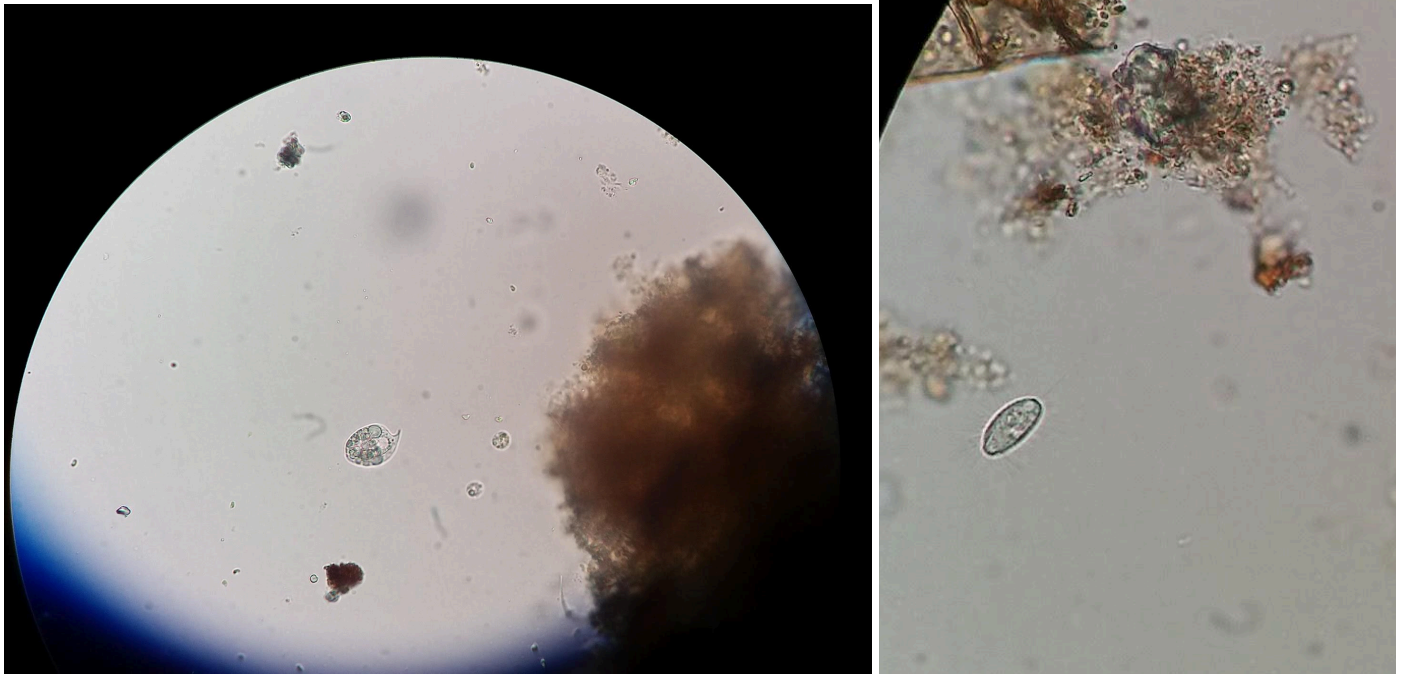
entretien des microalgues :

<http://www4.ac-nancy-metz.fr/svt/enseign/svt/labo/Microorg.htm>

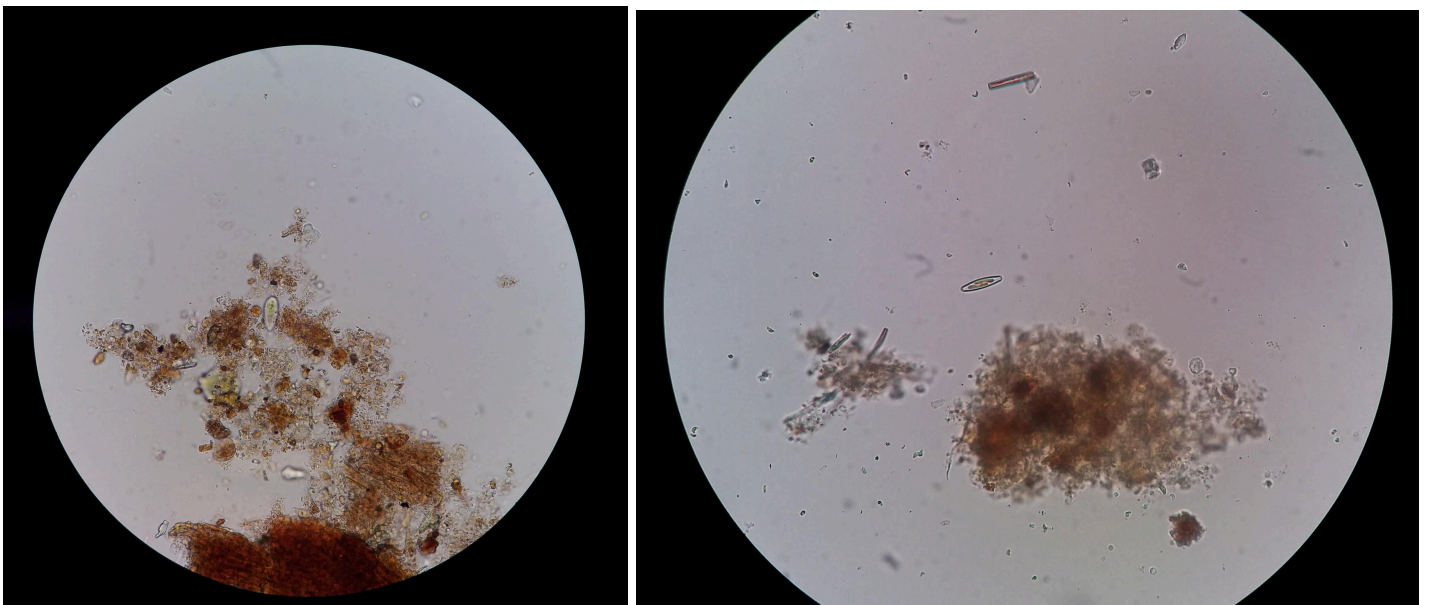
<http://pedagogie.ac-limoges.fr/svt/IMG/pdf/doc-328.pdf>

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 identifier.

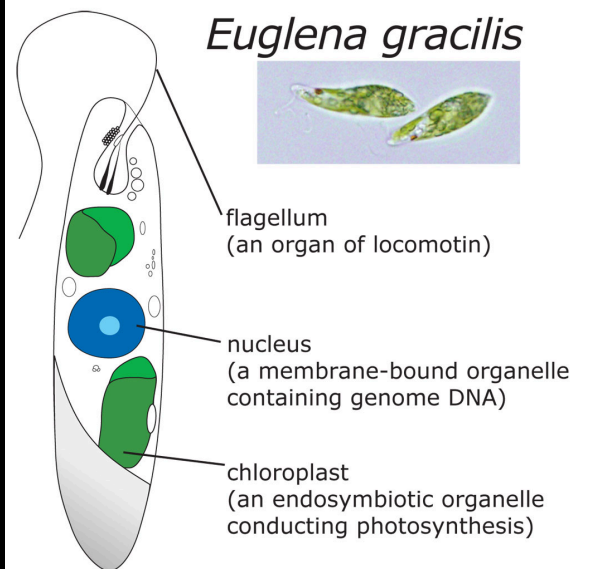


Tout à fait au centre de la photo à votre droite la cellule ressemble à une microalgue de type Euglène à confirmer lors des observations des cultures d'algues.

6.2. Observation des microalgues et vérification aspect microscopique

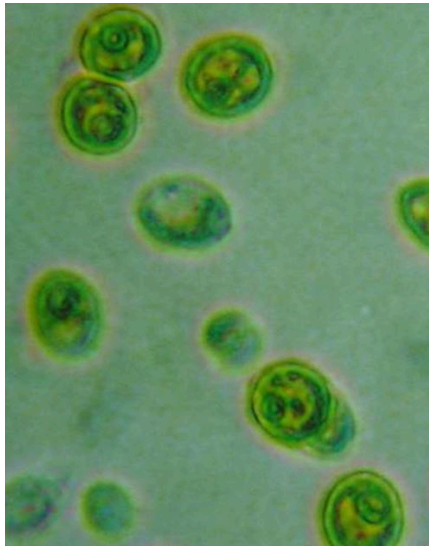


Nous avons ensuite observé des chlorelles et des euglènes au microscope afin de pouvoir comparer leur forme à celle des cellules trouvées dans l'eau croupie. Il semblerait que ce ne soit pas les mêmes car les cellules dernièrement observées sont vertes et plus allongées. Après vérification sur internet,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

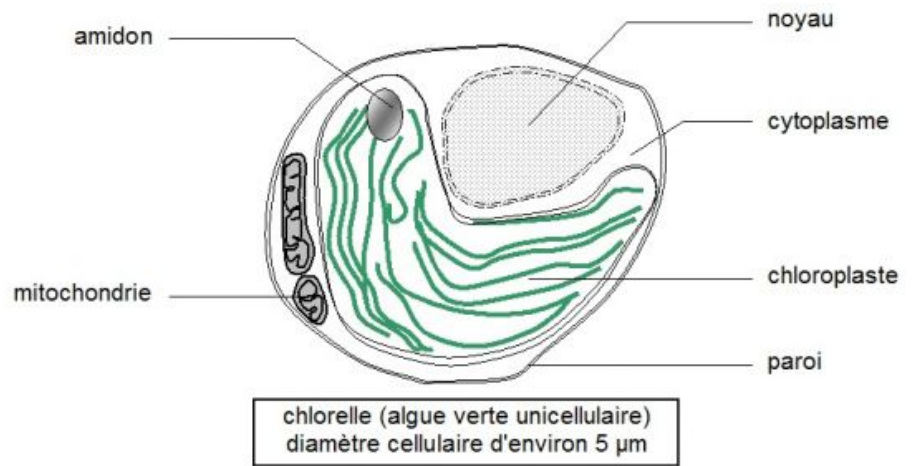


euglènes : algue flagellée, photosynthèse +.





chlorelles : non flagellée



Contenu en lipides de diverses espèces (Chisti, 2007)

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

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 ₂ O	25 mg/l	2.5 g	625 mg	1.93 ^E -4
MgSO ₄ , 7H ₂ O	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 ₂ HPO ₄	75 mg/l	7.5 g	1.875 g	0.00043
KH ₂ PO 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 $\mu g/l$	220 mg	55 mg	1.149^E-6
$CuSO_4, 7H_2O$	80 $\mu g/l$	80 mg	20 mg	4.221^E-7
MoO_3 85%	36 $\mu g/l$	36 mg	9 mg	2.5^E-7
$CoSO_4, 7H_2O$	90 $\mu g/l$	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	K_2HPO_4	0,5 g	
Hydrogénophosphate de diammonium	$(NH_4)_2HPO_4$	0,5 g	
Sulfate de magnésium	$MgSO_4, 7H_2O$	0,5 g	
Chlorure de calcium	$CaCl_2, 2H_2O$	0,265 g	

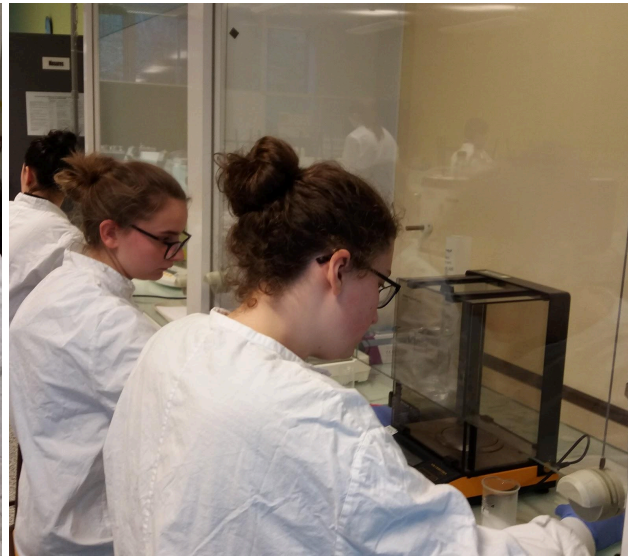
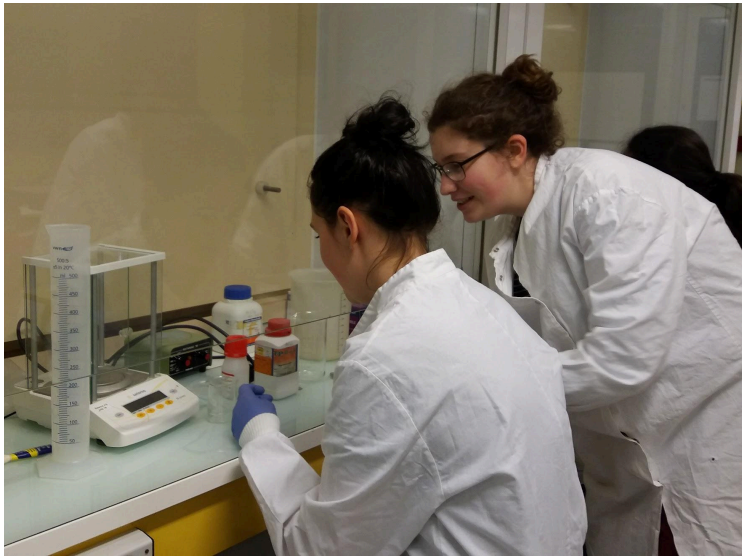
Perchlorure de Fer en solution à 27 %	FeCl ₃	1 goutte	
Acide lactique	C ₃ H ₆ O ₃	3 mL	
Vitamine B1 (solution à 0,1 g/100 mL)		1 mL	
Vitamine B12 (solution à 2 mg/l) (<i>en unidose collyre</i>)		0,5 mL	
Solution X (ZnSO ₄ , 7H ₂ O : 5 g/l + MnSO ₄ : 4 g/l) ou solution de sulfate de zinc à 5g/L solution de sulfate de manganèse à 4g/L	ZnSO ₄ MnSO ₄	20 mL 10 mL 10mL	

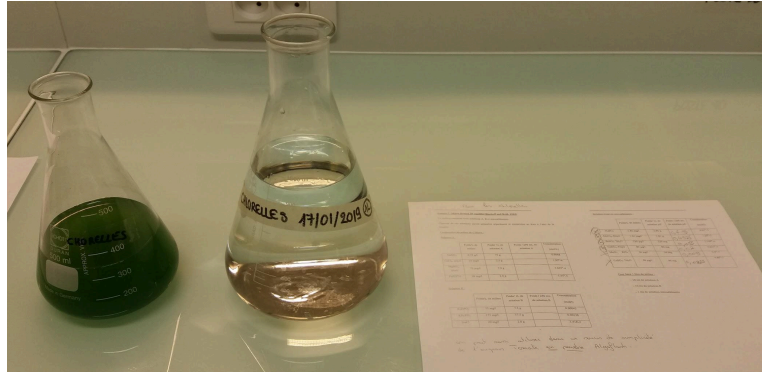
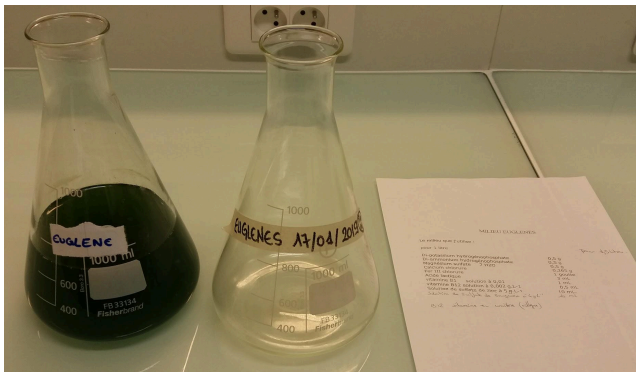
Ajuster le pH du milieu à 3,5 avec de la lessive de potasse, puis autoclaver le milieu pendant 30 minutes à 0,5 atmosphère.

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).

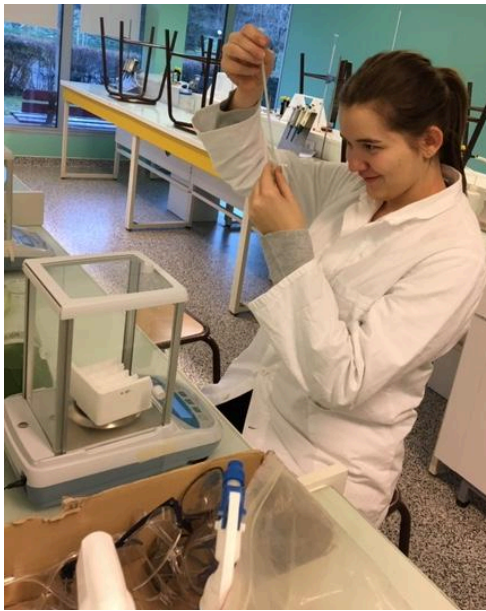
source : <https://planet-vie.ens.fr/article/1849/culture-euglenes>



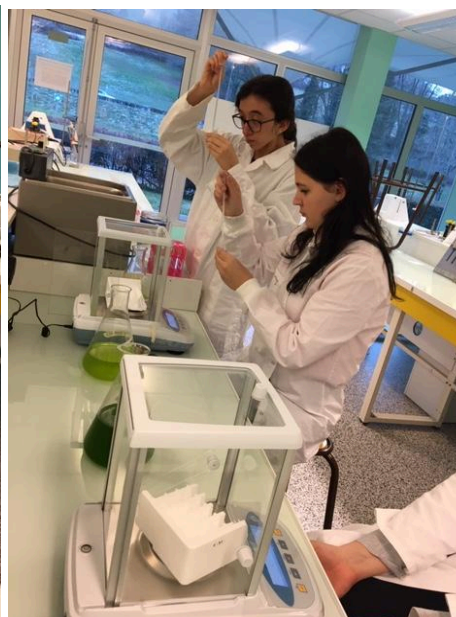
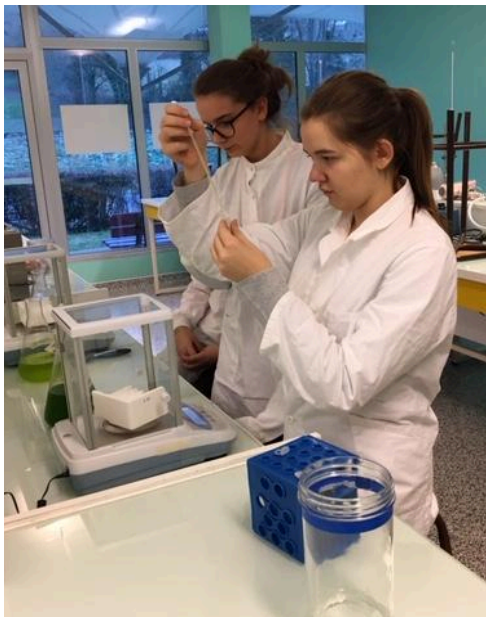


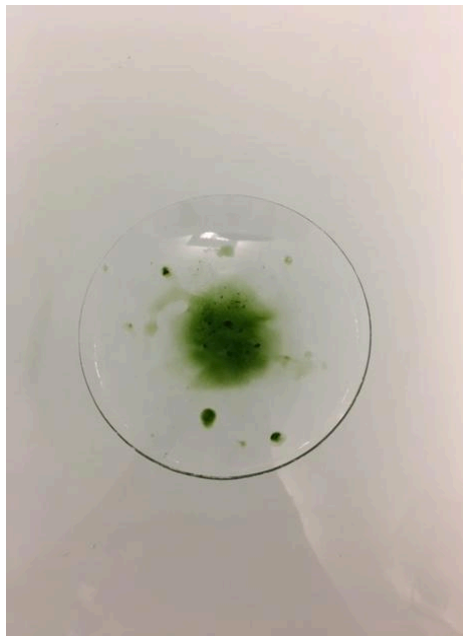


6.4. Centrifugation des algues, séparation surnageant/culot



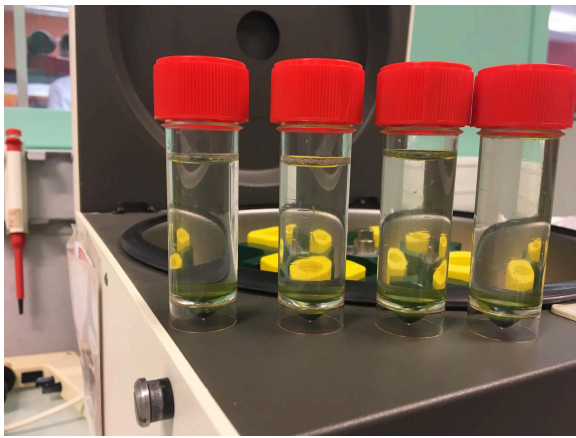
Nous avons réalisé la centrifugation des algues à l'aide d'une centrifugeuse. Cette étape nous a demandé d'équilibrer les plots en tarrant le premier avec la balance pour qu'ils aient tous le même poids. La centrifugation nous a permis de séparer le culot (pâte d'algues) du milieu dans lequel il se trouvait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





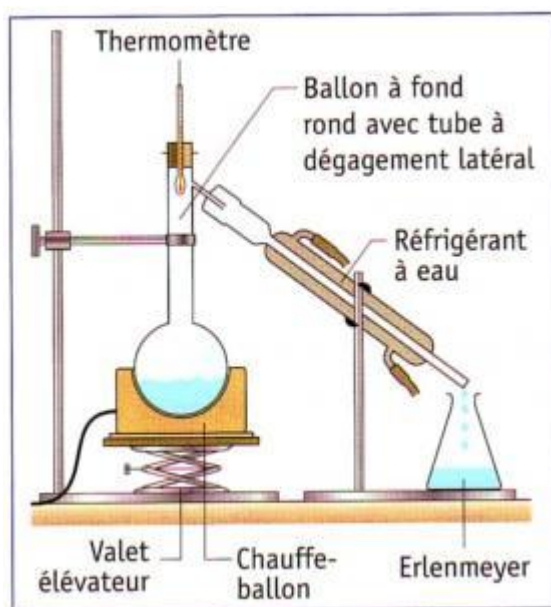
Nous avons commencé par prélever des Chlorelles et les Euglènes dans des petit tubes puis nous les avons pesé et placé dans une centrifugeuse. Après avoir réalisé plusieurs centrifugations, nous avons récupéré les culots et nous avons ensuite broyé la pâte d'algue.





6.5. Extraction des lipides par hydrodistillation

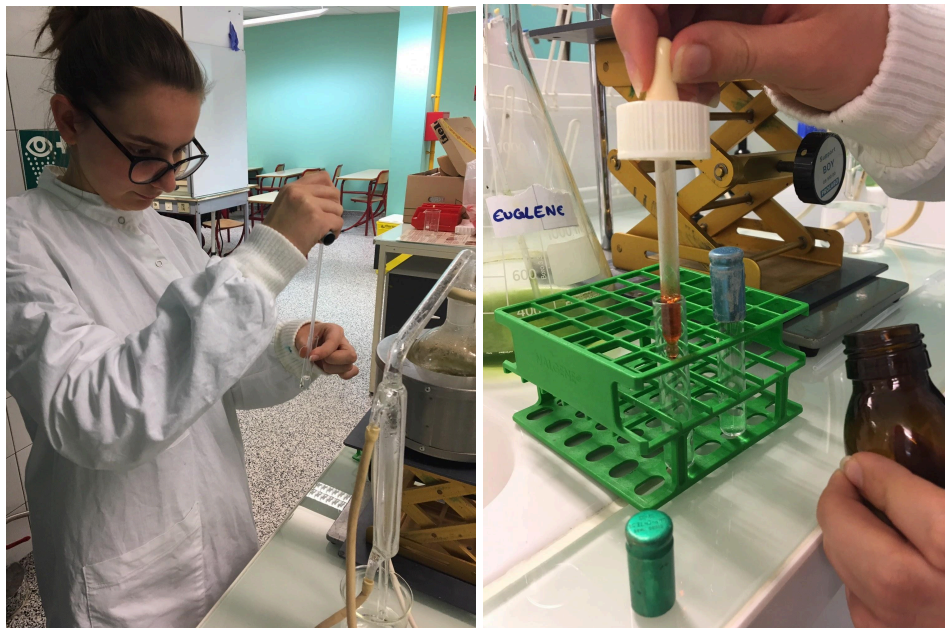
Nous avons utilisé la technique de l'hydrodistillation (voir montage photo ci-dessous) pour extraire la partie lipidique de nos algues. Premièrement, nous avons mis en place l'installation de l'hydrodistillation, puis nous avons versé une grande partie de la culture d'algues dans un ballon à fond rond. 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://algotcarburant-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 $C_{22}H_{16}N_4O$ et on observe la réaction. Si la couleur rouge apparaît, il y a présence de lipides sinon il n'y a pas de lipides.

7. Conclusion et perspectives