

Floculation des algues - Matériel et méthodes

Blanche Kerogant, Alice Balansard, Coline Ruin

1. MATERIEL

a. **Matériel général**

Culture :

- Boîte fermée
- Lampe néon
- Programmeur régulier (boîtier permettant de réguler les heures d'activation de la lumière)
- Flacons 500mL
- Agitateur orbital
- Agitateur et aimant magnétique
- Sel

Expériences :

- Eppendorf 50mL
- Caméra
- Scotch
- Pipettes graduées 5mL
- Micropipettes 20uL et 200uL
- Piluliers

Suivi et mesures :

- Cuvettes UV semi-micro, volume de remplissage minimal 1,5mL
- Spectrophotomètre UV-visible
- Papier pH

b. **Matériel - commandes spécifiques**

Algues :

- Tetraselmis
- Chlorella
- Nannochloropsis

Milieu de culture : Guillard's (F/2) Marine Water Enrichment Solution, référence Sigma Aldrich G9903.

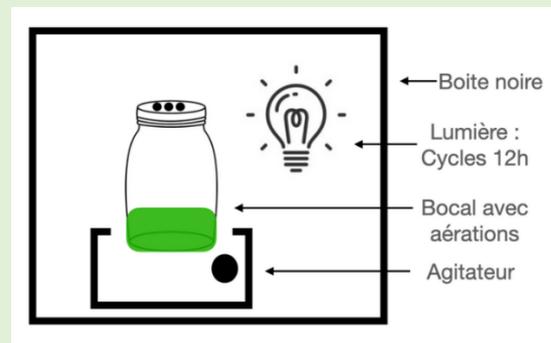
Enzyme : lysozyme, référence Sigma Aldrich L6876-1G.

Tris-HCl, solution 1 M, pH 8,0, référence FisherScientific 1185-53-1.

Chitosan :

- Low molecular weight (référence sur Sigma Aldrich : 448869).
- Medium molecular weight (référence sur Sigma Aldrich : 448877).

c. **Schéma expérimental**



Culture des algues – schéma expérimental

2. METHODES

a. **Protocole de culture des algues**

Quantités (avec les notations suivantes) :

- C : Chlorella
- NC : Nannochloropsis
- NCC : Chlorella et nannochloropsis

quantité	sel (g pour 400mL)
C	2
NC	12
NCC	Quantité variable : 2, 4 et 7 (pour étude de l'influence de la salinité)

- 196 mL d'eau distillée
- 4mL de F/2

Protocole :

- Dissoudre le sel dans 200mL d'eau à l'aide d'un agitateur magnétique
- Verser l'eau salée dans un flacon 500mL
- Ajouter 4mL de F/2

- Ajouter 200mL d'algues
- Placer le bocal sous agitation orbitale, dans la boîte.
- Effectuer une mesure de densité optique
- Régler le programmateur sur 12h/12h (respect du cycle circadien).
- Reprendre les DO au cours du suivi (tous les 2 à 7j)

b. Protocole pour test du chitosan

Quantités (avec les notations suivantes) :

- C : chlorella
- NC : nannochloropsis
- NCC : chlorella et nannochloropsis
- Ctrl : contrôle, sans chitosan et sans acide
- Ctrl : contrôle du pH, sans chitosan et avec acide pour obtenir le même pH que les solutions avec chitosan
- Symboles + et - pour la quantité de chitosan.

Quantités	Algues (mL)	Chitosan (mL)	Acide (uL)
C +	19.6	0.4	0
C -	19.96	0.04	0
C ctrl	20	0	0
C ctrl pH	20	0	20
NC +	19.6	0.4	0
NC -	19.96	0.04	0
NC ctrl	20	0	0
NC ctrl pH	20	0	20
NCC +	19.6	0.4	0
NCC -	19.96	0.04	0
NCC ctrl	20	0	0
NCC ctrl pH	20	0	20

Protocole :

- Dans un falcon 50mL, verser les algues, le chitosan, l'acide jusqu'à équilibre du pH.
 - Mesurer la DO
- effectuer l'opération pour le chitosan de poids moléculaire faible puis de même pour le médium.

c. Protocole d'étude de densité optique (DO)

- Laisser sédimenter sans agitation le flacon à analyser pendant 15 minutes
- Pendant ce temps, verser 5mL d'eau distillée à l'aide d'une pipette graduée dans un récipient propre (un pilulier par exemple)
- Prélever, dans le liquide surnageant, 1mL d'algues et verser dans le pilulier
- Mélanger en pipettant doucement
- Prélever 2mL du mélange et le verser dans une cuve
- Faire le blanc sur le spectrophotomètre
- Prendre la valeur de l'absorption du mélange d'algues pour des longueurs d'onde de 692 et 550nm.

d. Protocole de test de l'efficacité d'une enzyme

- Préparation de la lysozyme : verser 20 mg d'enzyme dans 10 mL de solution Tris-HCl, solution 1 M, pH 8,0.
- Lancer le protocole chitosan, avec les solutions suivantes :
 - ❖ Solution 1 : 5 mL de NC + 8 uL de chitosan
 - ❖ Solution 2 : 5 mL de NC (contrôle)
 - ❖ Solution 3 : 5 mL d'eau distillée + 8 uL de chitosan (contrôle enzyme)
- Introduire 10 uL de solution d'enzyme dans chaque solution
- Laisser agir 1 jours sous légère agitation
- Mesurer la DO des solutions

e. Protocole de suivi de la sédimentation par vidéo

- Lancer le protocole chitosan
- Positionner et fixer le flacon verticalement (par exemple à l'aide d'une barre métallique verticale et d'une pince), devant un fond blanc (on peut utiliser une simple feuille blanche), graduations de face.
- Illuminer latéralement à l'aide d'une lampe, nous avons utilisé un panneau led.
- Positionner et fixer (sur un support quelconque, avec du scotch) la lampe face au flacon.
- Lancer l'enregistrement pour 24h, 1 image/10s.