



Le "Cannon" de Nazare

Épreuve 2

RESSOURCES MARINES

PAYS :

TEAM.:

RESSOURCES MARINES

Introduction

Le Portugal possède actuellement une zone économique exclusive (une zone maritime) de 1,7 million de km², la troisième en importance de l'Union européenne et la onzième dans le monde. En août 2017, le Portugal a commencé à défendre le projet d'extension du plateau continental au-delà des 200 milles marins, ce qui pourrait doubler la taille du territoire maritime du Portugal, passant de près de deux millions à près de quatre millions de km². Étant donné que le Portugal continental a une superficie légèrement supérieure à 92 000 km², l'extension du territoire maritime de 350 km supplémentaires signifie que la superficie de la mer sera 40 fois supérieure à celle du territoire terrestre.



Zone économique exclusive du Portugal. Portugal continental 327 667 km²; Açores et îles de Madère (953 633 km²; 446 108 km²). Total: 1 727 408 km² (photo de Oceana, <https://eu.oceana.org>)

Pourquoi le territoire maritime est-il si important? Une des réponses réside dans la richesse des ressources marines disponibles, avec un impact important dans des domaines tels que l'énergie, la biodiversité et les biotechnologies. C'est exactement ce que Vasco et Isabel ont découvert lors de leur stage de recherche d'été dans un centre de recherche marine de la région de Lisbonne. Durant leur stage, ils ont effectué une expédition pour observer l'installation d'un prototype de générateur de vagues en haute mer. Vasco et Isabel ont commencé à s'intéresser au processus de génération d'énergie à partir de vagues. Ils ont également pris conscience de la présence d'un petit écosystème à proximité du générateur de vagues et ont prélevé plusieurs échantillons biologiques pour analyser différents aspects de leur biodiversité et leurs applications possibles.

Vous montrerez à Vasco et à Isabel comment nous pouvons tirer de l'énergie des vagues en explorant un modèle de générateur de vagues à absorption ponctuelle. Vous leur montrerez également comment nous pouvons explorer la biodiversité marine avec une série d'expériences utilisant les échantillons biologiques qu'ils ont collectés tout en découvrant une application biotechnologique potentielle.

Cette épreuve est constituée de 3 tâches individuelles, séparées comme suit :

Tâche 2 - 1 – Générateurs d’ondes 120 Marks

Tâche 2 - 2 – Écosystèmes marins : biodiversité et ressources 120 Marks

Tâche 2 - 3 – Potentiel biotechnologique des algues vertes et rouges 120 Marks

TÂCHE 2 - 1 .: GÉNÉRATEUR D'ONDES

Introduction

Les chercheurs du Centre de recherches Marines ont donné à Vasco et Isabel des informations sur l'énergie des vagues.

«Les vents soufflant à la surface de l'océan génèrent des vagues. Les vagues se propagent sur de vastes zones océaniques. En conséquence, les objets flottants sur l'océan oscillent de haut en bas, d'avant en arrière dans l'eau. Les vagues transportent beaucoup d'énergie. Divers dispositifs visant à exploiter l'énergie des vagues sont en cours de développement. Le générateur de vagues est conçu pour exploiter l'énergie des oscillations verticales de la surface de l'eau en pleine mer. Cette énergie est utilisée pour faire fonctionner les convertisseurs d'énergie électromécaniques qui génèrent de l'énergie électrique. »

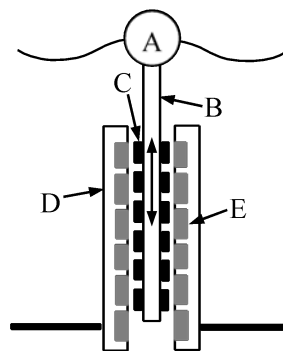


Figure 2 - 1 - Schéma en coupe verticale d'un générateur d'ondes : bouée de soulèvement (A), translateur (B), aimant (C), stator (D), bobine (E).

Vasco et Isabel aimeraient mieux comprendre le fonctionnement d'un générateur de vagues ! Vous allez les aider en effectuant des expériences. Pour préparer ces expériences, vous devez d'abord apprendre les principes physiques de fonctionnement du dispositif.

Les modifications de l'environnement magnétique d'une boucle conductrice fermée peuvent provoquer l'apparition d'une tension induite dans la boucle et la circulation d'un courant induit dans la boucle - de l'énergie électrique est alors générée. Ce phénomène physique s'appelle induction électromagnétique.

Le champ magnétique d'un barreau aimanté de type néodyme est très fort près des pôles (bases du cylindre) et diminue rapidement avec la distance. Si nous déplaçons un tel aimant de haut en bas, dans la direction de l'axe du cylindre, à travers une boucle conductrice, les modifications de l'environnement magnétique de la boucle généreront une certaine puissance électrique. Cette puissance peut être augmentée si l'aimant se déplace rapidement dans un empilement compact de boucles connectées électriquement (c'est ce que l'on appelle une bobine). Si l'on utilise plusieurs bobines et plusieurs aimants, il est possible de générer plus de puissance ! Dans un générateur de vagues, il existe deux structures principales (voir Figure 2 - 1) : le stator tubulaire (en forme de tube) et le translateur. Le stator contient un ensemble fixe de bobines, tandis qu'un ensemble d'aimants permanents se déplace de haut en bas avec le translateur, traversant le centre du stator. Le flotteur couplé à la partie supérieure du translateur oscille avec les ondulations de la surface de l'eau.

Le prototype de générateur de vagues que vous allez fabriquer n'aura qu'une **bobine statique** et

deux aimants droits joints entraînés par les **oscillations mécaniques d'un système masse-ressort vertical** (au lieu des oscillations verticales de la surface de l'eau). Ce modèle vous permettra de montrer à Vasco et à Isabel le fonctionnement d'un générateur de vagues et d'étudier l'impact de différents types d'oscillations sur la puissance générée. Pour cela il faudra dans un premier temps étudier les oscillations mécaniques du système masse-ressort. C'est le but de la première expérience.

2 - 1.1. Caractérisation du système masse-ressort

Le système masse-ressort se compose d'un ressort élastique suspendu verticalement depuis son extrémité supérieure et d'une masse marquée (M) fixée à l'extrémité inférieure du ressort (voir Figure 2-2). La masse est au repos lorsque le système est en équilibre. En étirant le ressort verticalement, l'énergie est transférée au système. La quantité d'énergie transférée est donnée par la relation :

$$E_{\text{elast}} = \frac{1}{2} k A^2,$$

où k est la constante de raideur et A est l'allongement imposé au ressort (c'est-à-dire l'écart de position de la masse par rapport à sa position d'équilibre). Lorsque le système est relâché, la masse commence à osciller de haut en bas. La durée qui s'écoule avant que le mouvement se répète, est appelée période du mouvement (T), et peut être évaluée en mesurant l'intervalle de temps entre un aller et retour de la masse par une position extrême et son passage suivant par cette même position. Puisque la masse suspendue et le ressort oscillent ensemble, T dépend de leur masse. Pour un ressort de masse donnée (m), la période T est régie par le paramètre de masse effective :

$$M_{\text{ef}} = \frac{m}{3} + M.$$

Matériel et équipement :

- Support A ;
- Deux repères de position (jaunes) C ;
- Pince avec crochet D ;
- Ressort ($m = (14,0 \pm 0,1) \text{ g}$) ;
- Un tube en plastique avec un fil de suspension contenant deux aimants, étiquetés «**M1**» ($M1 = (117,5 \pm 0,5) \text{ g}$), et une masse en laiton avec deux crochets de suspension, étiquetée «**M2**» ($M2 = (200,0 \pm 0,5) \text{ g}$) ;
- Equerre G
- Chronomètre

Figure 2 - 2 - Matériel utilisé en 2 - 1.1: Support (A) monté sur une base métallique (B), repères de position jaunes (C), pince avec crochet (D), ressort (E), tube en plastique avec suspension fil contenant une paire de barreaux magnétiques (M1), une masse en laiton (M2), un chronomètre (F) et une équerre (G).



Les données de cette expérience seront consignées dans le tableau 1.1 figurant sur la feuille de réponses. Les données de la colonne intitulée «Set i » caractériseront un ensemble donné de conditions expérimentales. Les 4 dernières lignes de ce tableau ne seront pas renseignées lors de la prise de mesures. Elles seront remplies lors de l'analyse des données acquises (questions 1.1.2 et 1.1.4).

Question 1.1.1

L'acquisition des données pour chaque ensemble de conditions expérimentales (**définies ci-dessous de 1.1.1a à 1.1.1d**) doit se dérouler comme suit :

- Fixez la pince avec le crochet (D) au support (A). Suspendez le ressort (E) au crochet.
- Utilisez les deux repères jaunes (C) attachés à la tige verticale et l'équerre pour repérer la position du bas de la masse avec le repère supérieur. Puis positionnez l'autre repère à la distance A telle qu'indiqué ci-dessous. Notez la valeur de la distance A entre les deux repères.
- Étirez verticalement le ressort d'une distance A . Puis lâchez le système masse-ressort (n'appuyez pas sur le système) afin de lui permettre de décrire les oscillations verticales libres (sans déviations latérales). Démarrez le chronomètre pour mesurer la durée de 10 périodes (t_{10}). Notez la valeur t_{10} dans le tableau 1.1 de la feuille de réponses, à la ligne intitulée (n° 1) - il s'agit de la première des 3 mesures de t_{10} qui seront effectuées dans les mêmes conditions.
- Répétez la procédure précédente deux fois de plus pour améliorer les incertitudes. Notez les

résultats pour ces tests (n ° 2 et n ° 3) dans le tableau 1.1 de la feuille de réponses.

Question 1.1.1a

Prenez la masse M1 pour le premier ensemble de conditions expérimentales («Ensemble 1»). Réglez le système de façon à avoir une amplitude A de 3 cm pour les oscillations.

◆ **Notez les données pour «Ensemble 1» dans le tableau 1.1 de la feuille de réponses.**

Question 1.1.1b

Conservez la masse M1 dans le système masse-ressort. Réglez le système de façon à avoir une amplitude A de 2 cm pour les oscillations.

◆ **Notez les données dans la colonne «Ensemble 2» du tableau 1.1 de la feuille de réponses.**

Question 1.1.1c

Dans votre système masse-ressort, remplacez M1 par M2. Réglez le système de façon à avoir une amplitude A de 3 cm pour les oscillations.

◆ **Notez les données dans la colonne «Ensemble 3» du tableau 1.1 de la feuille de réponses.**

Question 1.1.1d

Suspendez M1 à M2, et réglez le système de façon à avoir une amplitude A de 3 cm pour les oscillations de cet ensemble de masses.

◆ **Notez les données dans la colonne «Ensemble 4» du tableau 1.1 de la feuille de réponses.**

Question 1.1.2

Pour chaque ensemble de conditions expérimentales, vous avez répété 3 fois l'expérience pour limiter l'erreur statistique. Calculez : la valeur moyenne de t_{10} (notée $\underline{t_{10}}$), la période d'oscillations (T) et le paramètre de masse effective (M_{ef}).

◆ **Remplissez les 3 dernières lignes du tableau 1.1 de la feuille de réponses avec vos résultats.**

Question 1.1.3

Laquelle des relations suivantes (où k est la constante de raideur du ressort en N / m) correspond à vos résultats ?

$$(1) T = \frac{k}{2\pi} \frac{A}{M_{ef}}$$

$$(4) T^2 = \frac{4\pi^2}{k} \frac{M_{ef}}{A}$$

$$(2) T = \frac{2\pi}{k} A M_{ef}$$

$$(5) T^2 = \frac{4\pi^2}{k} A M_{ef}$$

$$(3) T^2 = \frac{4\pi^2}{k} M_{ef}$$

$$(6) T^2 = \frac{2\pi}{k} \frac{M_{ef}}{A}$$

◆ **Entourez la réponse correcte sur la feuille de réponses, question 1.1.3.**

Question 1.1.4

Déterminer à partir des différentes données les valeurs de k en N / m.

- ◆ Remplissez la dernière ligne du tableau 1.1 de la feuille de réponses avec vos résultats.

Question 1.1.5

Calculez la valeur moyenne de la constante de ressort k .

- ◆ Écrivez votre résultat dans la feuille de réponses, case 1.1.5.

2 - 1.2 Génération d'une tension alternative

Dans cette expérience, vous allez assembler votre prototype de générateur d'onde et analyser l'influence de l'amplitude et de la période des oscillations sur la tension de sortie ($V_{gen}(t)$). Cette tension est une tension alternative, caractérisée par une période (T_V ou intervalle de temps entre deux répétitions du signal) et par une valeur absolue maximale aussi appelée amplitude maximale du signal (V_0).

Votre système masse-ressort subit un certain amortissement (l'amplitude du mouvement oscillatoire décroît au cours du temps) en raison du frottement de l'air. Cependant, cet amortissement peut être négligé lorsque les oscillations sont étudiées sur une courte durée telle que celle durant laquelle vous analyserez les tensions.

Matériel et équipement

- Le système utilisé dans l'expérience 2 - 1.1;
- Une bobine de 6000 tours (les 6000 tours de la bobine seront utilisés tout au long du travail);
- Pince à trois doigts pour fixer la bobine au support au moyen d'une noix de serrage;
- Deux câbles électriques avec une extrémité fiche banane et une extrémité pince croco appelés câbles électriques banane-croco ("pince-croco").
- Un voltmètre à connecter à une interface de la station d'enregistrement de laboratoire;
- Une interface Lab Cradle d'enregistrement de données à connecter à un ordinateur, à l'aide d'un câble mini USB vers USB;
- Un ordinateur
- porte mine

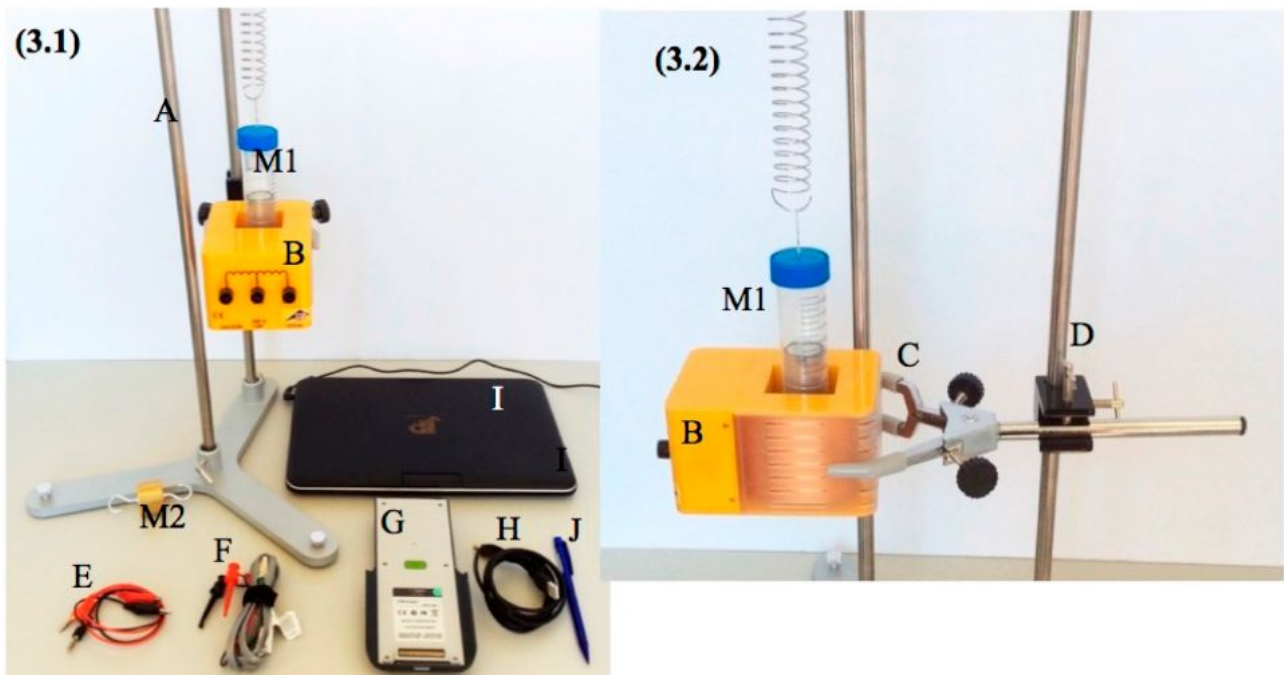
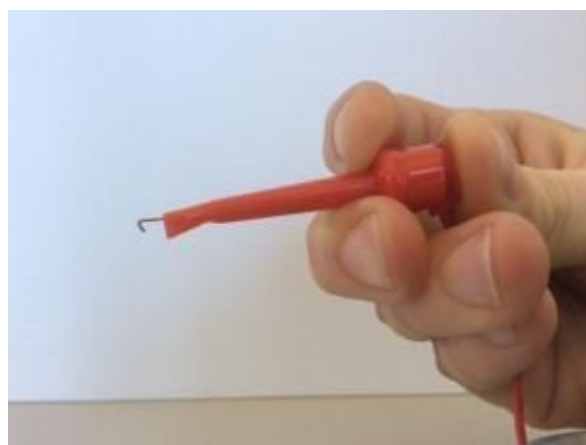


Figure 2 - 3 - (3.1) Matériel utilisé dans les expériences 2 - 1.2 et (3.2) détail de la position de la bobine : configuration utilisée dans 2 - 1.1 (A), bobine (B), pince à trois doigts (C), noix de serrage (D), tube en plastique contenant deux aimants (M1), masse avec crochets (M2), câbles électriques (E), voltmètre (F), interface Lab Cradle (G), câble mini USB vers USB (H), Ordinateur (I) et porte-mine (J).

Votre prototype de générateur de vagues sera piloté par les oscillations du système masse-ressort. Pour assembler le prototype, vous commencerez par le montage masse-ressort utilisée dans l'expérience 2 - 1.1. Ajoutez à ce montage la bobine de 6000 tours en la fixant avec une pince à trois doigts et une noix de serrage à la tige verticale (voir Figure 2 - 3.2). Cette bobine doit se trouver sous le ressort suspendu. L'axe du ressort et l'axe de l'espace vide central de la bobine doivent se trouver sur la même verticale (cf image 3.2). À l'extrémité inférieure du ressort, vous suspendrez M2 et / ou M1 (le tube en plastique contenant deux barreaux magnétiques).

Pour tester les performances de votre générateur de vagues, vous allez d'abord examiner sa tension de sortie en circuit ouvert dans différentes conditions d'oscillation mécanique. Pour cela, branchez la sonde de tension sur les bornes d'enroulement des 6000 tours de la bobine (utilisez les câbles électriques banane-croco). La façon de brancher la sonde de tension métallique est illustrée ci-dessous:



Connectez la sonde de tension à l'interface Lab Cradle (**non connectée** à la calculatrice TI-nspire), puis connectez cette interface à l'ordinateur. Connectez-vous à l'ordinateur en utilisant le nom d'utilisateur et le mot de passe inscrits dans la feuille d'instructions qui se trouve à côté, puis lancez le logiciel TI-Nspire CX CAS. Les instructions relatives au fonctionnement du système d'acquisition de données et du logiciel figurent à l'Annexe 4. Pendant les activités expérimentales, mettez le logiciel en mode graphique. Procédez comme suit :

1. Étirez le ressort ;
2. commencez l'acquisition de données en fonction de t ;
3. attendez que la ligne horizontale de référence apparaisse à l'écran ;
4. Lâchez le ressort et la tension commencera à être générée. La ligne horizontale vous fournira la référence (0 V) pour vos mesures de tension. En cliquant sur le tracé acquis et en utilisant les touches fléchées, vous pouvez lire les coordonnées des points sur votre graphique. Pour modifier les limites des axes, écrivez une nouvelle valeur par rapport à la valeur actuelle. Dans le menu "Fichier", enregistrez vos données afin de les consulter ultérieurement.

Question 1.2.1

Pour chaque condition d'oscillation mécanique (**définie ci-dessous de 1.2.1a à 1.2.1c**), caractérisée par une période (T) et une amplitude (A), procédez comme suit :

- Réglez la position du crochet de suspension du ressort (et de la pince de fixation de la bobine, si nécessaire) pour que : lorsque le système est au repos, l'un des aimants M1 à l'intérieur du tube se trouve au-dessus du sommet de la bobine et l'autre à l'intérieur de la bobine (voir Figure 2 - 3.2) ; les aimants peuvent osciller verticalement le long de l'axe de la bobine (dans la bobine).
- Étirez le ressort d'une distance A vers le bas. Pour régler A , vous pouvez utiliser l'échelle graduée sur le tube en plastique et l'extrémité supérieure de la bobine. Commencez une acquisition de données pendant environ 3 secondes (choisissez une fréquence d'échantillonnage de 200 samples/seconde). Lorsque la ligne de référence apparaît sur le graphique, relâchez le ressort pour obtenir des oscillations verticales. Vous observerez sur l'écran de l'ordinateur la tension de sortie ($V_{gen}(t)$).

Question 1.2.1a

Mettez en place la première condition d'oscillation mécanique (C1) en utilisant la masse M1 dans le système masse-ressort et en étirant le ressort de 3 cm. Analysez la tension de sortie du prototype de générateur de vagues dans cette condition C1.

- ◆ **Tracez le graphique de $V_{gen}(t)$ sur un intervalle de temps d'environ 1 s, en commençant par la valeur de référence, à la question 1.2.1a de la feuille de réponses (Préciser les échelles utilisées pour chaque axe).**
- ◆ **Dans votre croquis, indiquez la période de tension (T_V) et l'amplitude de la tension (V_0).**
- ◆ **Notez les valeurs de M , A , T_V et V_0 pour C1 dans le tableau 1.2 de la feuille de réponses.**

Question 1.2.1b

Mettre en oeuvre la condition d'oscillation mécanique (C2) en conservant M1 dans le système masse-ressort et en étirant le ressort de 2 cm. Analysez la tension de sortie du prototype de générateur de vagues avec cette condition C2.

- ◆ **Notez les valeurs de M , A , T_V et V_0 pour C2 dans le tableau 1.2 de la feuille de réponses.**

Question 1.2.1c

Mettre en oeuvre la condition d'oscillation mécanique (C3) en suspendant M1 à M2 dans le système masse-ressort et en étirant le ressort de 2 cm. Analysez la tension de sortie du prototype de générateur de vagues dans cette condition C3.

- ◆ **Notez les valeurs de M , A , T_V et V_0 pour C3 dans le tableau 1.2 de la feuille de réponses.**

Question 1.2.2

- ◆ **Indiquez dans le tableau 1.2 les valeurs de la période d'oscillation (T), pour chacune des trois conditions d'oscillation mécanique (C1, C2 et C3).**

Question 1.2.3

- (1) La période de la tension de sortie du prototype de générateur de vagues est donnée par ...
 [$T_V = aT$ ou $T_V = T$ ou $T_V = 1/T$ ou $T_V = T/a$, où a est un nombre supérieur à 1].
- (2) L'amplitude de la tension de sortie du modèle de générateur de vagues (V_0) augmente avec ...
 [T ou T/A ou A/T ou A].

❖ Complétez les deux phrases précédentes avec l'option entre crochets qui correspond le mieux à vos résultats de la question 1.2.3..

2 - 1.3. Stockage de l'énergie électrique

Pour utiliser l'énergie produite par le générateur de vagues (récupérée à partir des oscillations mécaniques), un système de captage d'énergie est nécessaire. Dans cette partie, vous allez construire un système de captage simple pour votre prototype de générateur de vagues. Ce système intègre un circuit redresseur en pont et un condensateur.

Matériel et équipement

- L'équipement utilisé dans la partie 2 - 1.2;
- Une plaquette blanche de connexion (A);
- Fils conducteurs minces (cavaliers);
- Une LED rouge;
- 4 diodes au germanium;
- Une résistance de 1000Ω ;
- Un condensateur de capacité $10\,000 \mu F$ (qui supporte une tension max de 16 V).

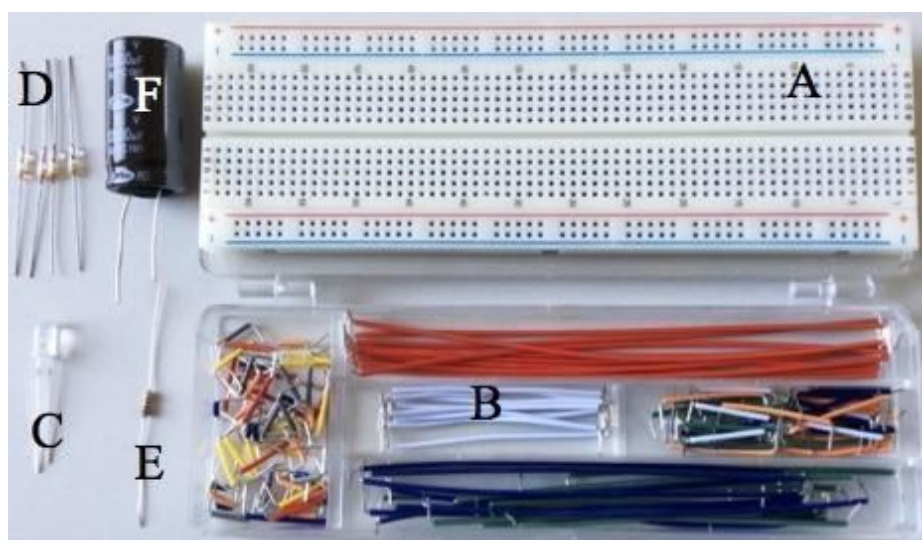


Figure 2 - 4 - Matériel pour réaliser le circuit électrique de captage : plaquette blanche de connexion (A), cavaliers (B), LED (C), diodes (D), résistance (E) et condensateur (F).

La plaquette blanche de connexion (voir Figure 2 - 5) est une base qui vous permet d'assembler facilement le circuit de captage. Les connexions entre les composants du circuit sont établies en insérant leurs fils de connexion (cavaliers) dans les trous appropriés de la plaquette de connexion. Certains des trous de la plaquette sont reliés électriquement par des bandes métalliques situées au bas de la plaquette, comme indiqué à la figure 2 - 5 par les lignes noires - mis à part les rangées horizontales de 5 broches, des ensembles connectés de 5 broches s'étendent verticalement sur les côtés.

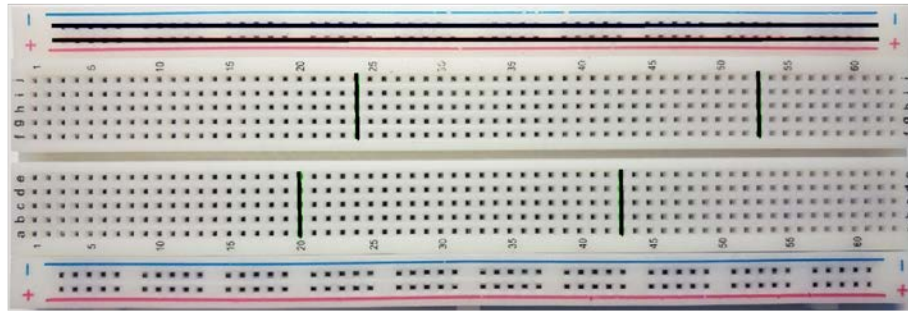
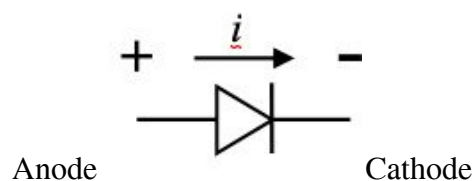


Figure 2 - 5 - plaquette de connexion pour l'ensemble du circuit électrique. Les lignes noires indiquent quels trous sont connectés électriquement.

Une diode est un composant polarisé électriquement avec deux bornes : une anode et une cathode (voir la figure ci-dessous). Le courant ne peut traverser la diode que si l'anode est polarisée positivement (connectée au pôle positif) et que la cathode est polarisée négativement (polarisation directe) et si la tension appliquée est supérieure à un seuil donné (environ 0,35 V pour les diodes au germanium que vous utiliserez). Si la polarisation est inversée, la diode se comporte comme un «interrupteur ouvert». Le symbole électrique pour une diode standard est décrit sur la figure ci-dessous, où la polarisation directe et la direction du courant sont également indiquées. Les diodes ont un côté plat : (= petite patte) indiquant la cathode (côté non passant pour le courant).


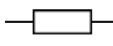
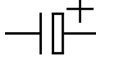
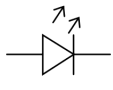


Un condensateur est un composant électrique qui peut être chargé en emmagasinant de l'énergie électrique. Lorsqu'un condensateur est à la tension V_C , il stocke l'énergie :

$$E_C = \frac{1}{2} C V_C^2,$$

où C est la capacité du condensateur, qui représente la capacité du condensateur à stocker une charge électrique.

Vous trouverez ci-dessous un tableau avec le symbole schématique d'un condensateur polarisé et des autres composants de circuit que vous allez utiliser, ainsi que des informations importantes concernant ces composants.

| Composant de circuit | Symbole | Description |
|---------------------------|---|---|
| Bobine |  | Une bobine est un fil conducteur enroulé. Les variations du courant dans une bobine entraînent des variations de l'environnement magnétique de la bobine qui entraînent un transfert d'énergie. |
| Résistance |  | Une résistance est un conducteur avec une valeur de résistance R. Pour une tension appliquée donnée, le courant traversant la résistance est inversement proportionnel à sa résistance. |
| Condensateur polarisé |  | Pour charger un condensateur polarisé, il convient de le placer correctement, avec la borne «+» marquée sur l'appareil reliée au potentiel le plus élevé. |
| Diode électroluminescente |  | Il s'agit d'un type de diode qui émet de la lumière lorsqu'un courant la traverse. La patte métallique la plus longue de la LED est l'anode et la LED doit être polarisé positivement pour que la LED émette de la lumière. |

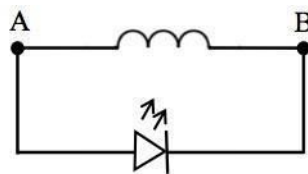
Le pont redresseur

Votre modèle de générateur de vagues peut fournir un courant alternatif (AC) qui inverse périodiquement le sens de circulation. Un courant continu (DC), qui ne circule que dans un sens, doit être utilisé pour stocker de l'énergie électrique dans un condensateur (sinon, le condensateur se chargera et se déchargera périodiquement). Un pont redresseur est un circuit qui convertit le courant alternatif en courant continu à l'aide de diodes.

Lorsque vous mesurez la tension entre deux points, connectez la borne noire de votre sonde de tension au point de potentiel le plus bas et la borne rouge au point de potentiel le plus haut.

Question 1.3.1

Connectez une DEL à la bobine de 6000 tours (utilisez les câbles électriques banane-croco) comme indiqué ci-dessous.



Connectez le voltmètre entre A et B - Utilisez M1 et imposez $A = 3$ cm (condition C1 également utilisée en 1.2.2a) au système masse-ressort. Commencez l'acquisition de données pendant 10 s.

- ◆ Tracez le graphique de $V_{gen}(t)$ sur un intervalle de temps d'environ 3 commençant par la valeur de référence, à la question 1.3.1 de la feuille de réponses (indiquer les échelles sur les axes).
- ◆ Sur votre croquis, indiquez les intervalles de temps correspondant aux deux premiers flashes émis par la LED.

Question 1.3.2

Comparez les croquis des encadrés 1.2.1.a et 1.3.1. Parmi les phrases suivantes, indiquez laquelle / lesquelles sont vraie(s) :

- (1) Lorsque le prototype de générateur de vagues est connecté à la LED, la période de $V_{gen}(t)$ diminue.
- (2) Lorsque le prototype de générateur de vagues est connecté à la LED, le système masse-ressort subit continuellement un amortissement dû à l'environnement magnétique créé par la bobine.
- (3) Lorsqu'un courant traverse la LED, une partie de l'énergie mécanique du système masse-ressort est transférée au champ électromagnétique de la bobine.
- (4) Contrairement au système masse-ressort, les vagues sont une source continue d'énergie mécanique.

◆ **Entourez les bonnes phrases sur la feuille de réponses, encadré 1.3.2**

Question 1.3.3

À partir de vos données, est-il possible de déterminer la valeur de la tension de seuil permettant d'allumer la LED ? Si oui, indiquez ce seuil.

◆ **Indiquez votre réponse sur la feuille de réponses, encadré 1.3.3.**

Question 1.3.4

Déconnectez la LED du prototype de générateur de vagues. Réalisez le circuit électrique correspondant au pont redresseur (**veillez à ne pas casser les diodes**) conformément au schéma de circuit suivant (utilisez la plaquette blanche de connexion). Puis connectez ce circuit à la bobine de 6000 tours (également illustrée dans le schéma). Si vous en avez besoin, vous pouvez obtenir une (et une seule) diode supplémentaire, mais vous perdrez des points (voir ci-dessous).

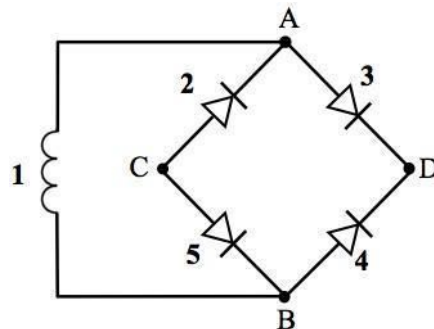


Figure 2 - 6 - Schéma du circuit redresseur en pont. Le circuit est composé de la bobine génératrice d'ondes (1) et de quatre diodes (2, 3, 4 et 5).

Question 1.3.4a

En plus des 4 diodes fournies, vous pouvez utiliser une diode supplémentaire (pour remplacer une diode cassée) en faisant la demande à l'assistant du laboratoire de physique. Vous ne pouvez pas utiliser plus d'une diode supplémentaire et si vous l'utilisez, vous perdrez 2 points si vous demandez à utiliser cette diode de rechange.

- ◆ **Si une extra-diode est utilisée, vous devez l'indiquer dans la feuille de réponses, case 1.3.4a. Vous et l'assistant de laboratoire allez signer pour certifier cette information. Vous allez perdre 2 points.**

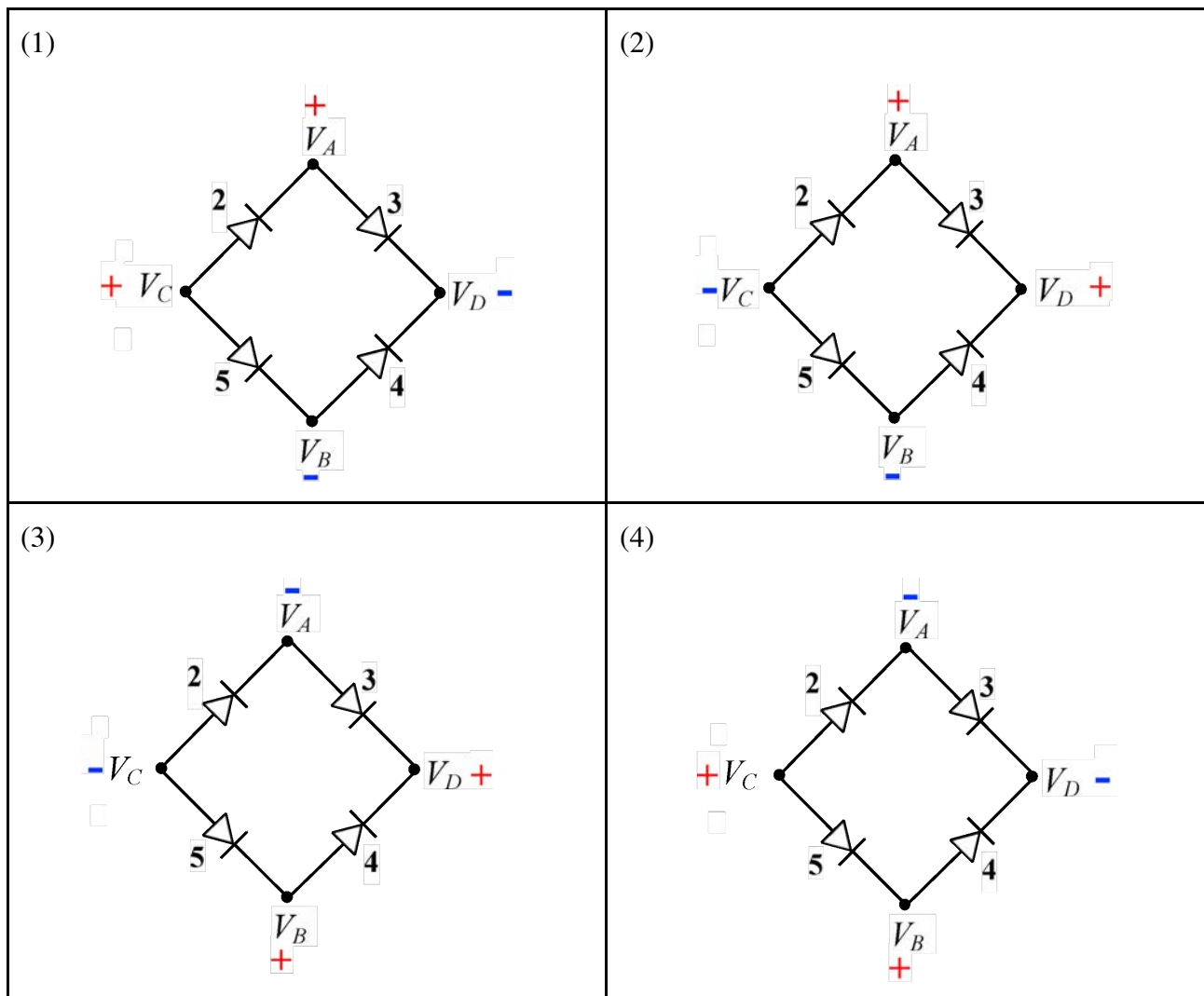
Question 1.3.4b

Branchez le voltmètre pour analyser pendant 2 secondes la tension entre les points A et B ($V_{gen}(t)$, partir de la référence) qui est générée lors de l'utilisation de M1 pour le système masse-ressort et en imposant $A = 3$ cm d'élongation au ressort. Répétez la procédure mais en branchant cette fois la sonde de tension entre les points C et D ($V_{bridge}(t)$).

- ◆ **Tracez les graphiques de $V_{gen}(t)$ et de $V_{bridge}(t)$ sur un intervalle de temps de 1 s en partant de la valeur de référence (indiquer les échelles sur les axes).**

Question 1.3.5

Dans les schémas suivants, les signes (+) et (-) indiquent la polarisation des tensions. Quel(s) diagramme(s) relie correctement la tension de sortie DC du pont (entre les points C (V_C) et D (V_D)) à la tension d'entrée AC du pont (entre les points A (V_A) et B (V_B))?



❖ Entourer le(s) numéro(s) des schéma(s) correct(s) dans la feuille de réponses, à la question 1.3.5

Chargement du condensateur

Vous utiliserez un condensateur électrolytique comme dispositif de stockage d'énergie électrique. Un tel composant a la capacité de stocker la charge électrique lorsqu'une tension est appliquée à ses bornes. Dans les expériences suivantes que vous allez effectuer avec le prototype de générateur de vagues, seule une faible charge électrique sera stockée. **Par conséquent, il est prudent de décharger le condensateur en reliant ses bornes avec un fil électrique (court-circuit). Utilisez cette procédure chaque fois que vous avez besoin de décharger votre condensateur.**

Question 1.3.6

Réalisez un circuit RC - le condensateur doit être branché en série avec la résistance (pour limiter le courant) - Puis connecter le circuit RC au redresseur en pont, comme indiqué dans la Figure 2. - 7.

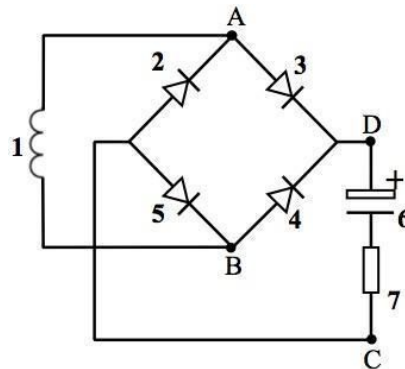


Figure 2 - 7 - Schéma électrique de branchement pour connecter le condensateur (6) et la résistance (7) en série, au pont redresseur.

Question 1.3.6a

Déchargez le condensateur en reliant ses bornes avec un fil électrique (court-circuit). Connecter le voltmètre puis observer pendant 10 s la tension entre les points A et B ($V_{gen}(t)$). Utilisez M1 et imposez $A = 3$ cm. Sauvegardez vos données.

- ◆ **Tracer les graphes de $V_{gen}(t)$ partir de la valeur de référence sur une durée de 3 s, à la question 1.3.6a sur la feuille de réponse (indiquer les échelles des axes).**

Question 1.3.6b

Déchargez votre condensateur. Connecter le voltmètre pour analyser pendant 10 s la tension du condensateur ($V_C(t)$). Utilisez M1 et imposez $A = 3$ cm.

- ◆ **Tracez les graphiques $V_C(t)$ en partant de la référence pour un intervalle de temps de 10 s, dans la case 1.3.6b de la feuille de réponses (inclure les échelles dans les axes).**

Quelle est la valeur (V_{CT}) atteinte par $V_C(t)$ après la première période d'oscillation?

- ◆ **Indiquez la valeur de V_{CT} sur le tracé et écrivez la valeur numérique sous le tracé dans la feuille de réponses, à la question 1.3.6.**

Question 1.3.7

Notez que les maxima de $V_{gen}(t)$ ont des valeurs décroissantes dans le temps, c'est-à-dire que l'amplitude de la tension diminue avec le temps. La décroissance de V_0 est approximativement exponentielle :

$$V_0(t) = V_1 \exp(-\gamma t) + V_2 \Leftrightarrow \ln(V_0 - V_2) = -\gamma t + \ln(V_1),$$

où V_1 , V_2 et γ sont des constantes. γ est le coefficient d'amortissement et caractérise la vitesse de perte d'énergie.

A partir de vos données expérimentales, déterminez la valeur de V_2 et un ensemble de couples (V_0, t) : voir tableau.

❖ **Notez les valeurs dans le tableau 1.3 de la feuille de réponses.**

Question 1.3.8

Utilisez le logiciel TI-Nspire (voir l'Annexe 4) pour créer deux «manual columns» avec les valeurs enregistrées en 1.3.7. Créer une «calculated column» avec les valeurs de $\ln(V_0 - V_2)$ et remplissez la dernière colonne du tableau 1.3.7. Tracer le graphe de $\ln(V_0 - V_2)$ en fonction du temps sur la calculatrice.

❖ **Remplissez le tableau 1.3 avec les valeurs calculées pour $\ln(V_0 - V_2)$.**

Question 1.3.9

Avec le logiciel TI-Nspire (voir l'Annexe 4), modélisez vos données par une droite de type linéaire.

❖ **Inscrivez les paramètres de l'équation de la droite et le coefficient de corrélation r^2 , fournis par le logiciel, sur la feuille de réponses, à la question 1.3.9.**

❖ **Donnez votre valeur γ dans la feuille de réponses, encadré 1.3.9.**

Question 1.3.10

Lorsque V_0 diminue, A (l'amplitude de l'oscillation mécanique du système masse-ressort) diminue également et le système masse-ressort perd de l'énergie. Les deux sont approximativement caractérisés par la même constante d'amortissement (γ):

$$A(t) = A_0 \exp(-\gamma t); \quad \text{où } A_0 \text{ est l'amplitude initiale.}$$

L'efficacité de conversion énergétique (η) de votre prototype de générateur de vagues fonctionnant dans les conditions ci-dessus pour le stockage d'énergie est le rapport entre l'énergie stockée dans le condensateur et l'énergie perdue par le système masse-ressort.

Calculez l'énergie stockée dans le condensateur (E_C) et l'énergie perdue par le système masse-ressort (ΔE_{elast}) au cours de la première période d'oscillation. Déterminez l'efficacité de conversion d'énergie correspondante (η).

❖ **Indiquez votre réponse dans la feuille de réponses, encadré 1.3.10.**

Question 1.3.11

En pleine mer, les vagues transfèrent de l'énergie en continu au translateur. Voyez-vous un moyen simple de faire la même chose avec votre système masse-ressort ? Mettez en œuvre votre idée afin d'augmenter la tension $V_C(t)$ jusqu'à 3 V. Puis, connectez le circuit RC à la LED pour l'allumer. La LED s'allume-t-elle pendant un moment ? Si c'est le cas, appelez l'assistant du laboratoire de physique pour le lui montrer.

❖ **Indiquez votre réponse dans la feuille de réponses, case 1.3.11. Si la réponse est oui, vous et l'assistant de laboratoire devez signer.**

EPREUVE 2 - 2.: ECOSYSTEMES MARINS: BIODIVERSITE ET RESSOURCES

Vous devez maintenant caractériser les populations de l'écosystème situé à proximité du générateur de vagues. Vous utiliserez ces échantillons biologiques prélevés en haute mer par Isabel et Vasco.

Cette tâche comporte une électrophorèse sur gel d'agar qui prend au moins une heure. Pour finir à temps, on recommande de commencer avec la section 2 - 2.1.: “ Identification taxonomique des bivalves”.

2 - 2.1. Identification taxonomique des bivalves

Introduction

Isabel et Vasco étaient particulièrement curieux des moules attachées à la structure du générateur de vagues. Ils ont essayé de les classer en utilisant des images à l'aide d'un guide et ont conclu que les moules devaient appartenir à l'espèce *Mytilus galloprovincialis* (*M. galloprovincialis*) ou à *Mytilus trossulus* (*M. trossulus*), qui peuvent facilement se croiser et produire des hybrides. Il est très difficile de distinguer *M. galloprovincialis* de *M. trossulus* en utilisant uniquement des caractéristiques morphologiques (Figure 2 - 2.1), mais il est facile de les distinguer en fonction de l'analyse de leur ADN. Isabel et Vasco demandent donc votre aide pour distinguer les échantillons. Ils ont découvert qu'il existe une différence significative entre *M. trossulus* et *M. galloprovincialis* dans un gène qui code pour une protéine du pied (protéine d'adhérence). Cette protéine est utilisée pour fabriquer les fils du byssus, que les moules utilisent pour se fixer à un substrat: chez *M. galloprovincialis*, il existe une délétion dans l'ADN qui code pour le gène de la protéine d'adhésion

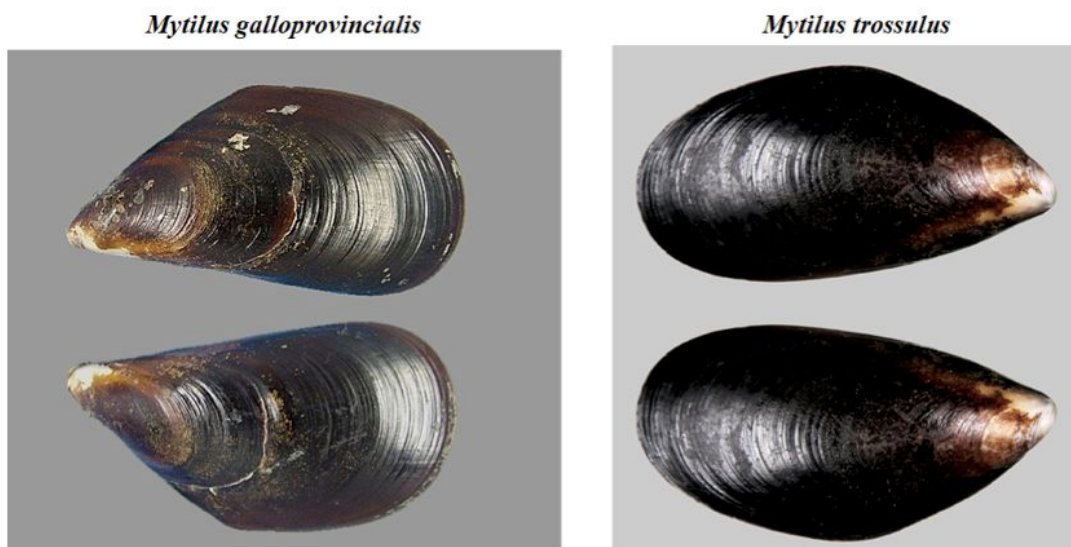


Figure 2 - 2.1 – Photographies de *Mytilus galloprovincialis* et *Mytilus trossulus*.

Si nécessaire utilisez le glossaire à l'appendix 5 (les mots dans le glossaire sont indiqués par un astérisque “ * ”).

En raison de la suppression de ce gène chez l'une des espèces, il est possible de discriminer les deux

espèces par PCR *, en utilisant des amorces spécifiques *: *M. trossulus* donne un fragment plus long (plus de paires de bases (pb)), alors que *M. galloprovincialis* donne un fragment plus court (moins de pb). Cette différence se distingue nettement par l'électrophorèse sur gel d'agarose.

Isabel et Vasco ont précédemment effectué la réaction PCR * en utilisant l'ADN de 3 moules différentes (A, B et C) recueillies sur un générateur et un mélange de deux paires d'amorces * (2 directe et 2 inverse). Une paire d'amorces * est spécifique pour amplifier un fragment du gène qui code pour la protéine adhésive - l'amplification peut donner lieu à des produits de différentes longueurs, en fonction de l'espèce de moule. L'autre paire d'amorces * amplifie une autre séquence d'ADN conservée chez les deux espèces, donnant naissance au produit unique plus court utilisé comme contrôle positif de la réaction.

Vous avez ces produits PCR * dans des tubes identifiés par A, B et C, conservés dans la glace. Pour visualiser et trier vos produits PCR *, vous devez effectuer une électrophorèse sur gel d'agarose avec une tache d'ADN (visible sous lumière UV).

En plus de vos produits PCR *, vous utiliserez également une échelle de masse molaire ADN * comme marqueur de taille.

Vous êtes invités à analyser les produits de PCR * résultant de l'amplification des ADN de moules attachées sur le générateur, afin d'aider Isabel et Vasco à identifier les moules collectées.

Matériel et équipement

- Boîte frigo avec 5 tubes: PCR produits à partir de l'ADN A, B ou C (marqué "A", "B" et "C"), échelle ADN (marquée "L") tampon de charge Orange G (marqué "LB")
- 10 tubes de 1.5 mL, dans un support
- Micropipettes: 1000 µL, 200 µL and 20 µL,
- Une boîte de pointes de micropipette 20-200 µL,
- Une boîte de pointes de micropipette 000 µL
- Appareil à électrophorèse sur gel avec un gel d'agarose 1.5% (m/v) et un tampon TBE 0.1X
- Erlenmeyer avec solution tampon TBE 0.1X (marqué "TBE 0.1X")
- Micro centrifuge, une pour deux équipes
- Boîtier à UV à partager avec d'autres équipes (dans un autre local – à utiliser avec l'aide d'un assistant)

Un quelconque matériel supplémentaire ci-dessus vous coûtera 5 points. Des échantillons supplémentaires d'ADN ou de gel d'agarose vous coûteront 10 points chacun.

2 - 2.1.1. Préparation des échantillons contenant les produits de PCR pour électrophorèse

1. Préparez les produits de PCR* (A, B et C) et l'échelle d'ADN suivant le schéma ci-après. Utilisez 4 tubes propres de 1.5 mL:

Tube I -15 µL de produit PCR de l' ADN A + 3 µL de tampon de charge Orange G *.

Tube II -15 µL de produit PCR de l' ADN A + 3 µL de tampon de charge Orange G *

Tube III -15 µL de produit PCR de l' ADN A + 3 µL de tampon de charge Orange G*

Tube IV: Echelle d'ADN - 15 µL d'échelle d'ADN + 3 µL de tampon de charge Orange G *

2. Demander l'aide d'un assistant pour réaliser la centrifugation des mélanges réactionnels à l'aide de la micro centrifuge.

2 - 2.1.2. Chargement des échantillons dans le gel d'agarose

Sur votre table, vous trouverez un appareil d'électrophorèse avec un gel à 1,5% (m/v) d'agarose immergé dans un tampon d'électrophorèse.

Si le gel n'est pas entièrement submergé, versez un peu plus de tampon dans le réservoir. Les puits doivent être totalement submergés.

Chargez les 18 µL de chaque échantillon du tube I au tube IV (ADN + tampon de charge *) dans les puits de votre gel en versant lentement l'échantillon au centre du puit. Après avoir chargé l'échantillon, retirez lentement la pointe de la pipette du puit en maintenant le distributeur pressé. Rejetez cette pointe et utilisez-en une nouvelle pour répéter le protocole pour l'échantillon suivant, en le chargeant dans le puit adjacent. Répétez le protocole pour tous les échantillons, y compris l'échelle d'ADN *. Veillez à charger soigneusement chaque échantillon dans un puit différent! La Figure 2 - 2.2 montre comment charger les puits.

Attention à ne pas endommager votre gel!

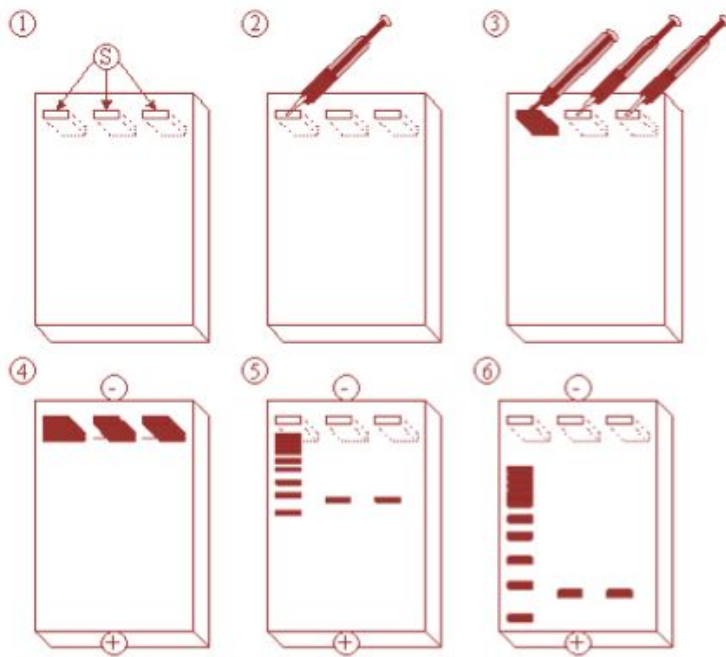


Figure 2 - 2.2 – représentation schématique de la technique d'électrophorèse. S – fentes/puits.

2 - 2.1.3. Lancement de l'électrophorèse

Question 2.1a

Avant d'exécuter l'électrophorèse, assurez-vous que tous les échantillons ont été chargés, que le gel est immergé dans le tampon et que les puits du gel sont proches de l'électrode noire. Placez le couvercle sur le plateau, comme il était auparavant, puis branchez-le pour exécuter l'électrophorèse. Vérifier la présence de bulles d'air au niveau de l'électrode. Sinon, appeler l'assistant pour de l'aide. Au bout de quelques minutes, vous devriez voir une bande orange migrer depuis le puit vers l'électrode rouge à l'extrémité du gel. Voir la figure 2 - 2.2.

Indiquez la légende de votre gel (position de chaque échantillon chargé) de chaque échantillon chargé de I à IV sur la feuille réponses. Attention: Tenir compte que le puit I est celui de gauche.

La figure 2 - 2.2 indique comment charger les puits.

❖ **Indiquez la légende de votre gel à la Question 2.1.a sur la feuille réponses.**

2 - 2.1.4. Analyse du gel

Après 1 heure, demandez de l'aide pour vérifier si vous pouvez arrêter l'électrophorèse.

A partir de la 3eme heure de l'expérience, vous devriez faire photographier votre gel. Entre temps on vous donnera la représentation schématique même si vous n'avez pas réussi votre

électrophorèse.

Une électrophorèse incomplète ou qui n'a pas fonctionné sera pénalisée.

Après avoir terminé l'électrophorèse, demandez à un assistant de vous accompagner vers un boîtier à UV. Là, vous pouvez vérifier la présence de bandes d'ADN dans votre gel.

1. L'assistant photographiera votre gel et joindra la photo à votre feuille de réponses.

Question 2.1b

Une photo de votre gel sera attachée à votre feuille réponses.

- ❖ **La photo de votre gel sera attachée à la Question 2.1.b de votre feuille réponses.**

2. À ce moment, l'assistant vous donnera une représentation schématique du gel. Cette image correspond aux mêmes produits de PCR exécutés dans les mêmes conditions que la vôtre. Utilisez cette image pour répondre aux questions 2.1c-2.1g de la feuille de réponses. Considérez que les deux espèces sont présentes dans les échantillons collectés.

Question 2.1.c

D'après l'image fournie (une représentation schématique), identifiez le numéro du puit dans lequel les produits de PCR de l'ADN de *M. trossulus* ont été chargés.

- ❖ **Sélectionnez l'option correcte dans la question 2.1.c de la feuille réponses.**

Question 2.1d

D'après l'image fournie, identifiez le numéro du puit dans lequel les produits de PCR de l'ADN de *M. galloprovincialis* ont été chargés.

- ❖ **Sélectionnez l'option correcte dans la question 2.1.d de la feuille réponses.**

Question 2.1e

Sur la base de ces résultats pensez-vous que Isabelle et Vasco ont collecté une moule hybride (un croisement entre *M. trossulus* et *M. galloprovincialis*) ?

- ❖ **Sélectionnez l'option correcte dans la question 2.1.e de la feuille réponses.**

Question 2.1f

Quels produits PCR sont appropriés pour choisir la réponse à la question 2.1e?

- ❖ **Sélectionnez l'option correcte dans la question 2.1.f de la feuille réponses.**

Question 2.1g

Sur la base de l'information de l'échelle d'ADN (annexe 5), remplissez le tableau en indiquant la

masse molaire approximative (nombre de paires de bases) de chaque bande, dans chaque échantillon (utiliser la figure 3 de l'annexe 5).

❖ **Indiquez votre réponse à la question 2.1.g sur la feuille réponses.**

Question 2.1h

Pour une résolution plus précise d'un échantillon d'ADN, quelle concentration de gel d'agarose devez-vous préparer?

❖ **Sélectionnez l'option correcte dans la question 2.1.h de la feuille réponses.**

Question 2.1i

A propos de la charge en ADN, choisissez l'option correcte.

❖ **Sélectionnez l'option correcte dans la question 2.1.i de la feuille réponses.**

2 - 2.2. Diversité de bactéries marines associée au dispositif à énergie mécanique créée par les vagues

En plus d'aider à la récolte d'êtres vivants multicellulaires, Isabel et Vasco ont également collecté des échantillons en grattant les structures du générateur de vagues. Leur groupe de recherche s'est intéressé à l'analyse des différentes populations bactériennes pouvant être fixées au générateur de vagues.

Matériel et équipement

- Un tube de 1,5 mL contenant un échantillon de bactéries marines (étiqueté «MB») sur le porte-tube
- Chambre de Neubauer avec lamelle,
- 1 Microscope optique,
- 3 Micropipettes: 1000 µL, 200 µL et 20 µL,
- 1 boîte d'embouts de micropipette 20-200 µL
- 1 boîte d'embouts de micropipette 1000 µL (partagés avec la tâche 2 - 3),
- Un flacon d'huile d'immersion (appelée «huile d'immersion»),
- 1 Calculatrice,
- 1 compteur manuel,
- Une boîte de Pétri contenant des bactéries marines «A» (étiquetées «A»)
- Une boîte de Pétri contenant des bactéries marines «B» (étiquetées «B»)
- Une lame colorée Gram avec l'isolat (un frotti bactérien) «A» (étiqueté «A»)
- Une lame colorée Gram avec l'isolat (un frotti bactérien) «B» (étiqueté «B»)
- 10 inoculateurs stériles,

- Un tube de 1,5 mL avec de l'eau oxygénée (H₂O₂)(3%, v / v) sur le porte-tube (étiqueté «H₂O₂»)
- 1 boîte de lames de verre propres,
- 1 paire de pinces Brucelle,
- 3 disques d'oxydase à l'intérieur d'une petite boîte de Pétri, (étiquetées «OX»)
- Un tube à essai contenant 5 ml de culture bactérienne "A" (étiqueté "A")
- Un tube à essai contenant 5 ml de culture bactérienne «B» (étiqueté «B»)

Tout matériel supplémentaire mentionné ci-dessus vous coûtera 5 points. Des échantillons de bactéries supplémentaires ou des lames colorées au Gram vous coûteront 10 points. Briser la chambre Neubauer vous coûtera 10 points.

2 - 2.2.1. *Dénombrement des cellules bactériennes*

Vous êtes maintenant invité à aider Isabel et Vasco! Tout d'abord, vous allez déterminer le nombre de cellules bactériennes recueillies à la surface du dispositif d'énergie des vagues. Pour ce faire, deux approches expérimentales (chambre de Neubauer et comptage de cellules viables) seront utilisées. À la fin, vous devriez pouvoir discuter des résultats en termes de nombre de bactéries comptées avec les deux méthodologies utilisées.

2 - 2.2.1.1. Cellules bactériennes totales (chambre de Neubauer)

Un échantillon («MB») recueilli sur le générateur d'énergie de vagues a été préalablement dilué à une concentration appropriée pour le comptage cellulaire (1:10).

Préparation de la lame et comptage cellulaire

1. Commencez par placer la lamelle propre sur la zone centrale de la chambre de Neubauer.
2. A l'aide d'une micropipette, mélanger l'échantillon par pipettage répétitif
3. À l'aide d'une micropipette, introduisez l'échantillon (~ 100 µL) dans la chambre de Neubauer. Pour ce faire, ajustez l'extrémité de la micropipette au bord de la chambre (dans la fente gauche de la chambre Neubauer) et libérez doucement le liquide jusqu'à ce que la chambre soit pleine (évitiez d'introduire des bulles d'air).
4. Placez la chambre sur la platine du microscope en effectuant une mise au point initiale avec un grossissement de 100 × (un carré entièrement central divisé en 25 petits carrés doit être observé)
5. Modifiez le grossissement à 400 ×. Vous devrez peut-être réduire la quantité de lumière en fermant le diaphragme du condenseur pour pouvoir voir les cellules. Effectuez le comptage dans 5 petits carrés (chacun divisé en 16 carrés plus petits) dans le grand carré central (Figure 2 - 2.3.).
6. Compter les cellules à l'aide du compteur de pointage

Suivez les critères: 1) Si les cellules se trouvent sur une ligne, incluez dans votre comptage celles des lignes supérieure et gauche et excluez celles des lignes inférieure et droite (Figure 2 - 2.3.); 2) Les cellules peuvent avoir tendance à s'agréger. Vous devriez éviter de compter ces agrégats.

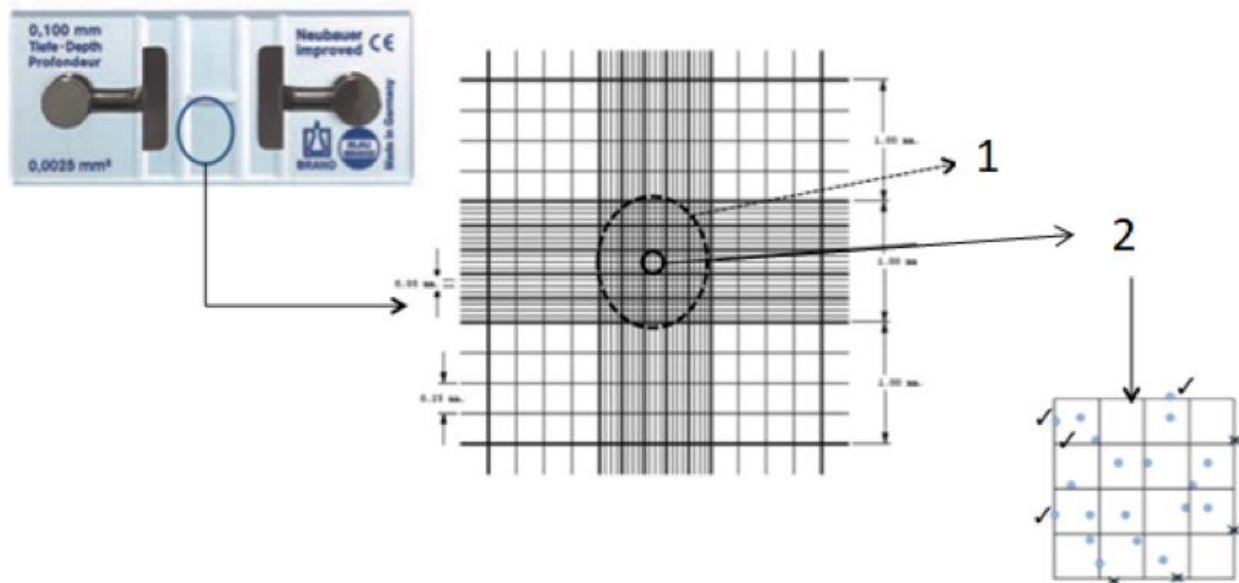


Figure 2 - 2.3 – Caractéristiques générales de la chambre de comptage à utiliser. 1 - Grand carré central (grossissement 100 ×); 2 - Petit carré (grossissement de 400 ×) (divisé en 16 carrés plus petits)

Question 2.2.a.

Utilisez les résultats obtenus pour remplir le tableau et calculer le nombre total de cellules par mL.

- ❖ **Utilisez les résultats obtenus pour remplir le tableau et calculer le nombre total de cellules par mL.**

2 - 2.2.1.2. Estimation de cellules bactériennes viables

Le même échantillon «MB», recueilli sur le générateur d'énergie de vagues, a été dilué en série avec de l'eau de mer stérile. Une méthode de multiplication des bactéries sur gélose a été utilisée pour l'estimation des bactéries viables. La gélose marine est utilisée comme milieu de culture; les plaques ont été inoculées (100 µL), puis incubées à température ambiante pendant 1 semaine. Les colonies ont été comptées pour chaque dilution et les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

| | Dilutions en série de l'échantillon "MB" | | |
|--------------------|--|-----------|-----------|
| | 10^{-3} | 10^{-4} | 10^{-5} |
| Nombre de colonies | 210 | 20 | 2 |

Question 2.2.b.

Calculer le nombre total de cellules viables par mL d'échantillon en exprimant les résultats par unité formant des colonies (CFU) par mL. Ecrivez vos calculs.

❖ **Écrivez la réponse à la question 2.2.b de la feuille de réponses.**

2 - 2.2.2. Coloration de Gram des bactéries récoltées sur le générateur d'énergie des vagues

La coloration de Gram est une technique de coloration qui différencie les bactéries en deux groupes principaux, à savoir les bactéries Gram – positives et les Gram – négatives. Le protocole est basé sur la capacité des bactéries à conserver la couleur des colorants utilisées. Les bactéries à Gram négatif sont décolorées par l'alcool, perdant la couleur violette présente dans le mélange de colorants. Les bactéries à Gram positif ne sont pas décolorées par l'alcool et resteront aussi violettes. Après décoloration, un contre-colorant est utilisé pour conférer une couleur rose (safranine) aux organismes à Gram négatif décolorés (Figure 2 - 2.4.).

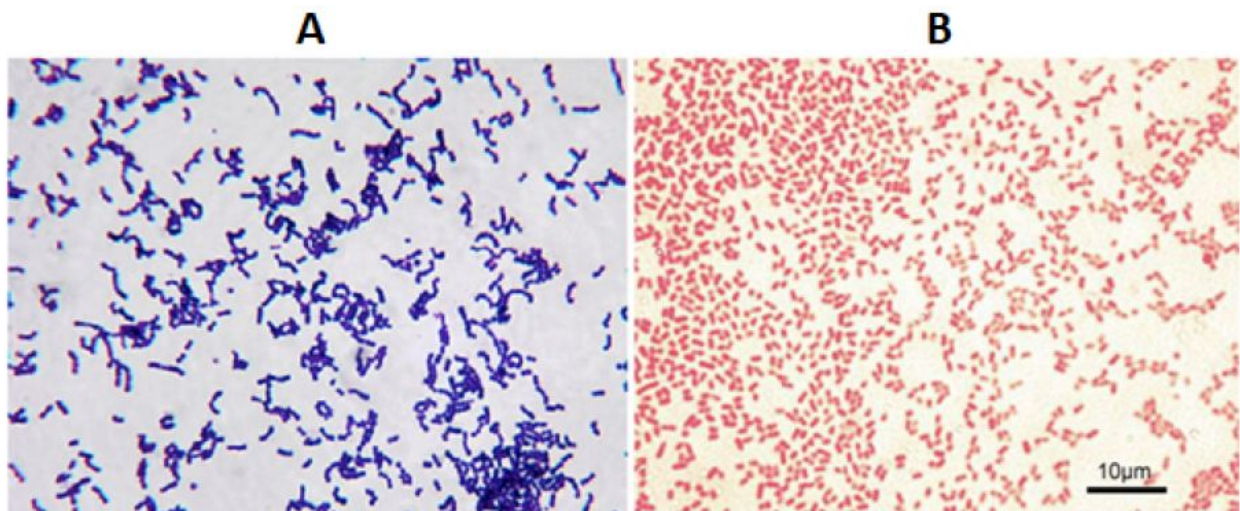


Figure 2 - 2.4 – Coloration de Gram des bactéries à Gram positif (A) et à Gram négatif (B).
Photo obtenue de microbe.org

Les cultures pures des bactéries les plus abondantes isolées du générateur d'énergie de vagues ont été étalées et cultivées sur des boîtes de Pétri de gélose marines. Deux des plus représentatives sont disponibles sur votre table (désignés par les colonies de bactéries «A» et «B»). La coloration de Gram de chaque colonie de bactéries a déjà été réalisée (lames «A» et «B»). Observez les deux lames au microscope.

2 - 2.2.2.1. Observation au microscope des lames

Concentrez-vous et observez les lames en utilisant d'abord les objectifs (10 ×, 40 ×). Pour l'objectif (100 ×), ajoutez l'huile directement sur le frottis (immersion dans l'huile) et refaites la mise au point avec la vis micrométrique.

Question 2.2.c.

Utiliser un stylo pour dessiner les cellules bactériennes observées avec l'objectif 100 ×.

Les dessins d'observations devront mettre en évidence la réaction de Gram, la morphologie et la disposition des microorganismes. Pour interpréter vos résultats, prenez en compte les photos représentatives des bactéries à Gram positif et à Gram négatif de la Figure 2 - 2.4.

❖ **Écrivez votre réponse à la question 2.2.c de la feuille de réponses**

2 - 2.2.3. Caractérisation biochimique des bactéries associées au générateur d'énergie de vagues

Pour effectuer les tests biochimiques, utilisez les deux souches bactériennes marines («A» et «B») sélectionnés précédemment, qui sont cultivés sur des boîtes de Pétri de gélose marine.

2 - 2.2.3.1. Test de la catalase (dosage des antioxydants)

Ce test est utilisé pour démontrer l'activité de l'enzyme catalase, nécessaire pour convertir l'eau oxygénée (H_2O_2) en oxygène et en eau. La présence de l'enzyme est déterminée lorsque l'inoculation (=l'introduction) de bactéries dans H_2O_2 provoque une effervescence immédiate (libération de O_2 observée par la formation de bulles).

1. Avec un inoculateur stérile, placez une petite quantité de la culture bactérienne (prélevée dans la boîte de Pétri) sur une lame de verre propre.
2. Ajoutez quelques gouttes de H_2O_2 (3%, v / v) et surveillez la production de bulles dans la suspension (présence d'effervescence; libération d' O_2). Si aucune bulle n'est produite, le test est négatif pour l'activité de la catalase. Comparez vos résultats avec les photos de référence de la Figure 2 - 2.6
3. Effectuez ce protocole pour les deux cultures "A" et "B"

Question 2.2.d

Notez les résultats de vos expériences dans le tableau en utilisant un (+) pour un test positif et un (-) pour un test négatif.

❖ **Écrivez la réponse à la question 2.2.d de la feuille de réponses**

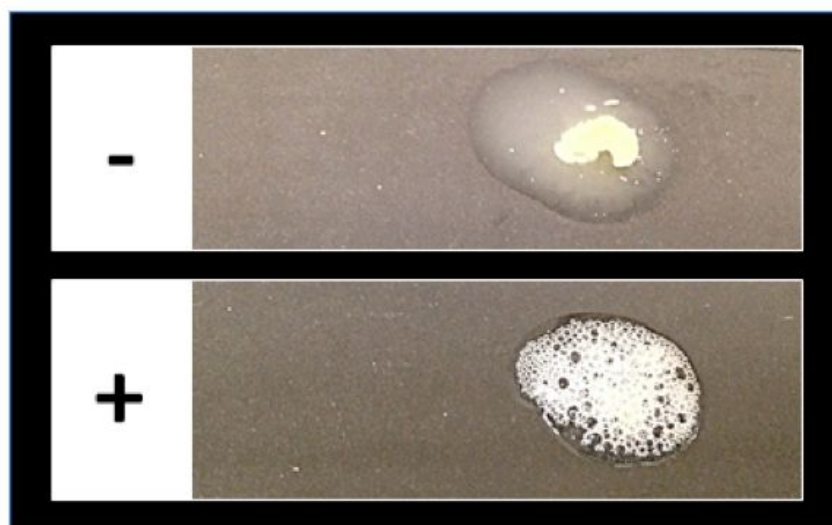


Figure 2 - 2.5 – Test de la catalase montrant des résultats négatifs (-) et positifs (+).

2 - 2.2.3.2. Oxydase test

Ce test est utilisé pour démontrer l'activité de l'enzyme cytochrome c oxydase, impliquée dans l'étape finale de la chaîne respiratoire de transfert d'électrons. La présence de l'enzyme est déterminée lorsque l'inoculation (=l'introduction) de bactéries provoque l'oxydation du substrat (dichlorhydrate de tétraméthyl-p-phénylènediamine) en indophénol (un produit de couleur violet foncé).

1. Placez un disque d'oxydase (OX) sur une lame avec une pince à épiler, puis à l'aide d'un inoculateur prélevez une petite quantité de la culture bactérienne en grattant délicatement la surface du milieu et placez là sur le disque.
2. Observez le résultat (test positif indiqué par l'apparition d'une couleur pourpre foncé; une colonie bactérienne produit l'enzyme). La réaction est observée dans les 2 minutes qui suivent à température ambiante. Comparez vos résultats avec les photos de référence de la Figure 2 - 2.6.
3. Effectuez ce protocole pour les deux cultures "A" et "B".

Question 2.2.e

Notez les résultats de vos expériences dans le tableau en utilisant un (+) pour un test positif et un (-) pour un test négatif.

❖ **Écrivez la réponse à la question 2.2.e de la feuille de réponses**



Figure 2 - 2.6 – Test à l'oxydase montrant des résultats négatifs (-) et positifs (+).

2 - 2.2.3.3. Formation du biofilm

Un protocole permettant de déterminer la capacité des bactéries à produire des biofilms est appelé le bio-essai «à microcosmes statiques». Des biofilms sont observés à l'interface air-liquide dans un tube en verre contenant 5 mL de milieu de culture (bouillon marin) préalablement inoculé avec 50 µL d'une culture bactérienne fraîchement cultivée (pendant la nuit). Les tubes sont mis à incuber pendant 1 jour, sans agitation, à 22 °C, après quoi la production de biofilm à l'interface air-liquide peut être détectée à l'œil nu ou, alternativement, à l'aide d'un inoculateur.

1. Observez attentivement chacun des deux microcosmes statiques (tubes à essai) fournis, inoculé

avec la colonie de bactéries A et la colonie de bactéries B.

Existe-t-il une sorte de masse cellulaire identifiable à l'interface air-liquide à l'œil nu?

2. Touchez l'interface air-liquide de chaque microcosme statique (colonies de bactéries A et B) à l'aide d'un inoculateur stérile et notez si le matériel cellulaire peut ou non être récupéré à la surface du milieu liquide. Si oui, le microcosme peut être considéré comme biofilm positif.

3. Effectuez ces protocoles pour les deux cultures "A" et "B".

Question 2.2.f

Notez les résultats de vos expériences dans le tableau en utilisant un (+) pour un test positif et un (-) pour un test négatif.

v Écrivez la réponse à la question 2.2.f de la feuille de réponses

Question 2.2.g.

Laquelle des options est un inconvénient pour le comptage microscopique direct des cellules bactériennes?

❖ **Sélectionnez l'option appropriée dans la question 2.2.g de la feuille de réponses.**

Question 2.2.h.

Dans une technique de numération sur boîte de Pétri, chaque... représente un... à partir de l'échantillon bactérien.

❖ **Sélectionnez l'option appropriée pour remplir les espaces (...) à la question 2.2.h de la feuille de réponses**

Question 2.2.i.

Quel est le nom de la période entre l'inoculation de bactéries dans un milieu de culture et le début de sa multiplication?

❖ **Sélectionnez l'option appropriée dans la question 2.2.i de la feuille de réponses**
Question 2.2.j

Quelle est la composition d'une paroi cellulaire bactérienne?

❖ **Sélectionnez l'option appropriée dans la question 2.2.j de la feuille de réponses**

Question 2.2.k

Quel composant cellulaire est différencié par la technique de coloration de Gram?

❖ **Sélectionnez l'option appropriée à la question 2.2.k de la feuille de réponses.**

Question 2.2.l.

Quels sont les deux composants cellulaires qui existent chez les bactéries?

❖ **Sélectionnez l'option appropriée à la question 2.2.l de la feuille de réponses**

Question 2.2.m.

Qu'est-ce que la catalase?

❖ **Sélectionnez l'option appropriée à la question 2.2.m de la feuille de réponses**

Question 2.2.n.

Pourquoi la production de biofilms par des bactéries marines peut-elle être avantageuse?

❖ **Sélectionnez l'option appropriée à la question 2.2.n de la feuille de réponses**

EPREUVE 2 - 3: POTENTIEL BIOTECHNOLOGIQUE DES ALGUES VERTES ET ROUGES

Introduction

Les métaux lourds sont des polluants majeurs dans les eaux marines, souterraines, industrielles et même dans les eaux traitées. L'absorption de métaux lourds sur des matières biologiques vivantes ou mortes (biosorption) est une méthode potentielle pour éliminer ou récupérer les métaux toxiques et précieux des eaux usées. La biosorption des métaux peut être obtenue avec succès par une variété de matières biologiques, y compris des microalgues et des algues maritimes.

Ici, vous aiderez Vasco et Isabel à évaluer le potentiel biotechnologique de deux algues collectées à proximité du prototype du générateur de vagues. Vous testerez le potentiel des algues en tant que nouveaux matériaux pour la biosorption des métaux. Le zinc sera le métal testé.

Les algues vertes *Ulva* sp. et les algues rouges *Gymnogongrus* sp. ont été collectées. Ces algues ont été soigneusement débarrassées de tout corps étrangers, soigneusement lavées, séchées au four à 60 °C pendant 72 heures, puis broyées. Les algues ont été stockées dans une paille réfrigérante et dans un flacon bouché.



Figure 2 -- 3.1 Algue verte *Ulva* sp. et des algues rouges *Gymnogongrus* sp.

2 - 3.1. Isothermes de biosorption

Vous déterminerez la capacité d'absorption des ions zinc par les algues rouges et vertes. L'objectif est de déterminer les algues les plus susceptibles d'être utilisées dans une station de traitement d'eau pour traiter une eau contaminée par des métaux lourds. Pour cela, vous devrez évaluer la quantité de zinc pouvant être absorbée par les algues. Vous préparerez des solutions de zinc à différentes concentrations et utiliserez des échantillons d'algues vertes et rouges, vous les mélangerez pendant un certain temps avec différentes solutions, puis vous quantifierez les ions zinc finaux en solution.

Matériel et équipement

- Flacons de 50 mL avec 0,050 g d'algues vertes séchées : 6 pièces
- Flacons de 50 mL avec 0,050 g d'algues rouges séchées : 6 pièces
- Pipettes jaugées : 100,00 mL, 25,00 mL, 20,00 mL : 1 pièce de chaque
- pipettes jaugées : 50,00 ml, 10,00 ml : 2 pièces de chaque
- Pipettes jaugées : 5,00 ml : 3 pièces
- Pipettes en plastique : 3 pièces
- Poire pour pipeter : 1 pièce

- Micropipettes : 1000 μL , 200 μL et 20 μL , une pièce de chaque
- embouts pour micropipette de 20-200 μL (une boîte avec 96 pointes)
- embouts pour micropipette de 1000 μL (une boîte avec 96 pointes (partagé avec Tâche 2 - 2.2))
- Burette de 25,00 mL, une pièce
- Fioles jaugée de 250,00 mL, 5 pièces
- Fioles jaugée de 10,00 mL, 4 pièces
- Bécher poubelle de 500 mL, 2 pièces
- Erlenmeyer de 100 mL, 2 pièces
- Béchers de 25 mL, 6 pièces
- Entonnoir de diamètre 4 cm \varnothing , une pièce
- agitateur magnétique, 2 pièces
- barreau d'agitation magnétique, 12 pièces
- 1 Cuvette en plastique de 2 mL, d'une largeur de 1 cm, 30 pièces
- 1,5 mL de solution de Zincon : 1.3 g.L^{-1} , appelée « **Zincon** »
- 500 mL de solution mère de zinc (II), appelée « **Sol P** »
- 50 mL de solution d'EDTA : 0,010 mol.L^{-1} appelée « **0,010 mol.L⁻¹ EDTA** »
- 50 mL de solution de MgCl_2 : 0,0050 mol.L^{-1} , appelée «**0,0050 mol.L⁻¹ MgCl₂**»
- noir ériochrome T solution, 5 mL, appelée «**ErioT**»
- 20 mL de solution de carbonate-bicarbonate de sodium ($\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$), = Solution tampon à pH = 10,5, étiquetée comme « **Na₂CO₃/ NaHCO₃ pH 10,5** »
- 5 mL de solution saline de borate de sodium ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) = Solution tampon à pH = 9,0, appelée «**Na₂B₄O₇ pH 9**»
- pissettes de 500 mL d'eau distillée étiquetée comme « **H₂O** » (peut être remplie sans pénalité) , 2 pièces
- colorimètre, une pièce
- calculatrice TINspire CX, une pièce
- calculatrice scientifique TI-30X,1 pièce (plateau du groupe)
- horloge de la salle, 2 pièces

En cas de déversement d'un produit chimique ou de bris de la verrerie, demandez son remplacement à un superviseur.

Tout matériel de laboratoire supplémentaire vous coûtera 5 points, sauf indication contraire. Un échantillon d'algues supplémentaire ou une solution vous coûtera 10 points.

2 - 3.1.1. Échantillons pour détermination quantité de Zn (II)

Préparation des solutions étalons de Zn (II) de concentration connue

À l'aide de la solution mère de zinc (II) (**Sol P**), vous allez préparer 5 solutions diluées selon les valeurs indiquées dans le tableau ci-dessous dans des fioles jaugées de 250,00 mL.

| <i>Dilution de la solution mère de zinc II (Sol P)</i> | | | | |
|--|-----|------|------|------|
| 2,5 × | 5 × | 10 × | 25 × | 50 × |

Question 3.1.1

Calculez le volume de solution **Sol P** nécessaire pour préparer chacune des solutions de Zn (II) diluées.

- ❖ **Dans le tableau 3.1.1 de la feuille de réponses, indiquez les volumes de Sol P que vous avez utilisés pour la préparation de chaque étalon de zinc (II).**

La concentration en SolP n'est pas connue jusqu'à sa détermination dans la partie 2 - 3.1.2.

- Étiquetez les fioles jaugées de 250,00 mL qui vont contenir les solutions diluées de la façon suivante : (2,5 × ; 5 × ; 10 × ; 25 × ; 50 ×)
- En utilisant la poire (voir **Annexe 7**) et la pipette appropriée, transférez le volume nécessaire de **Sol P** dans chacune des fioles jaugées de 250,00 mL.
- Ajoutez de l'eau distillée dans la fiole à environ un cm en dessous du trait de jauge. Remplissez la fiole précisément jusqu'au trait de jauge à l'aide d'une pipette en plastique et homogénéisez.

Utilisation des 6 échantillons d'algues vertes et 6 rouges:

- Étiquetez 6 des flacons de 50 mL contenant 0,050 g d'algues vertes ou rouges de façon suivante: **Sol P** ; 2,5 × ; 5 × ; 10 × ; 25× ; 50 ×.
- Ajoutez avec la pipette jaugée, 50 mL de la solution mère d'ions zinc (II), appelée « **Sol P** » dans le flacon étiqueté **Sol P**. Faites de même pour chacune des solutions étalons (diluées) de zinc (II) préparées précédemment en les mettant dans le flacon approprié : 2,5× ; 5× ; 10× ; 25× ; 50×. Vous devrez préparer un total de 12 flacons : 6 flacons de concentrations différentes (**Sol P** ; 2,5 × ; 5 × ; 10 × ; 25× ; 50 ×) pour chaque algue (**verte et rouge**).

Utilisez la même pipette jaugée de 50 mL pour toutes les solutions. Vous n'avez pas besoin de nettoyer la pipette entre les prélèvements si vous commencez par la solution la plus diluée. Ainsi : commencez par prélever 50 mL de la solution la plus diluée (50x) dans les flacons d'algues vertes et rouges, puis prenez 50 mL de la dilution suivante (25x) et procédez de la même manière jusqu'à la dilution la plus faible (SolP) (cela correspond au niveau de dilution le plus faible).

| ordre de pipetage | | | |
|----------------------|--------------|----------------------|--------------|
| algues rouges | | algues vertes | |
| Flacon | Volume mL | Flacon | Volume mL |
| 50 × | 50 | 50 × | 50 |
| 25 × | 50 | 25 × | 50 |
| 10 × | 50 | 10 × | 50 |
| 5 × | 50 | 5 × | 50 |
| 2,5 × | 50 | 2,5 × | 50 |
| <i>Sol P</i> | 50 | <i>Sol P</i> | 50 |

3. Mettez un aimant dans chacun des flacons, placez les dans le récipient sur l'agitateur magnétique et agitez-les continuellement pendant **au moins 90 minutes** (horloges au mur) à température ambiante à l'aide de l'agitateur magnétique.

**NE PAS allumer la plaque chauffante de l'agitateur magnétique !
L'expérience doit être faite à la température ambiante.**

Pendant que vous attendez au minimum 90 minutes, passez à la partie 2 - 3.1.2 pour la détermination de la concentration en Zn (II) de la solution P.

4. Après au moins 90 minutes et une fois **la partie 2 - 3.1.2 terminée**, arrêtez l'agitation et attendez que les particules d'algues se déposent au fond du flacon. Passez à la partie **2 - 3.1.4** pour la quantification des métaux.

2 - 3.1.2. Détermination de la concentration d'une solution mère de zinc (II) (*Sol P*)

La solution mère d'ion zinc (II) (**Sol P**) a été préparée en dissolvant une masse précise de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dans l'eau avec une fiole jaugée de 500 mL.

La masse de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ était inscrite sur l'étiquette du flacon, mais malheureusement, l'étiquette de la solution a été endommagée et il n'est pas possible de connaître la masse de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ utilisée pour préparer la solution.

On cherche à déterminer laquelle des quatre masses (a à d) a été utilisée pour préparer la solution :

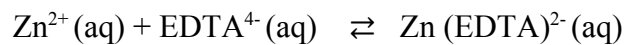
- a) 12,50 mg
- b) 125,0 mg
- c) 1,250 g
- d) 12,50 g

Pour cela, vous allez effectuer un titrage complexométrique des ions Zinc (II) par l'EDTA avec du

MgCl₂. Vous déterminerez une concentration approximative de Zn (II) en mol.L⁻¹ puis mg.L⁻¹ dans **Sol P** et vous devrez donc choisir la valeur la plus proche de la liste ci-dessus.

Vous utiliserez un réactif chimique qui forme un complexe avec les ions zinc (II) pour déterminer la concentration en zinc de la solution. L'agent de complexation est l'acide éthylènediamine tétraacétique, abrégé en EDTA. Cet ion a la capacité de «s'accrocher» autour des ions métalliques positifs. Ce processus s'appelle la complexation. La réaction de complexation entre l'EDTA et de nombreux ions métalliques. **1 mole d'EDTA réagit avec 1 mole d'ion zinc (II) (Zn²⁺)**.

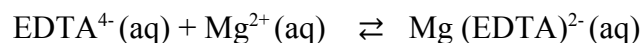
La réaction en solution aqueuse des ions zinc (II) avec l'EDTA est la suivante :



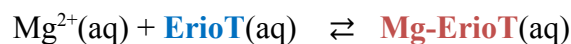
Pour détecter la fin du titrage, un indicateur métallochrome est utilisé. Les indicateurs métallochromiques sont des composés organiques à l'origine de couleurs différentes lorsqu'ils sont complexés avec des ions métalliques. Dans cette expérience, l'indicateur utilisé est le noir d'ériochrome T (**ErioT**). Quand il est libre, cet indicateur a une couleur bleue alors que quand il est complexé avec Mg²⁺ la couleur devient violette.

Un excès d'EDTA est ajouté à la solution étalon d'ions de zinc II (**Sol P**) pour s'assurer que tous les ions zinc II sont complexés. Vous ajouterez également 20 µL d'**ErioT** et la solution devient bleue car l'**ErioT** est libre en solution.

L'excès d'EDTA sera ensuite dosé avec une solution de concentration connue en MgCl₂. Le magnésium réagit avec l'EDTA.



Dès que tout l'excès d'EDTA est complexé avec du magnésium, l'excès de magnésium ajouté va réagir avec **ErioT** en formant un complexe rose.



À ce stade, la couleur de la solution passe du **bleu** au **violet**. **Le nombre de moles de MgCl₂ ajouté jusqu'à ce que l'indicateur change de couleur est égal au nombre de moles d'EDTA en excès par rapport aux ions Zinc (II)**.

Si on connaît le nombre total de moles d'EDTA ajouté à la solution et le nombre de moles de MgCl₂ utilisées pour le titrage de l'EDTA non complexé, il est possible de calculer le nombre de moles d'ions zinc et la concentration de Sol P.

2 - 3.1.3. Titration de Sol P

Utilisez l'entonnoir pour remplir la burette au-dessus du repère de 0,00 mL avec la solution de MgCl₂ à 0,0050 mol.L⁻¹. Éliminez l'excès de solution (dans le bécher poubelle) de sorte que la burette soit remplie avec précision jusqu'au repère de 0,00 mL.

Remarque: **Vérifiez** que la partie effilée de la burette est remplie (au niveau du robinet).

Préparer **deux** erlenmeyers de 100 mL

Dans chacun des erlenmeyers, ajoutez les solutions suivantes :

1. Avec une pipette jaugée de 5,0 mL, introduire 5,0 mL de solution **Sol P** dans l'erlenmeyer.

2. Avec une pipette jaugée de 10,0 mL, ajouter 10,0 mL de solution d'EDTA à 0,010 mol.L⁻¹.
3. Avec une pipette jaugée de 5,0 mL, ajoutez 5,0 mL de la solution tampon de carbonate de sodium et de bicarbonate de pH=10,5 : «Na₂CO₃/ NaHCO₃ pH 10,5».
4. Avec la micropipette de 20 µL, ajoutez 20 µL de solution de **ErioT**. Agitez manuellement.

Remarques importantes pour le titrage :

- Vous devez effectuer deux titrages, un premier titrage approximatif pour déterminer un encadrement du volume équivalent (dès que la solution vire du **bleu** au **violet**) et un deuxième titrage pour déterminer avec précision l'équivalence.
- Lors du premier titrage mL par mL, utilisez la couleur de la solution du second erlenmeyer comme témoin pour la couleur bleue initiale de la solution. Elle vous aidera à déterminer l'équivalence. Repérez l'équivalence.
- Lors du deuxième titrage, ajoutez des petites quantités de la solution de MgCl₂ à proximité du point équivalent et repérez l'équivalence à la goutte près.
- Aucune goutte de la solution de MgCl₂ après addition ne doit rester sur les parois de l'erlenmeyer. Cela pourrait être une source d'erreur.
- Agitez l'erlenmeyer manuellement entre les ajouts de MgCl₂.

Question 3.1.3.a

Notez le volume de MgCl₂ correspondant à l'équivalence du titrage.

◆ Entrez le volume de MgCl₂ à la question 3.1.3a de la feuille de réponses.

Question 3.1.3.b

Calculez le nombre de moles d'ions zinc (II) : Zn²⁺ dans 1,0 L de la solution **Sol P**. Vous devez indiquer la valeur avec 5 décimales (cette quantité est appelée molarité de la solution et est exprimée en mol.L⁻¹).

◆ Entrez vos calculs et votre résultat à la question 3.1.3.b de la feuille de réponses.

Question 3.1.3.c

En utilisant les résultats de votre titrage et vos calculs, choisissez dans la liste ci-dessous la masse de ZnSO₄·7H₂O qui a été utilisée pour préparer **0,500 L** de la solution étalon d'ions zinc (II) (**Sol P**).

- a) 12,50 mg
- b) 125,0 mg
- c) 1,250 g
- d) 12,50 g

◆ Encerclez votre choix à la question 3.1.3.c de la feuille de réponses.

Question 3.1.3.d

A l'aide de la valeur choisie à la **question 3.1.3.c**, calculez la masse d'ions zinc (II) (en mg) dans **1,0 L** de **Sol P**. Vous devez indiquer la valeur avec 1 décimale. Cette valeur est la concentration de **Sol P** en mg.L⁻¹.

- ❖ Inscrivez vos calculs et votre résultat à la question 3.1.3.d de la feuille de réponses.

Question 3.1.3.e

- ❖ Calculez la concentration initiale de Zinc (II) (C_i) dans les flacons de 50 mL. Reportez les valeurs calculées C_i dans la feuille de réponses, dans les tableaux 3.1.3.e et 3.1.5.a et 3.1.5.b.

Vérifiez votre horloge et soyez conscient du temps restant pour l'expérience de biosorption. Pour terminer dans les temps, utilisez le temps disponible qu'il vous reste pour lire attentivement la partie 2 - 3.1.4. et 2 - 3.1.5. Préparez le matériel et effectuez tous les calculs auxiliaires.

2 - 3.1.4. Quantification des métaux

La concentration en ions Zn (II) libres dans les solutions aqueuses de zinc-algues est déterminée par spectrophotométrie. Le zinc forme un complexe bleu avec du zincon dans une solution tamponnée à pH 9,0. La concentration minimale détectable est de 0,02 mg.L⁻¹ d'ions Zn (II). L'absorbance du complexe bleu zinc-zincon dans les solutions est lue à 635 nm.

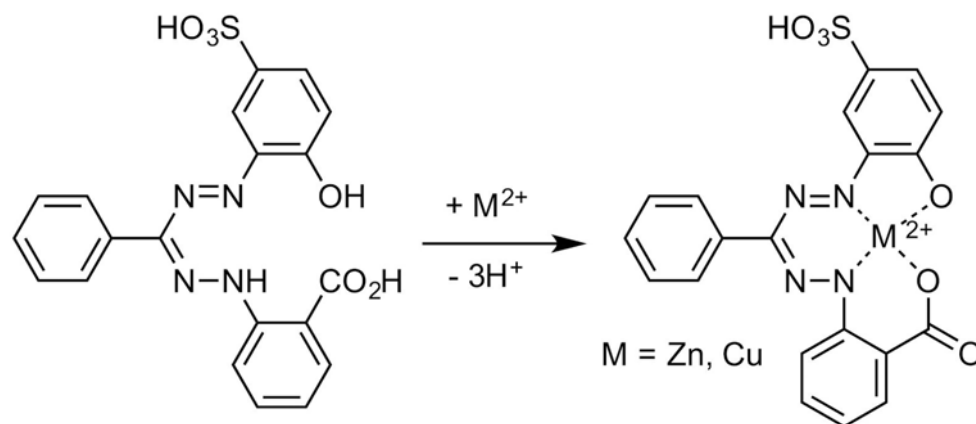


Figure 2 - 3.2 - Complexation du zinc avec des ions de métaux divalents

- La concentration des ions Zn²⁺ étant élevée, vous devrez diluer certains échantillons avant de pouvoir suivre le protocole de mesure de l'absorbance.
- A l'aide des quatre fioles jaugées de 10,00 mL, préparez les échantillons dilués comme suit :
 - En utilisant les micropipettes de 200 µL, prélevez avec précaution 200 µL de “**Rouge Sol P**”, de “**Rouge 2,5×**”, de “**vert Sol P**” et de “**vert 2,5×**” de solution de **zinc-algues** introduisez-les dans chacune des quatre fioles jaugées de 10 mL. Evitez de prendre des particules d'algues lors du prélèvement.
 - Remplissez les quatre fioles jaugées avec de l'eau distillée précisément jusqu'au trait de jauge. Ne pas oublier d'étiqueter les flacons avec l'indication de la dilution.

Vous êtes prêt à appliquer le protocole de quantification :

1. Préparez 12 cuvettes en plastique (1 cm de long / 2 mL), 6 pour chaque algue (vertes et

rouges).

- À l'aide de la micropipette appropriée, prélevez directement des flacons de 50 mL de solution de zinc-algues (évités de prélever des particules d'algues avec l'échantillon) ou dans les dilutions préalablement préparées dans les fioles jaugées de 10 mL et transférez-les dans les cuvettes en plastique conformément au tableau ci-dessous. Ajoutez de l'eau distillée H_2O dans la cuvette lorsque cela est indiqué :

| | $50 \times$ | $25 \times$ | $10 \times$ | $5 \times$ | $2,5 \times$ | <i>Sol P</i> |
|-------------------------------------|---|---|---|---|------------------------------|------------------------------|
| Flacon d'origine | 50 mL de solution de zinc-algues | 50 mL de solution de zinc-algues | 50 mL de solution de zinc-algues | 50 mL de solution de zinc-algues | Fiole jaugée de 10 mL | Fiole jaugée de 10 mL |
| Volume à la pipette | 200 μ L | 100 μ L | 20 μ L | 20 μ L | 200 μ L | 200 μ L |
| H_2O | 0 | 100 μ L | 180 μ L | 180 μ L | 0 | 0 |
| Volume total dans la cuvette | 200 μ L | 200 μ L | 200 μ L | 200 μ L | 200 μ L | 200 μ L |

- Vous devriez avoir un total de 12 cuvettes, 6 pour chaque type d'algue, chacune avec un volume total de 200 μ L.
- Ajoutez les réactifs dans les cuvettes dans l'ordre suivant en mélangeant entre chaque ajout (utilisez le couvercle de la cuve) :
 - 100 μ L de solution saline de borate de sodium tampon, **pH=9,0**
 - 60 μ L de solution de **zincon**
 - 640 μ L de **H_2O**
- A ce stade chacune des 12 cuvettes aura un volume total de 1000 μ L. Connectez et étalonnez le colorimètre (voir instructions pour le colorimètre à vernier dans l'annexe 6). Utilisez une cuvette remplie d' **H_2O** pour le blanc à 635 nm.
- Lisez l'absorbance du complexe bleu zinc-zincon à 635 nm à l'aide du colorimètre.

Question 3.1.4

- ◆ **Complétez les colonnes A.1 (Algues vertes) et B.1 (Algues rouges) du tableau 3.1.4 de la feuille de réponses avec l'absorbance mesurée pour chaque cuvette.**

2 - 3.1.5. Analyse de données – Isothermes de biosorption

La loi de Beer-Lambert

Selon la loi de Beer-Lambert, la concentration d'un composé est directement proportionnelle à son absorbance :

$$A = \varepsilon b C$$

La loi prédit une relation linéaire entre l'absorbance A , mesurée à une longueur d'onde spécifique, et la concentration du composé C , si b , la largeur de la cuvette, est maintenue constante. ε est une constante appelée coefficient d'extinction et est caractéristique du composé.

Pour une solution donnée, placée dans une cuvette de largeur constante, on peut admettre que ε et b sont constants (k) et que la loi s'écrit :

$$A = k.C$$

Voici un exemple :

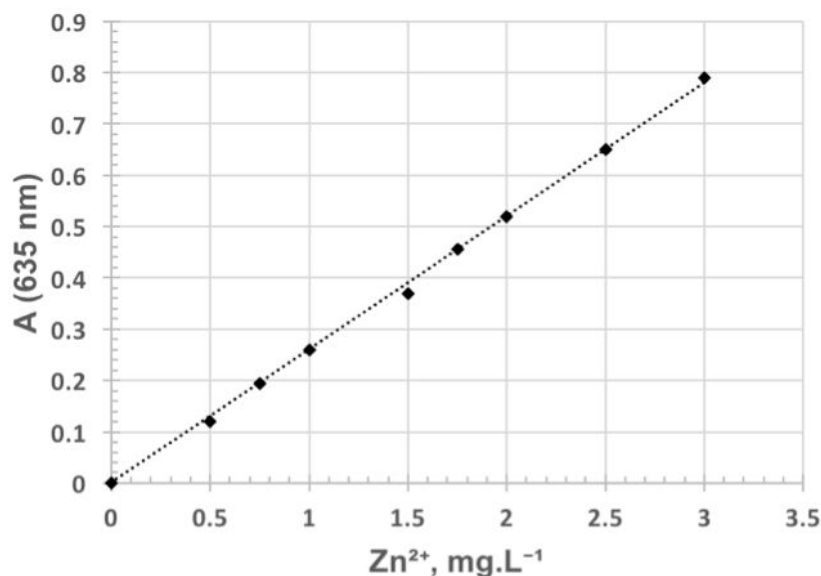


Figure 2 - 3.1.5 – Exemple d'un graphique de la loi de Beer-Lambert pour une série de solutions étalons de zinc à différentes concentrations.

IMPORTANT : Chaque colorimètre a sa propre droite d'étalonnage ($A=k.C$). Vérifiez le numéro (#) imprimé sur votre colorimètre (Col #) et utilisez la valeur de k correspondante pour vos calculs. La liste des valeurs de k pour chaque colorimètre est disponible à l'annexe 6.

Question 3.1.5.a

En utilisant la relation entre l'absorbance et la concentration ainsi que la constante de votre colorimètre, calculez la concentration en ions zinc (II) dans la cuvette.

❖ Notez le numéro de votre colorimètre et la valeur de k correspondante sur la feuille de réponses.

- ❖ En utilisant la loi de Beer-Lambert, complétez les colonnes A.2 et B.2 du tableau 3.1.4 avec la concentration en ions zinc (II) dans chaque cuvette.

Question 3.1.5.b

- ❖ Calculez la concentration finale en ions zinc (II), C_f , dans les flacons de 50 mL pour SolP, 5x, 25x et 50x pour chaque algue. Écrivez le calcul pour l'une d'entre elles. Utilisez la case appropriée de la question 3.1.5.b de la feuille de réponses pour votre calcul.

Question 3.1.5.c

- ❖ Calculez la concentration finale en ions zinc (II), C_f , dans les flacons restants pour chaque algue. Complétez les tableaux 3.1.5.a et 3.1.5.b avec les valeurs de C_f calculées sur la feuille de réponses.

Question 3.1.5d

La capacité (quantité) d'absorption du zinc (q) est calculée après stabilisation de la concentration en ions zinc (II). Il est possible de connaître la quantité d'ions zinc (II) retirés par les algues en calculant la différence entre les concentrations initiale (C_i) et finale (C_f) en ions zinc (II). En divisant cette valeur par la quantité d'algues (C_A) utilisée dans l'expérience de biosorption, la capacité d'absorption est obtenue :

$$q = \frac{(C_i - C_f)}{C_A}$$

avec : C_i et C_f : concentrations en zinc (II) en mg.L^{-1} et C_A : quantité d'algues en g.L^{-1} .

- ❖ Calculez C_A et la capacité d'absorption du zinc (q) pour chaque algue. Écrivez vos résultats sur la feuille de réponses, aux tableaux 3.1.5.a et 3.1.5.b.

IMPORTANT !

Si la plupart de vos valeurs de q sont négatives, vous avez probablement calculé la mauvaise concentration pour « Sol P ». Utilisez la valeur de $800,0 \text{ mg.L}^{-1}$ et refaites les calculs de C_f .

2 - 3.1.6. Déterminer la capacité d'absorption maximale de zinc (II) par comparaison à un isotherme de Langmuir

L'évaluation du biosorbant se fait en tenant compte des relations d'équilibres (= isothermes d'adsorption). Vous allez utiliser le modèle d'adsorption de Langmuir pour estimer la capacité maximale d'absorption du métal (q_{max}). L'isotherme de Langmuir est décrit par l'expression suivante :

$$q = \frac{q_{max} b C_f}{(1 + b C_f)}$$

avec q : capacité (quantité) de zinc absorbé

q_{max} : quantité maximale de zinc absorbé (jusqu'à saturation de la surface)

C_f : concentration finale en ions zinc (II) en solution (en mg.L⁻¹)

b : constante dépendant de l'affinité des ions métalliques zinc (II) avec les sites d'adsorption (en L.mg⁻¹)

Le modèle de Langmuir peut être vérifié en utilisant la relation inverse de l'équation précédente :

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{q_{max} b C_f}$$

En traçant le graphique de $(1/q)$ en fonction de $(1/C_f)$, q_{max} et b peuvent être déterminés à partir de la pente ($m = 1/(q_{max}b)$) et de l'ordonnée à l'origine ($c = 1/q_{max}$) d'une droite de type affine ($y = mx + c$) qui passe au mieux par vos points expérimentaux.

Question 3.1.6.a

Calculez $1/q$ et $1/C_f$. Tracez le graphique de $(1/q)$ en fonction de $(1/C_f)$ pour chaque algue.

- ❖ **Écrivez les valeurs calculées sur la feuille de réponses, aux tableaux 3.1.5.a et 3.1.5.b. Utilisez le papier millimétré fourni pour tracer les deux graphiques de $1/q$ en fonction de $1/C_f$. Tracez sur le même papier millimétré deux courbes : une pour l'algue verte et une pour l'algue rouge et identifiez-les clairement.**

Question 3.1.6.b

Sur la courbe de $(1/q)$ en fonction de $(1/C_f)$, tracez une droite qui passe au mieux par vos points expérimentaux.

- ❖ **Tracez les droites qui passent au mieux par vos points expérimentaux sur les graphiques de $1/q$ en fonction de $1/C_f$ (pour chaque algue, n'oubliez pas de les identifier). Soyez attentifs, l'ordonnée à l'origine doit être un nombre positif. Si vous souhaitez écarter un ou plusieurs points expérimentaux pour tracer vos droites, entourez-les puis faites une croix ⊗, mais une pénalité sera appliquée.**

Question 3.1.6c

Déterminez la pente (m) et l'ordonnée à l'origine (c) des droites ($y = mx + c$) qui passent au mieux par vos points expérimentaux pour chaque algue.

- ❖ **Calculez la pente (coefficient directeur) (m) et l'ordonnée à l'origine c de la droite pour l'algue verte et l'algue rouge.**

Question 3.1.6d

Enfin, calculez q_{max} et b avec les équations suivantes :

$$q_{max} = \frac{1}{c} \quad \text{et} \quad b = \frac{c}{m}$$

- ❖ **Écrivez vos calculs et résultats de q_{max} et b à la question 3.1.6d sur la feuille de réponses.**

Question 3.1.6e

En vous basant sur les résultats que vous avez obtenus pour q_{max} et b , quelle algue choisiriez-vous pour retirer les ions zinc (II) des eaux usées ?

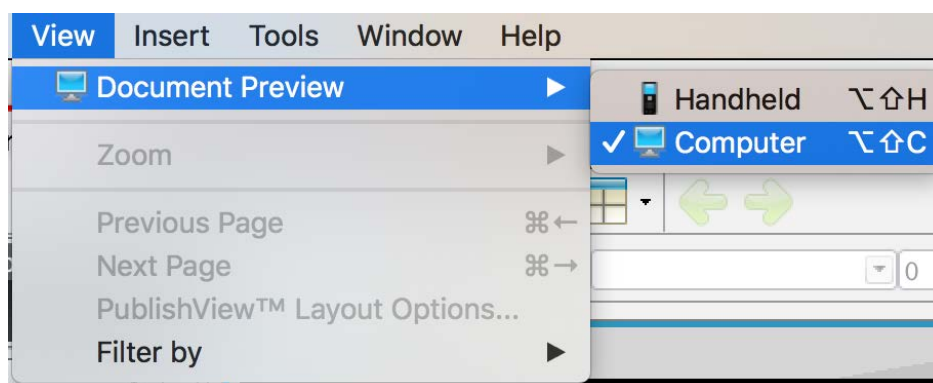
- ❖ **Écrivez votre choix à la question question 3.1.6.e sur la feuille de réponses.**

ANNEXE 4

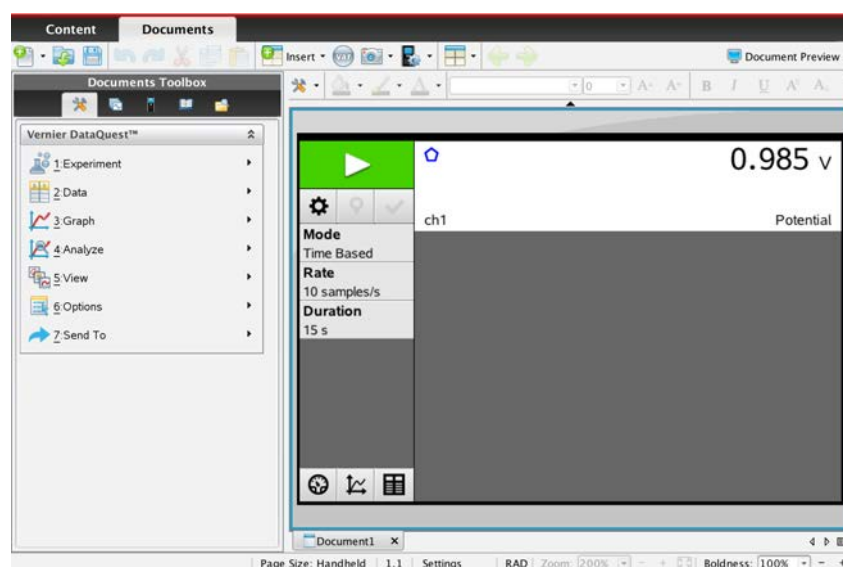
Ti-Nspire


4.1. Collecter des données avec l'interface Lab Cradle connectée à la calculatrice et au logiciel Ti-Nspire CX.

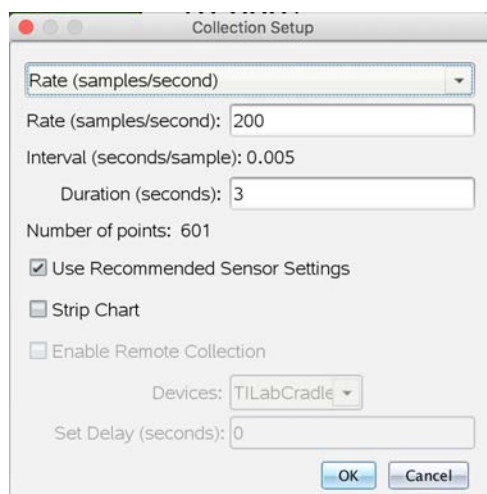
1. Sur l'ordinateur, lancez l'application Ti-Nspire CX. Choisissez l'option « Trial Version »
2. Afin de voir le document en mode ordinateur, suivez les instructions suivantes (voir image) :








3. Connectez le(s) capteur(s) à l'interface.
4. Connectez l'interface à l'ordinateur en utilisant un câble USB / mini-USB
5. Le programme détecte automatiquement le(s) capteur(s), vous montrant l'interface suivante:

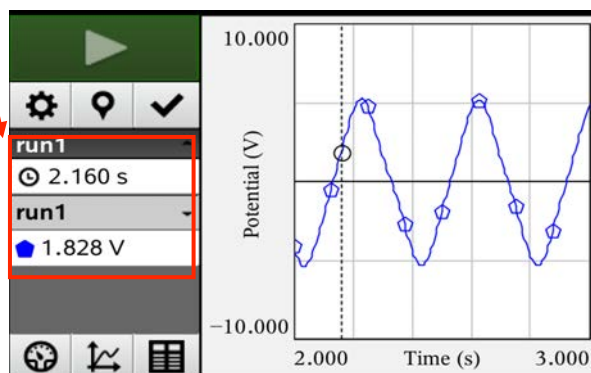


6. Pour ajuster la fréquence de mesures et définir la durée d'acquisition, cliquez sur  et faites vos choix :



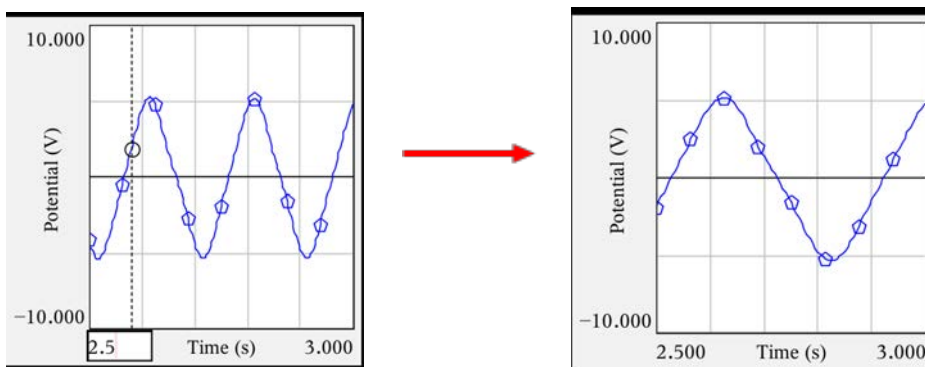
Faites attention : si votre fréquence de mesures (rate) est trop faible, votre graphique ne contiendra pas assez de points de mesures.

7. Pour démarrer l'acquisition, appuyez sur 
8. Les données collectées peuvent être visualisées par une jauge en appuyant sur , par graphique sur  ou par tableau sur .
9. Sauvegardez vos données en choisissant « Save » ou « Save as » dans le menu « File » ou en cliquant sur .
10. Vous pouvez lire les données directement sur le graphique en cliquant sur un point de ce dernier et en plaçant le curseur à l'endroit souhaité :



Vous pouvez utiliser les flèches pour bouger le curseur

11. Pour changer les valeurs limites des axes, écrivez une nouvelle valeur à la place de l'ancienne:



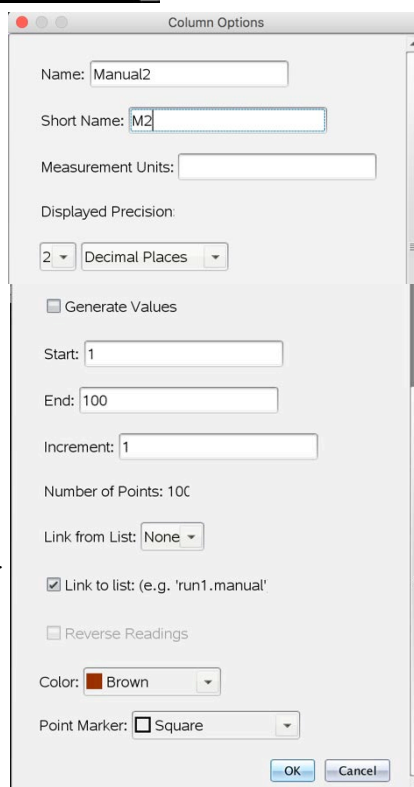
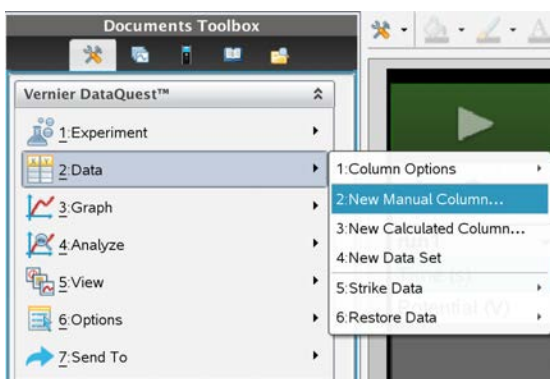
12. Vous pouvez utiliser vos données pour : **ajouter des colonnes à votre tableau, faire des calculs à partir de colonnes existantes, créer une nouvelle colonne avec les résultats obtenus, tracer un graphique à partir de colonnes existantes, ajouter une droite de régression à votre graphique, etc.** Vous pouvez voir certains de ces exemples ci-dessous :

Une série de données collectées se présente comme ceci :

| run1 | | |
|------|-------|-----------|
| | Time | Potential |
| 1 | 0 | 1.592 |
| 2 | 0.002 | 1.615 |
| 3 | 0.004 | 1.637 |
| 4 | 0.006 | 1.648 |
| 5 | 0.008 | 1.660 |
| 6 | 0.010 | 1.665 |
| 7 | 0.012 | 1.676 |
| 8 | 0.014 | 1.682 |
| 9 | 0.016 | 1.682 |
| 10 | 0.018 | 1.688 |
| 11 | 0.020 | 1.693 |
| 12 | 0.022 | 1.693 |
| 13 | 0.024 | 1.699 |

13. Ajouter une colonne au tableau :

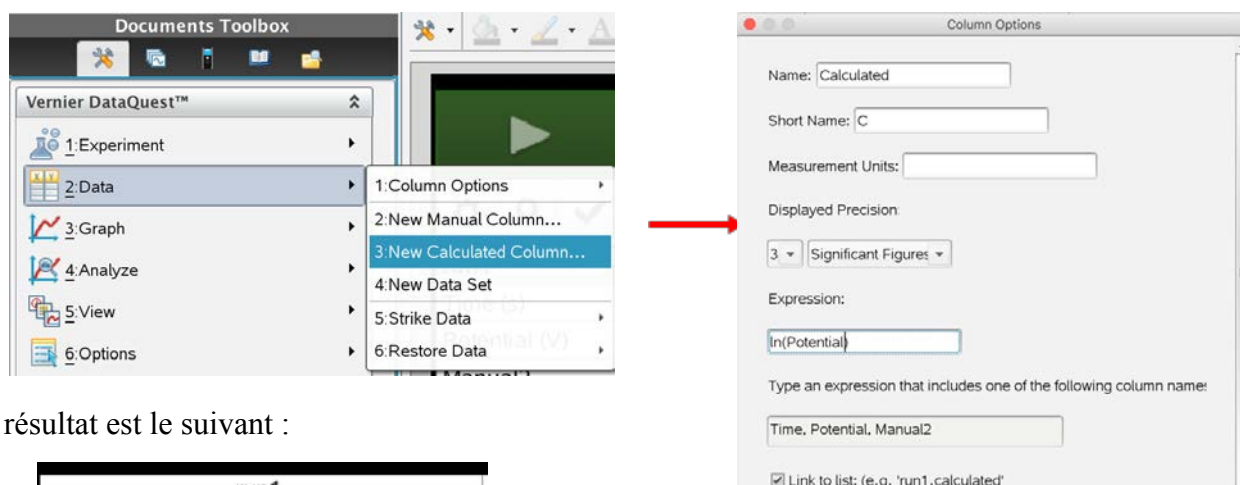
- Remplissage manuel



Ensuite, vous pouvez manuellement remplir la colonne.

| run1 | | | |
|------|-------|-----------|---------|
| | Time | Potential | Manual2 |
| 1 | 0 | 1.592 | 1.00 |
| 2 | 0.002 | 1.615 | 2.00 |
| 3 | 0.004 | 1.637 | 3.00 |
| 4 | 0.006 | 1.648 | |
| 5 | 0.008 | 1.660 | |
| 6 | 0.010 | 1.665 | |


- 14. Calculer des données à partir de colonnes existantes** (dans cet exemple, la fonction « logarithme népérien (ln) » est appliquée aux nombres de la colonne « Potential » et les résultats sont présentés dans une nouvelle colonne nommée « C » (= calculated)

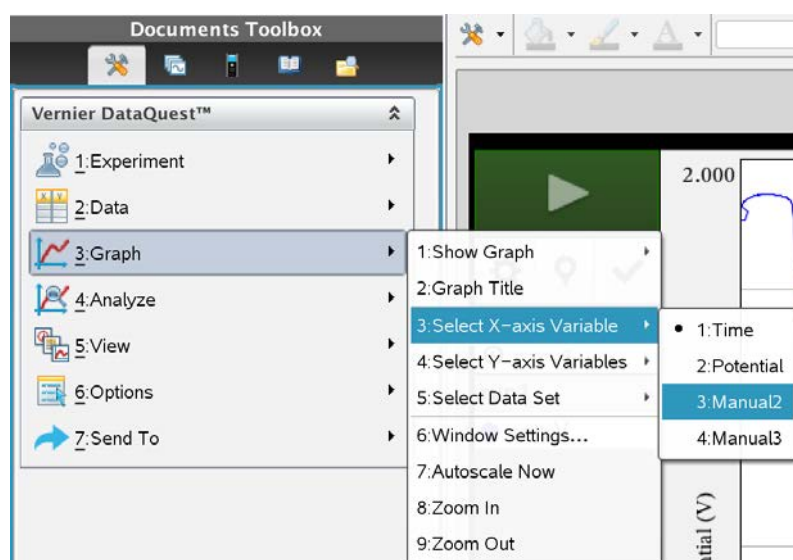


Le résultat est le suivant :

| run1 | | | | |
|------|-------|-----------|---------|-------|
| | Time | Potential | Manual2 | C |
| 1 | 0 | 1.592 | 1.00 | 0.465 |
| 2 | 0.002 | 1.615 | 2.00 | 0.479 |
| 3 | 0.004 | 1.637 | 3.00 | 0.493 |
| 4 | 0.006 | 1.648 | 4.00 | 0.500 |
| 5 | 0.008 | 1.660 | | 0.507 |
| 6 | 0.010 | 1.665 | | 0.510 |
| 7 | 0.012 | 1.676 | | 0.517 |
| 8 | 0.014 | 1.682 | | 0.520 |
| 9 | 0.016 | 1.682 | | 0.520 |

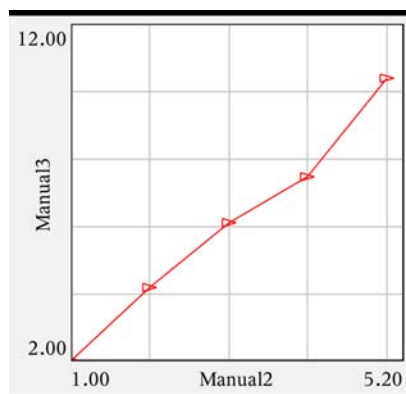
- 15. Faire un graphique à partir de colonnes**

Appuyez sur  et choisissez ensuite les variables x et y que vous souhaitez porter en graphique :

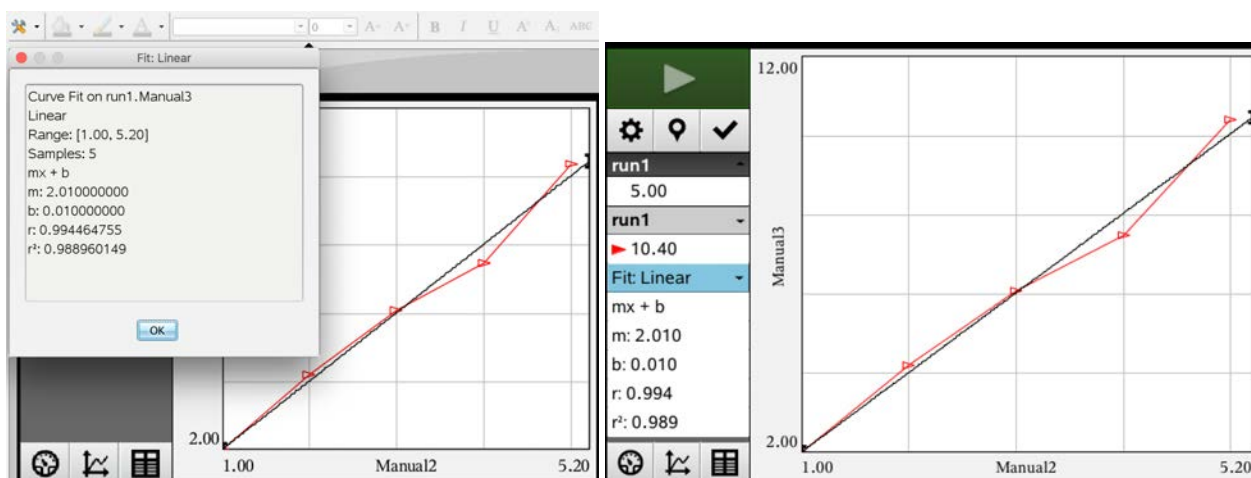
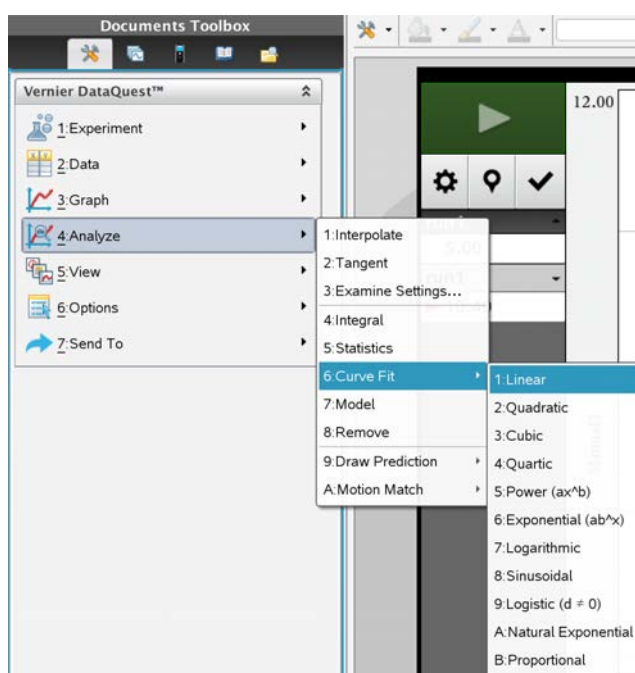


| | Manual2 | Manual3 |
|--|---------|---------|
| | 1.00 | 2.00 |
| | 2.00 | 4.20 |
| | 3.00 | 6.10 |
| | 4.00 | 7.50 |
| | 5.00 | 10.40 |

Le graphique de la colonne « Manual 3 » en fonction de « Manual 2 » vous donne :



16. Ajouter une droite de régression à votre graphique :



ANNEXE 5

GLOSSAIRE

PCR (Polymerase Chain Reaction) * - La PCR est un test d'amplification in vitro de l'ADN qui produit des quantités exponentiellement importantes d'une séquence spécifique d'ADN (matrice).

L'amplification par PCR nécessite la présence d'au moins un brin matrice d'ADN, qui peut être toute forme d'ADN double brin (dans ce cas: l'ADN extrait de moules).

La spécificité provient de la capacité de cibler et d'amplifier un segment spécifique de l'ADN à partir d'un génome complet, ce qui est fait avec des amorces adéquates * (Figure 1).

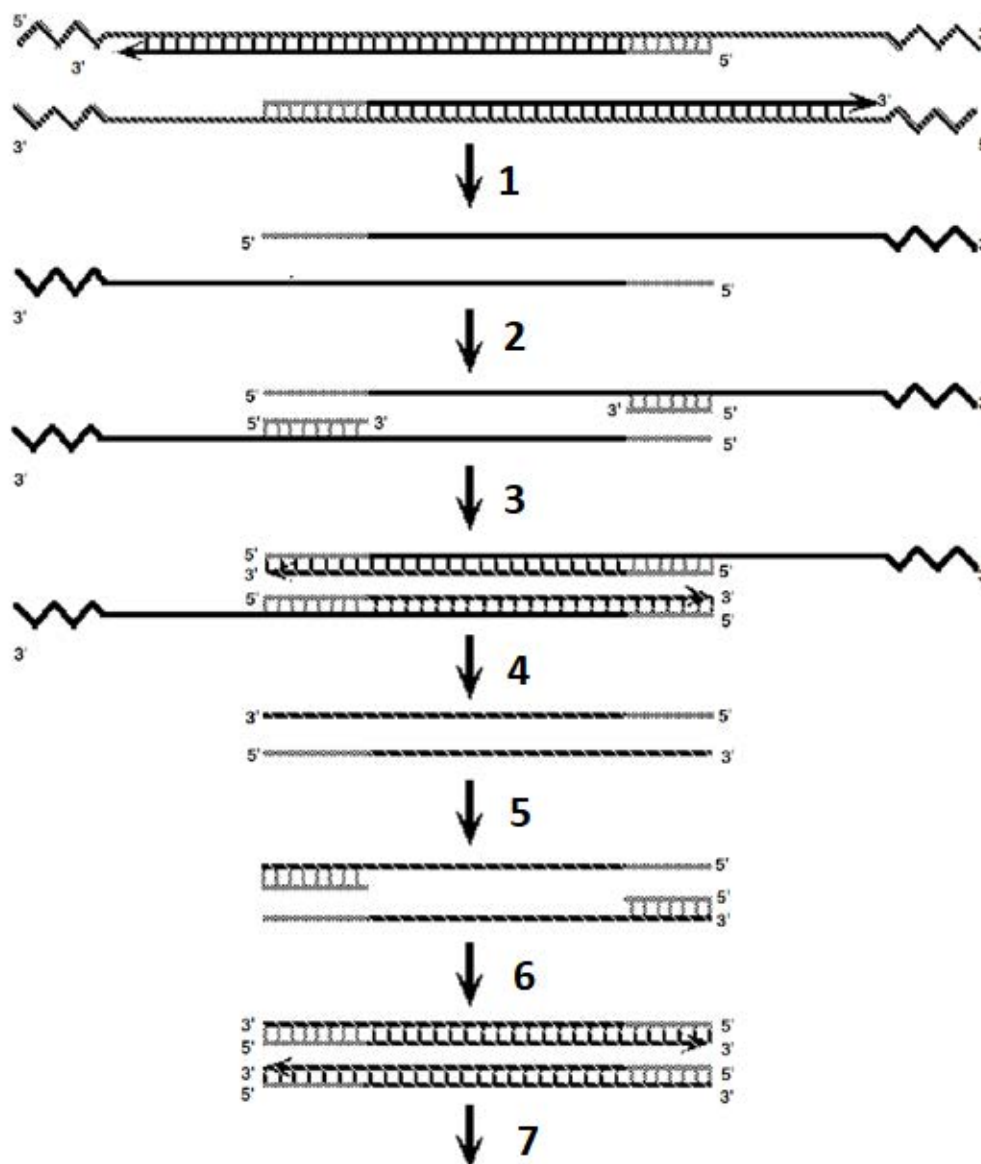


Figure 1 - Exemple d'amplification d'une matrice ADN par PCR: 1) dénaturation de l'ADN double brin à haute température); 2) recuit des amorces (hybridation avec la séquence complémentaire); 3) extension de nouveaux brins d'ADN complémentaires; 4) dénaturation de l'ADN double brin à haute température); 5) recuit des amorces; 6) extension de nouveaux brins d'ADN complémentaires; 7) Répétition de cette réaction pendant plusieurs cycles.

Primers *(Amorces)- sont de courtes chaînes d'ADN complémentaires de la matrice d'ADN que nous souhaitons copier par PCR. Les amorces directes se lient à l'aval (à l'extrémité 3') et les amorces inverses se lient à l'amont (à l'extrémité 5') de la région d'intérêt cible (Figure 2). Pour qu'une réaction PCR se produise, on doit utiliser une paire appropriée d'amorces directe et inverse afin de générer un fragment spécifique d'ADN (Figure 2).

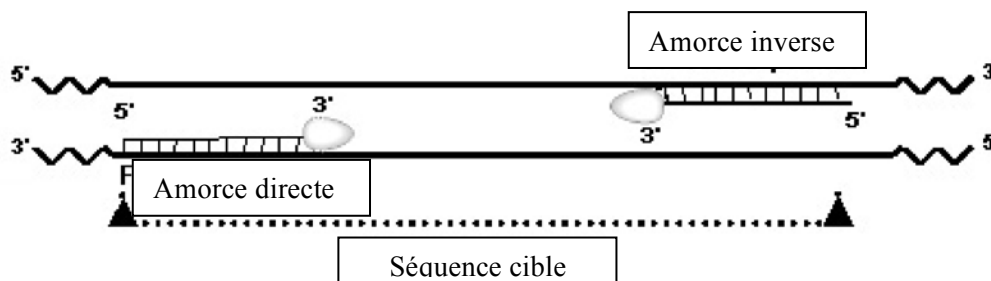


Figure 2 – amorces directe et inverse attachées à la séquence d'ADN cible. Durant la PCR.

Echelle de poids moléculaire d'ADN * - Mélange de fragments d'ADN linéaires de poids moléculaire connu utilisés pour estimer la taille en paires de bases (pb) d'autres fragments d'ADN. Le diagramme schématisé des tailles de bande attendues de l'échelle ADN utilisée dans cette tâche est indiqué à la figure 3.

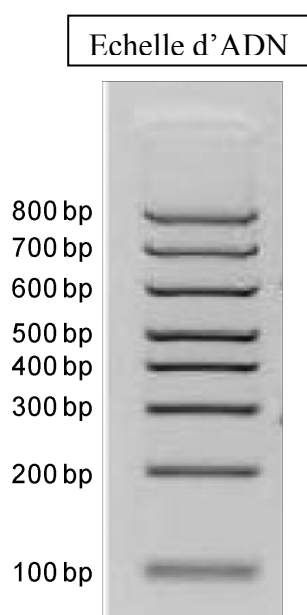


Figure 3 – Échelle de poids moléculaire de l'ADN. Les bandes d'ADN et leur poids moléculaire correspondant (nombre de paires de bases) sont indiqués sur la figure.

Tampon de chargement d'ADN Orange G * - Solution utilisée pour préparer des échantillons d'ADN à charger sur des gels d'agarose. Il contient un colorant (orange) pour le suivi visuel de la migration de l'ADN lors de l'électrophorèse et du glycérol pour augmenter la densité de l'échantillon.

APPENDIX 6

Ti-Nspire

6.1. Collecter des données avec l'interface Lab Cradle connectée à une calculatrice et au logiciel Ti-Nspire CX

1. Connectez la calculatrice à l'interface.



1 – Calculatrice

2 – Interface

2. Allumez la calculatrice



1 – Bouton On/Off

6.2. Instructions pour le colorimètre Vernier

Le colorimètre Vernier est conçu pour déterminer la concentration d'une solution en analysant l'intensité de sa couleur. Le colorimètre mesure la quantité de lumière transmise à travers un échantillon à une longueur d'onde choisie par l'utilisateur.


Il existe 2 modèles : Modèle 1 et Modèle 2



Utilisation du colorimètre

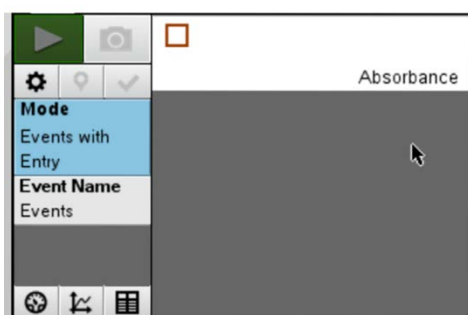
Le colorimètre est simple d'utilisation. Connectez-le simplement à votre interface de collecte de données (la calculatrice graphique TI), configurer le logiciel (Vernier LabPro®) et tout est prêt pour faire des mesures. Pour de meilleurs résultats, laissez le système se stabiliser à la longueur d'onde souhaitée pendant 5 minutes avant de le calibrer ou de faire des mesures.

Procédure générale à suivre pour utiliser le colorimètre

1. Connectez le colorimètre à l'interface, dans la prise Ch1, Ch2 ou Ch3.
2. Allumez la calculatrice TI Nspire
3. Utilisez le curseur à l'aide du pavé tactile et appuyez sur l'icone 



4. Le logiciel va identifier le colorimètre et charger une configuration de collecte de données par défaut.



5. Appuyez sur les boutons < ou > du colorimètre pour choisir la longueur d'onde voulue pour votre expérience (430 nm, 470 nm, 565 nm ou 635 nm).
6. Calibrer le colorimètre. **Note** : le colorimètre doit être allumé 5 minutes avant d'être calibré. Une des 4 LEDs vertes de sélection de la longueur d'onde doit être allumée quand le colorimètre est en marche.

- a. Ouvrir le couvercle du colorimètre.

- b. Placer la cuvette contenant le blanc (100% transmittance ou absorbance 0). **Important**: Aligner les faces transparentes de la cuvette avec la flèche blanche du colorimètre. Fermer le couvercle.

- c. Ensuite, appuyez sur le bouton « CAL » pour commencer la calibration. Relâchez le bouton lorsque la LED rouge commence à clignoter. L'absorbance mesurée devrait maintenant être égale à 0.00 ou 0.01

- d. Quand la LED arête de clignoter, la calibration est complète et le colorimètre est prêt à collecter des données.

7. Collecte de données.

- a. Placez une cuvette contenant un échantillon dans l'emplacement. **Important**: Aligner les faces transparentes de la cuvette avec la flèche blanche du colorimètre. Fermer le couvercle.

- b. Lisez la valeur d'absorbance obtenue.

8. Si le colorimètre ne s'allume pas (pas de lumière verte), demandez une autre interface à l'assistant de laboratoire



Table de calibration de Beer-Lambert pour la détermination de zinc(II) avec le colorimètre Vernier

| Col # | $k (A = k.C)$ | Co # | $k (A = k.C)$ | Col # | $k (A = k.C)$ |
|-----------|---------------|-----------|---------------|-----------|---------------|
| 1 | 0.28 | 13 | 0.30 | 27 | 0.24 |
| 2 | 0.23 | 14 | 0.27 | 28 | 0.25 |
| 3 | 0.23 | 15 | 0.27 | 29 | 0.30 |
| 4 | 0.22 | 16 | 0.28 | 30 | 0.21 |
| 5 | 0.18 | 17 | 0.29 | 31 | 0.24 |
| 6 | 0.22 | 19 | 0.29 | 32 | 0.22 |
| 7 | 0.29 | 20 | 0.28 | 33 | 0.29 |
| 8 | 0.25 | 21 | 0.26 | 34 | 0.23 |
| 9 | 0.26 | 22 | 0.28 | 35 | 0.28 |
| 10 | 0.27 | 23 | 0.29 | | |
| 11 | 0.26 | 24 | 0.29 | | |
| 12 | 0.25 | 26 | 0.26 | | |