

Label vert: La larve mangeuse de plastique

Nom : LE TOQUIN Juliette, SOUFIANI Noha, BOUATIR Fatima Ezzahraa, FERNANDES PEREIRA Alizée

Projet : La larve *Galleria Mellonella* mangeuse de plastique (PS/PEBD)

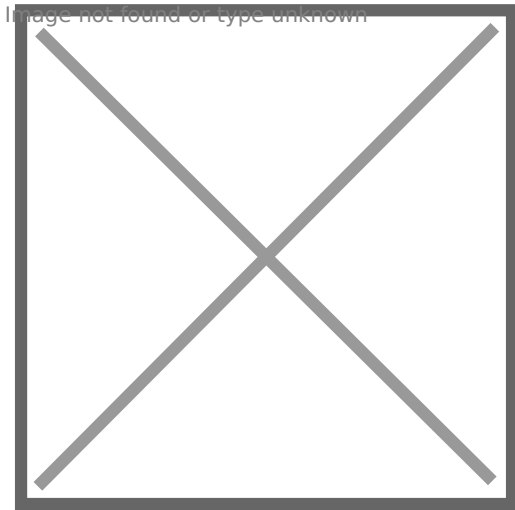
Cadre: UE Label Vert 2 (2022/2023)

Introduction:

Le plastique est une matière qui pollue énormément et elle se retrouve bien trop souvent dans l'environnement. Le problème qui se pose est la dégradation totale ou partielle du plastique. On souhaite donc au travers de notre projet présenter une nouvelle méthode de dégradation du plastique qui est encore en cours de développement. En effet, des recherches récentes ont essayé de déterminer la capacité de certaines larves à dégrader le plastique.

Objectif : Notre projet a pour but d'étudier l'efficacité de l'une des larves étudiées, la larve *Galleria Mellonella*, à dégrader le plastique et de pouvoir comparer les différents résultats. Dans notre cas, nous prendrons deux types de plastiques différents: du polyéthylène basse densité (PEBD) et du polystyrène (PS). En effet, nous cherchons donc à mettre en confrontation nos différentes expériences.

- Etude bibliographique et documentation
- Création d'un poster
- Expérience au Fablab (Biologie-Chimie et Prototypage)



Galleria mellonella (Gm) est une espèce de Lepidoptera dans la famille Pyralidae. Nommée teigne de ruche, c'est une larve que l'on utilise principalement pour la pêche. Son cycle de développement varie de 4 semaines à 6 mois selon les conditions et comprend 4 phases (œuf, larve, nymphe et adulte). C'est dans les alentours de mars qu'elle se développe et atteint son pic autour d'août. Dans le cadre de ce projet, nous allons nous intéresser seulement à son stade de larve.

Expérimentation/Manipulation:

I/ Protocole expérimental: Préparation des tests + témoin

Fablab prototypage :

1. Broyer les bouteilles en PEBD

Fablab de biologie/chimie:

2. Nettoyer les béchers/erlenmeyers/cristallisoirs à l'éthanol
3. Faire des copeaux de cire d'abeille à l'aide d'un économe/scalpel
4. Émietter le PS en petits morceaux
5. Avant toutes préparations, peser les récipients, le PEBD, le PS, les copeaux de cire, et les larves à l'aide d'une balance de pesée
6. Mises en places des tests/témoins* :

- Témoin: Bécher de 500 ml + 10.85 g de cire + 43 larves Gm (18.855 g)

- Test 1: Bécher de 250 ml (90,5968g) + 10.85 g de cire + 34 larves Gm (15.9 g) + 0.7 g de PS
- Test 2: Bécher de 250 ml (118,57g) + 10.85 g de cire + 36 larves Gm (15.5419 g) + 10.8 g de PEBD (broyé)
- Test 3: Erlenmeyer de 250 ml (134,4g) + 36 larves Gm (16.05g) + 17.15 g de PEBD (broyé)
- Test 4: Erlenmeyer de 250 ml (134,6g) + 44 larves Gm (20,27g) + 1 g de PS
- Test 5: Cristallisoir de 795 g + 29 larves Gm (14.6296 g) + 2,6301 g de PEBD (film alimentaire). Le cristallisoir est recouvert par son couvercle en verre.
- Test 6: Cristallisoir de 991.84 g + 10.88 g de cire + 38 larve Gm (18.1318 g) + 2.7634 g de PEBD (film alimentaire). Le cristallisoir est recouvert par son couvercle en verre.
- Test 7: Bécher de 800 ml (243.38 g) + 38 larves Gm (18.547 g) + 1.0735 g de PS

7. Mettre les tests/témoin dans une grosse boîte en plastique que l'on mettra dans une salle close, sans lumière, à 22-23°C.

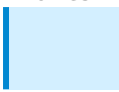
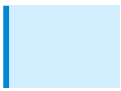
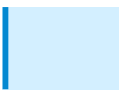
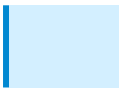
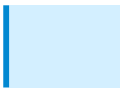
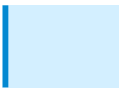
* *réipients couverts avec du papier aluminium rempli de petits trous*

Matériel nécessaire à la réalisation de nos expériences:

- **Fablab de Biologie:** 350 larves Gm vivantes, bloc de cire d'abeille, 1 bécher de 500 ml, 2 béchers de 250 ml, 2 erlenmeyers de 250 ml, 2 cristallisoirs, papier aluminium alimentaire, une Brucelles en plastique, plaque de polystyrène, 2 bouteilles en PEBD, thermomètre mercure, scalpel, économe
- **Fablab de Chimie:** Accessoire ATR diamant, éthanol de nettoyage
- **Fablab prototypage:** broyeuse

II/ Observations : Début & fin d'expériences

Dates, T(°C),	Témoin	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7
27/03/2023, 14h40, 22°C	8 mortes	8 mortes	10 mortes	X	X	X	X	X
29/03/2023, 16h21, 23°C	6 mortes	1 morte	4 mortes	12 mortes	9 mortes	X	X	X

31/03/2023, 9h57, 23°C	4 mortes*	5 mortes	1 morte*	8 mortes* + perte de PE	13 mortes*	X	X	X
03/04/2023, 11h17, 22°C	2 mortes * 	0 morte 	5 mortes * 	5 mortes	10 mortes	X	X	X
05/04/2023, 11h, 22.5°C	0 morte * 	0 morte * 	0 morte * 	0 mortes	6 mortes	X	X	X
07/04/2023, 12h, 24°C	0 morte	2 mortes	0 morte	1 morte	0 morte	X	X	X
11/04/2023, 13h53, 23°C	1 morte	0 morte	0 morte *	1 morte	1 morte	2 mortes	X	X
13/04/2023, 10h30, 23°C	0 morte	0 morte	0 morte	0 morte	0 morte	1 morte	1 morte	1 morte (+1 cocon)
14/04/2023, 14h, 22,5°C	0 morte	0 morte	1 morte	0 morte	1 morte	1 morte	0 morte	5 mortes
18/04/2023, 13h20, 23,5°C	1 morte	1 morte	1 morte	4 mortes	1 morte	1 morte	1 morte	8 mortes

- 23/03/2023, 12h, 23°C: mise en place du témoin et des tests 1 et 2 (arrivée des larves depuis 2j (au frais))
- 27/03/2023, 14h50, 22°C: mise en place des tests 3 et 4 (arrivée jour même)
- 07/04/2023, 12h, 24°C: mise en place du test 5 (arrivée des larves la veille (au frais))
- 11/04/2023, 15h15, 23°C: mise en place des tests 6 et 7 (arrivée des larves le 6/04/23 (au frais))

03/05/2023 - 05/04/2023: diminution forte de la cire

* présence de soie

III/ Résultats fin d'expérience

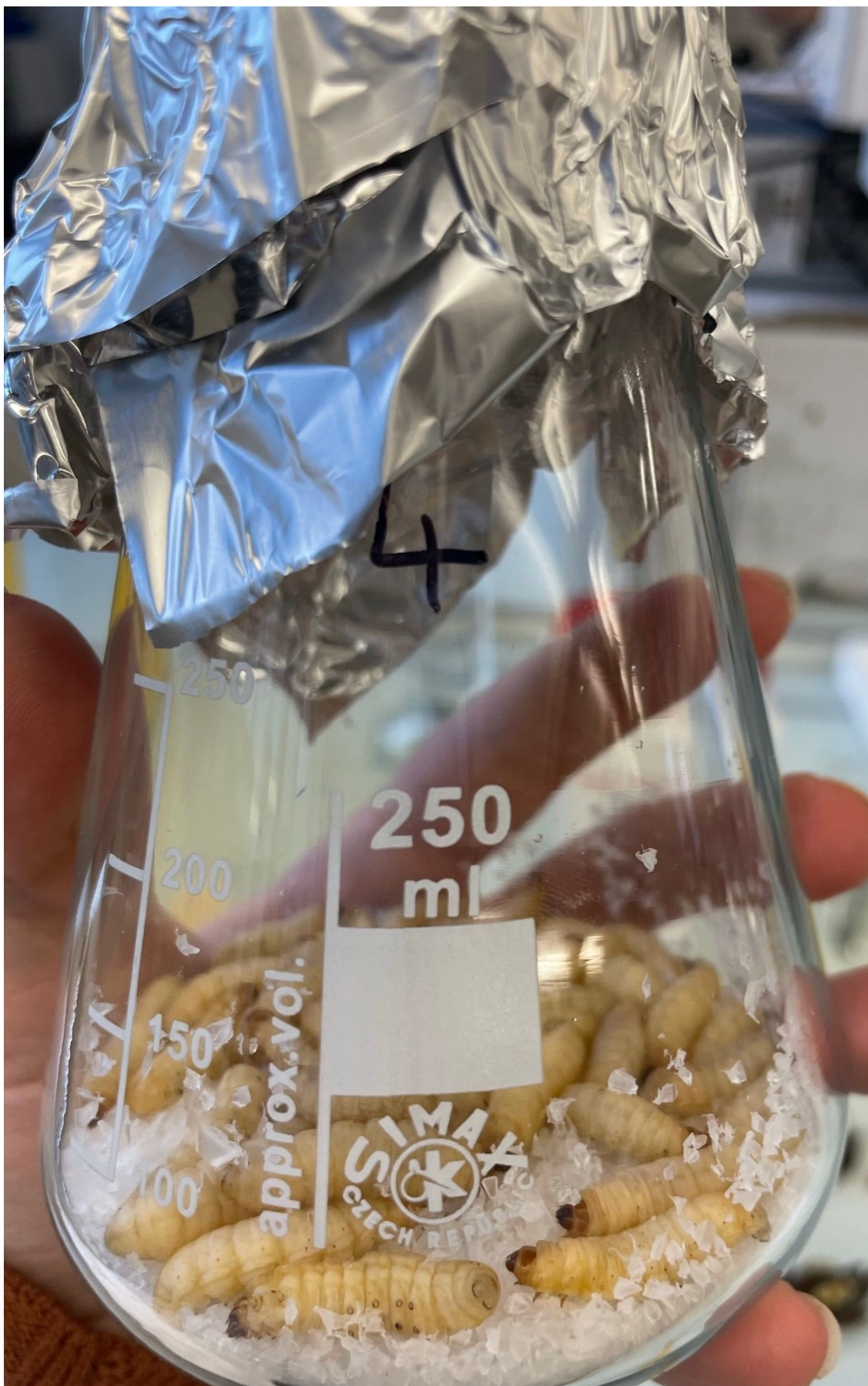
	Témoïn	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7
Durée	3 semaines et 1 jour	3 semaines et 1 jour	3 semaines et 1 jour	2 semaines et 6 jours	2 semaines et 6 jours	1 semaine	5 jours	5 jours
Début	43 larves Gm : 18.855 g	34 larves Gm: 15.9 g	36 larves Gm : 15.5419 g	36 larves Gm : 16.05 g	44 larves Gm : 20,27 g	29 larves Gm : 14.6296 g	38 larve Gm : 18.1318 g	38 larves Gm : 18.547 g
Fin	20 larves vivantes : 6.4352g et un cocon	17 larves vivantes: 6.1753g	14 larves vivantes: 4.7291g et un cocon	5 larves vivantes: 1,712g	2 vivantes: 0.7676g et un cocon	23 vivantes: 10.462g et un cocon	35 vivantes: 14.966g et un cocon	23 larves vivantes: 9.647g et un cocon
Total de larve(s) morte(s)	23 mortes (12.4498g)	17 mortes (9.7247g)	22 mortes (10.8128g)	31 mortes (14.338g)	42 mortes (19.5024g)	6 mortes (4.1676g)	3 mortes (3.1658g)	15 mortes (8.9g)

Photos expériences

Témoïn + Test 1 + Test 2



Test 3



Test 4

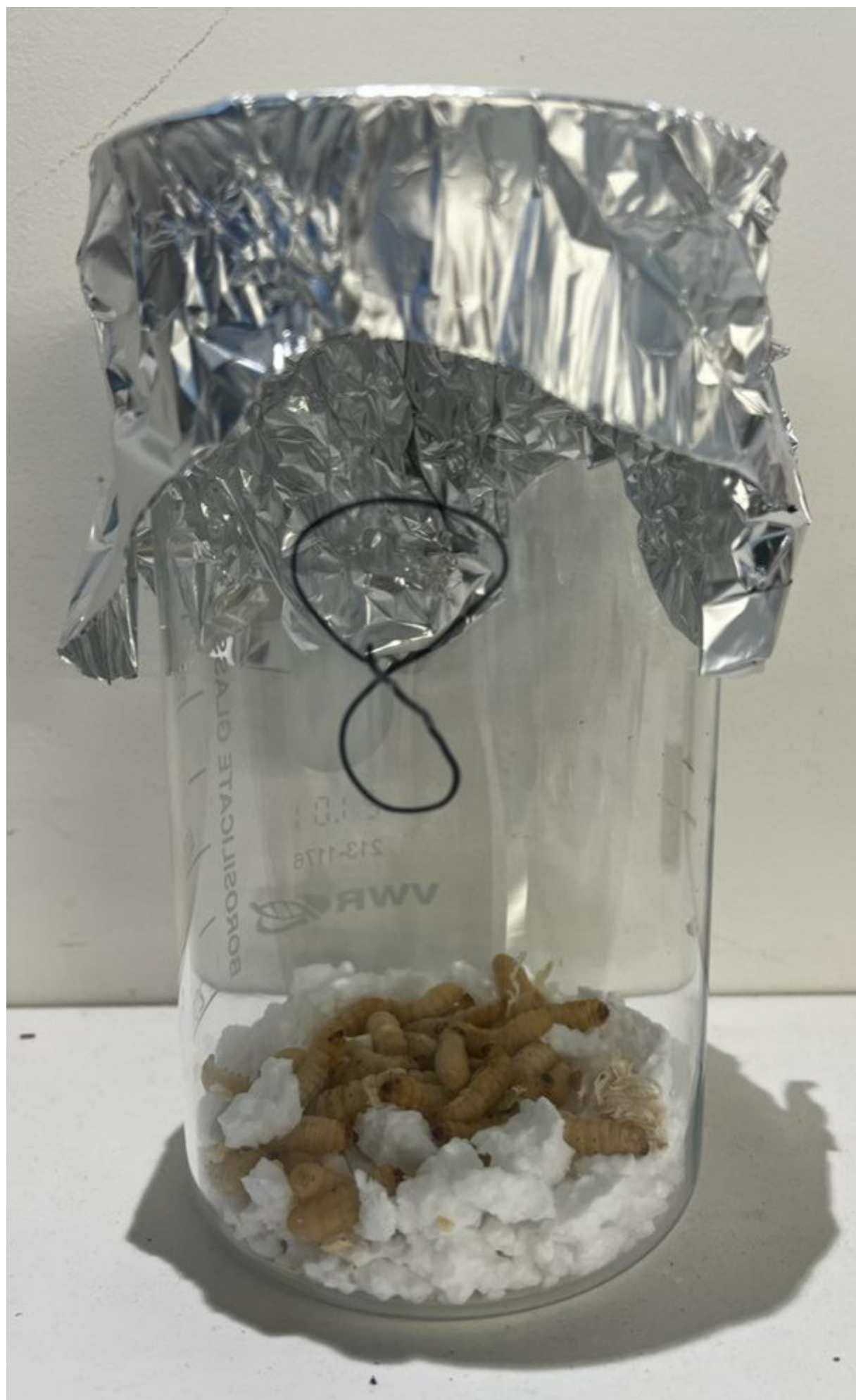


Test 5

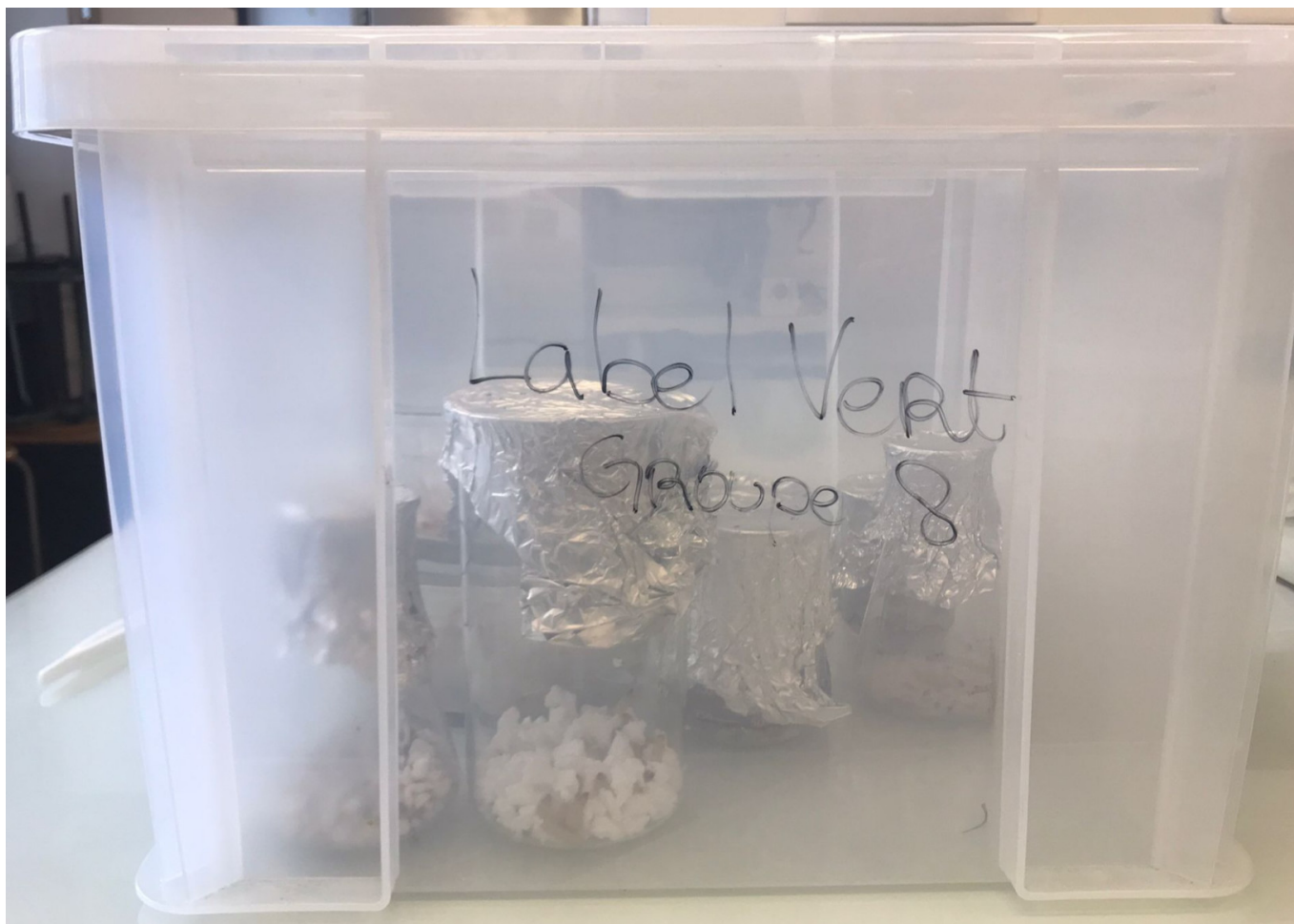


Test 6





Témoign + Test 1 à 7



IV/ Analyses expérimentales

Analyse Statistique & Biologique

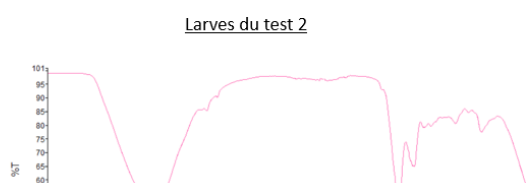
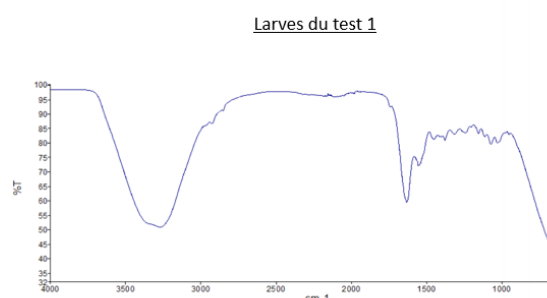
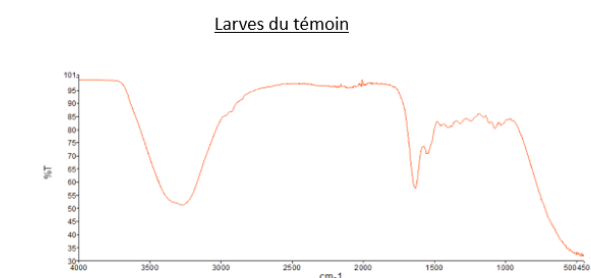
	Témoin	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7
% en masse de larve Gm morte	66.03 %	61.16 %	69.57 %	89.33 %	96.21 %	28.49 %	17.46 %	47.99 %

- Forte diminution de cire dans les test 1 & test 2 à contrario de la quantité des plastiques (PS, PEBD broyé, PEBD film)
- 18/04/2023: Larves très actives dans les test 5 & test 7

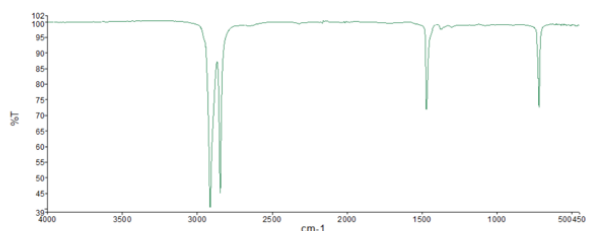
Analyse IR en ATR

Nom du plastique	PEBD	PS
Pics Caractéristiques	Alcane <ul style="list-style-type: none">• Elongation C-H: 2850-3000 cm^{-1} (forte intensité)• Déformation C-H: 1350-1480 cm^{-1} (moyenne intensité)	Alcane (voir à gauche) Aromatique <ul style="list-style-type: none">• Elongation C-H: 3000-3100 cm^{-1} (moyenne intensité)• Déformation C-H: 680-900 cm^{-1} (forte intensité)• Elongation C=C: 1500-1650 cm^{-1} (forte intensité)

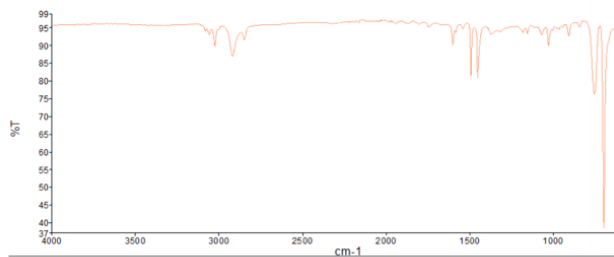
Spectres IR (31/03/2023)



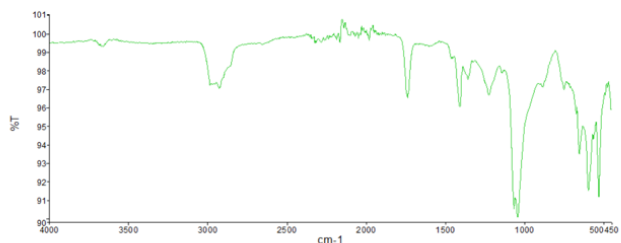
PEBD



Polystyrene

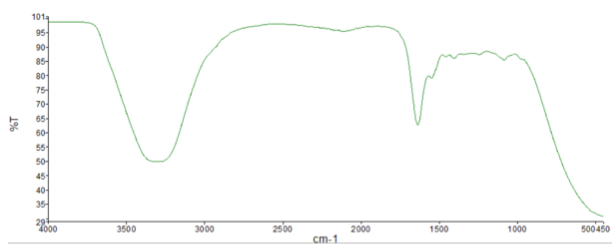


Film plastique

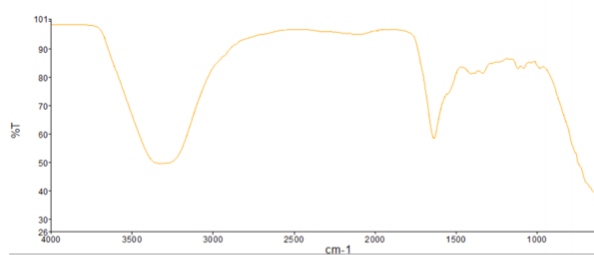


Spectres IR (18/04/2023)

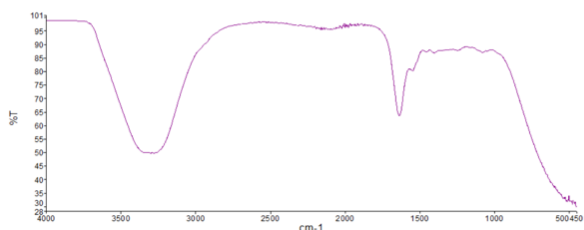
Larves du test 4



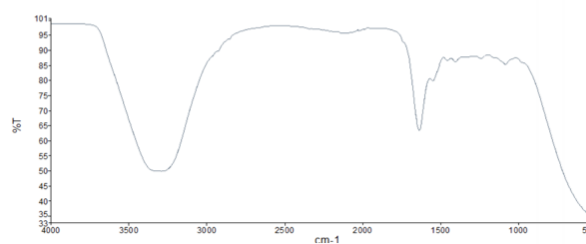
Larves du test 5



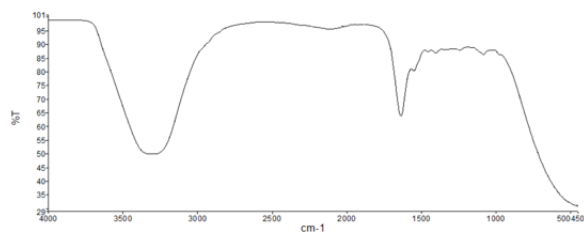
Larves du test 6



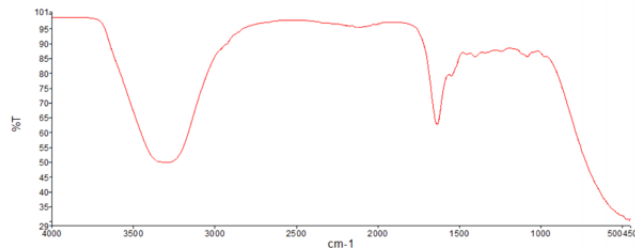
Larves du test 7



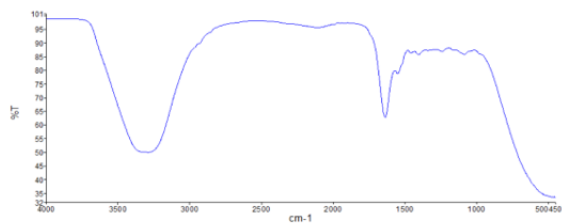
Larves dans le b cher témoin



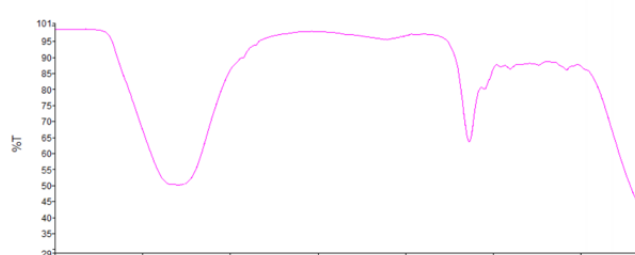
Larves dans le b cher test 1



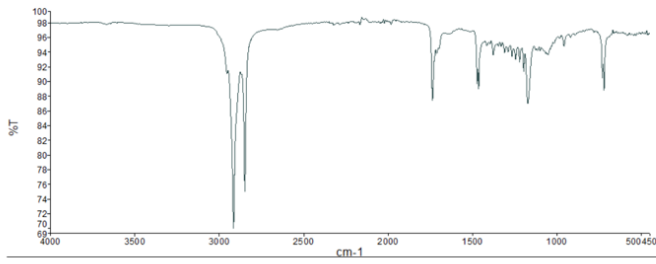
Larves dans le b cher test 2



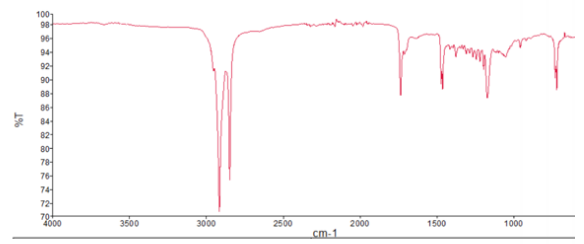
Larves du test 3



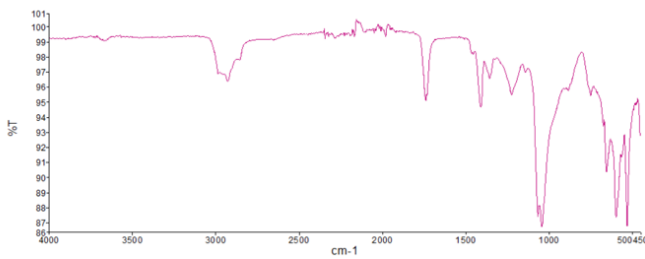
PEBD test 3 avec de la soie



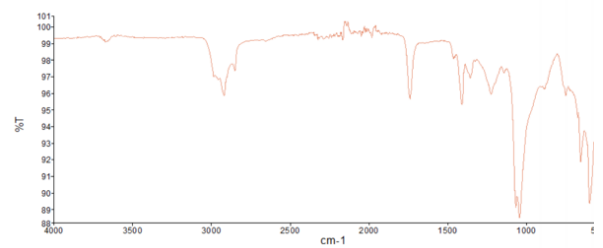
PEBD test 4



Film plastique test 6



Film plastique test 7



EXPLOITATION DES RESULTATS

Statistique & Biologique

- Cire + plastique (PS/PEBD) : % de larves mortes proches --> car larves on plus mangé la cire que le plastique
- Plus de larves mortes en présence de PS seul

IR en ATR

- **Comparaison du spectre IR du PEBD avec les deux spectres des "Larves test 2" et celui des "Larves test 3"**: Nous pouvons observer que les pics caractéristiques du PEBD ne sont pas présents sur les spectres des larves, dont les tests sont composés de PEBD. Pour illustrer ce propos, nous pouvons relever que les 2 pics de forte intensité à 2800 cm⁻¹ et 2900 cm⁻¹ présent sur le spectre IR du PEBD, ne sont pas observable sur sur les spectre du test 2 et 3.
- **Comparaison du spectre IR du PS avec les deux spectres des "Larves test 1" et celui des "Larves test 4"**: Même observation que celle pour le PEBD: nous

n'observons pas de pics caractéristiques du PS sur les spectres des larves.

- **Comparaison du spectre IR des "Larves du témoin" avec tous les autres spectres des larves:** Les spectres des larves sont tous similaires malgré leurs conditions différentes.
- **Comparaison du spectre des plastiques de départ (PEBD, PS, film plastique) avec les plastiques de fin d'expérience:** Ce sont les mêmes.

CONCLUSION

Notre expérience a permis l'étude et l'observation du développement des larves *Galleria Mellonella*. Celles exposées uniquement aux plastiques s'en sont nourries et semblent anormalement plus grandes et grosses que celles se nourrissant aussi de cires. La spectroscopie IR en ATR ne présente pas de résultats concluants, car elle ne permet pas de obtenir une analyse de caractérisation assez précise. La présence de résidus de PS et PEBD nous est donc indiscernable.

Les résultats observés peuvent avoir été causé par de nombreux paramètres que nous avons du changer comparer à ceux établit dans les articles de références. Ainsi nous avons utilisé des plastiques (PEBD et PS) non stérilisés, effectuer des analyses IR en ATR, effectuer nos tests dans des béchers/erlenmeyers/cristallisoirs. Or eux, dans leurs cas, le plastiques avaient été stérilisés avant son introduction dans les tests à partir d'éthanol, ils ont caractérisé leurs éléments à travers des analyses plus précises de l'ATR: FTIR, GC-MS ou l'imagerie hyperspectral.

BIBLIOGRAPHIE

- Lou, Yu, et al. « Biodegradation of Polyethylene and Polystyrene by Greater Wax Moth Larvae (*Galleria Mellonella* L.) and the Effect of Co-Diet Supplementation on the Core Gut Microbiome ». *Environmental Science & Technology*, vol. 54, no 5, mars 2020, p. 2821-31. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07044>
- Yang, Jun, et al. « Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms ». *Environmental Science & Technology*, vol. 48, no 23, décembre 2014, p. 13776-84. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1021/es504038a>
- Cassone, Bryan J., et al. « Role of the Intestinal Microbiome in Low-Density Polyethylene Degradation by Caterpillar Larvae of the Greater Wax Moth, *Galleria Mellonella* ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 287, no 1922, mars 2020, p. 20200112. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0112>

- Bombelli, Paolo, et al. « Polyethylene Bio-Degradation by Caterpillars of the Wax Moth *Galleria Mellonella* ». *Current Biology*, vol. 27, no 8, avril 2017, p. R292-93. ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.060>.

Revision #37

Created 24 March 2023 11:16:54 by Guedj Essa

Updated 19 July 2023 10:33:55 by Le Toquin Juliette