

## Essais de Production de Protéines d'organismes Unicellulaires (P.O.U.) par des Souches de Spirulina

H. Hacène, R. Brahim, S. Benaïcha, E.K. Ouahrani, N. Chebhouni et A. Siga

L. R. Z. A., Faculté des Sciences Biologiques, U. S. T. H. B., B.P. 44, Alger-Gare

**Résumé** - Les Spirulines sont des cyanobactéries ou algues bleu-vertes qui se caractérisent par la Production d'une grande variété de produits intéressants et principalement des protéines d'une haute valeur nutritive. 70 % de leur poids sec sont des protéines (bien plus que le blé ou le soja) et la teneur en acides aminés est comparable à celle du blanc d'œuf. Après isolement de souches locales, leur culture a été entreprise en laboratoire sur différents milieux et conditions de culture (erlenmeyer, bac en plastique, aquarium, ... de différents volumes). De nombreux milieux de culture ont été testés pour l'obtention d'une meilleure croissance de spirulines. Parmi ceux-ci, un milieu de culture peu coûteux, à base de fiente récente de volailles comme source d'azote, a été mis au point. La source de carbone étant fournie par le CO<sub>2</sub> de l'air et l'ajout de bicarbonate de sodium. Ce milieu permet donc de valoriser ces déchets et de produire en même temps des P. O. U. Des essais réalisés avec l'ISMAL ont montré aussi que ces micro algues sont potentiellement intéressants en aquaculture. Ainsi, l'introduction de cette micro algoculture en Algérie et particulièrement dans les zones arides ou semi-arides est très prometteuse. Elle pourrait rentabiliser des sites difficilement exploitables (milieux pollués en absence d'exutoire naturel et salés) et contribuer à la résolution de la malnutrition humaine ou animale.

**Abstract** – The micro algal from group of Spirulina are known for synthesised of interesting products to interests pharmaceutical and more particularly alimentary. The Spirulina contain about 70 % of proteins/dry weight. This rate is higher to all of the others microbial proteins (less of 60 %) or plants such as corn, maize or soja. The spirulin grow naturally in the lakes where certainly conditions are reunite : strong luminous intensity, temperature relatively high (37 °C) and pH alkaline (9-11). These conditions are found in some Algerian Oasis on particular in the lake of El Golea. Several strains of Spirulina are isolated in this lake and a media culture based with the extracts of feints of poultry and bicarbonate have allowed to obtain 4 g of proteins/l of medium. One of selected strains of Spirulina has been tested on different media polluted by three domestic rejections and has showed an appreciable growth and no negligible degree of depollution. These results indicted that the culture of Spirulina is therefore most possible in the arid regions for the production of proteins and the depollution of superficial waters stales of Oasis why did not exist a natural exclusion.

**Mots clés:** Spirulines - P.O.U. - Production - Valorisation - Dépollution.

### 1. INTRODUCTION

Les micro-algues du groupe des spirulines sont connus pour élaborer toute une gamme de produits intéressants (via la photosynthèse) à intérêt pharmaceutique, cosmétique et plus particulièrement alimentaire. Sur le plan de la composition chimique, les spirulines contiennent environ 70 % de protéines. Ce taux est supérieur à toutes les autres protéines microbiennes (inférieur à 60 %) ou des plantes tels que le blé, le maïs ou le soja. Par ailleurs, la teneur en acides aminés essentiels est mieux équilibré que celles issues de plantes (déficience en lysine) ou de micro-organismes (déficience en acides aminés soufrés). De ce fait, leur assimilation par l'organisme humain et animal est presque totale.

Sur le plan de la culture des spirulines, ces micro-organismes prolifèrent naturellement dans les lacs ou certaines conditions sont réunies : pH alcalin (9-11), température relativement élevée (37 °C), intensité lumineuse assez importante.

Dans cette étude, nous avons pu isoler une vingtaine de souches de *Spirulina* à partir de différentes régions d'Algérie et particulièrement du lac d'El Goléa. La comparaison de la croissance des souches isolées avec des souches de référence (souche T1 et Re 50) a permis de sélectionner quatre d'entre elles, qui se sont révélées les plus intéressantes sur le plan de la croissance. Ensuite, des études concernant la recherche d'un milieu de culture de base synthétique et naturel favorable suivies de travaux d'optimisation concernant la source azotée ont été entreprises.

Enfin, des cultures d'une des souches sur un milieu naturel a été entreprise sous des conditions non contrôlées. Le rendement en biomasse et la diminution de la charge microbienne a été suivi.

La culture de spirulines dans le lac d'El Goléa est très possible. Les perspectives en faveur de cette culture à grande échelle sont discutées.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1 Méthodologie

- Souches utilisées

Les souches de *Spirulina* ont été isolées des lacs d'El Goléa et de Ain Salah et d'un échantillon de terre ramené du lac Tchad. Les souches *Toliara* et *Lonar* nous ont été fournies par le Pr Riplex-Fox. Le protocole d'isolement et de purification a été mis au point dans notre laboratoire.

- Identification des souches par une étude macro et micro morphologique.

- Criblage et sélection des souches les plus performantes: vitesse de croissance, rendement par comparaison avec les souches de référence *Lonar* et *Toliara*.

- Recherche sur les milieux permettant un maximum de croissance (recherche de sources azotées et de fer notamment).

Le milieu de base utilisé comme milieu de référence est le milieu de Zarrouk. Les cultures seront faites dans des aquariums et des bacs en plastique ou en polyéthylène selon la méthode de Jourdan de 10 à 20 litres et munis d'une pompe pour injection de CO<sub>2</sub>.

### 2.2 Sélection de quelques souches ayant présentés le meilleur rendement

#### 2.2.1 Culture des souches sélectionnées et comparaisons des rendements avec la souche de *Lonar* (souche industrielle)

Sélection d'une souche la plus intéressante. Pour cela, nous utiliserons le milieu à base de fiente de volaille récente (30 g/l), de sirop de fer et de bicarbonate de sodium. La sélection est basée sur de nombreux critères : cinétique de croissance, temps de latence, rendement en biomasse, nombre de spires / cellules pendant la croissance, couleur,...

#### 2.2.2 Obtention des inocula purs et suffisants pour les cultures

- \* à petites échelles sur bacs en plastique, aquariums munis de pompe à O<sub>2</sub> (volume de 5 à 10 litres).
- \* en bassins expérimentaux en sachets de polyéthylènes (jusqu'à 1000 litres)
- \* dans les sites naturels, notamment le lac d'El Goléa. A cet effet, les inocula seront mis dans des jerricans de 20 litres pour les besoins du transport

Comme les inoculations et les cultures se feront en conditions non contrôlées et non régulées, des échantillons sont prélevés quotidiennement afin de tester l'effet de cette culture sur :

- la croissance de la souche inoculée (par observation sous microscope)
- la biomasse (quantité de cellules/litre), le pH, la température,...
- la charge microbienne autres que *Spirulina* principalement les streptocoques fécaux, les coliformes.
- le degré de dépollution, en effectuant des analyses microbiologiques (dénombrement des coliformes et des streptocoques fécaux) et chimiques (réduction de la charge en matière organique polluante).

## 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

### 3.1 Culture des souches isolées sur les différents milieux

Une vingtaine de souches de *Spirulina* ont été isolées et purifiées. Celles qui ont été particulièrement intéressantes sont les souches : T1 (isolée d'un échantillon du lac Tchad; LGIII, LIS). La souche Léonard est une souche industrielle, qui a été utilisée pour mesurer les performances des trois souches précédentes. Pour cela, une courbe étalon permettant de déterminer le poids sec directement à partir de l'absorption a été utilisée.

### 3.2 Culture des souches sur différents milieux de culture synthétiques

D'une manière générale, nous avons noté que les souches de *Spirulina* se comportent de manière similaire et ce quelque soit le milieu utilisé. Ainsi, sur le milieu Zarrouk, elles présentent toutes une croissance importante. Le maximum de croissance est obtenu entre le 25<sup>ème</sup> et le 26<sup>ème</sup> jour. La phase de latence est de 48 heures. La biomasse obtenue se situe entre 5 et 6 g/l.

Afin d'étudier l'effet des constituants du milieu Zarrouk, la concentration de ces derniers a été modifiés un à un selon un plan d'expérience. Les éléments modifiés sont le bicarbonate de sodium et le nitrate de sodium. Par

ailleurs, ces derniers ont aussi été substitués par d'autres éléments, en utilisant la même teneur. La comparaison de la croissance des souches sur ces différents milieux modifiés a donné les résultats suivants.

Sur les milieux de Zarrouk modifiés : Zf, Zc et Zfc, la croissance est légèrement moins importante que sur milieu Zarrouk et la phase de latence est plus longue (4 jours). Toutefois, ce résultat est intéressant dans la mesure où le milieu étant complexe (milieu à base de cendre ou de fiente de volailles, comme source d'azote), les souches nécessitant une phase d'adaptation pour croître. A partir de 30 g/l de bicarbonate de sodium, plus on augmente sa teneur et moins la croissance est bonne. Le nitrate de sodium doit être utilisé à une concentration de 1g/l. L'utilisation de cendre et de fiente, par ailleurs très polluants, aurait dans ce sens permis d'atteindre deux objectifs : une diminution de la pollution par un recyclage de ces deux polluants et une production de biomasse importante. La substitution du nitrate et le bicarbonate de sodium ( $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ) très coûteux, par la fiente et la cendre respectivement est donc d'un intérêt économique certain.

Par ailleurs, la morphologie des souches de *Spirulina* sur les différents milieux est assez similaire, puisqu'elles se présentent sous la forme de filaments de 3 à 5 spires, très serrées et de couleur verte.

Enfin, sur les milieux FS04, les chaises cellulaires maximales obtenues sont de 2 g/l au bout de 28 jours d'incubation. La phase de latence est longue (6 jours).

### 3.3 Culture des souches sur des milieux naturels

Les milieux utilisés ont été de l'eau de mer (diluée au 1/5ième avec de l'eau distillée) prélevé au niveau de l'ISMAL, du lac d'El Goléa (2 stations) et de l'eau de source. Les cultures ont été conduites sur ces milieux non enrichis et enrichis au bicarbonate de sodium, nitrate de sodium et agrispan. Ce dernier est un fertilisant biologique utilisé en agriculture et en aquaculture. Les cultures sont menées en erlermeyer et en flacons de Roux de 1 litre (37 °C, 3000 lux et pH de 10 et une faible agitation).

L'allure de la croissance des souches est similaire pour toutes les souches. On remarque que, à l'exception de l'eau de mer où la phase de latence est très longue (12 jours), les autres milieux permettent d'obtenir une croissance rapide mais modérée par rapport aux milieux synthétiques. En effet, la biomasse obtenue dans tous les cas est inférieur à 1,5 g/l. Toutefois, l'eau de source est celle provenant d'El Goléa, enrichis avec de l'agrispan à raison de 3 g/l permettent d'obtenir des rendement en biomasse proche du milieu de Zarrouk.

### 3.4 Culture de la souche LGIII à grande échelle et sous conditions naturelles (non contrôlées)

Des essais ont été réalisés dans le lac d'El Goléa (au niveau de la station 1 qui reçoit les rejets domestiques de la ville d'El Goléa). La souche utilisé est la LGIII. Pour cela, 2 bacs en polystyrène de dimensions : 2 m de long, 0,80 m de large et 0,30 m de profondeur, ont été remplis avec de l'eau de la station 1, puis inoculés avec la souche LGIII. L'un des 2 bacs ayant été enrichi avec de la fiente de volaille asséché et filtrée. Les premiers résultats obtenus après 1 mois ont montré que la souche s'est bien adaptée et qu'elle a formée une pellicule verdâtre à la surface du milieu. Par ailleurs, les prélèvements effectués ont montré que la biomasse obtenue est 2,5 fois plus importante dans le bac enrichi (environ 1,6 g/l) et que la D.B.O. a diminué dans les 2 bacs. Les analyses bactériologiques effectuées sur les échantillons d'eau ont montré que la croissance de la souche LGIII s'accompagne d'une diminution des coliformes, de *E. coli*, des streptocoques et de la flore aérobie mésophile. Ce résultat confirme les observations précédentes à savoir l'implication directe ou indirecte de la spiruline dans la dépollution et les conditions favorables à cette culture dans la zone étudiée puisque l'expérience a été réalisée sous des conditions non contrôlées.

Aussi, cette microalguculture permettrait de valoriser et de rentabiliser les eaux superficielles salées (remontée des sels) et polluées (absence d'exutoire naturel et de stations d'épurations) qui ne peuvent être exploitées d'un point de vue agricole ou autres.

Comme on peut le constater, les perspectives de production et d'utilisation des spirulines sont très nombreuses pour les populations locales qui pourraient trouver dans cette culture particulière des revenus inattendus. Des ingénieurs ou investisseurs pourraient être intéressés par ce projet et contribuer au développement de certaines zones enclavées.

Enfin, cette microalguculture pourrait économiser à notre pays des devises pour l'achat de protéines animale ou végétale.

## REFERENCES

- [1] C. Zarrouk, 'Contribution à l'Etude d'une Cyanophycée : Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la Croissance, la Photosynthèse de *Spirulina*', Thèse de Docteur Es-Sciences Appliquées, Paris, 1966.
- [2] J. Blum et C. Calet, 'Valeur Alimentaire des Algues Spirilines pour la Croissance du Poulet de Chair', Ann. Nutr. Aliment., 2, pp. 651-674, 1975.
- [3] O. Ciferri, '*Spirulina*, the Edible Micro-organism', Microbiological Review, 47, N°4, pp. 551-578, 1983.
- [4] H. Durand-Chastel, F. Doumange et A. Toulemona, '*La Spiruline, Algue de Vie*', Bull. Inst. Ocean., pp. 7-11, 1993.
- [5] D. Fox Rippley, '*Algoculture: la Spiruline, un Espoir pour le Monde de la Faim*', Edisud, 260 p., 1996.
- [6] C. Sautier et J. Tremoilières, 'Valeur Alimentaire des Algues Spirilines chez l'Homme', Ann. Nutr. Aliment., 30, pp. 517-534, 1975.
- [7] R. Pal and P. Chatterge, 'Use of Industrials Effluents for the Cultivation of *Spirulina*', Journal of Botany., 17, pp. 89-93, 1988.
- [8] D. Van Weid, '*Spirulina Production : an Indian Village Experience in Tamlinadut*', Bull. Inst. Ocean., pp. 187-190, 1993.
- [9] C. Abou, '*A la Conquête du Désert*', Biofutur., pp. 15-19, 1994.
- [10] S. Uniques, '*Spirulina Production in Spain*', Bull. Inst. Ocean., 169, pp. 173, 1983.
- [11] S.A. Abdin Sherif, 'Contribution à l'Etude de la Culture d'Algues *Spirulina* en République Arabe d'Egypte – Recherche d'un Site de Production Industrielle', Thèse de Doctorat de l'Université de Dijon, France, 1981.
- [12] F. Delpeuch, A. Joseph et C. Cavalier, 'Consommation Alimentaire et Apport Nutritionnel des Algues Bleues chez Quelques Populations du Kanem (Tchad)', Ann. Nutr. Aliment., 29, pp. 497-516, 1976.
- [13] D. Riplex - Fox, '*Spiruline : Technique Pratique et Promesse*', Edisud, 1999.