



## QUALITE NUTRITIONNELLE DE *SPIRULINA PLATENSIS* EN CROISSANCE DANS LES EAUX USEES DOMESTIQUES

*OULD BELLAHCEN T.*<sup>2</sup>, *BOUCHABCHOUB A.*<sup>1</sup>, *MASSOUI M.*<sup>2</sup>  
*EL YACHIOUI M.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de biochimie Générale et de biologie moléculaire, Institut Agronomique Vétérinaire Hassan II, BP. 6202, Rabat, Maroc.

<sup>2</sup>UFR d'Agroressources et Chimie fine : Laboratoire de biotechnologie microbienne, Faculté des sciences, B.P.133, Kenitra, Maroc. Fax : (212) (7) 37 80 65.

bellahcentouria@hotmail.com

### RESUME

La spiruline est une source alimentaire de haute qualité nutritive, caractérisée par sa haute digestibilité, sa teneur élevée en protéines (60-70%) et particulièrement la phycocyanine. La culture et la production de la biomasse de *Spirulina* dans les eaux usées domestiques traitées et supplémentées par deux éléments minéraux majeurs (NaHCO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>) ou par six éléments minéraux déficients par rapport au milieu témoin (NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl, FeSO<sub>4</sub>) a été standardisée et testée au laboratoire. Un suivi de l'évolution de la teneur en protéines et en phycocyanines dans ces milieux a été réalisé. Le résultat de cette étude démontre que la teneur en protéines et en phycocyanines de *Spirulina* en croissance dans ces milieux n'est pas affectée et atteint le même niveau que le milieu témoin (milieu zarrouk).

**Mots clés :** *Spirulina*, Eaux usées domestiques, Protéine, Phycocyanine.

### ABSTRACT

The *Spirulina* is a highly nutritive source of food, characterized by its high digestibility, its content in protein (60-70%) and especially the phycocyanin. A technique for growing *Spirulina* in domestic sewage treated and enriched by two major mineral elements (NaHCO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>), or by six deficient mineral elements in comparison with the synthetic medium (NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>,

K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl, FeSO<sub>4</sub>) was standardized and tested in laboratory. A coherent check on the evolution of protein and phycocyanin in these mediums was performed, The résultat has demonstrated that the content in protein and phycocyanin of *Spirulina* whil growing in these mediums was not affected and reached the same level as with the synthetic medium.

**Keywords:** *Spirulina*, Domestic sewage, Protein, Phycocyanin.

## INTRODUCTION

*Spirulina* est une cyanobactérie, filamenteuse, multicellulaire, qui représente le micro-organisme photosynthétique le plus abondant et commun des lacs saumâtres de l'Afrique centrale et du Mexique. Elle est consommée depuis les temps les plus anciens par certaines populations limitrophes du lac Tchad (Saxena, 1981). ce microorganisme a la particularité de posséder une teneur élevée en protéines, qui peut dépasser 60% du poids sec de l'algue. De plus, plusieurs propriétés utiles caractérisent cette cyanobactérie, à savoir la présence de vitamine B1, de β carotène, d'acides gras insaturés (acide linoléique) et d'une protéine bleue fluorescente alimentaire: la phycocyanine, qui constitue une source prédominante de stockage d'azote (Sironval, 1993).

Cette micro-algue a été le sujet de nombreuses études dans plusieurs pays (Saxena, 1982). Mais, l'inconvénient de sa culture en masse est la préparation du milieu de culture synthétique, milieu zarrouk (Zarrouk, 1966). Ce milieu nécessite des éléments minéraux très coûteux et à une concentration importante.

Cependant, après des essais au laboratoire, nous avons montré que la culture de *Spirulina* sur des eaux usées domestiques est possible à condition que ces eaux soient clarifiées par traitement aérobique et enrichies soit par deux éléments minéraux (NaHCO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>) (milieu M<sub>1</sub>) ou par six éléments minéraux (NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl et FeSO<sub>4</sub>) (milieu M<sub>2</sub>). Mais, par cette étude quantitative, il s'est avéré difficile de choisir entre ces deux milieux (M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>), le milieu le plus adéquat pour une croissance optimale de cette algue. Ainsi, un suivi de l'évolution de la teneur en protéines et en phycocyanine dans ces deux milieux a été effectué pour déterminer l'effet de l'apport de substrats minéraux (soit deux ou six éléments minéraux) sur la qualité nutritionnelle de l'algue *Spirulina*, et par conséquent de trier entre ces deux milieux, le milieu le plus convenable pour une production importante de spirulines de bonne qualité.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est l'algue bleue verte: *Spirulina*

platensis appartenant à l'ordre des Nostocales, Famille des Oscillatoriacées (FOX 1986). Il s'agit d'une cyanobactérie microscopique, filamenteuse et multicellulaire ayant une forme hélicoïdale (Richmond, 1985). La longueur moyenne du filament comprenant 5 à 7 spires, est de 250 µm et le filament spiral à un diamètre voisin de 10 µm (Clement, 1975). La souche nous a été aimablement fournie en culture dans des flacons de 250 ml, par le laboratoire de phytobiologie de l'Université de Liège (Belgique).

### **Conditions de culture**

Sous les conditions de laboratoire, les cultures sont réalisées dans les Erlenmeyers de 5L, maintenus dans des conditions d'éclairage, de température et d'un débit d'air identique.

- L'éclairage permanent est assurée à l'aide d'une lumière blanche par 4 tubes à néon de type sylvania d'intensité lumineuse de 6000 lux.
- La température est maintenue à une valeur optimale de 32°C à l'aide de pompes à air et par l'agitateur.

### **Milieux de cultures**

#### ***Milieu synthétique***

Les cultures témoin sont réalisées sur un milieu synthétique décrit par Zarrouk en 1966. Ce milieu contient tous les éléments nutritifs susceptibles d'être consommés par *Spirulina platensis* à des concentrations bien supérieures aux besoins de l'algue (Zarrouk, 1966).

#### ***Milieux à base d'eaux usées domestiques***

- Un milieu (M<sub>1</sub>) constitué d'eau usée traitée aérobiquement à une D.C.O de 168.4 mg d'O<sub>2</sub>/l et enrichie par deux éléments minéraux majeurs : le bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>) comme source de carbone pour maintenir une alcalinité élevée et le nitrate de sodium (NaNO<sub>3</sub>) comme source d'azote.
- Un milieu (M<sub>2</sub>) formé d'eau usée traitée de la même façon que le milieu précédent, mais, il est enrichie par six éléments minéraux qui sont déficients au niveau de ce milieu (NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl et FeSO<sub>4</sub>)

## **Ensemencement**

Les milieux de culture testés sont ajustés à pH = 9 par addition de NaOH (4N). L'ensemencement est réalisé avec un culot de spirulines récolté par filtration à partir d'une culture jeune de spiruline cultivée sur un milieu synthétique de Zarrouk.

## **Mesure de la croissance**

La croissance des spirulines est estimée par mesure de la teneur en protéines et en phycocyanine au cours de la période de culture.

## ***Dosage des protéines***

Pour la détermination des protéines, une suspension cellulaire (4 ml) est centrifugée pendant 20mn à 13000 rpm à l'aide d'une micro-centrifugeuse. Le culot resuspendu dans le même volume d'eau distillée, est soniqué pendant 3mn à des intervalles de 30 secondes à 80 Watts, avec un sonicateur de type bioblock.Vibra.Cell.42434, dans un bain de glace. La suspension obtenue est centrifugée afin d'éliminer les débris cellulaires. 600 µl de surnageant sont utilisés pour le dosage des protéines dans les milieux de cultures (M<sub>Z</sub>, M<sub>1</sub>, et M<sub>2</sub>), en utilisant la méthode décrite par Lowry (Lowry, 1951).

## ***Dosage du pigment bleu : la phycocyanine***

Le mode opératoire pour l'extraction et la détermination de la quantité de la phycocyanine est le suivant :

- 30 ml de la suspension cellulaire sont centrifugées à 15000 rpm pendant une heure.
- Le culot récupéré est lavé deux fois avec l'eau de robinet afin d'éliminer les sels du milieu. Ainsi, le culot bien lavé est resuspendu dans 30 ml de tampon phosphate à pH =7, et additionné de 0,3g de sulfate de streptomycine, soit 1% (P/V).
- La suspension est soniquée pendant 5 mn à 80 watts avec un sonicateur de type BIOBLOCK.VIBRA.CELL.42434, dans un bain de glace.
- Après 15 mn à 4°C, la suspension est centrifugée deux heures à 35000 rpm dans une ultracentrifugeuse de type BECKMAN.

Le spectre d'absorption du surnageant bleu clair est déterminé à l'aide d'un Spectrophotomètre à U.V. visible de type JENWAY.6105.

La concentration de la phycocyanine est calculée à partir de la mesure des

absorbances à 620 nm et 650 nm, d'après les formules de Bennett et Bogorad (1973):

$$PC(\mu\text{g} / \text{ml}) = \frac{DO\ 620\text{nm} - 0,7DO\ 650\text{nm}}{5,38}$$

## **RESULTATS**

### **Evolution de la teneur en protéines ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) au cours de la croissance**

La figure la illustre l'évolution de la teneur en protéines ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dans les milieux  $M_1$ ,  $M_2$  et  $M_z$  en fonction du temps (jours).

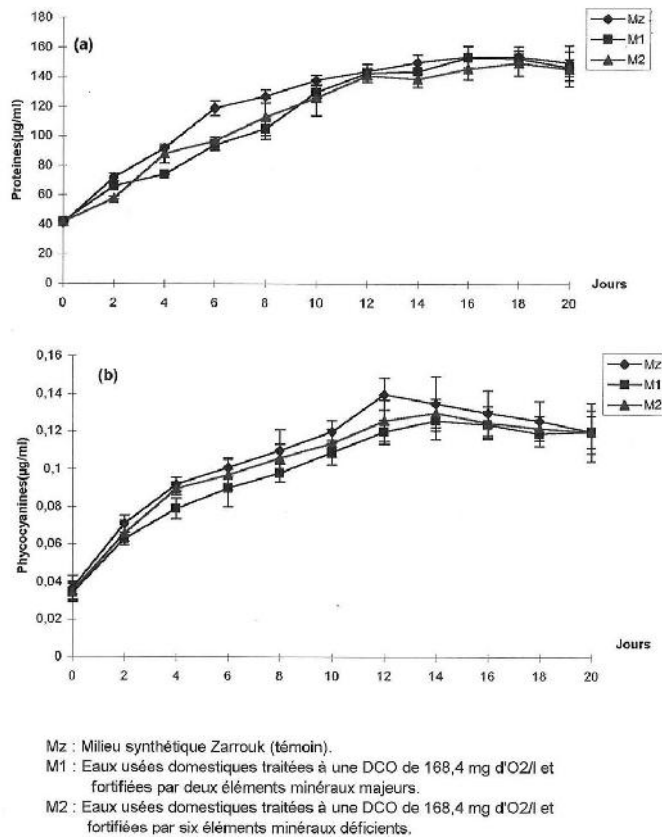
La synthèse de protéines augmente progressivement avec la croissance des spirulines. La teneur en protéines maximale est de 142,5  $\mu\text{g}/\text{l}$  pour le milieu  $M_1$ , de 131  $\mu\text{g}/\text{l}$  pour le milieu  $M_2$ , et de 149,8  $\mu\text{g}/\text{l}$  pour le milieu  $M_z$ , suivi d'une diminution de la vitesse de synthèse des protéines, pour aboutir à la phase de croissance stationnaire.

### **Evolution de la teneur en phycocyanine au cours de la croissance**

La figure 1b montre que L'évolution de la teneur en phycocyanine ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dans les milieux  $M_1$ ,  $M_2$  et  $M_z$  s'effectue régulièrement au cours la croissance, le taux maximal de synthèse de la phycocyanine, obtenu en fin de la phase exponentielle est de 0,14  $\mu\text{g}/\text{ml}$  pour le milieu  $M_z$  et 0,12  $\mu\text{g}/\text{ml}$  pour les deux autres milieux testés.

Le niveau maximum de synthèse de la phycocyanine par les spirulines cultivées dans le milieu  $M_1$  (eaux usées traitées supplémentées par deux éléments minéraux) est égal à celui dans le milieu  $M_2$  (eaux usées traitées et fortifiées par six éléments minéraux).

La teneur en phycocyanine diminue progressivement dans les trois milieux, puis elle se stabilise à la fin de la période de culture.



**Figure 1** : a. Evolution de la teneur en protéines (µg/ml) en fonction du temps. b. Evolution de la teneur en phycocyanine (µg/ml) en fonction du temps dans les milieux M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> et M<sub>z</sub>

## DISCUSSION

L'évolution de la teneur en protéines et en phycocyanines au cours de la croissance de l'algue *Spirulina* dans les milieux M<sub>1</sub> (eau usée traitée et fortifiée par deux éléments minéraux majeurs) et M<sub>2</sub> (eau usée traitée et fortifiée par six éléments minéraux déficients), est identique et elle est légèrement moins importante que celle constaté dans le milieu témoin M<sub>z</sub>.

La teneur en protéines et en phycocyanines des deux milieux de cultures expérimentaux n'est pas différente de celle du milieu témoin. En plus, la différence en éléments minéraux entre les deux milieux testés M<sub>1</sub> et M<sub>2</sub> d'une part et le milieu M<sub>z</sub> d'autre part est non significative puisque leur témoin arrive presque au même niveau à la fin de la phase exponentielle.

## **CONCLUSION**

La culture en masse à grande échelle de *Spirulina platensis* dans des eaux usées traitées et enrichies par des substrats minéraux (deux ou six éléments minéraux) est possible, sans que la qualité nutritionnelle de cette algue (teneur en protéines et en phycocyanines) ne soit affectée. Donc, cette biotechnologie peut atteindre un stade commercial. Mais, le futur de cette industrie dépend fortement des efforts de la recherche pour augmenter la vitesse et réduire le coût de production.

## **REMERCIEMENTS**

*Les auteurs remercient l'institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II (Rabat, Maroc), pour le soutien qu'il accorde au domaine de la recherche.*

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- BENNETT et al. (1973). Complementary chromatic adaptation in filamentous blue-green algae. *J. Cell. Biol*, 58 : 419- 435 .
- CLEMENT G. (1975). Productions et constituants caractéristiques des algues *Spirulina platensis* et *maxima*. *Annale de la nutrition animale*, 29 : 477-488.
- FOX R.D. (1986). Algoculture : la *Spirulina*, un espoir pour le monde de faim. Ed. Paris, pp. 127-215.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARRA L., RANDALL R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 256- 275.
- RICHMOND A. (1985). *Spirulina* in microalgae Biotechnology. Ed, C.R.C Press, Florida ,356 pp.
- SIRONVAL C. (1993). La spiruline, une arme contre la malnutrition, histoire et perspectives. *Bulletin de l'institut océanographique, Monaco*, 12, 203-222.
- SAXENA P.N. (1982). Cultivation of *Spirulina* in sewage for poultry feed. *Experientia*, 39, 1077-1083.
- SAXENA P.N., AHMAD M.R., SHYAM R., AMLA D.V. (1981). Biotechnology of *Spirulina* cultivation in sewage. *Extention littérature N°4, Economie Botany information service, India*. 1-6.
- ZARROUK C. (1966). Contribution à l'étude d'une cyanophycée sur la croissance de la photosynthèse de *Spirulina maxima*. Thèse universitaire, Paris.