**Optimisation de la bioaccumulation des hydrates de carbone dans les microalgues « *Chlorella sorokiniana* »**

**Toumi. A, Trukhina. E.V, Smyatskaya. J.A**

**Abstract**

Les micro-algues ont un grand potentiel pour la production de compléments alimentaires destinés à l’alimentation humaine, animale et dans l’aquaculture. Leur teneur en molécules à haute valeur augmente l’intérêt qui leur est porté par les industries pharmaceutiques et cosmétiques (1). La Chlorelle fait l’objet de plus en plus d’études car elle est l’une des espèces de micro-algues les plus utilisées pour la consommation humaine. La présente étude a pour but de choisir les conditions de culture optimales pour *Chlorella sorokiniana* afin d’obtention une biomasse à teneur élevée en hydrates de carbone.

***Mots clés :*** *Chlorella sorokiniana, hydrates de carbone, culture, compléments alimentaires.*

**Introduction**

Les compléments alimentaires représentent un marché très attractif tant pour le producteur que pour le consommateur. Ces dernières années, la production de ces derniers est en plein essor et se développe dynamiquement dans le monde entier et ce, pour plusieurs raisons : rentabilité élevée, alimentation carencée (en vitamines, fibres végétales et minéraux), baisse de la qualité des aliments cultivés... etc. Dans les pays développés, la population qui est bien informée de ces problèmes prend régulièrement divers compléments et suppléments alimentaires pour équilibrer son alimentation. La Russie ne fait pas exception. En effet, entre 2011 et 2016, le marché des compléments alimentaires est passé respectivement de 53.26 à 92.9 millions de roubles. Les pharmacies en représentent le principal réseau de distribution. (2).

La *chlorelle* est l'une des rares micro-algues utilisées pour la consommation humaine. Sa teneur élevée en protéines et en nutriments font d’elle une bonne candidate pour la production de compléments alimentaires.

De plus, sous des conditions de culture spécifiques (par exemple, en condition de stress), elle peut augmenter ses teneurs en glucides, lipides et protéines (3).

De plus, la production de micro-algues bien que nécessitant des milieux aqueux, consomme moins d’eau que les cultures terrestres. Elles peuvent ainsi être cultivées sur des terres infertiles, ce qui minimise considérablement leur impact environnemental.

La croissance rapide de *Chlorella sorokiniana*, et son efficacité photosynthétique élevée en font une candidate appropriée pour la production de compléments alimentaires.

Plusieurs travaux de recherche sont en cours pour évaluer les meilleures conditions de culture des micro-algues afin d’en augmenter les teneurs en composants nutritifs tels que : les lipides, les protéines, les sucres et les pigments (caroténoïdes, ... etc.).

La présente étude a pour but de choisir les conditions optimales de culture de *Chlorella sorokiniana* pour l'obtention de biomasse à haute teneur en hydrates de carbone.

**Partie expérimentale**

**Matériel et méthode :**

Les hydrates de carbone sont formés lors de la photosynthèse. Leur production va donc dépendre fortement de l’intensité lumineuse fournie mais aussi de la température, de la concentration en dioxyde de carbone et de la composition du milieu de culture (micro et macroéléments, … etc.).

Les hydrates de carbone remplissent plusieurs fonctions : énergie, réserves et protection. Une augmentation de la concentration en polysaccharides est un signe de vieillissement cellulaire. Par contre, une baisse de la concentration de ces derniers est un signe d’épuisement cellulaire. Lors de reproduction intensive, les quantités de sucres peuvent aussi décroître, car ces derniers sont utilisés pour former des autospores.

La culture a été effectuée dans un photobioréacteur **(figure 1)**, qui est un récipient cylindrique en verre de 380 mm de hauteur, 50 mm de diamètre, dans un volume de 500 ml. Le photobioréacteur a été réglé sous régime « jour-nuit », en agitation périodique : temps d’agitation = 15 minutes, temps de repos (sans agitation)= 120 minutes à une vitesse d’agitation de 500 tours par minute (tpm).

L'aération a été réalisée par un compresseur (modèle AP-001) sous un débit de 1,5 l/min Le milieu nutritif utilisé a été préparé de manière conventionnelle et contient l'ensemble des macro- et microéléments requis.

**Fig.1.** Schéma du photobioréacteur : 1 - pompe-aérateur ; 2 - source de rayonnement (IR, UV) ; 3 - lampes fluorescentes ; 4 - agitateur magnétique ; 5- agitateur à ancre magnétique ; 6 - tube d'alimentation en air

La croissance a été contrôlée par mesure de la densité optique par spectrophotométrie (spectrophotomètre modèle UNICO 1208), à une longueur d'onde de 750 nm. Pour le décompte des cellules par ml, une chambre de Goriaev a été utilisée.

L'étude morphologique de la population de *C. sorokiniana* a été réalisée par microscopie en préparations intravitales avec un grossissement de 640 fois.

Pour étudier la microstructure, des photomicrographies ont été réalisées à l'aide d’un appareil photo numérique IS-500 et du programme FOTO Microanalysis dans dix champs de vision. L'analyse des photomicrographies à l'aide du programme informatique Levenguk a permis de modifier le contraster, la luminosité des photos et d'agrandir les images.

Source de rayonnement lors du traitement au rayonnement laser (RL) : un laser rouge a été utilisé en mode continu de modèle LGN 208B avec une puissance de sortie nominale de 1,6 mW et une longueur d'onde de 0,63 micromètres. L’usage d’un télescope a permis d’obtenir un faisceau lumineux cylindrique de 5 cm de diamètre sur l’objet. La densité de puissance du rayonnement à l'installation était de 0,3 W/m2, l'éclairage de 40 Lux. La distance entre le laser et le télescope grossissement angulaire de 30x était de 2,1 m, et celle entre le télescope et l'échantillon était de 0,1 m.

Après exposition à LI pendant 15 minutes, une augmentation significative du nombre de cellules est observée. Les cellules sont caractérisées par une grande vacuole, une coquille lipidique épaissie, une grande accumulation de métabolites, enclins à l'agglutination.

Pour la culture de microalgues dans des conditions ordinaires (lumière du jour), l'intensité lumineuse était de 2800 Lux et la température était égale à 21,0 ± 1,0 ° C;

Le rayonnement infrarouge (**IR**) ou « rayonnement thermique » a été produit en utilisant une lampe à infrarouge IKZK, la tension est de 220 V, la puissance de 250 W, et d’intensité de 14100 Lux. La température due au rayonnement IR a atteint 28,0 ± 2,0 ° C;

Pour le rayonnement ultraviolet (**UV**), une lampe à UV 01 de marque OUFD (longueur d'onde 280-315 nm) a été utilisé pendant 3 heures le premier jour de culture. En outre, la culture a été effectuée sous une intensité de lumière fluorescente de 2800 Lux à une température de 21,0 ± 1 0 ° C;

**Préparation de l'échantillon Concentration de la biomasse :** les microalgues *Chlorella sorokiniana*, obtenues par divers effets physiques ont été réalisée par centrifugation de la suspension à 6000 tpm pendant 10 minutes. Le surnageant a été prélevé à l’aide d’une seringue. Le culot a été soumis à un séchage IR (T° = 37 ° C) jusqu'à poids constant puis lyophilisé. (**figure 2**)



**Fig. 2.** Schéma de la préparation des échantillons

 **Résultats :**

**Tableau**

**Teneur en hydrates de carbone dans la biomasse de *Chlorella sorokiniana* sous différentes conditions de culture**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№**  | **Agent physique** | **Taux en hydrates de carbone (teneur totale)** | **Monosaccharides, mg/g** | **Oligo, polysaccharides, mg/g** |
| % | mg/g |
| 1 | Rayon laser | 39,04 | 390,40 | 180,25 | 210,15 |
| 2 | Lampe fluorescente | 37,26 | 372,57 | 170,30 | 202,27 |
| 3 | IR | 34,03 | 340,31 | 140,22 | 200,09 |
| **4** | **UV** | **43,03** | **430,27** | **190,16** | **240,11** |
| 5 | Témoin (Lumière du jour) | 33,11 | 331,14 | 130,90 | 200,24 |

Selon les résultats exposés dans le tableau ci-dessus, la teneur la plus élevée en hydrates de carbone (teneur totale) a été retrouvé dans l’échantillon de biomasse cultivé sous UV. La biomasse obtenue après exposition au laser contient également une concentration élevée en hydrates de carbone.

Sous IR, la biomasse est caractérisée par la présence de « vielles cellules » et contient plus de polysaccharides que de monosaccharides.

 Dans la culture témoin, l'épuisement des cellules est possible. Dans ces échantillons, il peut se développer une microflore étrangère qui concurrence *C.sorokiniana* pour la consommation de glucides. Dans cette biomasse, on observe une faible teneur en monosaccharides : ces populations ayant un nombre prédominant de "vieilles cellules".

**Conclusion**

Cette étude en cours permettra de déterminer les facteurs d’optimisation de la culture de *Chlorella sorokiniana* et les résultats préliminaires présentés ci-dessus sont encourageants.

Cette recherche a été réalisée dans le cadre du programme fédéral "Recherche et développement dans les domaines prioritaires pour le développement du complexe scientifique et technologique de la Russie 2014-2020" sur le thème "Développement et mise en œuvre de biotechnologies innovantes pour le traitement des microalgues Chlorella sorokiniana et Lemna minor." .21.0038). L'identifiant unique du projet RFMEFI58717X0038.

**Bibliographie**

1. Spolaore, P. ; Joannis-Cassan, C. ; Duran, E. ; Isambet, A., 2006. Commercial applications of microalgae. J. Biosci. Bioeng., 101 (2): 87–96
2. Euromonitor International Объём Российского рынка БАД.
3. Guccione et al.: Chlorella for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor. Biotechnology for Biofuels. 2014 ; 7:84.