



HAL
open science

Alternative à l'urée synthétique utilisée en production de spiruline : Essais de culture sur engrais azoté à base d'urine humaine concentrée

Eva Denis, Caroline Tassart, Assa Savane, Léa Thevenon, Marie Deblieck,
Denis Watier

► To cite this version:

Eva Denis, Caroline Tassart, Assa Savane, Léa Thevenon, Marie Deblieck, et al.. Alternative à l'urée synthétique utilisée en production de spiruline : Essais de culture sur engrais azoté à base d'urine humaine concentrée. CNRIUT 2023 Saint Pierre - La Réunion, IUT de Saint Pierre, Jun 2023, Saint Pierre (La Réunion), La Réunion. hal-04326802

HAL Id: hal-04326802

<https://hal.science/hal-04326802v1>

Submitted on 6 Dec 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Alternative à l'urée synthétique utilisée en production de spiruline : Essais de culture sur engrais azoté à base d'urine humaine concentrée

Eva Denis¹, Caroline Tassart¹, Assa Savane¹, Léa Thévenon¹, Marie Deblieck¹, Denis Watier^{1,2}
marie.deblieck@univ-littoral.fr denis.watier@univ-littoral.fr

¹ IUT du Littoral Côte d'Opale, Département Génie Biologique,
Université du Littoral Côte d'Opale, 62200 Boulogne sur mer, France

² Univ. Littoral Côte d'Opale, UMR 1158 BioEcoAgro, Institut Charles Violette, USC ANSES, INRAe, Univ. Artois,
Univ. Lille, Univ. Picardie Jules Verne, Univ ; Liège, Yncréa, F-62200 Boulogne sur mer, France.

Thèmes – *Biologie - Santé - Environnement*

Résumé – *Cette étude porte sur la recherche d'une source d'azote alternative à l'urée de synthèse actuellement utilisée pour la production de spiruline en France. L'urine humaine comme source naturelle d'azote peut être envisagée. Son utilisation en agriculture se développe dans certains pays d'Afrique ou même en Europe comme en Suède. Cependant, l'urine humaine n'est pas encore autorisée comme engrais dans le règlement de l'Union Européenne. C'est pourquoi nous réalisons des essais de culture sur un engrais homologué : l'Aurin, produit à base d'urine humaine dix fois concentré. Ce produit commercialisé en Suisse, est stabilisé par nitrification, concentré par distillation, désodorisé par électrolyse et hygiénisé par passage sur charbon actif.*

Les cultures ont été menées dans le milieu Zarrouk, milieu standard pour la culture de spiruline, où la source d'azote a été remplacée par l'Aurin à 0,1% et 0,2%. Les conditions de température, d'éclairage (intensité lumineuse, photopériode, rotation pour une exposition identique de tous les flacons) et d'aération (bullage d'une pompe à air) ont été optimisées dans une enceinte de culture.

Les résultats sur l'Aurin comparés aux témoins permettent d'affirmer que la spiruline cultivée sur un milieu à base d'Aurin à un taux de croissance comparable voire supérieur à une culture sur un milieu de référence comme le milieu Zarrouk. Ce travail a été réalisé grâce à l'investissement de quatre étudiantes en deuxième année de BUT Génie Biologique et de leurs professeurs référents à l'IUT du Littoral Côte d'Opale.

Mots-Clés – *Arthrospira platensis, urine humaine, Aurin, agriculture biologique*

1 Introduction

La spiruline (*Arthrospira platensis*) est une cyanobactérie de la famille des Cyanophycées. Sa consommation est répandue de manière ancestrale dans plusieurs pays d'Afrique, d'Amérique du Sud et d'Asie. Son marché est en plein développement de manière plus récente en Europe, et plus particulièrement en France. L'intérêt pour ce « super-aliment » est lié à sa richesse en protéines, acides aminés, vitamines et pigments, tels que la chlorophylle, le β carotène et plus particulièrement, la phycocyanine, seul colorant bleu naturel autorisé en Europe en industries agro-alimentaires.

La France, principal pays producteur en Europe, produit 50 à 70 tonnes de spiruline par an, qui ne représentent que 10% de la consommation française [1].

La source d'azote utilisée en France est principalement l'urée synthétique, ce qui ne permet pas actuellement d'envisager un label « agriculture biologique » sur ce produit.

Une alternative à l'urée synthétique serait l'utilisation d'urine humaine comme source d'azote, comme cela est déjà envisagé en agriculture en Afrique ou en Suède sous forme d'urinofertilisants répandus sur les champs.

L'urine est riche en azote (6g/l), en phosphore (1g/l) et en potassium (2g/l). Lors de l'excrétion, le pH de l'urine est faiblement acide mais évolue rapidement jusqu'à des valeurs autour de 9 en raison de l'hydrolyse de l'urée en ammoniacque. Cette teneur en ammonium peut être inhibitrice à fortes doses pour la spiruline [2].

Pour une première approche, nous avons choisi de mener les essais sur un produit plus facile d'utilisation, l'Aurin, homologué en Europe et commercialisé par Vuna GmbH comme solution d'engrais azoté pour culture de fleurs et légumes [4]. L'Aurin est composé exclusivement d'urine humaine stabilisée par nitrification, concentré par évaporation, désodorisé par électrolyse et hygiénisé sur charbon actif. Au cours du traitement, la moitié de l'azote sous forme ammoniacale est transformée et stabilisée en nitrate, forme d'azote moins inhibitrice que l'ammonium pour la spiruline [2].

Le milieu de culture qui sert de base à notre étude est le milieu Zarrouk, milieu minéral classiquement utilisé comme milieu de référence pour la spiruline [5]. La source d'azote sous forme de nitrate de sodium est remplacée par l'Aurin pour les essais.

L'objectif de notre étude est de vérifier la capacité de la spiruline à utiliser l'Aurin comme seule source d'azote.

2 Matériels et méthodes

2.1 Origine de la souche et milieu de culture

La souche *Arthrospira platensis* utilisée est une souche de type Lonar, obtenue chez le producteur « Spiruline de la Fresnaie » (59 Frasnoy).

La préculture est cultivée dans le milieu Zarrouk dont la composition est la suivante (en g/l) : NaHCO_3 : 16,8; NaCl: 5; NaNO_3 : 2; K_2SO_4 : 1; MgSO_4 : 0,2; NH_4PO_4 : 0,2; CaCl_2 : 0,1; FeSO_4 : 0,001 [5].

Le témoin positif (+) est le milieu Zarrouk complet.

Le témoin négatif (-) est le milieu Zarrouk sans nitrate.

Pour les essais sur l'Aurin, le nitrate de sodium est remplacé par différentes dilutions du produit Aurin. Une étude préliminaire a permis de préciser les dilutions les plus pertinentes à tester ; il a été choisi les dilutions au 1/500 (0,2%) et au 1/1000 (0,1%).

Dans tous les milieux, le pH est ajusté à 10 avec NaOH et les milieux sont autoclavés 20 min à 121 °C.

Le dosage de l'Aurin à l'analyseur élémentaire CHN (Flash EA 1112, Thermofisher scientifique) a permis de mesurer un taux d'azote de 6,5% dans le produit commercial. Les dilutions à 0,2% et 0,1% correspondent donc à des concentrations de 9,28 et 4,64 mmol/l en équivalent azote.

2.2 Conditions de culture

Les cultures sont incubées dans un incubateur thermostaté (Panasonic MLR 352) réglé à 30°C et équipé d'un éclairage proche de la lumière du jour (OSRAM Luminix Daylight 6500K).

Les paramètres de photopériode (14h lumière/ 10h obscurité) et d'intensité lumineuse (10000 Lux) ont été fixés selon les conditions optimales établies au cours d'une étude antérieure [3].

L'enceinte est équipée d'un plateau tournant permettant la rotation du support portant les flacons. Chaque flacon a été positionné précisément pour recevoir une moyenne de 10000 Lux après un tour complet de rotation.

Les cultures sont homogénéisées par bullage à l'aide d'une pompe à air sur batterie pour permettre la rotation (fig.1).



Fig.1 : Montage expérimental

2.3 Suivi de croissance

Les flacons sont ensemencés à partir d'une préculture à environ 100 NTU dans des flacons de culture (cell flask Corning 175 cm²) contenant 200 ml de milieu de culture et placés verticalement face à l'éclairage.

Deux fois par jour, après agitation manuelle des flacons, 10 ml sont prélevés pour mesure de la biomasse au turbidimètre (Hanna Instruments HI 88703).

La corrélation entre biomasse (poids sec en g/l) et turbidité (en NTU) a été établie ($Biomasse = 4,6 \cdot 10^{-4} NTU$) et permet d'établir la cinétique de croissance de la biomasse (en g/l) en fonction du temps (en heure).

3 Résultats et discussion

Les cultures mises en place ont été suivies pendant près de 10 jours pour les meilleures croissances (Fig.2).

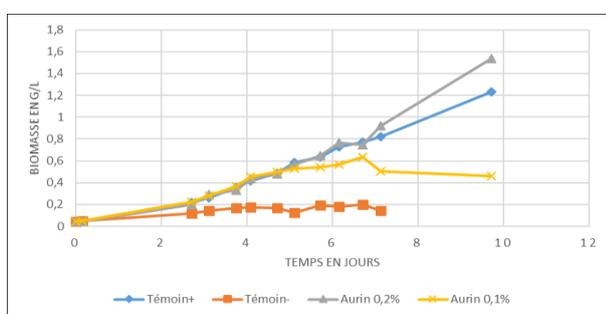


Fig2 : Cinétique de croissance de la spiruline sur différentes sources d'azote (Témoin+ = nitrate de sodium, Témoin - = absence d'azote, Aurin à 0,1%, Aurin à 0,2%)

Tout d'abord, la courbe de croissance du témoin négatif (-) nous montre une légère croissance jusqu'à une population multipliée par 4. Cela signifie que les cellules ont poursuivi leur métabolisme en utilisant les traces d'azote apportées par la préculture ainsi que l'azote de réserve contenu dans les cellules. On constate cependant dès le 4^{ème} jour un arrêt de la croissance.

Les 3 autres cultures présentent des croissances supérieures au témoin (-) et relativement similaires jusqu'au 5^{ème} jour.

A partir du 5^{ème} jour, on constate un ralentissement sur la culture Aurin 0,1%, inhibition sans doute liée à une carence en azote dans le milieu.

Les cultures témoin (+) et Aurin 0,2% poursuivent des croissances identiques jusqu'au 7^{ème} jour. La culture Aurin 0,2% dépasse le témoin (+) au-delà du 7^{ème} jour.

L'allure non exponentielle des courbes en fin de culture montre un ralentissement de la croissance dû en partie à l'augmentation de turbidité de la culture qui rend la lumière moins accessible aux cellules ralentissant ainsi la photosynthèse. Le taux de croissance calculé dans les meilleures conditions (Aurin 0,2%) sur les 4 premiers

jours de culture est de $0,567 J^{-1}$.

4 Conclusions et perspectives

Cet essai préliminaire permet d'affirmer que la spiruline peut être cultivée dans un milieu contenant de l'Aurin de 0,1 à 0,2% et laisse envisager un taux de croissance supérieur à celui attendu dans le milieu Zarrouk. Des concentrations plus élevées d'Aurin ont été antérieurement testées mais un dégagement d'ammoniac après ajustement du pH s'est produit, atteignant sans doute des teneurs inhibitrices pour la spiruline.

Il est donc prévu de poursuivre cette étude par la réalisation d'un plan d'expérience centré réduit pour déterminer plus précisément la concentration optimale en Aurin, en prenant soin avant ensemencement de dégazer l'ammoniac produit lors de l'ajustement du pH à 10.

Cet essai concluant permet d'ores et déjà d'envisager l'utilisation de l'Aurin comme source d'azote à l'échelle d'une production en bassin-pilote. A terme, le passage à l'échelle industrielle nécessitera de lever des verrous tant psychologiques sur l'utilisation de l'urine humaine en production de spiruline, que financiers sur le coût actuel de traitement de l'urine pour en extraire l'Aurin.

5 Remerciements

Les auteurs remercient M. Géry Meausoone de la « Spiruline de la Fresnaie » pour la fourniture de la souche.

Références

- [1] Etude de la Fédération des Spiruliniers de France et Darwin nutrition, La France : championne européenne de la production de spiruline paysanne, 2020.
- [2] Deschoenemaeker F., Bayon-Vicente G., Sachdeva N., Depraetere O., Cabrera Pino J.C., Leroy B., Muylaert K., Wattiez R., 2017, Impact of different nitrogen sources on the growth of *Arthrospira* ss PCC 8005 under batch and continuous cultivation – A biochemical, transcriptomic and proteomic profile, *Bioresource Technology* 237, 78-88.
- [3] Junique L., Watier L., Lejeune H., Viudes F., Deblieck M., Watier D., 2021, Determination by response surface methodology of optimal protein and phycocyanin productivity conditions in *Arthrospira* (Spirulina) platensis under different combinations of photoperiod variation and lighting intensity, *Bioresource Technology reports* 15, 100763.
- [4] Vuna GmbH (copyright in 2020) engrais de recyclage Aurin
- [5] Zarrouk C., 1966, Contribution à l'étude d'une cyanophycée influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch. Et Gardner) Geitler. University of Paris, Paris, (France) PhD Thesis.