

Affichez les signets pour parcourir le document par chapitre

Aspects Nutritionnels

« Que ta nourriture soit ton médicament »
Hippocrate

Introduction

Les spirulines, cyanobactéries consommées depuis des siècles par certaines populations, sont l'objet d'une redécouverte depuis quelques années. Autrefois classées parmi les "algues bleues-vertes", elle ne sont pas à proprement parler des algues, même si par commodité on continue à les désigner comme telles. Elles croissent naturellement dans les eaux alcalines de certains lacs, en zones chaudes. D'une taille de l'ordre de 0.1 mm, elles se présentent généralement comme de minuscules filaments verts enroulés en spires plus ou moins serrées et nombreuses, suivant les souches.

C'est d'abord leur impressionnante teneur en protéines, ainsi que leur vitesse de croissance, dans des milieux totalement minéraux, qui ont attiré l'attention des chercheurs, comme des industriels.

Au cours d'analyses plus approfondies, nombre de points particulièrement intéressants sur le plan nutritionnel sont apparus: composition protéique équilibrée, présence de lipides essentiels rares, de nombreux minéraux ou encore de vitamine B12.

Tandis que l'intérêt suscité par d'autres micro-organismes s'estompe quelque peu devant des problèmes comme la digestibilité ou la teneur en acides nucléiques, la spiruline semble actuellement l'une des meilleures solutions pour la production simple d'un complément alimentaire de haute qualité. Mentionnons aussi que les conditions extrêmes (salinité et pH) dans lesquelles la spiruline se développe assurent l'hygiène des cultures, car bien peu d'autres micro-organismes sont capables de survivre dans de telles conditions.

Nous espérons par ce travail donner une vision synthétique des propriétés nutritionnelles de la spiruline. Propriétés d'autant plus importantes que la production de ce microorganisme est particulièrement adaptée aux conditions climatiques et économiques des régions où sévit la malnutrition. Relevons à ce propos l'importance des travaux visant à améliorer, à tester et à diffuser des méthodes simples et sûres de production locales de spiruline (5-25-36).

1. Protéines

1.1. Quantités, composition

La teneur en protéines de la spiruline oscille entre 50 et 70% de son poids sec. Ces valeurs sont tout à fait exceptionnelles, même parmi les micro-organismes; d'autre part, les meilleures sources de protéines végétales n'arrivent qu'à la moitié de ces teneurs, la farine de soya par exemple ne contient "que" 35% de protéines brutes.

LA SPIRULINE

On relève toutefois une variation du contenu en protéines de 10 à 15% selon le moment de la récolte par rapport à la photopériode, les valeurs les plus fortes étant obtenues au début de la période lumineuse (3).

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes, car tous les acides aminés essentiels y figurent, ils représentent 47% du poids total des protéines (10). Parmi ces acides aminés essentiels, les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés: méthionine et cystéine (3-10-17), qui sont toutefois présents à plus de 80% de la valeur idéale définie par la FAO (sur la base de l'albumine d'oeuf et de la caséine). Il semble aussi qu'une des méthodes de séchage utilisée dans l'industrie, le séchage sur tambours chauffants, réduise la teneur en méthionine d'environ 30% par rapport au séchage par pulvérisation (70). La lysine serait aussi légèrement sous représentée d'après certains auteurs (54), suffisante d'après d'autres (17).

Ce spectre d'acides aminés montre que la valeur biologique des protéines de la spiruline est très haute, et que l'optimum pourrait être atteint par complémentation avec une bonne source d'acides aminés soufrés et éventuellement de lysine et/ou d'histidine: des céréales comme le riz, le blé et le millet par exemple, ou certains oléagineux comme le sésame devraient être d'excellents compléments. Remarquons que les populations du Tchad qui consomment de la spiruline, l'associent au mil qui est spécialement riche en méthionine et cystéine (42).

1.2. Utilisation protéique nette (NPU)

L'utilisation des protéines ingérées est déterminée par la digestibilité, c'est-à-dire la proportion d'azote protéique absorbée, ainsi que par la composition en acides aminés (plus d'autres facteurs dépendant de l'animal ou de l'individu concerné: âge, sexe, état physiologique...). La valeur de NPU est déterminée expérimentalement en calculant le pourcentage d'azote retenu lorsque la source de protéines étudiée est le seul facteur nutritionnel limitant. On étudie généralement cette valeur dans différentes situations: croissance active, état adulte, convalescence (72).

Contrairement à d'autres micro-organismes proposés comme sources de protéines (levures, chlorelles, scenedesmus ...) la spiruline ne contient pas de parois cellulosiques mais une enveloppe de muréine relativement fragile (3-10-13-27). Ce fait explique la très bonne digestibilité des protéines de la spiruline simplement séchée: 83 à 90% (caséine pure 95.1%) (21-60).

Ainsi la spiruline ne nécessite ni cuisson ni traitements spéciaux destinés à rendre ses protéines accessibles. C'est un avantage considérable tant du point de vue simplicité de production que pour la préservation de constituants de hautes valeurs tels que vitamines et acides gras polyinsaturés (voir plus loin).

La valeur NPU de la spiruline est estimée entre 53 et 61% soit 85 à 92% de celle de la caséine (15-16-60).

1.3. Efficacité protéique (PER)

Il s'agit du gain de poids de l'animal ou de l'individu, divisé par le poids de protéines ingérées. Ces mesures sont en général effectuées sur le rat en croissance. Les protéines de référence sont la lactalbumine ou la caséine (72).

La valeur PER de la spiruline, déterminée chez le rat en croissance est estimée, suivant les auteurs, entre 1.80 et 2.6 (27-60-61), la valeur PER de la caséine étant de 2.5.

LA SPIRULINE

L'effet de la complémentation des céréales par de la spiruline a été évalué avec les résultats suivants chez le rat (2) :

Diète	Rapport protéique d'efficacité
Spiruline	1.9
Maïs	1.23
Riz	2.2
Blé	1.15
Riz + Spiruline (3:1)	2.35
Riz + Spiruline (1:1)	2.4
Blé + Spiruline (3:1)	1.42
Blé + Spiruline (1:1)	1.9
Maïs + Spiruline (3:1)	1.8
Maïs + Spiruline (1:1)	1.72
Maïs + avoine + spiruline (3:2:5)	1.9
Maïs + riz + spiruline (2:2:1)	1.95

Tableau 1 : rapports d'efficacité protéique comparés, intérêt des complémentations.

La vitesse de croissance de rats recevant des spirulines comme seule source de protéines est supérieure ou égale à celle des rats témoins. De plus après supplémentation en acides aminés essentiels, les rats recevant des spirulines ont fixé, pour une même quantité d'énergie métabolisable, des quantités de protéines égales ou plus importantes que les rats témoins. Ces résultats indiquent une bonne utilisation métabolique des acides aminés des spirulines, ce qui est encore confirmé par les teneurs en acides aminés libres trouvées dans le sang et les muscles des animaux testés (70)

Chez l'homme, bien que rares, les études effectuées tendent à montrer des résultats similaires à ceux obtenus sur les animaux, quoique la digestibilité semble un peu plus faible (55-61-70).

2. Lipides

2.1. Lipides totaux

Bien que plusieurs publications (10-13-23-60) donnent une valeur de 5.6 à 7% du poids sec en lipides totaux (tant chez *S. Platensis* que chez *S. Maxima*), d'autres sources (32) prétendent obtenir plus de 11% de lipides par un meilleur système d'extraction.

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%), contenant essentiellement une paraffine, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols (10-18-60).

La fraction saponifiable est surtout composée de monogalactosyl diglycérides et de digalactosyl diglycérides, 23%, de sulfoquinovosyl diglycérade, 5%, et de phosphatidyl glycérol, 25.9%. On ne trouve ni phosphatidyl choline, ni phosphatidyl éthanolamine, ni

LA SPIRULINE

phosphatidyl inositol en quantités appréciables. Les triglycérides sont rares 0.3%. On détecte en outre 4.6% de phospholipides indéfinis.

2.2. Acides gras

On considère que chez l'homme, les besoins en acides gras essentiels sont de 1 ou 2% des calories alimentaires pour l'adulte et de 3% pour les enfants (44, 53bis). Il est maintenant bien établi que l'apport de lipides essentiels influe (entre autres) sur le système immunitaire tant humoral que cellulaire (33). On range actuellement les acides gras essentiels en deux groupes (w3 et w6) caractérisés par la position de l'insaturation la plus proche du groupe méthyl terminal. Comme les acides w3 et w6 sont convertis chez l'homme en dérivés biochimiques distincts qui semblent avoir des effets antagonistes, certains spécialistes recommandent actuellement un rapport w6/w3 situé entre 4 et 5 (53). Pour une analyse détaillée des acides gras de la spiruline, on se rapportera à Hudson et Karis (32).

Répartition des acides gras	acides gras pour deux souches de Spiruline	
	Spirulina maxima [% des acides gras]	Spirulina platensis [% des acides gras]
palmitique (16:0)	63	25.8
palmitoléique (16:1w6)	2	3.8
stéarique (18:0)	1	1.7
oléique (18:1w6)	4	16.6
linoléique (18:2w6)	9	12
g-linoléique (18:3w6)	13	40.1
a-linoléique (18:3w3)	traces	traces

Tableau 2: principaux acides gras de deux souches de spiruline, S. maxima et S. platensis (53)

L'acide g-linolénique ne représente que 10 à 20% des acides gras de S. maxima, c'est-à-dire 1 - 2% du sec (23-32-49), alors qu'on en trouve jusqu'à 40% chez S. platensis, soit environ 4% du poids sec de spiruline. De ce fait, la spiruline peut être considérée comme une des meilleures sources connues d'acide g-linolénique, après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes (huiles d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et surtout de chanvre) (15).

La présence d'acide g-linolénique, 18:3w6 est à souligner du fait de sa rareté dans les aliments courants et de sa haute valeur alimentaire présumée. Normalement synthétisé chez l'homme (à partir de l'acide linoléique, 18:2w6, d'origine végétale) l'acide g-linolénique peut néanmoins être directement assimilé avec profit en cas de trouble ou d'insuffisance de sa synthèse endogène (44). L'importance de ces acides gras tient à leurs devenir biochimiques: ce sont les précurseurs des prostaglandines, des leukotriènes et des thromboxanes qui sont autant de médiateurs chimiques des réactions inflammatoires et immunitaires.

D'autres acides gras essentiels sont également présents, comme l'acide linoléique, 18:2w6. Notons aussi une forte proportion d'acide palmitique, 16:0, plus de 60% des lipides chez S. maxima, mais seulement environ 25% chez S. platensis. Le tableau 2 fait nettement ressortir une certaine supériorité de la souche S. platensis quant à son contenu lipidique: beaucoup moins d'acide palmitique (saturé), et plus d'acide g-linolénique (essentiel).

LA SPIRULINE

Quant aux sulfolipides tels que les sulfoquinovosyl-diglycérides (5% de la fraction saponifiable), ils suscitent actuellement de nouvelles recherches depuis qu'une activité protectrice contre l'infection des cellules helper-T par le VIH leur a été attribuée (28).

A noter encore l'absence d'acides gras au nombre de carbone impair (18) et une très faible teneur en acides gras à chaînes ramifiées (10), deux types de lipides non métabolisables par les animaux supérieurs. Enfin, la spiruline a été recommandée comme supplément alimentaire en cas de carence en acides gras essentiels (32).

2.3. Lipides insaponifiables

2.3.1. Stérols

Bien que certains travaux (10) soulignent l'absence de stérols, il semble que ces produits représentent 1.5% de la fraction non polaire des lipides de *S. Maxima*. Aucune publication ne dépasse toutefois la valeur de 0.015% du poids sec de la spiruline en stérols libres (18-32-60). Les stérols identifiés sont le cholestérol et, en plus faible quantité, le b-sitostérol. Chez *S. Platensis* on trouve en outre de faibles quantités de campésterol et de stigmastérol. Certains de ces stérols pourraient être en rapport avec l'activité antimicrobienne des spirulines (18).

2.3.2. Terpènes

Les alcools terpéniques représentent 5 à 10% de l'insaponifiable, il s'agit essentiellement d' α et de β -amyrine, un triterpène pentacyclique. *S. Maxima* contient en plus un alcool triterpénique saturé non identifié (18).

2.3.3. Hydrocarbures saturés (paraffines).

Les hydrocarbures saturés à longues chaînes représentent une fraction importante de l'insaponifiable, 25%, tant chez *S. Platensis* que chez *S. Maxima* (10). Il y a donc entre 0.1 et 0.3% d'hydrocarbures saturés dans la matière sèche des spirulines.

Les deux tiers de ces hydrocarbures sont constitués de n-heptadécane, le reste comprenant dans l'ordre, les hydrocarbures linéaires saturés en C15, C16, C18 ainsi que trois hydrocarbures saturés à chaînes ramifiées, non identifiés (69).

La présence de telles paraffines n'est pas exceptionnelle: on en trouve par exemple entre 0.1 et 0.5% dans certaines levures alimentaires. La métabolisation de ces produits, et plus particulièrement de l'heptadécane sera discutée dans la partie concernant les essais toxicologiques.

3. Glucides.

Les glucides (57) constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines. Les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités. Ce sont le glucose, le fructose et le saccharose; on trouve aussi des polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol.

L'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que des glucosannes aminés (1.9% du poids sec) et des rhamnosannes aminés (9.7%) ou encore de glycoène (0.5%).

LA SPIRULINE

Les parois cellulaires des spirulines s'apparentent à celles des bactéries Gram-positives puisqu'elles sont formées de glucosamines et d'acide muramique associés à des peptides. Bien que non digestibles, ces parois sont fragiles et rendent le contenu cellulaire très accessible aux enzymes de digestion: c'est là un avantage important par rapport aux organismes pourvus de parois cellulosesques (levures, chlorelles...).

Du point de vue nutritionnel, la seule substance glucidique intéressante par sa quantité chez la spiruline est le méso-inositol phosphate qui constitue une excellente source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350-850 mg/kg mat. sèche) (13-50). Cette teneur en inositol est environ huit fois celle de la viande de boeuf et plusieurs centaines de fois celle des végétaux qui en sont les plus riches.

Il faut toutefois remarquer qu'une si haute teneur en cyclitols phosphates pourrait avoir à la longue un effet décalcifiant, si l'apport en calcium se trouvait insuffisant. Heureusement, dans le cas de la spiruline, ce danger est écarté par sa richesse en calcium, comparable à celle du lait (13-23) (voir "oligo-éléments"). Notons que les polysaccharides de la spiruline auraient des effets de stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN (52) ce qui pourrait expliquer un effet radioprotecteur plusieurs fois mentionné à propos de la spiruline (56). D'autres explications ont été avancées pour expliquer cet effet, notamment la neutralisation des radicaux libres générés par l'irradiation. Cette neutralisation rapide serait due prioritairement au b-carotène. D'autre part, les métallo-thionéines abondantes dans la spiruline pourraient être impliquées dans l'excrétion accélérée de certains radioisotopes tel qu'il a été observé lors d'une étude nutritionnelle portant sur un groupe d'enfants de Biélorussie gravement contaminés par les suites de la catastrophe de Tchernobyl (43). Ces polysaccharides auraient également des propriétés immunostimulantes et immunorégulatrices (4-24-73).

4. Acides nucléiques

La teneur en acides nucléiques (ADN et ARN) est un point nutritionnel important car la dégradation biochimique d'une partie de leurs composants (les purines: adénine et guanine) produit en dernier lieu de l'acide urique. Or une élévation du taux d'acide urique plasmatique peut produire à la longue des calculs rénaux et des crises de goutte. On admet généralement que la dose maximum admissible à long terme d'acide nucléique se situe aux alentours de quatre grammes par jour, pour un adulte (8). Il faut ajouter que l'ARN produit deux fois plus d'acide urique que l'ADN, pour une même teneur en purines et que l'élévation du taux d'acide urique dépend aussi de multiples facteurs, tels que l'âge, le sexe ou encore l'obésité...

Chez *S. Platensis* comme chez *S. Maxima*, on rapporte des valeurs de 4.2 à 6% d'acides nucléiques totaux dans la matière sèche (60-3). La proportion d'ADN serait d'un quart à un tiers par rapport à l'ARN (15). Ces chiffres sont à mettre en rapport avec d'autres aliments (tableau 3). La teneur en acides nucléiques des spirulines est très inférieure à celle de la généralité des unicellulaires.

Aliments	Acides nucléiques totaux [% mat.sèche]
Viande de boeuf	1.5
Foie de boeuf	2.2
Spiruline	4-6
Levure	23

LA SPIRULINE

Tableau 3 : teneur en acides nucléiques de quelques aliments

En se basant sur une valeur moyenne de 5% en acides nucléiques, et sans tenir compte de la proportion d'ADN (qui produit deux fois moins d'acide urique), la limite quotidienne de 4 grammes d'acides nucléiques représente le contenu de 80 grammes de spiruline sèche. Cette quantité équivaut à environ huit fois la dose de spiruline recommandée comme supplément alimentaire. On peut donc raisonnablement penser que la teneur en acides nucléiques de la spiruline ne pose pas de problèmes, même à long terme et pour des doses élevées.

5. Vitamines

5.1. Provitamine A (β -carotène)

Le β -carotène représente 80% des caroténoïdes présents dans la spiruline, le reste étant composé principalement de physoxanthine et de cryptoxanthine (51). On trouve entre 700 et 1700 mg de β -carotène et environ 100 mg de cryptoxanthine par kilo de spiruline sèche, ces deux caroténoïdes sont convertibles en vitamine A par les mammifères. Comme les besoins en vitamine A sont estimés chez l'adulte à moins d'un mg par jour (24), un à deux grammes de spiruline suffisent largement à les couvrir. D'autre part, l'absence de rétinol (vitamine A libre) exclut un éventuel risque de surdosage, le β -carotène n'étant pas toxique par accumulation au contraire de la vitamine A. Les valeurs en β -carotène données plus haut ont été relevées dans des échantillons de spiruline séchée par pulvérisation, donc sans chauffage; dans le cas du séchage sur tambours chauffants, ces valeurs seraient à diminuer de près d'un tiers (10).

La biodisponibilité des caroténoïdes de la spiruline a été démontrée aussi bien chez le rat que chez le poulet (37-46-58). Des études cliniques ont également démontré l'excellente utilisation des caroténoïdes de la spiruline chez l'humain (1). De plus, une étude portant sur 5'000 enfants indiens d'âge pré-scolaire a montré la surprenante efficacité d'une dose quotidienne unique d'un gramme de spiruline sur la déficience chronique en vitamine A. Après 5 mois, la proportion d'enfants gravement déficients en vitamine A, c'est-à-dire présentant le symptôme de la "tache de Bitot" sur la conjonctive de l'oeil, est passée de 80% à 10%. (65). Cette étude semble bien démontrer que de très faibles doses de spiruline suffisent déjà à réduire considérablement les risques de cécité et d'atteintes neurologiques consécutives à la déficience en vitamine A chez l'enfant.

Du fait du nombre croissant d'indices suggérant une série d'effets anti-cancéreux des caroténoïdes, divers extraits de spiruline ont été testés dans ce cadre. Un effet préventif aussi bien que curatif très significatif a été constaté dans le cas de tumeurs induites expérimentalement chez le hamster. Il s'agit ici de tumeurs épithéliales de la joue, induites par le diméthyl-benzanthracène (DMBA). (62-63)

Une série de travaux doivent être particulièrement mis en avant dans le contexte de la pandémie de SIDA: il a été démontré que la transmission du SIDA d'une mère contaminée à son enfant dépend fortement de sa déficience en vitamine A. Ainsi plus une femme enceinte séropositive est carencée en vitamine A, plus il est probable que son enfant se retrouve porteur du virus du SIDA (64). La disponibilité d'aliments riches en caroténoïdes est d'autant plus cruciale pour des continents tels que l'Afrique: l'intérêt du développement de productions locales de spiruline s'en trouve donc encore renforcé.

LA SPIRULINE

5.2. Vitamine E (tocophérols)

On trouve 50 à 190 mg de vitamine E par kilo de spiruline sèche (13-23-50), teneur comparable à celle des germes de blé. Les besoins quotidiens en vitamine E seraient de 15 U.I. (29) soit 12 mg de tocophérols libres. Les propriétés anti-oxydantes du tocophérol pour les acides gras insaturés pourraient expliquer la bonne conservation de ces derniers dans la spiruline séchée.

5.3. Vitamines hydrosolubles

Bien que moins riche que la levure en vitamines du groupe B (B12 excepté), la spiruline constitue pourtant une bonne source de ces cofacteurs:

Vitamine	Teneur (mg/kg)	Besoin/jour (adulte)(24-25)
B1	34-50	1.5 mg
B2	30-46	1.8 mg
B6	05.août	2.0 mg
B12	1.5 - 2.0	0.003 mg
Niacine	130	20 mg
Folate	0.5	0.4 mg
Panhoténate	04.06.2025	6 - 10 mg
Biotine	0.05	0.1 - 0.3 mg
C	traces	15 - 30 mg

Vitamine B12

Il faut souligner la teneur exceptionnelle en vitamine B12 (cobalamine) qui est de loin la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande car aucun végétal courant n'en contient. La spiruline en est quatre fois plus riche que le foie cru, longtemps donné comme meilleure source. Il faut pourtant noter qu' il existe une controverse à propos de la biodisponibilité réelle du complexe B12 de la spiruline chez l'homme. Certains tests radiochimiques de liaison au facteur intrinsèque nieraient la présence de vitamine B12 "active" dans la spiruline (41). Ces résultats seraient variables selon les souches de spiruline et cette même méthode d'analyse révélerait de hautes teneurs en B12 "active" dans certaines souches (30).

La carence en vitamine B12 (anémie pernicieuse) provient soit d'un défaut d'apport (cas de régimes végétariens stricts) soit d'un défaut d'absorption. Il semble d'autre part que certains états pathologiques entraînent systématiquement une déficience en vitamine B12, c'est le cas des infections à VIH menant au SIDA (31-59)

LA SPIRULINE

6. Minéraux et oligo-éléments

Analyse typique (spiruline sèche): mg/kg

Minéraux	Teneur de la spiruline(mg/kg)	Doses requises* (mg/jour)
Calcium	1300 - 14000	1200
Phosphore	6700 - 9000	1000
Magnésium	2000 - 2900	250-350
Fer	580 -1800	18
Zinc	21 - 40	15
Cuivre	08.oct	01.05.2003
Chrome	2.8	0.5 - 2
Manganèse	25 - 37	5
Sodium	4500	500
Potassium	6400 - 15400	3500

*Pour l'adulte (47).

Les minéraux spécialement intéressants chez la spiruline sont le fer, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

La très haute teneur en fer est à souligner doublement du fait que les carences en fer sont très répandues (anémies), surtout chez les femmes enceintes et les enfants et que les bonnes sources alimentaires de fer sont rares. Par comparaison les céréales complètes, classées parmi les meilleures sources de fer, n'en contiennent que 150 à 250 mg/kg. De plus, les suppléments de fer donnés sous forme de sulfate ferreux peuvent poser un problème de toxicité et sont souvent responsables de diarrhées. De leur côté, les céréales sont riches en acides phytique et en polymères phosphatés qui limitent fortement la biodisponibilité de leur fer. Dans le cas de la spiruline, la biodisponibilité du fer a été démontrée tant chez le rat que chez l'homme (35).

Calcium, phosphore et magnésium sont présents dans la spiruline en quantités comparables à celles trouvées dans le lait. Les quantités relatives de ces éléments sont équilibrées ce qui exclut le risque de décalcification par excès de phosphore. Notons que les régions aux sols pauvres en magnésium sont courantes et provoquent chez les populations qui les habitent, des syndromes de carences comprenant des troubles cardiovasculaires et nerveux.

Une haute teneur en potassium est également à souligner car dans le cadre des pays industrialisés, bien des nutritionnistes s'élèvent contre les trop faibles rapports potassium/sodium de la grande majorité des aliments disponibles.

Il existe malheureusement très peu de renseignements sur les teneurs de la spiruline en un oligo-élément important : l'iode. On trouve pourtant des données indiquant la possibilité d'obtenir par sélection/adaptation des souches de spiruline capables de fixer de l'iode (66).

7. Microflore associée aux milieux de cultures et aux préparations de spiruline

La microflore associée aux cultures de spiruline est généralement rare et non pathogène (70). De fait, l'alcalinité du milieu de culture (pH 8.5 à 11.0) constitue une excellente barrière contre la plupart des contaminations, aussi bien de bactéries que de levures, de champignons ou d'algues. De plus, il semble que certaines substances sécrétées ou contenues dans les spirulines possèdent une activité bactéricide ou au moins bactériostatique (voir stérols). On notera à ce propos l'emploi en Afrique de spiruline, sous forme d'emplâtres, pour traiter des plaies gangrénées.

En milieu synthétique, on compte normalement 3×10^4 à 6×10^5 micro-organismes par millilitre de milieu de culture. (60-71)

Après récolte et séchage, la spiruline ne contient plus que 10^3 à 10^6 organismes revivifiables par gramme. Ce nombre diminue régulièrement avec le temps de stockage: même dans les préparations provenant de gisements naturels (beaucoup plus contaminées que les produits de culture, surtout du fait du séchage traditionnel à même le sol), après un mois de stockage on ne décèle plus de coliformes ni de streptocoques.

Les analyses bactériologiques de spirulines produites industriellement au Mexique (60) ou aux USA (23) confirment l'absence totale de pathogènes tels que salmonella, shigella ou staphylocoques. Aucune contamination par des amibes dysentériques n'a pu être mise en évidence, aussi bien dans des sources naturelles (lac Tchad) que dans des bassins expérimentaux (34).

La conservation des préparations de spiruline séchée ne semble poser aucun problème puisque ce produit paraît tout à fait résistant aux moisissures. Ainsi on n'a jamais détecté d'*Aspergillus Flavus* ni d'aflatoxine (sécrétée par ce dernier) dans des lots de spiruline (34). La spiruline industrielle contient moins de 100 spores de moisissures viables par gramme (23).

8. Etudes toxicologiques

8.1. Recherche de toxiques minéraux

Dans plusieurs cas, les toxiques tels que le plomb, le mercure et l'arsenic (60-50) ainsi que le fluor (60) ont été donnés comme non détectables; pourtant, une étude plus détaillée montre que dans le cas de spiruline récoltée en milieu naturel, les teneurs en arsenic et surtout en fluorures peuvent être relativement élevées. Ces particularités proviennent certainement des compositions géologiques des régions concernées, il reste toutefois à déterminer les facteurs d'accumulations de ces éléments en milieux contaminés. Notons que des essais menés sur des rats nourris avec de la spiruline naturelle comme seule source de protéines, n'ont montré aucun effet toxique de ces minéraux. (8)

Ces problèmes semblent inexistantes pour la spiruline cultivée en milieu artificiel puisque les valeurs observées sont en dessous des normes (IUPAC,1974 OMS et FAO,1972). On trouve en moyenne:

LA SPIRULINE

Arsenic	0.06 -2 ppm
Sélénium*	0.01 -0.04 ppm
Cadmium	0.01 - 0.1 ppm
Mercuré	0.01 - 0.2 ppm
Plomb	0.6 - 5.1 ppm
Fluor**	112 - 630 ppm

* Le sélénium ainsi que le fluor auraient pu être classés dans la partie "oligo-éléments" vu leur rôle essentiel dans l'alimentation humaine, ils présentent toutefois plus de dangers, en cas de surdoses, que les oligo-éléments déjà traités.

** Seule une publication donne cette valeur (8), ultérieurement réfutée (14).

8.2. Recherche de toxiques organiques, mutagènes, tératogènes

Les éventuelles propriétés toxiques des paraffines citées plus haut ont été étudiées sur le rat et le porc (69). La rétention de l'heptadécane (constituant majeur des paraffines de la spiruline) a été étudiée chez ces animaux recevant de la spiruline comme seule source de protéines. Chez le rat on constate une accumulation qui se stabilise vers le quatrième mois, à une valeur finale qui dépend de la teneur en lipides de l'animal. Chez le porc, l'heptadécane semble beaucoup mieux métabolisé et cet hydrocarbure est très faiblement retenu. Compte tenu de ce que l'on connaît de la toxicité des hydrocarbures, aucune toxicité aiguë ou chronique n'est à craindre (69).

Le 3-4-benzopyrène a été dosé dans la spiruline car il constitue un bon indicateur de la présence des hydrocarbures polycycliques aromatiques, qui sont de puissants mutagènes et cancérigènes. Les quantités observées, 2-3 ppb, sont bien en dessous de ce que l'on trouve dans la plupart des légumes courants (14-7)

La tératogénicité a été trouvée nulle pour trois espèces dans quatre étapes de gestation différentes, avec des concentrations de spiruline de 10, 20 et 30% de la diète. De même aucun effet mutagène ou de toxicité subaiguë ou chronique n'a été décelé (14-8). La mutagénicité des urines d'animaux nourris de spirulines a été testée sur des bactéries (test d'Ames) sans résultat (15).

8.3 Contamination par des cyanobactéries neuro- ou hépatotoxiques

On sait depuis longtemps que certaines cyanobactéries produisent de puissantes toxines agissant sur le système nerveux (l'anatoxine-A de *Anabaena flos-aquae*, par exemple) ou sur le foie (la microcystine de *Microcystis aeruginosa*, par exemple). Aucune contamination par de tels microorganismes n'a été, à notre connaissance, mise en évidence dans le cas de la spiruline, ce qui semble lié à son milieu de culture très particulier. Bien que le problème ne soit semble-t-il jamais apparu dans une culture

LA SPIRULINE

artificielle, on sait que certains lacs tchadiens, producteurs de spiruline (*S. Platensis*), sont périodiquement envahis d'autres algues cyanophycées telles que *Anabaenopsis circularis* ou *Mycrocystis aeruginosa* (42). On peut toutefois penser que le caractère saisonnier de ces contaminations reflète des changements de composition du milieu (forte baisse de salinité et de pH dues aux précipitations) qui ne devraient pas apparaître en culture artificielle.

Il faut toutefois signaler que si la spiruline elle-même est hors de cause, il n'en va pas nécessairement de même de certaines algues ou cyanobactéries d'eau douce récoltées sans véritable contrôle et ne bénéficiant aucunement des garanties toxicologiques entourant la spiruline (12). On trouve pourtant de tels produits, dérivés du genre *Aphanizomenon* et même du genre *Anabaena*, au moins sur le marché nord-américain (39).

9. Essais nutritionnels chez l'homme

L'essai le plus probant reste évidemment celui des populations consommant traditionnellement de la spiruline, comme les Kanembous du Tchad. Cette consommation, bien que régulière, est assez faible, de l'ordre de 10 à 12 grammes par jour et par personne, sauf pour les femmes enceintes qui en consomment nettement plus (20). Il s'agit donc surtout d'un supplément alimentaire; si le bénéfice nutritionnel n'est pas évident au niveau quantitatif où il a été étudié (20), il reste à déterminer les effets de complémentation en acides aminés essentiels, ainsi que l'apport des autres constituants de la spiruline. Il serait spécialement intéressant de savoir si ces populations souffrent de carences alimentaires, et de les comparer aux populations voisines qui ne consomment pas d'algues.

Les essais cliniques décrits sont encore rares et concernent le plus souvent un faible nombre d'individus. On retiendra pourtant deux études portant sur un grand nombre d'individus:

L'expérience indienne citée plus haut à propos de la pro-vitamine A et portant sur 5'000 jeunes enfants (65).

Une seconde étude à grande échelle est en cours à Bangui (République Centre-Africaine) et concerne l'efficacité de la spiruline dans le traitement des maladies protéino-énergétiques. Ce travail concerne plusieurs centaines d'enfants gravement dénutris et semble d'ores et déjà confirmer très solidement les espoirs placés dans la spiruline, spécialement dans le cas du kwashiorkor (22).

Pour ce qui est des études impliquant de petits effectifs, on peut relever les travaux suivants:

L'équilibre azoté a été étudié sur dix enfants âgés de 5 à 12 mois hospitalisés pour malnutrition sévère (55). Ils ont reçu alternativement 2-3 grammes de protéines par kilo de poids corporel, sous forme de spiruline, de lait de vache ou de soya, pendant des périodes de quatre jours. L'absorption d'azote a été de 60% pour la spiruline et de 70% pour le soya mais la rétention a eu lieu en proportion inverse: 40% pour la spiruline et 30% pour le soya. Ainsi la rétention relative de la spiruline a été aussi élevée que celle du lait de vache, indiquant une excellente utilisation des protéines malgré une digestibilité moyenne.

LA SPIRULINE

A l'hôpital Bichat (France) l'absorption des protéines de la spiruline a été trouvée bonne; les tests ont été menés sur des enfants et des adultes dénutris qui ont reçu des doses massives de spiruline (80 à 90 grammes par jour) Malgré ces doses très importantes, aucune augmentation notable de l'acide urique dans le sang n'a pu être mise en évidence (60).

Une étude portant sur 28 enfants atteints de maladies protéino-énergétiques patentes a été réalisée de janvier à novembre 1989 au Zaïre (9). Les paramètres mesurés lors de ce travail montrent l'effet globalement positif de la spiruline sur le statut nutritionnel des patients, et ce malgré les inévitables aléas d'une étude sur le terrain.

Enfin, une étude chinoise portant sur 27 enfants âgés de 2 à 6 ans relève que la spiruline est "une véritable source de santé pour les enfants", après analyse de l'incidence d'un apport quotidien de 1.5 gramme de spiruline sur l'état de santé des enfants impliqués (45).

10. Valeur thérapeutique de la spiruline : études, perspectives et questions

Bien que les propriétés thérapeutiques de la spiruline sortent quelque peu du cadre de ce travail, il nous a semblé utile de mentionner ici certains travaux liant ce produit au traitement de diverses pathologies. Nous ne développerons pas les applications thérapeutiques déjà citées plus haut :

Anémie ferriprive (voir "minéraux et oligo-éléments")

Anémie pernicieuse (voir "vitamine B12")

Avitaminose-A (voir "provitamine A")

Inhibition de la transmission mère-enfant du VIH (voir "provitamine A")

Inhibition de l'infection des cellules T4-helper par le VIH (voir "acides gras")

Maladies protéino-énergétiques (voir "essais nutritionnels chez l'homme")

Prévention du cancer par apport de caroténoïdes (voir "provitamine A")

Radioprotection (voir "glucides")

Renforcement des défenses immunitaires (voir "glucides")

On trouvera une revue critique des différentes études thérapeutiques menées sur la spiruline : 6. Parmi les travaux cités on trouve des études liant la consommation de spiruline à un effet positif sur le taux de cholestérol sanguin chez l'homme (48). Un effet protecteur sur les reins a été détecté et semblerait lié à la phycocyanine (pigment bleu) présente dans la spiruline. Cette étude a été réalisée sur des rats traités par deux néphrotoxiques connus: le p-aminophénol (un anti-douleur) et un anti-tumoral: le cis-platine (26).

On peut enfin mentionner la relation possible entre la teneur de la spiruline en caroténoïdes et de nombreux témoignages (non-vérifiés cliniquement) attestant de son efficacité dans le traitement de certaines affections de la peau telles que le psoriasis, l'acné ou même l'herpès.

Concernant les pistes de recherche thérapeutiques impliquant la spiruline, mentionnons la récente identification d'une substance fortement anti-bactérienne et anti-fongique isolée de *S. Platensis* (Funteu F. 1996, à publier). Lors d'un symposium qui a eu lieu en 1996 en Afrique du Sud, les résultats d'une recherche sur l'activité anti-virale d'un extrait aqueux de *S. platensis* ont été présentés par une équipe de la Harvard Medical School

LA SPIRULINE

(3bis). Ces résultats indiquent in vitro une excellente inhibition de la réplication du virus HIV-1 aussi bien dans des lignées de cellules T humaines que dans des monocytes humains. L'index thérapeutique de l'extrait serait de plus de 100 et des concentrations de 5-10 mg/ml réduiraient déjà la production virale et/ou la production de syncytium d'environ 50%.

Une telle profusion d'applications thérapeutiques (réelles ou supposées) laisse bien sûr planer l'image de "potion-miracle" sur la spiruline. Reste qu'un "simple" complément alimentaire naturel, lorsqu'il présente la richesse de ce produit, pourrait bien améliorer nombre de situations pathologiques. Spécialement dans une population mondiale qui tend à se diviser en sous-alimentés dans les pays en développement et en "mal-alimentés" dans les pays industrialisés.

Références

1. Annapurna V. et al. (1991) "Bioavailability of spirulina carotenes in preschool children". J. Clin. Biochem Nutrition. 10 145-151.
2. Anusuya D. m. et Venkataraman L. V., 1983 "Supplementary value of the proteins of the blue green algae *Spirulina platensis* to rice and wheat proteins." Nutr. Rep. Internat., 28:1029-1035.
3. Association française pour l'algologie appliquée (AFAA) (1982) "Actes du premier symposium sur la spiruline *Spirulina Platensis* (Gom.) Geitler de l'AFAA".
4. 3.bis Aychunie S., et al. (1996) "Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*)." International Association of Applied Algology, 7th International Conference. 16 april 1996, Knysna, South Africa.
5. Baojiang G. et al. (1994) "Study on effect and mechanism of polysaccharides of spirulina on body immune function improvement" Proc. of Second Asia Pacific Conf. on Algal Biotech. Univ. of Malaysia. pp 33-38.
6. Becker E.W. (1993) "Development of spirulina Research in a Developing Country - India" Bull. Inst. Océano, Monaco, n°spécial 12, 49-57.
7. Belay A. and Ota Y. (1993)"Current knowledge on potential health benefits of spirulina"Journal of Appl. Phycology, 5:235-241.
8. Borifs G. et Tulliez J. (1975). Détermination du 3-4-benzopyrène dans les algues spirulines produites et traitées suivant différents procédés. Ann. Nutr. Aliment. 29, 573-575.
9. Boudène C., Collas E. et Jenkins C. (1975). Recherche et dosage de divers toxiques minéraux dans les algues spirulines de différentes origines, et évaluation de la toxicité a long terme chez le rat d'un lot d'algues spirulines de provenance mexicaine. Ann. Nutr. Aliment.29, 577-587.
10. Bucaille P. "Intérêt et efficacité de l'algue spiruline dans l'alimentation des enfants présentant une malnutrition protéino-énergétique en milieu tropical" Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, 10 oct 1990
11. Bujard-E, U. Braco-U, Mauron-J, Mottu-F, Nabholz-A, Wuhrmann-JJ & Clément-G(1970). "Composition and Nutritive Value of Blue Green Algae (*Spirulina*) and their Possible Use in Food Formulations". 3rd.international Congress of Food Science and Technology, Washington 1970.
12. Campbell J., Stevens S.E. et Balkwill D.L. (1982). "Accumulation of Polyhydroxybutyrate in *Spirulina platensis*". J. Bacteriol. 149, 361-363.
13. Carmichael W. (1994) "The Toxins of Cyanobacteria" Sci. Am. janv.94, 64-72.
14. Challem-JJ, Passwater-RA, Mindell-EM (1981)."Spirulina." Keats Publishing,Inc. New Canaan, Connecticut.

LA SPIRULINE

15. Chamorro-Cevallos-G. "Toxicologic Research on the Alga Spirulina". United Nations Organisation for Industrial Development, 24 Oct. 1980.
16. Ciferri O. (1983). "Spirulina, the Edible Microorganism." *Microbiol. Rev.* 47, 551-578.
17. Ciferri O. et Tiboni O. (1985). "The Biochemistry and Industrial Potential of Spirulina". *Ann. Rev. Microbiol.* 39, 503-526.
18. Clément G., Giddey C. et Menzi R. (1967). "Amino Acid Composition and Nutritive Value of the Alga Spirulina Maxima". *J. Sci. Fd. Agric.* 18, 497-501.
19. Clément G. (1975). Production et constituants caractéristiques des algues Spirulina platensis et maxima. *Ann. Nutr. Aliment.* 29, 477-487.
20. Contreras A., Herbert D.C., Grubbs B.G. et Cameron I.L. (1979). "Blue-Green Alga, Spirulina, as the Sole Dietary Source of Protein in Sexually Maturing Rats". *Nutr. Rep. Int.* 19, No 6, 749-763.
21. Delpuech F., Joseph A. et Cavelier C. (1975). "Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad)". *Ann. Nutr. Aliment.* 29, 497-515.
22. Dillon J.C. et Phan P.A. (1993) "Spirulina as a source of proteins in human nutrition" *Bull. Inst. Océano, Monaco, n° spécial 12*, 103-107.
23. Dupire J. et col. (1996), à paraître.
24. Earthrise Farms Spirulina, Product Typical Analysis (1986) San Rafael, USA.
25. Evets L., et al. (1994) "Means to normalize the levels of immunoglobulin E, using the food supplement Spirulina". Grodzenski State Medical Univ. Russian Federation Committee of Patents and Trade. Patent (19)RU (11)2005486. Jan. 15, 1994. Russia.
26. Fox R.D. (1980) "Algoculture: la spiruline" Edisud 1980
27. Fukino H., et al. (1990). "Effect of spirulina on the renal toxicity induced by inorganic mercury and cisplatin" *Eisei Kagaku*, 36:5.
28. Furst-PT (1978). "Spirulina". *Human Nature*, 1(3), 60-65.
29. Gustafson K., et al. August 16, (1989) "AIDS- Antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae)" *Journal of the National Cancer Institute*, 81(16) 1254. USA.
30. Guyton A.C. (1986). "Textbook of Medical Physiology." 7th. ed. W.B. Saunders Company.
31. Hau R, 1995 "Vitamin B12 in der Mikroalge Spirulina platensis" *FIT fürs LEBEN* 1, 29
32. Harriman-GR; Smith-PD; Horne-MK; Fox-CH; Koenig-S; Lack-EE; Lane-HC; Fauci-AS (1989) "Vitamin B12 malabsorption in patients with acquired immunodeficiency syndrome" *Arch-Intern-Med.* 149(9): 2039-41.
33. Hudson-BJF & Karis-IG (1974). "The Lipids of the Alga Spirulina". *J. Sci. Fd. Agric.* 25, 759-763.

LA SPIRULINE

34. Hwang D. 1989. "Essential fatty acids and immune response" FASEB J. 3:2052-2061.
35. Jacquet J. (1975). Microflore des préparations de spirulines. Ann. Nutr. Aliment. 29, 589-601.
36. Johnson P. et Shubert E. (1986) "Availability of iron to rats from spirulina, a blue-green algae". Nutrition Research 6, 85-94.
37. Jourdan J.P. (1996) "Cultivez votre spiruline" Antenna Technology (à paraître)
38. Kapoor-R; Mehta-U (1993) "Utilization of beta-carotene from Spirulina platensis by rats". Plant-Foods-Hum-Nutr. 1993 Jan; 43(1): 1-7
39. Kapsiotis-G, Béhar-M, DeMayer-EM, Teply-LJ & Venkatachalam-PS. "Acceptable Limits of Nucleic Acid in SCP for Various Age Groups and Diet Patterns" PAG Bulletin, 5(3),18-26.
40. Kay R.A. (1991). "Microalgae as Food and Supplement " Critical Reviews in Food Science and Nutr. 30(6):555-573. Pub. by CRC Press.USA.
41. Lehninger A.L. (1975). "Biochemistry, the Molecular basis of Cell Structure and Function". Worth Publishers, Inc.
42. Leitzmann C. (1993) "vitamin B12 aktueller Stand der Forschung " FIT fürs LEBEN 6, 12-15
43. Léonard-J et Compère-P (1967). "Spirulina platensis (Gom.) Geitler, algue bleue de grande valeur alimentaire par sa richesse en protéines". Bull. Nat. Plantentuin Belg. 37 (1),Suppl.23 p.
44. Loseva L.P. and I.V.Dardynskaya.(1993) "Spirulina- natural sorbent of radionuclides". Research Institute of Radiation Medicine, Minsk,Belarus. 6th Int'l Congress of Applied Algology, Czech Republic.
45. Manuel Merck, 2e ed. française, éditions d'Après, Paris 1994
46. Miao Jian Ren (1987) "Spirulina in Jiangxi China." . Academy of Agricultural Science. Presented at Soc. Appl. Algology, Lille France Sep. 1987.
47. Mitchell-GV; Grundel-E; Jenkins-M; Blakely-SR (1990) "Effects of graded dietary levels of Spirulina maxima on vitamins A and E in male rats".J-Nutr. 1990 Oct; 120(10): 1235-40
48. National Research Council (1980) "Recommended Dietary Allowances" 9th ed. Washington, DC: National Academy Press.
49. Nayaka N., et al. (1988) "Cholesterol lowering effect of spirulina. "Nutrition Reports Internat. 37(6), 1329-1337.
50. Nichols-BW & Wood-BJ (1968). "The Occurrence and Biosynthesis of Gamma-Linolenic Acid in a Blue-Green Alga, Spirulina Platensis".Lipids. January 1968, 3(1), 46-50.
51. Nippon Ink & Chemicals (1977). "Spirulina".

LA SPIRULINE

52. Palla-JC & Busson-F (1969). "Etude des caroténoïdes de *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler (Cyanophycées)". C.R. Acad. Sc. Paris, t.269 p.1704-1707.
53. Pang-QS; Guo-BJ; Ruan-JH (1988) "Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis*" I-Chuan-Hsueh-Pao. 1988; 15(5): 374-81
54. Pascaud M., 1993 "The essential polyunsaturated fatty acids of spirulina and our immune response" Bull. Inst. Océano, Monaco, n°spécial 12, 49-57 .
55. bis Pascaud M. et Brouard C. 1991 "Acides gras polyinsaturés essentiels w6 w3. Besoins nutritionnels, équilibres alimentaires" Cah. Nutr. Diet. XXV 13:185-190.
56. Protein Advisory Group of U.N. (1974). "Recent Developments in Spirulina". PAG Bulletin, 3(4), 4-7.
57. Proteus, Inc. In "Clinical Experimentation With Spirulina". National Institut of Nutrition, Mexico City, 1975.(transl. by Proteus, Inc. 1975)
58. Qishen P., Kolman et al. (1989) "Radioprotective effect of extract from spirulina in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test" Toxicology Letters 48: 165-169.
59. Quillet M. (1975). Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines. Ann. Nutr. Aliment. 29, 553-561.
60. Ross-E; Dominy-W (1990) "The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry".Poult-Sci. 1990 May; 69(5): 794-800
61. Rule-SA; Hooker-M; Costello-C; Luck-W; Hoffbrand-AV (1994) "Serum vitamin B12 and transcobalamin levels in early HIV disease".Am-J-Hematol. 47(3): 167-71
62. Santillan-C (1974). "Cultivation of the *Spirulina* for Human Consumption and for Animal Feed". International Congress of Food Science and Technology. Madrid (Spain) September 1974.
63. Sautier C. et Trémolières J. (1975). "Valeur alimentaire des algues spirulines chez l'homme". Ann. Nutr. Aliment. 29, 517-533.
64. Schwartz-J; Shklar-G (1987) "Regression of experimental hamster cancer by beta carotene and algae extracts."J-Oral-Maxillofac-Surg. 1987 Jun; 45(6): 510-5
65. Schwartz J., Shklar G., et al. (1988). "Prevention of experimental oral cancer by extracts of *spirulina-dunaliella* algae".Nutr Cancer 11, 127-134.
66. Semba-RD; Miotti-PG; Chiphangwi-JD; Saah-AJ; Canner-JK; Dallabetta-GA; Hoover-DR (1994) "Maternal vitamin A deficiency and mother-to-child transmission of HIV-1" Lancet. 343(8913): 1593-7
67. Seshadri C.V. (1993) "Large scale nutritional supplementation with spirulina alga." All India Coordinated Project on Spirulina. Shri Amm Murugappa Chettiar Research Center (MCRC) Madras, India.

LA SPIRULINE

68. Singh-Y; Kumar-HD (1994)"Adaptation of a strain of *Spirulina platensis* to grow in cobalt- and iodine-enriched media." *J-Appl-Bacteriol.*76(2): 149-54
69. Soeder C.J., Muller-Wecker H., Pabst W. et Kraut H. (1970) "Bases de travail pour l'emploi de microalgues dans l'alimentation et dans la diététique". *Ann. Hyg. L. Fr.-Med. et Nut.*- 1970. T.6, No 4, p. 49-56.
70. Takeuchi T., et al. (1978)."Clinical experiences of administration of spirulina to patients with hypochronic anemia". *Tokyo Medical and Dental Univ.*1978, Japan.
71. Tulliez J, Bories G, Février C et Boudène C. (1975) "Les hydrocarbures des algues spirulines: nature, étude du devenir de l'heptadécane chez le rat et le porc". *Ann. Nutr. Aliment.* 29, 563-571.
72. Vermorel M., Toullec G., Dumond D. et Pion R. (1975). "Valeur énergétique et protéique des algues bleues spirulines supplémentées en acides aminés: utilisation digestive et métabolique par le rat en croissance". *Ann. Nutr. Aliment.* 29, 535-552.
73. Wu J.F et Pond W.G. (1981). "Amino Acid Composition of *Spirulina Maxima*, a Blue-Green Alga, Grown on the Effluent of Different Fermented Animal Wastes". *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 27, 151 - 159.
74. World Health Organization (1973). *Energy and Protein Requirement*. Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser.,No 522, Geneva, 1973.
75. Zhang Cheng-Wu, et al.(1994) "Effects of polysaccharide and phycocyanin from spirulina on peripheral blood and hematopoietic system of bone marrow in mice" *Proc. of Second Asia Pacific Conf. on Algal Biotech.* Univ. of Malaysia.