

Contribution à l'étude de la composition en acides aminés libres et protéiniques de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* (Chlorophycées) récemment installée en Méditerranée

Study of the free and proteinic amino-acid composition of the tropical algae Caulerpa taxifolia (Chlorophyceae), a new comer in the Mediterranean Sea

Henry Augier⁽¹⁾, J.C. Colomines⁽²⁾, N. Le Tallec⁽¹⁾

(1) Laboratoire de biologie marine fondamentale et appliquée et Centre d'études, de recherches et d'informations sur la mer (CERIMER), Faculté des sciences de Luminy ; 163, avenue de Luminy, 13288 Marseille Cedex 9.

(2) Centre National de la Recherche Scientifique, U.R.A. 117 ; Observatoire océanologique de Banyuls, 66650 Banyuls-sur-Mer.

Mots clés : acides aminés, algues, *Caulerpa*, Chlorophycées, Méditerranée, protéines.

Key-words: amino-acids, algae, *Caulerpa*, Chlorophyceae, Mediterranean Sea, proteins.

RÉSUMÉ

Augier H., J.C. Colomines, N. Le Tallec, 1995 - Contribution à l'étude de la composition en acides aminés libres et protéiniques de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* (Chlorophycées) récemment installée en Méditerranée. Mar. Life, 5 (2) : 21 - 25.

L'analyse par chromatographie liquide haute pression et fluorimétrie de la Chlorophycée *Caulerpa taxifolia* a permis d'étudier sa composition en acides aminés libres et liés dans les pseudo-feuilles et dans les pseudo-stolons. La fraction incluse dans les protéines est riche en acide glutamique et en acide aspartique. La fraction libre contient du tryptophane et de la phénylalanine considérés comme des précurseurs de l'hormone de croissance (acide indolyl-3-acétique). La comparaison des résultats obtenus avec ceux d'échantillons de référence montre une indiscutable valeur protéinique de l'algue. Cette richesse en protéines, qui s'ajoute à d'autres qualités de supplémentation alimentaire, est un élément favorable à son exploitation dans le domaine nutritionnel.

ABSTRACT

Augier H., J.C. Colomines, N. Le Tallec, 1995 - [Study of the free and proteinic amino-acid composition of the tropical algae *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyceae), a new comer in the Mediterranean Sea]. Mar. Life, 5 (2) : 21 - 25.

High pressure liquid chromatography and fluorimetry analysis of Chlorophycée *Caulerpa taxifolia* has allowed the study of its free and proteinic amino-acid composition in the pseudo-leaves and the pseudo-stolons. The proteinic part has a high glutamic and aspartic acid content. The free part includes tryptophan and phenylalanine which are known as precursors of auxin (indolyl-3-acetic acid). The comparison of our results with those of reference samples shows an indisputable proteinic value of the algae. This valuable protein content, added to other dietary supplementation qualities, is a favourable element for its use in the field of nutrition.

INTRODUCTION

Caulerpa taxifolia (Vahl) C. Agardh est une algue verte (Ulvophyceae) des mers tropicales utilisée depuis de nombreuses années pour décorer les aquariums à poissons tropicaux. Son introduction accidentelle en Méditerranée, dans la région de Monaco, daterait de 1984 (Meinesz, Hesse, 1991). La rapide extension de cette algue est due à une multiplication végétative très efficace, ainsi qu'à une adaptation tout à fait remarquable aux condi-

tions écologiques méditerranéennes, notamment à la température de l'eau qui est un facteur limitant pour les autres espèces de caulerpes de Méditerranée (Augier, Robert, 1981). L'extension géographique et bathymétrique de la caulerpe, qui entre en concurrence, dans certains secteurs, avec la flore et la faune en place, pose un problème écologique dont on maîtrise encore mal le degré de gravité. Cela explique que l'algue soit à l'origine d'un certain désarroi de la communauté scientifique. Cette situation doit déboucher sur une démarche globale

visant à mieux connaître l'intruse afin d'éclairer nos actions, notamment en ce qui concerne l'économie marine. L'étude de la composition protéinique qui fait l'objet de cet article constitue le deuxième volet de ces investigations qui ont commencé par la composition élémentaire (Augier *et al.*, 1993).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Site de prélèvement

Les algues ont été récoltées le dimanche 3 mai 1992, au large de la côte ouest du cap Martin (Alpes-Maritimes), à une profondeur de 11 m. *Caulerpa taxifolia* se développait par touffes reliées par des pseudo-stolons traçants sur des rhizomes apparents de *Posidonia oceanica*. Les pseudo-feuilles de *Caulerpa taxifolia* ne recouvraient pas les frondaisons de *Posidonia oceanica*.

Préparation des échantillons

Les algues fraîchement ramassées ont été débarrassées des épiphytes, des coquillages et des restes de rhizomes de *Posidonia oceanica*.

Elles ont ensuite été séparées en deux lots : un lot de pseudo-stolons et un lot de pseudo-feuilles. Les 3 243 pseudo-feuilles échantillonnées avaient une longueur moyenne de 3,8 cm.

Les deux lots ont été placés au congélateur à une température de - 25°C pendant au moins 24 heures. Après congélation, les échantillons ont été lyophilisés selon une technique mise au point au laboratoire (Augier, 1970).

Les matières sèches ont ensuite été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur Dangoumeau équipé d'un boîtier en téflon et de billes en agate. La poudre sèche obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamis Prolabo 05019190 de maille 0,063 mm (normes AFNOR). Le tamisage permet une bonne homogénéisation de la poudre.

Dosage

Avant d'effectuer le dosage proprement dit, les acides aminés libres ont été obtenus selon la méthode de Flynn (1988), par extraction à l'eau chaude (80°C), puis centrifugation. Les acides aminés inclus dans les protéines ont été hydrolysés à l'aide d'HCL 6N neutralisé après incubation à 110°C pendant 24 h par du NaOH 6N (Robertson *et al.*, 1987).

Tableau I - Taux d'acides aminés libres et protéiniques dans les pseudo-feuilles et les pseudo-stolons de *Caulerpa taxifolia* récoltée en mai 1992 au cap Martin (les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport au poids de matière sèche). / Content in free and proteinic amino acids in the pseudo-leaves and pseudo-stolons of *Caulerpa taxifolia* harvested in May 1992 at cap Martin (the results are expressed in percentage in relation to dry weight).

Acides aminés	Acides aminés libres		Acides aminés protéiniques	
	Pseudo-feuilles	Pseudo-stolons	Pseudo-feuilles	Pseudo-stolons
Ac. aspartique	0,013	0,021	2,745	2,196
Asparagine	0,011	0,002		
Glutamine	0,170	0,086	3,435	2,711
Ac. glutamique	0,031	0,07		
Ac. béta-glu	0,001	0,001		
Sérine	0,006	0,006	0,707	0,600
Histidine			0,245	0,100
Glycine	0,002	0,003	0,590	0,475
Thréonine	0,005	0,005	0,895	0,724
Arginine			0,847	0,701
Butalanine	0,001	0,002	0,004	0,004
Taurine	0,001	0,001	0,003	0,004
Alanine	0,032	0,032	0,827	0,685
Tyrosine			0,626	0,511
Ac. alpha amino butyrique	0,001	0,001	0,005	0,004
Tryptophane	0,001	0,001		
Méthionine	0,0001	0,0001	0,264	0,200
Valine	0,002	0,003	0,853	0,667
Phénylalanine	0,001	0,001	0,698	0,530
Isoleucine	0,001	0,001	0,630	0,503
Leucine	0,001	0,002	1,010	0,764
Ornitine	0,001	0,001	0,012	0,011
Lysine	0,001	0,001	0,587	0,459
Total	0,2801	0,2401	15,001	12,849

Le dosage a été effectué par chromatographie liquide haute performance selon la méthode de Lindroth, Mopper (1979), avec dérivation précolonne au moyen d'un échantillonneur injecteur automatique. Les composants ont été détectés par fluorescence.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats analytiques font l'objet du tableau I.

Acides aminés libres

Vingt acides aminés libres différents ont été identifiés et dosés dans les lyophilisats de pseudo-feuilles et de pseudo-stolons de *Caulerpa taxifolia*.

Le tableau I montre que :

- les pseudo-stolons et les pseudo-feuilles contiennent les mêmes acides aminés libres ;
- le pourcentage total d'acides aminés libres par rapport à la matière sèche dans les pseudo-feuilles est sensiblement égal à celui des pseudo-stolons (24-25 %) ;
- le taux le plus élevé est celui de la glutamine pour les deux échantillons de *Caulerpa taxifolia* (cet acide aminé représente plus de 69 % de la quantité totale des acides aminés de pseudo-feuilles et plus de 36 % en ce qui concerne les pseudo-stolons) ;
- par ordre décroissant, il vient ensuite :
 - . pour les pseudo-feuilles, l'alanine, l'acide glutamique, l'acide aspartique et l'asparagine,
 - . pour les pseudo-stolons, l'acide glutamique, l'acide aspartique et la sérine ;
- le taux de glutamine est deux fois plus important dans les pseudo-feuilles que dans les pseudo-stolons. Par contre, le taux d'acide glutamique est deux fois plus élevé dans les pseudo-stolons que dans les pseudo-feuilles. En ce qui concerne l'asparagine, il existe un facteur multiplicatif de 5 entre le taux des pseudo-feuilles et des pseudo-stolons ;
- il convient également de noter un très faible taux de méthionine et l'absence d'histidine et de tyrosine. Ces deux derniers acides aminés sont par contre présents dans les acides aminés protéiniques.

Ces différences dans la composition quantitative en acides aminés libres chez *Caulerpa taxifolia* traduisent certainement des phénomènes physiologiques et métaboliques différents, entre les pseudo-stolons et les pseudo-feuilles, qu'il reste à déterminer.

Acides aminés liés

L'analyse a permis d'identifier 19 acides aminés protéiniques dans les pseudo-feuilles et les pseudo-stolons de *Caulerpa taxifolia*.

L'examen du tableau I permet de faire les remarques suivantes :

- les pseudo-feuilles et les pseudo-stolons contiennent les mêmes acides aminés protéiniques ;
- la quantité d'acides aminés protéiniques est plus élevée dans les pseudo-feuilles que dans les

pseudo-stolons (12-15 % de la matière sèche). D'ailleurs, en considérant les acides aminés protéiniques identifiés séparément, seule la taurine présente un taux plus important dans les pseudo-stolons ;

- pour les deux échantillons, on note une forte présence dans l'ordre décroissant des ensembles acide glutamique, acide aspartique-asparagine, de la leucine et de la thréonine ;

- la taurine et la butalanine présentent les teneurs les plus faibles ;

- le nombre total d'acides aminés protéiniques peut être assimilé au taux de protéines, c'est-à-dire 13,87 % en moyenne pour l'algue *Caulerpa taxifolia*.

La comparaison des résultats obtenus par l'analyse des échantillons de *Caulerpa taxifolia* avec d'autres caulerpes (tableau II) montre de grandes différences. La méthionine et la tyrosine présentent des taux plus faibles chez *Caulerpa taxifolia* ; en revanche, elle possède des teneurs en acides glutamique et aspartique plus élevées. L'hydrolyse acide à chaud désamine l'asparagine et la glutamine en acide aspartique et en acide glutamique respectivement, ce qui explique que dans les résultats (tableau I), ces acides aminés n'ont pu être différenciés pour les acides aminés protéiniques. De même, le tryptophane est totalement détruit ; l'absence de résultat dans le tableau I concernant cet acide aminé ne signifie donc pas qu'il est absent chez *Caulerpa taxifolia*. Il en est de même pour la proline qui ne peut pas être détectée par cette méthode (tableau II).

Il paraît intéressant de comparer les résultats obtenus avec ceux des végétaux couramment utilisés pour l'alimentation du bétail comme la luzerne et le foin (tableau II).

On note chez *Caulerpa taxifolia* des taux 2 à 2,5 fois plus élevés d'acides glutamique et aspartique. Les autres acides aminés présentent des valeurs assez voisines.

La comparaison avec l'œuf de poule (tableau II), qui représente un critère de qualité protéique correspondant à un équilibre parfait (d'après Busson, 1965) permet de constater que la caulerpe et l'œuf ont en commun des taux élevés en acides aminés dicarboxyliques (acide glutamique et acide aspartique). Ces deux acides aminés présentent toutefois un taux 1,5 fois plus élevé chez *Caulerpa taxifolia*. Le taux des acides aminés est toujours plus élevé dans l'œuf de poule que dans la *Caulerpa* (plus particulièrement pour l'histidine et la méthionine), sauf pour l'acide aspartique, l'acide glutamique et la thréonine.

CONCLUSION

Face au pouvoir d'adaptation remarquable de cette algue tropicale au milieu méditerranéen et à sa capacité importante de colonisation des fonds infralittoraux,

Tableau II - Comparaison de la composition en acides aminés protidiques de l'algue *Caulerpa taxifolia* avec celles de *C. racemosa* v. *uvifera*, de *C. peltata* v. *typica* (d'après Lewis et Gonzalès, 1959), du foin et de la luzerne (d'après Bigwood et Wodon, 1963) et de l'oeuf (d'après Busson, 1965). Les concentrations sont exprimées en pourcentage d'acide aminé par rapport à la quantité de protéines totales. Les échantillons de foin analysés par Bigwood et Wodon correspondent à 8 espèces de Graminées avec une dominance marquée pour *Holcus lanatus*. / Comparison of the composition in proteinic amino acids of the alga *Caulerpa taxifolia* with those of *C. racemosa* v. *uvifera*, *C. peltata* v. *typica* (after Lewis & Gonzalès, 1959), of hay and of alfalfa (after Bigwood and Wodon, 1963) and of the egg (after Busson 1965). Concentrations are expressed in percentage of amino acid in relation to total protein quantity. The samples of hay analysed by Bigwood and Wodon, correspond to 8 species of graminaceae with a marked dominance for *Holcus lanatus*.

Acides Aminés	<i>Caulerpa taxifolia</i>	<i>Caulerpa racemosa</i> v. <i>uvifera</i>	<i>Caulerpa peltata</i> v. <i>typica</i>	Foin	Luzerne	Oeuf de poule
ALA	5,5	5,1	4,8	5,2	4,7	6,7
GLY	3,8	3,4	3,5	4,3	4,1	3,8
VAL	5,5	4,7	5,1	4,4	4,3	6,7
LEU	6,4	2,9	3,6	6,3	5,6	8,8
ILEU	4,1	2,7	3,4	3,2	3,2	5,6
GLU	22,2	2,8	4,7	9,1	8,0	13,6
ASP	17,8	4,5	4,0	8,5	10,8	10,7
THR	5,8	4,0	4,3	3,7	3,7	5,1
SER	4,7	5,7	1,9	3,5	3,9	7,8
ARG	5,6	3,9	3,8	3,8	3,3	6,1
LYS	3,7	3,4	2,6	3,7	4,2	6,8
MET	1,7	11,7	10,7	1,4	1,5	3,5
TYR	4,1	13,6	19,4	2,5	2,9	4,3
PHE	4,4	4,5	4,8	4,2	4,0	6,0
HIS	1,2	7,4	6,5	1,3	1,4	2,4
PRO		19,6	16,8	5,5	6,3	5,1
TRP				1,0		1,4

toraux, il paraît difficile, dans l'état actuel des recherches, de trouver un moyen radical de l'éliminer.

On ne peut plus raisonnablement envisager de freiner son extension territoriale par son ramassage faisant intervenir un grand nombre de plongeurs bénévoles. Pour motiver une telle entreprise, il faut explorer tous les moyens possibles de valorisation de cette algue.

Dans le cas des acides aminés, notre étude a montré une richesse en acide glutamique et en acide aspartique qui pourrait être utilisée comme une source supplémentaire de composés azotés dans les engrais. La présence de tryptophane circulant (même en faible quantité) est intéressante car cet acide aminé est considéré comme un précurseur de l'acide indolyl-3 acétique, hormone de croissance bien connue chez les végétaux (Pilet, 1961).

La présence de phénylalanine milite également en faveur de l'hypothèse d'une stimulation de la croissance par formation supplémentaire de tryptophane à la lumière des travaux de Murdia, Tamhane (1974) qui ont démontré l'action stimulante de cet acide aminé sur l'activité de la tryptophane synthétase.

En comparant la composition en acides aminés de la caulerpe et des végétaux couramment utilisés pour l'alimentation du bétail (luzerne et foin), on remarque que l'algue contient en général plus d'acides aminés. En ce qui concerne les ruminants, si l'on tient compte de leur régime alimentaire, il est

intéressant de convertir les taux d'acides aminés de l'algue en pourcentage d'azote. Le calcul donne 14,44 % de matière azotée totale, soit une teneur estimée en azote de 2,3 % (valeur exprimée en poids de matière sèche). Compte tenu aussi de sa teneur en lipides et en glucides (Qari, 1988), et en oligo-éléments (Augier *et al.*, 1993), la *Caulerpa* pourrait être utilisée comme complément de nourriture dans la mesure où les produits toxiques qu'elle contient à certaines périodes de l'année (Doty, Aguilar-Santos, 1966 ; Aguilar-Santos, 1970 ; Maiti, Thomson, 1977, 1978 ; Paul, Fenical, 1986 ; Vidal *et al.*, 1984 ; Guerriero *et al.*, 1992 ; Lemée *et al.*, 1993) ne soient pas transmis par voie trophique ou qu'il soit possible de les neutraliser au cours de la fabrication du produit commercial.

Pour Qari (1988), il ne paraît pas y avoir de problème à ce sujet puisqu'il propose d'utiliser la même espèce de caulerpe à l'échelle commerciale pour la nourriture du bétail et de la volaille, et aussi pour l'extraction des phycocolloïdes.

REMERCIEMENTS

Il nous est agréable de remercier ici Marcel Lacueille et Patrick Maillard de la section biologie, comité de Provence, de la Fédération française d'études et sports sous-marins (F.F.E.S.S.M.), pour leur aide dans la récolte de l'algue au cap Martin.

BIBLIOGRAPHIE

- Aguilar-Santos G., 1970 - Caulerpin, a new red pigment from green algae of the genus *Caulerpa*. *J. chem. Soc.*, C92 : 842-843.
- Augier H., 1970 - La lyophilisation ; son utilisation en phycologie. *Bull. Mus. Hist. nat. Marseille*, **30** : 229-251.
- Augier H., N. Le Tallec, C. Ronneau, 1993 - Étude, par activation neutronique, de la composition élémentaire de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia*, récemment installée en Méditerranée. *Mar. Life*, **3** (1-2) : 67-71.
- Augier H., P. Robert, 1981 - Sur la présence de *Caulerpa prolifera* (Forskali) Lamouroux dans les îles d'Hyères et sur sa signification bioclimatique et écologique. *Trav. sci. Parc natl Port-Cros*, **7** : 119-128.
- Bigwood E.J., C. Wodon, 1963 - Acides aminés du lait de vache, de viande de boeuf, des aliments pour le bétail et du rumen. Contribution à l'étude du métabolisme de l'azote et du soufre chez les ruminants. *Trav. Com. Étude Maladies Alim. Bétail (C.E.M.A.)*, **30** (2) : 1-21.
- Busson F., 1965 - *Etude chimique et biologique de végétaux alimentaires de l'Afrique noire de l'Ouest dans leurs rapports avec le milieu géographique et humain*. Thèse Doc. Etat ès sci., Marseille, 324 pp.
- Doty M.S., G. Aguilar-Santos, 1966 - Caulerpin, a toxic constituent of *Caulerpa*. *Nature*, **211** : 990.
- Flynn K.J., 1988 - Some practical aspects of measurements of dissolved free amino acids in natural water and within microalgae by the use of HPLC. *Chem. Ecol.*, **3** : 269-293.
- Guerriero A., A. Meinesz, M. d'Ambrosio, F. Pietra, 1992 - Isolation of toxic and potentially toxic sesqui- and monoterpenes from the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which has invaded the region of cap Martin. *Helv. Chim. Acta*, **75** : 1-7.
- Lemée R., D. Pesando, M. Durand-Clément, A. Dubreuil, A. Meinesz, A. Guerriero, F. Pietra, 1993 - Preliminary survey of the toxicity of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced into the Mediterranean. *J. appl. Phycol.*, **5** : 485-493.
- Lewis E.J., E.A. Gonzalès, 1959 - Aminoacid contents of the erect and creeping fronds of species of *Caulerpa* from Bombay. *J. mar. biol. Ass. India*, **1** : 54-56.
- Lindroth P., K. Mopper, 1979 - Subpicomole, high performance liquid chromatographic determination of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthaldialdehyde. *Analyt. Chem.*, **51** : 1667-1674.
- Maiti B.C., R.H. Thomson, 1977 - *Caulerpin*. *Marine Natural products Chemistry*. DJ Faulker, W.H. Fenical (eds), Plenum Press, U.S.A., pp : 159-164.
- Maiti B.C., R.H. Thomson, 1978 - The structure of caulerpin, a pigment from *Caulerpa* algae. *J. Chem. Res.* : 1682-1693.
- Meinesz A., B. Hesse, 1991 - Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanologica Acta*, **14** (4) : 415-426.
- Murdia U.S., D.V. Tamhane, 1974 - Tryptophan metabolism in *Ochromonas malhamensis*. *J. Protozool.*, **21** (4) : 588-591.
- Paul V.J., W. Fenical, 1986 - Chemical defense in tropical green algae, order Caulerpes. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.*, **34** : 157-169.
- Pilet P.E., 1961 - *Les phytohormones de croissance*. Edit. Masson, Paris, 774 pp.
- Qari R., 1988 - Seasonal changes in biochemical composition of seaweeds from Karachi coast. *Pakistan J. scient. ind. Res.*, **31** (2) : 94-96.
- Robertson K.J., P.M. Williams, J.L. Bada, 1987 - Acid hydrolysis of dissolved combined amino acids in seawater : a precautionary note. *Limnol. Oceanogr.*, **32** (4) : 996-997.
- Vidal J.P., D. Laurent, S.A. Kabore, E. Rechencq, M. Bocard, J.-P. Girard, R. Escale, J.-C. Rossi, 1984 - Caulerpin, caulerpicin, *Caulerpa scalpelliformis* : comparative acute toxicity study. *Botanica mar.*, **27** : 533-537.

Reçu en mars 1994 ; accepté en septembre 1996.
Received March 1994 ; accepted September 1996.