



**HAL**  
open science

## Les protéines fongiques utilisées dans l'alimentation

Elisabeth Mury

► **To cite this version:**

Elisabeth Mury. Les protéines fongiques utilisées dans l'alimentation. Sciences pharmaceutiques. 1989. dumas-01655167

**HAL Id: dumas-01655167**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01655167v1>**

Submitted on 6 Dec 2017

**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.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

2<sup>e</sup> exemplaire

UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine  
U.F.R. DE PHARMACIE  
Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE 1989

N° D'ORDRE

7026

TITRE DE LA THESE

**LES PROTEINES FONGIQUES  
UTILISEES DANS L'ALIMENTATION**

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Mademoiselle : MURY Elisabeth

née le : [Données à caractère personnel]

à :

Cette thèse sera soutenue publiquement le : 3 juillet 1989

devant Mme le Professeur F. SEIGLE-MURANDI, Président du Jury

et

Melle R. STEIMAN, Maître de Conférences,

Mme M. BONNET-ORAND, Pharmacien.



UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine  
U.F.R. DE PHARMACIE  
Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE 1989

N° D'ORDRE

TITRE DE LA THESE

**LES PROTEINES FONGIQUES  
UTILISEES DANS L'ALIMENTATION**

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Mademoiselle : MURY Elisabeth

née le : [Données à caractère personnel]

à :

Cette thèse sera soutenue publiquement le : 3 juillet 1989

devant Mme le Professeur F. SEIGLE-MURANDI, Président du Jury

et

Melle R. STEIMAN, Maître de Conférences,

Mme M. BONNET-ORAND, Pharmacien.



Avec mes sincères remerciements,

à Madame F. SEIGLE-MURANDI, professeur à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Grenoble, pour ses conseils avisés et pour avoir bien voulu présider le Jury,

à M<sup>le</sup> STEIMAN et à Me BONNET-ORAND, pour avoir accepté de participer au Jury.

A ma Famille,

en remerciements pour toutes ces années où leur présence  
et leur aide ne m'ont jamais fait défaut.

A Fernando, ....

## P L A N

INTRODUCTION.....	P 6
CHAPITRE I : INTERETS DES PROTEINES FONGIQUES....	P 9
CHAPITRE II : ALIMENTATION HUMAINE.....	P 47
CHAPITRE III : ALIMENTATION ANIMALE.....	P 82
CONCLUSION.....	P 102
BIBLIOGRAPHIE.....	P 110

## I N T R O D U C T I O N

**Les CHAMPIGNONS** : sous ce terme général, sont regroupées à peu près 100.000 espèces connues, qui vont des formes individualisées telles que les Levures, à une organisation plus complexe (cèpe, morille, ...).

Ces organismes présentent des différences de taille, d'aspect, de structure, d'activités métaboliques et de mode de vie. On peut aussi remarquer la multiplicité des substrats colonisés (de l'amidon ou des déchets cellulosiques aux produits pétroliers) : ils s'accoutument donc de sources nutritives carbonées très diverses.

L'utilisation des Champignons dans l'alimentation humaine est une pratique fort ancienne et largement répandue parmi les populations les plus diverses. La cueillette des champignons comestibles peut apporter un complément alimentaire chez certaines populations de zones défavorisées (volvaire ou pleurote sur paille de riz), mais dans d'autres pays, ils ont surtout une valeur gastronomique (truffes, agarics, morilles, ...). Quant au pouvoir fermentaire dont sont douées certaines espèces, d'un usage longtemps artisanal et empirique, il donne aujourd'hui lieu à de véritables industries : fabrication de boisson (bières, vin, ...), panification, production de fromages, de condiments.

Certains champignons filamenteux sont parfois délibérément ingérés sans effet néfaste pour la santé de l'homme (Fromage de Roquefort ; tempehs et autres aliments fermentés des pays d'Orient).

Parmi les usages industriels, la nécessité de trouver de nouvelles sources de protéines alimentaires pour remédier à la sous-alimentation temporaire ou endémique a orienté les recherches vers l'exploitation de micro-organismes : algues vertes, plancton marin, et levures, bactéries (JACOB et PONCET, 1981).

L'introduction des micro-organismes comme sources de protéines dans l'alimentation a été préconisée dès 1910 (petites unités dans différents pays européens).

En Allemagne, durant la Première Guerre Mondiale, des levures Saccharomyces cerevisiae, cultivées sur des mélasses, ont été utilisées comme supplément protéique alimentaire (GOLDBERG, 1985).

Les substrats utilisés (mélasses, résidus de distillerie, liqueurs sulfiteuses de papeterie) étaient alors peu disponibles et de plus, le prix de revient était élevé.

Grâce aux fermenteurs (type LEFRANCOIS) et divers procédés mis au point et améliorés, on assiste à un nouvel intérêt pour des substrats comme les hydrolysats de bois, les vinasses et les mélasses de betterave, le lactosérum.

Puis à la suite des travaux d'Alfred CHAMPAGNAT (1962), on s'intéresse plus particulièrement aux levures et autres micro-organismes qui utilisent le pétrole ou les produits pétroliers (paraffines normales, gas-oil) pour leur croissance.

Dès 1976, l'intérêt diminue : faible rentabilité, augmentation du prix du pétrole et baisse de celui du soja, principale source protéique de l'alimentation animale.

Il faut alors abandonner tout projet en ce qui concerne le remplacement "massif" du soja par les protéines de micro-organismes (dans l'alimentation animale) et donc, utiliser ces productions dans l'élaboration d'aliments composés, selon la formulation qui sera la moins coûteuse possible tout en satisfaisant les besoins animaux.

Quant à l'alimentation humaine, ces protéines, après divers traitements, sont utilisées comme additifs alimentaires (en raison de plusieurs propriétés physicochimiques intéressantes) et aident à lutter contre la malnutrition dans les pays en voie de développement.

## C H A P I T R E I

## INTERETS DES PROTEINES FONGIQUES

- I CARACTERISTIQUES DES MICRO-ORGANISMES, SOURCES DE PROTEINES FONGIQUES
  - I . 1 Les levures
  - I . 2 Les champignons filamenteux
  - I . 3 Caractéristiques communes
  - I . 4 Collections de souches
  
- II COMPOSITION BIOCHIMIQUE DES LEVURES ET CHAMPIGNONS
  - II . 1 Les composés azotés
  - II . 2 Les lipides
  - II . 3 Les autres constituants
    - II . 3 . 1 Les vitamines
    - II . 3 . 2 Les glucides
    - II . 3 . 3 Les minéraux
  
- III EFFICACITE ET QUALITE NUTRITIONNELLES
  - III . 1 Les besoins nutritionnels en protéines
  - III . 2 La qualité nutritionnelle
    - III . 2 . 1 Méthodes basées sur les courbes de croissance
    - III . 2 . 2 Méthodes basées sur l'analyse des bilans azotés
    - III . 2 . 3 Indice chimique
  
- IV ASPECT TOXICOLOGIQUE
  - IV . 1 Introduction
  - IV . 2 Réduction des taux d'acides nucléiques
  - IV . 3 Problème des mycotoxines
  
- V CONCLUSION

## C H A P I T R E I

## INTERETS DES PROTEINES FONGIQUES

I CARACTERISTIQUES DES MICRO-ORGANISMES, SOURCES DE  
PROTEINES FONGIQUES

Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux levures et aux Champignons filamenteux (Tabl. 1).

I . 1 Les levures

Les levures sont les plus anciennement connues et les mieux étudiées. En 1837, MEYER propose le nom de Saccharomyces pour la levure de bière.

Elles ne sont considérées comme les êtres vivants unicellulaires responsables de la fermentation, que depuis le début du XIX<sup>e</sup> siècle. Les plus couramment employées en alimentation sont les levures de boulangerie et aussi les levures résultant de la fabrication de la bière (ce qui permet une valorisation des déchets).

La production de levures était de 350.000 Tonnes/an dans les années 1970-1975 (dont 150.000 Tonnes de levures de boulangerie, le reste étant destiné à l'alimentation animale) (RIVIERE, 1975).

Ces micro-organismes sont rarement pathogènes ou toxiques, se développent facilement à pH acide sélectif (ce qui empêche le développement de contaminants éventuels et qui permet donc une culture non stérile).

Ils sont faciles à récupérer (par filtration ou centrifugation) et sont utilisables à l'état brut.

Du point de vue nutritionnel, les levures ont une forte teneur en Lysine (6 à 9 %) et en Thréonine, mais sont pauvres en acides aminés soufrés (Méthionine et Cystéine) (GOLDBERG, 1985).

Leur taux en acides nucléiques est relativement faible : 4 à 10 %. Elles sont une bonne source de vitamines du groupe B, et apportent aussi de la vitamine E et de la provitamine D. De plus, elles sont facilement acceptées par les consommateurs.

## I . 2 Les Champignons filamenteux

Les Champignons filamenteux sont aussi utilisés depuis longtemps dans l'alimentation humaine mais le concept de leur utilisation en tant que source protéique est relativement récent.

Durant la dernière guerre mondiale des souches de Fusarium et de Rhizopus ont été cultivées dans des fermenteurs pour servir d'aliments protéiques (RIVIERE, 1975).

De même que les levures, ils sont rarement pathogènes ou toxiques et sont aisément récupérables par simple filtration (ce qui réduit d'autant les coûts de production).

Leur teneur en protéines peut atteindre 75 % et leurs acides aminés ont des taux assez bien équilibrés.

**TABLEAU 1 . Caractéristiques naturelles des levures et  
des moisissures**  
(d'après CARANTINO- 1983 )

	<b>Eléments favorables</b>	<b>Eléments défavorables</b>
<b>Levures</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Microorganismes les plus anciennement connus</li> <li>. Microorganismes les mieux étudiés</li> <li>. Rarement pathogène ou toxique</li> <li>. se développant à pH acide sélectif</li> <li>. Faciles à récupérer</li> <li>. Teneur élevée en Lysine (6 à 9 %) et en thréonine</li> <li>. Teneurs faibles en acides nucléiques (4 à 10 %)</li> <li>. Riches en vitamines (groupe B)</li> <li>. utilisables à l'état brut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Croissance relativement lente (3 à 5 H)</li> <li>. Teneur en protéines totales dépassant rarement 60 %</li> <li>. Pauvres en acides aminés soufrés</li> <li>. Teneurs en lipides élevées (environ 6 %)</li> <li>. Thermophilie élevée peu fréquente</li> <li>. Choix limité d'espèces</li> </ul>
<b>Moisissures</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Connus depuis très longtemps</li> <li>. Rarement toxiques ou pathogènes</li> <li>. Croissance sur une grande variété de substrats (y compris la cellulose)</li> <li>. Récupération facile par simple filtration</li> <li>. teneurs en protéines totales pouvant atteindre 75 %</li> <li>. Bon équilibre en acide aminés</li> <li>. Excellentes teneurs en acides nucléiques (3 à 5 %)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Temps de génération très long (5 à 12 H)</li> </ul>

### I . 3 Caractéristiques communes

Dans les deux cas, les temps de générations sont plutôt longs : 3 à 5 heures pour les levures ; 5 à 12 heures pour les champignons (ceci par rapport aux bactéries qui ont une croissance rapide mais sont en général difficilement acceptées par l'homme, n'étant pas dénuées de risques pour la santé) - (CARANTINO - 1983).

Pour leur croissance, ces micro-organismes ont besoin d'un substrat carboné (nombreuses possibilités), d'oxygène, d'azote et d'autres éléments nutritifs (minéraux, vitamines,...).

Parmi les caractéristiques de ces micro-organismes, on remarque la grande variété des sources carbonées utilisables, que l'on classe en deux grands groupes : (tabl. 2) :

- les sources non renouvelables (produits pétroliers : gas-oil, n-paraffines,...)
- les sources renouvelables (mélasses, liqueurs sulfureuses de papeterie, lactosérum, matières amylacées, lignocellulose, ...).

D'autre part, ces productions de protéines fongiques permettent la valorisation de déchets ou sous-produits industriels et agricoles et participent ainsi à la protection de l'environnement en limitant les risques de pollution.

Par rapport aux sources traditionnelles protéiques agricoles, elles sont indépendantes du climat et des saisons et sont moins exigeantes au point de vue superficie.

**TABLEAU 2 . Substrats (sources de carbone) utilisables pour  
la production de S.C.P. (d'après GOLDBERG - 1985 . LITCHFIELD - 1977)**

Ressources renouvelables		Ressources non renouvelables	
type de microorganismes		type de microorganismes	
Cellulose (déchets et sous-produits agricoles et forestiers)	Champignons filamenteux ( <u>Trichoderma viride</u> , procédé PEKILO)	Hydrocarbures (n-alcanes purifiés, gas-oil, kérosène,...)	Levures ( <u>Candida lipolytica</u> , <u>C. tropicalis</u> , ...)
Amidon (de tapioca, tubercules de pommes de terre, ...)	Levures, champignons, moisissures ( <u>Candida tropicalis</u> , <u>Aspergillus niger</u> ,...)	Méthanol	Levures
Sucres (de canne, de betterave, mélasses, lactosérum)	Levures et champignons ( <u>Kluyveromyces fragilis</u> , <u>S. cerevisiae</u> , <u>C. utilis</u> , <u>A. niger</u> , ...)	Ethanol	Levures ( <u>C. utilis</u> )
		Déchets de l'industrie chimique	Levures et Champignons

Leur production continue peut être automatisée pour certaines phases, ce qui permet un meilleur contrôle de la fabrication.

De plus les produits issus de telles technologies, ont l'avantage, par rapport au soja et à la farine de poisson, d'une composition constante (reproductibilité des produits industriels), homogène, avec des protéines de haute qualité.

Depuis des années, les nombreux travaux effectués ont abouti à la sélection des souches, qui ont parfois des caractères assez différents de ceux de la souche d'origine : acquisition de propriétés amylolytiques ; taux de croissance plus rapide ; rendements protéiques accrus ; thermophilie.

#### I . 4 Collection des souches

Les nombreuses souches sont conservées dans différentes collections de part le monde, ce qui permet d'assurer le stockage de nouvelles lignées souvent instables du point de vue génétique.

Depuis une dizaine d'années, il existe des catalogues que l'on peut consulter, répertoriant les différents champignons, levures ou bactéries susceptibles d'une culture industrielle. Ces fichiers sont remis à jour régulièrement.

Voici une liste concernant les principales collections où figurent des champignons et des levures : (RIVIERE - 1975 ; BORD - 1984) :

- American Type Culture Collection (Etats-Unis) :  
ATCC  
Bactéries ; actinomycètes ; champignons ; algues ;  
protozoaires
- Central Bureau voor Schimmelculture (Hollande) :  
CBS  
champignons et actinomycètes
- Commonwealth Mycological Institute (Angleterre) :  
Champignons
- Agricultural Research Service Culture Collection  
(Etats-Unis) : Bactéries ; Champignons ; actino-  
mycètes
- National Collection of Type Culture (Angleterre) :  
NCTC  
Bactéries ; actinomycètes ; champignons
- Centre Mondial de données de Brisbane (Australie) :  
algues ; bactéries ; moisissures ; Levures
- Microbiological Resources Center (Thaïlande) :  
MIRCEN  
Bactéries ; champignons

Les souches sont ainsi stockées, peut-être en vue des nouvelles recherches et d'autres applications.

Pour un industriel, le choix du micro-organisme dépend de la nature et de la disponibilité de la matière première envisagée.

Puis selon l'objectif à atteindre, d'autres critères entrent en jeu :

- d'ordre toxicologique (étudié dans des expériences préalables),
- d'ordre nutritionnel (valeur énergétique ; taux protéiques ; équilibre en acides aminés ; teneur en vitamines ; ...),
- d'ordre technologique tels que la facilité de culture (exigence de facteurs de croissance) et de séparation (floculation, décantation).

Il y a aussi des facteurs d'ordre économique (cours des protéines traditionnelles et des matières premières), politique (possibilité d'exportation), législatif (loi de restriction de la C.E.E. de 1976), mais aussi social (acceptabilité des produits par le consommateur).

## II COMPOSITION BIOCHIMIQUE DES LEVURES ET CHAMPIGNONS

Les micro-organismes alimentaires sont des ressources protéiques : ceci est leur principal intérêt . Pour la plupart, ils renferment en effet plus de 50 % de protéines (et pour certains jusqu'à 70 % : ce sont les bactéries) : (GOLDBERG , 1985).

Levures      44 à 54 %

Fungi        38 à 55 %

et leur taux de lipides est généralement faible.

Mais ils contiennent aussi d'autres composés azotés (les acides nucléiques), des hydrates de carbone, des sels minéraux et des vitamines.

Le taux de protéines peut varier, surtout en fonction des modalités du développement cellulaire, milieu de base, agitation et purification ; par exemple, pour le groupe *Candida*, on peut observer des taux compris entre 45 et 70 % de la matière sèche (CHAMPAGNAT, 1974).

Généralement, on essaie de sélectionner les souches de micro-organismes appropriés, avec les conditions optimales de croissance, pour obtenir un contenu protéique maximal avec une composition favorable en acides aminés.

Les vitamines et sels minéraux contenus dans les cellules des micro-organismes sont considérés comme un "plus" (GOLDBERG - 1985)

De nombreuses études ont été menées pour mettre en évidence et évaluer :

- la valeur nutritive
- les risques de toxicité
- leur intérêt économique

On peut déjà dire qu'un de leurs avantages est leur composition constante (reproductibilité des produits industriels : en effet, tout est contrôlé au cours de la culture et parfaitement défini) par rapport aux denrées agricoles (soja, farine de poisson, ...).

## II . 1 Les composés azotés

Leur taux a été évalué à l'aide de différentes méthodes. La méthode de KJELDAHL permet le dosage de l'azote total :

$$\text{protéines} = \text{N} \times 6,25$$

en considérant que les protéines renferment 16 grammes d'azote pour 100 grammes.

En fait, on obtient le taux des "protéines brutes" puisque cette méthode ne différencie pas :

- l'azote protidique

de - l'azote non protidique, c'est-à-dire contenu dans les acides nucléiques, aminés, urée, ... qui est évalué à 10 à 15 %.

Cette présence d'azote conduit donc à des estimations faussées de la valeur nutritionnelle et d'autre part, il peut entraver le métabolisme normal (CHAMPAGNAT - 1974).

Les protéines sont constituées par un enchainement d'acides aminés :

- indispensables : car l'organisme est incapable d'assurer leur synthèse et dont l'apport est la condition primordiale à la satisfaction des besoins
- non indispensables : c'est-à-dire qu'ils peuvent être synthétisés par l'organisme.

En pratique, pour qu'une ration couvre le besoin azoté, elle doit renfermer tous les acides aminés indispensables (en proportions optimales), plus de l'azote aminé "banal", nécessaire à l'élaboration des acides aminés synthétisables.

La protéine de référence étant celle du blanc d'oeuf (ou les normes de la F.A.O.), on peut dire que les protéines fongiques offrent une composition en acides aminés bien équilibrée : elles sont en général riches en lysine mais on obser-

ve un déficit en acides aminés soufrés tels que la méthionine et la cystéine (ce qui va être un facteur limitant de la valeur nutritionnelle des protéines de micro-organismes).

Dans tous les cas, les valeurs de la composition chimique en acides aminés essentiels dépassent les normes de la F.A.O (sauf pour les acides aminés soufrés - (tabl. 3)).

Dans l'ensemble, une telle composition est remarquable car elle fait songer davantage aux productions animales (lait, viande, oeuf, poisson) qu'à celles du monde végétal (céréales ; tourteaux).

A l'exception de la méthionine et de la cystéine, on ne trouve dans ces productions pratiquement aucun déficit dépassant 40 %, seuil à partir duquel la déficience commence à provoquer une chute sérieuse de la qualité protéique.

Quant à l'azote non protidique, les taux sont généralement plus élevés que pour les aliments "conventionnels".

On considère que dans ces productions, le taux des protéines totales est en fait constitué par 80 % d'azote protéique et par 10 à 15 % d'azote non protidique, c'est-à-dire à peu près 8 % sous forme de bases puriques  
4 % sous forme de bases pyrimidiques (acides nucléiques)

et le reste sous d'autres formes telles que les glucosamines, l'urée, ... (CHAMPAGNAT - 1974).

Cette présence d'acides nucléiques, en quantité non négligeable, pose problème chez l'homme.

**TABLEAU 3 . Composition en acides aminés (essentiels) de  
différentes protéines alimentaires - normes FAO**  
(d'après GOLDBERG - 1985 et RIVIERE - 1975)

Acides aminés	Source protéique	normes FAO	Oeuf	Saccharo-	<i>Candida</i>	Protéine selon le procédé Pékilo	<i>Kluyvero-</i>	Tourteaux de soja	farine de poisson	Blé
				<i>myces cerevisiae</i> (mélasses)	<i>lipolytica</i> (gas-oil)		<i>myces fragilis</i> (lactoserum)			
Lysine		4,2	6,5	8,2	7,8	6,4	6,9	6,6	7,0	2,8
Thréonine		2,8	5,1	4,8	5,4	4,6	5,8	4,0	4,2	2,9
Cystéine		2,0	2,4	1,6	0,9	1,1	-	4,15	1,0	2,5
Méthionine		2,2	3,2	2,5	1,6	1,5	1,9		2,6	1,5
Valine		4,2	7,3	5,5	5,8	5,1	5,4	5,5	5,2	4,4
Isoleucine		4,2	6,7	5,5	5,3	4,3	4,0	5,1	4,6	4,2
Leucine		4,8	8,9	7,9	7,8	6,9	6,1	7,9	7,3	6,7
Phénylalanine		2,8	5,8	4,5	4,8	3,7	2,8	5,4	4,0	4,5
Tryptophane		1,0	1,6	1,2	1,3	1,2	1,4	-	-	1,1
Protéines totales = protéines vraies + acides nucléiques % matière sèche				53,7	66,0	57,63	56,2	52,0		

Résultats exprimés en grammes pour 16 grammes d'azote

En effet, contrairement aux animaux, l'homme ne possède pas d'uricase, enzyme qui permet l'oxydation de l'acide urique (produit du métabolisme des bases puriques) en allantoïne, beaucoup plus soluble et donc plus facilement éliminée.

La consommation d'une source protéique riche en bases puriques, chez l'homme, entraîne une hausse du taux plasmatique de l'acide urique (peu soluble) et des cristaux d'urate peuvent se former dans les tissus et les articulations. Des tentatives ont donc été entreprises de différents côtés pour réduire le taux d'acides nucléiques : par hydrolyse ou autolyse, l'acide nucléique étant ensuite séparé du reste du contenu cellulaire.

Quant aux champignons comestibles, si la composition en acides aminés est comparable à celle de l'ovalbumine mais avec toujours un déficit pour les acides aminés soufrés, leur teneur en protéines n'est que de 1 à 4 %.

En effet le constituant majoritaire de ces champignons est l'eau qui représente 80 à 90 % du poids.

Ceci explique peut-être le fait que les champignons soient considérés comme des condiments, un assaisonnement plutôt que comme une source complémentaire de protéines alimentaires.

## II . 2 Les lipides

Les lipides totaux, après extraction par solvants, sont trouvés à des taux variant de 1 à 15 % (du poids sec). La nature de ces lipides n'est pas toujours bien déterminée mais on trouve généralement des triglycérides, des phospholipides et des stérols.

Pour les champignons "comestibles", les taux varient de 0,2 à 0,5 % et ce sont en majorité des acides gras libres.

## II . 3 Les autres constituants

### II . 3 . 1 Les vitamines

Les levures sont d'une grande richesse du point de vue vitamines. Elles ont même été utilisées comme complément vitaminique.

Elles sont surtout riches en vitamines du groupe B (sauf la vitamine B<sub>12</sub>).

En ce qui concerne les vitamines liposolubles, aucune ne se trouve à l'état physiologiquement actif dans les cellules de ces micro-organismes, mais on trouve des provitamines D: en particulier l'ergostérol qui, sous l'action de la lumière donnera de la vitamine D<sub>2</sub>.

Pour les vitamines hydrosolubles, on peut dire que la vitamine C ne se trouve pas dans ces productions sauf dans le cas particulier des levures cultivées sur lactosérum (CHAMPAGNAT, 1974 ).

### II . 3 . 2 Les glucides

On trouve divers sucres simples (glucose, fructose) et des sucres de réserve: le glycogène et le tréhalose, disaccharide formé par l'enchaînement de deux glucoses. Les taux varient de 3,4 à 36,5 % selon les espèces.

Les parois cellulaires représentent de 0,5 à 10 % de la matière sèche. Elles sont formées en majorité de glucanes et de mannanes (polysaccharides), associés à des protéines

et à des lipides.

On cherchera à les briser pour augmenter la digestibilité.

### II . 3 . 3 Les minéraux

Ces micro-organismes sont des composés fortement minéralisés : 4,8 à 12 % du poids sec (GOLDBERG , 1985 ).

Mais il y a une grande variabilité selon les espèces et l'intérêt nutritionnel est discutable. 74 % des cendres sont constituées par des sels de phosphore. Le taux de calcium, pour les levures en particulier, est compris entre 50 et 550 mg/100 g (CHAMPAGNAT, 1974 ).

Or le rapport Ca/P dont dépend l'absorption du calcium, n'est que de 0,02 à 0,30. Donc l'excès de phosphore est un obstacle à l'utilisation du calcium contenu dans ces cellules (le rapport optimal est de 1,0 à 1,5).

Le taux en fer est généralement élevé mais variable et de bonne efficacité physiologique d'après les travaux réalisés en 1972 par SHACKLADY et GATUMEL: en introduisant 10 % de levure *Candida* dans la ration journalière de veaux, ils ont observé que le taux d'hémoglobine passait de 7,5 mg/100ml à 10,5 mg/100 ml.

Quant aux oligo-éléments et aux métaux lourds, leur absorption se fait à partir du milieu nutritionnel, proportionnellement à leur concentration dans ce milieu. Leurs taux peuvent donc facilement être contrôlés.

### III EFFICACITE ET QUALITE NUTRITIONNELLES

Malgré une qualité protidique inférieure à celle des productions animales (en partie dûe au déficit des acides aminés soufrés), les microorganismes peuvent être considérés comme faisant partie des meilleures ressources protéiques disponibles : ils sont donc aptes à satisfaire les besoins azotés d'un organisme, administrés au même taux que les aliments protidiques conventionnels.

#### III . 1 Les besoins nutritionnels en protéines

Les protéines sont nécessaires à l'élaboration, la réparation et à l'entretien de l'organisme.

Les besoins nutritionnels en protéines varient en fonction de l'âge des individus.

Le besoin en azote est estimé à 1,5 g de protéines/kg/jour soit à peu près 100 g / jour pour un adulte.

Les protéines doivent représenter 12 à 15 % de la ration alimentaire, la part des glucides étant de 55 % (soit 5 à 7 g par kg par jour ou 300 à 500 g/j) et celle des lipides de 30 % (soit 1 à 1,3 g/kg/jour ou 80 à 100 g/jour).

La FAO/OMS prévoit par ailleurs que l'apport protéique minimal est de 0,57 g de protéines par kilogramme de poids corporel et par jour pour un adulte.

L'apport protéique est non seulement important sur le plan quantitatif mais aussi sur le plan qualitatif.

La qualité des protéines est entre autre évaluée par la valeur biologique et par l'indice chimique, qui permet le calcul du déficit du facteur limitant par rapport à la protéine de référence (en général, l'ovalbumine) :

$$\text{indice chimique} = 100 - \text{déficit}$$

Les protéines de haute valeur biologique (bon équilibre en acides aminés essentiels) sont en majorité d'origine animale : oeufs, viande, poisson et lait.

Les protéines d'origine végétale (céréales, légumineuses) sont de moins bonne qualité ; ceci est dû à l'absence relative de l'un des acides aminés essentiels.

Mais on peut améliorer la valeur biologique des protéines par le phénomène de supplémentation : il consiste à associer une protéine pauvre en un acide aminé essentiel avec une protéine riche en ce même acide aminé.

### III . 2 La qualité nutritionnelle

Elle est déterminée par l'estimation de différents paramètres :

- la digestibilité D
- la valeur biologique VB
- l'utilisation protéique nette UPN
- le coefficient d'efficacité protéique CEP (animaux)
- la balance azotée (homme)
- l'indice chimique

L'OMS/FAO est à l'origine de cette normalisation.

On utilise - des méthodes in-vitro : elles permettent l'analyse des acides aminés (appréciation de la valeur nutritionnelle et de la digestibilité de la protéines).

- des méthodes in-vivo: basées sur l'étude de la croissance ou de l'entretien d'animaux de laboratoire nourris avec la protéine à étudier.

Toutefois, on évalue généralement la qualité des produits protéiques d'origine microbienne (comme dans le cas des autres "additifs" alimentaires) par des tests "d'alimentation" sur des animaux de laboratoire dont l'espèce la plus utilisée est le rat (GOLDBERG, 1985).

Au cours de cette expérimentation, on réalise une formulation sérieuse du régime alimentaire. En effet, les taux de protéines microbiennes élevés utilisés peuvent entraîner une modification de la balance nutritionnelle du régime et donc on peut aboutir à des résultats faussés .

En général, la protéine à étudier constitue la seule source d'azote, dans la ration alimentaire.

III . 2 . 1 Certaines méthodes sont basées sur les courbes de croissance. Elles permettent d'évaluer le CEP en considérant le gain de poids de rats mâles après 28 jours de régime contenant un pourcentage déterminé de la protéine à étudier, par rapport à un groupe témoin nourri par une protéine de référence : la caséine, ou souvent le blanc d'oeuf.

Le CEP est donc la proportion d'azote de la protéine éprouvée retenue, par rapport à une protéine de référence.

Ces méthodes sont définies dans les recommandations établies par le Protein Advisory Group (P.A.G.).

La méthode d'évaluation du CEP est la méthode officielle aux USA et au Canada, mais elle ne reflète pas exactement la valeur nutritive d'une protéine.

En effet, pour les animaux, l'acide aminé important lors de leur croissance est la lysine.

Pour les adultes, l'acide aminé le plus important est la méthionine.

Donc une protéine pauvre en lysine mais riche en méthionine sera une excellente protéine d'entretien mais aura un faible coefficient d'efficacité protéique.

III . 2 . 2 D'autres méthodes sont basées sur l'analyse des bilans azotés. C'est le cas pour la mesure de l'utilisation protéique nette UPN, qui permet de déterminer le contenu total en azote chez l'animal (en comparant le taux d'azote de groupes nourris par la protéine à un groupe témoin dont le régime est dépourvu en protéines).

Cette méthode tient compte des différentes formes d'excrétion de l'azote (azote urinaire, fécal).

$$\text{UPN} = \frac{\text{azote du muscle squelettique essai} - \text{azote muscle sq. témoin}}{\text{quantité d'azote ingérée par le lot essai}}$$

Mais l'utilisation protéique nette UPN peut aussi être définie par :

$$UPN = V_B \times D$$

avec  $V_B$  = la valeur biologique qui est estimée par la proportion d'azote absorbé qui est fixé dans l'organisme (azote du squelette) pour l'entretien et/ou la croissance

$$V_B = \frac{\text{azote retenu}}{\text{azote ingéré}} \% \text{ en tenant compte des pertes d'azote d'origine endogène}$$

et  $D$  = la digestibilité ou coefficient d'utilisation digestive CUD : c'est la proportion d'azote alimentaire absorbé. Elle peut être déterminée in-vitro, après hydrolyse enzymatique de la protéine (l'azote des acides aminés obtenus, étant ensuite déterminé).

III . 2 . 3 L'indice chimique permet la détermination de la teneur de l'acide aminé limitant de la protéine (ce qui "diminue" l'intérêt de cette protéine) par rapport à la teneur de ce même acide aminé de la protéine de référence (qui est souvent l'ovalbumine ou parfois un mélange d'acides aminés qui serait satisfaisant pour l'homme).

#### IV ASPECT TOXICOLOGIQUE

##### IV . 1 Introduction

Tout d'abord, il faut préciser qu'avant qu'un produit soit utilisé pour l'alimentation animale, et à fortiori pour l'alimentation de l'homme, il est essentiel de mener des séries de tests et expériences approfondies sur les animaux pour déterminer :

- la toxicologie du produit
- et - sa valeur nutritionnelle

Ces études doivent être menées conjointement.

La plupart des techniques classiques appliquées pour tester la toxicité des aliments sont mises en route dans le cas où l'on envisage d'utiliser les protéines fongiques en tant qu'additifs alimentaires , c'est-à-dire ajoutés en faible quantité dans la nourriture.

Les tests seront plus poussés quand on aura l'intention d'utiliser les protéines fongiques comme composants majoritaires dans l'alimentation (WALKER, 1975).

D'autre part, les différents renseignements concernant le substrat, le microorganisme utilisé, la technologie de préparation et l'analyse du produit final orienteront la mise en place des différents essais (FERRANDO - 1977).

Chaque produit obtenu par la culture d'un micro-organisme sur un substrat, dans des conditions bien définies est "unique" (en quelque sorte) et donc chaque produit doit obtenir un "certificat de sécurité", une "homologation".

Ces études toxicologiques sont longues, coûteuses et les tests mis en oeuvre sont généralement plus "poussés" que pour les aliments "conventionnels".

Cela n'est donc pas sans risque pour le producteur, qui doit pouvoir disposer sur de solides ressources financières. D'autre part, pour mener à bien toutes ces analyses, il faut pouvoir disposer de quantités suffisantes du produit.

Une série de recommandations pour l'étude de tels produits a été élaborée par le "Protein Advisory Group" (P.A.G.) de la FAO/WHO/UNICEF.

Cette expérimentation (nutritionnelle et toxicologique) inclut :

- des essais de toxicité à cours terme : 3 mois - pour la toxicité aigue
- des essais de toxicité à long terme : 2 ans - pour la toxicité chronique (essais réalisés pendant une durée de vie et sur plusieurs générations).
- des études tératogènes et mutagènes
- des études de la sensibilisation et de la réponse immunologique.

Ces différents tests sont de nature clinique, biochimique et histologique.

Mais en fait, tous les micro-organismes utilisés dans la production de protéines sont connus pour être non pathogènes (conclusion d'études menées avant d'envisager une éventuelle production à une plus grande échelle).

Néanmoins, il n'est pas à exclure une mutation, qui pourrait aboutir à une production de toxines ou à une variation des caractéristiques nutritionnelles d'une souche donnée, mutation qui aurait peut - être des effets néfastes pour la santé.

D'après les études, la fermentation continue à long terme a montré une remarquable stabilité des souches microbiennes cultivées. D'autre part, les variations éventuelles des procédés de production n'induisent aucune modification biologique qui indiquerait la formation d'un métabolite toxique. Il faut aussi envisager le problème d'une contamination par des organismes pathogènes, qui seraient en fait normalement détruits lors des étapes ultérieures de l'élaboration du produit fini.

Bien que les recommandations du PAG soient très restrictives, des produits ont montré un faible taux de contamination ( $< 10^5$  /g) et ne contenaient pas d'organismes "néfastes" pour la santé.

Le produit fini doit en outre être exempt de composés toxiques qui pourraient être produits par le micro-organisme. Il y a donc eu des études faites sur les métabolites potentiellement toxiques, à savoir :

- les acides nucléiques : plusieurs méthodes visent à réduire leurs taux en vue d'une alimentation humaine.
- les mycotoxines : ce sont des métabolites secondaires extrêmement toxiques, produits par de nombreux

champignons filamenteux. Chaque champignon devra donc être soumis à une analyse très minutieuse.

- les acides gras à nombre impair de carbones : bien qu'ils soient retrouvés dans certains aliments, en quantité variable, ils pourraient être cause d'effets néfastes dans les rations alimentaires des animaux (lipides des levures poussant sur des paraffines à nombre impair de carbones : C13 - C15 - C17).

La toxicité des protéines fongiques peut aussi provenir des éléments nutritifs du milieu, non utilisés. Un complément d'informations est donc nécessaire pour les ressources protéiques alimentaires non conventionnelles produites sur substrat pétrolier : les fractions d'hydrocarbures résiduels du gas-oil peuvent en effet être un risque pour la santé des animaux (surtout à cause de la présence possible de résidus carcinogènes dans le produit). En fait, cette peur est injustifiée (au moins pour certains produits dont le "Toprina", Candida lipolytica cultivée sur n-paraffines), car le substrat est hautement purifié.

Le contenu en hydrocarbures polycycliques (dont le 3-4 benzopyrène) est en effet voisin de 1 µg/kg, alors qu'il est 12 à 13 fois plus élevé chez la levure de boulangerie (levure "classique" cultivée sur des substrats conventionnels) et 10 fois plus élevé dans un morceau de viande cuit au "barbecue". (tableau - 4).

Les études réalisées sur plusieurs générations d'animaux de laboratoire (toxicité chronique, toxicité à long terme) n'ont révélé aucune réponse carcinogène ou tératogène.

Tableau 4 . Teneur en 3-4 benzopyrène de quelques aliments

(d'après FERRANDO - 1977)

Aliments	Teneur en $\mu\text{g}/\text{kg}$
Poireaux	6,60
Salade - Epinards	12
Endives	50
Café instantané	0,02 - 0,06
Céréales	0,2 - 7,5
Levures (Grangemouth)	4,3

De tous les aliments, seules les levures d'alcanes font l'objet de contrôles microbiologiques systématiques et réguliers. Ni les farines de poisson, de viande et d'os, ni celles de soja et d'autres graines ne sont soumises à une telle surveillance (FERRANDO - 1977).

Pour "illustrer" cet aspect toxicologique, on peut citer l'étude toxicologique et nutritionnelle de SHACKLADY, en 1974, sur "Toprina" : produit obtenu à partir de Candida lipolytica, sur n-paraffines ou gas-oil (production de la société British Petroleum, à Grangemouth et Laverca).

L'étude a porté sur la toxicité aiguë, la toxicité subchronique, la toxicité chronique, la carcinogénèse.

Elle a été réalisée sur des rats et des souris, sur une durée de deux ans (soit une durée de vie), dont les rations comprenaient 10, 20, 30 et 40 % de levure "Toprina". Des tests de "multigénération" ont d'autre part été menés sur des rats et des cailles japonaises (respectivement, sur 15 et 23 générations).

On a complété avec des études de tératogénèse, des études de mutagénèse, des études de sensibilisation, des études de toxicité induite (sur des cochons et des volailles nourris par la levure alcane).

#### IV . 2 Réduction des taux d'acides nucléiques

On a pu remarquer que les micro-organismes contiennent en général des taux assez élevés d'acides nucléiques, par rapport aux aliments conventionnels d'origine animale ou végétale.

Ces taux varient de 8 à 25 g/100g de protéines, celui du foie étant de 4 g.

D'après plusieurs études cliniques et les recommandations du P.A.G., la prise quotidienne de 4g d'acides nucléiques est sans danger pour un adulte. Or ce taux est bien inférieur à ceux naturellement présents dans ce type de productions (GOLDBERG - 1985).

Mais un régime contenant 20g par jour de protéines fongiques avec 8,5 % d'acides nucléiques est parfaitement toléré. Si par contre, on envisage d'utiliser plus massivement dans l'alimentation ces protéines, il faut alors réduire le contenu des acides nucléiques, ce qui a déjà fait l'objet de nombreuses publications. (MAUL et coll. - 1970).

On peut distinguer deux grands groupes de procédés : (Tabl. 5)

- ceux visant à produire lors de la culture, une biomasse qui a comme caractéristique un faible taux d'acides nucléiques.

- ceux visant à réduire le taux des acides nucléiques de la masse récoltée.

Le premier groupe de procédés représente évidemment l'idéal mais étant donné que la synthèse protéique est très fortement

**TABLEAU 5 . Procédés chimiques et enzymatiques**

**pour réduire les taux d'acides nucléiques**

(d'après LITCHFIELD - 1977 et GOLDBERG - 1985)

Procédés	Micro organismes	% final en acides nucléiques
<u>Chimiques :</u>		
précipitation acide pH 1,5	<u>Saccharomyces cerevisiae</u> <u>S. carlsbergensis</u>	< 2
hydrolyse alcaline pH 10 - 12,5	<u>Candida utilis</u> - <u>S. cerevisiae</u>	< 3
NaOH 0,12 N pendant 30 mn à 50°C	<u>Paecilomyces variotii</u>	passé de 9 % à 3 %
NaCl 5 % à 120° C	Levure de boulangerie	0
<u>Enzymatiques :</u>		
Choc thermique - incubation	<u>C. utilis</u> <u>S. cerevisiae</u>	1 - 1,5 1,0
Choc thermique . ARNase pancréatique bovine	<u>C. utilis</u>	1,5 - 2
incubation (endonucléase)	<u>C. utilis</u> <u>Kluyveromyces fragilis</u> <u>S. cerevisiae</u> <u>S. carlsbergensis</u>	2,6 2,0 2,1 3,6

liée à celle des acides nucléiques, une baisse de ces derniers risque de diminuer aussi la teneur en protéines.

Dans le deuxième groupe, on trouve des procédés chimiques et enzymatiques.

Parmi ces techniques, certaines sont chères et d'autre part difficilement applicables à un niveau industriel.

L'action d'une solution alcaline ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $\text{KOH}$  ou  $\text{NaOH}$ ) est efficace, simple et rapide et les produits obtenus peuvent être immédiatement traités.

En revanche ces méthodes sont peu spécifiques et donnent lieu à des pertes importantes de masse cellulaire car dans le surnageant, il y a non seulement les acides nucléiques, mais aussi des protéines, d'où une diminution de la valeur nutritive.

On peut aussi utiliser pour traiter la biomasse sèche, du phénol,  $\text{NH}_3$  anhydre ou du chlorure de sodium. Là encore, il y a perte d'acides aminés et de molécules de faible poids moléculaire telles que des vitamines.

Avec le chlorure de sodium, agissant sur la levure de boulangerie, la totalité des acides nucléiques est éliminée.

On a aussi vu que les parois cellulaires étaient un obstacle à la digestibilité. Donc une désintégration préalable des cellules (mécanique, enzymatique ou chimique) permettrait ensuite une extraction plus facile des ARN. On obtient alors des concentrés, isolats ou hydrolysats.

Les méthodes enzymatiques sont plus "douces" que les méthodes chimiques. Mais il faut au préalable, prétraiter les cellules pour augmenter la perméabilité des parois. Ceci augmente d'autant les coûts de production, et la perte de matière. D'autre part, les exonucléases utilisées doivent être exemptes de protéases.

On peut aussi faire agir les endonucléases, après activation par la chaleur ou traitement chimique.

Le mécanisme d'activation varierait selon les micro-organismes. Mais il y a aussi une perte de matière ; ce type de méthode est plus long et l'efficacité n'est pas "garantie" pour tous les types de micro-organismes.

Une étude comparative utilisant différentes méthodes sur une souche de Candida utilis montre qu'il n'y a pas de grosses variations dans les résultats, bien que la méthode alcaline semble plus "agressive".

Quant aux méthodes utilisant les endonucléases et les exonucléases, elles permettent de conserver le plus fort taux protéique (84 %) avec un taux final en acides nucléiques de 1 %.

Les acides nucléiques, recueillis sous forme de nucléotides plus ou moins hydrolysés, sont une matière première de valeur en thérapeutique et aussi pour la production de sauces et de condiments (CHAMPAGNAT - 1974).

#### IV . 3 Problème des mycotoxines

Ce sont surtout des champignons imparfaits (Zygomycètes, Aspergillus, Penicillium) qui produisent ces toxines métabolites secondaires sécrétés lors de l'idiophase.

Ces molécules peuvent être responsables de différentes affections soit par ingestion directe d'aliments contaminés, soit par un phénomène de relais, c'est-à-dire par ingestion de lait ou de viande d'animaux intoxiqués (Mycotoxines 1980).

Les lésions observées se situent au niveau de divers organes (foie, rein, système nerveux, coeur) selon le champignon mis en cause.

Certaines mycotoxines sont cancérigènes : les aflatoxines, qui sont responsables de cancer du foie.

**IV.3.1 Les Aflatoxines** : 17 ont été découvertes mais 4 existent en tant que contaminants naturels : B<sub>1</sub> B<sub>2</sub> G<sub>1</sub> G<sub>2</sub>

Les pourcentages varient selon la souche en cause, mais avec une prédominance de l'aflatoxine B<sub>1</sub> (Figure 1).

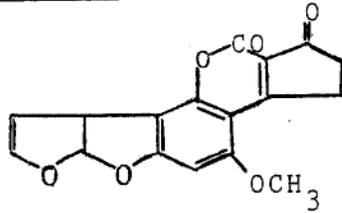
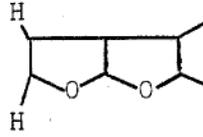
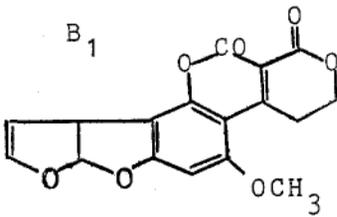
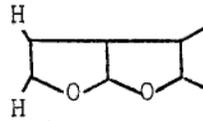
Les champignons producteurs de ces toxines sont Aspergillus flavus et Aspergillus parasiticus.

L'apparition de tels métabolites dépend des conditions de culture : humidité relative 85 % ; température minimale 12°C, optimale 27°C, maximale 40-42°C.

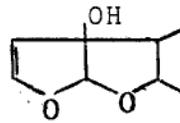
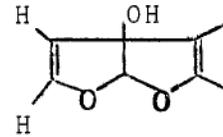
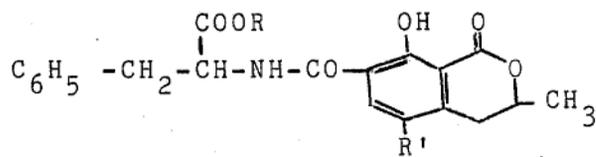
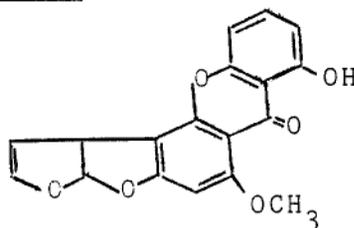
Les denrées alimentaires susceptibles d'être contaminées sont les cacahuètes, des graines oléagineuses (maïs, coton, ...), le lait, des résidus et tissus animaux (oeufs).

**Figure 1 - Principales mycotoxines**

(d'après ARNAUD et GIRAUD, 1982)

**Aflatoxines**B<sub>1</sub>B<sub>2</sub>G<sub>1</sub>G<sub>2</sub>

métabolites hydroxylés :

M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>**Ochratoxines**A R=H  
R'=ClB R=H  
R'=HC R=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>  
R'=Cl**Stérigmatocystine**

Au niveau du lait des animaux contaminés, on trouve les aflatoxines  $M_1$  et  $M_2$ , métabolites hydroxylés de  $B_1$  et  $B_2$ .

La plus toxique est l'aflatoxine  $B_1$  : la dose létale est de 0,36 mg/kg chez un caneton de 1 jour (poids 50g).

C'est aussi un très puissant agent cancérigène, 100 fois plus actif chez le rat que la diméthylnitrosamine (SPENSLEY, TOWNSEND, 1967).

L'organe cible est le foie.

L'intoxication aiguë provoque, chez les mammifères, une nécrose hépatique avec dégénérescence graisseuse.

L'intoxication chronique est responsable de cirrhoses du foie et de cancers, avec un temps de latence variable selon les animaux (rat : 1 an - singe : 5 à 10 ans).

On a observé des cas de cirrhoses chez de jeunes enfants en Inde, dues à des aflatoxines découvertes dans le lait de la mère, contaminée.

L'excrétion a lieu principalement dans les matières fécales (60 %) et les urines (20 %), aussi dans l'air expiré (traces).

La mise en évidence de tels produits se fait au niveau d'organismes habilités dont l'OMS et sur un échantillonnage important.

Les méthodes biologiques (sur caneton de 1 jour ; sur embryon de poulet ; sur bactéries) sont généralement longues, chères, peu sensibles mais plus spécifiques.

Les analyses chimiques, rapides et sensibles, sont basées sur le même principe : extraction par un solvant organique, délipidation et purification éventuellement, puis chromatographie.

Les aflatoxines ont un noyau de base, doué de fluorescence : bleue = B et verte = G, sous irradiation UV.

Les différentes méthodes sont

- méthode CB (contamination branch)
- méthode BF (best foods)
- chromatographie sur couche mince
- chromatographie liquide haute performance.

Il est possible d'appliquer des traitements de détoxification en milieu ammoniacal pour les aliments destinés au bétail, et par l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) pour l'alimentation humaine.

Une autre souche, Aspergillus versicolor, peut aussi produire une mycotoxine, la Stérigmatocystine, responsable aussi de problèmes hépatiques.

#### IV.3.2 Les Ochratoxines

Dans des conditions naturelles, on trouve l'ochratoxine A avec des traces d'ochratoxine B. Mais il y a aussi une ochratoxine C (figure 1).

Les souches responsables sont Aspergillus ochraceus et Penicillium veridicatum, qui contaminent en particulier les céréales et les grains de maïs.

Les études expérimentales ont montré une attaque rénale (néphropathie) et l'ochratoxine A est tératogène chez certaines espèces.

Chez l'homme, la néphropathie est accompagnée d'une forte diminution de la taille des reins, évoluant lentement vers la mort.

## V CONCLUSION

Les levures et champignons filamenteux présentent donc des taux intéressants de protéines, mais aussi permettent un apport vitaminique. En vue d'un usage en industrie alimentaire, le choix du micro-organisme sera aussi déterminant que le choix des matières premières et de la technologie.

Le produit obtenu par la culture devra donc faire l'objet d'études sur le plan nutritionnel autant que sur le plan toxicologique, selon les recommandations du P.A.G, comme ce fut le cas pour :

- Candida maltosa "Kaneptron", produit par Kanagafuchi
- Candida paraffinica "Viton", produit par Dainippon
- Fusarium graminearum "Mycoprotein", produit par Rank Hovis Mc Dougall Research Limited (RHM)

Dans le cas d'une utilisation pour l'alimentation humaine, des études sérieuses sur l'homme doivent être entreprises en plus des essais approfondis réalisés sur les animaux. D'où il résulte que seuls quelques produits pourront être

effectivement utilisés pour l'alimentation humaine. Aux Etats-Unis par exemple, la Food and Drug Administration (F.D.A.) a autorisé pour l'alimentation humaine :

- les cellules sèches de S. cerevisiae (levure de boulangerie)
- C. utilis (Levure Torula)
- Kluyveromyces fragilis (Levure Fragilis)
- le concentré de protéines de levure de boulangerie

En Grande-Bretagne, le Ministry of Agriculture, Fisheries and Food a autorisé des études de marché pour l'utilisation dans l'alimentation humaine de "Mycoprotein" produit par R.H.M (GOLDBERG, 1985).

De toutes façons, les produits issus de culture de micro-organismes font l'objet de toute une série de contrôles microbiologiques, beaucoup plus sévères que pour les sources protéiques traditionnelles : farines de poisson, de viande et d'os, farine de soja.

En fait, pour pouvoir rivaliser avec les autres aliments protéiques (plus "traditionnels"), les protéines doivent présenter, entre autre, des taux suffisants en acides aminés (et en particulier en acides aminés essentiels), tout en tenant compte de leur prix.

Il a déjà été démontré que, apportées dans les rations de différentes espèces animales (des rongeurs au bétail domestique) les protéines microbiennes étaient aussi "efficaces" pour la croissance (et aussi au niveau de la reproduction)

de ces animaux que les apports protéiques habituels, à savoir : farine de soja, farine de poisson, poudre de lait écrémé...

En règle générale, les protéines issues de micro-organismes (de 5 à 15 % dans les rations alimentaires) ont une valeur nutritionnelle supérieure à celle des protéines "équivalentes" du soja, et seraient intéressantes à utiliser dans certains produits alimentaires.

Nous allons aborder dans les chapitres suivants l'utilisation dans l'alimentation humaine et animale.

## C H A P I T R E   I I

## ALIMENTATION HUMAINE

- I    INTRODUCTION
  
- II    ALIMENTS ENRICHIS EN PROTEINES
  - II . 1 Tempeh, miso et autre sufu
  - II . 2 Mycoprotéine
  - II . 3 Procédé Adour-- Speichim
  
- III    LEVURES - ALIMENTS
  - III . 1 Protibel
  - III . 2 Autolysats et hydrolysats
  - III . 3 Concentrés et isolats
  - III . 4 L'utilisation des propriétés fonctionnelles
  
- IV    L'UTILISATION DES ENZYMES EN ALIMENTATION
  - IV . 1 Amylases
  - IV . 2  $\beta$  galactosidase
  - IV . 3 Invertase
  - IV . 4 Présures microbiennes
  - IV . 5 Pectinase
  - IV . 6 Glucose oxydase et catalase
  - IV . 7 Modes d'utilisation
  
- V    CHAMPIGNONS COMESTIBLES
  
- VI    CONCLUSION

## C H A P I T R E   I I

## ALIMENTATION HUMAINE

I     INTRODUCTION

On a vu que le concept d'utilisation de micro-organismes pour l'alimentation (humaine et animale) n'est pas d'aujourd'hui.

Mais cette manière de produire des protéines a semblé être la façon de résoudre la faim dans le monde. La population mondiale devrait atteindre 8 milliards d'individus dans les 20 années à venir (soit doublement de la population mondiale) (ROCHEMAN - 1986).

L'alimentation humaine est donc un des débouchés de l'utilisation des protéines microbiennes (débouché "valorisant" pour ces productions).

Les protéines microbiennes peuvent être :

- soit utilisées pour enrichir en protéines des aliments (par fermentation),
- soit utilisées telles quelles.

Il ne faut pas non plus négliger leur rôle d'additifs alimentaires, qui permet l'utilisation des propriétés fonctionnelles de ces productions protéiques.

## II LES ALIMENTS ENRICHIS EN PROTEINES

### II . 1 Tempeh, Miso et autres Sufu

On note un intérêt croissant pour ce type d'aliments, en particulier à base de soja, surtout originaires du Japon, de Chine ou d'Indonésie (SASSON, 1983).

Ces produits sont connus depuis 3000 ans en Chine et 1500 ans au Japon et en Indonésie.

Leur fabrication est depuis toujours artisanale, mais on commence à vouloir industrialiser leur production.

Parmi ces produits, on peut citer le Miso, le Tempeh ou le Sufu. Leur fabrication commence par l'élaboration du Koji : c'est une sorte de levain, qui est une source d'enzymes, sous forme d'une culture solide de différents microorganismes, suivie d'une fermentation en milieu liquide.

Le Tempeh (produit plus spécifiquement indonésien) est obtenu à partir des graines de soja inoculées par Rhizopus oligosporus et incubées 24 H à 30-38°C.

On obtient alors une sorte de "gâteau" qui peut être coupé en tranches, consommées telles quelles, rôties ou frites.

Le Miso est une pâte de soja fermenté mais peut être aussi obtenu avec du riz et du soja, de l'orge et du soja ; par exemple, le riz, après traitements préalables (trempage pendant 12 H puis bouilli) est inoculé par Aspergillus oryzae et incubé 40 à 50 H à 28-35°C (obtention du Koji)

puis mélangé à deux fois son poids de graines de soja lavées, trempées ... ayant subi le même traitement que le riz sauf l'inoculation.

La bouillie obtenue est fermentée plusieurs mois, voire plusieurs années à 25-30°C par des levures (Saccharomyces rouxii, ...) et des bactéries lactiques. Puis le produit est pasteurisé (ROCHEMAN, 1986).

Enfin le Sufu ou Tofu fermenté (le Tofu étant un lait de soja caillé en présence d'un sel de calcium ou de magnésium) est obtenu par inoculation du Tofu par des moisissures du genre Mucor ou Actinomucor, et plus rarement par des Rhizopus (Actinomucor elegans, Mucor hiemalis, Mucor silvaticus, Mucor prairi, Mucor subtilissimus, Rhizopus chinensis). Le temps de fermentation varie selon le micro-organisme utilisé. Le dernier stade est la fabrication de la saumure et la maturation.

La saumure est une bouillie de riz fermenté et salé, ou une pâte de soja fermenté additionnée d'eau salée à 5 % et d'un alcool de riz à 10° d'alcool éthylique.

La maturation dure de 1 à 12 mois selon les saumures. Le produit final ressemble fort à du fromage et son goût prononcé lui permettrait d'être consommé de la même façon.

Le résultat de ces procédés est d'une haute valeur nutritive ainsi que culinaire (tableau 6).

Au cours de la fermentation, la teneur en protéines augmente puisqu'elle est comprise entre 50 et 55 % du poids de

**Tableau 6 - VALEUR NUTRITIVE DES ALIMENTS****FERMENTES DU SOJA**

(d'après ROCHEMAN, 1986)

ALIMENT	Calories	Humidité %	Pt g	Lip g	Glu g	Ca mg	P mg	Na mg	K mg
Graines de soja	400	10,2	35,1	17,7	32	226	546	X	1 500
Tofu	33	93	3,1	1,9	1,5	114	38	4	119
Sufu	79	74,9	7,8	5	2,5	10	37	3 700	55
Miso	156	50	14	5	16,2	115	190	4 600	X
Natto	158	52,7	14,7	8,3	9,3	142	135	4 842	580
Shoyu	39	75,5	5,3	1,3	2,5	59	100	5 173	186
Tempeh*	185	62,4	20,7	9,1	5,05	170	250	X	X

\* Les chiffres du Tempeh concernent le produit fabriqué en France.  
(X non déterminé ; Pt : protéine ; Lip : lipides ; Glu : glucides)

matière sèche contre 40 à 43 % dans les graines de soja. D'autre part, les dérivés fermentés sont presque toujours plus riches en vitamines et en oligo éléments que le soja cru, en particulier le Tempeh .

De même les acides aminés essentiels sont présents et les taux sont généralement supérieurs à ceux du soja cru. Les lipides sont presque exclusivement retrouvés sous forme poly-insaturée (en particulier, acide Linoléique et acide Linoléique).

Ces aliments sont en revanche pauvres ou exempts de graisses saturées : de nombreuses études médicales ont en effet établi des relations étroites entre régimes alimentaires (surtout les graisses animales saturées) et certaines pathologies cardiovasculaires, métaboliques ou digestives.

D'autre part, il ne faut pas non plus négliger le polymorphisme de leur utilisation (ce qui facilite leur diffusion auprès des consommateurs) : solides, déshydratés, en galettes, en saucisses, en cubes (comme bases de soupes), en pâte, en crème ou liquides.

On peut les consommer tels quels, ou frits à l'huile, ou même fumés (SASSON, 1983).

En raison de leur goût prononcé, on peut aussi les utiliser comme condiments.

De plus, on peut les associer à des plats occidentaux traditionnels tels que "spaghetti-sauce tomate" ou pizzas, barbecues, salades.

Outre leur valeur nutritionnelle remarquable (source de protéines, lipides insaturés, sucres complexes, acides aminés libres permettant une absorption rapide) et les différentes possibilités pour les accommoder, il ne faut pas oublier la relative facilité de fabrication de ces produits (équipements peu coûteux et peu sophistiqués).

Ces produits mériteraient donc une diffusion plus large et pour ce faire, il faudrait les adapter aux goûts occidentaux. De nombreuses recherches (microbiologiques et biochimiques) sont réalisées aux Etats-Unis et au Japon surtout.

Des améliorations pourraient être apportées au niveau des fermentations sans altérer la qualité du produit.

Dernier avantage : selon les publications japonaises, il existerait un effet anticarcinogène des aliments fermentés du soja (vis à vis des cancers gastriques) (ROCHEMAN, 1986).

## II . 2 Autre exemple : celui de la "Mycoprotéine"

(d'après les travaux de RHM et de ICI) (EDELMAN et coll, 1984)

RHM Compagny s'intéresse à la production de protéines alimentaires à partir d'hydrates de carbone dès 1964. (Concept vieux de quelques milliers d'années).

RHM Compagny a choisi comme substrat carboné l'amidon de blé sous-produit de l'industrie de production du gluten , déjà utilisé pour ses propriétés fonctionnelles dans différents aliments (soupes, sauces et concentrés à base de viande).

Et les micro-organismes choisis furent les "micro-champignons" filamenteux : pour les propriétés nutritionnelles mais aussi organoleptiques.

Le micro-organisme va être consommé en entier (effet nutritionnel bénéfique) et ne doit pas provoquer de problèmes de toxicité ou d'allergie apparente.

Bien que la valeur nutritionnelle soit un fait important, le produit doit être "agréable au palais" mais aussi doit "donner envie d'être mangé".

La valeur nutritionnelle d'un aliment qui n'est pas mangé est nulle !

Les caractéristiques des aliments fermentés par les champignons microscopiques filamenteux sont en effet intéressantes : ces travaux ont comparé la microstructure de la "Mycoprotéine" obtenue avec celle du bifteck : et dans ces deux "matériaux", on a démontré l'alignement longitudinal des fibres structurales.

Cela implique donc "une action de mastication" et "une saveur particulière" qui en plus de la saveur et de l'aspect visuel de la nourriture, sont importants pour son attrait pour le consommateur.

De plus cette ressemblance de la texture de la "Mycoprotéine" avec celle de la viande est telle que le Meat Research Institute de Bristol, a utilisé une mycoprotéine comme référence pour des tests comparatifs sur la viande.

A partir de différents échantillons, on a isolé une souche de Penicillium notatum sur laquelle des travaux de toxicité aigue ont fourni des résultats encourageants.

De plus, le profil en acides aminés est proche de celui de la caséine et des études de croissance sur animaux ont montré que la valeur nutritionnelle était élevée.

La UPN (utilisation protéique nette) est de 70 (contre 60, en culture continue), comparable aux sources conventionnelles de protéines.

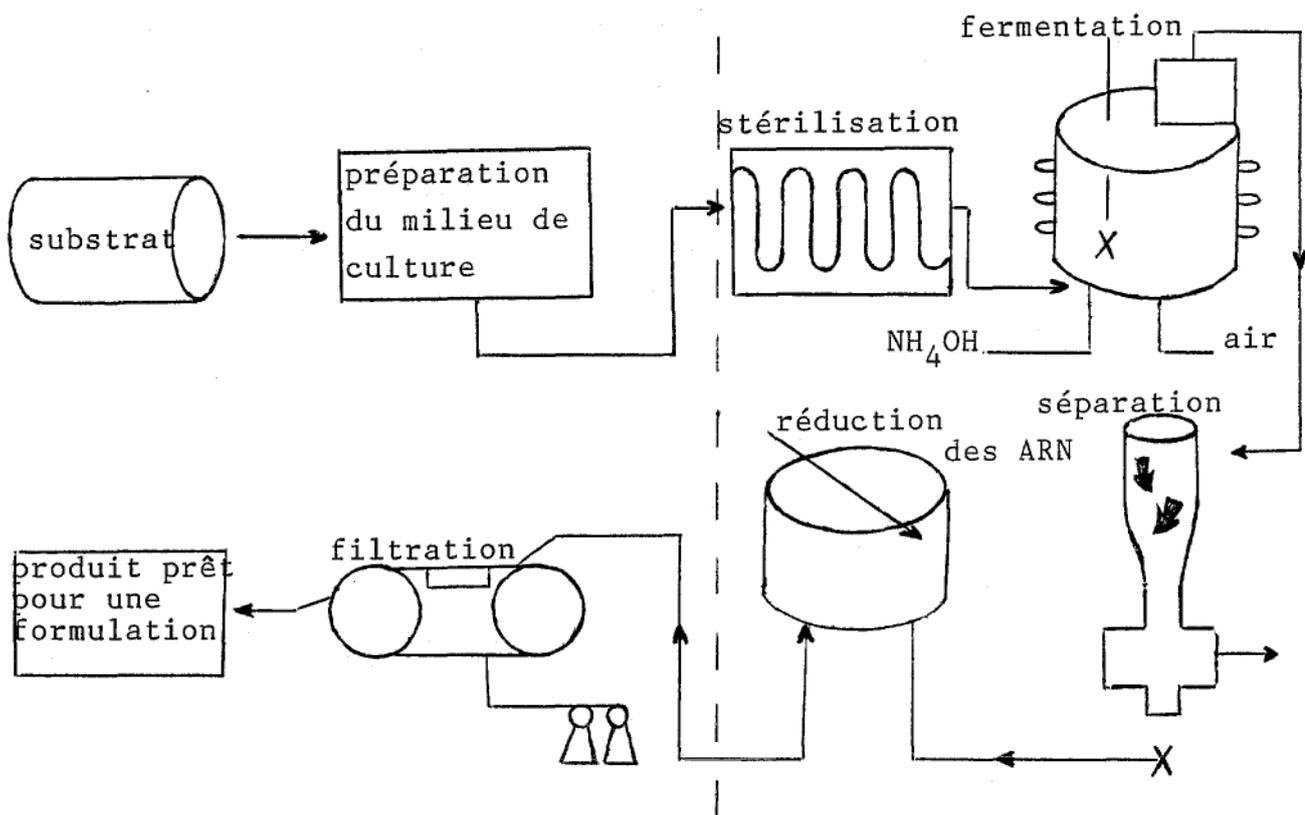
Puis des études à plus grande échelle ont été entreprises et après élimination de souches toxiques, on a retenu la souche Fusarium graminearum A 3/5.

On le cultive de façon aérobie sur un substrat carboné contenant des substances essentielles pour la croissance (phosphate d'ammonium, potassium, magnésium, fer, manganèse, cuivre, calcium et sels de cobalt) et limité en glucose (figure 2).

Mais il devra subir un choc thermique (65°C) pour détruire les ARN cellulaires (à l'origine de nucléotides monomères qui diffusent de la cellule) pour répondre aux exigences du PAG sur les protéines destinées à l'alimentation humaine et dérivées des micro-organismes (le taux en ARN devant être inférieur à 2 % en poids sec).

La "Mycoprotéine" récoltée a une couleur jaune clair avec une légère odeur de champignon.

**Figure 2 : schéma de la production de la Mycoprotéine**  
 (d'après EDELMAN, FEWELL, SOLOMONS -1984 )



Etapes de la fabrication  
nécessitant un milieu stérile

Elle subit une filtration sous vide puis une pasteurisation avant d'être transformée en produits alimentaires avec addition "d'ingrédients" tels que condiments et liants.

Le produit obtenu renferme 45 % de protéines (en poids sec), la méthionine et la cystéine représentant 3 % (Tabl. 7).

La digestibilité après expérimentation sur animaux de laboratoire est de 93 % (GOLDBERG - 1985).

Au départ, le "matériel" était transformé en une poudre sèche pour sa retransformation éventuelle.

Mais il est préférable de le transformer tout de suite en produits texturés pour garder la structure fibreuse intacte. En raison de sa "ressemblance" avec la viande, on peut utiliser le même équipement que celui de l'industrie de transformation de la viande.

Les produits à base de "Mycoprotéine " peuvent être congelés en vue d'une conservation longue (pas de problème lors de la décongélation du produit).

Ils ont de plus un "bon comportement" à la cuisson.

La "Mycoprotéine" et sa texture fibreuse en font donc une excellente base pour la formulation des produits analogues de la viande, en particulier de la viande blanche. Les produits obtenus sont parait-il, difficilement différenciés de la nourriture "naturelle" .

Les condiments et les colorants sont facilement absorbés par la paroi cellulaire et ne "filtrent" pas à la cuisson (comme c'est le cas pour les analogues à base de soja).

Tableau 7 : COMPOSITION COMPARATIVE ENTRE

LA "MYCOPROTEINE" ET DE LA VIANDE MAIGRE

(exprimée en %, par rapport au poids sec)

(d'après EDELMAN, FEWELL, SOLOMONS, 1984)

	"Mycoprotéine"	Viande
Protéines	44,3	68,2
Acides ribonucléiques	1,1	traces
Lipides	13,8	30,2
Cendres	3,1	1,6
Fibres et hydrates de carbone	37,6	0

On a donc réalisé des "analogues" de poulet, de jambon et de porc, qui ont ensuite été incorporés dans des pâtés (et autres préparations).

En fait, il n'y a pas que la valeur nutritionnelle qui importe pour le consommateur : il y a aussi l'aspect, la saveur, le goût et la texture de l'aliment.

La "Mycoprotéine" peut satisfaire à ces différentes exigences et donc peut se substituer à un composant majeur ou compléter un régime (plutôt que d'être utilisée comme un simple ingrédient).

Le consommateur est, enfin, le dernier obstacle à surmonter pour faire de la "Mycoprotéine" une nouvelle source protéique alimentaire.

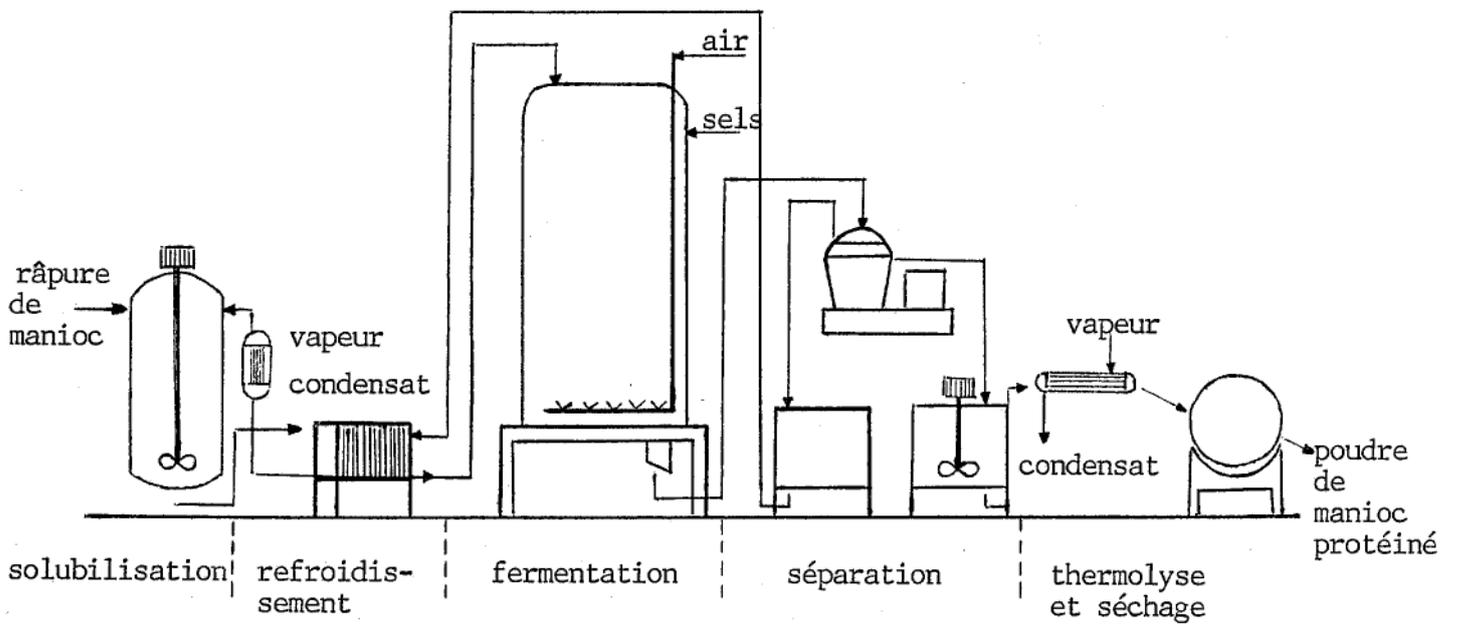
### II . 3 Le procédé mis au point par ADOUR-SPEICHIM

La fermentation qui a lieu en milieu liquide, a pour but l'enrichissement en matières azotées des racines de manioc naturellement riches en amidon (20 à 30 %) mais pauvres en protéines (figure 3). La variété de levure sélectionnée, Candida tropicalis, contient une amylase (ce qui évite l'hydrolyse préalable de l'amidon). On obtient en fin de parcours, un produit amylicé enrichi en protéines, contenant 50 % d'amidon et 20 % de protéines (taux protéique le plus courant dans les rations alimentaires animales) (CARANTINO - 1983).

Mais le produit n'ayant pas abouti pour l'alimentation animale, Speichim se tourne vers l'alimentation humaine, ce qui vise à augmenter la valeur ajoutée des produits.

**Figure 3 : PROCÉDE ADOUR - SPEICHIM**

(d'après CARANTINO, 1983)



Des produits sont mis au point, conformes aux goûts et aux habitudes alimentaires des populations dont le manioc constitue une part importante de l'alimentation.

Ce procédé peut d'autre part être utilisé avec d'autres matières premières amylacées, ce qui pourrait intéresser des pays en voie de développement.

### **III LES LEVURES ALIMENTS**

Les levures sont les micro-organismes les plus connus, très étudiés et elles sont rarement toxiques ou pathogènes. De plus, elles sont assez bien tolérées.

Pour être classées dans la catégorie "Levures-aliments", ces produits doivent répondre strictement aux critères définis par la législation.

Elles doivent avoir perdu leur pouvoir fermentaire (par des traitements appropriés) et ne doivent avoir subi aucun ajout ou extraction.

D'autre part, toute levure destinée à l'homme doit renfermer au minimum 49 % de protéines (BORD - 1984).

Au cours de la purification, on élimine toutes les caractéristiques du produit original de façon à obtenir une poudre incolore, inodore et sans saveur (RIVIERE - 1975).

Mais l'un des problèmes des levures aliments est la présence d'acides nucléiques (4 à 10 %), qui pose des problèmes chez l'homme (car il n'a pas d'uricase).

Il ne faudrait donc pas dépasser 20 à 30 grammes de levures aliments par jour, pour un homme adulte (CHAMPAGNAT - 1974).

. Réduction du taux d'acides nucléiques

Il y a plusieurs méthodes envisageables :

- l'hydrolyse alcaline (soude) : il y a destruction de l'ARN des cellules. Les protéines sont ensuite extraites (mais la valeur nutritive est diminuée).

- l'extraction de l'ARN par une solution chaude de NaCl 10 % : pour une extraction efficace, les cellules préalablement broyées, sont placées en milieu salé, à pH 9,5. Puis on utilise l'action de la chaleur : il y a alors précipitation des protéines. Le taux d'acides nucléiques est inférieur à 2 %.

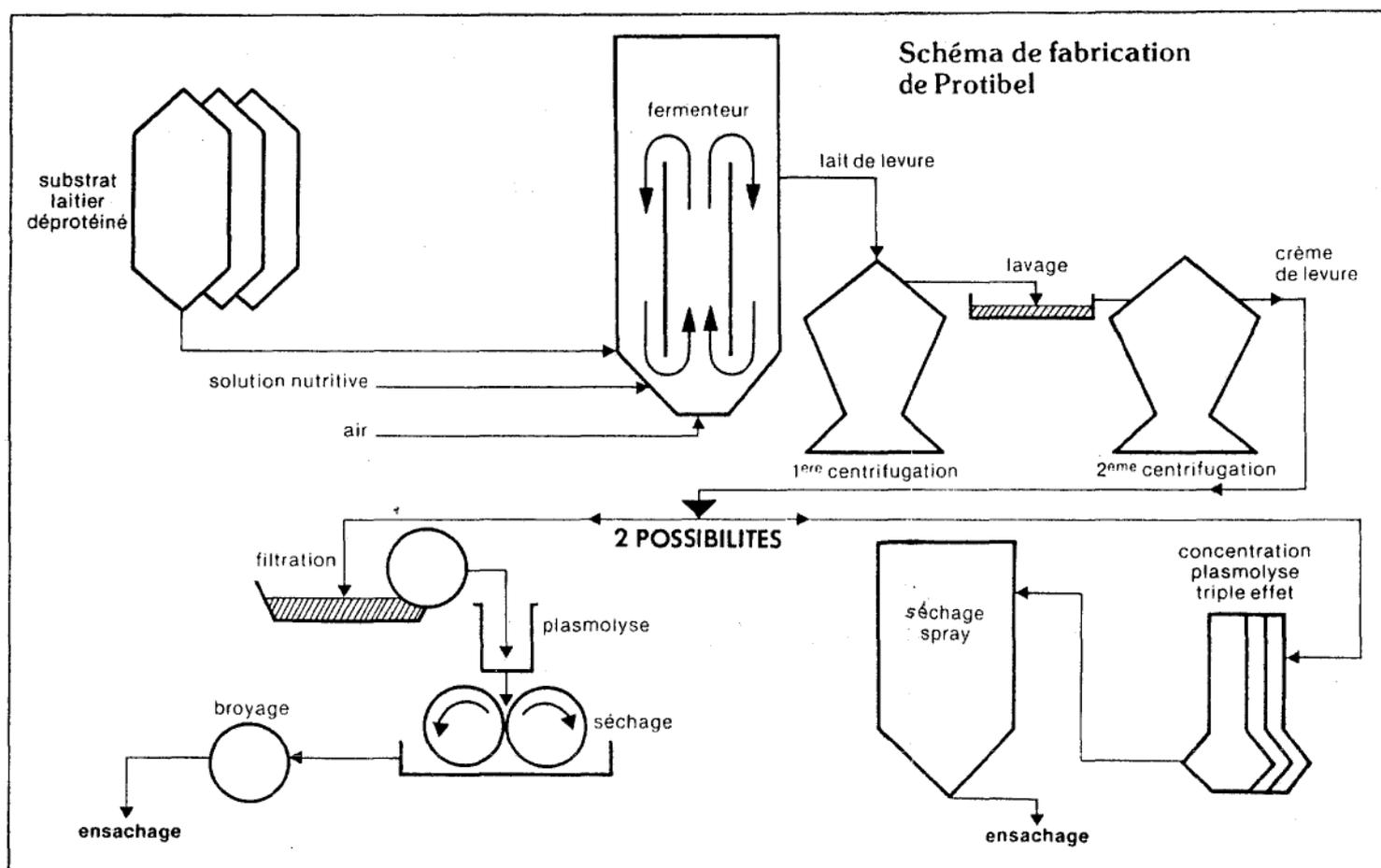
- enfin on peut réaliser des chocs thermiques, dans le but de faire agir les endoenzymes : la teneur en acides nucléiques passe ainsi de 7 à 1 % en poids sec (RIVIERE - 1975).

On a vu d'autre part que le calcium contenu dans ces microorganismes n'avait pas beaucoup d'intérêt (excès considérable de phosphore).

Mais les levures aliments sont très intéressantes au point de vue vitaminique : au taux proposé pour l'alimentation humaine, elles apportent 30 à 60 % des quantités de vitamines nécessaires à l'adolescent, à l'enfant ou à l'adulte (sauf pour la vitamine B12).

**Figure 4 : SCHEMA DE FABRICATION DE PROTIBEL**

(d'après BEL industries, 1978)



Elles sont aussi riches en lysine (apport correspondant à 60 g de viande.

### III . 1 Protibel

C'est une levure lactique sèche cultivée sur un substrat de lactose par les industries BEL (figure 4 ).

Le lactosérum, issu de la fabrication du fromage est un sous-produit, et même un déchet, riche en protéines. Après déprotéinisation de ce lactosérum, on cultive des levures alimentaires sur un substrat contenant du lactose, des vitamines et la plupart des sels minéraux du lait.

Le procédé de production est assez simple: après fermentation les levures sont centrifugées deux fois: on obtient une "crème de levure" qui est lavée.

On la soumet à une plasmolyse qui brise les cellules, et qui améliore la digestibilité.

Puis le produit est séché par atomisation ou sur rouleaux.

Le rendement est de 55%, soit 55 g de matière levure sèche pour 100 g de lactose.

La teneur garantie en protéines est de 50 % et la répartition des acides aminés est proche de celle des protéines animales (tableau 8 ).

On trouve aussi dans la composition biochimique 30 % de sucres et 6,8 % de corps gras. Il y a également des minéraux essentiels et des vitamines: en particulier celles du groupe B, avec des taux de 1,3 à 1,8 mg/100g pour la vitamine B<sub>1</sub> et de 3,5 à 6,0 mg/100g pour la vitamine B<sub>2</sub>.

**Tableau 8 : COMPOSITION DU "PROTIBEL"**

valeurs moyennes pour 100 g de produit

(d'après BEL INDUSTRIES - 1978)

	%	% d'utilisation métabolique
Humidité	4,5	
Protéines dont	50	84
ARN - ADN	6	90
Lipides totaux	6	90
Glucides	30,32	80
Minéraux	8,10	90
Vitamines groupe B	0,07	100
Vitamine C	0,00065	100

Il y a de la vitamine C (65 à 75 mg/100g), qui n'est pas présente chez les autres micro-organismes. Le taux de vitamine E est de 4 à 5 mg/100 g de "Protibel".

Le "Protibel" existe sous trois formes :

- une poudre ultrafine
- en petits flocons : pour la fabrication de comprimés ou de granulés
- en paillettes : pour une utilisation directe.

30 à 40 % de cette production est utilisée pour l'alimentation humaine : dans divers aliments (biscuits secs type crackers, soupes, pâtés, aliments pour nourrissons, boissons, produits laitiers, assaisonnements, petits déjeuners équilibrés, ...), afin d'en améliorer la valeur nutritive. Sous forme de suspension ou de poudre ajoutée à la nourriture, on peut l'utiliser directement.

Ce produit peut jouer un rôle décisif dans la lutte contre la malnutrition, selon l'expérience de plusieurs organisations de lutte contre la faim, qui ont utilisé des taux de 20 g/jour chez les enfants.

La levure est mélangée aux farines locales (manioc ou sorgho). Sa saveur neutre, non amère et son origine lactique la rendent agréable au goût et parfaitement digestible.

Quant au stockage, le "Protibel" n'est pas détérioré par la chaleur ou l'humidité, et au bout de six mois, la perte en vitamines B et C ne dépasse pas 10 % (BEL Industrie - 1979).

### III . 2 Autolysats et hydrolysats

Outre leur teneur assez élevée en acides nucléiques, qu'il faudra réduire par des traitements appropriés, on est également amené à "éliminer" les parois cellulaires pour améliorer la digestibilité.

Pour "casser" les cellules microbiennes, on peut avoir recours à des moyens mécaniques:

- l'action de billes de verre
- l'usage des ultrasons
- le passage d'une suspension cellulaire dans des filières étroites sous une forte pression.

Pour les levures, on a utilisé des méthodes enzymatiques:

- l'autolyse, qui fait intervenir les endo-enzymes des cellules pour détruire leur propre paroi, la fraction soluble étant recueillie par centrifugation.

Cette autolyse des levures donne des polypeptides solubles dans l'eau, de saveur proche de celle du consommé de viande. La solution limpide après centrifugation, peut être conservée et séchée par atomisation mais la conservation est difficile car cette poudre est hygroscopique (CHAMPAGNAT, 1974 ).

Cette technique est parfois longue et surtout coûteuse.

- l'hydrolyse: elle peut être effectuée par une enzyme protéolytique.

L'hydrolyse en milieu acide ou alcalin, ou même un traitement par solvant permet la lyse de nombreuses cellules,

mais cela doit être parfaitement contrôlé pour éviter toute destruction des protéines du contenu cellulaire ( LITCHFIELD, 1977 ).

L'hydrolyse acide, par exemple, aboutit à des produits de saveur excellente mais le tryptophane est détruit, d'où une diminution de la valeur nutritive.

Le retour à un pH neutre donne un sel qui sera utilisé comme condiment ( conservation ).

### III . 3 Concentrés et isolats de protéines fongiques

La plupart des procédés employés font appel à la précipitation des protéines au point iso-électrique, après broyage des cellules et solubilisation des protéines en milieu alcalin.

Les protéines recueillies sont lavées puis séchées: on obtient une poudre blanche, non hygroscopique, qui contient 95 % de protéines ( ceci à partir de levures ), pratiquement substituable à la caséine pour l'alimentation humaine directe ( CHAMPAGNAT, 1974 ).

Les protéines texturées, dont la valeur gustative est plus élevée que pour les aliments amorphes, sont préparées à partir d'isolats de protéines ( contenant au moins 80 % de protéines), qui sont "filés" à l'état de pâte aqueuse à travers des filières.

Les filaments obtenus sont alors coagulés par passage dans un bain acide ou salin, pour former les produits de protéines texturées.

Les espaces vides seront alors remplis par des protéines moins pures ou de plus faible poids moléculaire.

Après addition de divers liants et arômes (saveur de la viande, du poulet, du jambon, ...), le produit sec peut se présenter sous forme de tranches, fragments, granulés, cubes. La réhydratation sera nécessaire avant consommation.

Mais ces techniques sont chères, ce qui augmente d'autant le prix de la masse cellulaire (diminution de la compétitivité de ces produits).

### III. 4 L'UTILISATION DES PROPRIETES FONCTIONNELLES

Les différentes propriétés physicochimiques des concentrés protéiques sont intéressantes.

Les levures en particulier, sont utilisées dans l'industrie alimentaire comme exhausteur de goût pour les sauces et les potages ; pour leur pouvoir de rétention d'eau et de gras en charcuterie ou pour leur effet régulateur de la force des farines, ces dernières résistent alors mieux au pétrissage (MALIGE - 1984).

On a testé l'incorporation de "Protibel (jusqu'à 2%) dans des produits à base de viande (type pâtés) ce qui a deux avantages :

- l'amélioration des caractéristiques organoleptiques du produit (texture et goût).

- un rôle exhausteur d'arôme au même titre que n'importe quel agent de sapidité (car le "Protibel" contient en synergie 7 % d'acides nucléiques et 3 % de glutamate) (BEL Industrie - 1986).

Parmi les autres propriétés physicochimiques, on peut citer :

- l'effet de stabilisation d'émulsion
- la "dispersibilité"
- l'aptitude à la formation d'un gel (gélification)
- la capacité à "mousser" (aération)
- l'épaississement
- support de fixation de substances d'assaisonnement :  
saveur de lard fumé, jambon, ... (TRUCHOT, 1979).

Il y aurait possibilité de développer les propriétés fonctionnelles des protéines par traitement chimique tel que l'acétylation ou la succinylation (LITCHFIELD - 1977 ; BORD 1984).

#### IV L'UTILISATION DES ENZYMES FONGIQUES EN ALIMENTATION

80 % des protéines (en particulier chez les levures) sont de nature enzymatique.

Et pour un grand nombre de ces enzymes, leur production est souvent induite par le substrat sur lequel elles agissent (cas de la  $\beta$  galactosidase et du lactose). D'autre part, la production peut parfois être limitée dans le temps et les enzymes n'apparaissent pas toutes au même stade de la croissance.

D'où le grand soin accordé à la mise au point des conditions de culture : on utilise généralement des milieux synthétiques permettant de déterminer ce qui est indispensable à la production de l'enzyme recherchée.

Ces enzymes sont donc considérées comme des produits de fermentation. Certaines sont exocellulaires (elles diffusent à l'extérieur des cellules) mais d'autres sont endocellulaires et difficiles à obtenir car il faut désintégrer au préalable les cellules qui les contiennent avant de les extraire. (cas de l'invertase) (tabl. 8).

L'addition de tensioactifs (agents non ioniques tels que le Tween 80) augmente le rendement de nombreuses enzymes. Le mécanisme est inconnu (peut-être y-a-t-il modification de la perméabilité cellulaire ?).

Comme la quantité d'enzymes liées aux cellules reste constante par suite du rétro-contrôle, le fait qu'elles puissent diffuser dans le milieu, hors des cellules, explique une biosynthèse accrue (RIVIERE - 1975).

#### IV . 1 Les amylases

C'est en fait un mélange de trois enzymes en proportions variables selon les souches (Bacillus et Aspergillus) :

- L'alpha-amylase : elle agit sur l'amidon, en produisant des dextrines et du maltose

- L'amyloglucosidase : à partir de l'amidon, production de glucose

- La maltase : qui réalise l'hydrolyse du maltose en glucose

**Tableau 9 : ENZYMES INDUSTRIELLES ET LEURS UTILISATIONS**

(d'après RAUGEL - 1984)

Enzymes microbiennes	Utilisations
Alpha-amylase	sirop de glucose - jus de fruits brasseries
Amylase fongique	sirop de glucose - boulangerie pâtisseries
Amyloglucosidase	sirop de glucose - brasseries
Présure microbienne	fromage
Pectinases	jus de fruits (raisin, pomme,...)
Invertase	pâtisseries - sucre inverti
Glucose oxydase	oeufs
Lactase	lactosérum - lait

Les amylases fongiques (extraites d'Aspergillus niger et d'Aspergillus oryzae) servent à hydrolyser l'amidon en sucres fermentescibles (distillerie).

En brasserie, ces amylases permettent d'obtenir des bières sans dextrines dites "bières à basses calories".

En boulangerie, l'addition d'un peu d'amylases dans la farine augmente la production de gaz carbonique, après la fermentation, et conduit à l'obtention d'un pain plus aéré.

#### IV . 2 La $\beta$ galactosidase (lactase)

On l'extrait à partir de levures (Saccharomyces fragilis, Candida pseudotropicalis) cultivées sur du lactosérum déprotéiné.

Elle permet d'éviter lors de la fabrication de crèmes glacées, que le lactose ne cristallise (quand sa concentration est trop élevée) et rende la dégustation du produit fini désagréable, comme s'il contenait du sable fin.

#### IV . 3 L'invertase

C'est une enzyme endocellulaire, obtenue à partir de culture de levure de bière (S. cerevisiae, Saccharomyces carlsbergensis) sur un milieu à base de saccharose.

On laisse s'autolyser les cellules en présence de toluène pour libérer l'invertase qui est précipitée après adsorption à l'aide de solvants.

On peut aussi sécher les cellules après un début d'autolyse. Cette enzyme réalise l'hydrolyse du saccharose en glucose et fructose, plus solubles que le saccharose, ce qui permet en confiserie de faire des bonbons dont la partie centrale reste liquide.

Cette invertase sert également à fabriquer le miel artificiel.

#### IV. 4 Les présures microbiennes

La coagulation du lait est obtenue avec de la présure, extraite de caillette de veaux non sevrés. La présure est une protéase, mélange de chymosine et de pepsine, utilisée lors de la fabrication du fromage (SARGEANT - 1984).

Mais du fait d'une diminution de production, on a essayé de préparer des enzymes équivalentes d'origine microbienne ayant la même réaction.

Les moisissures utilisables sont précisées dans une circulaire ministérielle (20 Janvier 1981) :

- Endothia parasitica : moisissure parasite du chataignier
- Mucor pusillus Lindt : moisissure mésophile du sol
- Mucor miehei : moisissure thermophile du sol.

Elles doivent répondre à différents critères : pureté (absence de mycotoxines, ...) et identification (GOURSAUD - 1982).

La circulaire précise aussi leurs conditions d'emploi en fromagerie :

- le mélange d'enzymes coagulants d'origine fongique avec la présure ou ses dérivés est interdit.

- seuls les fromages au lait de vache peuvent être coagulés par ces préparations.

- les fromages à appellation d'origine sont obligatoirement coagulés par la présure.

Actuellement la moitié de la production mondiale de fromages utilise des présures microbiennes d'origine fongique dont : "Fromase" (de Rapidase, France) ; "Hannilase" (Hansen, Danemark) ; "Marzyme" (Marschall, Etats-Unis) ; "Rennilase" (Novo industri, Danemark).

#### IV . 5 Les pectinases

D'origine fongique, elles proviennent de la culture d'Aspergillus et de Penicillium, sur mélasses de betteraves (pectines).

L'extraction d'un mélange d'enzymes (pectine estérase, polygalacturonase, polyméthylgalacturonase) se fait par l'eau chaude après broyage et séchage du mycélium.

Elles réalisent la clarification des jus de fruits, en permettant une filtration efficace après précipitation des matières pectiques.

On peut ainsi concentrer des jus de fruits et les réfrigérer sans qu'ils se prennent en masse.

#### IV . 6 La glucose oxydase et la catalase

Produites par divers champignons (A. niger, Penicillium notatum), on les utilise pour éliminer le glucose de certains produits alimentaires préparés sous forme de poudre (en particulier la poudre d'oeuf), pour éviter le brunissement.

#### IV . 7 Les modes d'utilisation des enzymes microbiennes

Les enzymes dans l'industrie alimentaire, ont deux types d'utilisation :

- agent de transformation ou d'élaboration ("catalyseur") : le composé ou la préparation obtenue est destiné à une autre industrie ou un autre procédé.

- additif alimentaire : l'enzyme est alors introduite dans le produit alimentaire.

La production et l'utilisation des enzymes sont soumises à une réglementation, plus précise et plus stricte dans le deuxième cas que dans le premier.

Les enzymes purifiées sont onéreuses : on a eu l'idée de les récupérer après les avoir fixées sur un support solide d'une manière comparable à la cytolocalisation de nombreuses enzymes sur la membrane cytoplasmique.

Parmi les procédés d'insolubilisation, on peut utiliser :

- l'absorption sur des supports (résines ; argiles ; verre poreux ),

- l'inclusion dans les mailles d'un gel (gel de polyacrylamide),
- la réalisation d'une liaison covalente enzyme - polymère (hydrazide de la carboxyméthylcellulose),
- la réalisation d'une liaison covalente de l'enzyme avec elle-même à l'aide d'un agent bifonctionnel (glutaraldéhyde),
- l'emploi d'une membrane ultrafiltrante retenant l'enzyme qui peut être soluble.

Ces enzymes immobilisées sont stables, résistent plus facilement aux variations des conditions du milieu, et peuvent être utilisées en continu en automatisant le processus. Mais elles sont onéreuses. De plus leur durabilité est limitée et leurs performances parfois médiocres (du fait des empêchements stériques) (RIVIERE - 1975).

Les progrès dans ce domaine d'application, proviendront de la sélection des souches (amélioration du rendement et de la productivité ; les caractéristiques de la souche conditionnent l'ensemble du procédé biotechnologique) ; de l'amélioration des souches (par mutation et génie génétique : modification de la perméabilité des enveloppes cellulaires), de la meilleure connaissance des souches (physiologie des micro-organismes), qui devraient permettre d'adapter la production aux besoins spécifiques du marché.

D'autre part, il serait souhaitable de constituer des banques de souches à caractéristiques technologiques et au mode

d'utilisation définis, accessibles aux industriels. Il existe déjà différents lieux de collection de souches. Une évolution de la réglementation serait aussi nécessaire : une nouvelle enzyme ou une nouvelle application des enzymes doit "faire ses preuves" avant d'être reconnue et utilisée (LEVEAU - 1984 ; RAUGEL - 1984).

## V LES CHAMPIGNONS "COMESTIBLES"

L'emploi des champignons dans l'alimentation humaine est une pratique fort ancienne et largement répandue parmi les populations les plus diverses.

Mais la cueillette laisse une part importante au hasard. C'est pourquoi l'homme a essayé de domestiquer les champignons, souvent par des méthodes empiriques mais depuis quelques années, des progrès ont été réalisés dans les connaissances scientifiques sur les champignons (biologie, substrats, populations microbiennes, ...).

Au niveau de la production mondiale industrielle, on peut citer cinq espèces :

- le champignon de couche (1,2 million tonnes/an),
- le shii - take,
- la flammuline,
- la volvaire,
- la pleurote.

On a observé aux Etats-Unis, une augmentation dans la demande des champignons frais.

Des progrès, qui ont surtout été réalisés grâce aux manipulations du génome et aux techniques d'hybridation ont permis d'améliorer le rendement économique mais aussi les capacités à coloniser différents substrats : comme les micro-organismes fongiques, les champignons "comestibles" permettent la valorisation des déchets de l'agriculture ou de l'industrie agro-alimentaire (déchets lignocellulosiques tels que les pailles de céréales, les feuilles diverses, bagasse, papiers, ...).

Des recherches, sur les espèces mycorhiziennes, permettront de développer des espèces en voie de disparition ou qui s'épuisent : par exemple pour la truffe noire, le contrôle de l'association du champignon avec son hôte végétal a permis de produire des plants mycorhizés, qui ont été cultivés et ont permis ainsi de mieux cerner les données phytotechniques (OLIVIER - 1987).

D'autres ont visé :

- à améliorer des espèces : Pleurotus ostréatus, Pleurotus pulmonarius,  
Pleurotus eryngii
- à en domestiquer : Agaricus arvensis,  
Lepiota naucina, Rhodopaxillus nudus.
- à adapter aux conditions d'environnement ou de substrats (par exemple en France) le Shii-take (Lentinus edodes).

Malgré leur faible teneur en protéines (1 à 4 %), les champignons ont une place à part dans l'alimentation en raison de leurs caractères organoleptiques.

Ils sont considérés comme condiments, assaisonnement, compléments, voire éléments de décoration plutôt qu'aliments.

Si dans certains pays, les champignons ont une image de produits de luxe, de grande valeur, il ne faut pas négliger leur rôle (pour les volvaires ou les pleurotes cultivées sur paille de riz) dans l'alimentation de populations de zones défavorisées.

Outre la persistance et le développement de la consommation du champignon de couche (Agaricus bisporus), on observe l'apparition sur le marché d'espèces nouvellement domestiquées telles que les Pleurotes ou des espèces asiatiques : le shii-take (L. edades), la volvaire (Volvaria volvacea), la pholiote nameko, des auriculaires et des tremelles.

Parallèlement, la redécouverte d'espèces oubliées : la pholiote du peuplier (Agrocybe aegerita), le pied bleu (Lepista nuda), le coprin chevelu (Coprinus comatus) ; est dûe à la mise au point de leur culture après différents travaux de recherche. L'augmentation de la consommation s'accompagne d'une diversification semblable à celle qui s'est produite pour les fruits.

## VI CONCLUSION

L'essor des P.O.U. en qui les premières publications voyaient une solution à la faim dans le monde, n'a finalement pas eu lieu pour différentes raisons : intérêts économiques et politiques, handicap psychologique de ces productions, hausse des prix du pétrole et compétition avec le soja.

Mais la croissance démographique, l'uniformisation des modèles de consommation, l'élévation du niveau de vie ne feront qu'augmenter le déficit protéique. La production traditionnelle ne pourra pas suivre. L'avenir des protéines fongiques sera peut-être assurée par leurs capacités à se substituer aux sources habituelles de protéines.

Actuellement, l'emploi des protéines fongiques en tant que constituant majoritaire de l'alimentation reste limité et c'est surtout comme additifs alimentaires, grâce à leurs propriétés fonctionnelles et enzymatiques, qu'ils entrent dans la composition d'aliments. Mais les protéines de levures et de champignons peuvent aussi être utilisées favorablement dans l'élaboration de produits hypolipidiques ou hyperprotéinés : aliments du sportif, de l'effort ; aliments reconstituants pour convalescents ; préparations pour l'alimentation infantile ; succédanés de viande à base de protéines texturées.

Il faudrait aussi adapter ces productions au goût des populations concernées et alors, des petites unités, fonctionnant avec des matières premières locales abondantes et une technologie simple peuvent être une solution pour réduire, dans certaines zones défavorisées, le déficit protéique à l'origine du kwashiorkor.

**C H A P I T R E     I I I****ALIMENTATION ANIMALE****I     INTRODUCTION****II    PROCEDES**

**II . 1    Procédé IRCHA-ORSTOM**

**II . 2    Procédé PEKILO**

**II . 3    Procédé SYMBA -CHEMAP**

**II . 4    Protibel**

**II . 5    Procédé I.F.P.**

**III    CONCLUSION**

## C H A P I T R E     I I I

## ALIMENTATION ANIMALE

I     INTRODUCTION

C'est le principal débouché pour les protéines fongiques.

Elles peuvent éventuellement remplacer dans les rations, les tourteaux de soja, la farine de poisson ou le lactosérum. Mais plusieurs études sont là aussi nécessaires pour mettre en évidence l'intérêt de leur utilisation :

- évaluation des risques de toxicité : pour l'animal et éventuellement, ensuite chez l'homme
- évaluation de la valeur nutritive.

Il faut aussi aborder le problème de leur intérêt économique. De même que pour l'alimentation humaine, on peut soit ajouter les protéines fongiques pour compléter la ration des animaux, soit utiliser la propriété des micro-organismes de croître sur un substrat carboné solide et ainsi obtenir des aliments enrichis en protéines.

L'alimentation protéique animale nécessitait 13 à 15 millions de tonnes dans les années 1974-1975, en protéines d'origine végétale, pour la plupart fournies par le soja, surtout importé d'Amérique du Nord et du Sud.

Or le prix du soja ayant augmenté, de même que ceux d'autres sources protéiques (telles que la farine de poisson), l'ali-

**Tableau 10 : RENDEMENT JOURNALIER EN PROTEINES SYNTHETISEES**

**PAR DIVERS ORGANISMES VIVANTS**

(d'après RIVIERE - 1975)

organisme (1000 kg)	protéine produite par jour en kg	rendement journalier en %
Boeuf	1	0,1
Soja	10	1
Levures	$10^5$	$10^4$
Bactéries	$10^{11}$	$10^{10}$

mentation des animaux d'élevage était fort coûteuse et d'autre part en augmentation constante.

Par ailleurs, la rentabilité est loin d'être satisfaisante : en effet, un poulet de chair produit au bout de 2 mois environ 2 kg de viande, en consommant 8,4 kg de protéines végétales. Un boeuf de 500 kg produit 400 à 500 g de protéines en 24 h. Durant le même laps de temps, un poids équivalent de levure (500 kg) produit quatre-vingts tonnes de protéines (représentant 40 à 50 % de la biomasse totale) (Tabl. 10).

Il était donc intéressant de chercher un autre produit qui pourrait se substituer aux farines de poisson et au lait en poudre, pour l'alimentation des porcs, de la volaille et dans une moindre mesure des veaux. Il pourrait également servir à l'élevage des poissons et comme ingrédient dans les aliments pour chiens et chats.

Les protéines issues d'organismes unicellulaires présentaient, en plus de leurs intérêts nutritionnels, vérifiés par de nombreux essais, l'avantage d'une composition constante : donc la reproductibilité des produits industriels et non la composition variable des denrées agricoles (Tabl. 11).

L'ingestion de ces protéines ne provoquait pas d'effets secondaires chez les animaux et elles pourraient donc compléter parfaitement une ration alimentaire d'élevage à base de céréales (SASSON - 1983).

Une enquête réalisée en 1985, pour le Bulletin-fédération internationale de laiterie, auprès de producteurs de 18

**Tableau 11 - CARACTERISTIQUES DE PRODUCTION SUR DIFFERENTS SUBSTRATS - COMPOSITIONS COMPAREES**

(d'après  
S. CARANTINO - 1983)

	Poudre de lactosérum spray	Lactosérum Kluyveromyces fragilis BEL Protibel	Mariocprotéiné sec Candida tropicalis DOOR SPEICHM	Marioc. Aspergillus fumigatus Université GUELH	AFEP Marioc Aspergillus niger IRCHA. ORSTOM	Effluents traitem* pommes de terre Candida utilis SYMEA	Paillles de maïs Chaetorium celluloso-lyticum WATERLOO	Liquers sulfiteques. Penicillium variobolus "PEKILLO"	n-paraffines Candida tropicalis IFP	Méthanol Pichia pastoris IFP	Tourteaux de soja 50	Farine de poisson 70
Conditions de culture	température	38°C		46	35-40	30	37		38	35		
	pH	3		3,5	3,5	3,5	5,5	4,5	3-3,5	3-3,5		
	Substrat départ (g/L)	50				30	20	jusqu'à 10	21	10 ppm		
	Substrat résiduel (g/L)								0,1-0,5			
Rendement biomasse % substrat		55	50-55			55		30-35	95-97	40		
Productivité (g/L/h)		4,5			1,2-1,4				3,5-4	3-3,5		
Composition du produit (% de matière sèche)	Eau	5	<5,5	10			8		6 - 8		10	8
	Glucides assimilables		27,5-32,5	56		25-30	35		13,6	17		
	Lipides	1	5,5-8	2			10		8,10	5	1	8,5
	Cellulose			8					3,4-6,2			
Protéines totales (Nx6,25) = prot. vraies + ac. nu.	13	>48	20	35	18-20	40-45	45	52-57	58-62	60-61	49	72
Lysine	1	3,3					3,1		4,1	4,3	2,9	4,8
Méthionine + cystéine	0,5	1,1					1,1	6,5	1,5	2,2	1,3	2,4
Tryptophane	0,2								0,5	0,5		
Minéraux	9	6,5-8,5	4				7		7,3-7,7	7-7,5	6	11
Ca										0,22	0,25	4
P										2,34	0,20	2,5
K										2	2	0,35
Acides nucléiques		10,4					5		5-6	4-4,5		
Vitamines		B C	B PP				riches	riches		B: inositol riboflavine		

pays sur les nouvelles sources alimentaires pour les vaches laitières, révèle que la moitié des pays n'ont aucune expérience des produits SCP dans ce domaine (parmi lesquels la Pologne, le Danemark, l'Inde, l'Australie, ...) et deux pays n'ont pas donné de réponse (Etats-Unis, Allemagne). Sur les 7 autres pays, la production a surtout lieu à l'échelon expérimental.

Les substrats concernés sont les liqueurs sulfiteuses, les effluents industriels et les mélasses, les produits riches en amidon, les n-paraffines. Les espèces concernées sont principalement des levures : Candida utilis, Endomycopsis fibuliger.

Mais on s'intéresse aussi aux champignons : Paecilomyces (procédé PEKIL0) ou Sporotrichum pulverulentum.

Des expérimentations sur la valeur nutritive ont été effectuées in vivo (rats, poulets, ...) et in vitro (analyses chimiques). Ces productions sont utilisées pour la nutrition des animaux monogastriques (cochons et poules) à des taux de 5 % et jusqu'à des taux de 10 % pour des élevages de truites (Autriche). Elles visent à remplacer partiellement ou même totalement des sources protéiques traditionnelles (farine de poisson, tourteaux, farine d'os et de viande, ..).

Dans seulement 4 pays (Finlande, Suisse, Autriche et Angleterre) de tels produits sont disponibles sur le marché (Bull. Fédé - 1985). Mais dans tous les cas, la viabilité économique des P.O.U est mise en doute, en particulier à cause des coûts de production.

En pratique, il est nécessaire de bien connaître les besoins alimentaires des animaux mais aussi de savoir traduire ces besoins, exprimés en composés nutritifs élémentaires (acides aminés, calories, minéraux et vitamines), en quantités et variétés de matières premières utiles.

Aujourd'hui, les fabricants d'aliments composés disposent de modèles de programmation linéaire capables de déterminer le mélange le moins coûteux qui permettra d'apporter dans les rations les éléments nutritifs nécessaires.

Si les performances de croissance du nouveau mélange sont identiques à celles traditionnellement obtenues, seuls les calculs des coûts leur permettent de choisir les matières premières, d'où une grande incertitude liée aux fluctuations des prix des sources traditionnelles de protéines (CARANTINO - 1983).

De nombreuses études ont été réalisées, concernant différents types de micro-organismes et des substrats carbonés variés.

La Société Française des Pétroles BP produisait des levures sur alcanes, à Cap Lavéra et ce produit avait obtenu une autorisation de mise sur le marché par la Commission Interministérielle et Interprofessionnelle de l'Alimentation Animale le 4 janvier 1973 (TRUCHOT - 1979).

Trois qualités étaient commercialisées, dont un produit de base : Toprina L, préconisé pour les rations de jeunes animaux et pour les aliments spécifiques, et deux produits micronisés pour les lactoreplaceurs : Toprina LM et Topri-

na LS, ce dernier réservé en priorité aux veaux de boucherie en raison de sa basse teneur en fer (responsable de la coloration des carcasses de veaux). Des différentes études menées, il en ressort que le Toprina est riche en protéines et phosphore indispensable ; par contre les teneurs en lipides, calcium et sodium sont assez basses. Quand au profil en acides aminés indispensables, il est caractéristique de celui d'une levure : c'est-à-dire riche en lysine et thréonine, avec un déficit relatif en acides aminés soufrés.

Les études de digestibilité se comparent favorablement à celles du poisson et du soja (dans le cas des aliments pour les porcins) (JACQUOT, GATUMEL - 1977).

Les essais sur le terrain se sont révélés satisfaisants. Il en ressortait que le ToprinaL était une protéine de qualité, le critère de choix reposant dorénavant sur le seul rapport qualité-prix.

## II PROCEDES

Parmi les différentes recherches qui ont eu lieu, de nombreuses ont porté sur les moississures amylolytiques (telles que A. Niger).

### II . 1 Procédé IRCHA-ORSTOM

Il vise à enrichir en protéines des produits amy lacés, en vue de leur utilisation en alimentation animale.

Le produit amy lacé choisi (la farine de manioc préalablement

cuite) de structure granuleuse et poreuse est ensemencé de façon homogène par une solution contenant en suspension des sels minéraux (pour la croissance du champignon) et les spores du champignon filamenteux amylolytique choisi. La masse du substrat est progressivement envahie par les filaments mycéliens, qui dégradent et assimilent l'amidon. On obtient un produit de consistance solide, spongieuse et aérée (dûe au développement du mycélium), qui a une humidité de 70 % et une teneur en protéines de 16 à 20 % (RAIMBAULT - 1977).

Il n'est pas nécessaire de réaliser l'aseptie du milieu, le pH naturellement acide et l'humidité n'étant pas favorables au développement d'éventuels contaminants (en particulier les bactéries).

Ce procédé donne un produit enrichi en protéines (taux initial de 5 % ; taux final de 16 à 20 %), directement utilisable pour l'alimentation animale (essentiellement pour le poulet et le porc).

Parmi les autres avantages, on peut citer la simplicité des techniques employées (d'où un investissement initial assez réduit) , la stérilisation du substrat non indispensable, la récolte totale du produit fini (pas d'effluents à éliminer, ce qui évite tout risque de pollution de l'environnement) et la faible consommation énergétique (aération et refroidissement du milieu sont facilités du fait de la structure granulaire et spongieuse du substrat) (SASSON - 1983).

Ce type de production trouve surtout son application pour des exploitations de petite taille (le produit étant utilisé sur place), au niveau des villages ou des exploitations agricoles modestes. Il est surtout destiné à des pays équatoriaux (en particulier les pays africains, cherchant à développer leurs élevages et disposant en outre de substrats amylacés en quantités importantes).

D'autre part en raison de l'humidité du produit récolté (70 %), on peut aussi le mélanger à des céréales ce qui réduit l'humidité à 40 % mais la valeur nutritionnelle est améliorée par un meilleur équilibre des acides aminés.

Ce procédé existe au niveau pilote et le passage à une unité industrielle était en cours de mise au point, pour une production de 3.000 à 4.000 tonnes par an.

A l'origine, mise au point sur le manioc, cette technologie est utilisée sur d'autres substrats, à l'échelle pilote, en France sur pulpes de féculerie (DESCHAMPS - 1978) ; en Martinique sur écarts de tri des bananes (taux protéique final : 22 % ) (CARANTINO - 1983)

A l'Université de GUELPH, dans l'Ontario, au Canada, un procédé analogue (farine de manioc et A. niger) devait aboutir à une expérience en vue de produire un aliment enrichi en protéines pour le bétail, au Centre International d'Agriculture Tropicale en Colombie. A l'origine, les microbiologistes avaient utilisé des souches d'A. fumigatus, provoquant des réactions allergiques chez les travailleurs exposés.

Le champignon filamenteux retenu fut en fait Cephalosporium eichhorniae 152 et le produit final renfermait 49 % de protéines, bien accepté par les animaux d'expérimentation (SASSON - 1983).

## II . 2 Procédé PEKILO

Parmi les autres substrats utilisés, les liqueurs sulfitiques des industries papetières constituent la base du procédé PEKILO, mis au point en Finlande par la Finnish Pulp and Paper Institute (figure 5).

Le produit issu de cette technologie est utilisé pour l'alimentation d'animaux monogastriques (porcins et volailles) à des taux de 5 %, en remplacement de la farine de soja et de la farine de poisson dans les aliments composés.

Dans une première étape, un pilote fut installé en 1973 aux papeteries Jamsankoski. Les résultats encourageants ont permis de développer un projet à but commercial dès 1974 (GOLDBERG - 1985).

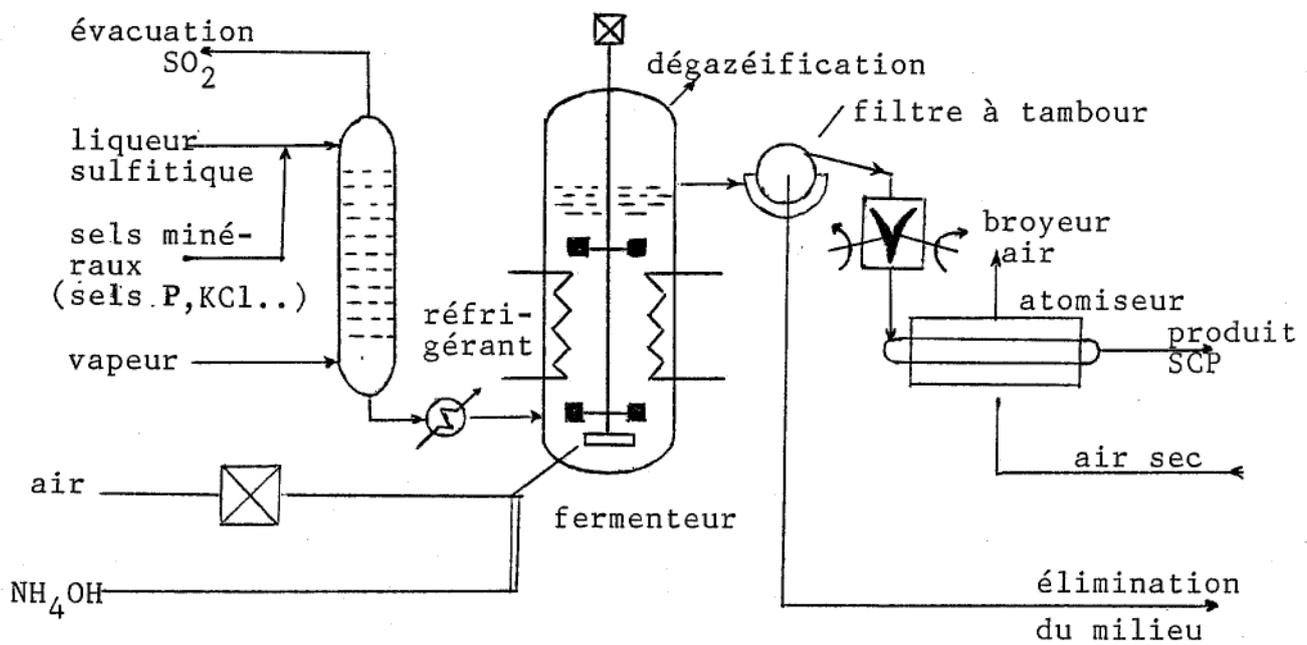
Ce type de procédé permet de retraiter les liqueurs sulfitiques, sous-produits de la fabrication de la pâte à papier et source de pollution.

Le champignon filamenteux utilisé, Paecilomyces variotii, consomme les acides organiques présents dans les liqueurs sulfitiques.

Après un traitement préalable des effluents qui vise à éliminer le dioxyde de soufre, la liqueur est injectée dans un

**Figure 5 : Schéma du procédé PEKILO**

(d'après GOLDBERG, 1985 )



fermenteur en même temps que différents éléments nécessaires au développement du champignon : ammoniacque, potassium et phosphore.

La stérilisation est ici nécessaire pour éviter les contaminations. Le rendement est de 2,7 à 2,8 grammes de champignon par litre et par heure.

Cette masse est récoltée par simple filtration : processus moins onéreux que la centrifugation et avantage par rapport aux bactéries et aux levures.

Le produit final, séché, contient 55 à 60 % de protéines brutes dont la digestibilité est de 87 % et est utilisé pour l'alimentation animale de monogastriques, en particulier chez les porcins (FEVRIER - 1985).

La capacité de production de ces papeteries Jamsankoski - Pekilo est de 100 m<sup>3</sup>/heure de liqueurs sulfiteuses et de 15.000 tonnes/an de produit issu de la fermentation de P. variotii.

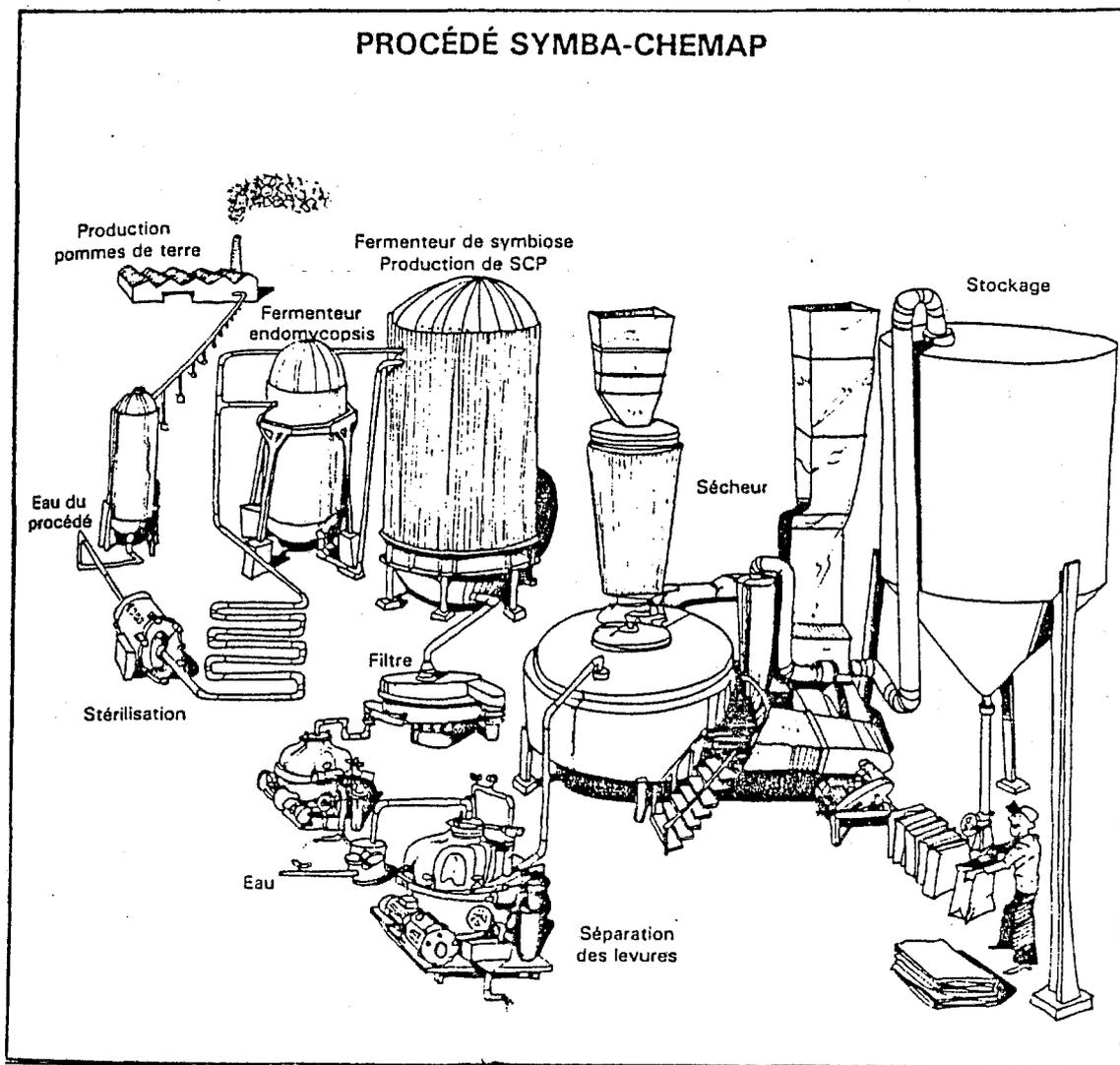
L'utilisation en vue de l'alimentation humaine avait aussi été considérée. Mais il fallait auparavant réduire la teneur en acides nucléiques : ces acides nucléiques ne sont pas un obstacle à l'utilisation chez les animaux du fait que les bases puriques sont dégradées et éliminées sous forme d'allantoïne dans les urines.

### II . 3 Procédé SYMBA - CHEMAP

Toujours dans cette même enquête (Bull. Fédé, 1985), on

**Figure 6 : PROCÉDE SYMBA - CHEMAP**

(d'après CARANTINO, 1983)



relève qu'un autre procédé, mais celui-ci au niveau expérimental, est utilisé en Suède et fait intervenir deux souches de levures. L'amidon doit, pour être utilisé par le micro-organisme subir une hydrolyse (chimique en milieu acide ou basique ; enzymatique), qui libère les sucres réducteurs assimilables. Le procédé SYMBA permet la production de protéines d'organismes unicellulaires en une seule étape par l'association de deux souches aux caractéristiques complémentaires (figure 6).

La première levure, Endomycopsis fibuliger, pauvre en protéines, produit des amylases qui vont libérer les sucres réducteurs. Cette étape a lieu dans un premier fermenteur. Dans un deuxième fermenteur, une seconde levure, Candida utilis, riche en protéines, consomme ces sucres.

La biomasse est recueillie, lavée et séchée : elle contient 47,9 % de protéines brutes (par rapport à la matière sèche). Encore au stade expérimental, cette production devait remplacer les sources protéiques conventionnelles, importées, telles que la farine de soja (CARANTINO - 1983).

#### II . 4 Protibel

Une autre souche de levure, K. fragilis, est aussi beaucoup utilisée en alimentation animale : sous le nom de "Protibel" et produite à partir de lactosérum déprotéinisé.

60 à 70 % de la production est destinée à l'alimentation animale (veaux de boucherie, d'élevage ; porcelets ; compléments de différents aliments de réengraissement).

La levure lactique est aussi utilisée dans la fabrication d'aliments diététiques pour les chiens et les chats.

Elle se présente sous forme de comprimés ou de flocons qui se caractérisent par :

- leur appétance
- leur apport en protéines, vitamines et oligo-éléments venant en supplément de la ration journalière

La proportion est au minimum de 6 % des formules (BEL INDUSTRIES - 1978). Dans le cas des aliments d'allaitement, le Protibel se présente sous forme d'une poudre (granulation  $\ll 160 \mu$ ) non hygroscopique, de coloration blanc crème, de saveur agréable et sans amertume.

Cette forme "poudre" permet d'assurer une tenue en suspension suffisante dans les liquides et par ailleurs, une mise en oeuvre facile dans le cas de fabrication de formules granulées. Les doses d'incorporation sont de 15 à 22 % des constituants de la formule, pour les aliments d'allaitement chez les veaux (de boucherie et d'élevage) (BEL INDUSTRIES - 1978). Le coefficient d'utilisation digestive est de 80 %. Pour l'alimentation des porcelets, des taux de 10 à 15 % sont bien acceptés.

Mais le Protibel peut être utilisé favorablement dans toutes les formules d'aliments pour animaux quelles que soient les espèces, l'âge et la production attendue : croissance, viande, reproduction, fourrure, ... .

On peut ainsi l'incorporer dans l'alimentation des truites et autres poissons (élevage ou ornement) où il peut repré-

senter jusqu'à 50 % des apports quotidiens ; chez les chevaux (sources de protéines et aussi d'éléments de croissance) ; chez les oiseaux ; ... .

## II . 5 Procédé I.F.P

Dans le cas de la pisciculture, d'autres levures sont homologuées pour l'alimentation des truites, en particulier. Elles sont issues du procédé I.F.P et concernent :

- la levure C. utilis, produite sur n-paraffines, avec des sels minéraux et de l'ammoniac.
- la levure Pichia pastoris, produite sur méthanol, avec addition d'ammoniac, de sels minéraux et de vitamines (biotine et thiamine).

Dans les deux cas, le pH est voisin de 3 - 3,5 et le fonctionnement aseptique ne nécessite cependant pas des conditions spéciales de stérilisation de l'air, du milieu minéral et du substrat. La productivité est élevée : entre 3 et 4 g par litre par heure. Le rendement et la teneur en protéines totales sont respectivement de 95 à 97 % et 40 % pour C. utilis et de 40 % et 60 à 61 % pour P. pastoris.

Les débouchés sont l'alimentation des poissons (truites) poules pondeuses et porcelets pour C. utilis ; celle des poissons et crustacés pour P. pastoris (CARANTINO - 1983).

Le procédé est utilisé dans une usine pilote en France et la production basée sur le méthanol intéresse différents pays dont l'U.R.S.S (unité industrielle de 100.000 tonnes/an), la Chine et le Mexique (production envisagée de 50.000 tonnes par an).

### III CONCLUSION

Les protéines d'organismes unicellulaires ne sont donc pas d'utilisation courante dans l'alimentation animale.

De nombreux pays n'ont pas d'expérience dans ce domaine, mais dans certains autres, des procédés existent à l'état expérimental ou pilote concernant des substrats variés et de nombreux micro-organismes (Tabl. 12).

Des expériences de nutrition et de digestibilité sont effectuées. Ces productions visent à remplacer les sources conventionnelles de protéines (farines de soja, de poisson) utilisées dans l'alimentation animale et généralement importées.

Les fabricants d'aliments composés disposent de modèles de programmation capables de déterminer le mélange le moins coûteux.

Or les prix des protéines traditionnellement utilisées subissent différentes fluctuations (hausse des prix lors de mauvaises récoltes, ...).

Les diverses recherches qui avaient eu lieu vers les années 1970, sur la production de protéines, faisaient suite aux perturbations des marchés des sources de protéines traditionnelles (farine de poisson, soja).

Pour être compétitif avec ces produits, il faut que le prix soit bas : plus les coûts de production sont bas (cas des technologies les plus simples), plus la compétitivité à des chances d'être grande.



**Tableau 12 - PROCÉDES PILOTES OU INDUSTRIELS, SUBSTRATS  
ET MICRO-ORGANISMES MIS EN OEUVRE**

(d'après S. CARANTINO - 1983)

Substrats	Micro-organismes		Procédés	Capacité en tonnage lieu
n-paraffines	Levure	<u>Candida tropicalis</u>	IFP Technip	procédé et pilote disponibles
mélasses de canne	Levure	<u>Candida utilis</u>	Speichim	7 unités industrielles CUBA : 80.000 tonnes/an
manioc	Moisissure	<u>Aspergillus fumigatus</u>	Université GUELPH	pilote 3000 litres COLOMBIE
	Levure	<u>Candida tropicalis</u>	Adour - Speichim	unité industrielle disponible 7000 t/an
Substrats amylicés	Moisissure	Souche amylyotique	Ircha - Orstom	procédé et pilote disponibles
Liqueurs sulfiteuses de papeterie	Moisissure	<u>Paecilomyces varioti</u>	Pekilo - société	10.000 t/an United Paper Mills Ltd (Finl.)
Déchets celluloseux	Moisissure	<u>Chaetomium cellulolyticum</u>	Waterloo	procédé disponible
Lactosérum	Levure	<u>Kluyveromyces fragilis</u>	Bel (France)	unités industrielles (3) 8.000 t / an
Effluents traitement de pommes de terre	Levure	<u>Endomycopsis fibuliger</u> <u>C. utilis</u>	SYMBA (Suède)	unité industrielle 2.000 t / an Swedish Sugar Company

Si les résultats obtenus avec un nouveau mélange sont identiques à ceux habituellement observés, seuls les calculs de coûts permettent de choisir les matières premières.

Mais le marché le plus "sûr" pour les protéines de micro-organismes est celui des aliments pour animaux délicats et en pleine croissance : aliments d'allaitement pour veaux et porcelets : par exemple le Protibel, utilisable comme lacto-remplaceur au même titre que le lactosérum et les concentrats de soja.

Mais depuis 1976, la CEE impose par le jeu des prix, l'incorporation dans les aliments d'allaitement pour veaux, d'au moins 60 % de poudre de lait : le taux de protéines d'organismes unicellulaires est ainsi réduit à 2,3 %.

Ce taux peut être porté à 11 %, dans le cas des aliments sans lait. Malgré le prix de revient encore élevé, la production de protéines de micro-organismes trouve des débouchés dans l'alimentation animale (chiens, chats, poissons) et est déjà utilisée favorablement dans l'alimentation des porcins, de la volaille et des veaux. Les installations de petites unités, mettant en oeuvre des procédés de technologie simple (IRCHA - ORSTOM ; SYMBA ; ...) peuvent permettre à des pays en voie de développement, disposant de sources abondantes de produits amylacés, de développer leur production animale et donc d'améliorer les rations alimentaires des populations locales.

C O N C L U S I O N

I DEVENIRS ET ORIENTATIONS FUTURES

I . 1 La filière Méthanol

I . 2 Les sous produits agricoles et industriels

I . 3 La sélection des souches

II HANDICAPS

II . 1 Les considérations économiques

II . 2 Le problème psychologique

## C O N C L U S I O N

### I - DEVENIRS ET ORIENTATION FUTURES

Après avoir abandonné (plus ou moins) les substrats tels que n-paraffines et gas-oil, l'avenir semble prometteur pour les productions à partir d'éthanol, de méthanol, et des sous produits agricoles et industriels.

#### I . 1 La filière méthanol

Elle permettrait la valorisation du gaz naturel, pour les pays arabes producteurs.

La haute valeur nutritionnelle des bio-protéïnes (essentiellement destinées à l'alimentation animale) et d'autre part la meilleure compétitivité des P.O.U. par rapport aux protéïnes de référence (hausse du prix des tourteaux de soja) permettraient de réduire le déficit alimentaire, mais aussi de réduire les dépenses en devises de ces pays pour l'importation de protéïnes conventionnelles.

Des recherches ont lieu en particulier sur des levures méthylophes thermotolérantes mais l'utilisation de technologies déjà existantes est envisagée (passage immédiat à l'échelle industrielle).

Parmi ces procédés, celui d'une firme américaine permet d'obtenir des densités cellulaires élevées (120 à 150 g/litre) et sera utilisé par une usine pilote aux Etats-Unis (1.200 tonnes produits par an).

Et le procédé français IFP-Technip, basé sur une culture non aseptique de levure méthylo-trophe thermotolérante (Pichia pastoris), dont la récolte se fait par floculation suivie d'une simple filtration (SENEZ - 1983).

### I . 2 Les sous-produits agricoles et industriels

Ils sont riches en substances fermentescibles, mais aussi abondants et peu chers.

Cela concerne les mélasses de canne, des amidons (céréales, pommes de terre, manioc) mais aussi des déchets celluloseux tels que les pailles, les rafles de maïs, le bois (procédé WATERLOO) - (CARANTINO - 1983).

Le procédé WATERLOO, utilise un champignon cellulolytique Chaetomium cellulolyticum, sur des déchets agricoles (pailles, résidus forestiers, ...). Après prétraitement du matériel celluloseux et addition d'éléments nutritifs, la récolte se fait par simple filtration et donne un produit à 45 % de protéines brutes (en poids sec), tout à fait utilisable pour l'alimentation animale. (GOLBERG - 1985).

I . 3 D'autre part la sélection des souches, naturelle ou par manipulation génétique permettra d'optimiser leurs performances.

La thermotolérance, par exemple (chez les levures et les bactéries) peut permettre de diminuer les frais de refroidissement, obligatoire pour les procédés basés sur les n-paraffines et le méthanol.

On a pu augmenter la vitesse de croissance (1 à 2 heures au lieu de 5 à 12 heures) et la teneur en protéines de certaines moisissures, ou induire des activités enzymatiques particulièrement intéressantes : par exemple, des propriétés amylolytiques, permettant de supprimer l'hydrolyse préalable de l'amidon dans le procédé employé.

La technologie envisagée joue aussi beaucoup. Des recherches sur les types de fermenteurs employés (importance de la forme) mais aussi les systèmes d'aération ou de refroidissement, ont lieu. De nombreux contrôles sont automatisés.

## II - HANDICAPS

### II . 1 Les considérations économiques

Pour "rentabiliser" une production comme les protéines de micro-organismes, il est nécessaire de procéder à toute une série d'études (sur le choix du micro-organisme, du substrat, etc ...). Il faut donc du temps mais aussi beaucoup d'argent.

D'autre part, si une telle réalisation s'avère prometteuse, il faut après un stade pilote, passer à une production sur une plus grande échelle.

Ici d'autres facteurs vont intervenir tels que :

- le coût des fonds : terrain, construction de l'usine et matériel,
- le choix du site : ce n'est pas la chose la moins

importante. Il faut envisager la disponibilité des systèmes de transport (matières premières, taille et proximité des marchés, facteurs de sécurité, ...),

- les coûts de la fabrication : ceci inclut les matières premières (sources de carbone et d'énergie, source d'azote et minéraux), l'énergie, les besoins en eau, le traitement des déchets, la main-d'oeuvre, la maintenance de même que la marge du profit souhaité. (GOLDBERG - 1985).

De nombreuses publications ont étudié ce point de vue économique mais il est difficile de donner une "estimation" économique réaliste pour évaluer les mérites de productions de protéines d'organismes unicellulaires par rapport à la production de protéines agricoles. D'autre part, dans la plupart des cas, les analyses sont faites à l'échelle du laboratoire ou du projet pilote et non à l'échelle industrielle.

De plus, il faut compter avec les variations, imprévisibles, dans les prix des matières premières, les coûts de l'énergie les coûts de construction de l'usine.

Mais il faut prévoir que 15 à 77 % des coûts de production sont imputés aux matières premières dont 17 à 65 % pour le seul substrat carboné.

Dans certains cas, le coût de la source carbonée peut être attractif pour la production envisagée mais la source de carbone peut ne pas être disponible en quantité suffisante à un endroit donné, et de plus, il faudra ajouter des coûts de transport parfois élevés. Cette source de carbone envi-

sagée peut aussi avoir d'autres utilisations (fermentation en vue de la production de composés chimiques ou énergétiques), plus rentables.

Donc le choix judicieux des matières premières et la simplification des technologies permettent des rentabilisations maximum par réduction des investissements et des coûts énergétiques. (CARANTINO - 1983).

Dans l'avenir, des procédés exploités au niveau de petites unités et basés sur des matières premières telles que l'éthanol, le méthanol, les sous produits agricoles, ont une chance de prouver leur rentabilité.

Mais de toute évidence, ils n'atteindront jamais l'échelle envisagée alors pour leurs utilisations en alimentation animale et le produit P.O.U. sera encore limité dans ses utilisations, comme supplément protéique et ingrédient protéique fonctionnel plutôt que comme base protéique dans le régime alimentaire de l'homme.

## II . 2 Le problème psychologique

Comme l'écrit FERRANDO, le seul fait d'utiliser un substrat non conventionnel entraîne immédiatement la suspicion.

Dans les années 1960, on a parlé de "bifteck de pétrole", idée lancée par les journalistes et le caractère sensationnel du sujet était amplifié. Personne n'était prêt à abandonner les aliments conventionnels pour ces protéines de "science-fiction" et bien que des études toxicologiques

très poussées aient eu lieu, démontrant que les taux de substances cancérigènes (en particulier du 3 - 4 benzopyrène) étaient bien inférieurs à ceux trouvés dans les aliments conventionnels, des doutes avaient été émis sur le caractère "inoffensif" des protéines de microorganismes pour la santé humaine.

Au Japon, après des années de recherche, de mise au point des procédés et de la technologie industrielle, d'études sur les qualités nutritives et sanitaires et sur les conditions de leur commercialisation, trois firmes japonaises décident de passer à la production industrielle de P.O.U. sur n-alcanes. Entre 1969 et 1972, les trois puissants ministères de la Santé, de l'Agriculture et de l'Industrie donnent le "feu vert" à ces trois firmes. Fin 1972, une campagne de presse menée par les puissants journaux japonais mettait en cause le caractère inoffensif des P.O.U. pour la santé humaine.

Le développement d'un mouvement d'hostilité aux P.O.U. des consommateurs (mais aussi des partis politiques) aboutit à la fermeture des usines de production (MOUNIER, BYE - 1984).

Toujours est-il, que les grands espoirs que l'on portait sur les protéines fongiques (en particulier, on voyait en elles une solution au problème de la faim dans le monde) n'ont pas été concrétisés : obstacles économiques, mais aussi intérêts politiques.

Dans l'échec de ces protéines "nouvelles", il ne faut pas non plus négliger le problème psychologique posé par tout nouveau produit. Il est nécessaire d'étudier les comportements du consommateur à l'égard des nouveaux aliments (consommateur qui s'avère plutôt conservateur dès qu'il s'agit de sa nourriture).

Si ces procédés utilisent des matières premières déjà consommées par la population locale, les chances sont réelles. Si par contre, ils utilisent des sous produits industriels ou agricoles (tels que les écarts de tri de produits amy-lacés), leur acceptation n'est pas assurée et l'utilisation sera limitée à l'alimentation animale.

Tout le problème de l'avenir consiste à savoir si de nouveaux procédés (tels que celui de ADOUR-SPEICHIM) répondent à de réels besoins, en particulier dans les pays en voie de développement.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**ARNAUD A. - GUIRAUD J.P.** : Biochimie microbienne in SCRIBAN R. Biotechnologie, 1982, 51 - 116, Tech. et Doc. Lavoisier Paris.

**BEL Industries** : Une source abondante de protéïnes et de vitamines : la levure lactique sèche. Les Industries de l'alimentation animale, Paris, 1979, n°327, 27-29.

**BEL Industries Informations** : L'intérêt nutritionnel et les richesses naturelles du Protibel, 1986, n°7.

**BEL Industries** : Livret "Protibel protéïne unicellulaire", 1978.

**BORD M.** : Protéïnes de micro-organismes uni et pluricellulaires, Thèse Pharma. Bordeaux 2. 1984.

**Bulletin fédération internationale de laiterie** : New sources sources for dairy cattle, BEL, 1985, n°190, 3-16.

**CARANTINO S.** : Les protéïnes d'organismes unicellulaires : un avenir et des choix difficiles, Biofutur, 1983, n°9, 17-29.

**CHAMPAGNAT A.** : Biosynthèse de concentrés protéïnes-levures à partir du pétrole, Rev. Inst. Franc. Pétrole, 1962, 17.

**CHAMPAGNAT A. - ADRIAN J. :** Pétrole et protéines, DOIN, 1974.

**Circulaire DQ/SRFCQ/C.81 du 20 janvier 1981 :** Enzymes coagulantes utilisées en fromagerie, Bull. FNIL, 1981, F1-F7.

**DESCHAMPS F. :** Production de protéines d'organismes unicellulaires à partir de la pomme de terre et à partir du manioc in SENEZ J.C. Colloque DGRST sur les protéines d'organismes unicellulaires, Paris, 1977, 215-218.

**EDLMANN J. - FEWELL A. - SOLOMONS G.L. :** Mycoprotien : the food of the future ?, Food Manuf., 1984, 59, n°10, 42-56.

**FERRANDO R. - TRUHAUT R. :** Aspects nutritionnels et toxicologiques des protéines d'organismes unicellulaires actuellement produits, in SENEZ J.C. Colloque DGRST sur les P.O.U., Paris, 1977, 125-140.

**FEVRIER S. :** Les organismes unicellulaires dans l'alimentation des porcins, Bull. Tech. Inf., 1985, n°397/398, 169-179

**GOLDBERG I. :** Single-cell protein, 1985, 1, Biotechnology Monographs, Springer-Verlag Berlin.

**GOURSAUD J. :** Cas de l'industrie laitière : coagulation enzymatique du lait, in SCRIBAN R. Biotechnologie, 1982, 301-335, Tech. et Doc. Lavoisier Paris.

**JACOB F.H. - PONCET S.** : Les protéines alimentaires non animales, Lyon Pharmaceutique, 1981, 32, n°2, 63-68.

**JACQUOT L. - GATUMEL E.** : Expérience acquise sur l'utilisation de Toprina en alimentation animale, in SENEZ J.C. Colloque DGRST sur les P.O.U., Paris, 1977.

**LEVEAU J.Y.** : Fermentations, souches microbiennes et enzymes pour les I.A.A., Biofutur, n°28, 13-23.

**LITCHFIELD J.H.** : Single-cell proteins, Food Technology, Chicago, 1977, 31, n°5, 175-179.

**MALIGE B. - CHAMBRE M.** : Un exemple de valorisation du lactosérum, Biofutur, 1984, n° 21, 34-36.

**MOUNIER A. - BYE P.** : Les futurs alimentaires et énergétiques des biotechnologies, 1984, P.U.G.

**Mycotoxines** : critères d'hygiène de l'environnement. II. Organisation Mondiale de La Santé, Genève, 1980.

**OLIVIER J.M. - DELMAS J.** : Vers la maîtrise des champignons comestibles, Biofutur, 1987, n°61, 23-41.

**RAIMBAULT M.** : Production de protéines d'organismes unicellulaires à partir de matières amylacées disponibles en Afrique équatoriale, in SENEZ J.C. Colloque DGRST sur les P.O.U., Paris, 1977, 219-223.

**RAUGEL J.J.** : Le marché des enzymes, Biofutur, 1984, n°20, 29-34.

**RIVIERE J.** : Les applications industrielles de la microbiologie, 1975, Masson.

**ROCHEMAN M.** : Les aliments fermentés dérivés du soja, Biofutur, 1986, n°43, 34-42.

**SARGEANT H.A.** : Biotechnologies du lait, Biofutur, 1984, n°28, 39-42.

**SASSON A.** : Biotechnologies : défis et promesses, 1983, UNESCO Sextant 2.

**SENEZ J.C.** : La filière méthanol, Biofutur, 1983, n°28, 39-41.

**SPENSLEY P.C. - TOWNSEND R.J.** : Toxicological fungal products, in Biology and the manufacturing industries, 1967, 103-117, Academic Press London, Institute of Biology.

**TRUCHOT E.** : Principales sources de protéines alimentaires et procédés d'obtention, Actualités scientifiques et techniques en industries agro-alimentaires, 1979, 23, 1-194.

**WALKER T.** : Single-cell protein as a feedstuff, in International Food Industries Congress, London, 1975, 149-165.



AUTORISATION D'IMPRESSION

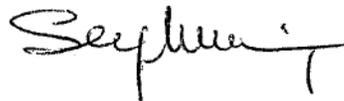
de la Thèse dont l'intitulé est : Les Protéines fongiques utilisées dans l'alimentation.

Candidat : Melle MURY Elisabeth

VU

GRENOBLE, le 29 mai 1989

Le Président du Jury



VU

GRENOBLE, le 5 juin 1989

Le Président de l'Université

JF GRENOBLE 1 - Sciences. Technologie.  
Médecine

A. NEMOZ

