

Z. Ernährungswiss. 14, 125-132 (1975)

Les protéines de fermentation des hydrocarbures

Alfred Champagnat

Ancien Directeur des Recherches de la Société Française des Pétroles BP

Avec 8 tableaux

(Arrivé le 2 février 1975)

Introduction

Les connaissances fondamentales nécessaires pour réaliser la biosynthèse des protéines à partir des hydrocarbures sont disponibles depuis longtemps. Mais rien de concret n'avait été réalisé avant les années 1950, sans doute parce que les chercheurs n'avaient pas de motivation suffisante. Les premiers, *Just et Schnabel* (1948) en Allemagne, ont cultivé, à des fins alimentaires, des bactéries, puis des levures, sur des fractions paraffiniques obtenues par la synthèse de *Fischer-Tropsch*, réaction de CO et H₂. Mais les moyens nécessaires pour résoudre les problèmes technologiques posés pour l'industrialisation ont dû leur faire défaut.

En 1959, en France l'équipe de *Champagnat*, à la Raffinerie de Lavéra de la Société Française des Pétroles BP, s'est inspirée de leurs travaux avec l'aide de *Senes* sur le plan fondamental. La motivation était alors évidente avec la prise de conscience du problème de la Faim qui se résume surtout dans un besoin de protéines.

Elle cadrait avec une diversification des recherches souhaitée par l'équipe intéressée. Il fut évidemment difficile de convaincre les autorités du groupe BP de l'intérêt de la production d'aliments à partir du pétrole. Mais les résultats obtenus au Laboratoire de Lavéra les décidèrent peu à peu à doter le projet des moyens massifs nécessaires. Les premières publications de BP en 1962-1963 ont été à l'origine de nombreux projets de recherche dans divers pays, engendrant une compétition internationale.

A l'heure actuelle, grâce à son avance, le groupe BP a deux usines de production commerciale en activité et une troisième de capacité 100 000 T/an est en construction en Italie en association avec l'ANIC. C'est là le prélude à une industrie mondiale de production de protéines à haute valeur biologique à partir de matières premières purement minérales sans l'intervention de l'agriculture.

Les matières premières carbonées et les procédés

Les substrats carbonés convenable à la fermentation pétrolière sont:

- Les paraffines normales ou alcanes linéaires liquides
- Les gasoils paraffiniques
- Le méthane et le méthanol produit par oxydation du méthane
- L'éthanol dérivé de l'éthylène.

Les alcanes linéaires liquides doivent être de très haute pureté. Ils sont fabriqués à partir des kérosènes et des gasoils par extraction physique

à l'aide de tamis moléculaires. Le substrat est entièrement métabolisé par les levures.

Les gasoils paraffiniques contiennent au moins 10 % d'alcane linéaires qui sont utilisés sélectivement par les levures en présence des autres hydrocarbures qui demeurent inaltérés.

La fermentation du méthane, constituant principal du gaz naturel, est étudiée par plusieurs centres de recherche dont le groupe BP. Mais les difficultés sont considérables et aucun procédé industriel n'est encore annoncé.

Le Groupe Imperial Chemical Industries a tourné ces difficultés en oxydant le méthane en méthanol par un procédé catalytique de son invention. Le méthanol est ensuite métabolisé par des bactéries. Une unité de 100 000 T/an est annoncée en Angleterre.

L'éthanol, obtenu à partir de l'éthylène des gaz de craquage du naphta, a été choisi en Tchécoslovaquie et par une firme américaine. Des projets industriels sont considérés.

Mais les seules unités de production commerciale actuellement en service sont celles de Grangemouth en Ecosse (4000 T/an) et de Lavéra en France (17 000 T/an). Toutes deux appliquent les procédés BP qui découlent des travaux initiaux de Lavéra.

A Grangemouth, qui utilise les alcanes linéaires purs, la fermentation est peu différente de celle des mélasses pour la production de levure alimentaire classique. Après l'étape de fermentation continue, la masse cellulaire est séparée par centrifugation, lavée et séchée.

Le procédé au gasoil, en usage à Lavéra, est plus complexe car le gasoil non métabolisé doit être séparé après la fermentation et récupéré pour être renvoyé aux combustibles commerciaux produits par la raffinerie. De plus, la masse cellulaire, après centrifugation, contient encore des traces de gasoil qui sont éliminées par un procédé original d'extraction par solvants.

Les levures obtenues par les deux procédés sont de qualité très semblable. La seule différence est que la levure de Lavéra ne renferme presque plus de lipides qui ont été extraits avec le gasoil résiduel.

Dans les tableaux 1 et 2 et les suivants, la levure L est celle fabriquée à Lavéra, la levure G celle de Grangemouth.

Evaluation de la qualité des levures de fermentation pétrolière

Le caractère insolite de la production d'aliments à partir d'une matière première pétrolière a, dès le début du projet, justifié des moyens très importants pour l'évaluation de la qualité de la masse cellulaire, avec des critères très sévères.

Tableau 1. Caractéristiques générales des levures BP

	Levure G	Levure L
Humidité % poids	< 7	< 8
Protéines brutes (N \times 6,25) % poids	60-62	68-70
Lipides après hydrolyse acide, % poids	10	1,5-2,5
Cendres % poids	6	7,9

Tableau 2. Teneur en acides aminés des levures BP et de farines de soja et de poisson
(grammes pour 16 g d'azote)

Acides aminés	Levure G	Levure L	Farine d'anchois	Farine de soja dégraissée
Isoleucine	4,86	5,3	4,7	5,4
Lescine	7,3	7,8	7,6	7,7
Phénylalanine	4,5	4,8	4,2	5,1
Tyrosine	3,9	4,0	3,4	2,7
Thréonine	5,0	5,4	4,3	4,0
Tryptophane	1,2	1,3	1,2	1,5
Valine	6,0	5,8	5,3	5,0
Arginine	5,2	5,0	5,8	7,7
Histidine	2,0	2,1	2,4	2,4
Lysine	7,1	7,8	7,7	6,5
Cystine	1,3	0,9	0,9	1,4
Méthionine	1,6	1,6	3,0	1,4
Total acides soufrés	2,9	2,5	3,9	2,8

La meilleure façon de rassurer les dirigeants pétroliers et d'éclairer l'opinion extérieure, était de confier le contrôle de cette qualité à des organismes indépendants et de haute réputation internationale dont le jugement ferait loi.

Deux catégories de contrôles devaient intervenir: ceux de nature toxicologique et ceux d'évaluation de la valeur nutritive pour les animaux d'élevage.

Les études toxicologiques ont été confiées au C.I.V.O. (Central Institute for Nutrition and Food Research), à Zeist, en Hollande. Le CIVO fait partie du T.N.O. organisation d'état hollandaise. Il est complètement indépendant de BP et de toute autre organisation commerciale ou industrielle. Son standing international est bien connu ainsi que la qualité de ses travaux. Il travaille couramment pour les Organisations des Nations Unies ainsi que pour les agences gouvernementales de Hollande et d'autres pays.

Le CIVO a établi le protocole d'essais toxicologiques pour les levures BP qui a été mis en application à partir de 1964.

La base de ce protocole était de montrer que les levures cultivées sur alcanes par les procédés BP ne causaient aucun effet nuisible lorsqu'elles étaient consommées à haute dose (jusqu'à 30 %) dans la ration des animaux de laboratoire. Cela à court terme, moyen terme et long terme, jusqu'à 2 ans.

De plus, à cause de la nature du substrat carboné, des études spéciales à long terme ont été faites pour démontrer que les levures ne pouvaient donner lieu à aucun effet cancérogène. Les rations comprenaient 10, 20 et 30 % de levure.

D'autres travaux avaient pour objet de s'assurer de l'effet des levures sur la reproduction des animaux. Ils comprenaient l'étude de générations successive d'animaux alimentés avec des rations contenant 30 % de levure, chiffre au moins double du maximum utilisé en élevage. L'absence d'effets tératogéniques c'est-à-dire de malformations des petits nés de femelles

alimentées avec les levures pendant leur gestation, a été aussi démontrée avec les rations à 30 % de levure.

Comme précaution finale, on a établi l'absence d'effets mutagéniques – c'est-à-dire que, même avec des rations contenant cette fois 66 % de levure, la fertilité des mâles n'était pas altérée et aucune déformation n'intervenait chez les petits nés de ces mâles.

Les levures produites par les deux procédés BP ont été soumises aux mêmes essais de toxicité.

On doit noter que le protocole international exige seulement trois générations de rats pour les études sur plusieurs générations. Actuellement, le programme d'essais continue bien au-delà. On a atteint aujourd'hui 13 générations de rats et 23 générations de cailles japonaises, toujours sans aucun effet adverse.

Ce programme exceptionnel pour la variété et la qualité des essais effectués et le nombre d'animaux utilisés (50.000 depuis 1964) a amplement démontré l'absence de toute toxicité ou effet nuisible imputable aux levures BP. Il ne semble pas qu'aucun aliment ait jamais subi des essais aussi sévères avant d'être commercialisé. Et il est certain que beaucoup d'aliments d'usage courant depuis des siècles ne passeraient pas les normes auxquelles satisfont les levures BP.

Les études nutritionnelles

Bien que la première qualité d'un constituant de ration alimentaire soit son innocuité, il faut aussi qu'il apporte une contribution nutritionnelle intéressante au régime de l'animal. En conséquence, dès que les essais de toxicité ont indiqué la probabilité que les levures BP étaient sans danger, on a commencé à grande échelle leur évaluation nutritionnelle sur les animaux d'élevage.

Pour cela, on a choisi l'I.L.O.B. (Institute for Agricultural Research in Biochemical Products). Cet Institut est situé dans le complexe de recherches agricoles de Wageningen, en Hollande. C'est un organisme indépendant.

Comme le CIVO, l'ILOB a une réputation internationale pour la qualité de ses travaux. A peu près 50 % de ses études se font pour des organisations non hollandaises.

Les expérimentations ont commencé en Octobre 1965. Elles ont porté, en première étape, sur l'effet de l'introduction des levures BP dans la ration des porcs et des volailles. Le choix d'animaux monogastriques reposait sur le fait qu'ils exigent des protéines de haute valeur biologique, alors que les ruminants utilisent aisément des protéines de médiocre qualité où même des composés azotés tels que l'urée.

Dans une seconde étape, les études ont été étendues à la nutrition des veaux préruminants. Elles se poursuivent sur les agneaux. Pour ces animaux de système digestif très délicat, des préparations liquides ou des suspensions de solides sont nécessaires.

On a utilisé les levures cultivées sur alcanes en substitution totale ou partielle des suppléments protidiques traditionnels de l'alimentation des porcs et des volailles, tels que les farines de soja et de poisson. Pour les veaux et agneaux, les levures se sont substituées partiellement ou totalement au lait en poudre. Ce travail est activement poursuivi – mais déjà la

production de Lavéra va en grande partie à l'élevage des veaux où elle est très appréciée des éleveurs.

Le protocole des expérimentations consistait à nourrir un groupe d'animaux témoins avec un régime classique commercial. Les autres groupes, génétiquement et physiquement très semblables recevaient des régimes nutritionnellement équivalents, dans lesquels les levures remplaçaient en tout ou partie le soja et la farine de poisson des rations témoins.

La comparaison des performances des divers groupes était faite d'après les critères zootechniques classiques.

Par exemple, on a comparé la production d'œufs des poules pondeuses, la fertilité des coqs, l'éclosion des œufs, la vitesse de croissance et le taux de conversion alimentaire chez les volailles et les porcs, le nombre de petits nés des truies alimentées, leur croissance, etc.

On continue d'étudier des groupes de porcs et de volailles nourris pendant plusieurs générations avec les rations levurées et les rations témoins. Actuellement, on en est à la cinquième génération de volailles et de porcs, sans aucune indication d'altération dans les performances zootechniques et les caractères physiques des animaux.

En outre, d'autres groupes d'animaux d'élevage nourris à des taux très élevés de levures BP, ont été examinés en vue de déceler des éventuels changements pathologiques, ou la présence de produits toxiques qui auraient pu s'accumuler dans les parties consommables de leur corps. Ces essais n'ont rien révélé de préjudiciable pour les consommateurs de la viande, ou des œufs, de ces animaux.

Pour conclure sur ce sujet, on peut dire que les expérimentations effectuées remarquables par le nombre et la qualité des techniques mises en jeu et l'ampleur des tests et observations réalisées, mettent en évidence que rien ne permet de distinguer une alimentation comprenant une forte proportion de levures BP, d'une autre faisant seulement à des éléments traditionnels.

Les tableaux 3 à 8 résument les performances nutritionnelles des levures BP. Ils concernent surtout la levure L mais des résultats presque identiques ont été obtenus avec la levure G. Ils ne sont pas donnés ici faute de place.

Tableau 3. Porcelets - Levure L

<i>Régimes - % poids</i>			
Groupes expérimentaux	A	B	C
Céréales, minéraux, suppléments, etc.	66,5	74,6	80,2
Supplément protidique: lait dégraissé en poudre, farine de hareng, soja	33,5	15,1	0
Levure L	0	10,3	19,8
<i>Performances nutritionnelles*)</i>			
	Age 3 à 10 semaines		
Gain, de poids	100	102	98
kg d'aliments consommés par kg de gain de poids	100	101	94

*) exprimées en pourcentage du témoin

Tableau 4. Porcs engraisés – Levure L

<i>Régimes – % poids</i>		
Groupes expérimentaux	A	B
Céréales et suppléments	74,6	86,8
Farine de soja	25,4	0
Levure L	0	13,2
<i>Performances nutritionnelles*)</i>		
23 à 100 kg de poids vif		
Gain de poids	100	101
kg d'aliments consommés par kg de gain de poids	100	100

*) exprimées en pourcentage du témoin

Tableau 5. Poulets de chair – Levure L

<i>Régimes – % poids</i>	Age 0 à 5 semaines				Age 5 à 7 semaines			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Groupes expérimentaux								
Céréales, minéraux et suppléments	66,5	66,5	69,5	70,5	72	71,7	73,7	74,0
Farine de soja	23,5	23,5	15,5	14,5	20,5	20,8	16,5	16,0
Farine de poisson	10,0	0	15,0	0	7,5	0	10,0	0
Levure L	0	10,0	0	15	0	7,5	0	10,0
<i>Performances nutritionnelles*)</i>								
Age 0 à 7 semaines								
Gain de poids	100	104	89	101				
kg d'aliments consommés par kg de gain de poids	100	99	105	98				

*) en pourcentage du témoin

Tableau 6. Poules pondeuses – Levures G et L

<i>Régimes – % poids</i>			
Groupes expérimentaux	A	B	C
Céréales et suppléments	80,5	87,0	88,0
Farine de soja	11,5	0	0
Farine de poisson	3,0	0	0
Levure G	0	13,0	0
Levure L	0	0	12,0
<i>Production d'œufs pendant 52 semaines exprimée en pourcentage du témoin</i>			
Nombre d'œufs	100	103	100
kg d'aliments consommés par kg d'œufs produits	100	102	102

Tableau 7. Veaux blancs - Levure L

<i>Régimes - % poids</i>		
Groupes expérimentaux	A	B
Autres constituants	79,4	80,9
Lait écrémé atomisé	20,6	0
Lactosérum atomisé	0	8,0
Dextrose	0	1,1
Levure L	0	10,0
<i>Performances nutritionnelles*)</i>		Age 0 à 17,5 semaines
Gain de poids	100	99
kg d'aliments consommés par kg de gain de poids	100	101

*) en pourcentage du témoin

Tableau 8. Veaux d'élevage - Levure L

<i>Régimes - % poids</i>		
	A	B
Autres constituants	71,5	71,5
Lait écrémé en poudre	28,5	0
Lactosérum atomisé	0	15,9
Levure L	0	12,6
<i>Performances nutritionnelles*)</i>		Age 64 jours
Gain de poids	100	103
kg d'aliments consommés par kg de gain de poids	100	97

*) en pourcentage du témoin

Pour des détails plus complets, on pourra se référer à deux ouvrages récents:

- Gounelle de Pontanel, H., Les levures cultivées sur alcanes.
Ed. Centre de Recherches Foch - Paris 1972
- Champagnat, A. et Adrian, J., Pétrole et Protéines.
Ed. Doin - Paris 1974.

Les autorisations d'emploi

Les levures produites par les deux usines BP ont été autorisées pour l'alimentation animale dans les pays suivants où le dossier des expérimentations toxicologiques et nutritionnelles a été présenté:

France, République Fédérale Allemande, Hollande, Belgique, Union Sud Africaine, Italie, Royaume Uni, Irlande, Danemark.

Nous croyons que les levures BP sont jusqu'ici les seuls micro-organismes cultivés sur hydrocarbures qui peuvent être légalement vendus dans ces pays pour l'alimentation animale.

Des demandes d'autorisation d'emploi seront faites prochainement dans d'autres pays selon les priorités qui dépendent des marchés.

Il n'existait aucun protocole standard et universel pour l'évaluation de la toxicité des nouveaux produits lorsque BP a pris l'initiative de publier son programme d'expérimentation sur ce sujet.

Le Protein Advisory Group (PAG) des organisations des Nations-Unies (FAO, WHO, UNICEF) s'est maintenant occupé de la question à cause de l'importance des protéines de fermentation.

Depuis 1970, il a publié une série de recommandations ou « guidelines » sur les aspects variés de l'évaluation de la sécurité d'emploi et de la qualité nutritionnelle des nouvelles sources de protéines. Ces recommandations sont disponibles sur demande aux organisations des Nations-Unies.

En ce qui concerne l'évaluation de la sécurité d'emploi, la Recommandation n° 6 est la publication définitive. Elle détaille le protocole à observer pour les essais toxicologiques pour *l'alimentation humaine directe*.

Il se trouve que la procédure suivie par BP et le CIVO depuis 1964 pour démontrer l'innocuité des levures BP, est identique, en tous ses points essentiels, à celle recommandée maintenant par le P.A.G.

Bien que, à l'heure actuelle, les levures BP ne soient utilisées que pour les animaux, l'évaluation de leur qualité s'est donc faite d'après les standards recommandés pour l'alimentation humaine.

Le fait a été reconnu par un Symposium tenu à Aix-en-Provence en 1972, réunion qui groupait 70 toxicologues et nutritionnistes mondialement réputés, appartenant à 23 pays. Ces personnalités ont discuté le rôle potentiel des levures cultivées sur alcanes pour l'alimentation humaine.

La conclusion générale a été que, pour le cas spécifique des levures BP, les résultats satisfaisants des expérimentations toxicologiques et nutritionnelles justifiaient que ces produits abordent les essais cliniques pour l'alimentation humaine.

Une telle opinion, exprimée en public par un groupe imposant d'experts du plus haut niveau, n'aurait pu être émise s'il existait encore le moindre doute pour l'utilisation en toute sécurité des levures BP pour l'alimentation animale, qui a été jusqu'ici leur seul marché.

Summary

The research work for the culture of yeasts on hydrocarbon substrates has started in 1959 at the research laboratory of Lavera in France, under *Champagnat* as leader. Its result is the construction and exploitation of 2 industrial plants in France and England, and a new big one is being built in Italy.

The paper describes the various hydrocarbon substrates in use or proposed, and the two BP processes. It gives the main characteristics of the yeasts produced. It emphasizes the methods used for the evaluation of the yeasts both toxicologically and nutritionally by independent organizations of international level. A number of tables are given upon the nutritional performances of the yeasts on farm animals.

Authorizations of use have been obtained from the hygiene authorities of the main European countries. The use for human consumption is now being considered.

L'adresse de l'auteur:

Alfred Champagnat, 7 rue Georges Lenôtre - F-78120 Rambouillet