

Georgia Institute of Technology ILL



ILLiad TN: 397633

**Borrower:** BRL

**Lending String:** \*GAT,EYW,EEM,LHL

**Patron:**

**Journal Title:** Industries alimentaires et agricoles.

**Volume:** 97 **Issue:**

**Month/Year:** 1980**Pages:** 721-724

**Article Author:** Parfait, A. Jouret, C.

**Article Title:** Le glycerol dans la fermentation alcoolique des melasses et des jus de canne a sucre

**Imprint:** Paris, Association des anciens élèves de l'École nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, Association des chimistes, ingénieurs et cadres des industries agricoles et alimentaires, Commission internationale des industries agricoles.

**ILL Number:** 183813582



**Call #:**



**50671006452962 , 50671006452970**

**Location:** LSC

**ODYSSEY ENABLED**

**Charge**

**Maxcost:** 16.00IFM

**Shipping Address:**

INTERLIBRARY LOAN

BOSTON PUBLIC LIBRARY

700 BOYLSTON ST.

BOSTON, Massachusetts 02116

United States

**Fax:**

**Ariel:**

**Email:**

# Le glycérol dans la fermentation alcoolique des mélasses et des jus de cannes à sucre

PARFAIT A. \*, JOURET C. \*\*

avec la collaboration technique de G. SABIN et Mme G. MIGLIORI

## RESUME

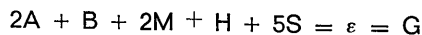
Les Auteurs ont précisé l'influence de différents facteurs (mode de conduite, pH, taux d'ensemencement, teneur en sucres, espèces de levures) sur la quantité de glycérol retrouvée dans les rhums.

Ils ont également montré que le glycérol peut servir de substrat carboné à diverses bactéries et donner, par suite, des produits dérivés ayant un rôle négatif sur les qualités organoleptiques de cette eau-de-vie.

Le glycérol est un produit secondaire formé par le métabolisme des sucres au cours de la fermentation alcoolique.

Suivant les conditions, une fraction plus ou moins importante des sucres est ainsi transformée en glycérol. Il en découle des valeurs différentes du rendement de la fermentation.

Genevois (1936) a proposé une équation entre divers produits secondaires de la fermentation alcoolique



A, B, M, H, S et G étant respectivement les concentrations molaires de l'acide acétique, du 2-3 butane diol, de l'acétoïne, de l'acétaldéhyde, de l'acide succinique et du glycérol. Cette équation a fait l'objet de nombreux travaux et a été confirmée par Lafon (1955). Elle peut être considérée comme valable dans 90 % des fermentations.

Par la suite, Nordstrom (1968) et Oura (1977) ont montré qu'il y avait une corrélation entre le potentiel redox du milieu en fermentation et la formation du glycérol.

D'après Oura, la formation de l'acide succinique est liée à la production du glycérol et a la même finalité : équilibrer l'excès de nucléotides réduits.

Le glycérol dont l'intérêt physiologique pour la levure paraît peu important, semble cependant jouer un rôle significatif dans la régulation de composés comme les acides pyruvique et succinique qui entrent,

par contre, dans la formation des constituants de la cellule. De même, le glycérol, par l'intermédiaire de son ester phosphorique, le L- $\alpha$  glycérophosphate, se combine aux acides gras activés pour donner l'acide phosphatidique. Ce dernier corps conduit aux lipides. Ce même ester permet l'utilisation du glycérol par de nombreuses races de levures comme source de carbone. Si la faible volatilité du glycérol explique son absence dans les rhums, par contre, on a pu y déterminer divers composés provenant de sa dégradation. Ceux-ci ont généralement une action négative sur les qualités organoleptiques des eaux-de-vie.

Depuis les travaux de Warcollier et Le Moal (1932) sur les cidres et ceux de Serjak et al. (1954), on attribue à l'action des bactéries lactiques l'apparition de l'acroléine dans les eaux-de-vie.

Dubois et al. (1973) ont identifié deux dérivés de l'acroléine dans un rhum à goût anormal : l'éthoxy-3-propanol et l'éthoxy 113 propane. Ces composés ne sont pas directement responsables de la flaveur désagréable du rhum étudié mais peuvent servir d'indicateurs.

De Smedt et Liddle (1976) ont établi une corrélation entre la présence de l'alcool allylique (propène 2 ol 1) et certains mauvais goûts dans des eaux-de-vie de types divers. Ils ont montré également une relation

(\*) C.R.A.A.G. Station de Technologie, Guadeloupe.

(\*\*) C.R.A. de Toulouse, Laboratoire de Technologie des Produits Végétaux, Auzeville.

entre les teneurs de cet alcool et ceux de l'éthoxy 113 propane.

Ainsi, le glycérol qui est à l'origine de l'acroléine (et de produits dérivés de cette aldéhyde) suivant des voies métaboliques non complètement élucidées, peut donc être dégradé dans des milieux fermentaires à base de jus de canne et de mélasse.

Compte tenu de ces considérations d'ordre biochimique et technologique, il nous a paru intéressant de préciser quelques paramètres de la production du glycérol dans la fermentation des produits de base des différents types de rhums.

#### Protocole expérimental

Le glycérol a été déterminé suivant la technique enzymatique de Eggstein et Kuhlmann (1974) après défécation des milieux naturels à l'acétate de plomb.

Les prélèvements d'échantillons de milieux fermentés ont été faits dans des installations industrielles décrites précédemment par Sabin et Parfait (1975). Rappelons simplement que les matières premières suivantes : jus de canne, sirop et mélasse, sont utilisées respectivement pour l'élaboration des rhums agricole, de sirop et industriel.

Les résultats sont rapportés dans le tableau I.

TABLEAU I

Teneurs en glycérol exprimés en g/l dans les milieux fermentaires de différents types de rhums

	Rhum agricole	Rhum de sirop	Rhum industriel
Jus .....	0	0	0
Levain .....	2,3	2,0	1,9
Début fermentation..	1,0	1,3	1,3
Fin de fermentation..	2,9	3,2	2,8
Vinasse .....	2,8	3,1	2,7

A la suite de ces mesures, des essais ont été menés au laboratoire pour préciser les conditions de formation du glycérol suivant le pH, la concentration en substrat fermentescible, le taux d'ensemencement en levures, les espèces et les souches de levures.

Les conditions de culture ont été les suivantes :

- mélasse : 300 g/l,
- taux d'ensemencement : 1 g/l,
- température de fermentation : 30 °C.

Temps (heures)	0	6	12	24	36	48	72
Saccharomyces cerevisiæ .....	0	0,8	1,1	1,5	1,6	1,8	2,8
Schizzo. pombe ...	0	0,1	0,4	9,3	9,3	9,3	9,6

L'ensemencement a été effectué à l'aide de crèmes de levures afin d'éliminer la fraction de glycérol susceptible d'être apportée par le levain.

La souche de levure saccharomycès cerevisiæ utilisée est le n° 493 de notre collection, isolée à partir d'un milieu fermentaire naturel de rhum agricole.

#### Influence du pH :

Les pH initiaux ont été fixés à 3,5 - 4,0 - 4,5 - 5,0 - 5,3.

On a suivi régulièrement l'évolution du taux de glycérol durant la fermentation.

Par exemple, pour le milieu à pH 4,0, on a noté les chiffres suivants :

Temps (heures)	0	6	12	24	48	72
Teneurs en glycérol g/l.	0	0,9	1,2	1,1	1,7	2,3

Ces chiffres varient très peu suivant les différents pH testés.

#### Influence de la richesse en mélasse :

On a fait varier les concentrations en mélasse de 150 g/l, 200 g/l, 250 g/l et 300 g/l, le taux d'ensemencement a été de 1 g/l, la température de fermentation de 30 °C et le pH initial fixé à 5.

Les taux de glycérol trouvés ont été dans l'ordre : 1,5 g/l, 1,7 g/l, 2,3 g/l et 2,5 g/l. Ils suivent la même progression que celle des sucres.

#### Influence du taux d'ensemencement :

En modifiant le taux d'ensemencement de 0,25 g/l, 0,50 g/l, 1,0 g/l, 2,7 g/l et 2,5 g/l, 4,0 g/l, 5,0 g/l dans un milieu semblable au précédent, on ne constate pas de variation statistiquement valable dans les teneurs finales en glycérol.

*Influence des espèces de levures isolées de milieux fermentaires naturels : Hansenula anomala, saccharomyces cerevisiæ, saccharomycès acéti, schizosaccharomyces pombe.*

Seules ces dernières levures ont des courbes de production de glycérol très différentes de celles des autres levures testées.

*Influence du mode de conduite des fermentations industrielles :*

En examinant le processus de fabrication généralement suivi dans l'élaboration industrielle du rhum, nous sommes rendu compte que le glycérol apparaît durant la phase de croissance aérobie des levures. Compte tenu de la richesse réduite du milieu, souvent inférieure à 200 g/l de mélasse soit 100 g/l de sucres fermentescibles environ, et du faible taux d'ensemencement pratiqué, on peut dire qu'actuellement aux Antilles françaises, une partie non négligeable de sucres est consommée pour élaborer du glycérol.

D'autre part, le fonctionnement des installations industrielles est discontinu. Les cannes amenées à la distillerie peuvent être l'objet de préfermentation, avec pour conséquence une certaine production de glycérol. Le taux de glycérol atteint 0,8 g/l en moyenne dans les canalisations qui sont mal vidées.

*Les produits dérivés du glycérol*

Les levures et les bactéries peuvent utiliser le glycérol. Pour ces derniers microorganismes, une revue a été effectuée par Lin (1976).

Ganou et Parfait (1980) ont déterminé de nombreuses espèces de bactéries dans la flore des milieux fermentaires conduisant aux diverses qualités de rhums. Comme l'indique le tableau II, les jus de canne et les mélasses, même conservées, contiennent peu de germes. Dès les premières heures de la fer-

mentation, une flore d'origine variée (installations, eau, environnement) se développe. Au cours du déroulement de la fermentation, l'anaérobiose provoque une réduction du nombre des espèces présentes dans le milieu. On retrouve alors essentiellement des bactéries lactiques et des clostridia. Des acétobacters peuvent apparaître en fin de fermentation et dégrader l'éthanol formé.

Si parfois, l'intervention s'avère bénéfique (certaines souches de clostridia, entre autres, pour la production de rhum grand arôme) le plus souvent elle est néfaste pour les qualités organoleptiques. Les acétobacters provoquent, par exemple, une augmentation préjudiciable du taux d'acide acétique et d'acétate d'éthyle.

L'apparition de dérivés volatils du glycérol est due, pour une grande part, à l'activité de bactéries lactiques, ainsi que nous avons pu l'observer dans certaines distilleries. Nous avons recherché en laboratoire, parmi les espèces de bactéries lactiques que nous avons isolées, celles qui dégradent le glycérol. Les essais ont été faits en aérobie et anaérobiose.

Trois milieux de culture ont été utilisés : M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>.

- M<sub>1</sub> { — peptone 0,5 g  
— glycérol 9 g  
— eau q.s.p. 1 l
- M<sub>2</sub> { — extrait de levures 10 g  
— glycérol 20 g  
— eau q.s.p. 1 l

TABLEAU II

Les genres de bactéries retrouvés dans les milieux fermentaires. (+) = présents, (—) = absents. Le nombre de signes indique la fréquence. A, B et C représentent les milieux conduisant au rhum agricole, au rhum de mélasse et au rhum grand arôme

GENRES	Matière première			Moût			Vin		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Enterobacteriaceæ	++	—	—	+	—	—	—	—	—
- Escherichia ....	++	—	—	—	—	—	—	—	—
- Eruvinia .....									
Acetobacter .....	—	—	—	+	—	—	+	+	—
Streptococcaceæ									
- Leuconostoc ....	+	—	—	+	—	—	+ début	—	—
- Pediococcus ....	+	—	—	+	—	—	ferm.		
Micrococcaceæ									
- Micrococcus ...	+	—	—	+	—	—	+ début	—	—
							ferm.		
Peptococcaceæ									
- Sarcina .....	—	+	+	+	+	+	++	++	+
Bacillaceæ									
- Bacillus .....	+	+	+	++	+++	+++	+	+	+
- Sporosarcina ...	+	—	—	+	+	+	—	—	—
- Clostridium ....	+	+	+	+	+	+++	+	++	++++
Lactobacillaceæ									
- Lactobacillus ...	+	—	—	+++	+++	+	+	+	+

— M<sub>3</sub> { — extrait de levures 0,5 g  
— glycérol 10 g  
— eau q.s.p. 1 l

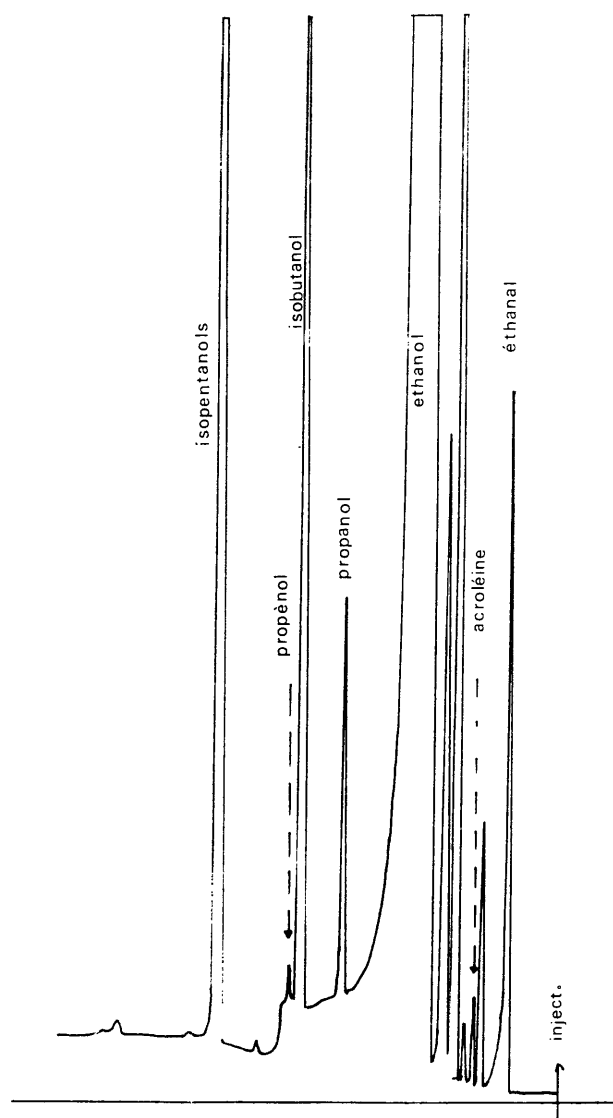


Figure 1

Dans les conditions de nos essais, certaines bactéries lactiques utilisent le glycérol comme source de carbone. Nous avons pu sûrement identifier, parmi elles, des souches de *Leuconostoc mesenteroides*. D'autres espèces ayant également une activité métabolique à partir du glycérol sont en cours d'identification.

On a mis en évidence l'acroléine et le propène 2 ol 1 parmi les produits formés, par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un Tracor 560 avec détecteurs à ionisation de flamme. La phase pour la colonne Scot de 50 pieds et de 0,2 pouce de diamètre utilisée est le Carbowax 1540 ; le débit de l'azote, gaz vecteur, est de 3 ml/mn. On a procédé à une programmation de température : 6 mn à 58 °C, puis une augmentation de 8 °C par mn jusqu'à 120 °C.

L'injection de 1 µl de rhum permet de déceler 1 ppm d'acroléine ou de propène 2 ol 1.

Un chromatogramme type est donné dans la figure 1.

### Conclusions

Dans la filière de l'élaboration du rhum, le glycérol peut se retrouver en plus ou moins grande quantité suivant le mode de conduite des opérations fermentaires.

Si la matière première (vesou ou mélasse) n'a pas fait l'objet d'activité microbienne, notamment par des levures, les teneurs en glycérol seront très faibles.

L'utilisation de cuve à levain entraîne une concentration notable du glycérol dès le début de la phase anaérobie. Les *Schizosaccharomyces* provoquent l'apparition de quantités importantes de glycérol, ce qui peut poser des problèmes lorsqu'il y a des risques de contamination par des bactéries dégradant cette substance.

En effet, des bactéries lactiques (type *Leuconostoc mesenteroides*) peuvent métaboliser le glycérol pour conduire en particulier à l'acroléine et au propène 2 ol 1 que l'on retrouve dans les rhums avec d'autres produits de caractère organoleptique négatif.

Ces observations doivent permettre d'orienter le processus de fermentation des matières premières pour l'obtention d'un rhum de bonne qualité.

### BIBLIOGRAPHIE

- DUBOIS P., PARFAIT A., DE KIMPE J. (Mme), 1973. — Présence de dérivés de l'acroléine dans un rhum à goût anormal. *Ann. Technol. Agric.*, **22**, 131-135.
- EGGSTEIN M., KUHLMANN E., 1974. — In *Methods of enzymatic analysis* (Bergmeyer H.L.), Vol. 4, 1825-1835, « Verlag Chemie Weinheim ».
- GANOU B. (Mme), PARFAIT A., 1980. — Les microorganismes de fermentation de mélasse et de jus de canne (en préparation).
- LAFON M. (Mme), 1955. — Contribution à l'étude de la formation des produits secondaires de la fermentation alcoolique. Thèse de Docteur en sciences physiques, Bordeaux, *Ann. Techn. Agri.*, 198 p.
- LIN E.C., 1976. — Catabolisme du glycérol et sa régulation chez certaines bactéries. *Annal Review of microbiology*, vol. 30.
- NORDSTROM K., 1968. — Yeast growth and glycerol formation II carbon and redox balances. *J. Inst. of brewing.*, **74**, 429-432.
- OURA E., 1977. — Reaction products of yeasts fermentations. *Process Biochemistry*, **12**, 19-35.
- SABIN G., PARFAIT A., 1975. — Les fermentations traditionnelles de mélasse et de jus de canne aux Antilles Françaises. *Ind. Agric. Alim.*, **92**, 27-34.
- SERJAK W.C., DAY W.H., VANLANEN J.M., BORUFF C.S., 1954. — Acrolein production by bacteria found in distillery grain mashes. *Applied Microbiology*, **2**, 14-20.
- DE SMEDT P., LIDDLE P.A.P., 1976. — Présence d'alcool allylique (propène 2 ol 1) et dérivés dans les eaux-de-vie. *Ind. Alim. Agric.*, **93**, 41-43.
- WARCOLLIER G., LE MOAL A., 1932. — Présence accidentelle d'acroléine dans l'eau-de-vie de cidre. *C.R. Acad. Science*, **194**, 1394.