South Dakota State University ILL

ILLiad TN: 192899

Borrower: BRL

Lending String: MFM,NWQ,*SDB,AAA,IWA

Patron:

Journal Title: Annales de technologie agricole.

Volume: 21 **Issue:** 2
Month/Year: 1972 **Pages:** 199-210

Article Author: Parfait, A, Namory, M, Dubois, P

Article Title: Les esters ethyliques des acides gras superieurs des rhums

Imprint: [Paris] Institut national de la recherche agronomique.

ILL Number: 183642347

Call #: 631.505 P218.8 v.21 (1972)

Location: PERIODICALS/LOWER LEVEL

ODYSSEY ENABLED

Charge
Maxcost: 16.00IFM

Shipping Address:
INTERLIBRARY LOAN
BOSTON PUBLIC LIBRARY
700 BOYLSTON ST.
BOSTON, Massachusetts 02116

United States
Email: interlibraryloan@bpl.org

Email: INTERLIBRARYLOAN@BPL.ORG

Ann. Technol. agric., 1972, **21** (2), 199-210.

LES ESTERS ÉTHYLIQUES DES ACIDES GRAS SUPÉRIEURS DES RHUMS

A. PARFAIT, M. NAMORY et P. DUBOIS *

Station de Technologie végétale, I. N. R. A., Petit-Bourg (Guadeloupe)

* *Station de Technologie des Produits végétaux, I. N. R. A., 21034 Dijon Cedex*

RÉSUMÉ

Les rhums de bonne qualité ont généralement une teneur élevée en esters volatils, et particulièrement en esters éthyliques des acides gras supérieurs (de C_8 à C_{16}). Ces esters sont des produits secondaires de la fermentation alcoolique, comme les alcools supérieurs, et se comportent comme eux au cours de la distillation continue.

Les teneurs en esters éthyliques des acides gras supérieurs sont plus élevées quand la distillation se fait sur lies, quand on ajoute de la cire de canne au moût avant fermentation et par sélection d'une espèce, ou même d'une souche, de levure.

Les teneurs en esters éthyliques des acides gras des distillats ont été trois fois plus élevées avec *Saccharomyces cerevisiae* S. 132 qu'avec *Saccharomyces cerevisiae* Berlin II. La teneur la plus élevée a été obtenue avec une souche de *Schizosaccharomyces pombe*, levure sauvage des régions à canne à sucre.

On n'a pas pu établir de façon certaine une corrélation entre la composition en acides gras des lipides de la cellule de levure et les esters éthyliques produits.

Mots clés : *rhums, esters éthyliques, acides gras supérieurs, distillation.*

I. — INTRODUCTION

Les eaux-de-vie peuvent être considérées comme des solutions hydroalcooliques d'un « non alcool » qui les caractérise et que l'analyse chimique permet de séparer en extrait sec, acides, aldéhydes, esters et alcools supérieurs. Ces analyses peuvent

être complétées par des observations olfactives sur des fractions isolées par distillation. Enfin, des séparations beaucoup plus fines peuvent être obtenues par chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des constituants volatils et par d'autres méthodes chromatographiques pour l'étude des composés non volatils.

Dans le cas des rhums, il pourrait y avoir une relation entre leur qualité et leur teneur en esters (KERVEGANT, 1946) et, malgré de nombreuses exceptions, il semble que des teneurs élevées en esters caractérisent les rhums les plus aromatiques. Les observations faites après distillation fractionnée permettent même de penser que ce sont les esters lourds qui influent le plus sur l'arôme de ces eaux-de-vie, comme c'est le cas pour les whiskies (SALO *et al.*, 1972). La technologie des rhums devrait donc pouvoir tirer profit des études récentes faites sur la formation des esters par les levures au cours de la fermentation des vins et des bières.

A. — *Mécanisme de formation des esters*

PEYNAUD (1956) a montré que les taux d'acétate d'éthyle des milieux fermentés dépendent de l'espèce de levure, et qu'ils sont toujours supérieurs à ceux que laisse prévoir le calcul à partir de la réaction d'équilibre chimique

$$R - COOH + R'OH \rightleftharpoons R - COOR' + H_2O$$

Selon NORDSTRÖM (1964), les esters se forment par alcoolyse des acyl-coenzymes A selon la réaction

$$R{-}CO \sim S - Co\ A + R'\ OH \longrightarrow R{-}COOR' + Co\ A\ SH,$$

et leur formation dépend des teneurs en acyl-Co A et en alcools (RAINBOW, 1970). Les alcools réagissent d'autant mieux qu'ils sont primaires, à chaîne linéraire et de plus faible poids moléculaire. L'alcool éthylique étant par ailleurs le plus abondant, les esters formés sont surtout des esters éthyliques.

De leur côté, les acyl-Co A ont trois modes de formation.

Activation des acides gras en présence d'ATP.

$$R{-}COOH + Co\ A \sim SH + ATP \longrightarrow R{-}CO \sim S\ Co\ A + H_2O + AMP + PPI$$

Compte tenu des très faibles quantités d'acides gras libres dans les milieux fermentés, il semble que cette réaction ne puisse jouer qu'un rôle mineur.

Décarboxylation oxydative des acides α-cétoniques.

$$R{-}CO{-}COOH + NAD + Co\ A \sim SH \longrightarrow R{-}CO \sim S\ Co\ A + NAD\ H_2 + CO_2$$

Cette réaction serait à l'origine de la majeure partie de l'acétyl-Co A, par décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique. Les autres acides α-cétoniques, c'est-à-dire certains intermédiaires du métabolisme des sucres et des acides aminés, sont présents en bien plus faibles quantités que l'acide pyruvique, et il se forme très peu d'esters des acides correspondants (propionique, isobutyrique, méthyl-2 et méthyl-3 butyrique).

Réaction entre un acyl-Co A et le malonyl-Co A.

$$R—CO \sim S—Co\ A + HOOC—CH_2—CO \sim S—Co\ A + 2\ NAD\ H_2 \longrightarrow$$
$$R—(CH_2)_2—CO \sim S—Co\ A + Co\ A \sim SH + 2\ NAD + CO_2 + H_2O$$

Cette réaction, qui mène à la formation des acides gras des lipides de constitution de la levure, est également à l'origine des esters éthyliques des acides gras linéaires à nombre pair d'atomes de carbone.

La formation d'esters est liée à la croissance des levures, tout comme celle des alcools supérieurs, et la formation des esters des acides gras supérieurs est plus particulièrement liée au métabolisme des lipides.

Elle est donc, comme celle des lipides, favorisée par la présence d'acide pantothénique, en tant que constituant du coenzyme A, et de la biotine qui participe à la carboxylation de l'acétyl-Co A en malonyl-Co A, et qui, de ce fait, concurrence la formation d'acétate d'éthyle.

Les facteurs qui limitent le développement des levures ont un rôle inhibiteur. C'est notamment le cas des acides gras linéaires possédant de 6 à 10 atomes de carbone qui sont toxiques pour les levures.

B. — *Les fermentations en rhumeries*

On connaît imparfaitement la flore qui se développe dans les milieux mis en fermentation pour produire les différents types de rhums. HARRISSON et GRAHAM (1970) signalent, dans une mise au point, que les levures bourgeonnantes ont progressivement remplacé, à la Jamaïque, une levure scissipare, *Schizosaccharomyces melacei*, qui était dominante au début du siècle.

Dans l'ensemble, les levures scissipares seraient préférables aux levures bourgeonnantes, en partie parce qu'elles favorisent le développement de bactéries butyriques (*Clostridium saccharobutyricum*, notamment) qui produisent des quantités très importantes d'esters. Ces levures scissipares sont particulièrement abondantes dans la flore utilisée pour l'élaboration des rhums « grand arôme ».

Il est également possible que des levures du genre *Torulopsis* jouent un rôle important dans la formation d'esters à partir des sucres.

Aux Antilles françaises, *Saccharomyces cerevisiae* est l'agent principal des fermentations. D'autres levures sont présentes, notamment des *Pichia*, *Hansenula*, *Candida* et *Schizosaccharomyces*. Leur rôle est difficile à apprécier dans la pratique.

C. — *Rôle de la distillation*

Les esters sont peu solubles dans l'eau et se comportent comme des produits de tête dans les milieux de faible degré alcoolique. Ils se comportent, au contraire, comme des produits de queue dans les colonnes à distiller lorsque le degré alcoolique atteint des valeurs de l'ordre de 50 à 60°GL. Seul l'acétate d'éthyle passe toujours en tête. Le butyrate et l'hexanoate d'éthyle distillent sensiblement en même temps que l'éthanol. Les esters éthyliques des acides à 8 atomes de carbone et plus distillent après l'éthanol et ce sont ces acides que nous considérons ici comme supérieurs.

La teneurs des rhums en esters éthyliques des acides gras supérieurs est donc

liée aux degrés alcooliques auxquels ils sont distillés dans les appareils *conti*. Plus ce degré est élevé et plus le rhum obtenu est pauvre en ces esters. Il est in-ressant de noter que le comportement des alcools supérieurs est assez semblab celui des esters lourds.

Quoi qu'il en soit, les résultats analytiques obtenus sur des rhums, et nota-ment les résultats quantitatifs obtenus par LIEBICH *et al.* (1970) (tabl. 1) montre que les principaux esters sont les esters éthyliques des acides gras à nombre p d'atomes de carbone. L'acétate et le butyrate d'éthyle dominent parmi les est légers, le caprate et le palmitate parmi les esters lourds. Certains esters d'acid insaturés sont également présents, mais en plus faibles proportions.

TABLEAU I

Esters éthyliques signalés dans les rhums

Esters éthyliques	Auteurs				
	BARRAUD 1963	STEVENS 1965	MAARSE 1966	SUOMALAINEN 1968	LIEBICH *et al.* 1970 (p.p.m.)
Formate	+		+		10
Acétate	+		+		200
Propionate	+		+		50
n-butyrate	+		+		220
Isobutyrate			+		8
Pentanoate			+		40
Méthyl butyrate			+		2,5
n-hexanoate			+	+	40
n-heptanoate			+		2,5
n-hepténoate					1,5
n-octanoate		+	+	+	15
n-nonanoate			+		0,3
n-décanoate		+		+	25
n-undécanoate					0,13
n-dodécanoate		+		+	15
n-dodécénoate					0,28
n-tétradécanoate		+		+	6
n-pentadécanoate					0,8
n-hexadécanoate				+	50
n-hexadécénoate		+		+	1,5
n-heptadécanoate					0,05
n-octadécanoate					0,5
n-octadécénoate					8
n-octadécadiénoate					50

Après avoir dosé les esters éthyliques des acides gras supérieurs dans des rhu du commerce, on a étudié divers facteurs susceptibles d'intervenir sur les tenen des rhums en ces constituants : présence des levures au cours de la distillatio fermentation en présence de cire de canne, fermentation par diverses espèces levures. Ces différents points ont été complétés par l'analyse des lipides de cons tution des levures.

II. — MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. — *Milieux de culture*

Deux milieux ont été utilisés, l'un est à base de mélasse de canne, l'autre synthétique.

Milieu mélasse.

Mélasse de canne q.s.p.	110	g de sucre
Sulfate d'ammonium	2	g
Eau q.s.p	1 000	ml

Milieu synthétique.

Saccharose	100	g
Sulfate d'ammonium	5	g
Sulfate de magnésium	0,1	g
Phosphate monopotassique	6	g
Thiamine	1	mg
Pantothénate de calcium	1	mg
Biotine	0,1	g
Eau q.s.p.	1 000	ml

Ces solutions sont amenées à pH = 5 à l'aide d'acide sulfurique et stérilisées par traitement à 110°C pendant 35 minutes.

B. — *Levures utilisées*

En dehors de *Schizosaccharomyces pombe* qui a été isolée d'un milieu à base de jus de canne en fermentation, les autres espèces provenaient de la collection de la Station de Technologie des Produits végétaux de Dijon : *Saccharomyces cerevisiae* souches Berlin II et S. 132, *Pichia membranaefaciens*, *Hansenula anomala* et *Candida krusei*. Ces levures sont celles qui ont été signalées comme participant à la fermentation des moûts en rhumeries.

Avec une culture jeune de levures, on inocule des fioles contenant 100 ml de milieu liquide de Wickerham à base de malt. Après 24 heures environ à 28°C, en milieu agité, les levures sont recueillies par centrifugation, puis elles sont lavées deux fois avec de l'eau physiologique. Tous les milieux sont ensemencés de façon à ce qu'ils contiennent au départ $5 \cdot 10^6$ levures par ml. Un barreau aimanté assure l'agitation le premier jour et la fermentation dure de 3 à 4 jours à 28°C.

C. — *Analyses faites sur les distillats*

L'appareil à distiller est en verre et comporte un ballon, un chauffe-ballon électrique, une colonne de Vigreux de 50 cm de hauteur et un réfrigérant.

Les esters éthyliques des acides gras de 8 à 16 atomes de carbone sont peu polaires et leur solvant le plus sélectif doit lui-même être peu polaire. On a choisi le pentane.

Une prise d'essai de 100 ml de distillat à 50°GL est agitée vigoureusement avec 50 ml de pentane. L'addition de 100 ml d'eau provoque une démixtion immédiate sans formation d'émulsion. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre et ramenée à un dixième de millilitre par distillation. Deux microlitres sont injectés dans un chromatographe Perkin-Elmer modèle 880, dans les conditions suivantes : colonne à remplissage de Chromosorb G 80/100 mesh imprégné d'OV 17 à 5 p. 100, longueur 4 mètres, diamètre 3 mm. Débit d'azote 25 ml/mn. Température programmée dès l'injection de 160 à 240°C à 2°C par minute. Les rhums ne contenant que des traces de pélargonate d'éthyle, cette analyse est rendue quantitative par addition d'un millilitre d'une solution alcoolique de cet ester à 1 mg/ml aux 100 ml de distillat mis en œuvre. Des essais préalables effectués sur des solutions synthétiques ont montré que les erreurs

relatives étaient inférieures à 5 p. 100. La nature exacte des esters a été vérifiée dans les m conditions chromatographiques, mais en couplage avec un spectromètre de masse Varian M type CH 5 (source 250°C, énergie des électrons 70 *e*V). Tous ces esters éthyliques se caracté par un pic de réarrangement pour $m/e = 88$,

et par leurs pics moléculaires. La spectrométrie de masse permet en outre de constater l'abs d'interférences importantes.

D. — *Analyses faites sur les levures*

Après fermentation, les levures sont séparées par centrifugation (10 000 *g*). Elles sont la deux fois à l'eau physiologique, puis récoltées au fond des tubes à l'aide d'une spatule. A pesée de la masse humide, la teneur en matière sèche est déterminée sur une partie aliquo

Les lipides totaux des levures sont déterminés par la méthode de KAHANE et ROUS (19 puis saponifiés par la potasse alcoolique. L'insaponifiable est extrait à l'éther de pétrole. A acidification, les acides gras sont extraits par le même solvant, puis ils sont estérifiés pa méthanol chlorhydrique et analysés par chromatographie en phase gazeuse sur une colon remplissage imprégnée de succinate de diéthylène glycol (taux d'imprégnation 15 p. 100, gueur 3 mètres, diamètre intérieur 3 mm, Chromosorb G 80/100 mesh, température 190°C

E. — *Autres dosages*

La numération des levures se fait avec une cellule compte-globules sur une dilution con nable du milieu. Les sucres réducteurs sont dosés, après hydrolyse acide, par la méthode Bertrand. Enfin, les acides volatils sont déterminés après entraînement par la vapeur d'e

III. — RÉSULTATS

A. — *Teneurs en esters éthyliques des acides gras supérieurs de rhums du commerce*

On a comparé les teneurs en ces esters de cinq rhums : deux rhums agric obtenus à partir de jus de canne dans une usine traditionnelle où les fermentat sont le plus souvent spontanées, et trois rhums obtenus à partir de mélasse : rhum industriel distillé à 64°GL, un rhum léger distillé à 94°GL, et un rhum « gra arôme » distillé à 63°GL comme le rhum industriel, mais obtenu par un procéd fermentation qui fait appel à un levain comportant des levures du genre *Schizo romyces* et des bactéries.

Les résultats obtenus sont indiqués sur le tableau 2.

Les trois premiers rhums ont des teneurs très semblables en ces esters, a que le rhum léger n'en contient que des traces, le plus abondant étant le ca d'éthyle dont la teneur est de l'ordre de 0,05 mg/litre d'alcool pur. Les chi obtenus pour le rhum « grand arôme » sont beaucoup plus faibles que ceux étaient attendus. Ce rhum a une teneur très faible en esters totaux (de l'ordr 2 g/litre d'alcool pur).

TABLEAU 2

Esters éthyliques de différents rhums du commerce
(en mg par litre d'alcool pur)

Type de rhum	Rhum agricole	Rhum vieux agricole	Rhum indus. mélasse	Rhum léger	Rhum grand arôme
Degré alcoolique (°GL)	55	50	64	94	63
Ester de l'acide n-C_8	16,6	22,0	10,6		5,0
Ester de l'acide n-C_{10}	28,0	40,0	30,0	0,05	6,0
Ester de l'acide n-C_{12}	16,0	20,0	34,0		10,0
Ester de l'acide n-C_{14}	3,6	10,0	5,6		3,0
Ester de l'acide n-C_{16}	17,0	18,0	20		5,0
Total	81,2	110,0	100,2		29,0

B. — *Rôle des levures au cours de la distillation*

On a utilisé le milieu synthétique et le milieu à base de mélasse, avec comme levure *Saccharomyces cerevisiae* Berlin II. A chaque essai, quatre litres de milieu sont préparés et mis en fermentation, puis ils sont divisés en deux parties égales dont l'une est centrifugée avant distillation pour éliminer les levures.

Les résultats rapportés par le tableau 3 font apparaître que la distillation en présence de levures entraîne un gain important en esters. Ces composés sont peu solubles dans les milieux de faible degré alcoolique et s'y trouvent, sans doute, adsorbés à la surface des levures et des particules en suspension.

TABLEAU 3

Rôle des levures et de la cire de canne sur les teneurs des distillats en esters éthyliques des acides gras supérieurs
(n-C_8 à n-C_{16} en mg par litre d'alcool pur)

Levures	Milieu synthétique				Milieu mélasse			
	Sans cire		Avec cire		Sans cire		Avec cire	
	avec	sans	avec	sans	avec	sans	avec	sans
Degré du distillat (°GL)	46	46	43	43	63	63	61	61
Volume du distillat (en ml) ..	160	160	150	150	180	180	180	180
n-C_8	16,0	14,5	16,0	8,5	5,0	5,5	10,0	7,0
n-C_{10}	16,0	10,0	13,5	6,0	16,0	9,0	32,0	14,0
n-C_{12}	5,0	—	3,0	—	8,0	5,0	9,0	5,0
n-C_{14}	—	—	—	—	2,0	2,0	3,0	1,5
n-C_{16}	—	—	—	—	5,5	6,0	5,0	4,0
Total	37,0	24,5	32,5	14,5	36,5	27,5	59,0	31,5

C. — *Rôle de la cire de canne*

La cire est la partie la plus riche en acides gras supérieurs de la canne (10 p. selon MARTIN et JUNIPER, 1970), et il était intéressant de voir quelle pouvait son influence.

Elle a été ajoutée sous forme d'une émulsion à la dose de 0,300 g pour 4 l de milieu. Les résultats (tabl. 3) montrent que cette addition de cire permet milieu à base de mélasse de canne de doubler les teneurs des distillats en es éthyliques des acides gras à 8 et 10 atomes de carbone qui sont parmi les p intéressants sur le plan olfactif (SALO *et al.*, 1972).

Les milieux synthétiques sont incomplètement fermentés et les résultats obten sont inutilisables.

D. — *Rôle de l'espèce de levure*

EL SHEHATA (1960) a montré que les moûts à base de mélasse de canne étai fermentés, dans la pratique, par les espèces de levures suivantes : *Saccharom cerevisiae, Schizosaccharomyces pombe, Hansenula anomala, Pichia membranaefac* et *Candida krusei*. Les deux premières fermentent bien en milieu anaérobie, les de dernières ne fermentent pas le saccharose.

TABLEAU 4

Esters éthyliques de distillats obtenus avec différentes espèces de levures
(en mg par litre d'alcool pur)

Espèce de levure	*P. m.*	*H. a.*	*S. p.*	*C. k.*	*S. c.* 13
Volume du distillat (en ml) ..	140	120	150	100	160
Degré alcoolique (°GL)	70	74	80	59	84
Ester de l'acide n-C_8	20,0	1,0	28,0	4,0	19,0
Ester de l'acide n-C_{10}	72,0	12,0	108,0	9,0	70,0
Ester de l'acide n-C_{12}	39,0	7,0	47,0	6,0	18,0
Ester de l'acide n-C_{14}	6,0	2,0	7,0	1,0	3,0
Ester de l'acide n-C_{16}	3,0	7,0	6,0	3,0	4,0
Total	140,0	28,0	196,0	22,0	114,0

Espèces de levures utilisées :
Pichia membranaefaciens (*P. m.*), *Hansenula anomala* (*H. a.*), *Schizosaccharomyces pombe* (S. *Candida krusei* (*C. k.*), *Saccharomyces cerevisiae S. 132* (*S. c.* 132).

Nous avons mis à fermenter, dans les conditions définies plus haut, cinq milie à base de mélasse avec respectivement chacune des levures suivantes :

— *Pichia membranaefaciens* (*P. m.*)
— *Hansenula anomala* (*H. a.*)
— *Schizosaccharomyces pombe* (*S. p.*)
— *Candida krusei* (*C. k.*)
— *Saccharomyces cerevisiae* S. 132 (*S. c.* 132).

Après fermentation, les milieux sont distillés en présence de levures. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 4.

Certains milieux ont été incomplètement fermentés car *Pichia* et *Candida* ne fermentent pas le saccharose.

E. — *Contenu en acides gras des levures*

Les déterminations ont été faites sur des levures provenant de milieux fermentés à base de mélasse analogues aux précédents, mais, pour favoriser la multiplication des levures, la période d'agitation a été portée à 48 heures au lieu de 24. Les tableaux 5 et 6 rendent compte des résultats obtenus lors de diverses déterminations.

TABLEAU 5

Données sur la fermentation par différentes espèces de levures en milieu mélasse

Espèce de levure	*P. m.*	*H. a.*	*S. p.*	*C. k.*	*S. c. 132*
Nombre initial cellules/ml ...	4×10^6	4×10^6	4×10^6	4×10^6	4×10^6
Nombre final cellules/ml	95×10^6	530×10^6	310×10^6	186×10^6	270×10^6
MS levure récoltée (mg/ml) ..	2,11	3,75	3,7	2,54	3,24
Sucre initial (mg/ml)	110	110	110	110	110
Sucre restant (mg/ml)	99,2	13,7	13,7	79,6	7,9
Acidité volat. finale (méq./ml)	17,5	21	13	25	24

TABLEAU 6

Composition comparée des lipides de diverses espèces de levures

Espèce de levure	*P. m.*	*H. a.*	*S. p.*	*C. k.*	*S. c. 132*
Lipides/MS (p. 100)	10	7,2	7,5	5,8	8,8
Total acides gras saturés (p. 100) ...	46,6	33,6	46,9	26,9	45,5
Acide n-C_{10} (p. 100)	4,2	0,9	4,4	1,3	2,9
Acide n-C_{12} (p. 100)	3,7	0,6	4,4	0,4	2,8
Acide n-C_{14} (p. 100)	2,2	0,8	1,7	1,3	1,5
Acide n-C_{16} (p. 100)	31,4	24,9	26,4	22,7	27,6
Acide n-C_{18} (p. 100)	4,9	6,2	10,0	2,0	10,4

Il semble y avoir une certaine corrélation entre la quantité d'esters éthyliques des acides gras supérieurs produite par ces levures et leurs teneurs en acides gras saturés. Cependant, les méthodes utilisées ne permettent pas de savoir si les acides gras dosés étaient liés au glycérol dans les lipides de constitution, ou s'ils étaient sous forme d'esters éthyliques et associés aux parois des levures.

IV. — DISCUSSION

Les teneurs en esters éthyliques des acides gras supérieurs des rhums commerce sont proches de celles que nous nous attendions à trouver, sauf en qui concerne le rhum « grand arôme ». Sur des rhums de ce type, LIEBICH et (1970) indiquent des teneurs de l'ordre de 170 mg par litre d'alcool pur, donc teneurs beaucoup plus élevées et qui se rapprochent de celles obtenues lors de travail avec *Schizosaccharomyces pombe*. L'origine mal définie de ces produits permet de faire que des constatations.

La présence de levures lors de la distillation permet d'obtenir des eaux-de-plus riches en esters. Cela confirme les travaux de GUYMON et CROWELL (1969 explique partiellement la préférence des praticiens pour la méthode de distillati sur lies.

GUYMON et CROWELL (1969) supposent que, lors de distillations en continu, acides gras libérés par les levures sont estérifiés par l'éthanol sur les premiers p teaux de la colonne. Les résultats rapportés ici ne semblent pas pouvoir s'expliq de cette façon puisque les distillations ont été réalisées, au laboratoire, en disconti et que de ce fait les acides gras supérieurs n'ont pas pu se trouver à l'état libre présence d'une forte concentration en éthanol. Il semble plus probable que c esters étaient liés aux levures, soit sur leur paroi, soit dans leur contenu cellulai et qu'ils ont été libérés par chauffage.

Les résultats concernant l'addition de cire sont plus difficiles à interpré puisqu'on connaît mal sa composition. On sait qu'elle contient une faible quanti d'acides gras libres à nombre d'atomes de carbone très élevé, qui sont des activateu de croissance des levures, mais on ignore ses teneurs en biotine et en acide pant thénique qui ne sont pas des facteurs limitants dans la pratique industrielle. Il sera intéressant de savoir si la simple addition d'acide palmitique n'aurait pas le mêm effet, l'acide palmitique étant le principal acide gras des lipides de la levure.

Enfin, on a pu constater d'importantes différences d'une espèce de levure une autre, et même d'une souche à une autre au sein d'une même espèce. En effe dans les mêmes conditions, *Saccharomyces cerevisiae* Berlin II avait produit 36,5 m de ces esters par litre d'alcool pur (tabl. 3) alors que *Saccharomyces cerevisiae* S. I en a produit 114 (tabl. 4).

La teneur la plus élevée a été obtenue avec *Schizosaccharomyces pombe* qui e justement l'espèce dominante dans la flore des vins préparés en vue de la producti du rhum « grand arôme ».

V. — CONCLUSION

Bien que leur mélange ne puisse être à l'origine de l'arôme caractéristique d rhums, il semble probable que les esters éthyliques des acides gras volatils participe à leurs qualités. De ce fait, il était utile de préciser les conditions qui permette d'obtenir des rhums riches en ces constituants.

Le facteur le plus important est sans doute la distillation et le degré alcoolique auquel les alcools sont obtenus en continu. Plus le taux de rectification est élevé, plus les teneurs en esters et alcools supérieurs sont faibles.

Par contre, trois facteurs semblent pouvoir être utilisés pour augmenter les teneurs en esters tout en gardant des teneurs faibles en alcools supérieurs : l'addition de cire, la distillation des moûts troubles et la sélection d'une espèce, ou même d'une souche, de levure.

Reçu pour publication en octobre 1972.

SUMMARY

ETHYL ESTERS OF THE RUM HIGHER FATTY ACIDS

Good quality rums have generally a high content of volatil esters and especialy of ethyl esters of higher fatty acids (n-C_8 to n-C_{16}). These esters are secondary products of alcoholic fermentation, like higher alcohols, and behave like them during a continuous distillation process.

The quality of rums should be improved using our recent knowledges on esters production by yeasts in beer and wine.

Higher contents of ethyl esters of higher fatty acids can be obtained when the yeasts are not removed from the wines before distillation, when sugar cane wax is added to the must before fermentation and when a yeast species, and even a yeast strain, is selected.

The higher fatty acid ethyl ester contents of distillates were three times higher with *Saccharomyces cerevisiae* S. 132 than with *Saccharomyces cerevisiae* Berlin II. The highest content was obtained with a strain of *Schizosaccharomyces pombe*, a native yeast of sugar cane growing countries.

A correlation between the fatty acids composition of the lipids of the yeasts cells and the ethyl esters produced could not be conclusively established.

RESUMEN

LOS ESTERES ETILICOS DE LOS ACIDOS GRASOS SUPERIORES DE LOS RONS

Los rons de buena calidad presentan, generalmente, un elevado contenido en ésteres volátiles y, en particular, en ésteres etílicos de los ácidos grasos superiores (de C_8 a C_{16}). Estos ésteres son productos secundarios de la fermentación alcohólica, del mismo modo que los alcoholes superiores y su comportamiento es idéntico al de estos últimos durante el transcurso de la destilación continua.

Los contenidos en ésteres etílicos de los ácidos grasos superiores son más elevados cuando la destilación se efectúa sobre heces, cuando se añade cera de cana al mosto antes de la fermentación y por selección de una especie, o incluso de una estirpe, de levadura.

Los contenidos en ésteres etílicos de los ácidos grasos de los destilados han sido tres veces más elevados con *Saccharomyces cerevisiae* S. 132 que con *Saccharomyces cerevisiae* Berlin II. El contenido más elevado ha sido obtenido con una estirpe de *Szhizosaccharomyces pombe*, levadura salvaje de las regiones de caña de azucar.

No se ha podido establecer de forma certera una correlación entre la composición en ácidos grasos de los lípidos de la célula de levadura y los ésteres etílicos producidos.

RIASSUNTO

GLI ESTERI ETILICI DEGLI ACIDI GRASSI SUPERIORI DEI RUM

I rum di buona qualità hanno generalmente un elevato tenore di esteri volatili e in pa-icolare, di esteri etilici degli acidi grassi superiori (da C_8 a C_{16}). Questi esteri sono dei prod secondari delle fermentazione alcoolica, come gli alcooli superiori e si comportano come s durante la distillazione continua.

Il tenori di esteri etilici degli acidi grassi superiori sono più elevati quando la distillaz avviene su fecce, quando si aggiunge della cera di canna al mosto prima della fermentazio mediante selezione di una specie o anche di un ceppo di lievito.

I tenori in esteri etilici degli acidi grassi dei distillati sono stati tre volte più elevati *Saccharomyces cerevisiae* S. 132 che con *Saccharomyces cerevisiae* Berlin II. Il tenore più elev è stato ottenuto con un ceppo di *Schizosaccharomyces pombe*, lievito selvatico della re da canna da zucchero.

Non si è potuto stabilire in modo sicuro una correlazione tra la composizione degli acidi gra dei lipidi delle cellula di lievito de gli esteri etilici prodotti.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BARAUD J., MAURICE A., 1963. Les alcools et esters des eaux-de-vie de canne et de pomme. *Ind aliment. agric.*, (1), 3-7.

EL SHEHATA A. M., 1960. Yeasts isolated from sugar cane and its juice during the productio « Aguardente de Cana ». *Appl. Microbiol.*, (8), 73-75.

GUYMON J. F., CROWELL E. A., 1969. Gas chromatographic determination of ethyl esters of fa acids in brandy or wine distillates. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **20** (2), 76-85.

HARRISSON J. S., GRAHAM J. C. J., 1970. In *The Yeasts*, vol. 3, Acad. Press, London.

KAHANE E., ROUS S., 1961. Nouvelle méthode d'extraction des lipides, in *Enzymes of lipid metabol* 82-90, Pergamon Press, Oxford.

KERVEGANT D., 1946. *Rhums et eaux-de-vie de canne*. Les Éditions du Golfe, Vannes.

LIEBICH H. M., KOENIG W. A., BAYER E., 1970. Analysis of the flavor of rum by gas liquid chro tography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.*, **8** (9), 527-533.

MAARSE H., ten NOEVER DE BRAUW M. C., 1966. The analysis of volatile components of Jam rum. *J. Food Sci.*, **31**, 951-955.

MARTIN J. T., JUNIPER B. E., 1970. *The cuticles of plants*. Ed. Arnold Publishers Ltd, Edinbu

NORDSTRÖM K., 1964. Studies on the formation of volatile esters in fermentation with brewer's ye *Svensk Kemisk Tidskrft*, **76** (9), 510-543.

PEYNAUD E., 1956. Sur la formation d'acétate d'éthyle par les levures du vin. *Industr. aliment. a* **73** (4), 253-256.

RAINBOW C., 1970. Brewer's yeasts, in *The yeasts*, vol. 3, Acad. Press, London.

STEVENS R., 1965. Gas chromatographic identification of ethyl esters of fatty acids in domestic imported rums. *J. Ass. off. agric. Chem.*, **48** (4), 802-805.

SALO P., NYKANEN L., SUOMALAINEN H., 1972. Odor thresholds and relative intensities of vo aroma components in an artificial beverage imitating whisky. *J. Food Sci.*, **37** (3), 394-398.

SUOMALAINEN H., PUPUTTI E., NYKANEN L., 1968. Composition of the aroma in some bran whisky and rum analyzed by customary methods and by gas chromatography. *Kemian Teolli* **25** (5), 399-404.