Les acides, totaux et volatils, sont évalués en acide sulfurique comme dans les analyses du même auteur que nous reproduisons ultérieurement.

A la Jamaïque, on laisse les écumes aigrir pendant quelques jours avant de les utiliser. Pour la fabrication des rhums à grand arôme, on les envoie dans des citernes à demi-remplies de bagasse et de paille de canne, où elles séjournent 4 à 6 jours. L'acidité des écumes mûres est d'autant plus élevée que l'on se propose d'obtenir un rhum plus corsé.

Cette acidité est due principalement à la présence d'acides fixes, parmi lesquels prédomine l'acide lactique et qui représentent 75 à 80 % des acides totaux. Les écumes fraîches ayant une réaction neutre, les acides prennent naissance au cours des fermentations microbiennes qui se développent pendant la conservation des écumes. Ashby a pu isoler de celles-ci de nombreuses bactéries, parmi lesquelles il a trouvé presque toujours une bactérie lactique, qui forme dans le liquide des masses gélatineuses arrondies.

Les écumes obtenues autrefois avaient une richesse saccharine plus élevée que celles indiquées ci-dessus. On considérait habituellement que 60 litres d'écumes possédaient la même teneur en sucre que 10 litres de mélasse. Dans certains cas toutefois, il fallait jusqu'à 1 hl. d'écumes pour donner la même quantité de rhum que 10 litres de mélasse.

Lavures.

On désignait autrefois sous le nom de lavures *stricto sensu*, le produit provenant du lavage des bacs ayant contenu des mélasses. Celles-ci étant mal épuisées, il se déposait au fond des bacs une couche, épaisse de plusieurs centimètres, d'un sucre noirâtre que l'on dissolvait au moyen d'eau chaude. Le liquide obtenu, marquant environ 32° Brix, était souvent utilisé seul dans la préparation des moûts. Il entrait très rapidement en fermentation et donnait un rhum léger, à bouquet plus fin que le rhum de mélasse.

Dans un sens plus large on appelle *lavures* les liquides provenant du lavage des divers récipients ayant contenu des matières sucrées (bacs à jus et à sirop, chaudières de défécation, etc.). Ces liquides sont normalement envoyés à la distillerie, où ils sont réunis aux écumes ou mélangés, lors de la composition des moûts, aux autres matières premières.

Acide et arome.

Dans la fabrication du rhum Jamaïque à grand arôme (type *german rum*) on utilise du jus de canne qui a été l'objet d'un traitement préliminaire destiné à développer certains principes aromatiques (acides, esters).

L' « acide » (*acid*) est obtenu en soumettant du jus, préalablement défèqué à la chaleur et additionné de vinasse et parfois d'un peu d'écumes, à la fermentation alcoolique. Lorsque celle-ci est presque terminée, le liquide est dirigé dans des citernes à demi-remplies de bagasse et de paille de canne, où on le laisse s'acidifier. On envoie aussi de temps à autre dans ces citernes les dépôts provenant des moûts fermentés. De la première citerne, le liquide est transféré dans une seconde, puis dans une troisième. A la sortie de cette dernière l' « acide » est bon à être employé dans la composition des moûts. Il possède alors l'odeur de la bière aigre.

L' « arôme » (*flavour*) est préparé en faisant fermenter du jus de canne avec de la vinasse de l'année précédente (partie claire), dans des citernes contenant de la bagasse. On y ajoute aussi habituellement une certaine quantité du liquide provenant du *muck hole*, où l'on envoie les dépôts de vinasse et de petites eaux, les eaux de lavage des appareils, de la bagasse et autres résidus de l'usine.

Nous donnons ci-après, suivant Allan, la composition des produits obtenus. Ceux-ci sont particulièrement riches en acides fixes.

	Brix %	Sucres totaux %	Acides totaux gr. par l.	Acides volatils gr. par l.	Alcool %
Acide	5.65	0 30	25.0	4 9	0 46
—	6.65	0 36	45.0	7.5	0.57
— 2e citerne . .	.06	0.59	26 0	3.6	4.39
— mûr	5.60	0 42	24.5	6.8	—
Arôme	7.18	0 39	22.5	5.1	1.74
—	8 90	0.20	27 0	8.0	0.47

Les fonds de cuve, formés principalement par des cellules de levures mélangées avec de la folle bagasse, paraissent jouer un rôle particulièrement important dans la « maturation » de l'acide et de l'arôme (1). Ceux obtenus dans la fabrication du *german rum* ont, d'après Allan, comme composition :

	A	B
Brix	15.95	10.53
Sucres totaux	0.94	0.23
Acides totaux	33.30	47. 0
Acides volatils	6.80	3.10
Alcool	6.05	8.87

Boname donne l'analyse suivante de 3 fonds de cuve provenant de la fermentation des mélasses à l'île Maurice (gr. par litre) :

Matières organiques	178.3	118.0	291.0
Matières azotées (N x 6,25)	23.0	31.25	68.75
Matières minérales	65.4	22.8	33.6
Silice	6.55	3.05	3.91
Chlore	2.78	1.04	1.95
Acide sulfurique	20.85	1.26	1.56
Acide phosphorique	1.86	3.05	4.70
Chaux	21.81	4.50	4.70
Magnésie	2.30	1.02	1.45
Potasse	6.52	5.99	9.28
Soude	0.61	0.37	1.75
Oxyde de fer	0.63	1.24	4.10

Vinasse.

La vinasse, appelée plus couramment *vidange* aux Antilles françaises et *dunder* dans les pays anglais, est le résidu de la distillation des moûts fermentés.

Autrefois, aux Antilles françaises, la vinasse était reçue à sa sortie des appareils distillatoires dans des bassins en maçonnerie à large surface, afin de faciliter le refroidissement. Dans les distilleries importantes, il y avait à la suite les uns des autres plusieurs bassins, que le liquide parcourait successivement, de façon à sortir du dernier suffisamment refroidi pour l'emploi. Ce refroidissement à l'air libre présente l'inconvénient de permettre l'envahissement de la vinasse par toutes sortes de bactéries et de germes nuisibles. Aussi, aujourd'hui, dans les installations un peu importantes, emploie-t-on d'ordinaire des réfrigérants tubulaires, qui amènent la température du liquide à 30-35°. Lorsque l'eau fait défaut, on utilise aussi fréquemment les réfrigérants à cascade. Ceux-ci sont constitués par plusieurs étages (5 à 10) de fascines ou de lattes, sur lesquelles ruisselle la vinasse, distribuée à la partie supérieure du réfrigérant par des gouttières en bois percées de trous.

(1) D'après Cousins, les esters et les acides à poids moléculaire élevé, qui jouent un rôle important dans la formation du bouquet des rhums Jamaïque à grand arôme, proviendraient de la décomposition bactérienne des cellules de levures mortes que l'on trouve dans les boues de moûts fermentés et de vinasse.

Au point de vue composition et propriétés, il convient de distinguer la vinasse de vesou et la vinasse de mélasse.

La première est un liquide de couleur jaunâtre, peu dense, ayant habituellement entre 1.010 et 1.020 de densité (3 à 5° Brix). Son acidité est assez variable, suivant la pureté des fermentations. Elle est généralement comprise entre 3 et 5 gr. (en SO_4H_2) par litre. Au début du siècle, lorsque les fermentations étaient plus longues et moins pures, l'acidité de la vinasse de vesou atteignait aux Antilles françaises 6 à 7 gr. par litre (Pairault). La matière sèche, habituellement comprise entre 30 et 50 gr. par litre, renferme en moyenne 4 gr. de cendres riches en acide phosphorique et en potasse.

La vinasse de mélasse est de couleur brun foncé et d'une densité beaucoup plus forte que celle du vesou : 1040 à 1075 (10 à 19° Brix environ), mais parfois jusqu'à 1090 quand elle provient des moûts concentrés servant à la fabrication des rhums à grand arome. Son acidité moyenne, dans le cas de fermentations pures, est de 4 à 6 gr. par litre. Mais elle atteint jusqu'à 30 gr. par litre, pour les vinasses de rhum grand arôme. Entre ces extrêmes, peuvent exister tous les intermédiaires. Pairault, au début du siècle, indiquait comme acidité moyenne des vinasses de mélasse des Antilles françaises 10-11 gr. par litre. L'acidité volatile (formée surtout par de l'acide formique) varie entre 10 et 40 % de l'acidité totale. Les matières sèches (80 à 200 gr. par litre) comprennent 20 à 50 gr. par litre de cendres riches en potasse ; 3 à 9 gr. de matières azotées ; des quantités variables, mais généralement faibles (2 à 4 gr. en moyenne par litre), de sucres ayant échappé à la fermentation et de réducteurs infermentescibles.

Boname (1) donne la composition centésimale suivante pour des vinasses de mélasse de l'île Maurice :

Densité	1034	1068
Matières organiques	6.63	14.18
Matières minérales	1.60	2.77
Matières azotées (N x 6.25)	0.14	0.55

Les matières minérales étaient composées comme suit (en gr. par litre) :

Silice	0.22	1.02
Chlore	2.35	4.28
Acide sulfurique	1.75	2.40
Acide phosphorique	0.13	0.55
Chaux	2.63	5.65
Magnésie	1.33	2.63
Potasse	5.80	6.76
Soude	0.36	0.49
Oxyde de fer	0.16	0.61

D'après Pairault, la proportion de matières azotées est assez variable. Lorsqu'on ajoute du sulfate d'ammoniaque aux moûts, ce sel, s'il est employé en excès, se retrouve en partie dans la vinasse et augmente le taux d'azote total. D'autre part, au cours de la conservation, il se produit un dépôt de matières riches en azote, de telle sorte que les résultats sont sensiblement différents suivant que l'on opère avec la vinasse trouble ou clarifiée. L'auteur ci-dessus a trouvé, pour diverses vinasses de la Martinique, une teneur de 7 à 9 gr. de matières azotées totales par litre. Les matières azotées se répartissaient comme suit dans un échantillon de vinasse limpide et un peu ancienne (en gr. par 1.) :

Matières azotées totales	4.03
Matières azotées albuminoïdes	0.47
Matières azotées amidées	2.97
Matières azotées peptones	0.59
Azote ammoniacal	traces

Nelson et Greenleaf ont trouvé comme composition centésimale de la

(1) Ann. Sc. Agron. (2) II 215, 1896.

matière sèche d'une vinasse de mélasse de canne provenant d'une distillerie de Baltimore :

Azote total	2.73
Azote aminé	0.57
Azote ammoniacal	0.11
Pentoses	2.12
Mat. réductrices (en sucre inverti)	8.84
Cendres	24.16
CaO	2.40
MgO	0.90
Fe_2O_3 et Al_2O_3	0.28
Na_2O	0.72
K_2O	9.55
Mn_3O_4	0.028
SiO_2	0.19
P_2O_5	0.40
SO_3	0.70
Cl	4.14

En outre des acides acétique et formique, ils ont identifié les acides fixes suivants :

Acide succinique	0.95 %
Acide lactique	5.75 —
Acide tricarballylique	1.90 —
Acide aconitique	petites quant.
Acide citrique	traces

L'ac de tricarballylique, $CO_2H - CH_2 - CH(CO_2H) - CH_2 - CO_2H$, provient de la réduction de l'acide aconitique au cours de la fermentation. L'acide succinique et la plus grande partie de l'acide lactique constituent également des produits de la fermentation des mélasses.

Allan indique comme composition des vinasses utilisées à la Jamaïque dans la fabrication des rhums de divers types :

Vinasse de	Brix %	Sucres totaux %	Acides totaux gr. par l.	Acides volatils gr. par l.	Alcool %
Common clean rum . . .	15.0	0.30	22.10	4.90	—
—	13.85	—	20.70	3.0	—
—	15.02	1.35	16.20	2.7	—
—	13.20	0.85	16.70	2.2	0.30
Medium rum	13.13	0.36	17.40	1.70	—
—	—	0.78	16.70	1.50	—
—	17.95	0.03	29.40	9.40	0.43
German rum	23.50	1.45	24.0	9.80	—
De l'année précédente . .	23.88	0.19	31.85	2.82	0.42

Dans la fabrication de certains types de rhum, la vinasse est conservée soigneusement d'une campagne à l'autre. Quelques distillateurs, en vue d'empêcher l'altération des cuves quand elles sont vides et sèches, les remplissent aussi avec de la vinasse : celle-ci étant acide ne se putréfie pas et les cuves se conservent bien.

Au bout de quelque temps, la vinasse se couvre d'un voile épais de moisissures, qui empêche l'accès de l'air, et se clarifie, constituant un liquide jaunâtre, de saveur amère, utilisé souvent dans la préparation des moûts pour rhum grand arôme. Greg a constaté qu'elle contenait un acide très aromatique, dont l'odeur rappelle l'aacétate d'éthyle et l'huile essentielle de citron. Ce corps, que l'auteur a dénommé *fruity acid* et qu'il a retrouvé dans le rhum Jamaïque, apparait seulement après que la vinasse a déjà subi une fermentation acétique

et que l'acide acétique formé a disparu en partie. Il peut être extrait au moyen de l'éther de pétrole.

Signalons enfin que la vinasse, si elle n'est pas utilisée immédiatement, renferme de nombreux microorganismes, notamment des levures du type *Schizosaccharomyces* (Pairault) et des bactéries (Kayser)

La vinasse joue un rôle important dans la fermentation des moûts et la production du bouquet des rhums. Elle apporte des quantités appréciables de matières azotées et minérales, aliments de la levure, et surtout d'acides, qui favorisent l'estérification, protègent la levure contre la concurrence des microbes et assurent la prédominance de certaines races de ferments (1). Le rôle régulateur de la vinasse est connu depuis longtemps. Wray écrivait déjà en 1848 : « Elle augmente la densité du liquide, prévient la trop grande violence de la fermentation, pendant laquelle il se perd tant d'alcool, et tient la liqueur à une température comparativement faible, dans un état de travail intérieur lent et modéré ».

Elle intervient également, à la fois par les principes aromatiques qu'elle apporte et l'influence qu'elle exerce sur la flore fermentaire, dans la formation du bouquet. Les rhums obtenus par l'emploi de fortes proportions de vinasse sont moins fins, mais plus corsés et plus aromatiques que les autres.

Enfin, comme il reste parfois une certaine quantité de sucres fermentescibles à la suite de fermentations défectueuses ou même d'alcool, la rentrée des vinasses dans la fabrication peut entraîner des augmentations de rendement assez appréciables.

Dans les débuts de l'industrie rhummiere, on évitait même de pousser trop loin l'épuisement en alcool des vinasses. « Pour qu'elles aient toutes les qualités qu'on leur demande, écrit Ducœurjoly (1802), il ne faut pas que la distillation de la petite eau soit trop poussée, de crainte qu'elle ne les dépouille entièrement de toutes leurs parties spiritueuses, et ne les appauvrisse au point de n'être plus propres à être employées ».

La distillation était arrêtée, lorsque le titre alcoolique de la petite eau tombait aux environs de 34° G. L.

Eau de dilution.

La composition chimique et bactériologique de l'eau utilisée dans la préparation des moûts influe sur la marche de la fermentation et la qualité du produit obtenu.

Les matières minérales contenues dans l'eau, particulièrement les sels de soude, de magnésie, de chaux et de fer, élèvent la valeur du rapport *non-sucre : sucres*, ce qui, dans le cas des moûts de mélasse principalement peut nuire au développement et à l'activité diastasique de la levure. C'est surtout dans les derniers stades de la fermentation que l'action nuisible de ces sels se fait sentir. L'engrenage typique de la fermentation peut se trouver plus ou moins perturbé, avec formation de produits secondaires, qui modifient le bouquet de l'eau-de-vie. De plus, au cours de la distillation, ils provoquent des dépôts sur les plateaux et dans les conduites d'alimentation des colonnes, diminuant le rendement de celles-ci et obligeant à des arrêts fréquents pour effectuer le nettoyage des appareils.

En principe, les eaux fortement chargées en matières minérales (eaux calcaires, magnésiennes, ferrugineuses) sont à rejeter. Il en est de même de l'eau de mer. Celle-ci est cependant quelquefois utilisée et peut dans certains cas (moûts pauvres en sels minéraux) (2) exercer un effet utile sur la fermentation (Cf. Chap. V.).

---

(1) Les acides fixes joueraient d'autre part un rôle utile en contribuant à fixer certains produits basiques élaborés par les bactéries et qui, en passant dans le distillat, nuiraient à la qualité du rhum (Allan).

(2) L'emploi de l'eau de mer est signalé par d'anciens auteurs. Ducœurjoly notamment le préconise dans le cas des moûts préparés sans vinasse ni écumes, à raison de 25 d'eau de mer pour 100 d'eau ordinaire.

Les eaux chargées en matières organiques, polluées par les infiltrations de fosses à fumier ou de toute autre façon sont particulièrement nuisibles, par suite de la présence de matières de décomposition (combinaisons ammoniacales, nitrites, nitrates, composés du chlore, etc.) toxiques pour la levure et qui peuvent passer en partie dans le distillat.

Les bactéries contenues dans les eaux, surtout dans celles des mares et des nappes polluées par des matières organiques, provoquent des fermentations secondaires et donnent naissance à des produits volatils d'odeur ou de goût désagréables.

Les eaux destinées à la préparation des moûts doivent en conséquence être aussi pures que possible. Malheureusement, les industriels sont souvent obligés de travailler avec des eaux de qualité inférieure et même franchement mauvaises. Aux Antilles françaises notamment, où la campagne rhumière coïncide généralement avec la saison sèche, les distillateurs puisent fréquemment dans les rivières au niveau d'étiage, souillées par les riverains, qui y viennent laver leur linge.

Bettinger n'a cependant pas constaté de différences sensibles de rendement alcoolique, en utilisant pour la composition du moût, d'une part de l'eau ordinaire et d'autre part de l'eau savonneuse du ruisseau.

Il est intéressant dans certains cas d'opérer la correction des eaux destinées à la fabrication. Celles qui renferment de fortes proportions de nitrites, de nitrates, de chlorures ou de matières organiques ne sont pas susceptibles d'être efficacement traitées. Par contre, les eaux qui contiennent des carbonates de soude, de potasse, de chaux ou de magnésie sont immédiatement améliorées par l'addition d'une quantité d'acide sulfurique diluée, calculée de manière à neutraliser l'alcalinité de ces carbonates Les eaux ferrugineuses, qui affaiblissent la levure, peuvent être traitées en les aérant fortement par passage sur des lits de gros graviers : le fer, lequel se trouve surtout sous forme de carbonate ferreux, se précipite à l'état d'oxyde, que l'on sépare ensuite par filtration sur sable. Enfin, la filtration sur sable fin convient pour les eaux troubles

L'ébullition est une méthode efficace pour assurer la pureté bactériologique des eaux, mais elle est trop coûteuse pour être pratique. Le procédé de traitement réellement applicable dans les industries de fermentation est la stérilisation par les rayons ultra-violets ou, mieux, par l'ozone.

CHAPITRE III

LES FERMENTATIONS EN DISTILLERIE (1)

Les moûts sucrés abandonnés à eux-mêmes sont le siège de phénomènes complexes. Parallèlement ou postérieurement à la fermentation alcoolique, il s'y développe des fermentations secondaires (acétique, butyrique, lactique, putride, etc.). Celles-ci ont toujours comme effet une diminution du rendement en alcool. Aussi les considère-t-on comme indésirables et fait-on généralement son possible pour les éviter, surtout en distillerie d'alcool industriel. Dans certains cas cependant, lorsqu'on veut obtenir des eaux-de-vie à bouquet prononcé, on permet et même favorise des fermentations secondaires génératrices de principes aromatiques.

En rhummerie, l'importance de ces dernières est des plus variables. Dans la fabrication des rhums légers, on s'efforce, par l'emploi de levures pures et de milieux stérilisés ou additionnés d'antiseptiques, de réaliser des fermentations alcooliques pures. Par contre, les agents microbiens, et principalement les bactéries butyriques, jouent un rôle très important dans la production des rhums très corsés du type Jamaïque. Entre ces extrêmes, on trouve tous les complexes de fermentation intermédiaires.

Fermentation alcoolique.

C'est seulement de la fin du XVIIIe siècle que datent les premiers renseignements précis sur la fermentation alcoolique. Lavoisier, en appliquant ses méthodes d'analyse, montra que le sucre se dédoublait en alcool et en gaz carbonique. Peu d'années après, Gay-Lussac traduisait ces résultats par la formule générale :

$$C_6H_{12}O_6 = 2\ C_2H_6O + 2\ CO_2$$

Lavoisier avait seulement envisagé l'aspect chimique du phénomène, sans exprimer aucune hypothèse sur la nature ni le mode d'action du ferment indispensable pour opérer la transformation.

Bien que ce ferment ait été observé au microscope et décrit par Leuwenhoek dès 1680, sa nature d'être vivant ne fut établie que vers 1825, par Turpin et Cagnard-Latour en France, Schwann et Kutzing en Allemagne. Pasteur montra, en 1859, que la fermentation était un processus corrélatif de la vie de la levure, contrairement à la théorie soutenue par Liebig et d'après laquelle la décomposition du sucre était due à un ébranlement moléculaire provoqué par le ferment.

Tout en reconnaissant la nature vivante de la levure, divers savants, notamment Claude Bernard et Berthelot, estimaient que son action sur le sucre était due à une diastase séparable de la cellule. Les frères Buchner purent effectivement isoler, en 1897, la *zymase* alcoolique. Harden et Young ont montré que celle-ci était formée par un mélange de deux substances, inactives séparément et qui récupèrent leur activité lorsqu'on les mélange : l'une colloïdale et perdant ses propriétés fermentaires par le chauffage, l'*apozymase* ou ferment proprement dit ; l'autre dialysable et thermostable, la *cozymase* ou coferment de la zymase.

(1) Van Lear — La chimie des fermentations. Paris 1935.

Mécanisme de la fermentation.

La formule classique de Gay-Lussac ne donne qu'une idée très générale du phénomène complexe de la fermention alcoolique. Elle ne tient compte ni des corps intermédiaires, ni des produits secondaires (acide succinique, glycérine, etc.) qui prennent naissance.

Tout le monde est d'accord actuellement pour admettre que l'acide carbonique et l'alcool dérivent d'un corps à 3 atomes de carbone, qui provient lui-même du morcellement de la molécule d'hexose.

Bayer (1870), et à sa suite Wohl, considérait comme corps intermédiaire l'acide lactique, que l'on rencontre souvent parmi les produits de la fermentation alcoolique. Dans une première phase, la zymase transformerait le glucose en acide lactique, tandis que dans une seconde phase une autre diastase, la lactacidase, décomposerait cet acide en alcool éthylique et en gaz carbonique. En fait, si l'on a pu obtenir de l'acide lactique en faisant agir le suc de levure sur des solutions de glucose (Oppenheimer), il n'a pas été possible par contre de transformer l'acide lactique en alcool par la levure vivante. Aussi cette théorie est-elle abandonnée aujourd'hui.

On a ensuite pensé à la dioxyacétone $CH_2OH - CO - CH_2OH$ (Wohl, Buchner, Fernbach). Celle-ci a pu être obtenue par voie chimique et par voie biologique aux dépens des hexoses et donne de l'alcool par fermentation. Malheureusement, on a vainement essayé jusqu'ici de la produire par la levure, si bien que sa formation au cours de la fermentation alcoolique demeure purement hypothétique.

Suivant d'autres auteurs, notamment Neuberg, la première étape de la scission de la molécule d'hexose aboutirait au méthylglyoxal (ou aldéhyde pyruvique) hydraté. Celui-ci, par simple déshydrogénation, donnerait l'acide pyruvique, lequel se décomposerait, sous l'action d'une carboxylase, en aldéhyde acétique et gaz carbonique. L'aldéhyde acétique enfin fournirait, par réduction, l'alcool éthylique. Ces transformations successives sont résumées par les équations suivantes (schéma de Neuberg) :

$$\underset{\text{glucose}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{méthylglyoxal}}{2\,CH_3 - CO - COH.\,H_2O}$$

$$\underset{\text{méthylglyoxal}}{2\,CH_3 - CO - COH.\,H_2O} \longrightarrow \underset{\text{ac. pyruvique}}{2\,CH_3 - CO - CO_2H} + 2\,H_2$$

$$\underset{\text{ac. pyruvique}}{2\,CH_3 - CO - CO_2H} \longrightarrow \underset{\text{acétaldéhyde}}{2\,CH_3 - COH} + 2\,CO_2$$

$$\underset{\text{acétaldéhyde}}{2\,CH_3 - COH} + 2\,H_2 \longrightarrow \underset{\text{alc. éthylique}}{2\,CH_3 - CH_2OH}$$

La formation d'acide pyruvique au cours de la fermentation alcoolique a été mise en évidence par Fernbach et Schoen, qui ont pu l'obtenir en ajoutant au liquide de la craie, de manière à empêcher toute acidification du milieu Cet acide se décompose très aisément, sous l'influence de la levure, pour donner de l'aldéhyde acétique et du gaz carbonique.

L'aldéhyde acétique a également été obtenue directement dans les fermentations effectuées par la levure vivante : en ajoutant au moût des sulfites alcalins, on réalise facilement sa fixation (Müller-Thurgau, Neuberg). Enfin l'acétaldédhyde peut être réduite par la levure, en donnant de l'alcool (Kostytschew).

On tend en conséquence de plus en plus à admettre que l'acide pyruvique et l'aldéhyde acétique constituent bien des produits intermédiaires entre le sucre et l'alcool. Pour ce qui est de l'aldéhyde pyruvique, la question est plus discutée. La présence du méthylglyoxal n'a été en effet constatée que dans un petit nombre de cas, surtout dans des fermentations bactériennes (Fernbach, Aubel). Ce n'est que dans les conditions spéciales, en l'absence de coferment, que Neuberg a observé sa formation à partir du glucose, sous l'action des extraits de levure. De plus, le méthylglyoxal n'est pas fermentescible par

la levure (1). Aussi considère-t-on aujourd'hui, avec Meyerhoff, que cette aldéhyde est un produit accidentel de la fermentation, prenant naissance par voie purement chimique, et que le précurseur de l'acide pyruvique est vraisemblament l'acide glycérique.

On admet généralement, à la suite des travaux de Harden et Young, que l'acide phosphorique se combine au sucre, en présence de zymase, pour donner un composé organique phosphoré, l'hexose-diphosphate ou fructose-diphosphate, auquel on attribue la formule suivante :

$$PO_3H_2\ O.\ CH_2 - COH - CHOH - CHOH - CH - CH_2.\ O.\ PO_3H_2$$
$$\underbrace{\qquad\qquad O \qquad\qquad}$$

Selon Meyerhoff (2). ce corps se scinderait, sous l'action d'une diastase, la zymohexase, en 2 molécules d'un triose-monophosphate, l'aldéhyde phosphoglycérique ou phosphoglycéral :

$$(1)\quad PO_3H_2.\ O.\ CH_2 - CHOH - COH$$

Il y aurait lieu de considérer ensuite 2 phases, se différenciant par leurs vitesses : la phase d'incubation ou d'induction, plus lente, et la fermentation proprement dite ou phase stationnaire. La première comporterait la transformation de l'aldédyde phosphoglycérique, par oxydo-réduction, en l'acide et l'alcool correspondants (acide phosphoglycérique et phosphoglycérol) :

$$(2)\quad \begin{array}{c} PO_3H_2\ O.\ CH_2 - CHOH - COH \\ + \\ H_2O \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} PO_3H_2.\ O.\ CH_2 - CHOH - CO_2H \\ + \\ PO_3H_2.\ O.\ CH_2 - CHOH - CO_2H \end{array}$$

Le phosphoglycérol (ou alcool phosphoglycérique) reste à l'écart du cycle fermentaire (saponifié, il donne naissance à la glycérine), tandis que l'acide phosphoglycérique se décompose en acide pyruvique et acide phosphorique :

$$(3)\quad PO_3H_2.\ O.\ CH_2 - CHOH - CO_2H \longrightarrow CH_3 - CO - CO_2H + O_4H_3$$

L'acide pyruvique donne, par décarboxylation, de l'aldéhyde acétique :

$$(4)\quad CH_3 - CO - CO_2H \longrightarrow CH_3 - COH + CO_2$$

On passe alors à la phase stationnaire où la vitesse du phénomène s'accélère : l'aldéhyde acétique réagit sur l'aldéhyde phosphoglycérique, pour former par oxydo-réduction, de l'alcool et de l'acide phospoglycérique :

$$(5)\quad \begin{array}{c} PO_3H_2.\ O.\ CH_2 - CHOH - COH \\ + \\ CH_3 - COH + H_2O \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} CH_3.\ CH_2OH \\ + \\ PO_3H_2.\ O.\ CH_2 - CHOH - CO_2H \end{array}$$

L'acide phosphoglycérique se décompose, selon les réactions 3 et 4, pour libérer du gaz carbonique, de l'acide phosphorique et de l'aldéhyde acétique qui rentre dans la réaction.

A l'appui de la théorie de Meyerhoff, on invoque les faits suivants. Par l'emploi de divers paralysants de la fermentation, on a pu mettre en évidence les transformations ci-dessus. Ainsi, l'acide monoiodoacétique empêche la décomposition de l'aldéhyde phosphoglycérique et arrête la transformation quand la réaction (1) s'est accomplie. Le fluorure entrave la réaction (3) : on obtient en sa présence un mélange de phosphoglycérol et d'acide phosphoglycérique. Enfin, en ajoutant au moût des sulfites alcalins, il se forme de l'acide pyruvique et de la glycérine. On a observé aussi que l'addition d'acétaldéhyde à un moût sucré supprimait complètement la période d'induction de la fermentation.

Il reste cependant que l'hexose-diphosphate, si on a pu l'obtenir par action

---

(1) Ceci ne peut être cependant considéré comme une preuve absolue. On a fait remarquer en effet, que la forme sous laquelle le méthylglyoxal prend naissance au cours du métabolisme du sucre peut être beaucoup plus labile qu'à l'état où nous le manipulons. De plus, le produit, qui normalement est utilisé au fur et à mesure de sa formation sans jamais s'accumuler dans le milieu, risque, si l'on l'introduit en masse, de fausser le mécanisme des transformations. Ces arguments, qui valent également pour les autres produits intermédiaires, ont été souvent invoqués par les auteurs pour expliquer les difficultés que l'on éprouve à faire fermenter ces substances **in vitro**.

(2) **Ann. Inst. Pasteur LIII, 221, 1934.**

des extraits de levure sur les sucres fermentescibles, n'a pas encore été isolé jusqu'ici des moûts en fermentation et que, si on l'introduit dans les moûts, il n'est pas transformé par la levure. On en est réduit alors à supposer que l'éther diphosphorique est utilisé au fur et à mesure de sa production, et que celui que l'on ajoute au liquide ne pénètre pas à l'intérieur des cellules de levure.

Il a également été observé que les divers éthers phosphorique ci-dessus (hexose-diphosphate, phosphoglycéral, phosphoglycérol et acide phosphoglycérique) fermentaient moins facilement que les sucres en présence des extraits de levure. Il se peut qu'ils prennent naissance sous une forme plus labile et plus fermentescible que celle que nous connaissons ou qu'il intervient dans les réactions des activateurs que nous ignorons (1).

Une base azotée, l'adénosine, paraît jouer, sous forme d'acide adénylique (monosphosphoriboside de l'adénine) et d'acide adénosine-phosphorique (triphosphoriboside de l'adénine), que l'on rencontre toujours dans la levure, un rôle essentiel dans la phsphorylation des sucres.

L'adénosine-triphosphorique serait le bailleur d'acide phosphorique pour l'éthérification des sucres, et l'acide phosphorique, en régénérant l'acide adénosine-triphosphorique Celui-ci apparaît par suite comme le facteur catalytique de la phosphorylation et constituerait, d'après certains auteurs, la cozymase.

Produits secondaires de la fermentation.

Au cours de la fermentation alcoolique, il se forme en outre de l'alcool éthylique et du gaz carbonique, divers produits secondaires qui proviennent, les uns de la « fonction végétale » de la levure (alcools supérieurs, acide succinique, etc.), les autres de la « fonction zymasique » (glycérine, aldéhyde acétique, etc). La nature et la proportion de ces produits varient dans de larges limites, suivant les conditions du milieu, la levure étant « un organisme plastique, dont les propriétés physiologiques peuvent subir des modifications importantes sous l'influence de facteurs variés » (Fernbach).

Glycérine. — Dans son « Mémoire sur la fermentation alcoolique » (1859), Pasteur a signalé pour la première fois que la glycérine ou glycérol, CH_2OH - $CHOH$ - CH_2OH, était un produit constant de la fermentation.

Laborde (2) a observé que la quantité de glycérine, rapportée à 100 grs de sucre disparu, variait dans des limites étendues : 2.50 à 7.75 gr.(2.5 à 3.5 en moyenne). Il a fait voir que toutes les causes d'affaiblissement de la levure contribuaient à augmenter la production de glycérine : longue durée de la fermentation, richesse en sucre, multiplication abondante de la levure par aération, etc. La nature du sucre et la race de levure ont aussi une influence

Neuberg, puis Connstein et Ludecke (3), ont montré que, par l'addition de sulfite de sodium au moût, on observait une augmentation du rendement en glycérine, pouvant aller jusqu'à 36 % du sucre. Ce procédé a été utilisé industriellement en Allemagne, pendant la guerre de 1914-18, pour obtenir la glycérine nécessaire à la fabrication des explosifs.

Une autre méthode, due à Eoff, Linder et Beyer (4), consiste à faire fermenter le sucre en présence de bicarbonate de soude (ou d'autres alcalis), que l'on ajoute au liquide après le départ de la fermentation, progressivement et et par petites portions juqu'à la dose de 5 %. 20 à 25 % des sucres existant dans le moût sont transformés en glycérine, le solde fournissant de l'alcool, de l'acide acétique et du gaz carbonique, avec de petites quantités de divers autres produits mal identifiés.

La glycérine est généralement considérée comme un produit « latéral » de la transformation du sucre en alcool. Lorsqu'on fait dévier le train des

---

(1) En présence de traces d'arseniate, par exemple, la fermentation des intermédiaires phosphoriques est fortement accélérée.

(2) C. R. CXXIX, 344, 1899 ; Ann. Brass. Dist. II, 473.

(3) Ber. Deut. Chem. Ges. LII, 1385, 1919.

(4) Ind. Eng. Chem. XI, 843-45, 1919.