réactions, en empêchant le milieu de s'acidifier ou en l'additionnant de sulfite, on modifie la spécificité chimique de la levure, qui devient un ferment glycérique.

On aurait dans le premier cas :

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \underset{\text{glycérine}}{CH_2OH - CHOH - CH_2OH} + \underset{\text{ac. pyruvique}}{CH_3 - CO - CO_2H}$$

et dans le 2e cas :

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \underset{\text{glycérine}}{CH_2OH - CHOH - CH_2OH} + \underset{\text{ac. acétique}}{CH_3 - COH} + CO_2$$

Dans le schéma de Neuberg, l'acide pyruvique ou l'aldéhyde acétique étant fixés par les alcalis ou le sulfite, l'hydrogène provenant de la réduction du méthyglyoxal réagirait avec l'une des molécules de ce dernier, qu'il transformerait en glycérine.

D'après la théorie de Meyerhoff, la glycérine proviendrait de la saponification du phosphoglycérol, le bisulfite intervenant pour bloquer l'aldéhyde éthylique au fur et à mesude de sa formation et empêcher sa réaction avec l'aldéhyde phosphoglycérique.

On explique qu'il se produise toujours une certaine quantité de glycérine dans la fermentation alcoolique et d'alcool dans la fermentation glycérique, par ce fait que la levure ne se comporte jamais comme un ferment alcoolique pur ou comme un ferment glycérique pur. Les deux transformations se développeraient côte à côte, en proportions variables suivant les conditions du milieu.

Dans les fermentations alcooliques ordinaires, la glycérine se forme surtout à la fin de la fermentation, quand il ne reste plus que de faibles quantités de sucre, et que les conditions de nutrition sont défavorables à la levure.

Aldéhydes — *L'aldéhyde acétique*, ou acétaldéhyde, $CH_3 - COH$, a été depuis longtemps signalée parmi les produits de la fermentation alcoolique (Roeser, 1893). Elle n'existe en général qu'en quantités très faibles. Toutefois, dans les vins, on a pu isoler jusqu'à 860 mgr d'aldéhyde par 100 grs de sucre consommé.

On admet généralement qu'elle constitue un corps intermédiaire dans la transformation du sucre en alcool. Muller-Thurgau et Osterwalder ont montré que l'acide sulfureux et les sulfites, ajoutés aux moûts de fermentation, se combinent à l'aldéhyde, laquelle se trouve ainsi fixée et ne peut plus se transformer en alcool. On a pu obtenir de la sorte 18-24 % du sucre sous la forme d'aldéhyde. Les liquides fermentés en présence de SO_2 renfermeraient donc normalement une quantité plus importante d'aldéhyde acétique.

L'acétaldéhyde peut aussi être produite par oxydation de l'alcool éthylique. Kayser et Demolon ont observé que le séjour des vins sur lies, en large contact avec l'air, favorisait la production d'aldéhyde et que la levure vivante était l'agent essentiel de ce phénomène. Trillat et Sauton (1) ont montré que les levures étaient susceptibles de produire aux dépens de l'alcool des quantités notables d'aldéhyde acétique en quelques heures : jusqu'à 2.500 mg pour 100 d'alcool à 100° au bout de 6 heures. L'aldéhyde formée disparaît d'ailleurs peu à peu, si le contact avec la levure se prolonge.

Enfin, l'aldéhydification de l'alcool peut avoir lieu par voie purement chimique, notamment au cours de la distillation et lorsqu'on traite les eaux-de-vie par des corps poreux (filtration sur charbon) ou oxydants (eau oxygénie, permanganate, etc).

Le *furfurol*, ou aldéhyde pyromucique, prend surtout naissance au cours de la distillation, par ébullition prolongée ou torréfaction de certains hydrates de carbone. Kayser et Demolon pensent cependant que la levure elle-même doit intervenir dans sa production. Ces auteurs ont observé que la proportion de furfurol subissait des variations suivant le mode d'alimentation azotée : elle était minima dans le cas des levures recevant du sulfate d'ammoniaque et augmentait au contraire sensiblement en présence de leucine. Il n'est pas

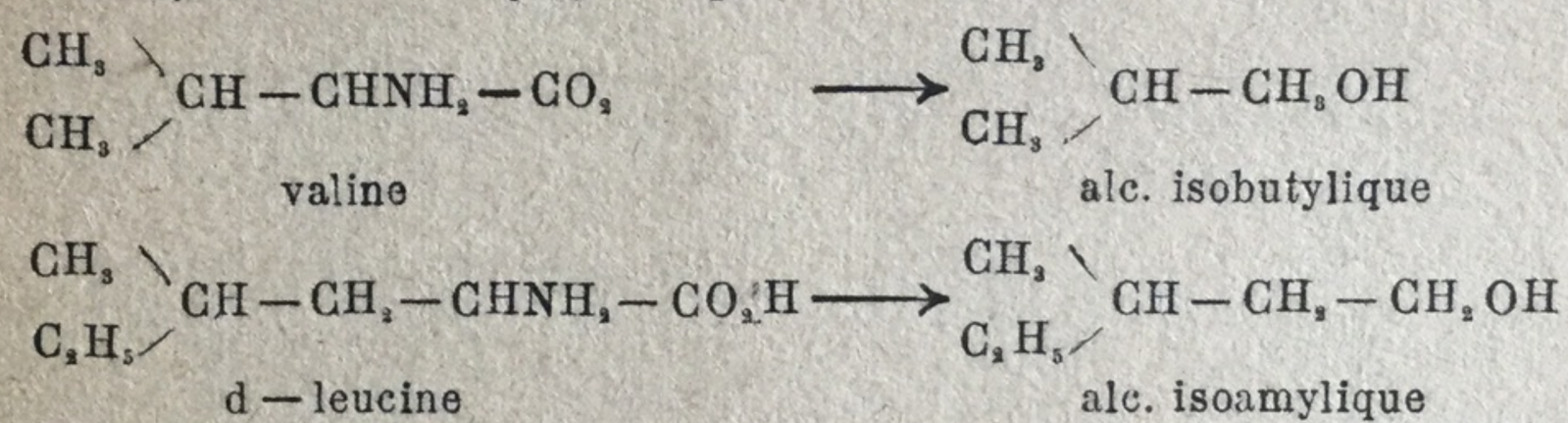
(1) C. R. CXLVI, 998, 1908.

impossible en conséquence que le furfurol constitue un produit d'excrétion, lié à la désassimilation azotée.

Alcools supérieurs. — Ce n'est que vers la fin du XIXe siècle, à la suite des travaux de Pasteur, Wurtz, Windisch etc..., que la composition de l'huile de fusel, ou « fusel oil », dont la présence était connue depuis Scheele (1785), a pu être précisée. Celle-ci est constituée par un mélange d'alcools supérieurs, variables qualitativement et quantitativement suivant l'origine de l'eau-de-vie, mais parmi lesquels dominent les alcools amylique et butylique.

On reconnaît aujourd'hui à ces alcools supérieurs deux origines différentes. Les uns (alcool butylique normal) proviennent de l'attaque des glucides par les bactéries, tandis que les autres (alcools amylique, isobutylique, etc.) résultent de la dégradation des acides aminés par la levure. Les taux élevés d'alcools supérieurs dans les liquides alcooliques résultent d'ailleurs presque toujours d'interventions bactériennes.

F. Ehrlich (1) a montré, en 1905, que les alcools supérieurs qui prennent naissance au cours de fermentation alcoolique sont les sous-produits de la nutrition azotée de la levure. Lorsque celle-ci n'a à sa disposition, comme aliment azoté, que des acides aminés, c'est au groupement aminé de ces derniers qu'elle emprunte l'azote qui lui est nécessaire pour l'édification de ses cellules. Les acides aminés subissent d'abord une désamination (perte de NH_3), puis une décarboxylation (perte de CO_2), pour fournir finalement un alcool contenant un atome de carbone en moins que l'acide aminé qui lui a donné naissance. C'est ainsi que l'alcool isobutylique prendrait naissance à partir de la valine, l'alcool isoamylique à partir de la leucine :



Thorme (2), ajoutant différents amino-acides à un milieu nutritif, a pu retrouver, après fermentation par la levure, les alcools supérieurs correspondants, en quantités étroitement proportionnelles à celles des amino-acides employés.

Ehrlich supposait que la production des alcools supérieurs aux dépens des amino-acides était le résultat d'une simple hydrolyse et pouvait être représentée par la formule générale :

$$R - CHNH_2 - CO_2H + H_2O \longrightarrow R - CH_2OH + NH_3 + CO_2$$

La réaction serait en réalité beaucoup plus complexe, d'après Neubauer et Fromherz (3), qui considèrent que le processus de dégradation des acides aminés correspond en réalité à une oxydo-réduction, et se déroule de la façon suivante :

1°) oxydation de l'amino-acide et production d'un hydrate de l'acide aminé correspondant :

$$R - CHNH_2 - CO_2H + O \longrightarrow R - C - (OH)NH_2 - CO_2H$$

2°) désamination proprement dite, donnant naissance à l'acide cétonique de la même série :

$$R - C(OH)NH_2 - CO_2H \longrightarrow R - CO - CO_2H + NH_3$$

3°) décarboxylation et production d'une aldéhyde ayant un atome de carbone en moins que l'acide aminé :

$$R - CO - CO_2H \longrightarrow R - COH + CO_2$$

4°) enfin réduction et production de l'alcool supérieur :

$$R - COH + H_2 \longrightarrow R - CH_2OH$$

(1) Z. Ver. Rubenzuckr. Ind. 1905, 539 ; Ber. Deut. Chem. Ges. XL, 1027, 1907.
(2) J. Inst. Brewing XLII, 13, 1939.
(3) Z. Physiol. Chem. LXX, 326, 1910.

Ce processus présente une analogie frappante avec celui de la fermentation du sucre : l'acide cétonique obtenu au deuxième stade de la transformation est un homologue de l'acide pyruvique et les deux dernières étapes sont les mêmes dans l'un et l'autre cas.

L'ammoniaque provenant de la désagrégation des acides aminés ne peut jamais être retrouvée telle quelle dans les moûts. Elle doit par suite être convertie en matières protéiques insolubles, entrant dans la constitution des cellules de levures.

Ehrlich a observé que, dans les fermentations ordinaires de sucre pur, la quantité d'huile de fusel produite variait de 0.4 à 0.7 % de l'alcool formé. Ces chiffres se rapprochent de ceux réalisés dans la pratique industrielle. Ainsi Martraire (1) a pu obtenir, avec des moûts de pommes, une production moyenne en huiles de fusel de 0.512 % d'alcool au cours de l'année 1928 et de 0.520 % en 1929. Houssiau (2), de 1932 à 1936, a relevé, dans le cas des moûts de mélasses de betteraves et de cannes, un rendement moyen annuel variant de 0.306 à 0 423 % d'alcool brut et de 0.191 à 0.265 % de sucre (3).

La production de fusel-oil est plus élevée, lorsque la fermentation est effectuée par une levure pauvre en azote, à faible pouvoir ferment, travaillant en présence d'un forte quantité de sucre (la proportion de 1 de levure pour 5 de sucre est très favorable). Par contre, lorsque la fermentation a lieu rapidement, par l'intermédiaire d'un grande quantité de levure riche en azote, la décomposition des amino-acides est relativement faible (Ehrlich).

La proportion des alcools supérieurs formés dépend également de la composition du moût en matières azotées. La levure n'a recours aux acides aminés que si elle ne dispose pas d'une autre source d'azote plus facilement assimilable. Lorsqu'on ajoute au moût de l'asparagine, ou mieux du carbonate ou du sulfate d'ammoniaque, la production de fusel-oil est très sensiblement diminuée, même en présence de fortes quantités de leucine (Ehrlich, Pringsheim). Il n'est toutefois pas possible de supprimer complètement cette production. Pringsheim (4) a constaté qu'une dose de 250 gr. de sulfate d'Am. par 1.000 litres de moût suffisait à réduire au minimum la quantité d'alcools supérieurs formée ; en doublant la dose de sel ammoniacal, le taux de fusel reste le même.

Par contre, l'addition d'amino-acides, et plus particulièrment de leucine, à une solution sucrée accroît la production d'huile de fusel, dont la proportion pourrait, suivant Ehrlich, s'élever à 3 %, dans des conditions favorables. La quantité d'alcools supérieurs est toutefois encore ici limitée, du fait que la levure n'a recours aux acides aminés que dans la mesure où elle a besoin de leur azote pour construire les matières protéïques entrant dans la constitution de ses cellules. L'excédent d'amino-acides reste non-transformé.

Ainsi, Houssiau a observé que l'azote des acides aminés disparaissant au cours de la fermentation (moûts de mélasses, de canne et de betterave) était de 30 à 60 %, et Martraire que la quantité d'acides aminés utilisée était sensiblement constante (0.050 gr. d'N par litre), quelque soit la teneur initial du liquide en acides aminés.

Dans certaines conditions, la production d'alcools supérieurs pourrait cependant être beaucoup plus importante. Salesskaja (5), a obtenu, avec des moûts renfermant 10 % de sucre, largement aérés et additionnés de 0.5 % de leucine, un rendement en fusel-oil de 13.5 % d'alcool ou de 0,16 % du moût, ce qui représente une assimilation de 70 à 80 % de l'azote aminé. L'augmentation de la quantité de leucine ne provoque pas l'accroissement du taux des

(1) in Pérard. — Le rendement en distillerie. C. R. 5. Cong. Int. des Ind. Agr. 802 — 832, 1937.

(2) C. R. 5. Cong. Int. des Ind. Agr. 864, 1937.

(3) Les chiffres indiqués, qui correspondent au fusel obtenu industriellement, sont quelque peu inférieurs à la réalité, du fait qu'une partie des alcools supérieurs (10%) est éliminée, au cours de la distillation, avec les moyens goûts de queue

(4) Biochem. Z. III, 121, 1907 ; X, 490, 1908

(5) Mikrobiologija VI, 58, VII, 56, 1938.

alcools supérieurs. Le remplacement de la leucine par un autre amino-acide abaisse la proportion de fusel-oil à 0.08 et même 0.04 % de moût.

La levure n'utilise pas seulement les amino-acides existant naturellement dans les moûts, mais encore ceux provenant de la désassimilation des principes azotés et de l'autolyse des vieilles cellules. C'est ainsi que certains auteurs expliquent la formation d'alcool isobutylique à partir de la valine, produit normal de la dégradation des albumines de la levure. Toutefois, suivant Ehrlich, les acides aminés excrétés par la levure n'interviendraient d'une façon très appréciable que dans le cas où, par suite d'une nutrition azotée défectueuse, d'une température élevée ou d'autres conditions défavorables, il se produit une autolyse partielle des vieilles cellules.

La composition du fusel-oil varie dans de larges limites, suivant la nature des amino-acides des moûts, les conditions dans lesquelles s'effectue la fermentation, etc. En général, il y a dominance de l'alcool isoamylique, qui constitue parfois jusqu'à 80 % du fusel, avec des quantités variables d'alcool isobutylique et propylique normal. Les alcools butylique normal et isopropylique sont le résultat d'interventions bactériennes ; ils peuvent se rencontrer en grande quantité dans les alcools provenant de moûts abandonnés à la fermentation spontanée.

Kayser et Demolon ont observé que la production des alcools supérieurs était favorisée par la lumière et celle des acides volatils par l'obscurité. D'après ces auteurs, la formation des alcools supérieurs serait en relation avec l'intensité de multiplication de la levure. Elle est, en effet, accrue en présence de fortes doses de peptone, qui favorise la multiplication cellulaire et diminuée si l'on ajoute au moût de l'asparagine, qui accroît la rapidité de la fermentation en réduisant le rendement en levure. Dans d'autres cas, on a pu constater que la quantité d'alcools supérieurs formés variait dans le même sens que le poids de levure récoltée.

Jankovic (1) a observé que les facteurs favorisant l'activité de la levure accroissent aussi la production de fusel oil. Ayant fait fermenter un moût de mélasse (laquelle contenait 52.4 % de sucres et 1.7 % d'azote) dans différentes conditions de concentration et de température, il a constaté que la quantité maxima d'huile de fusel (1.45 %) était obtenue lorsque la densité du moût était de 15° Brix, l'acidité de 0.5 et la température de 27° ; et la quantité minima (0.22 %), si la densité était portée à 25° Brix et l'acidité à 1.5, la température demeurant à 27° C.

Les différentes races de levure paraissent se différencier assez peu en général en ce qui concerne la production du fusel oil, selon Kayser et Demolon. Toutefois, les *Schizosaccharomyces* donneraient des quantités d'alcools supérieurs moins fortes que les levures à bourgeonnement (Kayser).

Arroyo a trouvé par contre des différences notables dans la production des alcools supérieurs, suivant les races de levure. Il a obtenu les résultats suivants, en utilisant comme milieu de culture du jus de canne et en opérant à la température de 33-35°.

Races de levure	Fusel oil (mgr. par 100 cc. d'alcool)	Cœfficient non alcool	Fusel-oil % non alcool
500	157	323	48.60
501	92	350	26.28
502	250	400	62.50
503	85	240	35 41
504	101	281	35 94
507	196	349	49.74
531	188	367	51.22
532	204	440	46.36
533	179	389	46.01
588	184	353	52.12
764	349	556	62.76

(1) Z. Spiritusind. LI, 105, 1928.

Le même auteur a également observé que la formation d'alcools supérieurs diminuait, lorsque la fermentation a lieu à des températures relativement basses et lorsqu'on emploie, pour l'alimentation de la levure, de l'ammoniaque liquide à la place du sulfate d'Am. Ci-après les quantités d'alcools supérieurs obtenus dans divers essais (en gr. par hl. d'alcool à 100°).

Levures	Avec Sulfate d'Am.		Avec Ammoniaque	
	Temp. de ferm. 33-35°	Temp. de ferm. 25-27°	Temp. de ferm. 33-35°	Temp. de ferm. 25-27°
500	157	110	94	71
501	92	74	63	50
503	85	71	59	49
504	101	79	66	52

Alcool méthylique. — On tend à admettre, à la suite des travaux de Fellenberg, Buchka, Takahashi, Flanzy, etc., que l'alcool méthylique se retrouve, en quantités variables, mais généralement faibles, dans tous les liquides ayant subi la fermentation alcoolique.

Von Fellenberg (1) a montré que les pectines pouvaient être considérées comme des estérs méthyliques des acides pectiques et renfermaient en moyenne 10 % d'alcool méthylique. Sous l'influence des causes variées (chauffage avec les acides dilués, fermentation alcoolique, etc.), les matières pectiques sont décomposées, avec libération de l'alcool méthylique. Les pectoses et les lignines peuvent également donner naissance à cet alcool, mais plus difficilement que les pectines.

D'après Flanzy, il se produirait en outre, au cours de la fermentation alcoolique et en l'absence de tout produit pectique, une certaine quantité d'alcool méthylique, variable avec la nature du sucre : le glucose, par exemple, donnerait plus d'alcool méthylique que le lévulose.

Ce serait surtout au début de la fermentation qu'apparaîtrait l'alcool méthylique, en même temps que les composés pectiques subissent une modification profonde aboutissant à leur diméthylation et à la libération de leur phosphore constitutif (Flanzy).

Acides. — L'acidité des liquides fermentés est due à des acides fixes (acides lactique, succinique. etc.) ou volatils (acides formique, acétique, butyrique etc.) apportés par les matières premières du moût ou produits au cours de la fermentation.

Suivant Arroyo, la quantité d'acides formés par la levure au cours de la fermentation rhummière serait en général l'équivalent de 4.7 à 10.0 cc. de soude décinormale, par 100 cc. de moût. Les acides volatils correspondent à 2.1 5.8 et les acides fixes à 2.1-5.4 cc. de soude décinormale.

La présence de *l'acide succinique*, $CO_2H-CH_2-CH_2-CO_2H$, parmi les produits de la fermentation alcoolique a été signalée pour la première fois par Pasteur. La quantité de cet acide (en général 0.5 à 0.8 % du sucre transformé) est très variable. Elle dépend surtout de la race de levure et de l'acidité primitive du moût (Ventre).

Pasteur pensait que l'acide succinique résultait de la transformation du sucre. On admet aujourd'hui, à la suite des travaux d'Ehrlich et de Neuberg. qu'il provient de la décomposition des matières protéïques, sous l'influence des levures ou des microbes de la putréfaction. Il paraît dériver principalement de l'acide glutamique, par un processus analogue à celui de la formation des alcools supérieurs à partir des amino-acides :

$$CO_2H-CH_2-CH_2-CHNH_2-CO_2H \longrightarrow CO_2H-CH_2-CH_2-CO_2H$$

Tandis que l'acide succinique apparaît à la fin de la fermentation, les

(1) Mitt. Lebennsm. Hyg. V, 172, 1914.

acides volatils se forment pendant les premiers stades de celle-ci (Reisch, Osterwalder) ; leur production cesse pratiquement lorsque la quantité de sucre a été réduite à 50 % (Joslyn et Dunn). Toutefois, la fermentation terminée, ils augmentent à nouveau, par suite de l'oxydation de l'alcool. Osterwalder (1), confirmant les résultats de Kayser et Demolon, a montré que les levures conservées dans le moût qu'elles ont fait fermenter pouvaient produire jusqu'à 1.8 p. 1.000 d'acides volatils.

La quantité et la nature des acides volatils varient non seulement avec les différents facteurs qui agissent sur le développement des ferments (réaction du milieu. température, aération), mais encore et surtout avec les races de levures.

Fernbach (2) a montré que l'acidité totale formée en cours de la fermentation était d'autant plus forte que le liquide était primitivement moins acide : dans les essais effectués, elle variait de 59.5 à 123.5 mgr (en acide tartrique) par litre, lorsque le moût primitif était neutre.

Ventre (3) a observé ,dans le cas de moûts de raisin neutres, une production d'acides fixes de 1-1.7 % du sucre consommé, chaque levure ayant une manière particulière de former de l'acidité fixe et de l'acidité volatile. Dans les milieux acides, il peut y avoir par contre diminution de l'acidité au cours de la fermentation, par suite de l'attaque par la levure de certains acides organiques (acides malique principalement) entrant dans la constitution du moût.

Kayser a constaté que la quantité et aussi la nature des acides volatils produits dépendaient dans une large mesure de la race de levure. Les levures à voile, par exemple, donnent naissance à de fortes quantités d'acides, avec production notable d'acide formique. L'alimentation azotée exerce aussi une influence sensible, mais variable suivant les races de ferment.

D'après le même auteur, les principaux acides volatils qui prennent naissance dans la fermentation des mélasses de canne par les levures pures sont les acides acétique, butyrique et formique. Le premier de ces acides est en général largement prédominant et constitue parfois à lui seul la presque totalité de l'acidité volatile. L'acide formique serait toutefois produit en quantité appréciable par certaines levures (levures à voile) et dans certaines conditions d'alimentation azotée (azote amidé). Suivant Thomas (4), si l'on cultive la levure en présence d'acétamide ou d'urée, il se forme presque exclusivement de l'acide formique.

Srinivasan a trouvé dans les mélasses de canne fermentées, en outre des acides formique, acétique et butyrique, de l'acide propionique en quantités notales ; et divers auteurs ont signalé la présence, dans les liquides fermentés et les eaux-de-vie, d'acides gras à poids moléculaire élevé : caproïque. caprique, laurique, palmitique, etc.

On admet aujourd'hui que l'acide acétique est un produit latéral de la transformation du sucre en alcool et qu'il résulte de l'oxydation de l'aldéhyde acétique (Kostyjschew, Neuberg). Il peut aussi provenir de l'oxydation de l'alcool éthylique par la levure après fermentation (Kayser et Demolon, Osterwalder). Mais, en pratique. la présence des quantités importantes de cet acide est toujours liée à l'intervention des bactéries acétiques, parallèlement ou postérieurement à la fermentation alcoolique.

Selon Thomas, l'acide formique résulterait de l'activité protoplasmique de la levure, orientée dans un sens particulier par les aliments azotés fournis. Il peut également dériver, du moins dans le cas des moûts de mélasses, directement du sucre par voie purement chimique (Wilson).

Suivant une opinion largement répandue. les autres acides qui se forment dans la fermentation alcoolique proviendraient de la désassimilation des cellules de levure. Leur formation a été attribuée par Duclaux au mécanisme de l'alimentation azotée.

---

(1) Cent. Bakt. Abt. II, XXXII, 481.
(2) C. R. CLVI, 77, 113.
(3) C. R. CLVII, 154, 1913.
(4) Ann. Inst. Pasteur XXXIV, 162, 1920.

Ainsi, les acides cétoniques provenant de la transformation des acides aminés, au lieu de donner par réduction des alcools supérieurs, peuvent, dans certaines conditions, former par oxydation des acides ayant un nombre d'atomes de carbone en moins que l'amino-acide dont ils proviennent :

$$R - COH + O \longrightarrow R - COOH$$

L'hydrolyse de certains amides donne aussi parfois directement naissance à des acides :

$$\underset{\text{acétamide}}{CH_3 - CONH_2} + H_2O = NH_3 + \underset{\text{ac. acétique}}{CH_3 - CO_2H}$$

E. Luce (1) admet que les acides proviennent aussi, en partie du moins, des matières grasses de la levure. Celles-ci seraient d'abord dédoublées en glycérine et acides gras, lesquels seraient ensuite dégradés, comme dans la théorie de l'oxydation en β de Knop.

Sous l'influence des oxydants, les acides acycliques normaux se transforment en oxacides correspondants, le groupement oxhydrile OH se fixant en β, c'est-à-dire sur l'avant-avant-dernier carbone :

$$R - CH_2 - CH_2 - CO_2H + O \longrightarrow R - CHOH - CH_2 - CO_2H$$

Sous l'action d'une oxydation un peu énergique, le groupement alcool secondaire CHOH se transforme en groupement acide CO_2H, la chaîne bicarbonée $CH_2 - CO_2H$ se détachant de la molécule, ce qui diminue de 2 le nombre d'atomes de carbone de celle-ci.

$$R - CHOH - CH_2 - CO_2H + O \longrightarrow R - CO_2H$$

Suivant les conditions de la fermentation, la chaîne serait coupée en tronçons plus ou moins courts.

Enfin, les matières premières entrant dans la composition des moûts apportent certains acides gras supérieurs (acide palmitique, oléïque, etc.), lesquels, étant volatils avec la vapeur d'eau, peuvent se retrouver dans le distillat.

Esters. — Si, au cours de la distillation et de la conservation des liquides alcooliques, il se produit une certaine quantité d'esters par voie chimique, c'est surtout pendant la fermentation que prennent naissance ces composés, par voie biologique.

Kayser et Demolon (1909) ayant observé que la quantité d'esters volatils formés au cours de la fermentation était sensiblement proportionnelle à celle des acides volatils produits par la levure ; que l'addition d'acide acétique, soit avant fermentation, soit immédiatement après, n'augmentait nullement la proportion des esters; et enfin qu'en distillant la levure recueillie immédiatement après fermentation, on obtenait toujours une certaine quantité d'esters, ont été amenés à conclure que les esters étaient des produits de formation endogène.

Cette opinion, déjà émise par Ashby en 1907, a été confirmée par les travaux de Ribereau-Gayon et Peynaud, de Chai-Heung-Kim (2), etc. On admet actuellement que l'esterification, par voie physiologique au cours de la fermentation s'effectue sous l'action d'une diastase spéciale, l'estérase.

Les esters formés diffusent progressivement dans les liquides, surtout en fin de fermentation, et peuvent être détruits avec le temps par la levure elle-même. Les produits très volatils comme l'acétate d'éthyle disparaissent pour une très forte proportion, soit par entraînement dû au gaz carbonique, soit surtout par évaporation au contact de l'air (3) (Kayser et Demolon).

La nature et les proportions des esters produits dépendent principalement, ainsi que l'a montré Kayser, des races de ferment (levures et bactéries). L'alimentation azotée de la levure et l'acidité ont aussi une certaine importance.

---

(1) J. Pharm. Chim. (7), XXII, 138, 1920.

(2) Enzymologia, VI, 3, 183, 1939.

(3) La tension de vapeur de l'acétate d'éthyle à la température ordinaire est à peu près double de celle de l'alcool, bien que les points d'ébullition de ces corps soient très voisins.

L'ester dominant est l'acétate d'éthyle, qui forme souvent jusqu'à 98 % des esters totaux. Le formiate d'éthyle peut ainsi exister en quantités notables, notamment dans les moûts de mélasse, ainsi que le butyrate d'éthyle. Enfin, on trouve de petites quantités d'esters d'acides gras à poids moléculaire élevé (caproate, caprate, laurate, etc.).

Ashby a isolé des mélasses de la Jamaïques une levure à voile, à fermentation très lente, donnant par litre d'alcool à 100° jusqu'à 18.000 mgr d'esters, constitués surtout par de l'acétate d'éthyle. N. Deerr a trouvé dans une mélasse du Natal une race de *Monilia* fournissant,en culture pure, par litre d'alcool 7.550 mgr d'esters, formés principalement par de l'acétate eu du butyrate d'éthyle.

Kayser a également observé que certaines levures à voile, sont susceptibles de fournir des quantités très importantes d'esters. Cet auteur a obtenu les résultats ci-après, en faisant fermenter un moût de mélasse à 14 % (en volume) avec d'une part une levure basse de la Guadeloupe (A), et d'autre part la même levure associée à une levure à voile de la Réunion. L'analyse a été faite au bout de 15 jours.

	A	B
Liquide fermenté (en gr. par l.) :		
Acides fixes	1.512	1.611
Acides volatils	0.256	0.691
Liquide distillé (en mgr. par l. d'alcool à 100°) :		
Acides volatils	68.1	148.1
Aldéhydes	30.7	108.0
Furfurol	0.5	0.9
Esters	55.4	1320.0
Alcools supérieurs	193.0	210.0
Total	347.7	1787.0

Dans un autre essai, effectué en ensemençant le même moût mélassé avec la combinaison levure basse et levure à voile simultanément (A) ; avec la levure basse et, une fois la fermentation en pleine activité, avec la levure haute (B), les résultats ont été les suivants (analyse faite après 3 semaines) :

	A	B
Acides volatils	500.0	332.0
Aldéhydes	324.0	530.0
Furfurol	0.3	0.8
Esters	21.918.0	7.160.0
Alcools supérieurs	426.0	458.0

L'expérience suivante du même auteur montre l'influence de l'aliment azoté sur la production des acides volatils et des esters. Le moût de mélasse, qui contenait par litre : 150 gr. de saccharose, 1 gr. de phosphate acide de K et des traces de sulfate de Mg, a été additionné de 0.5 gr. d'azote sous la forme d'eau de touraillon, de peptone, d'asparagine, de leucine, d'urée, de glycocolle et de sulfate d'ammoniaque. La levure 3 était une levure à voile provenant d'une mélasse de canne de la Réunion, et la levure 5 une levure à voile isolée de l'ananas. Le liquide a été analysé après 15 jours de fermentation.

	Levure 3			Levure 5		
	Degré alc.	Acides volatils	Esters	Degré alc.	Acides volatils	Esters
N touraillon	4.6	1.276	9.222	3.8	2.116	8.914
— peptone	4.7	1.724	4.351	5.0	1.308	1.695
— ammoniacal	4.3	1.020	3 115	3.6	968	1.309
— asparagine	6.4	2.176	6.336	6.5	1.344	2.798
— leucine	4.6	1.401	499	3.5	4.344	2 752
— glycocolle	4.2	197	1.057	3.5	1.994	3.801

Ces résultats montrent que l'alimentation azotée de la levure a une influence très nette, mais aussi très variable, sur les quantités d'acides volatils et d'esters obtenus. Les proportions existant entre les différents acides et esters sont également influencées (Kayser).

Lindner, étudiant 12 levures pressées, a constaté que les esters se formaient surtout dans les liquides bien aérés, pauvres en azote, ou encore lorsque le développement de la levure était stimulé par un grand excès de sucre ou que la fermentation avait lieu à température élevée. La propriété de produire des esters aromatiques se manifestait surtout chez des levures de la fermentation secondaire, vivant aux dépens des vieux globules.

A signaler enfin que l'hydrogène sulfuré, provenant de la réduction par la levure des sulfites ou des sulfates du milieu de culture, peut dans certaines conditions donner avec l'alcool de l'ester éthylsulfhydrique ou mercaptan. La présence de ce dernier a été signalée dans certains vins, quand la fermentation avait lieu en présence de soufre, d'acide sulfureux ou de sulfate. La production de mercaptan dépend de la race de levure et des conditions du milieu : elle croît avec la température et la présence de produits facilement réductibles. Elle parait avoir lieu surtout après la phase active de la fermentation, quand la levure possède une action éstérifiante plus énergique.

Rendement alcoolique.

La transformation du sucre suivant la formule théorique de Gay-Lussac donnerait, pour divers hydrates de carbone fermentescibles, les rendements suivants en alcool (litres d'alcool pur pour 100 kgs de sucre) :

Glucose anhydre	64.45
Saccharose	67.84
Maltose	67.84
Amidon	71.60

Mais, comme il se produit toujours, à côté de la transformation du sucre en alcool, des « fermentations dérivées », dont l'importance varie avec les conditions opératoires, le rendement réel est toujours inférieur aux chiffres précédents.

Pasteur (1), à la suite de plusieurs dosages faits avec de grands soins, était arrivé à la conclusion que 6 % du sucre environ étaient utilisés à d'autres fins que la production de l'alcool. En opérant avec 100 gr. de saccharose, dissous dans un milieu minéral approprié, il a retrouvé comme produits de dédoublement (en gr.) :

Alcool absolu	51.10
Acide carbonique	49.20
Glycérine	3.40
Acide succinique	0.65
Cellulose et mat. indéterminées	1.30
	105.65

L'excédent de 5.65 gr. sur les 100 gr. de sucre introduit provient de la fixation d'eau qui accompagne l'hydrolyse du saccharose. 100 gr. de saccharose donnant ainsi 105.21 gr. de glucose, il reste une petite différence de 0.39 gr., qui peut tenir à l'hydrolyse de certains produits accessoires au cours de la fermentation.

Bien que représentant un résultat expérimental, le chiffre de Pasteur (64.33 l. d'alcool pour 100 kgs de saccharose) a été considéré par certains auteurs comme un « rendement théorique », impossible à dépasser et même à atteindre dans les conditions de la pratique industrielle.

On a constaté cependant que le taux des produits secondaires de la fer-

(1) Pasteur (L.) — Mémoire sur la fermentation alcoolique. Ann. Chim. Phys. LVII et LVII. 1859.

mentation pouvait être réduit dans certaines conditions. Effront (1) notamment a montré que l'emploi de levures accoutumées à l'acide fluorhydrique permettait de ramener la quantité de glycérine produite au dixième de celle que l'on obtient en utilisant les levures ordinaires.

D'autre part, une partie appréciable du sucre détourné de la production alcoolique est utilisée pour la construction des cellules de levure (cellulose et matières indéterminées du bilan de Pasteur). Duclaux (2), en se basant sur les travaux de Pasteur, évalue à un chiffre compris entre 1.5 et 2 gr., le poids de sucre nécessaire à la formation de 1 gr. de levure sèche. Suivant Claassen, ce chiffre serait égal à 2 gr. Or, il est possible d'économiser le sucre employé pour la reproduction cellulaire. Brown et Pedersen ont, en effet, montré que la quantité de levure utilisée pour ensemencer un moût n'a pas d'influence sur le nombre final de globules, qui reste à peu près le même par unité de volume. Ce nombre maximum de levures a été appelé « nombre limite de Brown », ou « saturation cellulaire spécifique » (Boinot). Si l'on introduit dans un moût une quantité de semence contenant un nombre de cellules voisin du nombre limite, il ne se produit que peu ou pas de cellules nouvelles et les dépenses de construction sont par suite très faibles ou nulles.

On a objecté que les dépenses totales d'entretien des cellules de levure se trouvaient de ce fait fortement majorées (Bettinger). Le nombre de globules par litre de moût est ordinairement, en effet, dans les méthodes usuelles de fermentation, de 150 milliards, ce qui correspond à 3.1 gr. de levure sèche. Sous certaines conditions, notamment lorsqu'on utilise les antiseptiques, le chiffre peut être abaissé à 100 et même 80 milliards (2 gr. et 1.67 gr. de levure sèche). Or, si la fermentation est faite en ensemençant le moût avec une quantité de cellules correspondant au chiffre limite de Brown, le nombre de globules est portée à 550 milliards (11.46 gr. de levure sèche par litre), suivant les observations de Grimaud.

Il a été répondu à cette objection que la quantité supplémentaire de sucre utilisé en ce cas pour les dépenses improductives d'entretien est cependant beaucoup moins importante que celle employée, dans les autres procédés, pour la multiplication cellulaire (3). En tout état de cause, Boinot (4), en faisant fermenter au laboratoire divers échantillons de mélasse de betteraves de France et de mélasses de cannes originaires de Cuba et de l'Afrique du Sud, par reprise des levures, a pu obtenir des rendements variant entre 64.5 l. et 66.9 l. d'alcool par 100 kgs de sucres disparus (exprimés en saccharose), chiffres qui dépassent tous le cœfficient de Pasteur.

Aux causes de pertes ci-dessus s'ajoutent, dans les fermentations industrielles, celles dues à l'intervention de ferments étrangers (levures sauvages, mycodermes, bactéries), qui attaquent le sucre en ne donnant que peu ou pas d'alcool ; aux conditions (température, acidité, composition des moûts, etc.), influençant défavorablement la fonction alcoolique de la levure ; à la présence dans les moûts de matières sucrées non fermentescibles (jusqu'à 3-4 % des sucres totaux) ; à l'évaporation et à l'entraînement par le gaz carbonique (1 % et plus de l'alcool produit), lorsque les fermentations sont faites en cuves ouvertes. Aussi, les rendements demeurent-ils en général très inférieurs au coefficient de Pasteur. Dans le cas des mélasses de canne traitées par les différents procédés de fermentation, on obtiendrait, suivant Magné, les pourcentages ci-après du coefficient de Pasteur :

Levures pures	85 — 95 %
Levures avec antiseptiques	70 — 85 —
Levures pressées	50 — 75 —
Fermentation spontanée	40 — 60 —

A la Jamaïque, dans la fabrication des rhums corsés, le rendement est

---

(1) Influence de l'acide fluorhydrique et des fluorures sur les levures de bière. C. R. CXVII, 183 — CXVIII, 1894.

(2) Traité de Microbiologie : S t. III. La fermentation alcoolique, Paris 1905.

(3) Par le procédé de reprise des levures, la durée de la fermentation est, en effet, réduite de 40 % environ. De plus, il semble que la dépense unitaire d'entretien soit d'autant plus élevée que le nombre de cellules diminue (Pérard).

(4) Bull. Ass. Chim. LVI, 728, 1939.