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 XVIII[e] 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 décompese 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 :

$$PO_3H_2\ O.\ CH_2 - COH - CHOH - CHOH - CH - CH_2.\ O.\ PO_3H_2$$
$$\text{|}_____O_____\text{|}$$

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) :

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

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 :

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

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.

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 XIX^{e} 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 :

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!\diagdown\!\!\diagup CH - CHNH_2 - CO_2H \longrightarrow \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!\diagdown\!\!\diagup CH - CH_2OH$$

valine — alc. isobutylique

$$\begin{matrix} CH_3 \\ C_2H_5 \end{matrix}\!\!\diagdown\!\!\diagup CH - CH_2 - CHNH_2 - CO_2H \longrightarrow \begin{matrix} CH_3 \\ C_2H_5 \end{matrix}\!\!\diagdown\!\!\diagup CH - CH_2 - CH_2OH$$

d — leucine — alc. isoamylique

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 esters 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 notables ; 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'estérification, 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.

Liquide fermenté (en gr. par l.) :	A	B
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.

seulement de 55 % du chiffre de Pasteur. Certaines pertes, dues à la formation d'acides et d'esters aromatiques, sont d'ailleurs inévitables. Floro, à la suite des observations qu'il a effectuées, répartit comme suit les différentes pertes :

Pertes pouvant être réduites

Alcool	dans les sucres résiduaires du moût	7.65 %
»	perdu par évaporation et entraînement	6.44
»	dans les fonds de cuve et les débordements	1.78
»	dans les vinasses	0.041
»	dans les fuites, etc.	0.293

Pertes dues à la qualité

Alcool	converti en acides, etc.	17.20 %
»	perdu après la fin de la fermentation et avant la distillation.	9.33
»	estérifié au cours de la distillation	1.80
	Total	44.534

A la Martinique, le rendement en cuverie varie habituellement, dans le cas de rhumeries de mélasse, entre 65 et 80 % du chiffre de Pasteur. Il est plus élevé en distillerie de vesou, où il atteint 75 à 90 %, et même exceptionnellement 93 %. Les pertes à la distillation sont par ailleurs assez fortes. La proportion d'alcool dans les vinasses varie d'ordinaire entre 0.5 et 2 p. 1000, soit 1 à 4 % de la quantité produite (dans les appareils bien au point, la teneur en alcool de la vinasse peut cependant descendre au-dessous de 0.2 °/₀₀). Il y a lieu d'ajouter les pertes dans les fonds de cuve, que l'on jette à la rivière. On admet que le rendement moyen est, en distillerie de vesou, de 100 l. de rhum à 55° par tonne de cannes manipulées.

Dans les conditions très favorables toutefois, il serait possible de dépasser dans la pratique industrielle le rendement de Pasteur. C'est ainsi qu'à la distillerie de betterave de Russy Grimaud (1), en employant le procédé de récupération des levures, a obtenu par 100 Kgs. de saccharose mis en œuvre 63.83 l. d'alcool pur, chiffre à majorer de l'alcool perdu par évaporation et entraînement par le gaz carbonique (1 à 2 %) et qu'il aurait été possible de récupérer par fermentation en cuve fermée ou par lavage des gaz. Pérard (2), à la distillerie de Baleycourt, en opérant en cuves ouvertes par le même procédé de reprise des levures, a observé le rendement moyen, pour la campagne 1936-37, de 63.97 l. d'alcool pour 100 Kgs de saccharose mis en œuvre. En distillerie de mélasse de cannes, à Porto-Rico, on aurait pu, par l'application du procédé Arroyo à moûts épais, atteindre avec certaines cuves le rendement de Pasteur (Cf. Chap. V).

Fermentation acétique.

Kutzing, en 1837, attribua pour la première fois la production de l'acide acétique à l'action d'un microorganisme. Cette théorie, combattue par Liebig et Berzelius, fut définitivement établie par Pasteur en 1860. En 1906, Buchner isola des bactéries acétiques la diastase déterminant l'oxydation de l'alcool, l'oxydase.

Mécanisme de la fermentation.

La réaction qui donne naissance à l'acide acétique fut d'abord considérée comme correspondant à une simple oxydation, suivant la formule :

$$CH_3-CH_2OH + O_2 \longrightarrow CH-CO_2H + H_2O$$

Le phénomène est en réalité plus complexe. On admet actuellement que le premier stade de l'oxydation de l'alcool éthylique serait l'aldéhyde acétique, qui a été isolée par Neuberg et Nord sous forme de combinaison sulfitique :

$$CH_3-CH_2OH + O_2 \longrightarrow CH_3-COH + H_2O$$

(1) Divers procédés de récupération de l'alcool perdu en cuverie : Procédé de récupération des levures. C. R. 8. Cong. Int. des Ind. Agr., 1935.

(2) Bull. Ass. Chim. LV, 212, 1938.

Il se produirait ensuite, selon Neuberg et Windisch, une sorte de réaction de Cannizaro, donnant naissance à de l'acide acétique et à de l'alcool, lequel rentrerait dans le cycle pour être oxydé à nouveau :

$$2CH_3-COH + H_2O \longrightarrow CH_3-CO_2H + CH_3-CH_2OH$$

Kluyver et Donker, s'inspirant de la théorie de Wieland (1), considérant la fermentation acétique comme un phénomène d'oxydation-réduction.

La première étape serait une déshydrogénation de l'alcool, donnant naissance à de l'aldéhyde acétique, laquelle après hydratation, subirait à son tour la déshydrogénation :

$$\underset{\text{alc. éthylique}}{CH_3-CH_2OH} \longrightarrow \underset{\text{ald. acétique}}{CH_3-COH} + H_2$$

$$\underset{\text{ald. acétique}}{CH_3-COH} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{ac. acétique}}{CH_3-CO_2H} + H_2$$

L'oxygène, nécessaire à l'action du ferment acétique, interviendrait uniquement comme récepteur d'hydrogène :

$$2H_2 + O_2 \longrightarrow 2H_2O$$

On a pu effectivement obtenir la transformation de l'alcool éthylique en acide acétique par voie anaérobie, en remplaçant les bactéries acétiques par un récepteur d'hydrogène (noir de platine, palladium, bleu de méthylène).

La théorie de Kluyver et Donker permet d'expliquer la marche rapide de la fermentation. La réaction indiquée par Neuberg et Windisch demeure cependant possible, mais ne constituerait qu'une réaction annexe.

En outre de l'aldéhyde et de l'acide acétique, il se forme au cours de la fermentation acétique, des produits secondaires encore mal connus, notamment des acides fixes (lactique, succinique) ou volatils (caproïque, valérianique, etc.), et des esters (acétate d'éthyle, etc.). D'autre part, certaines bactéries oxydent complètement l'alcool, en donnant du gaz carbonique et de l'eau.

Les ferments acétiques peuvent aussi attaquer les alcools autres que l'alcool éthylique, ainsi que les sucres. Le pouvoir oxydant varie beaucoup suivant les espèces. Les alcools propylique et butylique sont transformés en acides propionique et butyrique, la glycérine en acide glycérique ou dioxyacétone. Chez les sucres, la fonction aldéhydique est transformée en fonction acide : le glucose par exemple donne de l'acide gluconique et, avec certaines batéries, de l'acide oxalique. Le saccharose, le lévulose, et d'une façon générale les cétones ne sont pas attaqués (Bertrand et Watermann).

Ferments acétiques.

Les bactéries acétiques sont constituées par des cellules en forme de bâtonnets, fréquemment réunies en chaines et généralement immobiles. Elles se développent d'habitude à la surface des liquides alcooliques en aérobiose obligatoire, formant des voiles d'abord minces, puis plus ou moins épais, transparents ou opaques, gras ou secs, plus ou moins plissés. A l'état jeune, le voile se laisse difficilement mouiller ; une fois vieux, il se brise facilement et peut s'immerger dans le liquide, constituant une masse mucilagineuse (*mère du vinaigre*). Elles ne forment pas d'endospores et ne liquéfient pas la gélatine.

Il existe de nombreuses espèces de bactéries acétiques, se différenciant par les dimensions et la forme des cellules, la nature du voile formé, l'aspect des

---

(1) D'après Wieland, l'oxydation des composés chimiques organiques (sucres, protides, graisses, etc.) dans la cellule vivante consiste dans une déshydrogénation de la molécule, sous l'action de catalyseurs biologiques (diastases) que l'on a appelés **déshydrases**. En vie aérobie, l'hydrogène libéré réagirait sur l'oxygène pour donner de l'eau, tandis qu'en vie anaérobie il serait fixé par une substance facilement réductible.

Pour Warburg, au contraire, le phénomène fondamental de l'oxydation serait l'activation de l'oxygène par des diastases spéciales (oxydases proprement dites).

Les deux mécanismes semblent intervenir l'un et l'autre suivant les cas, et parfois même simultanément, dans les oxydations organiques (Keilin).

colonies sur milieux solides, les propriétés physiologiques (résistance à l'acide et à l'alcool, température optima, pouvoir oxydant, etc...).

Les espèces que l'on rencontre dans les moûts de distillerie sont en général des producteurs peu puissants d'acides ; elles supportent mal l'alcool, mais sont par contre capables d'oxyder de nombreux sucres. Elles donnent le plus souvent des voiles épais.

Les jus de canne à sucre renferment plusieurs espèces de bactéries acétiques. Tanaka, à Formose, a pu isoler les suivantes, représentées chacune par plusieurs variétés : *Acetobacter* (*Bacterium*) *xylinum* Brown, *A. acetosum* Henneberg, *A. Lindneri* Henneberg ; *Bacterium aceti* Brown, *B. curvum* Henneerg ; *Gluconoacetobacter liquefaciens, G. Asai.*

Ashby a rencontré dans les distilleries de la Jamaïque deux espèces bien distinctes :

a) Une bactérie qui apparaît rapidement dans les moûts fermentés à acidité faible ou élevée. Elle forme un délicat voile bleu, qui devient blanc par la suite, mais en restant toujours fragile. Dans un récipient de verre, le voile monte le long des parois, au-dessus de la surface du liquide. La bactérie se présente sous l'aspect de bâtonnets assez épais, courts, réunis en chaînes de faible longueur et se colorant en jaune ou brun jaunâtre par l'iode. Elle ressemble au *Bacterium Kutzingianum* Hansen, sauf qu'elle ne se colore pas en bleu par l'iode.

b) Une bactérie qui produit à la surface des liquides un voile de consistance cartilagineuse, très résistant. Elle se présente sous la forme de bâtonnets longs et étroits, se colorant en bleu par l'iode et l'acide sulfurique et paraît pouvoir être dentifiée avec le *Bacterium xylinum* Brown.

Le premier de ces ferments se multiplie vigoureusement lorsque le taux d'alcool est compris entre 7 et 9 %. Il donne environ 4 % d'acide acétique, au bout d'une quainzaine de jours (7.5 % au maximum). Le *B. xylinum* au contraire ne peut se développer lorsque la richesse alcoolique atteint 7° ; il produit environ 3 % d'acide acétique dans les liquides renfermant 4.5 % d'alcool. Aussi le rencontre-t-on surtout dans les jus de canne fermentés, tandis que l'espèce précédente se retrouve dans les moûts de mélasse dosant 6 % d'alcool ou plus.

Daprès Watts et Tempany, l'acidification qui affecte le jus de canne fraîchement exprimé, avant que la fermentation alcoolique ne se soit développée (*surissement du jus*), serait due à l'action d'un ferment anaérobie, attaquant directement le sucre. L'acidité formée provient pour les 2/3 environ d'acides fixes et pour 1/3 d'acides volatils, parmi lesquels l'acide acétique prédomine.

Importance en distillerie.

L'acétification est une affection fréquente des moûts de distillerie. Autrefois, lorsque les conditions de son développement étaient mal connues, elle occasionnait des pertes considérables, en abaissant le rendement alcoolique et en gâtant la qualité du produit obtenu (teneur excessive de l'eau-de-vie en acide acétique).

Les principaux facteurs qui favorisent la fermentation acétique sont :

a) les températures élevées de fermentation, qui réduisent la vigueur des levures alcooliques et sont au contraire favorables aux bactéries acétiques. Les températures optima de multiplication varient en général pour ces dernières entre 30° (*Bacterium xylinum*) et 36° (*B. aceti*) ;

b) l'acidité initiale insuffisante (cas des moûts de vesou particulièrement), défavorable à l'activité de la levure ;

c) la faible teneur des moûts fermentés en alcool ;

d) l'emploi d'un levain contaminé ou le manque de propreté de la cuverie.

Les ferments acétiques, quand ils n'exercent pas une action trop prédominante, peuvent intervenir utilement dans la production du bouquet des spiritueux, surtout de ceux à arôme développé. Certaines pratiques usitées en rhummerie ont pour but de favoriser leur développement. Il en est ainsi no-

tamment du traitement préliminaire que l'on fait subir aux écumes de défécation et aux jus de canne en présence de bagasse, dans la fabrication des rhums grand arôme à la Jamaïque. Signalons aussi qu'autrefois les producteurs de rhum agricole, à la Martinique, abandonnaient parfois pendant plusieurs jours les cannes après la coupe avant de les manipuler, afin d'obtenir une eau-de-vie plus corsée.

Fermentation butyrique et acétono-butylique.

Les premières observations sur la fermentation butyrique ont été faites par Pasteur (1861). La production d'alcool butylique par fermentation, signalée par Fitz dès 1876, a été étudiée par Grimbert (1893) et Beijerinck. Duclaux montra que les fermentations butyrique et butylique étaient provoquées par les mêmes organismes : lorsqu'on maintient le milieu artificiellement neutre par addition de craie, il y a production d'acide butyrique, tandis que si on laisse la culture s'acidifier librement, il se forme de l'alcool butylique normal. Enfin, en 1912, Fernbach et Schoen constatèrent qu'à côté de l'alcool butylique, il apparaît, en proportion bien déterminée, de l'acétone.

Mécanisme de la fermentation.

Le mécanisme de la fermentation butyrique est très complexe et encore mal connu.

On admet généralement que la dégradation de la molécule de sucre suit la même marche que dans la fermentation alcoolique, jusqu'au stade aldéhyde acétique. Ensuite, l'hydrogène, au lieu de se fixer sur l'aldéhyde formé, se stabilise à l'état moléculaire et se dégage du milieu en même temps que le gaz carbonique. L'aldéhyde acétique subit une condensation qui la transforme en aldol, ou aldéhyde β — oxybutyrique :

$$\underset{\text{ald. acétique}}{2\ CH_3-COH} \longrightarrow \underset{\text{aldol}}{CH_3-CHOH-CH_2-COH}$$

En milieu neutre, l'aldol hydraté subit une oxydo-réduction intramoléculaire, qui aboutit à l'acide butyrique :

$$CH_3-CHOH-CH_2-COH.H_2O \longrightarrow CH_3-CH_2-CH_2-COOH + H_2O$$

En milieu acide, il y aurait, suivant Schoen, oxydo-réduction de 2 molécules d'aldol, pour donner de l'alcool β — oxybutylique et de l'acide β — oxybutyrique, par la réaction de Cannizaro.

L'acide oxybutyrique serait transformé, par oxydation, en acide acéto-acétique, et l'alcool oxybutylique, par réduction concomitante, en alcool butylique. Enfin, par décarboxylation, l'acide acéto-acétique donnerait de l'acétone et du gaz carbonique :

$$\underset{\text{aldol}}{2\ CH_3-CHOH-CH_2-COH} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{alc. oxybutylique}}{CH_3-CHOH-CH_2-CH_2OH} + \underset{\text{ac. oxybutyrique}}{CH_3-CHOH-CH_2-CO_2H}$$

$$\underset{\text{ac. oxybutyrique}}{CH_3-CHOH-CH_2-CO_2H} \longrightarrow \underset{\text{ac. acéto-acétique}}{CH_3-CO-CH_2-CO_2H} + H_2$$

$$\underset{\text{alc. oxybutylique}}{CH_3-CHOH-CH_2-CH_2OH} + H_2 \longrightarrow \underset{\text{alc. butylique}}{CH_3-CH_2-CH_2-CH_2OH} + H_2O$$

$$\underset{\text{ac, acéto-acétique}}{CH_3-CO-CH_2-CO_2H} \longrightarrow \underset{\text{acétone}}{CH_3-CO-CH_3} + CO_2$$

Les formules générales des réactions seraient les suivantes :

a) fermentation butyrique :

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3-CH_2-CH_2-CO_2H + 2CO_2 + 2H_2$$

b) fermentation acétono-butylique :

$$2C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3-CH_2-CH_2-CH_2OH + CH_3-CO-CH_3 + 5CO_2 + 4H_2 + H_2O$$

En fait, ces formules ne sont pas exclusives. Il se produit, à côté du phénomène principal, des déviations de la fermentation, qui donnent naissance à des produits secondaires variés : alcools éthylique et isopropylique, acides acétique, formique, propionique, etc.. Les substances formées varient en nature et en quantité suivant le ferment considéré, la matière fermentescible, la réaction du milieu, le stade de la fermentation (au début de la fermentation acétono-butylique, il se produit toujours un peu d'acide butyrique).

A titre d'exemple, on peut donner la composition suivante des produits obtenus par Buchner et Mesenheimer (1), en faisant fermenter, par le *Bacillus butylicus* Fitz, 100 grammes de glucose en présence de crais et de sels :

Acide butyrique	26. gr
» lactique	10.0 —
» acétique	7.5 —
» formique	3.4 —
Hydrogène	1.6 —
Alcool éthylique	2.3 —
» butylique	0.7 —

Ferments butyriques.

Les ferments butyriques se présentent sous la forme de gros bâtonnets, souvent polymorphes (on trouve des formes en massue, en fuseau, etc.), mobiles. Ils sporulent aisément et se conservent longtemps et facilement à l'état de spores (même à des températures de 100-105°). Ces ferments sont généralement anaérobies, mais à côté des anaérobies obligatoires on a trouvé des anaérobies facultatifs (genre *Aero-bacillus*). Ils préfèrent les milieux neutres ou alcalins et les températures élevées (35°-40°).

Les ferments butyriques vrais utilisent comme source d'azote des composés ammoniacaux, ce qui les différencie des bactéries putréfiantes, qui s'attaquent aux matières protéïques. Il existe cependant entre ces deux groupes des formes de transition.

Les bactéries butyriques peuvent attaquer la plupart des glucides, y compris l'amidon. La cellulose toutefois n'est pas modifiée, sauf par des espèces tout à fait particulières. Les sucres sont dégradés soit par oxydation, soit beaucoup plus fréquemment par fermentation.

Les ferments butyriques sont très répandus dans la nature. On les rencontre dans le lait, les fumiers, le sol, les jus de betterave et de canne, les mélasses de sucrerie, etc. Il en existe de nombreuses espèces, se différenciant par leur action sur les divers sucres et sur les matières protéïques, par la nature, et la quantité de sous-produits qu'ils forment, etc. On peut signaler, parmi celles qui ont été le mieux étudiées, les espèces suivantes :

— *Bacillus butyricus* Pasteur. — Il détermine la fermentation du lactate de chaux, du lait ayant subi au préalable l'action du ferment lactique, de la glycérine, de certains sucres, en donnant naissance, comme produits principaux, à de l'acide butyrique, de l'hydrogène et du gaz carbonique en proportions variables.

— *Clostridium butyricum* Prazmowski. — Anaérobie et donnant surtout de l'acide butyrique ; c'est l'espèce que l'on rencontre le plus couramment dans les moûts de distillerie.

— *Bacillus butylicus* Fitz. — Il fait fermenter le saccharose, le glucose, la mannite et la glycérine, en donnant de l'hydrogène, du gaz carbonique, des acides lactique, succinique, butyrique, de l'alcool butylique et un peu d'alcool éthylique.

— *Bacillus orthobutylicus* Grimbert, qui fait fermenter les sucres, l'inuline, la dextrine et l'amidon, en donnant de l'hydrogène, du gaz carbonique, des acides butyrique et acétique et de l'alcool butylique normal.

(1) Ber. Deut. Chem. Ges. XLI, 1410, 1910.

— *Bacillus tetryl* Arroyo. — Découvert par Arroyo sur les racines de la canne *Kassoer* à Porto-Rico. Il a été utilisé industriellement pour la fabrication d'acétone et de butanol à partir des mélasses de canne.

Clostridium saccharolyticum Bergery, dont la présence a été signalée par Hall, James et Nelson dans les sirops de canne de la Barbade.

Clostridium saccharo-butyricum Arroyo. — Trouvé à Porto-Rico sur des graines de rocou et employé pour la production d'acide butyrique à partir des mélasses de canne. Il donne, d'après Arroyo, en plus de l'hydrogène et du gaz carbonique, environ 93 % d'acide butyrique normal, 4,1 % d'acide acétique, 1.9 % d'acide propionique et 1 % d'acides gras supérieurs (ac. caproïque, heptoïque, etc.). Il ne produit pas de quantités appréciables d'alcools, d'aldéhydes, ni de cétones. L'activité de la bactérie est arrêtée, lorsque la concentration en sucres du milieu dépasse 6 gr par 100 cc. ou lorsque le taux d'alcool atteint 8 % en volume. Il en est de même quand le pH descend aux environs de 4.0.

Importance en distillerie.

Les matières premières de distillerie renferment normalement des ferments butyriques, à l'état de bactéries ou, plus souvent, de spores (mélasses). L'activité de ces micro-organismes est annihilée, lorsque la fermentation est effectuée avec des levains purs ou en présence d'antiseptiques. Par contre, ils peuvent jouer un rôle important dans les fermentations spontanées, surtout quand celles-ci ont une longue durée. Leur intervention se traduit par une diminution de rendement alcoolique, et aussi par la production d'alcools supérieurs (alcools butylique normal, propylique, etc...) et d'acides volatils (acides butylique, propionique, formique, etc.), qui contribuent à la formation du bouquet des eaux-de-vie.

Allan a pu isoler dans les rhummeries de la Jamaïque et plus particulièrement des liquides provenant du « muck hole », différentes bactéries butyriques. Il a constaté que si celles-ci s'accommodent mal du jus de canne seul, elles se développent par contre vigoureusement dans les solutions de sucre additionnées de matières albuminoïdes, ainsi que dans la vinasse additionnée d'extrait de levure. Ce dernier milieu correspond sensiblement, au point de vue composition, au moût obtenu en mélangeant du vesou ou de la mélasse à de la vinasse. Les bactéries se développent bien à partir de 26°C, mais ont comme température optima 35°. Les quantités d'acides formés restent cependant assez faibles (0.3 - 0.4 %), si on ne neutralise pas le moût, au moyen de craie par exemple.

Suivant le même auteur, les bactéries prédominent dans les cuves vers la fin de la fermentation de longue durée pratiquée dans les distilleries fabriquant du rhum grand arôme, au point de faire disparaître complètement les levures du liquide fermenté. L'intervention des bactéries burytiques explique que le *fusel-oil* du rhum Jamaïque soit formé essentiellement par de l'alcool butylique normal.

Enfin, récemment, Arroyo à Porto-Rico, en faisant fermenter des moûts de mélasse de canne par la levure Pombé en symbiose avec le *Clostridium saccharobutyricum*, a pu obtenir un rhum ayant toutes es caractéristiques des rhums Jamaïque, en ce qui concerne le bouquet et la composition chimique Cet auteur a observé qu'en cultivant la bactérie en symbiose avec la levure, la multiplication de celle-ci et la formation de l'alcool étaient considérablement accélérées. La durée de la fermentation du moût, de 70-96 heures dans le cas de la levure seule, était ramenée à 28-48 heures. L'auteur attribue ce fait à l'action de radiations émises par la bactérie et comparables aux rayons mitogénétiques de Gurwitsch (1).

---

(1) Les radiations mitogénétiques, découvertes par Gurwitsch (Arch. Mikrosk Anat. und Entro Mech. C, 11, 1923), sont émises par certains organismes vivants, à certains stades de développement. Elles traversent le quartz, mais non le verre et, quand elles rencontrent d'autres tissus en voie de croissance, elles peuvent agir sur eux en accélérant leur développement ou leur reproduction. Arroyo a constaté que diverses bactéries pouvaient émettre des rayons semblables, agissant sur la rapidité de multiplication et le pouvoir zymogène des levures, même lorsque la bactérie se trouve séparée de la levure par une paroi de quartz.

Fermentation lactique.

C'est Pasteur qui isola, en 1857, les premiers ferments lactiques. On distingue aujourd'hui les ferments lactiques vrais, qui produisent de l'acide lactique à peu près seul, et les pseudo-ferments lactiques, qui donnent en même temps des quantités importantes de sous-produits divers (acide acétique, alcool éthylique, CO_2, H, etc.).

Mécanisme de la fermentation.

On pensait autrefois que la production d'acide lactique à partir des hexoses se faisait par simple dédoublement, suivant la formule :

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\,C_3H_6O_3$$

Mais, comme a retrouvé, au cours de la fermentation lactique, plusieurs des corps isolés dans la fermentation alcoolique (hexose-phosphate, aldéhyde acétique, méthylglyoxal), on considère aujourd'hui que le mécanisme de ces deux fermentations est analogue.

Selon Neuberg, le sucre donnerait naissance, en passant par les hexose-phosphates, au méthylglyoxal hydraté. Celui-ci serait ensuite transformé en acide lactique, par oxydo-réduction intramoléculaire (provoquée par la *glyoxalase*). :

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

$$\underset{\text{méthylglyoxal}}{CH_3-CO-COH.H_2O} \longrightarrow \underset{\text{ac. lactique}}{CH_3-CHOH-CO_2H}$$

D'après Meyerhoff, la fermentation lactique pourrait être comparée à la production d'acide lactique dans le muscle, sous l'action de la *zymase lactique* (isolée du muscle en 1927). L'évolution des sucres serait la même que dans la fermentation alcoolique, jusqu'au stade acide pyruvique. Celui-ci subirait alors une oxydo-réduction, en présence de phosphoglycérol, pour donner de l'acide lactique et du phosphoglycéral :

$$\begin{matrix} \underset{\text{ac. pyruvique}}{CH_3-CO-CO_2H} \\ + \\ \underset{\text{phosphoglycérol}}{CH_2OH-CHOH-CH_2.O.PO_3H_2} \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} \underset{\text{ac. lactique}}{CH_3-CHOH-CO_2H} \\ + \\ \underset{\text{phosphoglycéral}}{COH-CHOH-CH_2O.PO_3H_2} \end{matrix}$$

Le phosphoglycéral ainsi formé réagirait sur une seconde molécule d'acide pyruvique, pour donner encore de l'acide lactique et de l'acide phosphorique, lequel rentrerait dans la réaction pour regénérer l'acide pyruvique.

Ce mécanisme est celui de la fermentation lactique vraie. Les transformations sont beaucoup plus complexes et très mal connues, dans le cas des pseudo-ferments lactiques, qui produisent aux dépens des sucres de grandes quantités de gaz (CO_2 et H) et donnent naissance à divers autres acides (acétique, succinique, formique) et à de l'alcool éthylique.

Ferments lactiques.

Ces ferments, très nombreux, se présentent sous la forme de bâtonnets de taille variable ou de cocci, isolés, réunis deux par deux (diplobacilles, diplocoques), ou disposés en chaines plus ou moins longues (streptobacilles, streptocoques); ils sont immobiles et ne forment pas de spores.

Certaines espèces sont anaérobies, d'autres facultativement aérobies ou anaérobies, d'autres enfin indifférentes vis-à-vis de l'oxygène. Ils sont sensibles

à l'acidité ; ils ne produisent que 2 % d'acide lactique au maximum et généralement beaucoup moins. Ils préfèrent les milieux neutres. Ne sporulant pas, ils sont généralement détruits par un chauffage à 65-70° pendant 5 minutes. La température optima de croissance peut être relativement élevée pour certaines espèces (40-50° pour les bactéries du genre *Thermobacterium*), plus faibles pour d'autres (30°). Les ferments lactiques vrais exigent pour leur nutrition azotée des peptones ; les pseudo-ferments lactiques se contentent d'amino-acides ou de sels ammoniacaux. Très répandus dans la nature, ils se rencontrent dans le lait, les moûts de distillerie, le fumier, etc.

Les ferments lactiques que l'on trouve en distillerie appartiennent surtout au groupe des lactobacilles, bactéries anaérobies en forme de bâtonnets, souvent réunis par 2 ou en chaîne, capables de supporter de fortes doses d'acidité lactique et ne donnant que des traces de produits autres que l'acide lactique.

Le *Lactabocillus Delbruckii* Leichman et le *L. Lindneri* ont été isolés de mélasses de canne.

Le premier de ces organismes se présente sous la forme de bâtonnets de 2.7 mus à 8 mus de long sur 0.4-0.7 mu de large, soit isolé, soit réunis 2 par 2 ou en chaînes parfois très longues. Il ne pousse pas dans le lait et se développe surtout bien dans le moût de bière non houblonné et les moûts de distillerie. Température optima 45°. La quantité d'acide formé atteint 1,6 % au maximum. L'acidification est ralentie par 4% et arrêtée par 10 % d'alcool.

Les bactéries lactiques se rencontrent assez fréquemment dans les moûts de rhummerie (Ficker et Szügs). Elles prédomineraient dans la fermentation des écumes de défécation (Ashby). Un représentant du groupe des pseudo-ferments lactiques, le *Leuconostoc mesenteroides*, se développe facilement dans les moûts de vesou ou de mélasse à réaction neutre ou alcaline.

Les bactéries lactiques doivent être généralement considérées comme des ferments de maladie, dont le développement est favorisé par les températures de fermentation élevées, une acidification insuffisante des moûts, le manque de propreté. Cependant, les produits secondaires (acides acétique, formique, etc.) auxquels diverses espèces donnent naissance peuvent jouer un rôle utile dans la production de l'arôme.

En distillerie de matière amylacées, on a utilisé les bactéries lactiques pour obtenir l'acidification des moûts. Ceux-ci sont abandonnés à la fermentation lactique spontanée, à haute température (50-55°), ou parfois ensemencés avec un culture pure de *Lactobacillus Delbruckii*.

Fermentation mycodermique

Dans cette fermentation, qui se produit facilement si on abandonne à elles-mêmes les cuves après la fin de la fermentation alcoolique, l'alcool est oxydé complètement, avec production d'eau et de gaz carbonique.

Les agents de cette fermentation sont des levures asporogènes, du genre *Mycoderma*. Celles-ci se présentent le plus souvent sous la forme de cellules allongées, cylindriques, à protoplasme transparent et vacuolisé, montrant une tendance à rester unies en minces chaînettes. Elles sont aérobies et forment à la surface des liquides, dès le début de la fermentation, un voile plissé, rempli de bulles d'air (levures à voile).

Fig. 7. — *Mycoderma cerevisiae*, d'après Holm.

Les mycodermes sont très répandus dans l'air et vivent surtout dans les liquides renfermant de l'alcool. On en a décrit de nombreuses espèces. A signaler notamment le *Mycoderma cerevsiae* Desm. qui se rencontre dans les brasseries et altère la bière, et le *Mycoderma vini* Desm, qui provoque la fleur du vin.

Si certaines espèces ne tolèrent pas plus de 1%, d'autres supportent encore 15 % d'alcool. Les mycodermes préfèrent les milieux riches en matières organiques. Ils supportent mal l'acidité, leur multiplication étant généralement arrêtée par 2 % d'acide acétique. Ils peuvent cependant attaquer les acides organiques (acide acétique, malique, tartrique, etc.), si la concentration de ceux-ci est faible. Rarement, ils font fermenter certains sucres, en donnant un peu d'alcool.

Les principaux produits de la fermentation sont l'eau et le gaz carbonique. Comme produits secondaires, on trouve de petites quantités d'acides organiques (formique, succinique, maline, acétique, etc) et d'esters (acétate d'éthyle).

Les mycodermes, s'ils jouent un rôle nuisible en brûlant l'alccol formé, peuvent dans certains cas intervenir heureusement, en produisant des principes aromatiques. C'est à ces ferments qu'est dûe la saveur de certains vins de Xérès, qui vieillissent plusieurs années en fûts non remplis et couverts de *Mycoderma vini*. Signalons aussi qu'en rhummerie, pour obtenir une eau-de-vie plus « bouquetée », on laisse parfois les cuves « blanchir », c'est-à-dire se recouvrir d'un voile mycodermique, avant de procéder à leur distillation. Dans la fabrication de certains rhums à grand arôme notamment, il est de règle d'abandonner pendant 3 ou 4 jours les cuves après la fin de la fermentation alcoolique.

Fermentation putride.

Les ferments putréfiants se distinguent des ferments précédemment étudiés par ce fait qu'ils provoquent une alcalinisation du milieu : les matières azotées sont décomposées d'abord en amino-acides, puis en divers acides volatils (carbonique, sulfhydrique, acétique, propionique, butyrique, valérique etc), qui se combinent avec l'ammoniaque produit. Il y a aussi libération de produits aromatiques ou hétérocycliques. Les bactéries aérobies poussent beaucoup plus loin la dégradation que les espèces anaérobies. La nature de l'amino-acide attaqué, les conditions de la fermentation interviennent, en même temps que l'espèce microbienne, pour modifier la nature des produits formés.

Beaucoup de ferments putrides attaquent également les sucres et certains d'entre eux. qui sont des espèces de transition avec les ferments lactiques et butyriques, donnent naissance à des acides gras libres. L'action de ces organismes sur les sucres est cependant très limitée.

On divise généralement les ferments de la putréfaction en bactéries anaérobies, qui se développent en profondeur, et en bactéries aérobies qui forment des voiles à la surface des liquides. Les premières se rapprochent des pseudo-ferments butyriques, dont elles se distinguent par leur propriété d'attaquer les matières albuminoïdes. Les secondes sont représentées principalement par les groupes du *Bacillus fluorescens*, du *B. proteus* et du *B. subtilis*.

Les bactéries fluorescentes, très communes dans l'eau, l'air et les couches supérieures du sol, sont mobiles, non sporulées, généralement gram-négatives, productrices d'indol.

Celles du groupe *proteus* sont généralement mobiles, très polymorphes et ne sporulant pas. Elles attaquent énergiquement les matières protéïques et font fermenter les sucres, avec production d'hydrogène, de gaz carbonique, d'acides acétique et succinique. La présence des ferments de ce groupe a été signalée dans la fabrication du rhum Jamaïque, et notamment dans le liquide du « muck hole » (Allan).

Le *Bacillus subtilis* Ehrenberg est un bâtonnet mobile, assez souvent polymorphe, gram-positif ; il produit des spores très résistantes à la chaleur et a comme température optima de développement 40° environ. On a trouvé dans les mélasses finales de Cuba, à côté du *B. subtilis* proprement dit, *le Bacillus vulgatus* Migula, le *B mensentericus* Trevisan, le *B. mensentericus fuscus* Flugge, *le B. liodermos* Flugge et le *B. levaniformans* Greig Smith.

Les bactéries putrides n'ont habituellement en distillerie qu'une importance très secondaire. Si on les rencontre communément das certaines matières premières (mélasses), leur action sur les sucres et les matières albuminoïdes reste cependant très limitée, en raison de leur sensibilité aux acides ; il est rare de voir des bactéries putréfiantes résister à un pH inférieur à 4.

Dans quelques cas cependant, elles peuvent intervenir en détruisant une certaine quantité de sucre et en donnant naissance à des produits aromatiques agissant sur le bouquet de l'eau-de-vie, favorablement (production de certains acides gras volatils), ou défavorablement (production de H_2S, indol, etc). Elles joueraient un certain rôle dans la fabrication du rhum Jamaïque à grand arôme (Allan, Cousins).

Fermentation gommeuse.

Dans cette fermentation, les jus sucrés sont transformés en une masse gélatineuse et visqueuse, sous l'action de divers microorganismes qui produisent, à partir des sucres, des substances gommeuses connues sous les noms de dextrane et de lévulane. On a attribué à ces substances la même formule brute qu'à la cellulose, $(C_6H_{10}O_5)_n$, mais elles correspondraient, suivant certains auteurs, à des produits hydratés de composition variable.

La dextrane est une gomme incolore, qui se gonfle dans l'eau et se dissout dans les liqueurs alcalines. Elle est dextrogyre ($\alpha_D = +200°$ d'après Scheibler) et donne par hydrolyse du glucose.

La lévulane présente l'aspect d'une gomme qui devient friable par la dessication. Elle fond vers 250°, se dissout dans l'eau chaude et donne par refroidissement une masse gélatineuse. Son pouvoir rotatoire est égal à 221°. Elle fournit par hydrolyse du lévulose. Elle ne réduit pas, non plus que la dextrane, la liqueur de Fehling.

Frai de grenouille.

Le plus connu des microorganismes producteurs de gomme est le *Leuconostoc mesenteroides* Van Tieghem, qui détermine l'affection depuis longtemps connue sous le nom de *gomme de sucrerie*, ou *frai de grenouille*. Cette maladie, signalée dès 1822 par Vauquelin dans des bouteilles de jus de canne expédiées de la Martinique en France, apparaît aussi bien en sucrerie de betterave (principalement lorsque les betteraves ne sont pas suffisamment mûres) qu'en sucrerie de canne (Java, Hawaï, Cuba, Louisiane, etc.). En Louisiane, les cannes endommagées par la gelée subissent fréquemment, à l'arrivée du temps chaud, la fermentation gommeuse.

Les jus sucrés atteints se transforment en masses gélatineuses compactes composées de grumeaux insolubles, incolores ou rosés, empatés dans une liqueur visqueuse. Ces masses, de consistance ferme et élastique, ressemblent à du frai de grenouille.

Le *Leuconostoc mesenteroides* est un streptocoque, se présentant sous la forme de grains sphériques entourés d'une gaine glaireuse (dextrane). A l'état jeune, il affecte l'aspect d'un chapelet de petits grains entourés de gélatine, puis de longs boudins réfringents, qui se recourbent de façon irrégulière tout en conservant dans leur axe les chapelets de grains qui leur ont donné naissance. Les différents tubes, en se pelotonnant sur eux-mêmes, forment des corps muqueux, grossissant constamment, et dont la surface contournée ressemble à celle du cerveau, puis des masses mamelonnées de plus en plus volumineuses. La fermentation terminée, la gangue se ramollit et les chapelets se disloquent.

Le Leuconostoc, qui a été trouvé dans l'eau et dans la terre par Beijerinck, préfère les milieux alcalins ; son développement est lent dans les jus neutres ou acides. L'optimum de température est vers 36° ; toutefois, il se développe surtout activement aux températures relativement basses (inférieures à 20°), défavorables à l'action des levures (Owen).

Le Leuconostoc attaque le saccharose et le glucose, avec production de dextrane, de mannite et d'acides gras (lactique, etc.) ; avec le lactose et le maltose, il donne naissance à de l'acide lactique, mais sans former de gaine. Il sécrète de la sucrase, qui intervertit le saccharose.

Suivant Sacchetti, la « gomme de sucrerie » serait due à la symbiose de deux microbes, le *Leuconostoc mesenteroides* et le *Bacillus vulgatus* Migula.

donnant naissance le 1er à de la dextrane et le 2e à de la lévulane, et d'une levure, le *Saccharomyces cartilaginosus* Lindner. Cette symbiose a été confirmée par Monoyer, qui a décrit la levure associée sous le nom de *Torulopsis Cambresieri* Mon. n. sp. Le Leuconostoc se trouve dans la partie centrale des particules gommeuses, le bacille dans la partie médiane, tandis que la levure forme une croûte externe, qui protège les bactéries contre l'action de l'oxygène dissous dans le liquide.

Diverses espèces de Coccacées analogues au *Leuconostoc* ont été étudiées par Schöne, Zettnow, Gonnermann. Elles se différencient par leurs dimensions, leur comportement sur les milieux solides ou liquides, la nature des produits formés, etc.

Autres producteurs de gomme.

Il a été décrit divers autres microorganismes qui produisent des gommes à partir du sucre. Mentionnons les suivants :

— *Bacterium gelatinosum beta* Glaser, qui forme à la surface du jus de betterave un voile glaireux, ressemblant beaucoup à celui produit par le *Leuconostoc*. Il liquéfie la gélatine et intervertit le saccharose. Température optima : 40°.

— *Bacillus viscosus sacchari* Kramer ;

— *Semiclostridium commune* Maassen, qui forme de la lévulane aux dépens du saccharose, mais n'attaque pas le sucre inverti.

— *Bacillus levaniformans* Greig Smith. Trouvé par Greig Smith (1) en 1901, dans du jus de canne et des sucres bruts au Queensland, le microbe, comme le précédent, attaque seulement le saccharose, avec production de lévulane. Il en est de même du *Bacterium gummosum* Ritsert.

Le *Semiclostridium commune* forme des gaines comme le *Leuconostoc*, mais les autres n'en produisent pas.

Suivant Owen (2), les bactéries du groupe *mesentericus* (bacilles de la pomme de terre) : *Bacillus mesentericus, B. vulgatus. B. liodermos,* acquièrent la propriété, si on les cultive pendant plusieurs générations en milieux saccharosés, de transformer le saccharose en lévulane. Ces microbes, qui se rencontrent normalement dans le sol, peuvent acquérir cette propriété au voisinage des sucreries. Introduits dans les jus par la paille et les particules de terre adhérant aux cannes, ils se retrouvent dans les tourteaux de presse et les mélasses finales, car ils sont susceptibles de résister, à l'état de spores, aux hautes températures de la fabrication du sucre. Les tourteaux de presse étant couramment utilisés comme engrais et les bactéries des mélasses retournant aussi au sol lorsque ces dernières sont utilisées pour l'alimentation des animaux, il en résulte un acclimatement progressif des ferments aux solutions sucrées et une dissémination de ces organismes dans les plantations de canne.

Owen considère que de nombreux microorganismes producteurs de gomme, décrits par les auteurs comme espèces distinctes, ne sont en réalité que des formes dérivées des bactéries du groupe *mesentericus*. Il en serait ainsi notamment du *Bacillus levaniformans,* qui deviendrait le *B. mesentericus levaniformans.*

Ces ferments produisent de la lévulane directement à partir du saccharose: l'inversion préalable de celui-ci par la sucrase diminue et ralentit la formation de gomme. Ils préfèrent les milieux alcalins, le pH optimum variant entre 6.7 et 7 (Owen).

Production de cellulose.

Browne a signalé qu'en Louisiane, il apparaît assez couramment une fermentation aérobie donnant naissance à de la cellulane. Il se forme dans le jus

(1) J. Chem. Ind. XXI, 1381, 1902.
(2) J. Bacteriology VIII, 421, 1923.

de canne des masses gélatineuses, qui peuvent peser plusieurs livres et ont une apparence stratifiée.

Les membranes constituant les strates sont de nature cellulosique. Au microscope, elles apparaissent formées par des chaînes de bactéries, entremêlées de streptocoques enrobés dans une gaine cellulosique. Les bactéries sont généralement mélangées avec des cellules de levure.

L'organisme producteur de cellulane est très semblable, sinon identique, au *Bacterium xylinum*.

Fermentation par les mucédinées.

On a signalé la présence dans les mélasses de canne de nombreuses moisissures. Church et Thom, par exemple, ont trouvé les espèces suivantes : *Aspergillus niger* Van Tieghem, *A. flavus* Link, *A. nidulans* Winter, *Aspergillus* sp. (bleu) ; *Citromyces* spp., *Penicillium expansum, P. divericatum, P. luteum, P. roseum, P. purpurogenum*.

Les moisissures se développent, d'autre part, en parasites sur les sucres, parfois même sur les cuves et les murs des distilleries mal tenues.

Ces organismes attaquent les aliments les plus divers. Ils peuvent notamment brûler les sucres, en donnant du gaz carbonique et de l'eau. Entre ce terme final et les composés ternaires, on trouve divers corps intermédiaires, correspondant à des oxydations incomplètes : acides gluconique saccharique, oxalique, citrique, etc. Ces acides n'apparaissent d'ordinaire que d'une façon fugace et sont bientôt brûlés à leur tour. Mais dans certaines conditions, ils peuvent demeurer dans le liquide et contribuer à la formation du bouquet.

Parmi les produits les plus intéressants de cette fermentation par les moisissements sont : l'acide oxalique, qui apparaît surtout dans les milieux riches en azote et en sucre (15-20 %), et l'acide citrique, que l'on produit maintenant industriellement par fermentation des mélasses (procédé Cahn).

Certaines moisissures, appartenant principalement à la famille des *Mucoracées*, peuvent saccharifier les matières amylacées et même, dans certaines conditions, donner de l'alcool. Elles sont à la base des processus de fermentation pratiqués en Extrême-Orient. Elles jouent, dans cette partie du monde, le même rôle que le malt en Europe.

Il y a lieu de signaler particulièrement les espèces suivantes :

— *Mucor* (*Amylomyces*) *Rouxii* Wehmer, ferment du levain annamite (*mên*), utilisé dans la préparation de l'alcool de riz annamite ou *Ru'o'on* (vulgairement *choum-choum*). On le trouve aussi dans le levain employé en Chine

— *Aspergillus* (*Eurotium*) *oryzae* Cohn, ferment du levain japonais (*koji*). employé dans la fermentation d'une bière de riz (*saké*).

— *Mucor Prainii* Chodat et Nechitch, rencontré dans les levains de l'Inde (*ranu, murcha*).

— *Mucor oryzae* Went, *Mucor javanicus* Wehmer et *Rhizopus oryzae* Went et Prinsen-Geerligs, microorganismes du *ragi*, levain utilisé aux Indes Néerlandaises, dans la préparation de l'arak de Batavia.

Ces moisissures, vivant en aérobiose, transforment l'amidon des grains de riz en glucose. Certaines d'entre elles (*M. Rouxii, M. javanicus, etc.*), quand elles sont cultivées en anaérobiose, peuvent aussi produire de l'alcool, mais en faibles quantités (5 à 7 % d'alcool au maximum) et très lentement. La transformation du sucre en alcool est surtout l'œuvre des levures, qui existent toujours en abondance dans les levains d'Extrême-Orient.

On a aussi utilisé en Europe les propriétés des Mucors en distillerie de matières amylacées, et plus particulièrement dans la fabrication de l'alcool de grains (*procédé Amylo*, mis au point par Collette et Boidin). On a d'abord employé l'*Amylomyces Rouxii*, puis divers autres Mucors plus actifs ou plus résistants (Mucors B, Boulard, Delemar, etc.).

Fermentation nitreuse.

La fermentation nitreuse est assez fréquente en distillerie de jus et de mélasse de betteraves. Elle résulte du développment de bactéries réductrices, qui décomposent les nitrates du moût, en donnant surtout de l'azote gazeux et des nitrites. Ces derniers sont eux-mêmes décomposés par les acides avec production de bioxyde d'azote, lequel se transforme au contact de l'air en vapeurs rutilantes de peroxyde d'azote : la cuve se couvre de bulles jaunâtres. Les ferments butyriques peuvent également provoquer, grâce à l'hydrogène qu'ils dégagent, la réduction des nitrites en nitrates et la formation de peroxyde d'azote.

La fermentation nitreuse n'a pas été signalée en distillerie de cannes, Bassières (1) a cependant noté à la Martinique un cas de « fermentation nitriforme », où les cuves se couvraient de grosses bulles d'un jaune rouille et d'une sorte de crasse de même couleur. Il n'a pu mettre en évidence la présence de nitrites.

(1) in Kervégant - L'industrie rhumière à la Martinique. Bull. Agr. Martinique 11, 29, 1933.