Le pouvoir fermentatif de diverses espèces de levures dans la production de la glycérine pendant la fermentation alcoolique¹⁾.

Par

R. REDEL-CHEFTEL.

Les travaux de Pasteur ont démontré que la levure se développe, se nourrit et se multiplie en présence d'oxygène comme les autres plantes. Le manque d'oxygène provoque la fermentation alcoolique que l'on considère comme sa respiration intramoléculaire. L'oxygène est pris de la molécule du sucre et changé en CO_2 , tandis que le reste de la molécule devient de l'alcool. La levure est un anaérobe temporaire: privée d'air, elle ne peut vivre que pendant un temps limité. L'énergie produite par la fermentation du sucre suffit à entretenir la vie des cellules, mais la formation de nouvelles cellules ne se fait presque plus. En présence d'oxygène la respiration normale de la levure lui fournit plus d'énergie que la fermentation: celle-ci, quoique non nécessaire, a lieu cependant avec une intensité différente pour les différentes races de levures.

Kützig, Cagniard-Latour, Schwann, Pasteur regardaient la fermentation alcoolique comme étroitement liée à la vie de la levure, Liebig et son école la considéraient au contraire comme un phénomène purement chimique, provoqué par des matières non vivantes de la cellule. Buchner a isolé de la levure l'enzyme, zymase, provoquant la fermentation alcoolique. On considère maintenant que la levure prend part indirectement à la fermentation en produisant la zymase.

¹⁾ Présenté à la séance de la section de Varsovie de la Société botanique de Pologne le 14. XII. 1929.

En 1815 Gay-Lussac (1) a établi quantitativement l'équation de la fermentation alcoolique :

Précédemment Lavoisier (2) avait expliqué la fermentation alcoolique comme le dédoublement d'une molécule de sucre avec l'oxydation d'une partie aux dépens de l'autre.

Pasteur (3) a signalé ensuite la présence de deux produits secondaires, l'acide succinique et la glycérine. Plus tard on a découvert d'autres produits secondaires, comme acide formique, lactique, acétique, alcools, aldéhydes et esters.

Le premier schéma expliquant la formation de l'alcool en passant par les produits intermédiaires est dû à Bayer (4). L'acide lactique est le terme de passage. Laurent (5) a, cependant, montré que la levure n'attaque l'acide lactique que lors de la respiration en présence d'oxygène.

Actuellement nous envisageons comme produit intermédiaire l'acide pyruvique. En effet, Neuberg et Karczag (6) ont démontré qu'il est attaqué aussi bien par le suc de levure que par la levure, en donnant CO_2 et aldéhyde acétique; la carboxylase, un des composants de la zymase, étant la cause de cette décomposition. La vitesse de cette réaction est dans certains cas supérieure à celle de la fermentation même.

Fernbach et Schoen (7) ont obtenu l'acide pyruvique en partant des hexoses par voie biochimique. Si on neutralise par de la craie au cours de la fermentation les acides succinique et acétique formées, on provoque la formation d'une nouvelle acide, l'acide pyruvique. Sa quantité est proportionnelle au sucre consommé. On admet qu'il se forme même en absence de craie, mais qu'il subit immédiatement une transformation ultérieure. C'est pourquoi il n'apparaît pas au cours de la fermentation normale. Une autre preuve de la formation d'acide pyruvique au cours de la fermentation a été fournie par von Grab (8). En faisant la fermentation en présence de β — naphtylamine, il a obtenu l'acide α — methyl — β — naphthocinchonique, formée aux dépens d'une molécule d'aldéhyde acétique et d'une molécule d'acide pyruvique.

L'aldéhyde acétique joue aussi le rôle de produit intermédiaire. Müller-Thurgau et Osterwalder (9) ont, les premiers, remarqué qu'un complexe aldehydo-sulfite se forme lors de la fermentation en présence de sulfite. Neuberg et Reinfurth (10)

ont montré qu'il se forme d'abord un produit de condensation de l'acide pyruvique avec le sulfite. Celui-ci subit une fermentation par la carboxylase en donnant, par perte de CO_2 , le complexe aldéhydique.

Le premier schéma, où l'aldéhyde acétique et l'acide pyruvique interviennent comme produits intermédiaires, est dû à Kostytschew (11).

le schéma indique que la formation de CO_2 et d'alcool sont deux processus séparés. Lorsque l'aldéhyde est transformée autrement que par réduction, la quantité d'alcool formé ne correspond plus à la quantité de CO_2 et peut même être nulle.

La réduction de l'aldéhyde en alcool se fait grâce à l'hydrogène libéré lors de la transformation du sucre en acide pyruvique. Pour expliquer cette transformation on a admis la formation de produits intermédiaires.

Tout récemment Neuberg et Kobel (12) ont déterminé la présence de méthylglyoxal au cours de la fermentation, en le fixant comme osazone. Le méthylglyoxal se trouve sous une autre forme que celle aldéhydique, obtenue au laboratoire, qui n'est pas fermentescible. Selon Neuberg la décomposition du sucre se fait de la manière suivante :

Les réactions se poursuivent selon le schéma de Kostytschew. La transformation du sucre en méthylglyoxal est encore obscure. On suppose des phases intermédiaires entre le sucre et le méthylglyoxal. C'est le phosphore qui joue un rôle important dans cette transformation. Le phosphore est un élément essentiel de la zymase; il est indispensable dans le complexe de substances qui peut remplacer le coenzyme. Si on l'ajoute à l'état de sel alcalin au sucre fermenté par le suc de levure, la vitesse de la fermentation augmente proportionnellement à la quantité de sel ajouté. Au cours de la fermentation la quantité de phosphate diminue jusqu'à la complète disparition. Dans le liquide fermenté Harden et Young (13) ont découvert un ester de l'acide hexoso-di-phosphorique, Robison (14) un ester de l'acide hexoso-mono-phosphorique. Selon Harden dans la pre-

mière phase de la fermentation deux molécules de sucre réagissent avec deux molécules de phosphate. Une molécule de sucre se décompose normalement en alcool et CO_2 , tandis que l'autre forme un composé avec deux molécules de phosphate. Dans la deuxième phase ce composé est hydrolysé en phosphate et hexose. Cette hexose et peut-être plus facilement fermentée, mais comment expliquer la décomposition de l'autre molécule de sucre qui a été simplement en contact avec le phosphate?

Kluyver (15) formule une autre hypothèse. Il se forme un ester actif de l'acide hexoso-mono-phosphorique, qui peut se stabiliser sous la forme de l'ester inactif, découvert par Robison. Normalement, l'ester actif subit une oxydo-réduction et forme de l'aldéhyde glycérique et de l'ester de l'acide aldéhydo-glycéro-phosphorique. Ce dernier ($\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CH} \cdot \text{O} \cdot \text{PO}_3\text{R}_2 \cdot \text{CHO}$) peut donner par condensation de deux molécules l'ester de Harden et Young. Mais d'habitude il est saponifié et forme de l'aldéhyde glycérique et du phosphate. L'aldéhyde glycérique passe en hydrate de méthylglyoxal et la fermentation se poursuit selon le schéma de Neuberg. Au cours de la fermentation avec la levure vivante la quantité de phosphate présent ne change pas. Kluyver explique la disparition du phosphate lors de la fermentation avec le suc de levure par le changement d'équilibre entre les enzymes. A cause de la différence de vitesse entre la formation et la décomposition de l'ester de l'acide hexoso-mono-phosphorique une partie de cet ester se stabilise selon la formule de Robison. A cause du déséquilibre entre la formation et la saponification de l'ester d'acide trioso-phosphorique il se forme l'ester de Harden et Young.

Malgré les schémas exposés la question des premières phases de la décomposition du sucre et le rôle du phosphore dans ces phases ne sont pas encore résolus.

Pour approfondir la connaissance de la fermentation alcoolique Neuberg et ses collaborateurs l'ont étudiée en présence d'alcalisateurs. La zymase aussi bien dans la levure que dans le suc de levure s'est montrée assez résistante envers ces agents, surtout si on les ajoute, lorsque la fermentation est déjà initiée (16).

Sous l'influence du milieu alcalin les produits de la fermentation changent: le CO_2 et l'alcool diminuent, tandis que l'aldéhyde acétique et la glycérine augmentent. Nous distinguons deux groupes d'alcalisateurs: premièrement les sulfites qui se combinent à l'aldéhyde acétique en l'éliminant de la suite des réactions (17). Les sulfites insolubles et les bisulfites agissent de manière analogue. Neu-

berg et Reinfurth (18) ont réussi à fixer l'aldéhyde acétique également à l'aide de dimedon (di-méthyl-hydrorésorcine).

Le second groupe comprend les substances qui agissent sur l'aldéhyde acétique de manière biochimique. La levure peut décomposer les aldéhydes selon la réaction de Cannizzaro. En milieu acide cette réaction prend des proportions minimales.

Ces alcalisateurs favorisent ce processus. Les alcalisateurs employés par Neuberger et ses collaborateurs sont incapables de provoquer la réaction de Cannizzaro en l'absence de la levure. Si d'une manière ou d'une autre nous éliminons le terme aldéhyde, le cours de la fermentation change. L'hydrogène formé lors de la transformation du sucre, ne pouvant plus agir sur l'aldéhyde, réduit le méthylglyoxal en glycérine. La quantité de celle-ci est proportionnelle à l'aldéhyde disparue, à une molécule d'aldéhyde correspond une molécule de glycérine. Dans le cas de la réaction de Cannizzaro à deux moléculés de glycérine correspondent une molécule d'acide acétique et une molécule d'alcool.

Neuberger a nommé fermentation alcoolique normale, la première forme de la fermentation. Celle en présence de sulfite ou de dimedon la deuxième forme et troisième celle, où intervient la réaction de Cannizzaro.

Aucun de ces trois modes de fermentation ne se fait tout seul. Pendant la deuxième ou la troisième forme la première intervient aussi. Nous ne pouvons pas ajouter les alcalisateurs en quantité suffisante à cause de leur action toxique aussi bien sur les enzymes que sur les cellules. D'après les travaux de Neuberger la levure décompose jusqu'à 75 p. 100 du sucre selon la deuxième forme (19), jusqu'à 41.3 p. 100 selon la troisième (20).

En présence de sulfite ou de dimedon la glycérine ou l'aldéhyde nous renseignent sur le sucre décomposé selon la deuxième forme, tandis que l'alcool nous permet de calculer le sucre fermenté d'après la première forme. En présence d'alcalisateurs du deuxième groupe la glycérine nous donne le sucre fermenté selon la troisième forme; la différence entre l'alcool total et celui formé selon la troisième forme que nous pouvons calculer par la quantité de glycérine nous permet de déduire le sucre fermenté d'après la première forme. Les produits de la fermentation ne correspondent cependant pas à la totalité du sucre fermenté. La perte est en relation avec la quantité d'alcalisateur ajouté et sa nature chimique. On suppose que dans ce cas la levure consomme plus de sucre pour ses besoins vitaux, et qu'ils se forment en outre des produits de condensation du sucre. La réaction de Cannizzaro se fait avec un certain retard (21): au début de la fermentation l'aldéhyde qui se forme augmente pour disparaître ensuite presque entièrement.

Partie expérimentale.

J'ai expérimenté avec les levures: *Pastorianus*, *Frohberg*, *Apiculatus*, *Ludwigii*, *Saturnus*, *Pombé*, une levure de boulangerie et une levure du sol. J'ai fait fermenter ces levures dans des conditions normales (première forme de la fermentation) et en présence de l'alcalisateur NaHCO_3 (troisième forme de la fermentation).

Les milieux de culture et de fermentation ont été préparés avec du moût de bière. Lorsque sa teneur en sucre (3.4% d'hexose) est insuffisante, j'ajoute du saccharose. Les cultures de levures sont faites à 23°—25°, la fermentation à 25°—27°. Le pH du moût stérilisé est compris entre 5.0 et 7.0.

I.

La première forme de la fermentation a été étudiée pour des teneurs en sucre de 8.7—19.2—29.7—37.6 et 45.5% d'hexose. Parmi ces concentrations j'ai trouvé celle qui a donné le meilleur pourcentage de sucre consommé. J'aiensemencé le moût avec des

Tableau I.

8.7⁰/₀ d'hexose.

Durée de la fermentation	Sucre fermenté en ⁰ / ₀ du sucre mis en oeuvre							
	Frohberg	Pombé	Pastorianus	Ludwigii	Saturnus	Levure de boulangerie	Apiculatus	Levure du sol
1 jour	75	14	52	22	2	2	13	0
2 "	80	52	74	33	7	4	15	0
3 "	83	77	78	37	16	8	16	0
4 "	84	81	79	38	25	11	17	0
11 "	87	89	83	39	28	23	17	1

Tableau II.

19.2⁰/₀ d'hexose.

Durée de la fermentation	Sucre fermenté en ⁰ / ₀						
	Frohberg	Pombé	Pastorianus	Ludwigii	Saturnus	Levure de boulangerie	Apiculatus
1 jour	24.3	0.9	19.4	5.4	0.5	0.5	2.3
2 "	49.5	11.3	45.2	29.7	2.3	0.9	3.2
3 "	67.5	23.9	67.5	52.7	6.3	2.7	7.7
4 "	80.1	38.3	80.1	66.6	10.8	4.5	7.7
5 "	87.8	50.9	86.0	73.4	15.3	5.9	7.7
6 "	90.9	60.8	89.1	76.1	19.8	7.2	
9 "	93.2	78.8	92.2	78.3	31.1	12.6	
10 "	93.2	84.2	92.7	78.8	33.8	14.0	

Tableau II a.

Durée de la fermentation	Sucre fermenté en ⁰ / ₀				
	Frohberg	Pombé	Pastorianus	Ludwigii	Saturnus
1 jour	39.2	11.7	19.4	7.2	0.9
2 "	61.7	29.3	37.8	23.9	4.1
3 "	77.9	47.7	50.4	45.0	7.7
4 "	86.9	65.7	60.3	59.0	11.3
5 "	90.9	80.1	67.5	68.4	18.5
6 "	92.7	89.6	72.0	73.8	23.4
9 "	94.5	99.5	80.1	79.7	32.9
10 "	94.5	99.9	81.5	80.1	35.1

Tableau III.

29·7⁰/₀ d'hexose.

Durée de la fermentation	Sucre fermenté en %				
	Frohberg	Pombé	Pastorianus	Ludwigii	Saturnus
1 jour	26·8	5·2	12·8	8·4	1·2
2 "	42·4	18·0	25·9	18·9	2·9
3 "	55·9	28·5	35·5	24·7	5·5
4 "	67·5	38·1	41·9	28·2	9·0
5 "	75·1	45·7	46·5	30·8	12·8
6 "	79·1	51·8	49·5	33·2	15·7
9 "	85·2	66·3	54·4	38·7	21·8
10 "	85·8	70·4	54·7	40·4	23·0
11 "		72·1		40·7	23·3

Tableau III b.

Durée de la fermentation	Sucre fermenté en %		
	Frohberg	Pombé	Pastorianus
1 jour	7·0		2·3
2 "	27·1		18·3
3 "	42·5		30·8
4 "	48·6		37·5
6 "	51·2		44·8
7 "	51·8		46·5
8 "	52·1		47·7
9 "			48·3
10 "			49·2

Tableau IV.

37·6⁰/₀ d'hexose.

Durée de la fermentation	Sucre fermenté en %				
	Frohberg	Pombé	Pastorianus	Ludwigii	Saturnus
1 jour	3·4	0·0	1·4	0·0	0·0
2 "	16·8	4·1	12·6	6·4	0·0
3 "	29·9	13·1	23·2	14·0	0·2
4 "	38·1	21·1	29·0	18·2	0·5
6 "	51·9	32·9	35·2	22·1	1·8
7 "	55·6	36·1	36·8	23·2	2·8
8 "	58·6	39·3	37·7	23·9	3·7
9 "	61·1	41·8	37·9	24·4	5·5
10 "	63·7	45·3	39·3	25·3	7·6
11 "	64·6	47·1	39·5	26·0	9·0
15 "		56·8		27·1	13·3
16 "		59·3		27·3	14·2

Tableau V.
45·5% d'hexose.

Durée de la fermentation	Sucre fermenté en %				
	Frohberg	Pombé	Pastorianus	Ludwigii	Saturnus
1 jour	2·3	0·0	0·8	0·0	0·0
2 "	13·3	2·3	10·3	4·0	0·0
3 "	22·8	10·4	19·6	8·9	0·0
4 "	29·8	17·1	24·9	12·3	0·0
6 "	40·1	27·9	30·6	16·1	0·4
7 "	42·7	30·6	31·7	16·9	0·9
8 "	46·9	33·2	32·5	17·5	1·5
9 "	49·0	35·3	32·9	18·0	2·9
10 "	49·8	38·2	33·4	18·8	3·4
11 "	52·2	39·7	33·6	19·2	4·2
15 "	52·4	47·3		20·5	7·4
16 "	52·4	49·2		20·7	8·2

cultures pures et je les ai retrouvées pures, la fermentation finie. Avant l'ensemencement les levures sont cultivées pendant 24 heures à 23°—25° dans du moût de pH 5·0—7·0, à 3·4% d'hexose. Pour l'ensemencement des flacons de fermentation on a utilisé de petites quantités de levures. Il est difficile d'ensemencer la même dose de différentes levures à cause de leur différente vitesse de multiplication dans les cultures. En rapport avec cette vitesse j'ai ensencé avec 3 à 6 gouttes de suspension de levure chaque flacon contenant 25 cc. du liquide. Les flacons gardés à 25°—27°, sont pesés chaque jour, après que le CO₂ en a été chassé par agitation. La perte en poids de ces flacons est provoquée par le dégagement de CO₂ et l'évaporation de l'eau. A l'aide d'un flacon témoin j'élimine la perte en poids due à l'évaporation.

Le poids de CO₂ dégagé me permet de calculer le sucre fermenté. Les résultats ne sont cependant qu'approximatifs, étant donné les différences dans l'évaporation des flacons, et les quantités variables de produits secondaires formées.

Conclusions.

1. Classement des levures selon leur force fermentative: Frohberg et Pombé ensemble, ensuite Pastorianus, Ludwigii, Saturnus.

Les autres levures ont si faiblement fermenté à la concentration 8·7% d'hexose, qu'elles n'ont pas été étudiées pour des concentrations supérieures.

2. Classement des levures selon leur vitesse de fermentation: Frohberg, Pastorianus, Pombé, Ludwigii, Saturnus.

3. L'augmentation de la concentration en sucre ralentit la marche de la fermentation.

4. A partir d'une certaine concentration en sucre, le pourcentage de sucre fermenté diminue. Pour les levures Froberg, Pombé et Pastorianus cette limite est de 19.2%. C'est la plus grande concentration entre celles étudiées qui permet à ces levures de fermenter le sucre presque entièrement.

II.

J'ai étudié la fermentation selon la troisième forme (alcalisateur NaHCO_3) avec les levures Froberg, Pombé et Pastorianus, à la concentration en sucre de 19.2% d'hexose. A la fin de la fermentation j'ai trouvé de bactéries dans les flacons ensemencés avec des cultures pures. Ces bactéries ont pu être introduites soit avec l'alcalisateur, qui n'a pas été stérilisé, soit avec les levures, que j'ai centrifugées afin d'en obtenir une assez grande quantité pour l'ensemencement.

J'ai dosé le sucre restant, la glycérine et l'alcool. Ce dernier a été dosé deux semaines après la fin de la fermentation. Malgré les précautions prises sa quantité a pu varier. Ce qui expliquerait les discordances dans les chiffres trouvés pour la glycérine par dosage direct et par calcul selon la formule de Neuberger (22).

$$G \text{ (glycérine)} = \frac{92 Z - 180 A}{135}$$

A = alcool, Z = sucre fermenté.

Méthodes de Dosage.

A) Le dosage du sucre se fait par la méthode de Fehling selon la formule de Boussingault. Le sucre dans le moût de bière a été toujours dosé après l'hydrolyse et compté en hexose.

A la fin de la fermentation on a dans le liquide: du dextrose provenant de l'hydrolyse du maltose, du dextrose et du lévulose provenant du saccharose ajouté et une petite quantité de mannose due à l'alcalinité du milieu. Le pouvoir réducteur de ces trois hexoses étant sensiblement le même, tout le sucre a été calculé en dextrose.

B) Le dosage de l'alcool se fait par la méthode de Martin, modifiée par Boidin (23). On oxyde l'alcool après distillation par du bichromate de potassium en milieu à l'acide sulfurique et on titre en retour avec un sel ferreux le bichromate non employé.

C) Le dosage de la glycérine se fait par la méthode de Zeisel et Fanto modifiée par Lacroix et Kropacsy pour le dosage dans la bière (24). On transforme la glycérine à l'aide de HI en iodure d'isopropyle que l'on fait réagir ensuite sur du nitrate d'argent. L'AgI pesé nous permet de calculer la glycérine. Le sucre restant dans le moût fermenté a été éliminé préalablement à l'aide de CaO.

Cette méthode, aux environs de 0.3% de glycérine en solution aqueuse, m'a donnée une erreur moyenne de 1.4%. En s'écartant de cette teneur en glycérine l'exactitude de la méthode diminue.

* * *

Les concentrations d'alcalisateur étudiées ont été: 0.0 — 1.0 — 1.5 — 2.0 molaires. Les conditions des cultures d'ensemencement: pH 5.0 à 6.0, sucre 3.4% d'hexose, température 25°—27°, durée 10 jours.

La quantité de levure ensemencée est environ 1.8% en poids sec du sucre. Les flacons de fermentation contiennent 100 cc de moût de pH = 7.0, à 19.2% d'hexose. La température de fermentation est 25°—27°. L'addition de NaHCO₃ a été faite 24 heures après l'ensemencement, alors qu'une partie du sucre avait déjà fermenté. (Pombé 37%, Pastorianus 31%).

Tableau VI.

	Concen- tration NaHCO ₃	Durée de la fermen- tation	Sucre fermenté	Glycérine formée		‰ du sucre fermenté selon la III forme
	mol. ¹ / _{1000 cc}	jours	g/100 cc	g/100 cc moyenne		
Frohberg	0·0	3	18·5	0·6	0·6	6·5
	1·0	11	17·0	3·0—2·2	2·6	29·4
	1·5	11	15·3	3·6—3·6	3·6	45·9
	2·0	11	15·4	5·4—4·5—4·4	4·8	60·8
Pombé	0·0	3	19·0	0·6	0·6	6·5
	1·0	9	15·7	1·2—1·6	1·4	17·4
	1·5	9	15·3	3·2—2·4	2·8	35·8
	2·0	9	15·4	4·8—4·8	4·8	60·8
Pastorianus	0·0	3	17·9	0·6	0·6	6·5
	1·0	5	11·9	1·0	1·6	26·2
	1·5	5	11·7	1·7—1·8	1·8	30·1
	2·0	5	11·5	3·2—3·0	3·1	52·8

Tableau VII.

	Concen- tration NaHCO_3	Alcool formé	Glycérine d'après l'alcool	% du sucre ferm. selon III forme (d'après l'alcool)
	mol. $\frac{1}{1000}$ cc	g/100 cc	g/100 cc	
Frohberg	0.0			
	1.0	6.3	3.2	36.8
	1.5	5.2	3.5	44.0
	2.0	5.0	3.9	49.5
Pombé	0.0			
	1.0	6.5	2.0	24.8
	1.5	6.2	2.2	28.2
	2.0	5.4	3.3	41.9
Pastorianus	0.5			
	1.0			
	1.5			
	2.0	3.8	2.8	47.5

Discussion.

En l'absence d'alcalisateur les levures fermentent presque tout le sucre. En solution 1.0 molaire de NaHCO_3 la proportion de sucre fermenté diminue le plus pour Pastorianus, le moins pour Frohberg. En solution 1.5 molaire la proportion de sucre fermenté diminue encore pour Frohberg, tandis qu'elle reste la même pour les deux autres levures. En solution 2.0 molaire il n'y a plus de variation. A partir de la concentration 1.5 molaire la quantité de sucre fermenté est la même pour Frohberg et Pombé, plus petite pour Pastorianus.

Nous concluons:

1. La présence d'alcalisateur diminue la proportion de sucre fermenté.
2. A partir d'une certaine concentration en alcalisateur la proportion de sucre fermenté ne varie plus pour les concentrations supérieures étudiées.

* * *

Dans les flacons sans alcalisateur la fermentation a fini trois jours après l'ensemencement. Avec les différentes doses d'alcalisateur

Pastorianus a terminé la fermentation toujours en 5 jours Pombé en 9, Frohberg en 11 jours.

Nous concluons:

1. La présence d'alcalisateur ralentit la marche de la fermentation.

2. Les différentes concentrations d'alcalisateur étudiées ont la même influence.

La durée de fermentation pour Pastorianus est plus courte que pour les autres levures, mais cela provient probablement du fait que cette levure fermente moins de sucre.

* * *

En l'absence d'alcalisateur les trois levures forment la même quantité de glycérine. Avec des concentrations croissantes d'alcalisateur la glycérine augmente, quoique la limite de solubilité pour le NaHCO_3 se trouve atteinte dès la concentration 1.0 molaire. Parallèlement la formation d'alcool diminue. La quantité de sucre fermenté restant la même, ceci prouve dans les limites étudiées, qu'avec des concentrations de NaHCO_3 croissantes le sucre fermenté selon la troisième forme augmente, tandis que celui fermenté selon la première forme diminue.

A la concentration 1.0 molaire de NaHCO_3 Pombé forme moins de glycérine que Frohberg et Pastorianus. A la concentration 1.5 molaire Pombé dépasse Pastorianus et elle rejoint Frohberg à la concentration 2.0 molaire.

Pastorianus produit moins de glycérine que les autres levures, mais fermente en même temps moins de sucre: son rendement en glycérine par rapport au sucre consommé n'est donc pas très loin des autres.

A la concentration 2.0 molaire Pombé et Frohberg fermentent 60.8% du sucre consommé selon la troisième forme, Pastorianus 52.8% (ces rendements par rapport au sucre mis en oeuvre sont respectivement 48.5% et 31.7%).

Ces résultats dépassent ceux de Ne u b e r g, qui a obtenu selon la troisième forme 41.3% du sucre mis en oeuvre, celui-ci étant entièrement consommé. Ces écarts peuvent provenir soit des différentes conditions d'expérience, soit des différentes races de levure employée. Il faut surtout souligner la relation entre le rendement en glycérine et les levures employées. K u m a g a w a (25) en suivant les méthodes et les conditions d'expériences de Ne u b e r g, mais travaillant avec des levures différentes, a fermenté 80.3% du sucre selon la deuxième

forme, tandis que Neuberg n'a obtenu que 75⁰/₀. Lipska (26) a confirmé l'influence des différentes levures sur le rendement en glycérine aussi bien selon la deuxième que selon la troisième forme. La découverte d'une race de levure encore plus résistante aux alcalisateurs nous permettrait probablement d'améliorer encore ces rendements.

Résumé.

J'ai étudié les levures: Froberg, Pombé, Pastorianus, Ludwigii, Saturnus, Apiculatus, levure de boulangerie et levure du sol. Dans les conditions de la fermentation normale j'ai choisi les plus fortes de ces levures (Froberg, Pombé, Pastorianus), et j'ai déterminé la plus grande concentration en sucre qu'elles peuvent fermenter presque entièrement (19·2⁰/₀ d'hexose).

J'ai étudié la fermentation pour cette concentration avec les levures Froberg, Pombé et Pastorianus en présence de NaHCO₃ en doses variables.

La présence d'alcalisateur diminue la proportion de sucre fermenté. Cette proportion reste ensuite la même pour toutes les concentrations étudiées de NaHCO₃ à partir de 1·0 molaire pour Pombé et Pastorianus, à partir de 1·5 molaire pour Froberg. La durée de la fermentation est augmentée par l'alcalisateur de manière différente pour les différentes levures, mais elle n'est pas influencée par les différentes doses de NaHCO₃ étudiées. Sans NaHCO₃ les levures produisent la même quantité de glycérine, en sa présence la glycérine augmente avec la concentration de l'alcalisateur.

A la concentration 2·0 molaire de NaHCO₃, la plus forte étudiée, les levures Froberg et Pombé ont fermenté 60·8⁰/₀, Pastorianus 52·8⁰/₀ du sucre consommé selon la troisième forme.

J'adresse à M^r le Professeur K. Bassalik l'expression de ma vive gratitude pour l'aide qu'il a bien voulu me prodiguer au cours de mes recherches.

Institut de physiologie végétale de l'université de Varsovie.

Bibliographie.

1. Gay-Lussac. Lettre à M. Clément. Sur l'analyse de l'alcool et de l'éther sulfurique, et sur les produits de la fermentation. Ann. de Chimie, 95, 311; 1815.
2. Lavoisier. Oeuvres. Tome premier. Traité élémentaire de Chimie. Paris Imprimerie Impériale, 1864.

3. Pasteur, L. Mémoire sur la fermentation alcoolique. Ann. de Chim. et Phys. (3-e série) 58, 323; 1860.
4. Bayer, A. Über die Wasserentziehung und ihre Bedeutung für das Pflanzenleben und die Gärung. Ber. d. deutsch. chem. Ges., 3, 63; 1870.
5. Laurent, E. Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez la levure de bière. Ann. Institut Pasteur, 3, 113; 1889.
6. Neuberg, C. u. Karczag, L. Über zuckerfreie Hefegärungen. III. Bioch. Zeitschr., 37, 60; 1911.
7. Fernbach, A. et Schoen, M. L'acide pyruvique, produit de la vie de la levure. C. R. Ac. des Sciences, 157, 1478; 1913.
8. — Nouvelles observations sur la production biochimique de l'acide pyruvique, *ibid.* 170, 764; 1920.
9. — Nouvelles observations sur la production de l'acide pyruvique par la levure. *Ibid.* 158, 1719; 1914.
10. Grab, M. v. Brenztraubensäure als Zwischenprodukt der alkoholischen Zuckerspaltung. Bioch. Zeitschr. 123, 69; 1921.
11. Müller-Thurgau, H. u. Osterwalder, A. Einfluss der schwefligen Säure auf die durch Hefen u. Bakterien verursachten Gärungsvorgänge im Wein u. Obstwein. Landw. Jahrbuch der Schweiz. 28, 480; 1914.
12. — Aldehydbildung im Wein während u. nach der Gärung. *Ibid.* 29, 408; 1915.
13. Neuberg, C. u. Reinfurth, E. Über die Vergärbarkeit der Brenztraubensäure unter den Bedingungen des Abfangverfahrens. Ber. d. deutsch. chem. Ges., 53, 1039; 1920.
14. Kostytschew, S. Über die Bildung von Acetaldehyd bei der alkoholischen Zuckergärung. Zeitschr. f. physiol. Chem., 79, 131; 1912.
15. Neuberg, C. u. Kobel, M. Nachweis von Methylglyoxal als Zwischenprodukt bei der Hefegärung. Biochem. Zeitschr. 463, 203; 1928.
16. Harden, A. a. Young, W. J. The alcoholic fermentation of yeast juice. Proc. Roy. Soc. B. 77, 405; 1906. — Part. III. The function of phosphates in the fermentation of glucose by yeast-juice. *Ibidem*, 80, 229; 1908. — Part. V. The function of phosphates in alcoholic fermentation. *Ibidem* 82, 321; 1910.
17. Robison, R. A new phosphoric ester produced by the action of yeast-juice on hexoses. Bioch. Journal, 16, 809; 1922.
18. Kluyver, A. J. Über eine neue Theorie des Mechanismus der alkoholischen Gärung. Wochenschr. f. Brauerei, Nr. 7, 1929.
19. Neuberg, C. u. Färber, E. Über den Verlauf der alkoholischen Gärung bei alkalischer Reaction. Bioch. Zeitschr., 78, 238; 1916.
20. Neuberg, C. u. Reinfurth, E. Festlegung der Aldehydstufe bei der alkoholischen Gärung. Bioch. Zeitschr., 89, 365; 1918.
21. — Natürliche und erzwungene Glycerinbildung bei der alkoholischen Gärung. *Ibidem*, 92, 234; 1918.
22. — Ein neues Abfangverfahren und seine Anwendung auf die alkoholische Gärung. Bioch. Zeitschr. 106, 281; 1920.
23. Neuberg, C. u. Ursum, W. Die dritte Vergärungsform des Zuckers als allgemeine Folge der Dismutationswirkung anorganischer u. organischer Alkalisatoren. Bioch. Zeitschr. 110, 193; 1920.
24. Kumagawa, H. Erzielung der zweiten u. dritten Vergärungsform mit *Saccharomyces Saké*, *Zygosaccharomyces major* u. *Zygosaccharomyces salsus*. Bioch. Zeitschr., 131, 148; 1922.

25. Neuberg, C. u. Hirsch, J. Über den Verlauf der alkoholischen Gärung bei alkalischer Reaktion. *Bioch. Zeitsch.*, 96, 175; 1919.

26. Neuberg, C., Hirsch, J. u. Reinfurth, E. Die drei Vergärungsformen des Zuckers, ihre Zusammenhänge u. Bilanz. *Bioch. Zeitsch.*, 105, 307; 1920.

27. Boidin, A. Sur le dosage chimique de l'alcool. *Ann. Brass. Dist.*, 23 année, 1925.

28. Lacroix, H. u. Kropascy, St. Zur Glycerinbestimmung im Bier. *Wochenschr. für Brauerei*, Nr. 43, 491; 1928.

29. Voir 20.

26. Lipska, I. Les conditions biologiques de la production de la glycérine par la méthode fermentative. *Act. Soc. Bot. Poloniae*, vol. III ; 1925—26.