

ÉTUDE COMPARATIVE DE QUELQUES LEVURES DE FRUITS (raisins, poires, cerises, pruneaux)

par Dr Berthe PORCHET

Bactériologiste à la Station fédérale d'essais viticoles et arboricoles
de Lausanne. (Directeur Dr H. Faes).

INTRODUCTION

Le raisin de notre vignoble romand est destiné, en presque totalité, à devenir du vin ; dans nos campagnes, une partie de la récolte des pommes et poires est transformée en cidre, et, lors des années d'abondance, une fraction importante de la production des cerisiers et pruniers est consacrée à la préparation d'eaux de vie, c'est-à-dire d'alcools concentrés obtenus par distillation de ces fruits fermentés.

Le moût de raisin, les jus de pommes, poires, cerises, pruneaux, fermentent naturellement et spontanément grâce aux levures qui se trouvent sur la pellicule des fruits mûrs et passent dans le liquide lors du pressurage ou durant la macération. Elles viennent du sol, où elles hivernent et sont apportées sur les fruits, au cours de l'été, par le vent, la pluie et les insectes.

On désigne sous le nom général de *levures* des champignons unicellulaires, ne formant pas de mycélium typique, se reproduisant par bourgeonnement et par ascospores. Ces dernières se forment lorsque les conditions de vie deviennent défavorables, au nombre de 1 à 12 au sein de la cellule qui est alors assimilable à un asque, ce qui a permis de classer les levures dans la famille des Ascomycètes. La formation des ascospores ou leur germination peut être précédée de la conjugaison de deux cellules ou de deux spores, processus qui rappelle les phénomènes de sexualité observés chez les champignons inférieurs (*Eremascus*, *Endomyces*) dont les levures dérivent très probablement.

Les levures sont caractérisées par la propriété que la plupart d'entre elles possèdent de provoquer la fermentation alcoolique des sucres, c'est-à-dire de transformer ces hydrates de carbone complexes en corps de constitution chimique plus simple, tels l'alcool et le gaz carbonique.

Les levures sont universellement répandues dans la nature et ce groupe de champignons comprend plusieurs familles et un grand nombre de genres et d'espèces.

La famille des *Saccharomycétées* réunit plusieurs genres et renferme les levures les plus actives dans la fermentation des liquides sucrés (moût de raisin, moût de bière, jus de fruits divers, lait).

Au sein de cette famille, les divers genres diffèrent les uns des autres par des caractères biologiques importants ; par exemple :

les *Schizosaccharomyces* se reproduisent non pas par bourgeonnement mais par cloisonnement transversal ; ils forment des ascospores après conjugaison de deux cellules ;

les *Zygosaccharomyces* se reproduisent par bourgeonnement. Les ascques résultent de la conjugaison de deux cellules ;

les *Saccharomyces* se reproduisent par bourgeonnement. Les ascospores se forment végétativement, sans copulation des ascques ; dans certaines races, les ascospores se conjuguent deux à deux avant de germer.

C'est à ce genre qu'appartiennent les levures les plus fréquentes, les levures actives des vins, cidres, vins de fruits divers, bières.

La classification des *Saccharomyces* et leur subdivision en espèces et sous-espèces est basée sur des caractères différentiels morphologiques et physiologiques, que nous allons examiner successivement :

Les dimensions des cellules oscillent, suivant les espèces, entre 2 et 12 μ . Les cellules peuvent être sphériques, elliptiques, allongées en forme de boudin, présenter des excroissances terminales qui leur donnent l'aspect de citrons. La forme des cellules n'est pas un caractère absolu et invariable. Elle varie, dans d'étroites limites toutefois, suivant le milieu de culture (gélatine, moût, eau de levure) et suivant l'âge des cellules. Cependant certains caractères sont assez précis pour permettre la création d'es-

pèces telles : *S. ellipsoïdeus* (fig. 1), *pastorianum* (fig. 2), *apiculatus* (fig. 4).

De plus, la présence de cellules géantes au sein d'une culture (fig. 6), dépassant de beaucoup les dimensions normales peut être caractéristique d'une espèce.

L'aspect des cultures géantes, c'est-à-dire des colonies qui se développent lorsqu'on ensemence une goutte de suspension de levure sur milieu solide, peut varier d'une espèce à l'autre (fig. 11, 12 et 13).

La faculté plus ou moins grande de sporuler, le nombre des ascospores, leur forme, leurs dimensions, leur mode de germination, la température optimum et limite de sporulation sont autant de caractères différentiels.

La nature du dépôt formé par les levures après fermentation, la végétation sous forme de voile qu'elles peuvent déterminer à la surface des liquides fermentés sont des critères de classification.

Les levures ne provoquent pas la fermentation de tous les sucres. Les sucres en C^6 (hexoses, à 6 atomes de carbone), tels que le glucose, le lévulose, le galactose sont attaqués par un complexe de ferments appelé *zymase*. Beaucoup de levures attaquent difficilement ou même pas du tout le galactose, mais par culture en milieu adéquat on peut parfois accoutumer la levure à provoquer la fermentation de ce sucre. Les sucres en C^{12} (saccharose, maltose, lactose) ou en C^{18} (raffinose), ne sont pas directement fermentescibles ; ils doivent préalablement être dédoublés ou scindés en sucres simples (en C^6) pour subir la fermentation. Ce dédoublement se fait par l'intermédiaire d'enzymes : la sucrase, la maltase, la lactase, la raffinase, enzymes que certaines levures possèdent, d'autres pas. Il n'existe qu'un très petit nombre d'espèces faisant fermenter le lactose (levures de Kéfir par ex.), bien que ce sucre ait la même constitution chimique que le maltose fermenté par la plupart des levures. Ce fait indique que l'action des enzymes est liée non seulement à la constitution chimique globale des corps sur lesquels elles agissent, mais à la configuration stéréochimique de ceux-ci, à la disposition des atomes au sein de la molécule.

Dans la fermentation des jus de fruits, il s'agit de la transformation de sucres à 6 atomes de carbone, le glucose et le lévu-

lose. Lorsque, pour des raisons pratiques, on augmente la teneur en sucre d'un liquide, par addition de saccharose, c'est la sucrase qui intervient alors. Le complexe *zymase* et la *sucrase* ou *invertase* sont, dans la pratique, les enzymes les plus nécessaires pour l'élaboration des vins de fruits par les levures. En brasserie, d'autre part, la maltase joue un rôle essentiel lors de la fermentation par la levure de bière du maltose de l'orge germée.

Les levures sont plus ou moins sensibles à l'alcool éthylique produit par la fermentation. Ce dernier est en effet, pour les microorganismes, un antiseptique qui, à une certaine dose, empêche tout développement. La résistance des levures à l'alcool, c'est-à-dire leur pouvoir alcoogène, est un des facteurs les plus importants pour la pratique. Il varie de 2 à 18 vol. d'alcool %, suivant la race de levure étudiée : on verra quelques exemples de la diversité du pouvoir alcoogène des levures dans la partie expérimentale de ce travail. De plus, le sucre ajoute une action antiseptique à celle de l'alcool. Ainsi une levure donnera 10 vol. % d'alcool dans un moût contenant 150 gr. de sucre par litre ; après fermentation, il ne restera pratiquement pas de sucre dans le vin. La même levure, ensemencée dans un moût contenant 250 gr. de sucre par litre n'y produira que 8 vol. % d'alcool, il restera plus de 100 gr. de sucre non fermenté ; dans ce cas, le sucre, en excès, affaiblit la résistance de la levure à l'alcool.

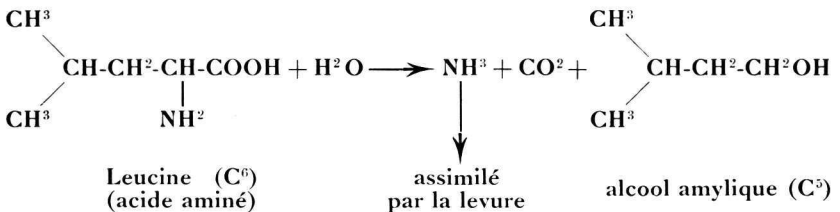
Les levures peuvent assimiler les sucres comme aliments hydrocarbonés ; de faibles quantités de sucre sont ainsi soustraites à la fermentation alcoolique. De plus, il se forme dans la fermentation, aux dépens du sucre, d'autres produits que l'alcool éthylique et le gaz carbonique : de la glycérine et des traces d'acide acétique et d'aldéhydes, en quantité variable suivant les levures, mais de l'ordre de grandeur de 3 gr. pour 100 gr. de sucre.

Les levures travaillent donc avec un rendement plus ou moins bon en alcool. On dénomme coefficient d'utilisation du sucre le rapport entre la quantité d'alcool produite et la quantité de sucre disparue ; il varie d'une levure à l'autre.

Les levures peuvent assimiler les acides organiques comme source de carbone. Les divers acides : acétique, lactique, tartrique, malique, succinique, citrique sont assimilés en proportions qui varient avec la levure considérée.

Un autre caractère important est le pouvoir réducteur de la levure. La fermentation alcoolique du glucose s'explique par une série de réactions d'oxydation et de réduction intramoléculaires ; le terme final est, selon toute probabilité, la réduction en alcool éthylique de l'aldéhyde acétique formée au cours de la transformation du sucre. L'intensité de la réduction d'une substance donnée (bleu de méthylène) donne expérimentalement une indication sur le pouvoir réducteur de la levure.

Enfin il se forme dans toute fermentation du sucre par la levure des produits accessoires ; les uns volatils possèdent des propriétés aromatiques et constituent les « substances à bouquet » des boissons fermentées, du vin en particulier ; d'autres, tels l'acide succinique, ne sont pas volatils ; ils contribuent à former la saveur de la boisson fermentée. Les premiers sont représentés essentiellement par des alcools supérieurs (propylique, butylique et amylique) et des esters qui sont des combinaisons de ces alcools avec les acides organiques (ex. : acétate d'amylic). Ces substances apparaissent au cours de la fermentation ; des esters se forment aussi après fermentation et contribuent à donner au vin son caractère de vin vieux. On a cru pendant longtemps que les substances volatiles à bouquet et l'acide succinique provenaient du sucre. Or, on sait maintenant que, bien que ne contenant pas d'azote, ces corps proviennent de matières azotées, d'acides aminés existant dans les moûts et jus de fruits. Ces acides aminés sont assimilés par la levure qui retient le groupe azoté nécessaire à la synthèse de son protoplasme et élimine le reste de la molécule sous forme d'alcool supérieur et de gaz carbonique selon le schéma suivant :



L'acide succinique prend naissance à partir de l'acide glutamique. Il se forme toujours, même en absence de nutrition azotée de la levure ; dans ce dernier cas, il prend naissance à partir des composants azotés de la cellule de levure, mis en liberté par autolyse.

Les substances volatiles à bouquet sont donc des produits de déchet de la nutrition de la levure. Ce sont des substances hydrocarbonées qui se forment à partir des acides aminés. Toutes les levures ne produisent pas la même quantité de matières volatiles à partir du même acide aminé, l'assimilation des substances azotées variant d'une race à l'autre. Il s'ensuit qu'à partir d'un même jus de fruits on peut obtenir après fermentation, des boissons de caractères différents, suivant quelle levure a provoqué la fermentation. A plus forte raison, lorsque les moûts de fruits sont d'origines différentes et contiennent des matières azotées diverses, les variations s'accroissent-elles. Ce sont les deux facteurs réunis : d'une part, la composition du moût et la nature de ses composés azotés (acides aminés), et d'autre part, l'espèce de levure qui assimile et transforme ces matériaux qui donnent à chaque boisson fermentée un « bouquet » particulier. Il va sans dire que ce n'est pas le bouquet seul qui donne au vin son caractère : ce n'est qu'un élément de sa personnalité.

Là encore, nous trouvons des caractères qui permettent de distinguer les levures les unes des autres ; c'est à la dégustation plus que par l'analyse chimique que l'on constate ces différences et cet examen est de grande importance pour l'étude et la sélection des levures.

La grande variété que l'on observe dans les levures, dont les caractères principaux viennent d'être brièvement rappelés nous ont engagée à isoler quelques races de levures provenant de différents fruits, à en faire l'étude et à comparer leurs caractères. ce qui présente un intérêt à la fois purement scientifique et directement pratique.

Pour assurer une bonne fermentation des moûts de raisin, la vinification moderne a recours au levurage, méthode de travail qui consiste à enrichir le moût sortant du pressoir en levures particulièrement actives. Ces levures, prélevées sur le raisin, sont triées, étudiées en laboratoire et sélectionnées d'après leurs qualités les plus importantes (pouvoir alcoolique élevé, finesse du bouquet). Multipliées par culture dans du moût, à l'époque des vendanges, elles sont ajoutées au moût sitôt après l'encavage. Ces levures sélectionnées se développent rapidement, prennent le dessus, empêchent les autres germes présents dans le moût de se multiplier, et produisent, après une fermentation rapide et complète, un vin au goût franc et au bouquet agréable. Il importe

donc de sélectionner, parmi les nombreuses levures existant sur le raisin les organismes les plus aptes à provoquer une bonne fermentation, ceux qui ont un pouvoir alcoogène élevé et produisent des substances à bouquet caractéristiques du cru ou du plant dont ils proviennent.

Le levurage au moyen de levures sélectionnées peut améliorer la fermentation de tous les jus de fruits. Actuellement, il n'est guère appliqué qu'aux moûts de raisin, de pommes et de poires. L'étude des levures de différents fruits, de leurs propriétés particulières, prépare la voie à un emploi très général des levures sélectionnées.

TRAVAIL EXPÉRIMENTAL

TECHNIQUE

Le *triage* des levures a été effectué par la méthode de Burri (cellule unique).

La *forme* des cellules et leurs *dimensions* ont été établies d'après les cultures sur moût-gélatine et sur moût de raisins.

Les *cultures géantes* se sont développées sur moût-gélatine (7 % de moût et 15 % de gélatine, neutralisé).

La *sporulation* a été observée dans des cultures sur bloc de plâtre et moût-gélatine, dans certains cas à diverses températures.

La *germination des ascospores* a été suivie sur des cellules en culture sur tranches de carotte.

Fermentation des sucres. — Les essais qualitatifs ont été effectués par culture des levures sur porte-objet, en chambre humide, dans de l'eau de levure additionnée de sucre.

Pouvoir alcoogène. — Il a été déterminé par culture de la levure dans du moût de Chasselas (Fendant) auquel on ajoute du sucre du commerce, de façon à ce qu'il contienne au total 250 gr. de sucre par litre. L'alcool est dosé par distillation et pesée, 6 semaines après ensemencement.

Coefficient d'utilisation du sucre. — Il a été établi par dosage de l'alcool et du sucre restant après fermentation dans un liquide synthétique (liquide de Mayer) contenant 136 gr. de sac-

charose par litre, et dans un moût naturel de Chasselas contenant 152 gr. de sucre (glucose et lévulose).

Composition du liquide de Mayer. — Phosphate de potassium 5 gr. — Sulfate de magnésie 5 gr. — Phosphate de chaux 0,5 gr. — Nitrate d'ammonium 0,75 gr. — Traces de bouillon de Liebig. — Saccharose 136 gr. — Eau distillée → 1000 cc.

Assimilation des acides organiques. — Les levures sont cultivées dans de l'eau de levure, additionnée de divers acides. Le dosage de l'acidité a lieu avant ensemencement et 6 semaines après ensemencement. La quantité d'acide disparue a été assimilée par la levure, en l'absence de tout autre aliment hydrocarboné.

Pouvoir réducteur. — Il a été établi d'après la technique préconisée par Steiner¹. Des tubes de 10 cc. de moût sont additionnés de bleu de méthylène (9, 12, 15, 18 gouttes). La rapidité et la persistance de la décoloration donnent une indication sur le pouvoir réducteur de la levure.

Substances à bouquet. — L'examen organoleptique a porté sur les liquides fermentés par les diverses levures :

vins provenant d'un moût naturel de Chasselas contenant 152 gr. de sucre par litre.

liquide artificiel (liquide de Mayer) contenant 136 gr. de sucre par litre.

liquide de Mayer additionné d'asparagine (acide aminé).

Microphotographies. — Elles représentent les levures vivantes, grossies 1000 fois, colorées par le réactif iodo-ioduré qui colore le glycogène en brun acajou et le protoplasme en jaune pâle. La différence de teinte des diverses espèces de levure photographiées provient de la plus ou moins grande richesse des cellules en glycogène.

ÉTUDE DES LEVURES

A la surface de tous les fruits mûrs végète une flore microscopique composée de spores de champignons, de bactéries et de levures, appartenant à plusieurs genres différents. Dans ce tra-

¹ Steiner J. M., Etude sur les levures actives des vins valaisans. Thèse N° 749, Université de Genève 1924.

vail. nous ne nous sommes occupée que des levures actives isolées des jus de fruits en pleine fermentation.

Levures de raisin

De nombreuses levures provenant de raisins, moûts ou vins du Valais ont été isolées, étudiées et sélectionnées durant ces dernières années dans le laboratoire bactériologique de la Station fédérale d'essais viticoles de Lausanne.

Parmi les caractères précédemment signalés, deux surtout sont importants pour la pratique : le pouvoir alcoogène et la nature des substances à bouquet.

Des levures à fort pouvoir alcoogène sont nécessaires pour assurer la fermentation des moûts riches en sucre, en particulier de ceux qui proviennent de raisins surmaturés ou flétris.

Voici quelle est la résistance à l'alcool des races de levures de quelques vins valaisans, déterminée après fermentation de moûts contenant 250 gr. ou 320 gr. de sucre par litre :

Johannisberg	13,06 vol. d'alcool %
Hermitage	14,10 » »
Muscat	14,58 » »
¹ Dôle	16,74 » »
¹ Fendant Montiboux	16,94 » »
¹ Malvoisie	17,24 » »

Levure Dôle

Elle se présente sous forme de cellules sphériques ou elliptiques, mesurant $6 - 7 \mu \times 5 - 6 \mu$ (fig. 1).

La culture géante est fortement en relief, striée radiairement, à bord dentelé (fig. 12). Elle subit, après 3-4 semaines une dégénérescence grasseuse, due à la formation de globules gras au sein des cellules, probablement aux dépens de l'alcool formé dans le milieu et de l'oxygène. Cette levure n'a pas présenté de spores, sur aucun milieu de culture. Elle fait fermenter facilement les dextrose, lévulose et saccharose. Elle n'attaque ni le maltose ni le galactose.

Son pouvoir alcoogène est de 16,74 vol. %, ce qui est élevé.

¹ Chiffres déterminés par P. Castan : Contribution à l'étude des levures de vin. Annuaire agricole de la Suisse, 1923.

Son coefficient d'utilisation du sucre est de 16,4 dans du moût de Chasselas, c'est-à-dire qu'il faut à cette levure 16,4 gr. de sucre pour produire 0,8 gr. c'est-à-dire 1 degré d'alcool, dans du moût de Chasselas.

Les acides organiques qui sont le mieux assimilés sont : l'acide lactique (88 % de l'acide a été assimilé) et l'acide succinique (38 % assimilé).

Le pouvoir réducteur de cette levure est très grand. La décoloration du bleu de méthylène se produit en 48 heures, et persiste très longtemps. Après un mois aucune trace de coloration bleue n'est perceptible dans les tubes décolorés.

Le bouquet produit par cette levure est fin, chaud, très agréable. Il se distingue nettement de celui d'autres levures (Fendant ou Muscat par exemple).

En raison de son absence de sporulation, de la formation de gouttelettes de graisse au sein des cellules, de son incapacité à faire fermenter le galactose et le maltose, cette levure se distingue du *Saccharomyces ellipsoïdeus*, dont, par ailleurs, elle possède plusieurs caractères.

Levure Muscat

Les cellules ressemblent à celles de la levure de Dôle et ont les mêmes dimensions que ces dernières.

La culture géante est peu en relief et présente un bord largement lobé ; elle subit facilement une dégénérescence graisseuse.

Elle sporule très difficilement ; sur gélatine on observe quelques rares cellules contenant 3 ascospores. Des globules de graisse occupent presque totalement le volume cellulaire.

Elle fait fermenter les dextrose, lévulose, galactose, saccharose, maltose.

Son pouvoir alcoogène est de 14,58 vol. %.

Son coefficient d'utilisation du sucre est de 16,4 dans du moût de Chasselas.

Les acides organiques les mieux assimilés sont : l'acide succinique (40 % assimilé) et l'acide lactique (29 % assimilé).

Le pouvoir réducteur est moyen. La décoloration du bleu de méthylène se produit au bout de 3 jours et persiste durant 48 heures.

La levure Muscat produit un bouquet très caractéristique, ex-

ceptionnellement fin, riche en substances volatiles. La méthode de Komarowsky-Fellenberg a démontré la présence d'alcools supérieurs.

Levure *Lacrimæ Christi*

Plusieurs caractères importants distinguent cette levure des deux précédentes. Elle a été isolée d'un vin dans lequel elle se trouvait associée à des levures de type ellipsoïde, analogues à celles qui viennent d'être décrites.

Cette levure se présente sous forme de cellules allongées, de 6 à 20 $\mu \times 3 - 5 \mu$, appartenant de ce fait au genre *Saccharomyces pastorianum* (fig. 2) ; les cellules sont particulièrement typiques dans les cultures sur gélatine, et l'allongement s'accroît avec l'âge de la colonie. Les cellules restent parfois unies les unes aux autres lors de leur bourgeonnement, ce qui donne à la végétation microscopique l'apparence d'un mycélium pluricellulaire, aux hyphes allongés. Dans le moût, le type « *pastorianum* » est moins apparent ; les cellules ont tendance à prendre la forme elliptique.

La culture géante est striée radialement et son bord finement dentelé.

Elle sporule facilement en donnant 3 ou 4 spores (éléments allongés fig. 8). La germination des spores est normale, sans conjugaison.

Cette levure fait fermenter les dextrose, lévulose, galactose, saccharose et maltose.

Son pouvoir alcoogène maximum est de 9,15 vol. % ; restent 92 gr. de sucre non fermenté.

Son coefficient d'utilisation du sucre est de 15,8 dans du moût de Chasselas.

Les acides organiques les mieux assimilés sont : l'acide lactique (30 % assimilé) et l'acide acétique (14 % assimilé) ; les acides succinique et citrique ne sont pas attaqués.

Le pouvoir réducteur de cette levure est faible.

Elle produit un vin fade, plat, sans caractère, très pauvre en substances à bouquet.

Parmi les levures de raisin qui viennent d'être décrites les levures Dôle et Muscat présentent seules les qualités requises des levures sélectionnées. Leur pouvoir alcoogène élevé, le bouquet

caractéristique qu'elles développent dans le vin permettent de les utiliser avec succès pour le levurage des moûts de Dôle et de Muscat. Quant à la levure *Lacrimae Christi*, elle ne saurait être prise en considération, en raison de sa faible résistance à l'alcool et de son manque de substances à bouquet. Dans la fermentation du moût dont nous l'avons isolée, elle jouait sans doute un rôle accessoire, étant accompagnée de levures elliptiques aux qualités meilleures.

Levures de poires

Les deux levures qui vont être décrites proviennent d'un cidre de poires en pleine fermentation.

Levure C¹

Les cellules mesurent $4 - 7 \mu \times 3 - 4 \mu$. En culture sur moût elles sont elliptiques (fig. 3) et ont tendance à rester unies les unes aux autres après bourgeonnement ; sur gélatine, les formes de type « *pastorianum* », plus allongées, sont fréquentes.

La culture géante présente un cratère central et est striée radiairement.

Cette levure sporule facilement en donnant 3 ou 4 ascospores qui germent normalement, sans conjugaison (fig. 9).

Elle fait fermenter les dextrose, lévulose, galactose, saccharose, maltose.

Son pouvoir alcoogène maximum est de 13,72. Il reste 26 gr. de sucre non fermenté.

Le coefficient d'utilisation du sucre dans le moût de Chasselas est de 15,5.

L'acide organique le plus facilement assimilé est l'acide tartrique (35 % assimilé) ; l'acide citrique n'est pas attaqué.

Le pouvoir réducteur est faible.

Le bouquet développé par cette levure, quoique peu accentué est agréable, fin et franc.

Levure C²

Cette levure se distingue des précédentes par sa forme particulière (fig. 4). Les cellules mesurent $2 - 6 \mu \times 2 - 3 \mu$; la plupart d'entre elles ont la forme d'un citron, caractéristique des levures dites « *apiculées* ». Par bourgeonnement, il se forme, outre des cellules d'aspect typique, des cellules elliptiques.

La culture géante s'étend en couche mince sur la gélatine ; elle est circulaire, sans dessins caractéristiques.

Cette levure ne produit pas de spore.

Elle fait fermenter les dextrose et lévulose, mais laisse intacts galactose, saccharose, maltose et lactose.

Elle a provoqué la fermentation complète d'un moût de Chasselas contenant 152 gr. de sucre, en donnant 9,83 vol. % d'alcool. Elle a produit 10,35 vol. % dans un moût renfermant 230 gr. de sucres réducteurs.

Ce pouvoir alcoogène élevé distingue cette race des levures apiculées décrites dans la littérature, dont l'action est paralysée par 4-5 vol. % d'alcool. C'est probablement en raison de ce fait qu'elle se trouvait encore en forte proportion dans du moût de poires en pleine fermentation.

Comme toutes les levures apiculées, celle-ci produit une forte quantité d'acides volatils. L'acidité volatile du vin obtenu par fermentation d'un moût, exprimée en acide acétique s'élève à 0,7 gr. par litre (0,3 gr. pour la levure C¹).

L'acidité fixe (acidité totale — acidité volatile) est plus élevée que pour la levure C¹. Cela provient peut-être du fait que la levure apiculée n'assimile pas l'acide malique, présent dans le moût, tandis que la levure C¹ peut l'utiliser comme source de carbone, et que celle-ci, en outre, assimile l'acide tartrique en plus forte proportion.

La levure C² n'attaque que l'acide tartrique et l'acide succinique et laisse intacts les autres acides.

Son pouvoir réducteur est moyen. La décoloration des tubes additionnés de 9 gouttes de bleu de méthylène s'effectue en 48 heures à partir du début de la fermentation ; elle persiste durant 3 jours.

Cette levure donne, après fermentation, un liquide désagréable à la dégustation, très acide, amer et sans finesse.

En raison des caractères particuliers du *Saccharomyces apiculatus*, il était intéressant de voir quelle pouvait être son influence sur la fermentation, lorsqu'il se trouvait associé à d'autres levures, au *S. ellipsoïdeus* par exemple.

Dans ce but, nous avons associé, en proportions égales la levure de cidre précédemment décrite (C¹) au *S. apiculatus* (C²) dans du moût de Chasselas.

Après fermentation l'examen microscopique montre que la levure C¹ est beaucoup plus abondante que C² ; la levure elliptique s'est donc multipliée plus rapidement.

Le moût contient après fermentation 9,06 vol. % d'alcool ; il ne reste pas de sucre.

L'acidité fixe est de 9,07 gr. par litre (exprimée en acide tartrique). Elle exprime exactement la moyenne des acidités fixes respectives de C¹ et C².

L'acidité volatile est de 0,4 gr. par litre (exprimée en acide acétique) un peu inférieure à la moyenne des acidités volatiles de C¹ et C².

Le bouquet produit par ces deux levures associées est de qualité inférieure à celui de la levure C¹, mais supérieure à celui de C². Le liquide fermenté par ces levures est amer, astringent, mais moins désagréable cependant que celui que produit la levure apiculée seule.

La présence de levures apiculées dans un liquide en fermentation nuit donc très nettement à la qualité de ce dernier.

Levures de cerises

Ces levures proviennent de cerises en pleine fermentation, destinées à la distillation.

Levure K¹

Elle se présente sous forme de cellules elliptiques de $6 - 8 \mu \times 4 - 7 \mu$ parmi lesquelles on rencontre des formes rondes plus petites.

La culture géante (fig. 13) est largement lobée ; âgée, elle se couvre de petites pustules, constituées par des cellules normales. Cette levure sporule difficilement. Elle forme 2, 3 ou rarement 4 ascospores par cellule ; leur germination est normale.

Elle fait fermenter les dextrose, lévulose, saccharose et maltose ; la fermentation du galactose ne se déclare qu'après une dizaine de jours, elle est lente et difficile.

Dans le même moût enrichi en sucre, son pouvoir alcoogène ne s'élève à 14 vol. % d'alcool environ.

Le coefficient d'utilisation du sucre est, dans ce cas, voisin de 15.

Dans le liquide de Mayer (sans azote organique) elle ne produit que 3,64 vol. % d'alcool ; restent 74 gr. de sucre réducteur non fermenté.

Le coefficient d'utilisation du sucre est alors de 17,6.

Dans le même liquide additionné de 2 ‰ d'asparagine, elle produit 9,65 vol. % d'alcool ; il ne reste pas de sucre. Dans le premier cas, c'est probablement un défaut de nutrition azotée qui a arrêté le travail de la levure. C'est la seule des levures étudiées chez laquelle nous ayons observé ce phénomène.

Les acides organiques ne sont que faiblement assimilés ; seul l'acide succinique disparaît en proportion notable (34 %) ; les acides tartrique et citrique ne sont pas attaqués.

La levure K¹ produit 1,3 gr. d'acides volatils par litre (exprimés en acide acétique) ; ce chiffre est très élevé.

Le pouvoir réducteur est faible. La décoloration du bleu de méthylène ne se produit que 3 jours après le début de la fermentation et ne persiste que 24 heures.

Cette levure produit dans le moût un bouquet très riche en substances volatiles, en aldéhydes (aldéhyde acétique particulièrement) et alcools supérieurs (détectés par la méthode de Komarowsky-Fellenberg).

L'acidité volatile et les nombreux corps ci-dessus mentionnés donnent au moût fermenté une saveur acide et brûlante à la fois, qui caractériserait une boisson de qualité inférieure et ne rappelle en rien le goût et le bouquet d'un vin normal.

Dans le liquide de Mayer additionné d'asparagine, on distingue nettement à la dégustation certains composants des eaux de vie (alcools supérieurs et aldéhydes) ; on ne les détecte pas si nettement dans le liquide fermenté sans asparagine.

Cette constatation rapprochée de celle qui a été faite précédemment au sujet de la nutrition azotée de cette levure permet d'affirmer que la levure K¹ utilise l'asparagine comme source d'azote et élabore ainsi des alcools supérieurs auxquels sont associées des aldéhydes provenant d'autres réactions biochimiques.

Ce phénomène se manifeste d'une façon particulièrement accentuée chez cette levure.

Levure K²

Elle se présente sous forme de cellules sphériques, remarquables par la variabilité de leurs dimensions (fig. 5). Les plus petites ont $3 \times 3 \mu$, d'autres atteignent $6 - 7 \mu$ de diamètre ; en outre, les cellules géantes, dépassant de beaucoup les dimensions normales ($10 - 12 \mu$), sont très fréquentes dans les cultures sur moût (fig. 6). Sur gélatine, les petites cellules prédominent ; on n'observe pas de cellules géantes.

La culture géante est circulaire, divisée en « pétales » par des rayons concentriques.

Cette levure sporule en donnant, le plus souvent 3, parfois 2 ou 4 ascospores volumineuses déformant la cellule, phénomène possible grâce à l'élasticité de la membrane.

Elle provoque la fermentation des dextrose, lévulose, saccharose, maltose ; le galactose n'est pas attaqué.

Elle se multiplie lentement et la fermentation se déclare dans le moût 24-48 heures plus tard qu'avec d'autres levures, toutes conditions d'expérience étant semblables.

D'autre part, dans les liquides synthétiques utilisés, la fermentation a été beaucoup plus lente que dans le moût, et beaucoup plus languissante qu'avec d'autres levures.

Son pouvoir alcoogène maximum est de 14 vol. % environ.

Le coefficient d'utilisation du sucre dans du moût de Chaselas est de 15,2.

Les acides organiques les plus facilement assimilés sont : l'acide tartrique (34 % assimilé) et l'acide lactique (6 %). Les acides acétique, succinique et citrique ne sont pas attaqués.

Le pouvoir réducteur de cette levure est faible ; la décoloration des tubes contenant 9, 12, 15 gouttes de bleu de méthylène se produit 3 jours après le début de la fermentation et persiste moins de 24 heures.

Cette levure produit 0,8 gr. d'acides volatils par litre (calculés en acide acétique).

Le bouquet qu'elle développe, riche en aldéhydes, acides et alcools, ressemble à celui de la levure K¹ et n'a pas d'analogie avec le bouquet caractéristique d'un vin.

Ces deux levures, K¹ et K², ont provoqué en quelques jours la fermentation des cerises en tonneaux. La rapidité de la fer-

mentation s'explique par le pouvoir alcoogène élevé de ces levures et la teneur des cerises en sucre qui ne dépasse par 8-10 %.

En raison de leurs diverses qualités, elles peuvent être considérées comme de bonnes levures pour la préparation d'eau de cerises.

Levures de pruneaux

Les deux levures qui vont être décrites ont été prélevées, en fin de fermentation, sur des pruneaux destinés à la distillation.

Levure P¹

Les cellules sont elliptiques et mesurent $5 - 8 \mu \times 3 - 4 \mu$; elles sont souvent piriformes.

La culture géante (fig. 2) est fortement striée et dentelée et se distingue nettement des colonies formées par les autres levures étudiées dans ce travail.

Cette levure sporule en donnant 1 spore (cas très fréquent dans les cultures sur gélatine), 2, 3 ou 4 spores sur bloc de plâtre.

Les spores germent et se conjuguent avant de bourgeonner (fig. 10). Ce phénomène, assez rare chez les levures du genre *Saccharomyces*, représente un rudiment de sexualité (voir p. 49).

Les dextrose, lévulose, galactose, saccharose et maltose sont fermentés par cette levure.

Son pouvoir alcoogène maximum est de 14 vol. % environ. Restent 8 gr. de sucre non fermenté.

Le coefficient d'utilisation du sucre dans du moût de Chas-selas est de 15,3.

La fermentation est lente, surtout en milieu synthétique et dans le moût additionné de sucre.

Les acides organiques les mieux assimilés sont l'acide succinique (40 % assimilé) et l'acide lactique (20 %) ; l'acide tartrique n'est pas attaqué.

Le pouvoir réducteur est moyen. La décoloration du bleu de méthylène a lieu en 48 heures et persiste durant le même temps.

Cette levure produit un bouquet agréable, mais pauvre en substances volatiles ; il serait très faible pour un vin.

Levure P²

Plusieurs caractères la distinguent de la précédente. Elle se présente sous forme de cellules de $6 - 8 \mu \times 4 - 6 \mu$, particulièrement volumineuses dans les cultures sur moût de raisin.

La culture géante est largement lobée ; elle subit très tôt une dégénérescence graisseuse.

Cette levure n'a sporulé sur aucun milieu de culture. Comme dans d'autres souches décrites (levures Dôle et Muscat) des gouttelettes de graisse remplissent les cellules âgées, ce qui entraîne une modification de la culture toute entière.

Elle fait fermenter les dextrose, lévulose, galactose, saccharose et maltose.

Son pouvoir alcoogène maximum est de 11,23 vol. %. Res- tent 60 gr. de sucre non fermenté.

Le coefficient d'utilisation du sucre dans le moût de Chasse- las est de 15,2.

Le pouvoir réducteur est élevé ; la décoloration des tubes contenant 15 et 18 gouttes de bleu de méthylène se produit en 48 heures et persiste durant 4 jours.

Cette levure produit un bouquet peu accentué et donne un li- quide fermenté assez plat, franc, mais sans caractère particulier.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Les neuf levures qui viennent d'être décrites diffèrent les unes des autres par plusieurs des caractères énumérés dans l'in- troduction de ce travail.

La levure de Dôle est caractérisée par son absence de sporu- lation, son incapacité à faire fermenter le galactose et le maltose, alors que ses autres qualités la rapprochent du *Saccharomyces ellipsoïdeus*.

La levure Muscat appartient nettement à l'espèce *S. ellipsoï- deus* ; le bouquet qu'elle développe est exceptionnellement fin.

La levure *Lacrimae Christi* appartient à l'espèce *S. pastoria- num* ; son pouvoir alcoogène est faible ; elle donne un vin plat, sans bouquet.

La levure de poire C¹ est un *S. ellipsoïdeus*, à pouvoir alcoo-

gène moyen qui développe un bouquet peu accentué, mais agréable.

La levure de poire C² est un *S. apiculatus*, qui se distingue des autres organismes de cette espèce décrits dans la littérature par son pouvoir alcoogène élevé (10 vol. % d'alcool).

La levure C², associée à C¹ dans la fermentation d'un moût influe défavorablement sur la qualité du vin obtenu. Ce dernier est plus acide et possède un bouquet désagréable, caractéristique des levures apiculées.

La levure de cerises K¹ est un *S. ellipsoïdeus*, qui se distingue des précédents par la production d'une forte acidité volatile (1,3 gr. par litre), d'aldéhydes et d'alcools supérieurs, substances qui existent en proportion élevée dans les eaux de cerise. Son pouvoir alcoogène est voisin de 14 vol. %.

La levure de cerises K² est caractérisée par sa forme parfaitement sphérique. Elle se distingue en outre de K¹ par la fréquence des cellules géantes dans les cultures. Comme K¹, elle produit beaucoup d'acides volatils, d'aldéhydes et d'alcools supérieurs.

La levure de pruneaux P¹ est un *Saccharomyces* se distinguant du *S. ellipsoïdeus*, dont ses caractères principaux la rapprochent, par la conjugaison des spores qui se produit au moment de la germination de ces dernières. Ce phénomène est rare chez les *Saccharomyces*.

La levure P² diffère du *S. ellipsoïdeus* par son absence de sporulation.

Ce qui frappe surtout lorsque l'on compare entre elles ces différentes levures, c'est la variété des liquides obtenus à partir d'un même moût. par ensemencement de chacun des *Saccharomyces* précédemment décrits.

Chaque levure possède un caractère propre ; elle produit par fermentation, des substances volatiles et non volatiles qui donnent au liquide fermenté un cachet particulier. Ce phénomène ne se manifeste pas seulement dans le moût, matière organique complexe, mais dans des liquides synthétiques ne contenant que des sels minéraux (liquide de Mayer), ou additionnés d'asparagine. Il y a donc dans la biochimie des levures et de la fermentation, une spécificité qui a son siège dans les réactions physico-chimiques du protoplasme cellulaire.

D'autre part, l'étude que nous résumons montre que les groupes de levures actives dans la fermentation des différents fruits (raisins, poires, cerises, pruneaux), présentent de grandes analogies quant à leur pouvoir alcoologène. On peut admettre que sur chaque fruit, se trouvent des levures résistantes à l'alcool.

Mais ces groupes diffèrent entre eux par la qualité des produits fermentés auxquels ils donnent naissance.

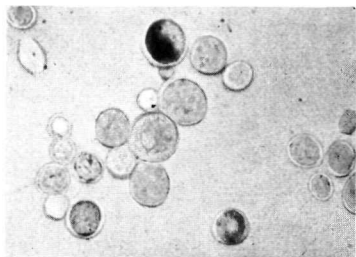
Ce n'est que dans des moûts de raisin que nous avons rencontré des levures développant un bouquet particulièrement fin (Muscat, Dôle). Seules les levures de cerises ont produit en abondance acides volatils, aldéhydes et alcools divers. Les levures de pruneaux, au contraire, ont donné des liquides aux caractères peu accentués.

On est tenté d'admettre qu'il existe un certain rapport de spécificité entre les levures et les fruits sur lesquels elles se trouvent, bien que l'on imagine difficilement comment cette spécialisation ou cette adaptation pourrait s'effectuer dans la nature.

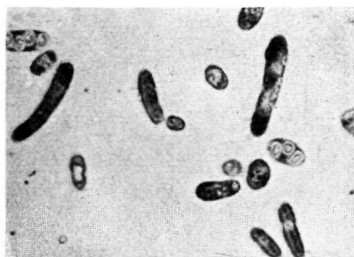
Quoiqu'il en soit, l'expérience montre que la qualité des boissons fermentées (vins, cidres, eaux de vie de fruits) dépend en grande partie des caractères particuliers des levures qui assurent la fermentation.

Dans la pratique, il y a lieu de tenir compte de la spécificité observée, et d'effectuer le levurage des moûts et jus de fruits avec des levures prélevées sur les fruits correspondants, et sélectionnées avec soin, suivant les qualités particulières que l'on désire mettre en valeur dans une boisson fermentée.

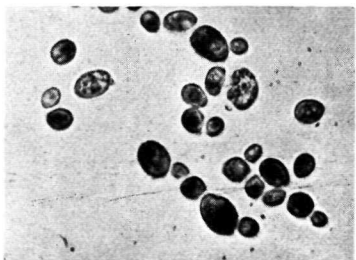
Mars 1933.



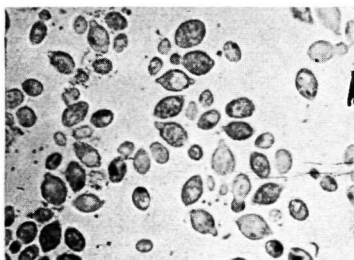
1



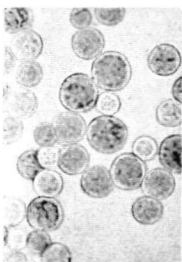
2



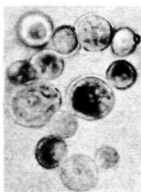
3



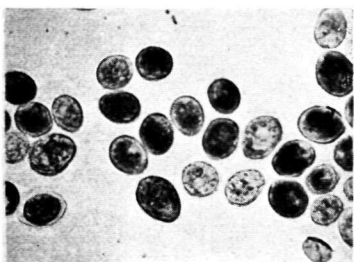
4



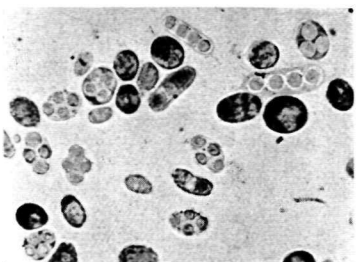
5



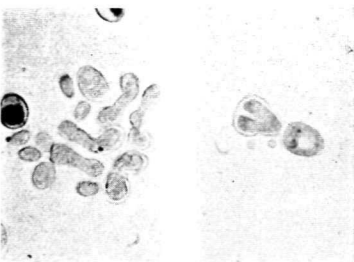
6



7

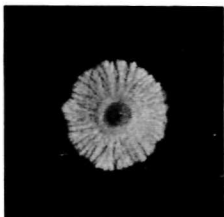


8

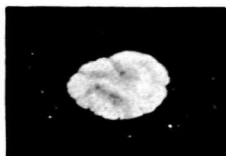


9

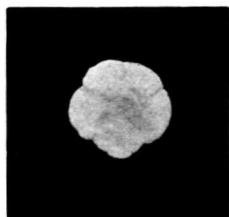
10



11



12



13

BIBLIOGRAPHIE

- Blaha J.** : Die epiphytische Flora von Steinobst und ihre Bedeutung für die Güte des Destillates. Résumé dans Centralbl. f. Bakt. Abt. II, 1930, Bd. 81.
- Capitain E.** : Contribution à l'étude morphologique et physiologique des levures de poires. Lyon 1930.
- Castan P.** : Contribution à l'étude des levures de vin. Annuaire agricole de la Suisse 1923.
- Guillermond A.** : Les levures. Doin-Paris 1912.
- Lindner P.** : Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Parey-Berlin 1930.
- Niehaus Ch.** : Untersuchungen über Apiculatushefen. Centralbl. f. Bakt. Abt. II, 1932, Bd. 87.
- Porchet B.** : Contribution à l'étude de l'adaptation des levures à l'acide sulfureux. Annuaire agricole de la Suisse 1931.
- Schweizer Ch.** : Levures du genre *Saccharomyces* isolées de macération de cerises. Trav. de Chimie alim. et d'Hygiène. T. 12, 1921.
- Schweizer Ch. et Fischlin H.** : Kirschengärungsversuche mit Reinhefen. Trav. de chimie alim. et d'hygiène. T. 13, 1922.
- Steiner J. M.** : Etude sur les levures actives des vins valaisans. Thèse No 749 de l'Université de Genève. 1924.
-

TABLE DES ILLUSTRATIONS

- Fig. 1 : Levure Dôle.
- Fig. 2 : Levure Lacrimae Christi.
- Fig. 3 : Levure de cidre C¹.
- Fig. 4 : Levure de cidre C² (apiculée).
- Fig. 5 : Levure de cerises K¹.
- Fig. 6 : Levure de cerises K², cellules géantes.
- Fig. 7 : Levure de pruneaux P².
- Fig. 8 : Levure de cidre en sporulation.
- Fig. 9 : Germination normale des spores.
- Fig. 10 : Conjugaison des spores et bourgeonnement (Levure P¹).
- Fig. 11 : Culture géante de la levure P¹.
- Fig. 12 : Culture géante de la levure Dôle.
- Fig. 13 : Culture géante de la levure K¹.