

PHOTO IV

CHROMATOGRAMME D'ACIDES GRAS VOLATILS EXTRAITS D'UNE FERMENTATION DE HARICOTS ET DE POMMES DE TERRE A PREDOMINANCE FORTEMENT BUTYRIQUE

Environ 2/3 d'acide butyrique, 1/5 d'acide acétique, 1/10 d'acide propionique et des traces d'acide valérianique.



PHOTO V

ALLURE D'UNE DISTILLATION FRACTIONNEE A VOLUME CONSTANT D'ACIDES GRAS VOLATILS

On remarque l'entraînement rapide des acides gras supérieurs et l'extraction difficile et incomplète de l'acide acétique.

De droite à gauche : Témoin, tête, corps et queue de distillation réduite à 14 fractions.

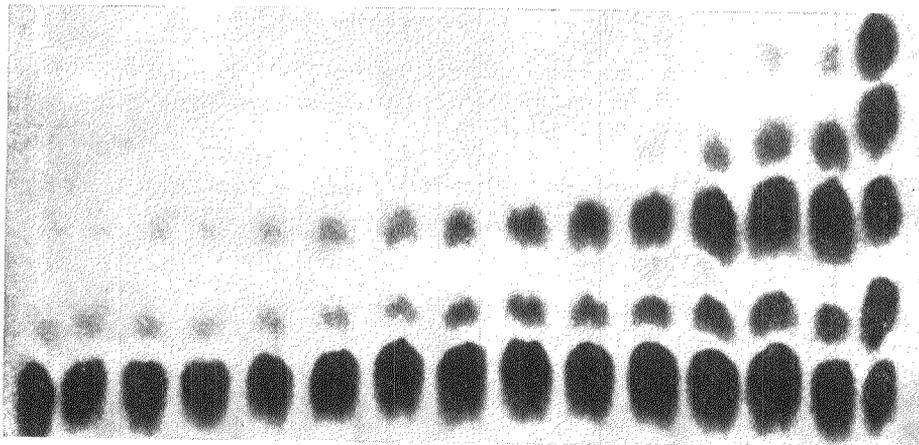




PHOTO VI

CHROMATOGRAMME D'ACIDES GRAS
VOLATILS EXTRAITS D'ENSILAGE DE TREFLE-
AVOINE AU DEBUT DE SA FERMENTATION

Ce chromatogramme est caractérisé par une proportion élevée d'acide caproïque et également par la présence de notables quantités d'acide œnanthylrique.

Composition environ :

- 50 % d'acide acétique
- 20 % d'acide butyrique
- 15 % d'acide caproïque
- 5 % d'acide propionique
- 5 % d'acide valérianique
- 5 % d'acide œnanthylrique

Témoin, tête, corps et queue.



PHOTO VII

CHROMATOGRAMME D'ACIDES GRAS
VOLATILS EXTRAITS D'ENSILAGE DE RAVE-
NELLE AU MILIEU DE SA FERMENTATION

Composition de l'ordre de :

- 50 % d'acide butyrique,
- 25 % d'acide acétique,
- 25 % d'acide propionique, valérianique,
caproïque avec quelques traces
d'acide œnanthylrique.

Témoin, tête, corps, queue.

Cependant, des analyses que nous avons faites (1957) nous ont montré que l'acide formique était absent et que les acides supérieurs n'étaient pas au nombre de 3, mais au nombre de 5 et parfois de 6 : acides acétique, propionique, butyrique, valérianique, caproïque et œnanthylique (Photo 6). Il faut noter que cet acide œnanthylique (C₇) trouvé dans une fermentation est très rare puisque dans le traité de Microbiologie Pratique [49], on lit à propos des productions par les espèces anaérobies : « ... Seuls les acides de C₁ à C₆ ont été rencontrés jusqu'ici ».

Par conséquent, une méthode apte à doser ces six acides est plus avantageuse et plus près de la réalité que celles qui n'en mentionnaient que deux, trois ou quatre. Le progrès obtenu est susceptible d'améliorer la conduite des fermentations d'ensilage : pratique dont l'importance est essentielle dans les régions d'élevage et dans les pays méditerranéens. [50]

Ensilage de ravenelle :

On trouve en tête de distillation de cet échantillon une forte proportion d'acide butyrique, d'acide valérianique et d'acide caproïque ; et une trace d'acide œnanthylique. (Photo 7 et tableau IV)

Ensilage de trèfle-avoine :

On note, par contre, la présence de beaucoup plus d'acide œnanthylique dans un ensilage de fourrage ordinaire ; moins d'acide butyrique et d'acide valérianique. (Photo 6 et tableau IV). Par contre, ce même fourrage, aux premiers jours de fermentation, présente de l'acide acétique (ce qui est normal puisque les plantes contiennent en général des acétates) et des traces de propionique et de butyrique.

TABLEAU IV

| Dosage (en gramme) des acides gras volatils dans les différentes fractions du distillat recueilli à partir d'ensilages : | | | | | | |
|--|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 200 grammes de matière ensilée, dont l'humidité est pour les deux exemples de 82 % soit 36 grammes de matière sèche, additionnés de 700 cm ³ d'eau, et distillés à volume constant. | | | | | | |
| ACIDE | ENSILAGE I ravenelle | | | ENSILAGE II trèfle-avoine | | |
| | tête 200 cm ³ | corps 700 cm ³ | queue 400 cm ³ | tête 200 cm ³ | corps 700 cm ³ | queue 400 cm ³ |
| Acétique | 0,05 | 0,27 | 0,33 | 0,16 | 0,50 | 0,28 |
| Propionique | 0,04 | 0,10 | 0,02 | 0,04 | 0,06 | 0,01 |
| Butyrique | 0,40 | 0,60 | 0,07 | 0,15 | 0,19 | 0,02 |
| Valérianique | 0,13 | 0,08 | 0 | 0,07 | 0,05 | 0 |
| Caproïque | 0,22 | 0,10 | 0 | 0,18 | 0,07 | 0 |
| œnanthylique | traces | 0 | 0 | (1) 0,10 | 0 | 0 |

FERMENTATION DE PAILLE DE SORGHO :

Un essai de fermentation de 100 g de paille de sorgho
ensemencés par 100 cm³ de purin,
additionnés de 700 cm³ d'eau

(1) Dosage par différence (acide œnanthylique = acidité totale — acidité des cinq premiers acides), car nous n'avons pas eu assez rapidement de l'acide œnanthylique pur pour faire notre courbe de conductivité en fonction de la concentration.

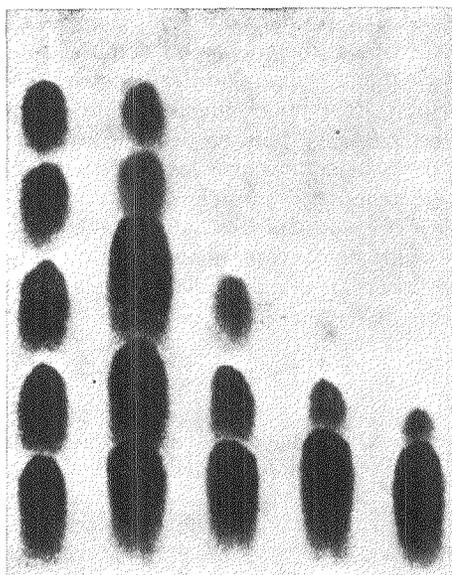


PHOTO VIII

CHROMATOGRAMME D'ACIDES GRAS VOLATILS EXTRAITS D'UNE FERMENTATION DE PAILLE DE SORGHO

Fermentation se caractérisant par une proportion d'acide propionique deux fois et demie plus élevée que dans la fermentation butyrique.

Composition environ :

- 36 % d'acide butyrique
- 28 % d'acide acétique
- 25 % d'acide propionique
- 10 % d'acide valérianique et caproïque.

Témoin, tête, 3°, 4° et 5° distillat.

PHOTO IX

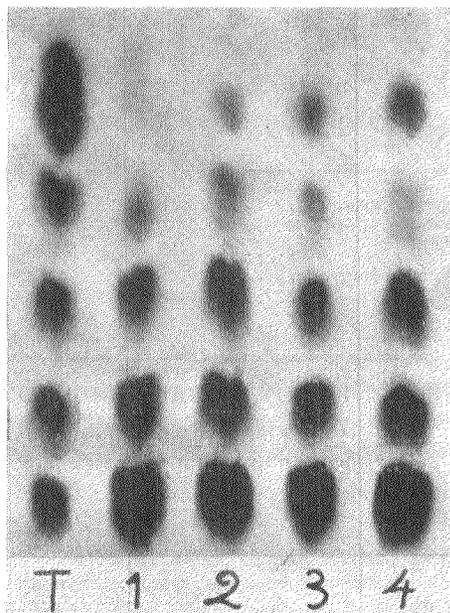
CHROMATOGRAMME DE TETE DE DISTILLATION D'ACIDES GRAS VOLATILS EXTRAITS DE RESIDUS DE FERMENTATION METHANIQUE (PAILLE DE CEREALES)

On remarque que les pailles fournissent une proportion plus forte d'acide propionique que les autres matières végétales.

Composition moyenne :

- 40 % d'acide acétique
 - 21 % d'acide propionique
 - 21 % d'acide butyrique
 - 11 % d'acide valérianique
- et 10 % d'acide caproïque et cœnanthylrique.

De gauche à droite. Témoin, 4 échantillons différents.



et maintenu à 35° pendant 16 jours a permis de recueillir en tête de la distillation 200 cm³ contenant :

| | |
|------------------------------|--------|
| acide acétique.. | 0,47 g |
| acide propionique.. | 0,40 g |
| acide butyrique.. | 0,60 g |
| acide valérianique.. | 0,12 g |
| acide caproïque.. | 0,09 g |

On note que l'on se trouve en présence d'une fermentation où le groupe acétique-propionique-butyrique prédomine. Un incident ne nous a pas permis d'obtenir le reste du distillat de façon assez précise pour en donner un dosage, mais la physiologie générale en est donnée par la photographie 8.

EAUX RESIDUAIRES :

Une analyse d'eaux et de boues en provenance de l'oued Harrach (près de l'embouchure où cet oued se transforme en collecteur d'égouts) nous a permis de déceler la présence à l'état de traces de la série d'acides suivants : acétique, propionique, butyrique et valérianique.

RESIDUS DE FERMENTATION METHANIQUE :

On sait que les détritres les plus divers et en particulier ceux contenant beaucoup de cellulose, mis en milieu non oxygéné sont susceptibles dans certaines conditions et sous l'action de la faune et de la flore qu'ils renferment [51], de produire de grandes quantités de gaz carbonique et de méthane. Le méthane, résultat intéressant de cette fermentation, se forme à partir des acides gras volatils [52] et en particulier par décarboxylation de l'acide acétique [53] [54]. C'est pourquoi nous avons analysé divers échantillons provenant des cuves de production de méthane de l'E.N.A.A.

Nous y avons retrouvé les six acides : acétique, propionique, butyrique, valérianique, caproïque, cœnanthylrique, dans les proportions données par le tableau V. (Photo 9)

TABLEAU V

| Dosage (en grammes des acides gras volatils contenus dans les premiers 200 cm ³ de tête du distillat de résidus de fermentation méthanique : Résidu 1 provenant du milieu d'une cuve en pleine fermentation. Résidu 2 provenant du milieu d'une cuve en fin de fermentation. Résidu 3 provenant du fond de la même cuve que le résidu 2. Résidu 4 provenant du fond d'une cuve en fin de fermentation. 800 grammes de matière (humidité de 75 %) étant additionnés de 500 cm ³ d'eau. | | | | |
|--|---|----------|----------|----------|
| ACIDE | DISTILLAT : 200 cm ³ de tête | | | |
| | résidu 1 | résidu 2 | Résidu 3 | résidu 4 |
| Acétique.. . . . | 0,20 | 0,21 | 0,19 | 0,20 |
| Propionique.. . . | 0,11 | 0,13 | 0,10 | 0,10 |
| Butyrique.. . . . | 0,10 | 0,14 | 0,09 | 0,11 |
| Valérianique.. . . | 0,06 | 0,08 | 0,05 | 0,04 |
| Caproïque.. . . . | 0,02 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Cœnanthylrique.. . . | traces | traces | traces | traces |

Les quatre exemples précédents sont les premiers d'une longue série d'analyse d'échantillons provenant de cuves de production de méthane et d'essais de laboratoire et dont le « gaz de fumier » retirera sans aucun doute de notables améliorations.

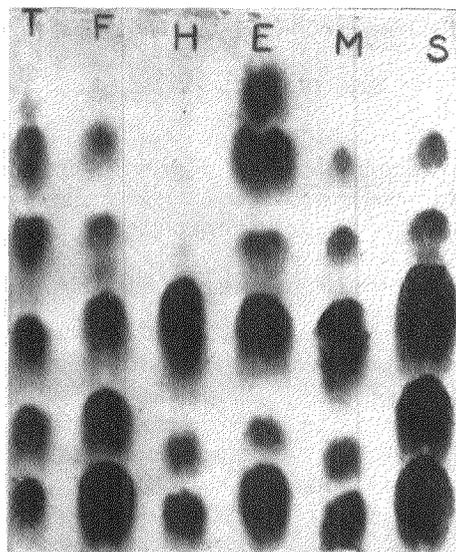


PHOTO X

CHROMATOGRAMME D'ACIDES GRAS
VOLATILS DES DIVERSES FERMENTATIONS

Tableau récapitulatif de comparaison des
produits de fermentation de

Fumier,
Haricots,
Ensilage,
Marc et
Sorgho.

RESUME ET CONCLUSIONS

Dans la première partie de cet exposé, nous avons eu l'occasion de signaler la rareté des méthodes de dosage applicables aux mélanges complexes d'acides gras volatils. De plus, ces méthodes n'étaient pas pratiques et étaient difficilement accessibles à un manipulateur moyen et à un laboratoire non pourvu d'appareils spéciaux.

Dans la deuxième partie, nous avons exposé une méthode simple de chromatographie sur papier, convenant bien aux mélanges de nombreux acides gras volatils recueillis par distillation à la vapeur. Puis nous avons montré comment cette méthode pouvait être améliorée, notamment par la plastification des chromatogrammes et pouvait être à la base d'un dosage conductimétrique. Ce dosage est basé sur la relation $\sigma = k \cdot c$ entre la conductivité σ et la concentration c ; et sur le fait que la conductivité totale est la somme de la conductivité du sel d'éthylamine et de la conductivité de l'eau et des impuretés.

Enfin nous avons vu quelques applications possibles de cette méthode, ce qui nous a permis de noter que dans les différents types de fermentations on retrouvait en général toujours les mêmes acides mais en proportions variables et que parfois on pouvait mettre en évidence de l'acide œnanthylique dont la présence n'avait pas été signalée jusqu'à présent.

Le domaine d'application de cette méthode peut, en résumé, s'étendre aux principaux types de fermentation suivants :

- groupe des fermentations alcooliques : éthanol, butanol-acétone, butanol-isopropanol.
- groupe des fermentations acétiques des vins, des bières et des moûts.
- groupe des fermentations acéto-lactiques des brasseries, des vins, des produits laitiers et des sucreries.
- groupe des fermentations anaérobies à sporulation telle que celles données par :
Clostridium butyricum
Clostridium saccharobutyricum
Clostridium pasteurianum.
- groupe des fermentations protéolytiques.
- groupe des fermentations d'ensilages et rouissages.
- groupe des fermentations méthaniques.

Nous espérons

1°) que la pratique généralisée de la plastification permettra d'augmenter dans de larges proportions la conservation des chromatogrammes non permanents ;

2°) que la méthode de dosage conductimétrique des acides gras volatils sera d'une aide précieuse aux chercheurs étudiant les fermentations ;

3°) que l'on pourra étendre le principe de la méthode aux dosages de composés séparables par chromatographie et susceptibles d'ionisation.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] G. DENIGÈS : *Cité par R. TRUCHET* : les monoacides in V. GRIGNARD, G. DUPONT et R. LOCQUIN. *Traité de Chimie Organique*, Paris, *Masson*, IX, 1939, p. 14.
- [2] PHELPS et PALMER : *J. Biol. Chem.*, XXIX, 1917, p. 202.
- [3] BOSSHARD et COMTE : *Helv. Chem. Act.*, I, 1918, p. 257.
- [4] G. BERTRAND : *Cité par A. et R. SARTORY et J. MEYER*. *Microbiologie pratique*, Paris, *Maloine*, 1950, p. 320.
- [5] BEHRENS-KLEY : *Cité par A. et R. SARTORY et J. MEYER*. *Microbiologie pratique*, Paris, *Maloine*, 1950, p. 320.
- [6] GARRAUD : Thèse de Pharmacie. Bordeaux 1897.
- [7] BEHRENS : *Z. Anal. Chem.*, LXIX, 1926, p. 97.
- [8] DUCLAUX : *Traité de Microbiologie*, Paris, *Masson*, T. III, 1893, p. 385.
- [9] DUCLAUX : *Ann. Chim.*, VI, 1886, 8, p. 452.
- [10] DUCLAUX : *Ann. Inst. Pasteur*. 1892, p. 265.
- [11] G. DENIGÈS, L. CHELLE, A. LABAT : *Précis de Chimie Analytique*, Paris, *Maloine*, 1931, p. 514.
- [12] G. DENIGÈS, L. CHELLE, A. LABAT : *Précis de Chimie Analytique*, Paris, *Maloine*, 1931, p. 516.
- [13] O. FLIEG : Ein Schlüssel zur Bewertung von Garutterproben. *Futterbau und Grünfutterbereitung*, I, 1938, p. 121-128.
- [14] F. ANSTETT : Rapport de stage à la Station de Recherches agronomiques de FIG. *Farbenindustrie*, Limburgerhof, 1948, *dactylographié, inédit*.
- [15] L.C. CRAIG : *J. Biol. Chem.*, CLV, 1944, p. 519-534.
- [16] D. PILLOIN : *Bull. Soc. Chim. France*, 1952, I, p. DI.
- [17] L.C. CRAIG : *Forschr. Chem. Forsch.*, I, 1949, p. 292-293.
- [18] Y. SATO, G.T. BARRY et L.C. CRAIG : *J. Biol. Chem.*, CLXX, 1947, p. 501.
- [19] A.T. JAMES et A.J.P. MARTIN : *Biochem. J.*, LII, 1952, p. 242.
- [20] P. CHOVIN : *Bull. Soc. Chim. France*, LXXXIII, 1957, p. 101.
- [21] A.T. JAMES et A.J.P. MARTIN : *Analyst.*, LXXVII, 1952, p. 915.
- [22] A.J.P. MARTIN et A.T. JAMES : *Biochem. J.*, I, 1952, p. 679.
- [23] S.R. ELSDEN : *Biochem. J.*, XI, 1946, p. 252.
- [24] A.C. NEISH : *Can. J. Res.*, XXVIIb, 1949, 6.
- [25] H.J. NIJKAMP : *Chem. Weekblad.*, XLV, 1949, p. 480.
- [26] R. SCARISBRICK, E. BALDWIN et V. MOYLE : *Biochem. J.*, XLIII, 1948.
- [27] E. et M. LEDERER : « *Chromatography* », Amsterdam, *Elsevier Publishing Company*, 1953, p. 124.
- [28] J. ASSELINEAU : *Bull. Soc. Chim. France*, 1952, p. 884-891.

- [29] E. et M. LEDERER : « Chromatography », Amsterdam, *Elsevier Publishing Company*, 1953, p. 123-125.
- [30] K. SATAKE et T. SEKI : *J. Japan Chem.*, IV, 1950, p. 557.
- [31] F. FEIGL : Manual of Spots test, New-York, *Academic Press*, 1943.
- [32] K. FINK et R.M. FINK : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, LXX, 1949, p. 654.
- [33] A.R. THOMPSON : *Australian J. Sci. Res.*, IX, 1951, p. 180.
- [34] R. BLOCK, E. DURRUM et G. ZWEIG : A Manual of paper chromatography and paper electrophoresis, New-York, *Academic Press*, 1955, p. 164-165.
- [35] F. BROWN : *Biochem. J.*, XLVII, 1950, p. 598-600.
- [36] E.P. KENNEDY et H.A. BARKER : *Anal. Chem.*, XXIII, 1951, p. 1.033-1.034.
- [37] F.A. ISHERWOOD et C.S. HANES : *Biochem. J.*, LV, 1953, p. 824.
- [38] R.L. REID et M. LEDERER : *Biochem. J.*, L, 1951, p. 60.
- [39] J. GUILLAUME et R. OSTEUX : *C. R. Acad. Sciences*, CCXLI, 1955, p. 501.
- [40] R.B. FISHER et R. HOLMES : *Biochem. J.*, XLIV, 1949.
- [41] R.B. FISHER, D.S. PARSONS et G.A. MORRISON : *Nature*, CLXI, p. 76.
- [42] R.C. BRIMLEY : *Nature*, CLXIII, 1949, p. 215.
- [43] M. LEDERER : *J. Proc. Roy. Australian Chem. Inst.*, 1950, p. 308.
- [44] E.R. HISCOX et N.J. BERRIDGE : *Nature*, CLXVI, 1950, p. 522.
- [45] L.A. UNDERKOFER et R.J. HICKEY : « Industrial Fermentations », New-York, *Chemical Publishing*, 1954, vol. II, p. 522.
- [46] B. FAURE et A. GROSRENAUD : « Terre Algérienne » du 13 juillet 1957.
- [47] S.C. PRESCOTT et C.G. DUNN : « Industrial Microbiology », New-York, *Mc Graw-Hill Book Company*, 1940, p. 302.
- [48] K.E. GLOPPE et H. HVIDSTEN : « Determination of volatile fatty acids in silage by distillation and by chromatographic methods », *Z. Tierernährg. Dtsch.*, X, 1955, n° 3, p. 129-134.
- [49] E. et R. SARTORY, J. MEYER : « Microbiologie Pratique », Paris, *Maloine*, 1950, p. 297.
- [50] A.T. SEMPLE : « Important Consideration in the use of silage », *Food and Agricultural Organization of the United Nations*, 2 nd Meeting, Algier 28 April-3 May 1953.
- [51] S.E. WAKSMAN : « Soil Microbiology », New-York, *John Wiley et Sons*, 1952, p. 95.
- [52] G. DUCELIER et M. ISMAN : *Agria* 1953, n° 166.
- [53] T.C. STADTMAN et H.A. BARKER : *Arch. Biochem.*, XXI, 1949, p. 256.
- [54] A.M. BUSWELL et F.W. SOLLO : *J. Am. Soc.*, LXX, 1948, p. 1.778.

Imprimerie BARBRY
12, Rue Géricault
ALGER
—
1957

Dépôt légal n° 109 — NOVEMBRE 1957